

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA**



**FABRÍCIO BATISTA TEIXEIRA**  
*cirurgião - dentista*

**ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE  
LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS,  
XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS -  
IMUNOSSUPRIMIDOS.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica, área de Endodontia.

**PIRACICABA**

**- 1997 -**

T235a

31304/BC

0262 0416  
0730 8920

**FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA  
- UNICAMP -**

**FABRÍCIO BATISTA TEIXEIRA**  
*cirurgião - dentista*

**ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE  
LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS,  
XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS -  
IMUNOSSUPRIMIDOS.**

**ORIENTADOR: PROF. DR. ALEXANDRE AUGUSTO ZAIA**

*se ampliar  
devidamente corrigido,  
informe no início  
e e 28/036/83  
Piracicaba, 01/07/97*

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Clínica Odontológica, área de Endodontia.

**PIRACICABA**

**- 1997 -**

UNIDADE	BC
N.º CHAMADA	T234a
V.	Ex.
TOMSO RC/	31304
PROC.	281197
C	<input type="checkbox"/>
D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00
DATA	12/02/97
N.º CPD	

CM-00099605-8

**Ficha Catalográfica Elaborada pela Biblioteca da FOP/UNICAMP**

T234a

Teixeira, Fabrício Batista.

Análise comparativa do desenvolvimento de lesões periapicais em ratos normais, xerostômicos e xerostômicos - imunossuprimidos / Fabrício Batista Teixeira. - Piracicaba : [s.n.], 1997.

121f. : il.

Orientador : Alexandre Augusto Zaia.

Dissertação (mestrado) - Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

I. Doenças periapicais. 2. Endodontia. 3. Imunossupressão. 4. Rato como animal de laboratório. I. Zaia, Alexandre Augusto. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

19.CDD - 617.6342

**Índices para o Catálogo Sistemático**

I. Polpa dental

617.6342



FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de **Mestrado**, em sessão pública realizada em 26/06/97, considerou o candidato aprovado.

1. Alexandre Augusto Zaia

A handwritten signature in cursive script, written over a horizontal line.

2. Clóvis Monteiro Bramante

A handwritten signature in cursive script, written over a horizontal line.

3. Idomeo Bonetti Filho

A handwritten signature in cursive script, written over a horizontal line.

DEDICATÓRIA

Dedico este trabalho aos meus pais,  
*ANA MARIA E TELMO*, por terem doado parte de suas  
vidas em minha educação e criação, pelo exemplo de  
vida, pelo carinho, amor e dedicação incansáveis.

Ao meu irmão, *TELMO JR.*, pelo eterno  
companheirismo e lembranças do passado.

À minha cunhada, *SIMONE*, pela amizade  
e à minha sobrinha-afilhada, *JÚLIA*, um Dom Divino.

*“... Mesmo fundamentado em suposições em  
relação ao meu destino nesta vida, posso dizer em eterno  
agradecimento à Deus, que sou um ser humano de valiosa  
sorte em relação a família que me foi concedida .... ”*

## AGRADECIMENTOS

*Agradeço*

*à Deus,*

*Único e presente, em todos os momentos.*

## ***AGRADECIMENTO ESPECIAL***

*Ao meu orientador, Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia, pelos valiosos ensinamentos, amizade, incentivo e dedicação sempre constantes.*

## **AGRADECIMENTOS**

*À Faculdade de Odontologia de Piracicaba da Universidade Estadual de Campinas, na pessoa de seu diretor, Prof. Dr. José Ranali e diretor associado, Prof. Dr. Oslei Paes de Almeida, de quem recebi o apoio necessário para a realização deste trabalho.*

*Ao Prof. Dr. Mário F. de Góes, coordenador geral dos cursos de pós-graduação da FOP/UNICAMP, pelo auxílio com a mensuração das lesões periapicais, pela amizade e acolhida.*

*À Prof.a. Dra. Altair A. Del Bel Cury, coordenadora do curso de pós-graduação em Clínica Odontológica da FOP/UNICAMP, pelo apoio e amizade.*

*Ao Prof. Dr. Francisco José de Souza Filho, responsável pela área de Endodontia da FOP/UNICAMP, pela amizade, orientações profissionais e apoio constantes.*

*Ao Prof. Dr. Luiz Valdrighi, pelo constante apoio, amizade e valiosas sugestões dadas à minha carreira e ao meu trabalho.*

*Aos Professores Dr. Joélis Pupo, Caio C. R. Ferraz, Dra. Brenda P.F.A. Almeida, da área de Endodontia da FOP/UNICAMP, pelo companheirismo e eterna amizade.*

*Ao Prof. Dr. Márcio A. Lopes, Prof. Dr. Pedro D. Novaes e Prof. Dr. Francisco J. de Souza Filho, pela participação na minha prova de qualificação e pelas considerações muito pertinentes dadas a este trabalho.*

*Ao Prof. Dr. Márcio A. Lopes e Prof. Dr. Luis C. Spolidório, pelo apoio nos procedimentos realizados com animais.*

*Ao eterno amigo-irmão, Dr. Marcelo Daniel Brito Faria, pela valiosa amizade, companheirismo e constante apoio.*

*Aos amigos de curso **Célio A. M. Silva Jr., Eneida B.S. Araújo e Anamaria P.P. Leite**, pela inesquecível amizade e convivência.*

*Ao **Dr. Carlos A. F. Murgel**, pela amizade e auxílio.*

*Aos estimados amigos do curso de pós-graduação em Clínica Odontológica da FOP/UNICAMP.*

*À **Elisabete B. dos Santos e Marilda A.G. Totti**, pelo auxílio com manuseio na cirurgia dos animais.*

