

*Este exemplar foi devolvido
ao original, conforme resolução
CCPG/036/083
21/01/97*

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

PEDRO JOSÉ DUARTE
Cirurgião Dentista

**AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA DA AÇÃO DA CICLOSPORINA
NA EVOLUÇÃO DA DOENÇA PERIODONTAL
(ESTUDOS EM RATOS)**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de Mestre
em Ciências - Área de Farmacologia.

PIRACICABA
- 1996 -

D85a

29924/BC

**UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**

PEDRO JOSÉ DUARTE
Cirurgião Dentista

**AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA DA AÇÃO DA CICLOSPORINA
NA EVOLUÇÃO DA DOENÇA PERIODONTAL
(ESTUDOS EM RATOS)**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia
de Piracicaba da Universidade Estadual de
Campinas para obtenção do Título de Mestre
em Ciências - Área de Farmacologia.

Orientador: Prof. Dr. Antonio Wilson Sallum

**PIRACICABA
- 1996 -**

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA:	T/UNICAMP
V.	D. 85 a
TOMAS	857 29924
PROC.	28/194
	<input type="checkbox"/> <input type="checkbox"/> <input checked="" type="checkbox"/>
PRECIO	R. \$ 11,00
DATA	30/04/97
N.º CPD	1

CM-00098939-6

Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP

D85a Duarte, Pedro José.
 Avaliação radiográfica da ação da ciclosporina na evolução da doença periodontal (estudos em ratos) / Pedro José Duarte. - Piracicaba : [s.n.], 1996.
 89f : il.
 Orientador : Antonio Wilson Sallum.
 Dissertação (Mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.
 1. Doença periodontal. 2. Drogas - Imunossupressão.
 I. Sallum, Antonio Wilson. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

19.CDD - 617.632
 - 616.079

Índices para o Catálogo Sistemático

1. Doença periodontal	617.632
2. Drogas - Imunologia	616.079

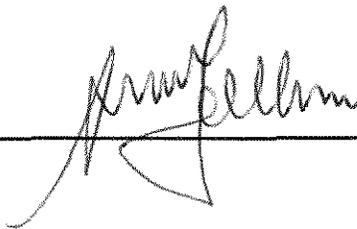


FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Mestrado**, em sessão pública realizada em 11/12/96, considerou o candidato aprovado.

1. Antonio Wilson Sallum



2. José Eduardo César Sampaio



3. Thales Rocha de Mattos Filho



**Não há grande realização que não
comece pelo sonho. É justamente
a possibilidade de realiza-lo que
torna a vida interessante.**

DEDICATÓRIA

MOACYR (in memorian) e **THERESINHA**, meus pais, responsáveis pela minha existência, carinho e paz. **FRANCISCO, MARCO, CÉSAR** e **AGUEDA** meus irmãos pelo convívio e amizade.

VALQUÍRIA, minha esposa, pelo estímulo, compreensão, amor e renúncia às horas de convívio.

FÁBIO, PATRÍCIA e **FELIPE**, meus filhos, razão do meu viver.

ROSANA, minha nora, pelo prazer de tê-la entre nós. E **AMANDA**, minha neta, pela alegria da sua chegada.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao Prof. Dr. **ANTONIO WILSON SALLUM**, meu agradecimento pelo estímulo e apoio na elaboração deste trabalho e principalmente por ter sua amizade.

“Quase todos os nossos êxitos dependem, em parte de outras pessoas.”
(Luis Amaral)

AGRADECIMENTOS

Gostaríamos de ressaltar nossa gratidão a todos aqueles que, direta ou indiretamente, participaram na elaboração deste trabalho.

Ao Prof. Dr. **JOSÉ MARTINS FILHO**, Magnífico Reitor da Universidade Estadual de Campinas.

À Direção da Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa do seu Diretor Prof. Dr. **JOSÉ RANALI** e seu associado, Prof. Dr. **OSLEI PAES DE ALMEIDA**.

Ao Prof. Dr. **MÁRIO FERNANDO DE GÓES**, Coordenador Geral dos Cursos de Pós-graduação da FOP/UNICAMP.

Ao Prof. Dr. **PEDRO LUIZ ROSALEN**, Coordenador do Curso de Pós-graduação em Odontologia - Área de Farmacologia.

Ao Prof. Dr. **THALES ROCHA DE MATTOS FILHO**, chefe da Área de Farmacologia, Anestesiologia e Terapêutica da FOP/UNICAMP.

Aos docentes do Curso de Pós-graduação em Farmacologia, pelo ensino transmitido e amizade.

Ao Conselho Nacional de Pesquisa (CNPq), pelo auxílio financeiro através de concessão de bolsa de estudo.

À Sra. **ANA MARIA COSSA**, Secretária da Coordenadoria de Pós-graduação da FOP/UNICAMP, pela dedicação sempre demonstrada.

Aos amigos **CLÁUDIO** e **RICARDO**, pelo companheirismo e agradável convívio, mesmo nas horas difíceis.

Às colegas de trabalho, **GUAREIDE** e **MÁRCIA** pela incansável ajuda na montagem deste trabalho.

Aos Srs. **PÉRICLES**, **HÉLIO**, **ROGÉRIO** e **MARCO**, da IDSA - Desenvolvimento de Sistemas e Automação Ltda, pela elaboração e aplicação da parte de informática na metodologia.

Ao Srs. **ADEMIR** e **JOSÉ CARLOS**, técnicos de laboratório da FOP/UNICAMP, pela participação na realização da parte experimental

À Profa. Dra. **SÔNIA VIEIRA** e Prof. Dr. **CARLOS ROBERTO AZZONI**, Titular de Ciências Contábeis da USP, na elaboração e assessoramento da análise estatística.

À Sra. **MARIA ELIZA DOS SANTOS** pela indispensável ajuda.

Às Sras. **LUZIA DE FÁTIMA DA SILVA** e **SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI**, bibliotecárias da FOP/UNICAMP, pelo auxílio na revisão bibliográfica.

Ao Sr. **PAULO JOSÉ DANELON**, da FOP/UNICAMP, pelo auxílio na elaboração gráfica final do trabalho.

Ao Sr. **PEDRO SÉRGIO JUSTINO**, da FOP/UNICAMP, pelo auxílio na parte fotográfica.

Ao Sr. **HÉLIO DE SOUSA DESLANDES** e Sra. **JUÇARA DA SILVA GRIMALDI**, na digitação do texto.

SUMÁRIO

CAPÍTULOS	FOLHA
1. LISTAS	4
1.1 TABELAS	5
1.2 FIGURAS	6
1.3 GRÁFICOS	7
1.4 SIGLAS	8
2. RESUMO	10
3. INTRODUÇÃO	13
4. PROPOSIÇÃO	16
4.1 PROPOSIÇÃO	17
5. REVISÃO DA LITERATURA	18
5.1 HISTÓRIA DAS DOENÇAS PERIODONTAIS	19
5.2 DOENÇA PERIODONTAL INFLAMATÓRIA CRÔNICA	20
5.3 DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL EM RATOS	25
5.4 SISTEMA IMUNOLÓGICO	27
5.5 SISTEMA IMUNOLÓGICO E DOENÇA PERIODONTAL	30
5.6 CICLOSPORINA COMO FÁRMACO	33
5.7 REABSORÇÃO ÓSSEA	36
5.8 CICLOSPORINA X DOENÇA PERIODONTAL	39
5.8.1 CRESCIMENTO GENGIVAL	39
5.9 DOENÇA PERIODONTAL X IMUNOSSUPRESSÃO EM RATOS	42
6. MATERIAIS E MÉTODOS	48
6.1 ANIMAIS UTILIZADOS	49
	2

6.2 SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA	49
6.3 INDUÇÃO DA DOENÇA PERIODONTAL	50
6.4 DOSE DE CICLOSPORINA	51
6.5 EXAME RADIOGRÁFICO	52
6.5.1 OBTENÇÃO DAS RADIOGRAFIAS	52
6.6 INTERPRETAÇÃO DAS RADIOGRAFIAS	53
7. RESULTADOS	56
7.1 APRESENTAÇÃO DE TABELAS E GRÁFICOS	57
8. DISCUSSÃO	67
9. CONCLUSÃO	72
10. SUMMARY	74
11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	76

1. LISTAS

1.1 TABELAS

N.o	Assunto	Folha
1.	Dados da área total, em mm ² , segundo o grupo e os dias decorridos após o início do experimento.	59
2.	Dados das médias da perda óssea, em mm ² , segundo o grupo e os dias decorridos após o início do experimento.	60
3.	Dados das médias do percentual de perda óssea segundo o grupo e os dias decorridos após o início do experimento.	61
4.	Médias e erros padrão das médias, em mm ² , para a área total segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.	62
5.	Médias e erros padrão das médias, em mm ² , para a perda óssea segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.	62
6.	Médias e erros padrão das médias para percentual de perda óssea segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.	63
7.	Análise de variância dos dados apresentados na tabela 1.	63
8.	Análise de variância dos dados apresentados na tabela 2.	64
9.	Análise de variância dos dados apresentados na tabela 3.	64
10.	Variabilidade relativa.	64

1.2 FIGURAS

N.o	Assunto	Folha
1.	Fio de algodão colocado ao nível do sulco gengival do 1º. molar inferior esquerdo.	50
2.	Fármaco utilizado	51
3.	Posicionador para películas radiográficas tipo HAN SHIM	52
4.	Scanner UMAX UC 1260, com adaptador para transparência 2.400 DPI.	54
5.	Software, AutoCAD versão 12 for MS-DOS	54
6.	Mensuração da área total inter-radicular e da perda óssea	55

1.3 GRÁFICOS

N.o	Assunto	Folha
1.	Gráfico de barras representando as médias, em mm ² para área total inter-radicular segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.	65
2.	Gráfico de barras representando as médias, em mm ² , da perda óssea segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.	65
3.	Gráfico de barras representando as médias em percentagem de perda óssea segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.	66

1.4 SIGLAS

%	percentagem
a.C.	antes de Cristo
et al	e colaboradores
IgG	Imunoglobulina G
IgA	Imunoglobulina A
IgM	Imunoglobulina M
PMN	polimorfonuclear
IgE	Imunoglobulina E
FAM	fator de ativação de macrófagos
FIM	fator de inibição da migração do macrófago
FAO	fator de atividade osteoclástica
FQL	fator quimiotático de derivação de leucócitos
IL1	interleucina 1
IL2	interleucina 2
DL 50	dose letal 50
mg/Kg	miligrama por quilograma de peso
PGE1	prostaglandina E1
PGE2	prostaglandina E2
n°.	número
SPF	specific pathogen free
(a.a.)	ACTINOBACILUS ACTINOMYCETENCOMITANS
LBNF1	LEWIS BROWN NORWAY F1
g	grama
ml	mililitro
mg/ml	miligrama por mililitro
mg	miligrama
°C	grau celsius
seg	segundo

mm ²	milímetro quadrado
n.s.	não significante
c.v.	coeficiente de variação
mA	miliamper
Kv	kilovolts
GI	grupo 1
GII	grupo 2
GIII	grupo 3
irr	irritante
Sac	sacarose
GL	grau de liberdade
SQ	soma dos quadrados
QM	quadrado médio
F	teste de variância

2. RESUMO

Doenças periodontais são lesões que afetam os tecidos que protegem e sustentam os dentes em seus alvéolos e são as principais causas das perdas dos dentes após os 35 anos. Os achados mais antigos datam de 20.000 a 30.000 anos a.C.

A patogênese total da doença ainda não é conhecida, mas um dos principais fatores responsáveis pela destruição das estruturas periodontais de suporte é a participação do sistema imunológico, como mediador da resposta imunológica.

Neste estudo foi avaliado, através de radiografias, o efeito da ciclosporina, que é um imunossupressor seletivo para linfócitos T, na evolução da doença periodontal induzida em ratos.

Foram utilizados 36 ratos, machos (*Rattus Norvergicus*, *Albinus*, *Wistar*, *SPF*) com peso inicialmente variando de 200 a 240 g e com aproximadamente 2 meses de idade. Os animais foram divididos em 3 grupos: GRUPO I recebeu sacarose e irritante; GRUPO II, sacarose, irritante e ciclosporina; GRUPO III, água e irritante.

Ao final dos períodos experimentais, os animais foram sacrificados, suas mandíbulas retiradas, separadas na sínfise mentoniana e radiografadas. As interpretações das imagens radiográficas foram realizadas através de computador com o software AutoCAD versão 12 for MS-DOS, com o aplicativo CAD OVERLAY versão GSX 4.1 - número de série 110-108112.

Os resultados obtidos mostraram uma redução na perda óssea no GRUPO II, quando comparado aos demais, embora, não detectada por testes estatísticos. Isto não descarta a possibilidade da ciclosporina participar, em algum grau, nos mecanismos de destruição periodontal.

Palavras-chave:

Ciclosporina - Perda óssea - Doença periodontal

3. INTRODUÇÃO

Doenças periodontais são lesões que afetam os tecidos que circundam e sustentam os dentes em seus alvéolos⁵⁶.

A enfermidade periodontal é a principal causa da perda dos dentes em adultos, principalmente após os 35 anos⁶⁸.

A sua prevalência é de aproximadamente 100%, sendo a gengivite e a periodontite as responsáveis pela quase totalidade dessas doenças, não existindo nenhum povo livre de doenças periodontais.

A patogênese essencial da doença não é totalmente conhecida⁶⁸, mas um dos principais fatores no processo de degradação das estruturas periodontais de suporte é a participação do sistema imunológico, como mediador da resposta imunológica⁷⁹, o qual pode atuar tanto de uma forma protetora, como de uma forma destrutiva⁶⁶.

O conhecimento dos processos que participam na evolução das doenças periodontais é de grande valia para a aplicação de uma terapêutica periodontal satisfatória.

A ciclosporina, um fármaco relativamente novo obtido da fermentação de dois fungos *Trichoderma polysporum* e *Cylindrocarpon lucidum*, quando descoberta por BOREL, 1972, foi utilizada como agente antifúngico. De 1977 a 1979, BOREL et al. demonstraram as características imunossupressivas da droga, trabalhando com vários animais^{11,12}.

Posteriormente verificou-se que a droga induzia a um tipo seletivo de imunossupressão, atuando seletivamente no linfócito T, sem mielossupressão, ou seja, não atuando no linfócito B⁴⁹, fato este que causou

uma explosão nos estudos clínicos do tratamento de numerosos distúrbios mediados imunologicamente, incluindo a rejeição no transplante de órgãos, sendo esta, até hoje, sua principal aplicação²³.