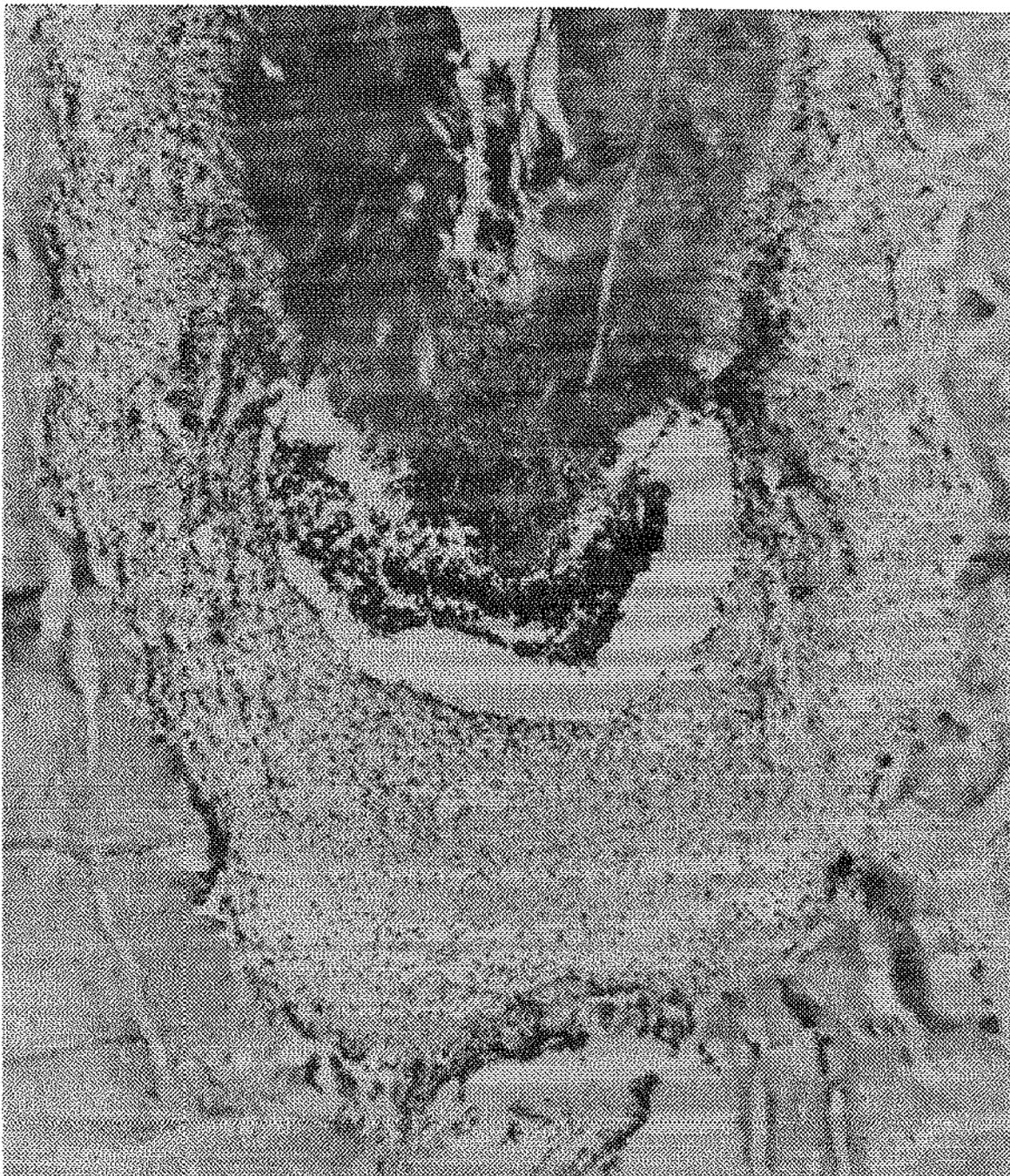
*À **Sra. Maria Aparecida D. Buscariol e ao Sr. Rubens Marques Payão** técnicos do laboratório de Endodontia (FOP/UNICAMP) pelo processamento histológico.*

*À **Srta. Denize L. de Pinho e ao Adailton dos Santos Lima** (FOP/UNICAMP) pelo auxílio em meus trabalhos diários.*

*Ao **Sr. Adriano L. Martins** técnico do laboratório de Patologia (FOP/UNICAMP) pelo manuseio com os animais.*

*Impossível é deixar de lembrar e agradecer a todos os que de maneira direta ou indireta foram de igual modo importantes, contribuindo com palavras de estímulo e um sorriso amigo mas que, indubitavelmente, propiciaram-me condições de prosseguir e concluir este trabalho.*

## EPÍGRAFE



“A ciência progride através de sucessivas respostas a perguntas cada vez mais sutis, que se aproximam bastante da essência do fenômeno. ”

Louis Pasteur

## SUMÁRIO

**SUMÁRIO**

<b>CAPÍTULOS</b>	<b>pgs.</b>
<b>RESUMO</b>	<b>1</b>
<b>1 - INTRODUÇÃO</b>	<b>4</b>
<b>2 - REVISÃO DA LITERATURA</b>	<b>7</b>
<b>2.1. Polpa e Periápice</b>	<b>8</b>
<b>2.2. Imunossupressão</b>	<b>10</b>
<b>2.3. xerostomia</b>	<b>16</b>
<b>2.4. Lesão Periapical</b>	<b>21</b>
<b>3 - PROPOSIÇÃO</b>	<b>28</b>
<b>4 - MATERIAIS E MÉTODOS</b>	<b>30</b>
<b>4.1. Seleção dos Animais</b>	<b>31</b>
<b>4.2. Sialoadenectomia</b>	<b>31</b>
<b>4.3. Imunossupressão</b>	<b>36</b>
<b>4.4. Abertura Coronária</b>	<b>36</b>

<b>4.5. Análise Radiográfica</b>	<b>38</b>
<b>4.6. Análise Microscópica</b>	<b>38</b>
<b>4.7. Análise Estatística</b>	<b>40</b>
<b>5 - RESULTADOS</b>	<b>41</b>
<b>5.1. Achados Histológicos</b>	<b>42</b>
<b>5.2. Características Radiográficas</b>	<b>72</b>
<b>5.3. Análise Estatística</b>	<b>80</b>
<b>6 - DISCUSSÃO</b>	<b>90</b>
<b>7 - CONCLUSÕES</b>	<b>101</b>
<b>8 - SUMMARY</b>	<b>103</b>
<b>9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS</b>	<b>106</b>

LISTAS

**LISTAS**

<b>I. FIGURAS</b>	<b>pgs.</b>
<b>FIGURA 1</b>	<b>33</b>
<b>FIGURA 2</b>	<b>34</b>
<b>FIGURA 3</b>	<b>35</b>
<b>FIGURA 4</b>	<b>37</b>
<b>FIGURA 5</b>	<b>48</b>
<b>FIGURA 6</b>	<b>49</b>
<b>FIGURA 7</b>	<b>50</b>
<b>FIGURA 8</b>	<b>51</b>
<b>FIGURA 9</b>	<b>52</b>
<b>FIGURA 10</b>	<b>53</b>
<b>FIGURA 11</b>	<b>54</b>
<b>FIGURA 12</b>	<b>55</b>
<b>FIGURA 13</b>	<b>56</b>
<b>FIGURA 14</b>	<b>57</b>

<b>FIGURA 15</b>	<b>58</b>
<b>FIGURA 16</b>	<b>59</b>
<b>FIGURA 17</b>	<b>60</b>
<b>FIGURA 18</b>	<b>61</b>
<b>FIGURA 19</b>	<b>62</b>
<b>FIGURA 20</b>	<b>63</b>
<b>FIGURA 21</b>	<b>64</b>
<b>FIGURA 22</b>	<b>65</b>
<b>FIGURA 23</b>	<b>66</b>
<b>FIGURA 24</b>	<b>67</b>
<b>FIGURA 25</b>	<b>68</b>
<b>FIGURA 26</b>	<b>69</b>
<b>FIGURA 27</b>	<b>70</b>
<b>FIGURA 28</b>	<b>71</b>
<b>FIGURA 29</b>	<b>74</b>
<b>FIGURA 30</b>	<b>74</b>
<b>FIGURA 31</b>	<b>75</b>
<b>FIGURA 32</b>	<b>75</b>