Quando a reação inflamatória local é insuficiente para eliminar o agente infeccioso (antígenos), pode ser desencadeada uma resposta imune. O objetivo principal da resposta imune é identificar e se unir ao agente nocivo (o antígeno) e ativar os fagócitos (neutrófilos e macrófagos). Através destas funções (a segunda linha de defesa), o antígeno é neutralizado e decomposto e o hospedeiro é protegido, dando um caráter crônico ao processo característico das doenças periodontais⁵³.

Um dos principais efeitos colaterais da ciclosporina é a hiperplasia gengival. Este crescimento é sugerido como resultado de uma integração entre droga e seus metabólitos com fibroblastos gengivais suscetíveis⁸⁰.

O hospedeiro participa de uma forma importante na patogênese de muitos tipos de doença; nas periodontais isto não é diferente. Vários componentes do sistema imune são ativados na doença periodontal dependendo da condição de saúde ou doença dos tecidos⁶⁶.

O uso de animais em experimentos, além de eliminar o fator ético em desenvolver periodontite em humanos⁴⁹, oferece a vantagem de estudarmos a doença periodontal prospectivamente e não retrospectivamente³⁵.

Nos estudos das doenças periodontais, os ratos são facilmente manipulados e a destruição periodontal ocorre rapidamente⁷¹. Eles também apresentam certa semelhança na anatomia do periodonto, desenvolvimento e composição da placa bacteriana, histologia e imunologia básica das lesões periodontais⁴⁹.

4. PROPOSIÇÃO

4.1 PROPOSIÇÃO

Avaliar radiograficamente, o efeito da ação da ciclosporina, na evolução da doença periodontal induzida em ratos.

5. REVISÃO DA LITERATURA

5.1 HISTÓRIA DAS DOENÇAS PERIODONTAIS

Doenças periodontais são um grupo de lesões que afetam os tecidos que circundam e sustentam os dentes em seus alvéolos⁵⁶.

Os achados mais antigos datam de 20.000 a 30.000 anos a.C. Há aproximadamente 4.000 anos a.C., as doenças periodontais eram as mais comuns entre os egípcios e a higiene bucal já era preconizada⁵⁶.

Em 1746, FAUCHARD²⁶ recomendava como tratamento meticolosa raspagem dos dentes com instrumentos especiais para remoção de cálculo e prescrevia bochechos com dentifrícios e ferulização dos dentes amolecidos.

Em 1802, HUNTER⁴¹ propõe que a inflamação na gengiva é um fator importante na destruição do osso alveolar.

Em 1882, RIGGS⁷⁴ colocou a responsabilidade da doença de gengiva e osso, nos depósitos de cálculo, que impregnavam as raízes dos dentes, deixando-os rugosos. Afirmou que a "piorréia alveolar" iniciava-se com uma inflamação da gengiva e poderia ser curada com a remoção dessas rugosidades.

Em 1889, MILLER⁶³ foi o primeiro a relacionar bactéria com doenças periodontais, que estas são multifatoriais, resultado de uma infecção não específica e um desequilíbrio da relação normal entre hospedeiro e parasita.

O termo "placa dentária" foi primeiro utilizado por BLACK¹⁰, em 1898, para descrever a massa empastada de microorganismos sobre as lesões cariosas.

LÖE et al.⁵⁷, (1965), num trabalho clássico, estabeleceram a relação causa/efeito na gengivite: acúmulo de placa bacteriana produz gengivite; remoção da mesma cura da gengivite.

Hoje existem evidências de que a gengivite é a lesão inicial da periodontite crônica, porém uma gengivite não necessariamente progredirá para periodontite. As circunstâncias que envolvem a progressão de gengivite em periodontite ainda não são totalmente conhecidas⁷².

5.2 DOENÇA PERIODONTAL INFLAMATÓRIA CRÔNICA

Tem sido apontado que microorganismos presentes na placa bacteriana em contato com o sulco gengival e no interior da bolsa, ou substâncias derivadas deles, constituem o agente etiológico extrínscico primário e possivelmente o único participante na doença inflamatória gengival e periodontal⁷⁹.

Indivíduos mantidos sob rigoroso controle de placa bacteriana através de cuidados profissionais, ou seja, profilaxias, motivação e instrução nos cuidados caseiros de remoção de placa bacteriana não desenvolveram inflamação gengival nem perda de inserção durante três anos⁸⁸.

Remoção profissional mensal de placa bacteriana em crianças de 7 a 11 anos é suficiente para prevenir o desenvolvimento da gengivite⁸. Resultados

semelhantes foram encontrados com remoção profissional da placa bacteriana, mais cuidados caseiros em crianças de 7 a 14 anos⁵. Os mesmos autores, em 1981, estudando adultos divididos em 3 faixas etárias: menos de 35 anos, de 36 a 50 anos e acima de 50 anos, analisando gengivite e periodontite, e os pacientes recebendo limpeza profissional, motivação e instrução em higiene oral encontraram resultados semelhantes⁴.

Com relação à formação de placa bacteriana e gengivite, foi o trabalho clássico de LÖE et al.⁵⁷, (1965), que estabeleceu a relação causa/efeito. Submetendo estudantes de odontologia com gengivas saudáveis à suspensão total da higiene oral, permitindo o acúmulo de placa bacteriana. A contínua formação da mesma até que atinja maturação, ou seja, intensa capacidade patogênica, com a presença de bactérias gram-negativas, anaeróbicas facultativas e móveis, ocasiona gengivite marginal. A restituição dos hábitos de higiene oral reverte em poucos dias o quadro inflamatório gengival.

Embora exista uma aceitação total de que o fator etiológico primário das doenças periodontais é a placa bacteriana, muitas características significativas da doença podem ser explicadas apenas por substâncias presentes na placa bacteriana. Também os mecanismos de defesa do hospedeiro desempenham um papel essencial na patogenia da doença. Dados atualmente disponíveis mostram que as substâncias oriundas dos microorganismos da placa bacteriana são patogênicas porque têm a capacidade de ativar determinados mecanismos de defesa do hospedeiro que amplificam e induzem o dano tecidual⁷⁹.

Fatores sistêmicos podem comprometer os mecanismos de defesa contribuindo assim para o aumento da severidade das doenças periodontais, sendo alguns deles: estresse, diabetes, gravidez, dieta etc⁸².

A inflamação crônica sofre períodos de exacerbação e períodos de quiescência, dependendo do aumento da virulência dos microorganismos da placa bacteriana ou queda da resistência do hospedeiro⁷².

Estudos por cultura demonstram microbiota cultivável mais ou menos distinta na saúde periodontal e em diferentes formas de doenças periodontais⁷².

A cavidade oral possui características que facilitam o estabelecimento e crescimento de uma grande variedade de microorganismos, incluindo bactérias, fungos, vírus e protozoários⁷².

Calcula-se que o número de bactérias que habitam uma bolsa periodontal é de aproximadamente trezentas espécies. Supra-gengivalmente, as bactérias presentes, associadas com saúde periodontal, são cocos gram-positivos e bactérias em forma de bacilo⁷².

Quanto à composição microbiana da placa bacteriana em relação à gengivite, esta sofre alterações à medida que aumenta o período de permanência em torno do sulco gengival: numa primeira fase, o predomínio é de cocos gram-positivos e cocos gram-negativos; na segunda fase, predominam bastonetes gram-negativos e filamentos; numa terceira fase, há predominância de espirilos e espiroquetas. A mudança de uma flora predominantemente cocóide gram-positiva numa flora onde há predominância

de espirilos e espiroquetas (bactérias móveis), corresponde à inflamação gengival observada clinicamente, ou seja, gengivite clínica⁵⁷.

Nos estágios iniciais da periodontite, a flora bacteriana da bolsa periodontal é similar à da gengivite. O cultivo de amostras de placa bacteriana em lesões avançadas de doença periodontal revela uma predominância de bastonetes anaeróbicos gram-negativos. Ao microscópio, podem ser observados também elevados números de espiroquetas⁵³.

A composição das amostras bacterianas não só varia entre as doenças periodontais, como também em várias partes da boca e em vários sítios de uma mesma bolsa⁵³.

Existem dados suficientes para sugerir que organismos específicos estão associados a diferentes formas de doença periodontal em humanos. Hoje reconhece-se que diferentes formas de periodontite podem ser distinguidas em humanos⁷⁸. Há controvérsia sobre a etiologia microbiana específica e a não-específica das doenças periodontais em determinar como o hospedeiro responde a um agente infeccioso. Se uma única espécie patogênica é a causa da doença periodontal, então a patogênese da infecção, os mecanismos histológicos, a correlação entre a presença da bactéria, a atividade da doença, e a resposta do hospedeiro poderiam ser mais específicas. A teoria microbiana não-específica sugere que a quantidade de placa pudesse alcançar um ponto no qual a virulência combinada das bactérias presentes causaria a doença⁷².

Embora haja alguma evidência da presença de bactérias em casos severos e agudos de periodontite, a invasão dos tecidos na periodontite adulta não foi demonstrada através de experimentos⁷².

Produtos dos microorganismos mais que os próprios microorganismos são fatores fundamentais no início da doença periodontal⁸². Estes produtos são, por exemplo, toxinas, restos de metabolismo bacteriano em concentrações citotóxicas, algumas enzimas como fosfatases, aminopeptidases, fosfoamidases, glicosidases, condroinasulfatase, hialuronidase, com capacidade de decompor componentes intercelulares, tornando o epitélio da bolsa mais permeável, proteases que decompõem diversas proteínas importantes na defesa do hospedeiro, IgG, IgA e IgM, e também muitas outras proteínas plasmáticas⁵³.

A penetração de alguns desses produtos no tecido conjuntivo promove uma reação inflamatória aguda, caracterizada por uma vasodilatação microvascular, aumento do fluxo de neutrófilos e aumento na permeabilidade da rede microvascular. Com isso, aumenta o exudato gengival e a passagem para o tecido de proteínas plasmáticas entre as quais as imunoglobulinas. Muito embora os neutrófilos sejam recrutados para a área a fim de defender o hospedeiro contra o ataque bacteriano, o grande aumento destes é responsável pela maior parte do dano tecidual, pois eles têm uma vida muito curta e, na sua desintegração, liberam os componentes do seu citoplasma, sendo alguns deles citotóxicos. Esta fase caracteriza a lesão gengival inicial⁷².

Se a agressão continuar, os vasos permanecem dilatados. Além disso, aumenta o número de novos vasos e ocorre uma infiltração mais profunda de neutrófilos e mastócitos. Neste estágio, o infiltrado do tecido conjuntivo apresenta linfócito tipo T e B, alguns fibroblastos do infiltrado exibem sinais de

degeneração, as células basais do epitélio proliferam em cristas para o interior do infiltrado, determinando a lesão gengival precoce⁷².

Se a agressão ainda persistir, teremos o fluido que extravasa e o número de leucócitos que migram, aumentados ainda mais. Encontramos um grande número de plasmócitos maduros, a perda do colágeno prossegue em direção lateral e apical, a proliferação do epitélio é mantida, a face externa do epitélio da bolsa não está aderida à superfície dentária e encontra-se um denso infiltrado de neutrófilos e macrófagos bem como linfócitos e plasmócitos. A maioria dos neutrófilos migra para a bolsa através do epitélio, que pode estar acentuadamente delgado e, em muitas áreas, ulcerado. Nesta fase temos a lesão gengival estabelecida ou gengivite crônica, cujos sinais clínicos são hemorragia, vermelhidão e edema⁷².

Se o processo ainda persistir, o infiltrado propaga-se lateralmente e mais ainda no sentido apical; plasmócitos predominam, porém linfócitos, macrófagos e neutrófilos também estão presentes. Neste momento, pode ser observado histologicamente o primeiro sinal de destruição do osso alveolar que parece ser fundamentalmente a consequência da atividade osteoclástica. Nesta fase, temos a transição entre lesão gengival avançada e periodontite⁷².

5.3 DOENÇA PERIODONTAL EXPERIMENTAL EM RATOS

A doença periodontal no homem só pode ser estudada retrospectivamente, enquanto que no modelo animal esta poder ser estudada prospectivamente³⁵.

Dentre os animais estudados, o rato é o mais comumente utilizado, por apresentar algumas vantagens: 1^a) são mais fáceis de serem manipulados, 2^a) podem ser facilmente colocados sob condições "germ-free", 3^a) A destruição periodontal ocorre rapidamente⁷¹. Existem áreas em que o rato, como modelo experimental, é valioso: 1^o) estudos de patogenicidade, 2^o) estudos na importância da disfunção imunológica e 3^o) estudos de imunização⁴⁹.

Os ratos apresentam, epitélio gengival oral, epitélio sulcular oral, epitélio juncional, fibras colágenas periodontais, cemento celular e acelular, e osso alveolar muito semelhantes aos humanos^{54,70,71}. A única diferença é que o epitélio sulcular gengival é queratinizado podendo com isso interferir com os metabólitos da placa, porém estudos têm demonstrado isso não ser problema pois os metabólitos penetram no tecido conjuntivo via epitélio juncional²⁹.

Os achados clínicos e histológicos da doença periodontal experimental em ratos são similares aos achados no homem; um infiltrado de células inflamatórias contendo linfócitos T e B, macrófagos, PMN neutrófilos aparecem no tecido conjuntivo⁴³, e PMN neutrófilos migram através do epitélio para a bolsa^{36,43}.

A placa bacteriana em ratos, no seu início, consiste de streptococcus e à medida que fica mais espessa, gram-negativos e organismos anaeróbicos aparecem após um mês e podem constituir 25% da flora da placa. Após seis meses, surgem espiroquetas que, embora não fossem encontradas anteriormente, quando aparecem, proliferam de forma considerável⁴⁵.

Espiroqueta, que é um patógeno importante no homem, no rato não consegue proliferar com sucesso, mesmo em placas mais antigas^{28,58}. É possível que o pH é que determine isto. O pH da saliva do rato é de 7,5 a 8,4; enquanto que o pH favorável à espiroqueta é de 6,5 a 7,2³.

Streptococcus sóbrius e *Streptococcus salivarius* não têm sido associados à doença periodontal humana; *Actinomyces viscosus*, *Actinomyces naeslundii* e *Actinomyces israelii* estão associados com gengivite^{59,83}, mas somente em raros casos de doença periodontal avançada⁸³. Entretanto, *Actinomyces viscosus* é capaz de estimular reabsorção óssea, e o fato de que streptococcus e espécies de actinomyces podem induzir perda óssea periodontal por monoinfecção em ratos indica que esses microorganismos têm potencial periodontopático⁶.

5.4 SISTEMA IMUNOLÓGICO

A resposta do hospedeiro tem um papel importantíssimo na patogênese de muitos tipos de doença periodontal, por contribuir para o processo da doença ou por modular os efeitos das bactérias. Vários componentes do sistema imune são ativados nas doenças periodontais. Os neutrófilos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos variam em número dependendo da condição de saúde ou doença dos tecidos. Os anticorpos locais, sistêmicos e o complemento para as bactérias orais também são de significância. Estas variáveis do hospedeiro podem influenciar a colonização e invasão bacteriana, destruição tecidual, cicatrização e fibrose⁶⁶.

Existem duas partes distintas, porém inter-relacionadas no sistema imunológico: 1^a) imunidade humoral que, nos humanos, é representada pelo tecido linfóide. Estas células, conhecidas como linfócitos B, sob a exposição ao antígeno dão origem aos plasmócitos maduros que produzem a imunoglobina circulante. 2^a) imunidade mediada por células, que são executadas pelos linfócitos T, que se diferenciam sob a influência do timo³⁴. Neste caso, a reação entre o antígeno e os linfócitos locais produzem linfócitos “sensibilizados”, que deixam o linfonodo e entram na circulação. Representam um sistema de vigilância altamente específico do organismo visto que podem detectar, localizar e proliferar no local em que se encontra o antígeno. Quando os linfócitos T “sensibilizados” reconhecem seu antígeno específico, liberam linfocinas, que são substâncias biologicamente ativas, capazes de causar citotoxicidade⁸².

No caso da imunidade humoral, manifestam-se de quatro maneiras descritas por GELL et al³² : 1^a) reações anafiláticas, também chamadas de hipersensibilidade imediata, ocorre quando uma classe específica de anticorpos (IgE) é produzida localmente pelos plasmócitos, sendo o produto final a liberação de histamina, moléculas de lipídeos e bradicinina pelas células³². Esses mediadores produzem constrição do músculo liso, edema resultado do aumento da permeabilidade capilar, constrição das pequenas veias, agregação plaquetária e mobilização de fagócitos⁶⁷. 2^a) são as reações citotóxicas, que envolvem a reação entre anticorpos (IgG e IgM) sintetizadas pelos plasmócitos e as células revestidas pelos antígenos. Dela resulta a lise celular e a liberação de lisossomos. 3^a) reação de Arthus, também denominada de complexo-imune. Este sistema existe no sangue circulante e é constituído pelos

plasmócitos que, através de seus anticorpos (IgM), reconhecem a endotoxina produzida pelos microorganismos formando um complexo antígeno-anticorpo no interior e em volta das paredes dos pequenos vasos. Este complexo ativa um sistema de proteínas do soro (sistema do complemento), a ativação do complemento sérico, pode resultar em numerosas alterações destrutivas nos tecidos, que incluem aumento da permeabilidade vascular, quimiotaxia dos neutrófilos. Os leucócitos podem absorver esses complexos, o que leva à liberação de enzimas lisossômicas destruidoras dos tecidos⁸². 4ª) são as reações de hipersensibilidade retardada, também denominadas de imunidade mediada por células, que dependem da presença de células sensibilizadas. Em vez de anticorpos circulantes, caracteriza-se por acentuada infiltração de células linfóides e macrófagos. As células se localizam em volta dos vasos sanguíneos, linfocinas podem ser liberadas das células linfóides ativadas. Estas substâncias recrutam e ativam outras células linfóides e macrófagos e contribuem, em grande parte, para o dano tecidual que geralmente, se deve à secreção de grandes quantidades de hidrolases ácidas e colagenase através dos macrófagos ativados pelas linfocinas⁷⁹.

5.5 SISTEMA IMUNOLÓGICO E DOENÇA PERIODONTAL

As respostas imunes podem tanto ser benéficas (protetoras) como injuriosas (destrutivas)⁶⁶.

A maior parte das substâncias produzidas e liberadas pelos microorganismos da placa são antigênicas, desencadeando reações imunológicas mediadas tanto por células como por anticorpos⁷⁹.

Pessoas que estejam recebendo um rigoroso controle de placa (profissional e caseiro) apresentam uma gengiva clinicamente normal, porém histologicamente existe um ligeiro infiltrado inflamatório. Na saúde periodontal extrema, esse infiltrado não aparece. No primeiro caso, a titulação de anticorpos sorológicos é baixa⁶⁶.

Na gengivite avançada e periodontite, as células plasmáticas são a forma mais comum de células inflamatórias. Linfócitos encontrados na periodontite são normalmente células B; as células T constituem menos de 6% da população de linfócitos⁶⁶.

A importância das células B na patogênese da doença periodontal foi demonstrada experimentalmente em ratos timectomizados, portanto desprovidos de células T, com predominância de células B. Mostraram uma perda óssea aumentada, em contraste, quando células T preponderavam em ratos timectomizados, reconstituídos por injeção de células T ou em animais normais, houve menor perda óssea. A doença periodontal progressiva parece portanto estar associada com lesões dominadas por células B.⁹²

Na lesão inicial, a ativação do complemento, no sulco gengival, resulta em uma interação anticorpo-bacteria, liberação de endotoxina, estímulo quimiotático dos leucócitos, liberação de enzimas lisossômicas dos leucócitos, aumento da permeabilidade epitelial, ativação do complemento. Também promove aumento da permeabilidade vascular, reações de hipersensibilidade ocorrem liberando histamina, aumentando com isso a permeabilidade vascular⁹².

Na lesão precoce, continua o aspecto da lesão inicial, porém já aparecem alterações patológicas nos fibroblastos com perda de colágeno e o infiltrado inflamatório contém aproximadamente 75% de linfócitos. Isto indica consistência com a imunopatologia mediada por células incluindo citotoxicidade para fibroblastos e liberação de collagenase pelos macrófagos⁶⁷.

Na lesão estabelecida, continua a perda de colágeno, ocorre um infiltrado de células plasmáticas localizadas perivascularmente no fundo do sulco, sugerindo uma doença complexo-imune, com infiltração perivascular, hipersensibilidade imediata e atividade de collagenase⁶⁷.

Na lesão avançada, ocorre nova perda de colágeno, atividade osteoclástica, no infiltrado inflamatório predominam células plasmáticas (algumas das quais se degenerando), linfócitos e macrófagos. Isto representa doença complexo-imune e imunidade mediada por células⁶⁷.

O acúmulo de células plasmáticas e linfócitos nos tecidos periodontais sugere que as linfocinas participam na patologia da doença periodontal, sendo mais importantes as seguintes: fator de ativação de macrófagos (FAM), fator de inibição da migração do macrófago (FIM), fator quimiotático de derivação de

leucócitos (FQL) e fator de atividade osteoclástica (FAO), linfocinas estas produzidas pelos linfócitos T “sensibilizados” após a segunda exposição aos antígenos⁶⁸.

BEEN & ENGEL⁷, estudando o comportamento periodontal em pacientes que receberam transplantes de rim, em um intervalo de 9 meses, recebendo drogas imunossupressivas como parte de seu tratamento (azatioprine - Imuram e glucocorticosteróide - prednisone), obtiveram como resultado, devido à administração dessas drogas, redução do nível de inflamação gengival na presença de altos índices de placa bacteriana, profundidade de sondagem não modificou significativamente no grupo de transplantados nem no grupo controle. Enquanto não-conclusivo, estes achados suportam a hipótese de que a resposta inflamatória do hospedeiro e a responsabilidade imunológica das bactérias da placa dental são o fatores primários na patogênese da doença periodontal destrutiva em humanos.

5.6 CICLOSPORINA COMO FÁRMACO

CICLOSPORINA - Ciclo (3- hidróxi - 4 metil - 2 (metilamino) - 6 - octenoil) - L - 2 - aminobutiril - N - metilglicil - N - metil - L - leucil - L - valil - N - metil - L - leucil - L - alanil - D - alanil - N - metil - L - leucil - N - metil - L - leucil - N - metil - L - valil) .

Um endecapeptídeo extraído dos fungos encontrados na terra, TRICHODERMA POLYSPORUM E CYLINDOCARPOS LUCIDUM com efeitos antifúngicos e imunossupressores, freqüentemente utilizados para prevenir rejeição de órgãos e tecidos transplantados.

De acordo com MEDLINE⁶², os nomes também utilizados são: ciclosporin, ciclosporina-A, OL-27-400, sandimmun, sandimmune, ciclosporin-A, -A, ciclosporina, OL 27 400.

Ciclosporina é um potente agente imunossupressor que tem sido utilizado particularmente no transplante de órgãos. A única ação da droga é seletiva nos linfócitos T, sem mielossupressão, permitindo que outras células do sistema imune permaneçam intactas⁴⁹.

Ciclosporina é lipolítica, moderadamente bem absorvida pelo intestino e metabolizada pelo fígado, a droga é nefrotóxica, hepatotóxica e neurotóxica, também tem sido associada com hipertensão, síndrome hemolítica-urêmica, hipertricoses, aumento da incidência de trombos intravasculares, hiperplasia gengival e desordens linfoproliferativas³³.

Ciclosporina é um polipeptídeo cíclico lipofílico, o qual produz dependência de cálcio, específica e reversível, inibição da interleucina-2 e

várias outras citocinas, mais notadamente nos linfócitos T-helper. Inibe a ativação e ou maturação de vários tipos de células, incluindo aquelas envolvidas na imunidade mediada por células. Então a ciclosporina tem propriedades imunossupressivas e é utilizada na terapia da primeira linha de defesa, na profilaxia e tratamento da rejeição de transplantes. Também é utilizada em vários outros tipos de doença, como por exemplo síndrome ocular aguda de BEHCET'S, uveítes endógenas, psoríase, dermatites, artrite reumatóide, doença ativa de CROHN'S, síndrome nefrótica, cirrose biliar primária²⁷, diabetes mellitus tipo I, várias desordens autoimunes²⁴. Sendo seus efeitos colaterais mais evidentes: hipertricoses, hiperplasia gengival, efeitos neurológicos e gastrointestinal, porém podem ser diminuídos ou eliminados com a redução da dose, portanto seu efeito é dose dependente²⁷.

Pacientes que recebem tratamento com ciclosporina visando sucesso no transplante de órgãos apresentam o sistema imunológico deficiente, estando potencialmente propensos a adquirirem infecções oportunistas no período pós-transplante⁹⁵.

Desde a descoberta de sua propriedade imunossupressiva, vários estudos têm mostrado que a droga tem uma ação seletiva nos linfócitos T, com pequena ou nenhuma ação nos linfócitos B.^{15,39}

A farmacodinâmica da ciclosporina envolve principalmente a resposta das células T e o papel dessas células é sumariado a seguir: (a) reconhecimento do antígeno como material estranho; (b) processamento dos antígenos pelos macrófagos com a subsequente produção e liberação das células de interleucina 1 (IL1); (c) ativação da interleucina 1 (IL1) dos

precursores citotóxicos dos linfócitos T, os quais adquirem receptores para interleucina 2 (IL2); (d) ativação dos linfócitos T - helper com a produção e liberação de interleucina 2 (IL2), as quais são acentuadas pela interleucina 1 (IL1); (e) a amplificação clonal da atividade citotóxica dos linfócitos T a qual causa lise mediada por células e rejeição do enxerto; (f) ativação dos linfócitos T supressores os quais podem modular estas respostas. A ciclosporina inibe vários desses estágios, atuando tanto no nível celular quanto molecular, sendo esses efeitos dose dependente³⁹.

A ciclosporina, primeiramente utilizada como agente antifúngico, foi descoberta por BOREL em (1972) nos laboratórios da Sandoz, e em (1976), (1977), (1979), BOREL et al. demonstraram as características imunossupressivas desta droga trabalhando com vários animais^{11,12}.

Com poucas exceções, as tentativas atuais para influenciar a resposta imune ainda se apóiam na exploração dos "efeitos colaterais" de drogas que foram introduzidas originalmente para outras finalidades¹³.

A ciclosporina é uma proteína composta de 11 aminoácidos, tem um peso molecular de 1202,6, muitos desses aminoácidos são N - metilados, e um deles não se conhece existir em outro tecido biológico ou produto²⁴.

A ciclosporina tem uma vida média metabólica de aproximadamente 4 horas, é metabolizada pelo fígado em 14 metabólitos agora conhecidos, e 90% desses são excretados pelo fígado através da bile para as fezes, os restantes 10% são excretados pela urina, e menos que 0,1% da ciclosporina é excretada em forma de molécula ativa^{18,31}, utilizando concentrações de ciclosporina em grupos de ratos que variavam de 10 a 30 mg/kg de peso, quanto ao

crescimento gengival, avaliando histopatologicamente as dimensões gengivais, concluíram que existe um efeito dose dependente na severidade do crescimento gengival induzido por ciclosporina.

A DL 50 oral da ciclosporina é 2.3, 1.5 e 1.0 mg/Kg, para mice, ratos e coelhos respectivamente⁵².

A droga suprime a função linfocítica, sem interferir na capacidade de migração e fagocitária das células fagocitárias⁵².

A ciclosporina é um poderoso inibidor das reações inflamatórias imunomediadas e crônicas, mas não tem nenhum efeito nas inflamações agudas¹³.

Dados experimentais indicam que a ciclosporina exerce um efeito imunossupressivo seletivo no mínimo de três maneiras diferentes: 1^a) inibindo a ativação da macrófase, interferindo com isso na síntese de interleucina 1 (IL1); 2^a) prevenindo a produção de receptores de interleucina 1 na superfície dos linfócitos T - helper e a síntese de interleucina 2 (IL2); 3^a) prevenindo a formação de receptores de interleucina 2 nos linfócitos indiferenciados portanto bloqueando a produção de mais linfócitos T helper, linfócitos T supressores e linfócitos T killer²⁴.

5.7 REABSORÇÃO ÓSSEA

A perda do osso alveolar é uma característica fundamental na doença periodontal destrutiva (periodontite) é mais provável que o osso seja perdido

basicamente em consequência da atividade osteoclástica, mas pode resultar também de atividade osteogênica reduzida ou prejudicada⁷².

A função do osteoclasto pode ser modulada por diversos fatores derivados da microbiota da placa, células inflamatórias ou nativa dos tecidos¹³.

Uma das substâncias mais importantes na função do osteoclasto são as prostaglandinas, PGE1 e PGE2. As prostaglandinas têm capacidade de mediar a resposta inflamatória aguda, modular a resposta imunológica, suprir a atividade mitótica, alterar a capacidade de síntese de diversas células, supressão da síntese e renovação de colágeno e indução da reabsorção óssea⁷⁹.

Estudos da ação da ciclosporina no tecido gengival in vitro e in vivo demonstraram uma redução na síntese de PGE2, demonstraram também que essa diminuição na síntese é dose dependente⁶⁵.

Também a interleucina 1 (IL1), produzida e liberada localmente na doença periodontal, em concentrações suficientes, pode também mediar a inflamação tecidual e a reabsorção óssea, agindo de duas maneiras principais: uma seria a inibição de síntese de prostaglandina E2 (PGE2), outra como potente indutor de perda de cálcio⁶¹.

Outras substâncias que participam do metabolismo ósseo seriam as linfocinas, sendo no caso, a principal a (FAO) fator de ativação de osteoclasto⁶⁸.