<b>FIGURA 33</b>	<b>76</b>
<b>FIGURA 34</b>	<b>76</b>
<b>FIGURA 35</b>	<b>77</b>
<b>FIGURA 36</b>	<b>77</b>
<b>FIGURA 37</b>	<b>78</b>
<b>FIGURA 38</b>	<b>78</b>
<b>FIGURA 39</b>	<b>79</b>
<b>FIGURA 40</b>	<b>79</b>
<b>II - ESQUEMAS</b>	
<b>ESQUEMA 1</b>	<b>39</b>
<b>III. GRÁFICOS</b>	
<b>GRÁFICO 1</b>	<b>73</b>
<b>GRÁFICO 2</b>	<b>88</b>
<b>GRÁFICO 3</b>	<b>89</b>
<b>IV - TABELAS</b>	
<b>TABELA 1</b>	<b>81-83</b>
<b>TABELA 2</b>	<b>85-86</b>

RESUMO

## RESUMO

O objetivo deste trabalho foi analisar comparativamente as lesões periapicais em ratos normais, xerostômicos e xerostômicos-imunossuprimidos; através da análise radiográfica e histológica. A xerostomia foi provocada através da extirpação cirúrgica das glândulas salivares maiores bilateralmente. Quinze dias após ao ato cirúrgico, os animais do grupo de ratos xerostômicos-imunossuprimidos começaram a receber, através de injeção sub-cutânea diária, o agente imunossupressor, ciclosporina A (SANDIMUN). Após uma semana de imunossupressão todos os animais tiveram as polpas dos primeiros molares inferiores direitos expostas ao meio bucal. Foram sacrificados cinco animais de cada grupo após o período de 7, 14, 21 e 28 dias de exposição pulpar. As mandíbulas foram removidas e radiografadas; e logo após, fixadas e descalcificadas. A análise radiográfica foi mensurada em programa **Global lab** e os resultados não mostraram discrepância entre os grupos estudados. A análise histométrica dos cortes histológicos foi realizada também em computador através do mesmo programa, medindo a extensão horizontal e vertical da lesão. Os resultados mostraram também que não houve diferença significativa entre os grupos analisados. As alterações provocadas nos

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-IMUNOSSUPRIMIDOS.

**RESUMO**

animais experimentais, xerostomia e xerostomia associada a imunossupressão, não foram capazes de provocar mudanças nas lesões periapicais em relação ao grupo controle.

**PALAVRAS - CHAVE:**

- Xerostomia
- Imunossupressão
- Lesões periapicais
- Ratos

## 1 - INTRODUÇÃO

## INTRODUÇÃO

O processo inflamatório é um fenômeno basicamente vascular sendo um dos principais mecanismos de defesa e de destruição da polpa, periodonto e periápice. Embora a polpa e o periápice tenham atraído a atenção de muitos pesquisadores ( **GROSSMAN** <sup>32</sup>,1959; **KAKEHASHI et al**<sup>37</sup>, 1965; **MJÖR & TRONSTAD** <sup>50</sup>,1972; **LANGELAND et al** <sup>42</sup>,1977; **ARAÚJO et al** <sup>1</sup>,1983; **PATERSON & WATTS** <sup>63</sup>,1989; **NAIR et al** 1990 <sup>55</sup>, **MOLLOY** <sup>51</sup>,1992 ) vários aspectos biológicos envolvendo os mecanismos de defesa da polpa e periápice ainda são desconhecidos. A polpa dental é um tecido conjuntivo especializado, de origem mesodérmica, contendo estruturas adaptadas às suas funções específicas, que reagem à infecção bacteriana ou a outros estímulos pela resposta inflamatória. A polpa têm volume reduzido e está envolvida por tecidos mineralizados, dificultando observações clínicas e macroscópicas. A maioria dos estudos experimentais refere-se principalmente aos efeitos dos procedimentos terapêuticos e da biocompatibilidade de materiais (**MOLLOY** <sup>51</sup>,1992), dando pouca ênfase à influência dos fatores sistêmicos como a imunossupressão e locais como a xerostomia. Recentemente, **LOPES et al** <sup>43</sup> (1997), descreveram que não houve diferença entre o desenvolvimento de lesões periapicais em ratos normais e imunossuprimidos; e **KOSHAKA et al** <sup>39</sup>(1996) relataram que em

animais diabéticos as lesões periapicais tiveram um desenvolvimento histométrico maior do que em ratos normais.

**WALLSTROM *et al*<sup>88</sup> (1993)** relataram em seus resultados que não houve diferença entre o desenvolvimento de lesões periapicais entre ratos normais e ratos atímicos, sugerindo que a formação das lesões é um fenômeno multifatorial e não é totalmente dependente da presença de linfócitos T.

Não existem trabalhos relatando os efeitos da xerostomia e da xerostomia associadas a imunossupressão por ciclosporina no desenvolvimento das lesões inflamatórias de polpa e periápice.

## 2 - REVISÃO DA LITERATURA

## REVISÃO DE LITERATURA

### POLPA E PERIÁPICE

A polpa é um tecido conjuntivo de origem mesenquimal abrigada dentro de paredes rígidas de dentina na câmara pulpar e canais radiculares (COHEN & BURNS<sup>15</sup>, 1994). Este tecido se comunica com a região periapical através do forame apical e, ocasionalmente, também através de pequenos canais acessórios. Sua periferia é formada por uma camada de células altamente especializadas, os odontoblastos, responsáveis pela formação de dentina. As outras células presentes na polpa, além dos odontoblastos, são os fibroblastos, células indiferenciadas e células de defesa. Macrófagos e ocasionalmente linfócitos são encontrados em polpa normal. Outras células inflamatórias, tais como os leucócitos polimorfonucleares e células plasmáticas são comumente vistas como resultado de uma irritação pulpar e sua subsequente inflamação (WALTON & TORABINEJAD<sup>82</sup>, 1989).

Certas particularidades são impostas à polpa pelas paredes rígidas de dentina que a envolve. A câmara pulpar é preenchida com nervos, tecido vascular, fibras, substância intersticial, odontoblastos, fibroblastos e outros

componentes celulares. O volume sangüíneo total dentro da cavidade pulpar não pode exceder intensamente, pois desencadeará um processo destrutivo às vezes irreversível devido dilatação interna **(COHEN & BURNS<sup>15</sup>, 1994)**.