Substâncias de 3 tipos têm sido identificadas como indutoras da reabsorção óssea, in vitro: material microbiano da placa dental, substâncias extraídas da gengiva e fatores gerados pela ativação do sistema imunológico⁷⁹.

MIYAUCHI et al.⁶⁴, sugeriram que a reabsorção óssea causada por PGE2 é dependente da ativação e aumento de osteoclastos e é produzida endogenicamente pelas células do hospedeiro estimuladas pela endotoxina bacteriana associada à placa dental, podendo ser um fator patogênico importante na doença periodontal.

5.8 CICLOSPORINA X DOENÇA PERIODONTAL

5.8.1 CRESCIMENTO GENGIVAL

Um dos principais efeitos colaterais da ciclosporina é a hiperplasia gengival. Estudos clínicos e de cultura de células sugerem que o mecanismo do crescimento gengival é resultado de uma interação entre a droga e seus metabólitos com os fibroblastos gengivais suscetíveis e placa induzindo inflamação gengival parece aumentar esta interação. Esta alteração gengival é reversível com a cessação do uso da droga⁸⁰.

O crescimento gengival está associado principalmente a 3 tipos de droga: 1^a) anticonvulsionante (fenitoína), 2^a) bloqueadores de canal de cálcio (nifedipina, verapamil, diatiazem) e 3^a) imunossupressoras (ciclosporina)⁶⁹.

A incidência do crescimento gengival em pacientes tratados com ciclosporina tem sido reportada como variando de 10 à 70%³¹.

O crescimento gengival incluindo tanto o lado buco-lingual, mésio-distal e vertical foram significativamente maiores com o aumento da dosagem de ciclosporina³¹.

Há várias características comuns na hiperplasia gengival induzida por essas drogas: 1^a) o crescimento gengival é mais visível no lado bucal que no lingual e menos severo na maxila que na mandíbula. 2^a) Uma vez alcançado

um certo nível na concentração sangüínea, a incidência de aumento gengival é de 100% e a severidade depende do nível no sangue. 3ª) A duração da administração da droga para o máximo crescimento gengival é cerca de 40 dias. 4ª) A hiperplasia gengival regride espontaneamente após interromper o uso da droga. 5ª) Acumulação de placa dental não é essencial para o início da hiperplasia, mas desempenha um papel importante na severidade. 6ª) A hiperplasia gengival é mais severa em jovens que em ratos adultos⁶⁹.

A distribuição da hiperplasia foi significativamente maior no lado bucal que no lingual ou palatino, não existindo porém diferença no crescimento gengival entre a região superior e a inferior. Essa diferença foi associada ao aumento dos níveis de placa⁹³.

DALEY et al.²³, estudando 100 pacientes, não encontraram relação direta entre a dose oral ou a concentração no soro de ciclosporina e a severidade da hiperplasia gengival. A presença de placa dental, sim, estava relacionada com o aumento gengival.

Crescimento gengival não foi relacionado com a dosagem de ciclosporina; pacientes recebendo ciclosporina ou uma associação de ciclosporina com nifedipina, apresentavam aumento gengival e a severidade do aumento gengival era maior em pacientes que recebiam a terapia combinada. Os níveis de placa e inflamação gengival parecem estar associados a este fenômeno⁹⁴.

SEYMOUR et al.⁸¹, estudando 27 pacientes que receberam transplantes renais, divididos em 2 grupos: um recebeu instruções intensivas de higiene oral, raspagem e aplainamento radicular e o outro não. Ao final de 6 meses, o

grupo que recebeu controle de placa e remoção de irritantes locais teve algum benefício na saúde gengival, porém essas medidas por si só não foram eficazes na prevenção da hiperplasia gengival em pacientes que receberam tratamento com ciclosporina.

Na presença de placa dental, foi encontrada uma correlação entre hiperplasia gengival, mas somente uma fraca correlação quanto à abundância de placa dental e severidade do aumento gengival. Em pacientes após a cessação da terapia com ciclosporina de 1 a 18 meses, houve a reversão da hiperplasia gengival²³.

SOMACARRERA et al.⁸⁵, estudando 100 pacientes que sofreram transplantes de coração, fígado e rim, sugerem que o fator básico que influencia a hiperplasia gengival é a concentração de ciclosporina no sangue, seguido pelos níveis de placa dental e gengivite e que um programa de higiene oral antes da cirurgia é recomendado.

Não foi observado crescimento gengival em áreas edêntulas. Baseado nisto podemos concluir que a eliminação da placa dental é uma medida importantíssima na hiperplasia gengival induzida por ciclosporina e que o dente e o periodonto têm uma significativa importância na patogênese da hiperplasia gengival induzida por ciclosporina⁸⁶.

ADACHI et al.¹, estudando ratos com 20 dias de idade, recebendo ciclosporina e sendo alimentados com dieta nº 2.000, contendo 56% de sacarose, encontraram um grande aumento gengival nos molares inferiores, sendo este aumento mais evidente no lado bucal que lingual. Os animais tratados com esse tipo de dieta mostraram escores significativamente maiores

de crescimento da placa dental, entretanto a hiperplasia gengival provocada pela ciclosporina foi pouco afetada por esse aumento nos escores de placa dental.

KITAMURA et al.⁴⁸, estudando ratos SPF (specific pathogen-free), recebendo ciclosporina e sendo alimentados com a dieta nº 2000, contendo 56% de sacarose encontraram marcante crescimento gengival na mandíbula dos ratos alimentados com esta dieta.

5.9 DOENÇA PERIODONTAL X IMUNOSSUPRESSÃO EM RATOS

Em contraste com o homem que é uma espécie granulocítica, o rato é predominantemente linfocítica^{50,90}. Entretanto, granulócitos considerados como a 1ª. linha de defesa contra patógenos periodontais podem ser menos eficientes no rato que no homem. A resposta imune, sendo uma resposta linfocítica, é relativamente mais importante. Os órgãos linfáticos do rato incluem timo, baço, nódulos linfáticos e nódulos de PEYER'S^{16,40,50}, onde há predominância de subpopulações de células B, T helper e T supressoras. No baço e nódulos linfáticos, as células B e T se agregam em compartimentos separados^{30,40,50}. A imunoglobulina sérica que predomina no rato é a IgG e a quantidade de IgM e IgA é cerca de 10 vezes menor que a IgG^{90,91}. Na saliva do rato predomina IgG e na do homem IgA¹⁴. Os ratos também expressam uma reação imune típica da reação imune mediada por células⁹⁶.

Achados imunológicos questionam se as reações imunes são protetivas, mas insuficientes para a destruição do tecido periodontal¹⁷.

Deficiência imunológica de linfócito T pode ser estudada em ratos congenitalmente atímicos, ratos timectomizados ao nascer ou em ratos tratados com ciclosporina, e a deficiência de linfócitos B pela indução de anti-IgM⁹⁶.

Achados periodontais em ratos imunossuprimidos são inconclusivos. Em um estudo de severa e rápida perda óssea em ratos irradiados por todo o corpo, o achado não é conclusivo porque não inclui ratos livres de radiação como controle⁴⁶.

Achados em ratos linfócito T deficientes são conflitantes. Alguns investigadores reportam que ratos linfócito T deficientes, desenvolveram mais perda óssea alveolar que ratos normais em resposta à flora mista^{92,97}. Outros não reportam uma significativa deficiência entre ratos linfócito T deficientes e ratos normais⁴². Esta discrepância pode ser atribuída à diferença entre os tipos de ratos ou diferenças na sensibilidade dos métodos diagnósticos. Perda óssea induzida por *Actinobacillus actinomycetencomitans* (a.a.) pode ser agravada pela deficiência de células T, entretanto perda óssea devido à *Streptococcus sobrius*, *Actinomyces viscosus* ou *Porfiromona gingivalis* não. A mensuração de anticorpos específicos parece apoiar esta última explicação, devido a ratos timectomizados e normais produzirem aproximadamente a mesma quantidade de anticorpos séricos indicando que a maior resposta dos anticorpos é timo-independente. Ratos tratados com ciclosporina A e timectomizados tendem a desenvolver títulos baixos de anticorpos comparados com ratos normais em células T^{37,51}.

FISCHER & KLINGE²⁹, estudando clínica e histologicamente o efeito da ciclosporina-A, na progressão da doença periodontal em furões, utilizando os

parâmetros clínicos: índice gengival, profundidade de sondagem da bolsa, sondagem do nível de inserção e crescimento gengival, e histológicos: distância entre a união esmalte-cimento e a crista óssea alveolar e perda de inserção do tecido conjuntivo. Encontraram no grupo experimental um aumento significativo nas médias dos valores de profundidade de sondagem da bolsa e sondagem do nível de inserção, crescimento gengival também foi notado. Os resultados histológicos mostraram uma significativa perda de inserção e reabsorção óssea.

Estudos realizados em ratos deficientes em linfócitos B indicaram que a redução moderada temporária no número de células B, no momento da infecção, agrava a perda óssea periodontal. Estes resultados podem indicar que a deficiência de células B está associada à progressão da doença periodontal, entretanto não sabemos se a redução no número de células B reduz também sua função⁵¹.

Se a destruição vista na periodontite é causada principalmente pela hiper-reação imunológica contra a bactéria periodontal, nós devemos esperar que a destruição seja menos pronunciada em animais com uma resposta imunológica reduzida⁴⁹.

Experimentos em ratos imunocomprometidos indicam que a imunossupressão generalizada ou seletiva pode agravar a doença periodontal. Em particular, o estado imunológico do hospedeiro, no momento da introdução dos patógenos periodontais, parece ser importante no desenvolvimento da periodontite⁴⁹.

Experimentos de imunização em ratos indicam que a periodontite pode ser prevenida pela imunização contra os patógenos periodontais. Entretanto,

experimentos também revelam que a imunização em alguns casos pode induzir destruição periodontal. Para evitar tais efeitos adversos, é crucial que a via de imunização, tão bem quanto a composição e dosagem da preparação do antígeno seja selecionada com cuidado⁴⁰.

LISTGARTEN et al.⁷¹, concluíram que o processo destrutivo em resposta às bactérias gram-negativas pode ocorrer na ausência de respostas imunes mediada por células e suportam a proposição de IRVING et al.⁴⁴, de que um mecanismo mediado por endotoxina é o provável componente na reabsorção do osso.

Em nenhum caso, nas experiências realizadas por CRAWFORD et al.^{21, 22}, como também as realizadas por GUGGENHEIM & SCHROEDER³⁶, parece demonstrar que o sistema imunológico do rato, quando manipulado experimentalmente, pode modular a doença e a característica da lesão. Em ratos sensibilizados, as lesões contêm tanto um infiltrado linfocitário quanto um infiltrado rico em plasmócitos, os quais são raros ou ausentes em animais não-sensibilizados experimentalmente, mas infectados por bactérias gram-positivas ou gram-negativas⁷¹.

GUGGENHEIM et al.³⁷, investigando se a imunossupressão com ciclosporina A tinha um efeito no estabelecimento e progresso da doença periodontal em ratos monoassociados com *actinomyces viscosus* Ny1. O experimento contou com 2 tipos de tratamento, em 2 grupos de ratos isolados. No 1º grupo, além de ciclosporina A, os animais receberam dieta nº 2000 com 56 % de sacarose; no 2º grupo (controle), dieta 2000 sem ciclosporina A, placa dental e osso alveolar foram avaliados. Concluíram que perda óssea foi

observada em ambos os grupos; investigações hematológicas e histológicas revelaram mínima diferença entre os dois tratamentos e concluíram que a doença periodontal em ratos monoinfectados parece ser resultado de etiologia multifatorial e não estar estritamente correlacionados com hipersensibilidade célula T dependente.

Ciclosporina A é um potente inibidor da síntese de interleucina 2 (IL2) pelo linfócito T helper, inibindo significativamente a perda óssea periodontal em ratos LBNF 1 induzida por ligadura. COX et al.²⁰, estudaram o papel da síntese de interleucina 2 (IL 2) no desenvolvimento e progressão da perda óssea periodontal em ratos LBNF1 com ligadura. Quatro grupos de ratos, com ligadura colocada no segundo molar superior esquerdo, por 29 dias, foram estudados: GRUPO A recebeu diariamente ciclosporina A na concentração de 10 mg/kg de peso corpóreo; GRUPO B recebeu constante administração subcutânea de interleucina 2 (IL2) purificada de rato; GRUPO C recebeu ambos ciclosporina A e interleucina 2 (IL2); GRUPO D (controle) não recebeu nenhuma substância. No GRUPO A houve inibição da perda óssea, no GRUPO B não houve efeito na perda óssea comparado com o controle, no GRUPO C demonstrou também perda óssea com níveis não diferentes do GRUPO D (controle). Concluíram que a administração de interleucina 2 (IL2) reverte a inibição da perda óssea produzida pela ciclosporina A. A função das células T, isto é IL2, parece ser necessária para a perda óssea.

Estudos demonstraram que ligaduras colocadas em torno dos segundos molares superiores de ratos induzem significante reabsorção óssea. Ciclosporina A (10mg/kg de peso), administrada diariamente durante o período

em que a ligadura ficou colocada em ratos LBNF 1, inibiu o desenvolvimento de perda óssea (93% de inibição). Este estudo foi desenvolvido para avaliar a destruição periodontal induzida por ligadura em ratos, heterozigotos e homozigotos, congenitalmente sem timo, os quais são deficientes em linfócitos T funcionais, recebendo ciclosporina-A (10 mg/kg peso) clinicamente por intubação gástrica. Ambos, ratos heterozigotos e ratos homozigotos, apresentavam significativa perda óssea em 7 dias, embora significativamente menos que nos LBNF 1 com ligadura, demonstrando inibição de perda óssea pela ciclosporina A. 16 ratos foram utilizados, em 8 deles foi colocado a ligadura no segundo molar superior, metade de cada grupo, recebeu ciclosporina na dosagem de 10 mg/kg., diariamente por intubação gástrica. Foram sacrificados após 7 dias e a perda óssea mensurada. Ambos apresentavam significativa perda óssea, embora os com ligadura uma significativa perda maior.

É possível que a perda óssea induzida pela ligadura seja mediada por outros mecanismos, que interleucina 2 (IL2), atividade de linfócitos T em ratos ou que esta espécie seja resistente a pequenas doses de ciclosporina A¹⁹.

6. MATERIAIS E MÉTODOS

6.1 ANIMAIS UTILIZADOS

Para a presente pesquisa foram utilizados 36 ratos machos (*Rattus Norvegicus, Albinus, Wistar, SPF*), com peso inicialmente variando de 200 a 240 g e com aproximadamente 3 meses de idade, originários do Centro de Bioterismo-Unicamp. Durante os experimentos, os animais foram tratados com ração "Labina" (Purina) e água "ad libitum", porém nos GRUPOS I e II, foi adicionada sacarose na proporção de 20%. REBELLO⁷³, para aumento de placa supra gengival, durante os 15 dias iniciais do experimento.