É importante considerar que a polpa normalmente tem um fluxo sangüíneo relativamente alto o qual não é influenciado por substâncias vasodilatadoras. Sendo assim, só ocorre um pequeno aumento deste fluxo durante a inflamação pulpar, somente na área inflamada. Um aumento na permeabilidade capilar, portanto, parece ser consideravelmente mais importante do que o aumento do fluxo sangüíneo como resposta inflamatória da polpa **(TAGGER & MASSLER<sup>74</sup>, 1975)**.

O papel preciso de defesa da polpa não foi ainda bem determinado. Irritação com subsequente injúria à polpa resulta em inflamação local, com reação vascular, vasodilatação e aumento da permeabilidade. A pressão tecidual excede a pressão venular e a estase ocorre **(WALTON & TORABINEJAD<sup>82</sup>, 1989)**.

A fase celular da inflamação pulpar é primeiro dominada por leucócitos neutrófilos, linfócitos, macrófagos e plasmócitos **(MARTON & KISS<sup>48</sup>, 1993)**. Está bem estabelecido que células imunocompetentes são encontradas na polpa e ambos linfócitos B e T também estão presentes na inflamação pulpar **(BERGENHOLTZ *et al*<sup>4</sup>, 1991)**. Em relação à região

periapical sabe-se que bactérias e seus subprodutos são fatores significantes no desenvolvimento de inflamação e conseqüente lesão periapical (**SELTZER & FARBER** <sup>66</sup>, 1994). Tradicionalmente tem sido assegurado que microorganismos causadores de periodontites estão presentes no tecido necrótico do sistema de canais radiculares e nos túbulos dentinários, enquanto que os tecidos periapicais estão livres de bactérias (**LANGELAND et al** <sup>42</sup>, 1977). O sistema defensivo mobilizado por uma inflamação periapical eliminará qualquer bactéria vinda dos canais radiculares que invade estes tecidos periapicais. A região periapical tem uma capacidade reacional maior que o tecido pulpar, portanto eliminando-se a causa da reação inflamatória se regenera completamente (**LANGELAND et al** <sup>42</sup>, 1977).

### **IMUNOSSUPRESSÃO**

A imunossupressão é definida como estado de incapacitação do sistema imunológico, e pode ser produzida através de vários métodos, como por exemplo a timectomia ou esplenectomia. Também pode ser produzida através do uso de drogas imunossupressoras, com a azatioprina associada a corticóide, metilprednisolona e a ciclosporina.

Em transplantes de órgãos de um modo geral, a terapia imunossupressora procura inibir as células imunocompetentes ativadas, tornando possível a tolerância ao órgão transplantado e a preservação de sua função no organismo receptor. A ciclosporina é o imunossupressor mais usado atualmente em transplantes de órgãos. Sua eficácia e alguns de seus efeitos colaterais estão bem esclarecidos inclusive em animais experimentais como demonstrou **FARTHING & CLARK**<sup>25</sup> (1981).

A ciclosporina é um polipeptídeo cíclico, sendo extremamente hidrofóbica e deve ser dissolvida em lipídeos ou solventes orgânicos antes da administração. Esta substância contém 11 aminoácidos, com peso molecular de 1206,6 kDa, descoberta por **BOREL et al**<sup>5</sup> (1972), quando testavam novos antifúngicos e antibióticos. A ciclosporina é produzida a partir dos fungos *Trichoderma polysporum rifai* e *Tolyocladium inflatum gams*. É um imunossupressor eficaz que prolonga a sobrevivência de transplantes alogênicos de pele, coração, rins, pâncreas, medula óssea, intestino delgado e pulmão em animais (**COHEN et al**<sup>14</sup>, 1984). Diversos estudos sugerem que a ciclosporina inibe o desenvolvimento das reações mediadas por células, inibindo a produção e liberação de linfocinas, incluindo a interleucina 2 nos linfócitos CD4 (**NUSSENBLAT & PALLESTINE**<sup>59</sup>, 1986; **THOMAS & GORDON**<sup>75</sup>, 1986;

**PLATZ et al**<sup>64</sup>, 1991 ) ou fator de crescimento de células T. Ao que parece, a ciclosporina bloqueia os linfócitos durante a fase G0 ou fase G1 de ciclo celular inibindo a liberação de linfocinas das células T ativadas. A ação da ciclosporina é reversível, não afetando as células indiferenciadas da medula óssea (**STEINMULLER**<sup>67</sup>, 1985). Ao contrário dos agentes citotóxicos, a ciclosporina não deprime a hematopoiese e não tem nenhum efeito sobre a função das células fagocitárias.

A ciclosporina é efetiva em várias espécies, (incluindo ratos) onde foram descritos estudos "in vitro" e "in vivo" mostrando a supressão pela ciclosporina de linfócito T (**BURCKARDT & GUGGENHEIN**<sup>6</sup>, 1979). A ciclosporina pode ser administrada por via oral ou sistêmica, e a dose usada é de 10-20mg/Kg de peso corporal. **WASSEF et al**<sup>65</sup> (1985), mostraram que a ciclosporina pode ser administrada nos ratos através de diferentes sítios de aplicação, obtendo níveis adequados no plasma. A administração subcutânea em ratos oferece várias vantagens, tais como: facilidade de ser realizada, requer pouca perícia, é bem tolerada pelo animal, não necessita ser anestesiado previamente e resulta em constantes níveis da droga, com pico adequado e pouca variação de nível sérico durante todo o tempo experimental. Este método provou ser útil e adequado com mínima toxicidade.

A concentração sérica ideal de ciclosporina é de 100-400 mg/ml, e a excreção de metabólitos é principalmente pela biliar, portanto através das fezes. A nefrotoxicidade representa a complicação mais frequente e clinicamente importante associada com o uso de ciclosporina. Disfunção renal induzida pela ciclosporina é observada em experimentos onde os animais receberam altas dosagens da droga (MIHATSCH<sup>52</sup>, 1986).

FARTHING & CLARK<sup>25</sup> (1981), demonstraram a toxicidade natural da ciclosporina em ratos relatando mudanças nas estruturas e funções hepática e renal. Observaram também que animais tratados com esta droga apresentaram perda de peso, sugerindo, que a ciclosporina reduz o apetite contribuindo para queda de albumina e aumento nos níveis de uréia.

De acordo com VATHSALA *et al*<sup>81</sup> (1990), de 704 pacientes transplantados e imunossuprimidos com ciclosporina, 12,8 % apresentaram proteinúria, 30,2 % rejeição crônica do transplante e 11,1 % glomerulonefrite. Também são relatados hipertensão, edema facial, hepatite B, cirrose hepática e diabetes ( HUANG *et al*<sup>34</sup>, 1990; TRESHAN *et al*<sup>76</sup>, 1990; SUMRANI *et al*<sup>72</sup>, 1991 ).