6.2 SISTEMATIZAÇÃO DA PESQUISA

Após verificação das boas condições gengivais, os animais foram divididos aleatoriamente em 3 (três) grupos :

GRUPO I - Sacarose + irritante

PERÍODOS EXPERIMENTAIS

10 20 30 dias

03 05 07 animais

GRUPO II - Sacarose + irritante + ciclosporina

PERÍODOS EXPERIMENTAIS

10 20 30 dias

03 06 07 animais

GRUPO III - Água + irritante

PERÍODOS EXPERIMENTAIS

30 dias

05 animais

6.3 INDUÇÃO DA DOENÇA PERIODONTAL

Os animais foram anestesiados com hidrato de cloral a 10% (*), na dosagem de 0,3 g/kg de peso corporal. Após este procedimento, foi colocado um fio de algodão de cor preta (**), ao nível do sulco gengival do 1º molar inferior do lado esquerdo, (fig. 1) para atuar como irritante gengival e favorecendo o acúmulo de placa bacteriana, servindo o molar contra lateral como controle⁷⁷.

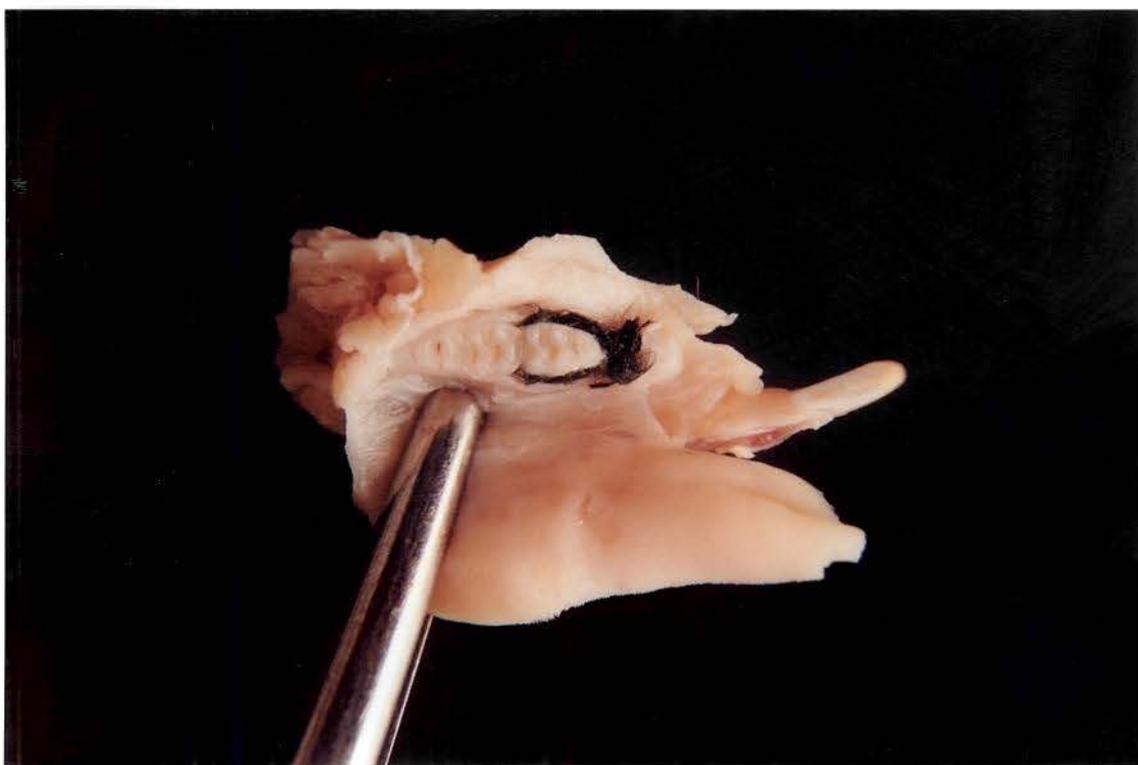


Figura 1: Fio de algodão colocado ao nível do sulco gengival do 1º. molar inferior esquerdo

(*) - Quimibrás - Indústrias Químicas S/A

(**) - Linhas marca círculo, tipo Cléa 125 - Indústrias de Linhas Leopoldo Schmatz S/A

6.4 DOSE DE CICLOSPORINA

A dose administrada foi de 10 mg/kg de peso corporal dia, injetada subcutaneamente em uma única vez conforme descrito por SPOLIDÓRIO⁸⁷.

Sendo que a ciclosporina utilizada (fig. 2), pertencia ao mesmo lote de fabricação, assim diluída, e calculada a dose:

concentração original - ampola de 50 mg/ml
diluição 10 vezes { 9 ml de soro fisiológico
 { 1 ml de ciclosporina

CÁLCULO DA DOSE:

50 mg - 10 ml

5 mg - 1 ml

10 mg - 2 ml

2 ml - 1.000 g

x - peso do animal

base de cálculo 0,5 ml para cada 250 g peso do animal.

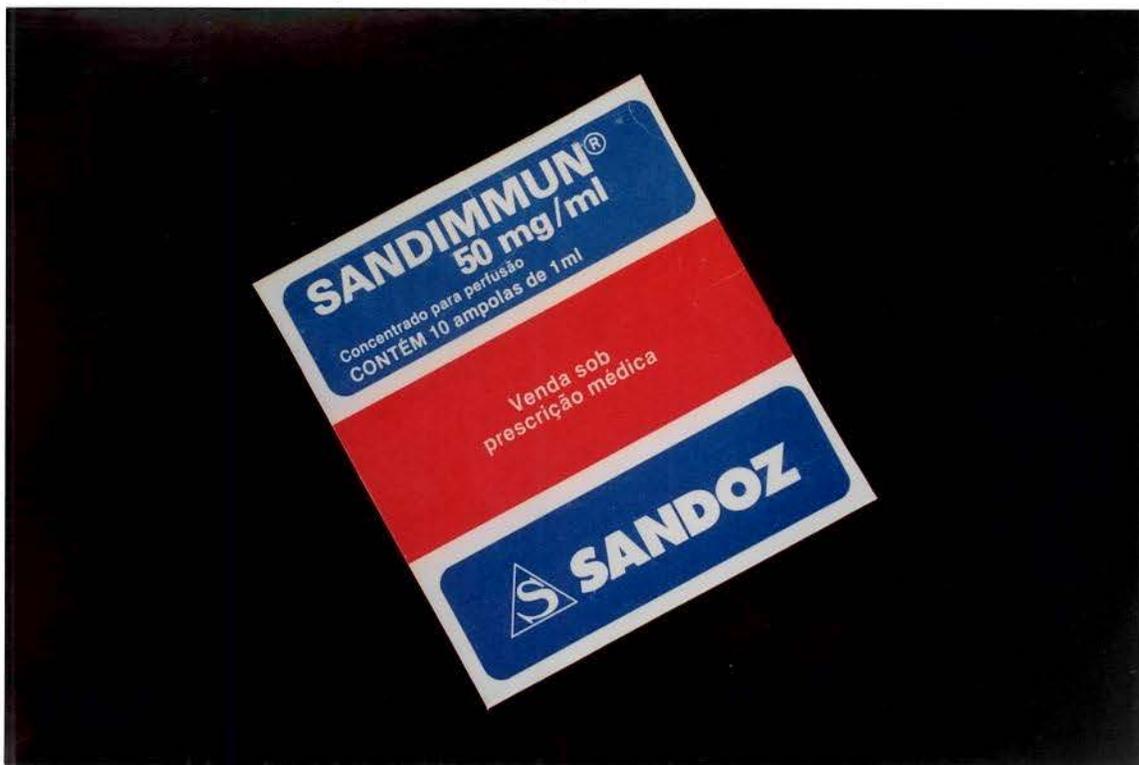


Figura 2: Fármaco utilizado.

6.5 EXAME RADIOGRÁFICO

6.5.1 OBTENÇÃO DAS RADIOGRAFIAS

Após os períodos experimentais, os animais foram sacrificados por inalação de éter etílico, suas mandíbulas removidas, separadas na sínfise mentoniana e fixadas em formol a 10%.

As hemi-mandíbulas foram posicionadas com o lado lingual sobre uma película radiográfica periapical Kodak, ultra speed, super poly, DF 58, posicionadas com as cúspides vestibulares e linguais no mesmo plano horizontal.

O aparelho de Rx empregado nas tomadas radiográficas foi da marca FUNK RX 10, 10 mA , 60 Kv, com exposição de 0,7 seg, utilizando o método do paralelismo com o posicionador para películas tipo HAN SHIM (*) (fig. 3)

No processamento utilizou-se revelador e fixador Kodak nos tempos de 1,15 e 15 minutos respectivamente a uma temperatura de 25° C.

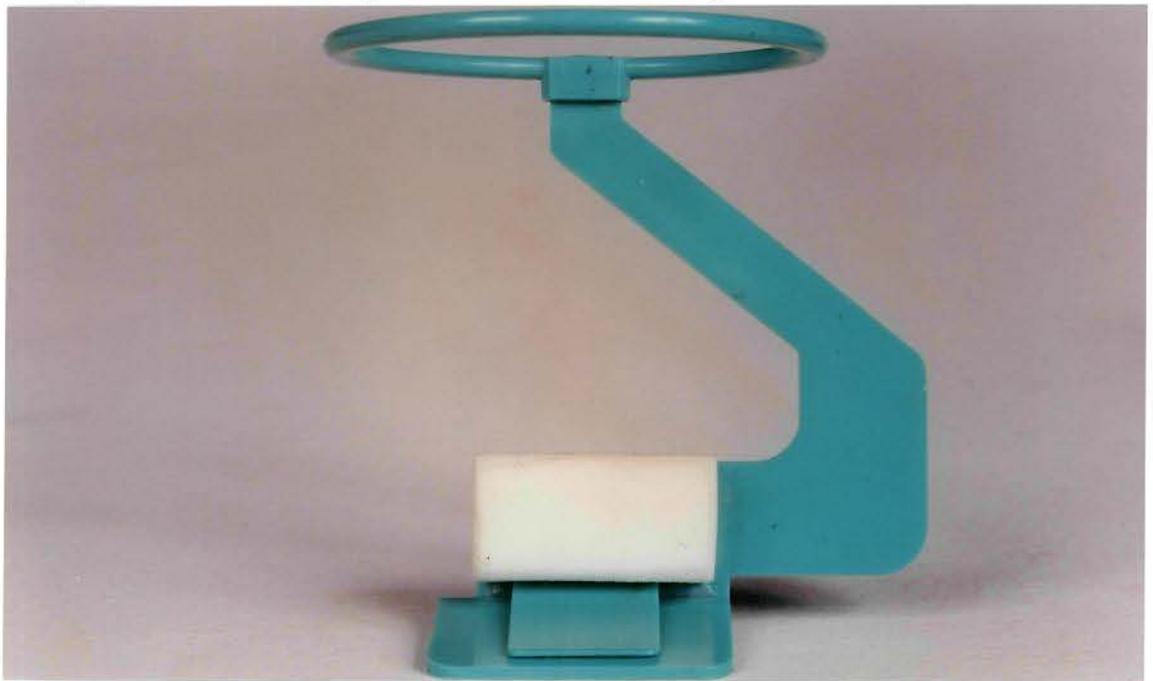


Figura 3: Posicionador para películas radiográficas tipo HAN SHIM

(*) - Dental Sem Limites

6.6 INTERPRETAÇÃO DAS RADIOGRAFIAS

As radiografias assim obtidas foram escaneadas por um scanner UMAX UC 1260, com adaptador para transparência, 2400 DPI (fig. 4), sendo a imagem arquivada em disquete 1.44 MB HIGH DENSITY, marca TDK, por meio de um computador POWER MACINTOSH 7100/66, SOFTWARE ADOBE PHOTOSHOP 3.0 para POWER PC, arquivadas em extensão TIF para PC, resolução 340 DPI com uma ampliação de 4 (quatro) vezes. As interpretações das imagens radiográficas foram realizadas através de um computador DX4 - 100 Mhz, 16 MB RAM, HARD DISK - 850 MB, gerando extensão TIF, por intermédio dos SOFTWARES, AutoCAD versão 12 for DOS (fig. 5) e CAD OVERLAY versão GSX 4.1 - número de série 110-108112.

Dentro do SOFTWARE AutoCAD Versão 12 for MS-DOS, com o aplicativo CAD OVERLAY, versão GSX 4.1, a área inter-radicular foi medida, por uma linha que iniciava no ponto A (porção mais apical da raiz mesial), percorria toda face distal da raiz mesial, contornava a bifurcação, indo de encontro ao ponto B (porção mais apical da raiz distal), percorrendo a face mesial da raiz distal e fechando o polígono, retornava ao ponto A.

O osso remanescente, foi demarcado por uma outra linha, unindo os pontos C e D (porção mais coronária da crista óssea remanescente), radiograficamente mais radiopaca, (pontos A, C, D e B).

Para a determinação da perda óssea, foi subtraído do valor encontrado para perda óssea total o encontrado no osso remanescente, (fig. 6).

Estas mensurações foram realizadas 3 (três) vezes para cada interpretação radiográfica, expressas em mm² e em percentagem e obtidas uma média.



Figura 4: Scanner UMAX UC 1260, com adaptador para transparência - 2.400 DPI.