São controversos os estudos quanto aos efeitos na reação inflamatória e processo de reparo. Segundo alguns autores, há inibição ou retardo destes processos, enquanto que outros não confirmaram estas

observações (FISHEL<sup>26</sup>, 1983; NENLANDER<sup>57</sup>, 1983; BOTTCHER *et al*<sup>6</sup>, 1990 ).

Quanto a reparação óssea, WARREN *et al*<sup>84</sup> (1985), observaram cronologia normal da neoformação óssea, quando analisaram fratura femural em ratos imunossuprimidos com ciclosporina.

SPOLIDÓRIO<sup>66</sup> (1991), estudando o efeito da ciclosporina sobre o processo de reparo em tecido cutâneo de rato, concluiu que a imunossupressão efetuada por esta droga influi de maneira positiva na evolução do tecido de granulação dos animais tratados, acelerando o processo de cicatrização.

MARIANI *et al*<sup>49</sup> (1993), mostraram o desenvolvimento de hiperplasia gengival como efeito colateral do uso de ciclosporina. Segundo estes autores, embora muitos fibroblastos estejam presentes na hiperplasia induzida pela ciclosporina, há uma particular abundância de substância amorfa, bem como, marcante infiltração de plasmócitos. Com bases nos dados coletados, os autores concluíram que as características morfológicas do aumento dimensional no tecido gengival associado ao tratamento com ciclosporina pode ser considerado uma manifestação local de um fenômeno sistêmico. Esta hiperplasia foi primeiramente relatada por CALNE<sup>10</sup> (1979).

Contudo está bem estabelecido que com a utilização de drogas imunossupressoras não existe susceptibilidade às doenças periodontais (SUTTON & SMALLES<sup>73</sup>, 1983).

LAMBERTENGI-DELILIERS *et al*<sup>41</sup> (1986), estudaram através de microscópio eletrônico as hiperplasias gengivais induzidas pela ciclosporina A, observaram aumento na quantidade de células, vasos, matriz não-colágena e diminuição da matriz colagênica no tecido conjuntivo.

LOPES *et al*<sup>43</sup> (1997), analisaram o desenvolvimento de lesões periapicais em molares de ratos imunossuprimidos com ciclosporina A. Segundo estes autores, a imunossupressão provocada pela ciclosporina não modificou a evolução das alterações pulpares e periapicais das raízes dos primeiros molares inferiores de ratos, após a exposição pulpar ao meio bucal.

WALLSTROM *et al*<sup>88</sup> (1993) estudaram o desenvolvimento de lesões periapicais em ratos atímicos e em ratos normais. Os resultados desse estudo demonstraram que a evolução das lesões não é totalmente dependente da presença de linfócitos T.

## **XEROSTOMIA**

A saliva é um fluido complexo encontrado no interior da cavidade bucal, com diversas funções como controle da microbiota, digestão do amido, proteção dos tecidos bucais e manutenção do pH neutro. A saliva é produzida quase que na totalidade (90%) pelas glândulas parótidas, submandibulares e sublinguais. Sendo o restante produzido pelas glândulas salivares menores **(HERRERA *et al*<sup>33</sup>, 1988)**.

Com a longevidade da população tem aumentado a incidência de disfunções salivares causados por doenças sistêmicas e locais, desordens imunológicas, radiação, quimioterapia e uso de medicamentos, que é muito comum em pessoas idosas. Com isso, a xerostomia tem se tornado um significativo problema clínico **(MANDEL<sup>45</sup>, 1989)**.

A saliva desempenha uma importante função na neutralização dos ácidos gerados durante a fermentação de carboidratos. Essa propriedade tampão deve-se a alta concentração de cálcio e fósforo da saliva, que mantém o pH neutro na cavidade bucal. Além disso, a saliva apresenta algumas propriedades que auxiliam na manutenção da integridade da mucosa oral, através da limpeza, lubrificação e formação de uma barreira contra estímulos nocivos e toxinas bacterianas **(MANDEL<sup>45</sup>, 1989 ; EPSTEIN & SCULLY<sup>20</sup>,**

1992). A saliva também possui a capacidade de remover microorganismos da boca para o estômago, regulando assim a microbiota bucal através do seu fluxo físico (MANDEL<sup>44</sup>, 1987; HERRERA *et al*<sup>33</sup>, 1988).

A lactoferrina e a lisozima são proteínas encontradas na saliva com atividades antibacterianas. A lactoferrina liga-se ao ferro livre, privando a bactéria desse elemento essencial, enquanto que a lisozima provoca lise de células bacterianas, especialmente *S.mutans* e *Veillonella* por ligação com a superfície celular e interação com ânions salivares de baixa densidade. Essas combinações desestabilizam a membrana da célula, causando sua destruição. Também exerce efeito antibacteriano, inibindo o crescimento ou reduzindo a incorporação de glicose e produção de ácido láctico (TWETMAN *et al*<sup>80</sup>, 1986; MANDEL<sup>45</sup>, 1989).

A peroxidase através da oxidação de íons tiocianato salivares, usando o peróxido de hidrogênio gerado por bactérias bucais, produz hipotiocianato e hipotiocianoso, potentes antibacterianos que afetam o metabolismo dos microorganismos (MANDEL<sup>45</sup>, 1989; EDGAR<sup>19</sup>, 1992).

A presença de IgA na saliva é outro fator importante para neutralização de microorganismos e toxinas (HERRERA *et al*<sup>33</sup>, 1988). Estes anticorpos assim como as mucinas podem ser agentes eficazes na inibição da

transmissão do HIV e outros vírus como o da Herpes simplex (**MANDEL<sup>45</sup>, 1989**).

Em relação à proteção dos tecidos duros da cavidade bucal a saliva tem atributos como sua capacidade tampão, limpeza mecânica de resíduos alimentares e carboidratos, maturação pós-eruptiva do esmalte, regulação do balanço iônico nos processos de remineralização do esmalte, deposição da película adquirida e limitação da difusão de ácidos (**MANDEL<sup>44</sup>, 1987; EDGAR<sup>18</sup>, 1990; EPSTEIN & SCULLY<sup>20</sup>, 1992**).

Em ratos e hamster está bem esclarecido que a sialoadenectomia é seguida de aumento na ocorrência de cáries, devido a um desequilíbrio na microbiota bucal (**BOWEN et al<sup>7</sup>, 1988**). A saliva é uma defesa natural contra cáries dentais, confirmando resultados de estudos prévios os quais mostraram que a remoção de todas as glândulas salivares maiores aumentam os níveis de cáries (**CHEYNE<sup>12</sup>, 1939**).

**BOWEN et al<sup>7</sup> (1988)**, estudaram a influência da remoção das glândulas salivares nas cáries coronárias, cáries de superfícies radiculares e perda de osso alveolar em ratos. Esses autores determinaram que a hipossalivação promoveu um desenvolvimento muito rápido de cáries coronárias nesses animais.