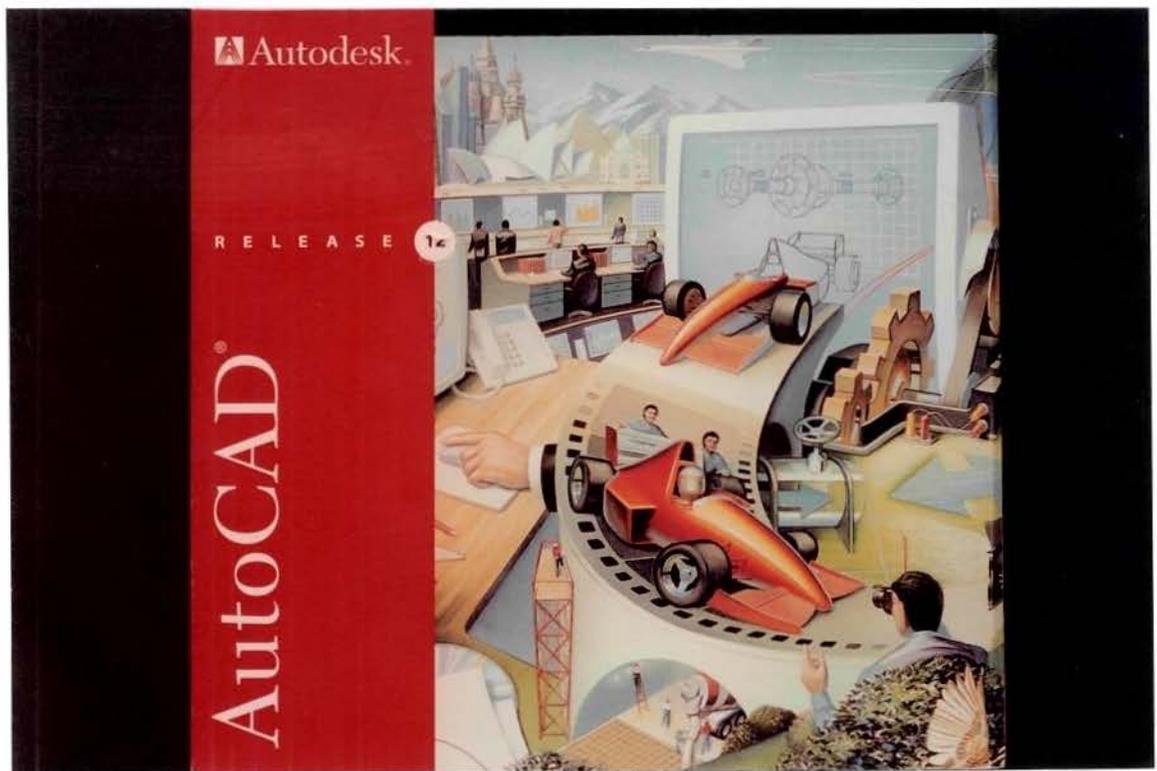


Figura 5: Software AutoCAD versão 12 for MS-DOS.

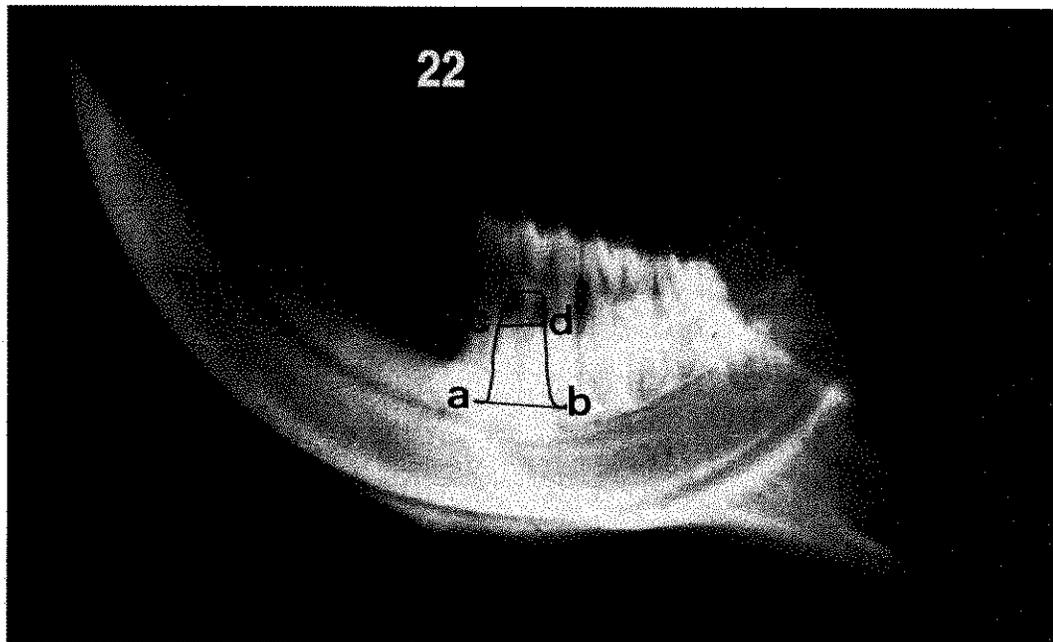


Figura 6: Mensuração da área total inter-radicular e da perda óssea.

7. RESULTADOS

7.1 APRESENTAÇÃO DE TABELAS E GRÁFICOS

A tabela 1 mostra os dados obtidos da área total inter-radicular medida em mm^2 , nos grupos I, II e III; 10, 20 e 30 dias após o início do experimento.

Na tabela 2, estão expressos os valores médios referentes à perda óssea em mm^2 nos diferentes grupos e dias decorridos após o início do experimento.

A tabela 3 nos apresenta o percentual de perda nos grupos I, II e III e os dias decorridos após o início do experimento.

Com base nos dados das tabelas 1, 2 e 3, foram obtidas as médias e desvios padrão das médias da área total nos 10, 20 e 30 dias do início do experimento, dos grupos I, II e III, expressos na tabela 4.

Na tabela 5, com os dados obtidos na tabela 2, estão representadas as médias e erros padrão das médias da perda óssea nos grupos I, II e III e os dias decorridos após o início do experimento.

Na tabela 6, está representado o percentual de perda bem como seus respectivos erros padrão para cada grupo e os dias decorridos após o início do experimento.

Os gráficos de barras 1,2 e 3 representam os resultados obtidos nas tabelas 4, 5 e 6, respectivamente.

O gráfico de barras n.º 1 representa as médias, em mm², para a área total inter-radicular segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.

Nos gráficos n.ºs 2 e 3, estão representadas as médias da perda óssea, em mm², e percentagem de perda, respectivamente nos diferentes grupos e dias decorridos durante o experimento. Os dados apresentados nas tabelas 1, 2 e 3 foram submetidos a análise de variância. Os resultados estão apresentados nas tabelas 7, 8 e 9, respectivamente.

Os resultados das análises de variância podem ser observados nas tabelas 1, 2 e 3. Foram calculados os coeficientes de variação para as três análises de variância. Os resultados apresentados na tabela 10 permitem afirmar que a variabilidade relativa é alta e, por essa razão, não foi detectada diferença estatística entre as médias.

Observações Clínicas:

Sendo um dos efeitos colaterais da ciclosporina o aumento gengival, não pudemos constatar clinicamente a participação da ação deste fármaco no aumento gengival, tanto no lado controle como no lado teste.

TABELA 1 - Valores médios de área total, em mm², segundo o grupo e os dias decorridos após o início do experimento.

Dias decorridos:	10	20	30
G I	2,660	3,215	3,649
(IRR + SAC)	3,642	3,741	3,290
	3,883	3,346	4,289
		3,547	3,664
		3,047	3,502
			4,012
			3,592
G II	3,586	3,414	3,879
(IRR + SAC +	3,491	4,173	3,475
DROGA)	2,789	4,035	3,713
		3,612	4,335
		3,257	4,159
		3,529	4,234
			3,698
G III			3,695
(IRR + ÁGUA)			3,147
			3,651
			3,938
			3,737

TABELA 2 - Valores médios da perda óssea, em mm², segundo o grupo e os dias decorridos após o início do experimento.

Dias decorridos:	10	20	30
G I	1,118	1,383	1,268
(IRR + SAC)	1,096	1,483	1,223
	1,221	1,489	1,620
		1,290	1,394
		0,948	0,786
			2,385
			1,785
G II	0,955	1,254	1,136
(IRR + SAC +	1,453	1,827	0,868
DROGA)	1,299	1,776	1,438
		1,016	0,862
		0,994	2,017
		1,387	1,764
			1,434
G III			1,335
(IRR + ÁGUA)			1,524
			1,334
			0,812
			1,157

TABELA 3 - Valores médios do percentual de perda óssea, segundo o grupo e os dias decorridos após o início do experimento.

Dias decorridos:	10	20	30
G I	42,030	43,017	34,749
(IRR + SAC)	30,093	39,641	37,173
	31,445	44,500	37,771
		36,368	38,045
		31,111	22,444
			59,445
			49,693
G II	26,631	36,731	29,285
(IRR + SAC +	41,621	43,781	24,978
DROGA)	46,575	44,014	38,728
		28,128	19,884
		30,518	48,497
		39,302	41,662
			38,777
G III			36,129
(IRR + ÁGUA)			48,427
			36,537
			20,619
			30,960

TABELA 4 - Médias e erro padrão das médias, em mm², para a área total segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.

Dias decorridos:	G I (IRR + SAC)	G II (IRR + SAC + DROGA)	G III (IRR + ÁGUA)
10	3,395 ± 0,371	3,289 ± 0,251	
20	3,379 ± 0,122	3,670 ± 0,147	
30	3,714 ± 0,126	3,928 ± 0,121	3,634 ± 0,131

TABELA 5 - Médias e erro padrão das médias, em mm², para a perda óssea segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.

Dias decorridos:	G I (IRR + SAC)	G II (IRR + SAC + DROGA)	G III (IRR + ÁGUA)
10	1,145 ± 0,038	1,236 ± 0,147	
20	1,319 ± 0,100	1,376 ± 0,148	
30	1,494 ± 0,191	1,360 ± 0,165	1,232 ± 0,120

TABELA 6 - Médias e erro padrão das médias, para percentual de perda óssea, segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.

Dias decorridos:	G I (IRR + SAC)	G II (IRR + SAC + DROGA)	G III (IRR + ÁGUA)
10	34,5 ± 3,77	38,3 ± 6,00	
20	38,9 ± 2,41	37,1 ± 2,71	
30	39,9 ± 4,43	34,5 ± 3,83	34,6 ± 4,50

TABELA 7 - Análise de variância dos dados apresentados na tabela 1

Causas de variação:	GL	SQ	QM	F
Tratamento	6	1,5085	0,2514	1,92 ns
Resíduo	29	3,7908	0,1307	
Total	35	5,2993		

TABELA 8 - Análise de variância dos dados apresentados na tabela 2.

Causas de variação:	GL	SQ	QM	F
Tratamento	6	0,3839	0,0640	0,47 ns
Resíduo	29	3,9564	0,1364	
Total	35	4,3403		

TABELA 9 - Análise de variância dos dados apresentados na tabela 3.

Causas de variação:	GL	SQ	QM	F
Tratamento	6	173,3040	0,2514	1,92 ns
Resíduo	29	2483,7270	0,1307	
Total	35	2657,0310		

TABELA 10 - Variabilidade relativa

Variável	CV
Área total	9,96%
Perda	45,14%
Percentual de perda	25,06%

Gráfico 1: Médias para a área total, em mm², segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.

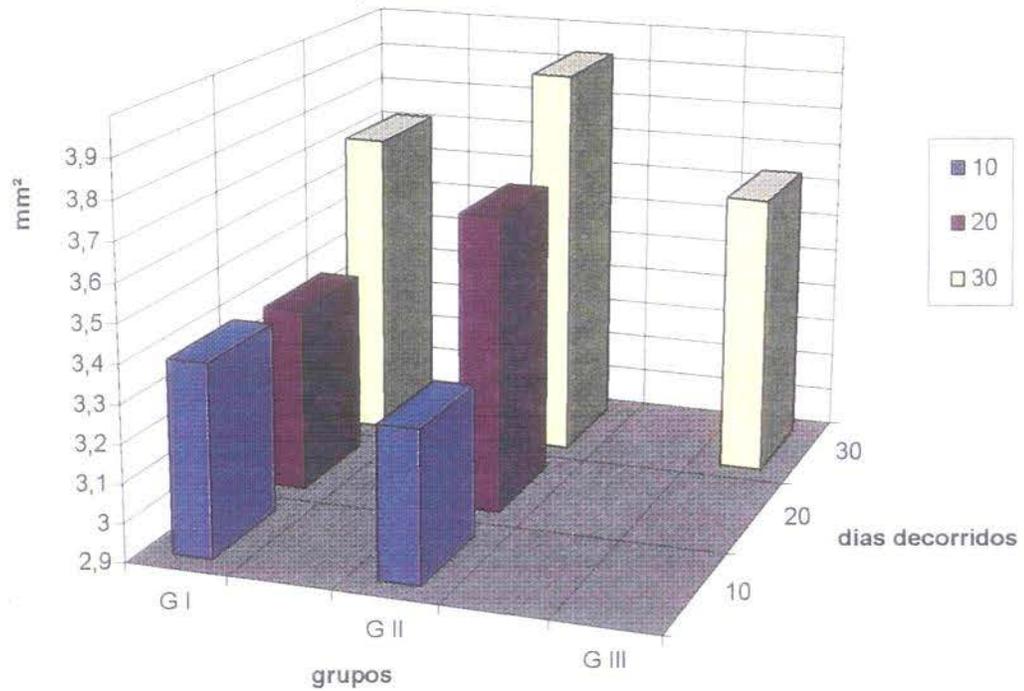


Gráfico 2: Médias para a perda óssea, em mm², segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.

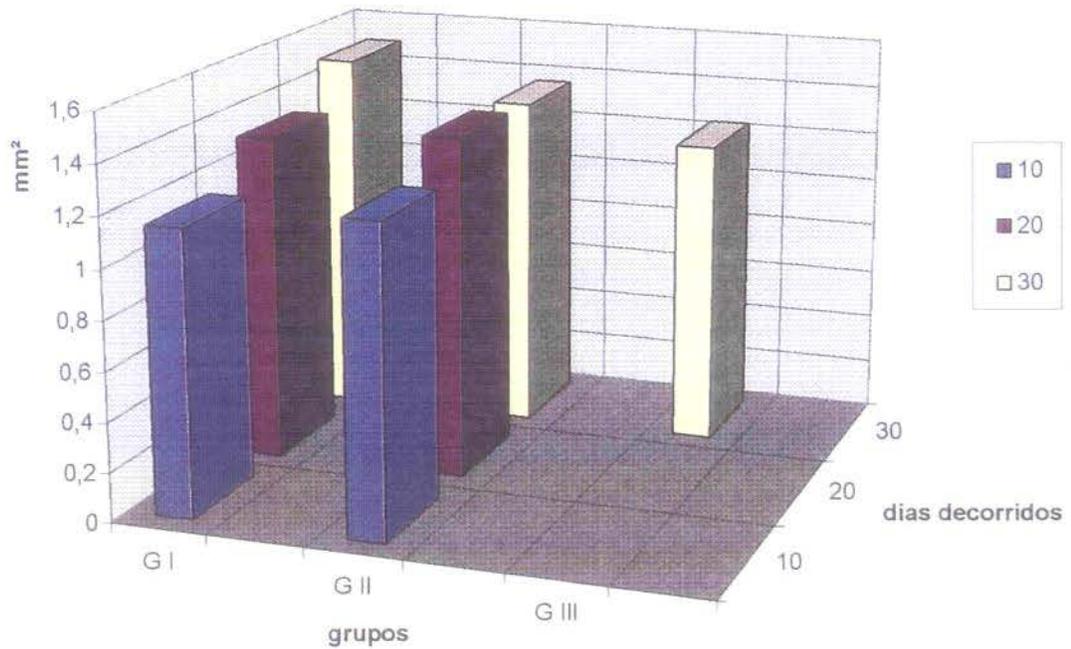
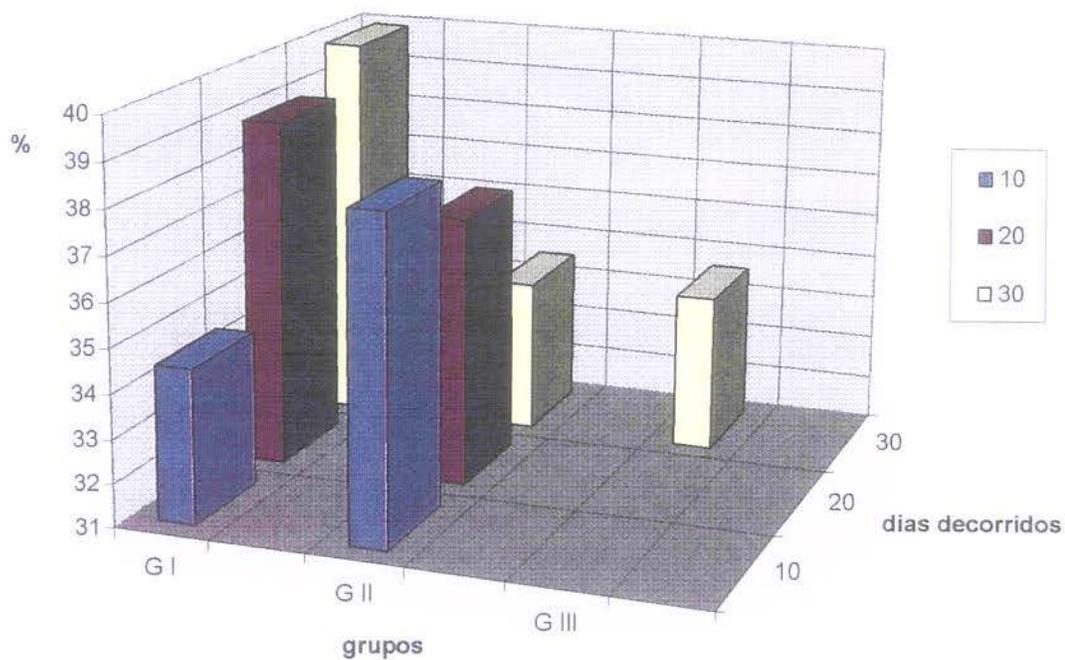


Gráfico 3: Médias, para percentual de perda, segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.



8. DISCUSSÃO

Desde 20.000 a 30.000 anos a.C., existem achados de doença periodontal. Há aproximadamente 4.000 anos a.C., as doenças periodontais eram as mais comuns entre os egípcios⁵⁶. Dentre essas doenças, as mais comuns são a gengivite e a periodontite, sendo a gengivite a lesão inicial da periodontite, e as circunstâncias que envolvem a progressão de gengivite em periodontite ainda não são totalmente conhecidas⁷².

Microorganismos presentes na placa bacteriana, em contato com o sulco gengival e no interior da bolsa, ou substâncias derivadas deles constituem o agente etiológico extrínseco primário e possivelmente o único participante na doença periodontal inflamatória periodontal⁷⁹.

A periodontite é caracterizada pela destruição do osso alveolar, que parece ser fundamentalmente conseqüência da atividade osteoclástica⁷². Uma das substâncias mais importantes na função do osteoclasto é a prostaglandina (PGE1 e PGE2), que tem a capacidade de mediar a resposta inflamatória aguda, modular a resposta imunológica e indução da reabsorção óssea⁷⁹.

Estudos da ação da ciclosporina no tecido gengival in vitro e in vivo demonstraram uma redução na síntese de PGE2⁶⁵.

A ciclosporina é um potente agente imunossupressor, seletivo para linfócitos T, sem mielossupressão, permitindo que outras células do sistema imunológico permaneçam intactas⁹.

Desde a descoberta de sua propriedade imunossupressiva, vários estudos têm demonstrado que a droga tem uma ação seletiva nos linfócitos T, com pequena ou nenhuma ação nos linfócitos B.^{15,39}

A importância dos linfócitos B na patogênese da doença periodontal foi demonstrada experimentalmente em ratos timectomizados, portanto desprovidos de linfócito T, e com predominância de linfócitos B, que mostraram uma perda óssea aumentada. Em contraste, quando células T preponderavam em ratos timectomizados, reconstituídos por injeções de células T, houve menor perda óssea. A doença periodontal progressiva parece, portanto, estar associada a lesões mediadas por linfócitos B.⁹² Isto está em desacordo com os achados em nosso trabalho, pois quando animais receberam ciclosporina, que é um imunossupressor seletivo para linfócitos T, apresentaram menor perda óssea, embora não detectada por testes estatísticos.

LISTGARTEN et al.⁵⁵, concluíram que o processo destrutivo em resposta às bactérias gram-negativas pode ocorrer na ausência de resposta imune mediada por células e suporta a proposição de IRVING et al.⁴⁴, de que um mecanismo mediado por endotoxina é o provável componente na reabsorção óssea. Na presente pesquisa, o processo imunológico mostrou participar de alguma forma no grau de reabsorção óssea.

Neste trabalho foi adicionada sacarose na dieta dos animais, nos primeiros 15 dias, nos grupos I e II, para aumento de placa supra gengival⁷³, similar ao realizado por GUGGENHEIM et al.³⁷. Investigando se a

imunossupressão com ciclosporina A tinha um efeito no estabelecimento e progresso da doença periodontal em ratos monoassociados com *actinomyces viscosus*, concluíram, através de investigações hematológicas e histológicas, que a doença periodontal em ratos monoinfetados parece ser de etiologia multifatorial e não estar estritamente correlacionada com a significância da hipersensibilidade célula T dependente. De acordo com o resultado estatístico encontrado em nosso trabalho.

Sendo que a ciclosporina-A é um potente inibidor da síntese de interleucina 2 (IL2) pelo linfócito T helper²⁰. Houve significativa redução da perda óssea periodontal em ratos LBNF1 induzida por ligadura. Concordando com os nossos achados. Estudos utilizando doses diárias de ciclosporina A e ligaduras nos segundos molares superiores inibiram o desenvolvimento da perda óssea em cerca de 93%. Ratos com doença periodontal induzida por ligadura e congenitalmente sem timo, portanto deficientes em linfócitos T funcionais, apresentaram expressiva perda óssea em 7 dias, embora significativamente menor que nos ratos com ligadura, demonstrando inibição da perda óssea pela ciclosporina-A¹⁹, também indo de encontro com os resultados por nos encontrados.

FISCHER & KLINGE²⁹, estudaram furões, clínica e histologicamente, usando ciclosporina - A, na mesma concentração do nosso trabalho. Em 28 dias, encontraram clinicamente um aumento significativo nas médias dos valores de profundidade de sondagem de bolsa, sondagem do nível de inserção e crescimento gengival e histologicamente, uma significativa perda

de inserção e reabsorção óssea. Esses achados discordam dos por nós encontrados, porém foram realizados por parâmetros clínicos e histológicos, enquanto os nossos, por meio de radiografias.

Dentro da metodologia utilizada, não pudemos constatar aumento gengival tanto no grupo teste quanto no controle, conforme citações^{1,31,48,69}. Isto provavelmente devido ao tempo da pesquisa e dosagem utilizada.

O fato da participação da ação da ciclosporina na redução da perda óssea em animais de laboratório, através da supressão do linfócito T, na evolução da doença periodontal não ter sido estatisticamente significativa, não descarta sua participação, em algum grau, nos mecanismos de destruição periodontal.

9. CONCLUSÃO

1 - O resultado estatístico não mostrou diferenças significantes entre médias de área total observadas nos grupos e nos tempos.

2 - Não houve diferença estatisticamente significativa entre médias de perda óssea nos grupos e nos tempos.

3 - Apesar da ação da ciclosporina na doença periodontal não ter sido estatisticamente significativa, mostrou diferenças radiográficas.

10. SUMMARY

Periodontal diseases are lesions which affect the protecting tissues and support the teeth in their alveoli and they are main cause of teeth loss after the age of 35. The oldest findings date from 20 to 30.000 b.C.

The total pathogenesis of the disease is still unknown; however, one of the main factors responsible for the destruction of the supporting periodontal structures is the immunological system acting as the mediator of the immunological reponse.

The effect of the cyclosporine, which is a selective immunosuppressor for lymphocytes T, on the evolution of the induced-periodontal disease in rats; was assessed in this study, through radiography.

Thirty-six male rats (*Rattus Norvegicus*, *Albinus*, *Wistar*, *SPF*), ranging initially from 200 to 240 gr. in weight and with approximately 2 months of age, were used. The animals were devided in three groups: GROUP I received sucrose and irritating; GROUP II received sucrose, irritating and cyclosporine; GROUP III received water and irritating.

In the end of the experiment periods, the animals were sacrificed, their jaws taken off, set apart in the menthonian synphesis, and then radiographed. The radiographic images were interpreted in the computer with software AutoCAD version 12 for MS-DOS with the application programer CAD OVERLAY version GSX 4.1.

The results obtained showed a reduction of bone loss in GROUP II, when compared to the other two. Although it was not detected through statistical tests, this fact does not discard the possibility that cyclosporine may participate at some extent in the mechanisms of periodontal destruction.

KEY WORDS: Cyclosporine - Bone Loss - Periodontal Disease.

11. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADACHI, C. *et al.* Cyclosporin A induced gingival over growth strain differences in the rats. *Shoni. Shikagaku Zasshi*, Japan, v.29, n.1, p.24-31-1991.
2. ALLMAN, S.D., McWHORTER, A.G., SEALE, N.S. Evaluation of cyclosporin induced gingival overgrowth in the pediatric transplant patient. *J. periodont.*, Copenhagen, v.64, n.11, p.1092-1097, Nov. 1993.
3. ALLMON, H.B. Man is not a giant rat. *J. publ. Hlth Dent.*, Richmond, v.31, n.4, p.218-114, 1971.
4. AXELSSON, P., LINDHE, J. The effect of preventive programme on dental plaque, gingivitis and caries in schoolchildren. Results after one and two years. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.1. 2, p.126-138, 1974.
5. _____, _____. Effect of controlled oral hygiene procedures on caries and periodontal disease in adults. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.8, n.3, p.239-248, Jun. 1981.
6. BAB, I.A. *et al.* Inflammatory lesions and bone resorption induced in the rat periodontium by lipoteichoic acid of *streptococcus mutans*. *Inflammation*, New York, v.3, n.4, p.345-358, Sept. 1979.
7. BEEN, V., ENGEL, D. The effects of immunosuppressive drugs on periodontal inflammation in human renal allograft patients. *J. Periodont.*, Chicago, v.53, n.4, p.245-248, Apr. 1982.

*De acordo com a NBR-6023, de agosto de 1989, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos periódicos de conformidade com o "World List of Scientific Periodicals".

8. BELLINI, H.T., CAMPI, R., DENARDI, J.L. Four years of monthly professional tooth cleaning and topical fluoride application in Brazilian schoolchildren. I. Effect on gingivitis. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.8, n.3, p.231-238, Jun. 1981.
9. BENNETT, W.M., NORMAN, D.J. Action and toxicity of cyclosporine. *A. Rev. med.*, Palo Alto, V.37, p.215-224, 1986.
10. BLACK, G.V. Dr. BLACK'S conclusion reviewed again. *Dent. Cosmos*, Philadelphia, v.40, p.440, 1898 *Apud* MARCOS, B. *op. cit.* ref. 60
11. BOREL, J.F, MESZAROS, I. Skin transplantation in mice and dogs. Effects of cyclosporin A and dihydrocyclosporim. *Cell Transplant.*, Tarrytow, NY, v.29, p.161-162, Mar. 1979.
12. _____. *et al.* Biological effects of cyclosporin A. new antilymphocytill agent. *Agents Actions*, Basel, v.6, n.4, p.468-475, Jul. 1976.
13. _____. *et al.* Pharmacology of cyclosporine (sandimmune). *Pharmac. Rev.*, Baltimore, v.41, n.3, p.239, 1979.
14. BRANDTZEG, P., FEJELLAGER, I., GJERUKDSEN, S.T. Human secretory immunoglobulins I. Salivary secretions from individuals with normal or low levels of serum immunoglobulins. *Scand. J. Haematol.*, Copenhagen, v.12, p. 1-83 (suppl.) *Apud* KLAUSEN, B. *op. cit.* ref. 49
15. BRITTON, S., PALACIOS, R. Cyclosporin A usefulness risks and mechanisms of action. *Immunol. Rev.*, Copenhagen, v.65, p.5-22, 1982.

16. BROOKS, C.G. et al. Studies on the immunobiology of rnu/rnu "nude" rats with congenital aplasia of the thymus. *Eur. J. Immunol.*, Weinheim, v.10, n.1, p.58-65, Jan. 1980.
17. BURCKHARDT, J.J., GAEGAUF-ZOLLINGER, R., GUGGENHEIM, B. Development of immunological sensitization and alveolar bone loss in gnotobiotic rats infected with *actinomyces viscosus ny*. *J. periodont.*, Copenhagen, v.16, n.2, p.147-158, May, 1981.
18. BUTTON, S. PALACIOS, R. Cyclosporin A - usefulness risks and mechanism of action. *Immunol. Rev.* Copenhagen, v.65, p.5, 1982. *Apud DALEY. T.D. op. cit. ref. 23*
19. COX, D.S., WILLIAMS-MILLER, C. Ligature bone loss and cyclosporin A in the homozygous and heterozygous nude rats. *J. dent. Res.*, Washington, v.65, p.331, 1986. [Abstract, 1458]
20. _____, _____. Role of interleukin 2 in periodontal bone loss in the ligated rat. *J. Periodont.*, Chicago, v.58, p.130, 1987.
21. CRAWFORD, J.M., TAUBMAN, M.A., SMITH, D.J. The effects of local immunization with periodontopathic microorganisms on periodontal bone loss in gnotobiotic rats. *J. periodont.*, Copenhagen, v.13, n.5, p.445-459, Sept. 1978.
22. _____, _____, _____. The natural history of periodontal bone loss in germ free and gnotobiotic rats infected with periodontopathic microorganisms. *J. periodont.*, Copenhagen, v.13, n.4, p.316-215, July 1978.