**PAPAS et al**<sup>62</sup> (1993), estudaram a prevalência de cárie em indivíduos xerostômicos e concluíram que o índice de cárie é inversamente proporcional ao fluxo salivar sendo que a atividade tanto de cáries radiculares como coronárias é bem maior no grupo de indivíduos xerostômicos.

**O'CONNEL et al**<sup>60</sup> (1993), relataram que o uso crônico do propranolol reduziu a concentração da proteína total na saliva de todos os animais testados, aumentando a susceptibilidade à cárie, mas não reduziu o fluxo salivar estimulado. Todos os animais que receberam propranolol em altas doses desenvolveram significativamente mais cáries de superfície do que os do grupo controle. Estes autores sugeriram também que o uso desta droga por um longo período de tempo aumenta o risco de cárie.

**MUNDORFF-SHERSTHA et al**<sup>53</sup> (1994), estudaram o potencial cariogênico dos alimentos em ratos e citaram que o fluxo salivar está diretamente associado com a inibição de cáries, sendo a capacidade tampão e a concentração de lisozimas importantes na redução do número e grau de severidade dos processos cariosos.

**KEENE et al**<sup>38</sup> (1994), avaliaram a microflora cariogênica antes e depois do tratamento radioterápico em pacientes com doença de Hodgkins encontrando níveis elevados de *S. mutans* e *Lactobacillus* após o tratamento e presença de dentes cariados. Neste estudo ficou comprovado a necessidade

da utilização de medidas preventivas na tentativa de minimizar os níveis de *S. mutans*, promovendo assim, a prevenção de cáries nestes pacientes.

**O'CONNELL et al**<sup>61</sup> (1994), analisaram o efeito da pilocarpina na composição da saliva e cáries em ratos com disfunção salivar. Este estudo determinou que o índice de cárie nos animais completamente desalivados foi significativamente maior do que nos animais controle, com o desenvolvimento de cáries rampantes.

**CHEYNE**<sup>12</sup> (1939), descreveu com detalhes a anatomia das glândulas salivares maiores do rato e a técnica de remoção cirúrgica para estudar os efeitos da saliva na cavidade bucal. Enfatizando-se que a remoção destas glândulas maiores deve ser bilateral, **BUCHNER & SREENBY**<sup>6</sup> (1972), determinaram em ratos que quando apenas uma das glândulas salivares maiores é removida ocorre uma hipertrofia compensatória das glândulas remanescentes.

Alterações clínicas como a Síndrome de Sjögren, medicamentos, radioterapia, infecção com vírus HIV, doenças locais e sistêmicas, são as causas mais freqüentes que levam à disfunção das glândulas salivares e conseqüentemente à xerostomia ( **GLASS et al**<sup>30</sup>, 1984; **EDGAR**<sup>18</sup>, 1990; **FOX**<sup>27</sup>, 1991; **EDGAR**<sup>19</sup>, 1992; **FOX**<sup>28</sup>, 1992; **SCHIODT**<sup>70</sup>, 1992; **SCHIODT et**

*al*<sup>71</sup>, 1992; **NAVAZESH et al**<sup>66</sup>, 1992; **CARL**<sup>11</sup>, 1993; **ATKINSON & WU**<sup>2</sup>, 1994; **KEENE et al**<sup>38</sup>, 1994).

**TOTTI et al**<sup>78</sup> (1993), concluíram que o fungo *C.albicans* foi encontrado em maior quantidade na boca de ratos sialoadenectomizados em relação aos normais. Mostrando que a xerostomia facilita a instalação, proliferação e persistência deste fungo alterando assim, a composição microbiana na cavidade bucal de ratos.

### LESÃO PERIAPICAL

As bactérias são os agentes agressores mais importantes na causa de doenças pulpares e periapicais. A presença desses microorganismos promove uma participação importante de fenômenos imunológicos de defesa do organismo. Os efeitos e a importância das bactérias na etiologia das pulpites e lesões apicais foram amplamente descritos (**KAKEHASHI et al**<sup>37</sup>, 1965; **BUCHNER & SREEBNY**<sup>8</sup>, 1972; **ARAÚJO et al**<sup>1</sup>, 1983; **PATERSON & WATTS**<sup>63</sup>, 1989). **KAKEHASHI et al**<sup>87</sup>, 1965, observou as mudanças patológicas resultantes da exposição pulpar experimental em ratos "germ-free" comparados à ratos convencionais. Este autor demonstrou que os

tecidos pulparex expostos nos ratos normais tornaram-se necróticos na presença de bactérias resultando no desenvolvimento de inflamação pulpar crônica e, eventualmente, formação de granulomas periapicais. Nos animais "grem-free", mínima inflamação foi observada nos tecidos pulparex expostos, havendo a formação de pontes de dentina sobre as áreas expostas. Os resultados indicaram que a flora microbiana é o maior determinante para o desenvolvimento de lesões periapicais.

No passado, acreditava-se que microorganismos não poderiam sobreviver em lesões periapicais. Contudo um grande número de recentes estudos indicaram que este conceito necessita ser reconsiderado. **TROSNTAD et al**<sup>77</sup> (1986), isolaram microorganismos tais como *Propionibacterium acnes* bem como *Bacterióides (Porphiromonas) gingivalis* e *(Porphiromonas) endodontalis* no interior de lesões periapicais refratárias ao tratamento endodôntico convencional. **NAIR**<sup>54</sup> (1987), estudando 31 lesões periapicais humanas com microscópio eletrônico, encontrou bactérias intra e extracelulares no corpo de 4 granulomas e um cisto radicular. Em outro estudo **NAIR et al**<sup>55</sup> (1990), estudando 9 lesões resistentes a terapia endodôntica convencional encontraram microorganismos em 6 lesões com o uso do microscópio eletrônico.

**GROSSMAN<sup>32</sup>, 1959**, relatou ser possível realizar estudos através dos canais radiculares, utilizando-se uma cânula ou extraíndo-se o elemento dental ou ainda realizando uma ressecção da raiz. Detectando-se assim, a situação bacteriológica dos tecidos perirradiculares.

Muitos investigadores têm demonstrado que lesões periapicais podem ser reproduzidas experimentalmente em animais de laboratório através da exposição pulpar (**KAKEHASHI et al<sup>37</sup>, 1965; STAHL et al<sup>68</sup>, 1969; ARAÚJO et al<sup>1</sup>, 1983; YAMASAKI et al<sup>89</sup>, 1992; ATKINSON & WU<sup>2</sup>, 1994; YAMASAKI et al<sup>90</sup>, 1994; STASHENKO et al<sup>69</sup>, 1994**).

**TAGGER & MASSLER<sup>74</sup> (1975)**, estudaram as reações dos tecidos periapicais em ratos após a exposição pulpar. Os autores observaram que a formação de lesões periapicais era histologicamente evidente após 3 a 4 semanas de exposição. Neste estudo um significativo aumento de endotoxina nos tecidos periapicais já tinha sido observado em 7 dias. De acordo com estes achados, o aumento do conteúdo de endotoxina contribui para o desenvolvimento da lesão periapical.

**FUKUSHIMA et al<sup>29</sup> (1990)**, sugeriram que as bactérias encontradas em dentes com radiolucidez na área do ápice sem dor espontânea, dor à percussão ou exsudação podem ser derivados de microorganismos os quais colonizaram a região antes ou durante o tratamento endodôntico. Os casos

onde eram encontrados bactérias (*Bacterioides*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus* e *Eubacterium*) em lesões periapicais assintomáticas tinham o potencial para se tornarem sintomáticas.

**MANGKORNKARN et al**<sup>47</sup> (1991), investigando as propriedades patobiológicas das espécies bacterianas mais frequentemente isoladas em lesões periapicais persistentes sugeriram que as bactérias residentes nos canais radiculares destes dentes possuem propriedades imunológicas que impedem a reparação completa da região periapical.

**WANG & STASHENKO**<sup>83</sup> (1991), relataram que a atividade de reabsorção óssea está presente também em lesões periapicais crônicas humanas, em níveis comparáveis àquelas encontradas em lesões estáveis em ratos. Usando técnicas bioquímicas e imunológicas, os autores demonstraram que a maior atividade de reabsorção é mediada pelas citocquininas IL-L $\beta$  e TNF $\beta$ .

**WAYMAN et al**<sup>87</sup> (1992), estudaram histologicamente e através de cultura a presença de microorganismos no tecido periapical de 58 casos removidos cirurgicamente. As culturas foram positivas para a presença de bactéria em 51 casos, enquanto histologicamente as bactérias foram encontradas em apenas 8 dos 58 casos. A presença de bactérias em granulomas também foi observada.

**YAMASAKI et al**<sup>89</sup> (1992), realizaram a mensuração da quantidade de endotoxina bem como identificaram bactérias gram-negativas em lesões periapicais experimentais produzidas em ratos. Os resultados deste estudo mostraram que a quantidade de endotoxina nos tecidos periapicais aumentou gradualmente com o avanço do tempo. O número de bactérias gram-positivas teve um maior pico de aumento entre 7 e 14 dias, e aumentou gradualmente (82%) do 1° ao 24° dia e 60% do 28° ao 70° dia. O número de bactérias gram-negativas aumentou com avanço do tempo do 1° ao 24° dias, mas não do 21° ao 70° dias.

**SELTZER & FARBER**<sup>65</sup> (1994), relataram que o papel dos microorganismos na causa das lesões endodônticas tem sido intensivamente investigada. Componentes bacterianos tais como endotoxina e outro componente da parede bacteriana estão implicados no desenvolvimento da inflamação pulpar e periapical. **TRONSTAD**<sup>78</sup> (1992), citou que, como o tecido conjuntivo de todo o corpo, a polpa e o periodonto reagem a infecção com inflamação.

**MARTON & KISS**<sup>48</sup> (1993), investigaram lesões periapicais estudando o envolvimento das reações inflamatórias e imunológicas na patogenia e manutenção destas periodontites apicais crônicas. Estes autores

sugeriram que os macrófagos e linfócitos T exercem importante papel na destruição e reparo da região periapical.

**YAMASAKI *et al*<sup>90</sup> (1994)**, investigaram histologicamente e histometricamente as mudanças na polpa e tecidos periapicais após a exposição pulpar em ratos. Histologicamente, necrose pulpar estendia gradualmente da parte mais coronária do tecido pulpar para o ápice, com a inflamação começando no tecido periapical num estágio bem inicial. Histometricamente, a extensão da necrose pulpar aumentou gradualmente de 1° a 28° dias. As extensões verticais e horizontais das lesões periapicais após 14 dias estavam significativamente aumentadas. A lesão periapical estendia-se primeiramente em direção méso-distal e depois em direção vertical.

**STASHENKO *et al*<sup>89</sup> (1994)**, estudaram o mecanismo de patogenia das lesões periapicais em molares de ratos com exposição pulpar. As lesões periapicais desenvolveram rapidamente entre 0 e 15 dias (fase ativa). Após esse período a evolução das lesões eram mais lentas (fase crônica). Uma flora anaeróbica gram-negativa, similar a encontrada no homem, foi identificada. As lesões continham um infiltrado inflamatório misto consistindo de células T, neutrófilos, células B, macrófagos e plasmócitos. Durante a fase ativa, predominavam células T auxiliares, sendo células T supressoras mais

freqüentes na fase crônica. A maior atividade de reabsorção óssea era mediada pela citoquinina interleucina-1 $\beta$ .

**GOMES et al**<sup>31</sup>, 1994, estudaram a associação de bactérias específicas dos canais radiculares e sintomatologia dolorosa. Estes autores observaram que nos casos de dor predominavam bactérias anaeróbias, principalmente *Prevotella* e *Peptostreptococcus spp.*

Molares de ratos têm sido usados por diversos autores no estudo da patologia pulpar e periapical. **EURASQUIN & MURUZABAL**, em uma série de trabalhos<sup>21, 22, 23, 24</sup> estudaram as alterações apicais e métodos para tratamento de canal de molares de rato. Tendo em vista esta revisão de literatura e pela inexistência de estudos comparativos do desenvolvimento de lesões periapicais em ratos xerostômicos e xerostômicos-imunossuprimidos, julgamos oportuno realizar este estudo.

### 3 - PROPOSIÇÃO

## PROPOSIÇÃO

O presente trabalho tem por objetivo comparar radiograficamente e histometricamente através de "software" **Global lab** o desenvolvimento de lesões periapicais da raiz mesial dos primeiros molares inferiores direitos de ratos normais, xerostômicos e xerostômicos-imunossuprimidos, após os períodos de 7, 14, 21 e 28 dias de exposição ao meio bucal.

## 4 - MATERIAIS E MÉTODOS

## MATERIAIS E MÉTODOS

### I - Seleção dos Animais

Foram utilizados 60 ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), machos, pesando em torno de 170 a 200 gramas, provenientes do Biotério Central da UNICAMP, alojados em gaiolas plásticas, alimentados com ração "labina" e água "ad libitum". Os animais foram divididos em três grupos: Grupo A - 20 animais do grupo controle; Grupo B - 20 animais xerostômicos e Grupo C - 20 animais xerostômicos - imunossuprimidos.