23. DALEY, T.D., WYSOCKIT, G.P. Cyclosporine therapy its significance to the periodontist. *J. Periodont.*, Chicago, v.55, n.12, p.708-712, Dec. 1984.
24. _____, _____. Clinical and pharmacologic correlations in cyclosporine induced gingival hyperplasia. *Oral Surg.*, Saint Louis, v.62, n.4, p.417-421, Oct. 1986.
25. ERLICHMAN, C. Imunofarmacologia. *In*: KALANT, H., ROSCHLAU, W.H.E. *Princípios de farmacologia médica*. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1991. cap.61, p. 501-503
26. FAUCHARD, P. *Le chirurgien-dentiste*. 2.ed. Paris : Mariette, 1746. p.1-494. *Apud* LÖE, H. *Op. cit.* ref. 56.
27. FAULDS, D., GOA, K.L., BENFIELD, P. Cyclosporin. A review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties and therapeutic use in immunoregulatory disorders. *Drugs*, Auckland, v.45, p.953-1040, 1993.
28. FIEHN, N.E. Small-sized oral spirochetes and periodontal disease. *APMIS*, Kobenhaun, v.97, n.7, p.1-31, 1989 [Supplement]
29. FISCHER, R.G., KLINGE, B, Clinical and histological evaluation of ligature-induced periodontal breakdown in domestic Ferrets immunosuppressed by cyclosporin A. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.21. n.4, p.240-249, Apr. 1994.
30. FOSSUM, S., SMITH, M.E., FORD, W.I. The recirculation of T and B lymphocytes in the athymic, nude rat. *Scand. J. Immunol.*, Oxford, v.17, p. 551-557, 1983

31. FU, E. *et al.* Dose-dependent gingival overgrowth induced by cyclosporin in rats. *J. Periodont.*, Chicago, v.66, p.594-498, 1995.
32. GELL, P.G.H., COOMBS, R.R.A., LACHMAN, P.J. *Clinical aspects of immunology*. 3.ed. Oxford : Blackwell Scientific, 1975.
33. GOLDMAN, M.H. *et al.* Ciclosporine in cardiac transplantation. *Surg. Clins. Nrth Am.*, Philadelphia, v.65, n.3, p.637-659, Jun. 1985.
34. GOWANS, J.L. Immunobiology of the small limphocyte. *Hosp. Pract.*, New York, v.3, p.34, 1968.
35. GRIFFITHS, G.S. *et al.* Detection of high-risk groups and individuals for periodontal disease. Clinical assessment of the periodontium. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.55, p.403-410, 1988.
36. GUGGENHEIM, B., SCHOROEDER, H.E. Reactions in the periodontium to continous antigenic stimulation in sensitized gnotobiotic rats. *Infect. Immun.*, Washington, v.10, n.3, p.565-577, Sep. 1974.
37. _____. *et al.* The effect of cyclosporin A on periodontal disease in rats monoassociated with *actinomyces viscosus ny1*. *J. periodont.*, Copenhagen, v.16, n.1, p.26-38, Jan. 1981.
38. HAUSMANN, E., NAIR, R.C., DZIAK, R. Bacterial components which result in bone loss. In: HOST PARASITE INTERACTIONS IN PERIODONTAL DISEASES, 1981, New York. *Proceedings...* Washington: American Society for Microbiology, 1982. p.151-159.

39. HESS, A.D., COLOMBANI, P.M. Mechanism of action of cyclosporin: hypothesis. *Adv. exp. Med. Biol.*, New York, v.213, p.309-330, 1987.
40. HOUGEN, H.P., KLAUSEN, b. Effects of homozygosity of the nude (rnu) gene in an inbred strain of rats: studies of lymphoid and non-lymphoid organs in different age groups of nude rats of LEW background at a stage in the gene transfer. *Lab. Anim.*, Essex, v.18, p.7-14, 1984.
41. HUNTER, J. A practical treatise on the diseases of the teeth. In: LONGBOTTO, M.B. ed. *A Treatise on dentistry*. Baltimore: Prentiss & Cole, 1802, p. 1-66. *Apud* LÖE, H. *Op. cit.* ref. 56.
42. HUNTER, N., SCHWAB, J.H. , SIMPSON, D.M. Experimental periodontitis induced in rats by streptococcal cell wall fragments. *J. periodont.*, Copenhagen, v.14, n.6, p.453-466, Nov. 1979.
43. IRVING, J.T., SOCRANSKY, S.S., HEELEY, J.D. Histological changes in experimental periodontal disease in gnotobiotic rats and conventional hamsters. *J. periodont.*, Copenhagen, v.9, n.2, p.73-80, 1974.
44. _____ . et al. Histological changes in experimental periodontal disease in rats monoinfected with a gram-negative organism. *Archs oral biol.*, Oxford, v.20, p.219-220, 1975
45. ISOGAI, E. *et al.* Microbiological ecology of plaque in rats with naturally occurring gingivitis. *Infec. Immun.*, Washington, v.48, n.2, p.520-527, May 1985.

46. JOHNSON , D.A. *et al.* Role of bacterial products in periodontitis: Humoral immune response to *Eikenella corrodens*. *Infec. Immun.*, Washington, v.22, n.2, p.382-386, Nov. 1978.
47. JOHNSON, I.H. Effects of local irritation and dextran sulphate administration on the periodontium of the rat. *J. periodont.*, Copenhagen, v.10, n.6, p.332-345, Dec. 1975.
48. KITAMURA, K. *et al.* Gingival overgrowth induced by ciclosporin A in rats. *Archs oral Biol.*, Oxford, v.35, n.6, p.483-486, 1990.
49. KLAUSEN, B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats. A review article. *J. Periodont.*, Chicago, v.62, p.59-73, 1991.
50. KLAUSEN, B., HOUGEN, H.P. Quantitative studies of lymphoid organs, blood and lymph in inbred athymic and euthymic LEW rats under germfree and SPF conditions. *Lab. Anim.*, Essex, v.21, n.4. p.342-347, 1987.
51. _____, HOUGEN, H.P., FIEHN, N.E. Increased periodontal bone loss in temporarily B lymphocyte deficient rats. *J. periodont.*, Copenhagen, v.24, p.384-390, 1989.
52. LAFFERTY, K.J., BOREL, J.F., HODGKIN, Cyclosporine A (CSA): models for the mechanism of action. Barbara Davis Center for Child Hood Diabetes Denver Co Preclinical Research SANDOZ S/A. p. 26-31.
53. LINDHE, J. *Tratado de periodontologia clínica*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1992. cap. 4 e 5, p. 89-135.

54. LISTGARTEN, M.A. Similarity of epithelial relationships in the gingiva of rat and man. *J. Periodont.*, Chicago, v.46, n.11, p.677-680, Nov. 1975.
55. _____ et al. Histopathology of periodontal disease in gnotobiotic rats moniinfected with *eikenella corrodens*. *J. periodont.*, Copenhagen, v.13, n.2, p.134,148, Mar. 1978.
56. LÖE, H. Periodontal diseases: a brief historical perspective. *Periodontol. 2000*, Copenhagen, v.2, p.7-12, 1993.
57. _____, THEILADE, E., JENSEN, S.B. Experimental gingivitis in man. *J. Periodont.*, Chicago, v.36, p.177-187, 1965.
58. LOECHE, W.J. The role of spirochetes in periodontal disease. *Adv. dent. Res.*, Washington, v.2, p.275-283, 1988.
59. _____, SYED, S.A. Bacteriology of human experimental gingivitis: effect of plaque and gingivitis score. *Infec. Immun.*, Washington, v.21, n.3, p.830-839, Sept. 1978.
60. MARCOS, B. Aspectos conceituais em periodontia. I. Evolução histórica. *Periodontia*, Rio de Janeiro, v.3, n.1, p.145-150, jan./jun. 1994.
61. MASADA, M.P. et al. Measurement of interleukin 1a and 1b in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. *J. periodont.*, Copenhagen, v.25, p.156-163, 1990.
62. MEDLINE. Subject heading: *Cyclosporins*. United States: Library of Medicine. 1995.

63. MILLER, W.D. *Die mikroorganismen der mundhöhle*. Leipzig : Thieme, 1989, *Apud* LÖE, H. *Op. cit.* ref. 56.
64. MIYAUCHI, M. *et al.* Effect of exogenously applied prostaglandin E2 on alveolar bone loss- histometric analysis. *J. Periodont.*, Chicago, v.63, n.5, p.405-411, May 1992.
65. NELL, A. *et al.* evidence that cycloporine inhibits periodontal prostaglandin E2 synthesis. *J. periodont.*, Copenhagen, v.31, p.131-134, 1996.
66. NEWMAN, M.G., SANS, M., NISENGARD, R. Interações hospedeiro-bactérias das doenças periodontais. *In: GLICKMAN, I, CARRANZA JR, F.A. Periodontia clínica*. Rio de Janeiro : Guanabara Koogan, 1992, cap.25, p.280-290.
67. NISENGARD, R.J. The role of immunology in periodontal disease. *J. Periodont.*, Chicago, v.48, n.9, p.505-516, Sept. 1977.
68. _____, NEWMAN, M.G., SANZ, M. A resposta do hospedeiro: conceitos básicos. *In: GLICKMAN PERIODONTIA BÁSICA*. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1992. cap. 1, p. 1-4, cap. 23, p. 250-257.
69. NISHIKAWA, S. *et al.* Patogenesis of drug-induced gingival overgrowth. A review of studies in the rat model. *J. Periodont.*, Chicago, v.67, n.5, p.463-471, May, 1996.
70. NOSSEK, H., WENDT, A. Comparative studies of the marginal periodontium of wistar rats and syrian golden hamsters. *Z. versuchstierkd*, Germany, v.27, n.3/4, p.149-754, 1985.

71. PAGE.R.C., SCHOROEDER, H.E. **Periodontites in man and other animals**. A comparative review. Basel: Karger, 1982. cap.3.2, p.71-106.
72. RAMFJORD, S.P., ASH JR., M.M. **Periodontologia e periodontia** : teoria e prática moderna. São Paulo: Editora Santos, 1991, cap. 6, 7, 9 - p. 31-46, 47-59, 75-104.
73. REBELLO, M.A.B. **Estudo in situ da composição bioquímica da placa dental em função da frequência diária do uso de sacarose**. Tese (mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Univerisdade Estadual de Campinas, 1994.
74. RIGGS, J.M. *Pyorrea alveolaris*. Report of the southern dental Association, 14 th annual session. **Dent. Cosmos**, Philadelphia, v.24, p.523-538, 1882. *Apud* LÖE, H. *Op. cit.* ref. 56.
75. ROMANOWSKI, A.W., SQUIER, C.A., LESCH, C.A. Permeability of rodent junctional epithelium to exogenous protein. **J. periodont.**, Copenhagen, v.23, p.81-86, 1988.
76. ROSS, P.J. *et al.* Effects of cyclosporin A on gingival status following liver transplantation. **J. Dent. Child**, Chicago, v.56, n.1, p.56-59, Jan./Feb. 1989.
77. SALLUM, A.W. **Estudo da participação do trauma de oclusão na evolução da doença periodontal**. Tese (Livre docência) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1982.

78. SANZ, M., NEWMAN, M.G., NISENGARD, R. Microbiologia periodontal. *In: GLICKMAN, I., CARRANZA JR., F.A. Glickman periodontia clínica.* Rio de Janeiro, 1992. cap.24, p.259-279.
79. SCHLUGER, S., YUODELIS, R.A., PAGE, E.C. *Periodontia fenômenos básicos, tratamento e inter-relações oclusais e restauradora.* Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. p.79-99, 107-135, 189-226.
80. SEYMOUR, R.A., JACOBS, D.J. Cyclosporin and the gingival tissues. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.19, p.1-11, 1992.
81. SEYMOUR, R.A., SMITH, D.G. The effect of a plaque control programme on the incidence and severity of ciclosporin-induced gingival changes. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.18, n.2, p.107-110, Feb. 1991.
82. SIMON, N.L., STALL, S.S. Etiologia e patogênese da doença periodontal. *In: PRICHARDS, J.F. Diagnóstico e tratamento das doenças periodontais na prática odontológica geral.* São Paulo: Panamericana, 1982. cap.3, p.10-24.
83. SLOTS, J. Subgingival microflora and periodontal disease. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.6, n.2, p.351-382, Oct. 1979.
84. _____, DAALEN, G. Subgingival microorganisms and bacterial virulence factors in periodontitis. *Scan. J. dent. Res.*, Copenhagen, v.93, n.2, p.119-127, Apr. 1985.

85. SOMACARRERA, M.L. *et al.* Factors related to the incidence and severity of ciclosporin-induced gingival overgrowth in transplant patients. A longitudinal study. *J. Periodont.*, Chicago, v.65, n.7, p.671-675, July 1994.
86. _____ *et al.* Localization of gingival overgrowth in heart transplant patients undergoing cyclosporin therapy. *J. Periodont.*, Chicago, v.65, n.7, p.660-670, July 1994.
87. SPOLIDORIO, L.C. *Efeito da ciclosporina sobre o processo de reparo em tecido cutâneo de rato.* Tese (Mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1991.
88. SUOMI, J.D. *et al.* The effect of controlled oral hygiene procedures on the progression of periodontal disease in adults: results after third and final year. *J. Periodont.*, Chicago, v.42, n.3, p.152-160, 1971.
89. TAKATA, T. *et al.* Penetration and uptake of colloidal gold. Labeled concanavalin A in the junctional epithelium of the rat. *J. Periodont.*, Chicago, v.59, p.823-829, 1988.
90. TAUBMAN, M.A., SMITH, D.J., EBERSOLE, J.L. Conventional and specialized rodent models for studies of immune mechanisms and dental caries. *In:* TONZER, J.M. ed. *Animal models in cariology.* Washington: National Caries Program, 1980. p. 439-450.
91. _____, _____, _____. Immunoglobulins of rnu/rnu "nude"rats with congenital aplasia of the thymus. *Immunology*, Oxford, v. 49, n.2, p.295-300, Jun.1983

92. TAUBMAN. *et al.* Host response in experimental periodontal disease. *J. dent. Res.*, Copenhagen, v.63, n.3, p.455-460, 1984.
93. THOMASON, J.M., KELLY, P.J., SEYMOUR, R.A. The distribution of gingival overgrowth in organ transplant patients. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.23, p.367-371, 1996.
94. _____, SEYMOUR, R.A., RICE, N. The prevalence and severity of cyclosporin and nifedipine-induced gingival overgrowth. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.20, n.1, p.37-40, Jan. 1993
95. TUTSCHKA, P.J. *et al.* Use of cyclosporin A in allogenic bone marrow transplantation in the rat. *Nature*, London, v.280, July, 1979.
96. VOS, J.G. *et al.* The athymic nude rat. II. immunological characteristics. *Clin. Immun. Immunopathol.*, Orlando, v.15, n.2, p. 229-237, Feb. 1980.
97. YOSHIE, H. *et al.* Periodontal bone loss and immune characteristics of congenitally athymic and thymus cell-reconstituted athymic rats. *Infect. Immun.*, Washington, v.50, n.2, p.403-408, Nov. 1985.