### II - Sialoadenectomia

Os animais dos grupos B e C foram anestesiados com injeção intraperitoneal de hidrato de cloral à 10% (400 mg/Kg de peso corporal), posicionados em uma mesa operatória, submetidos à tricotomia e antissepsia com álcool iodado na região cervical (**fig.1**). Após a incisão de aproximadamente 3 cm na porção cervical mediana da pele, o tecido subjacente foi divulsionado e as glândulas submandibulares e sublinguais foram localizadas (**fig.2**). As glândulas parótidas foram localizadas em

seguida, aderidas a região médio-ventral do pescoço e estendendo-se sobre a superfície ventral das glândulas submandibulares. Todas foram removidas cirurgicamente segundo a técnica de **CHEYNE<sup>12</sup> (1939)**, modificada. A remoção foi realizada após divulsão tecidual, preservando-se os linfonodos regionais e com prévia ligadura dos vasos sanguíneos de maior calibre que irrigam essas glândulas (**fig.3**). As glândulas sublinguais e submandibulares foram removidas simultaneamente devido a firme aderência entre elas, embora estejam separadas por um septo de tecido conjuntivo . Após a remoção das glândulas, a ferida cirúrgica foi fechada e suturada com pontos simples. Os animais do grupo A foram também anestesiados e a região cervical incisada e suturada, com o objetivo de que o stress cirúrgico não interferisse nos resultados.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-IMUNOSSUPRIMIDOS.  
MATERIAIS E MÉTODOS



**figura 1** - Tricotomia e anti-sepsia realizada nos animais experimentais, visando a sialoadenectomia das glândulas salivares maiores.



**Figura 2** - Mostrando a localização das glândulas submandibulares (seta maior) e sublinguais (seta menor). As duas glândulas estão firmemente aderidas por septo de tecido conjuntivo.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-IMUNOSSUPRIMIDOS.  
MATERIAIS E MÉTODOS



**figura 3** - Região cervical do animal após remoção das glândulas submandibulares e sublinguais. Notar os fios de sutura utilizados para ligar os vasos de maior calibre (seta).

### III - Imunossupressão

Duas semanas após ter sido realizado a extirpação cirúrgica das glândulas maiores; os animais do grupo C passaram a receber injeção diária, via subcutânea, de ciclosporina A (laboratório Sandoz - SANDIMUM®) na dose de 10 mg/Kg de peso corporal, diluída em soro fisiológico autoclavado numa proporção de 4:1. As injeções foram realizadas durante todo o experimento.

### IV - Abertura Coronária

Após uma semana de imunossupressão dos animais do grupo C, todos os animais dos grupos A, B e C foram novamente anestesiados e posicionados em mesa operatória apropriada. As bochechas foram afastadas com retratores adaptados, buscando uma melhor visualização do campo operatório. O esmalte e a dentina dos primeiros molares inferiores do lado direito, foram desgastados com broca esférica carbide número ½ posicionada no micromotor. A abertura foi realizada na fóssula mesial da superfície oclusal até a exposição pulpar, que foi alcançada penetrando-se a ponta ativa da mesma (**fig.4**). Foram sacrificados 5 animais de cada

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-IMUNOSSUPRIMIDOS.  
MATERIAIS E MÉTODOS

grupo, por inalação excessiva de Éter etílico, após o 7º, 14º, 21º e 28º dias de exposição.



**figura 4** - Abertura coronária realizada na fóssula mesial da superfície oclusal do primeiro molar inferior direito, utilizando broca carbide esférica ½ montada em baixa-rotação.

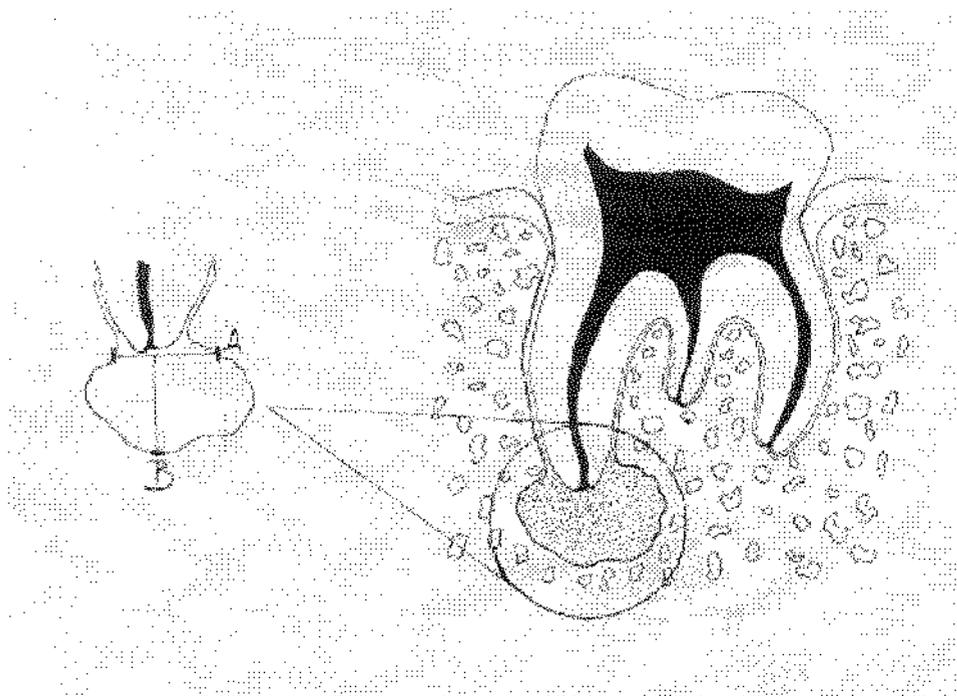
## **V - Análise Radiográfica**

Após o sacrifício dos animais, as hemi-mandíbulas direitas foram retiradas e radiografadas com filmes periapicais "Kodak" ultra-sensíveis, com 0,3 segundos de exposição em aparelho de raio-X com 60 KV e 10 mA. O posicionamento das mandíbulas sobre a película radiográfica e a distância do cilindro localizador do aparelho de raio-X foram padronizados afim de evitar distorções nas imagens. Após a revelação em processador automático das radiografias, as imagens foram projetadas sobre uma folha branca e a área total das lesões pintadas com caneta hidrocor. As imagens das lesões foram transferidas para o computador através de "Scanner" (Scan Jet 3c) e as lesões mensuradas em "software" da Global lab.

## **VI - Análise Microscópica**

As hemi-mandíbulas direitas foram fixadas em formol a 10% por 48 horas e descalcificadas em Solução de EDTA a 4% (Ácido etilenodiamino tetra-acético) durante o período de 2 meses. Após a descalcificação as peças foram lavadas abundantemente, processadas e incluídas em parafina. Cortes seriados de 7µm, no sentido méso-distal, foram corados em H.E. e analisados em microscópio óptico. As imagens foram transferidas para o computador, através de um microscópio específico

passando as imagens direto para a tela do computador e a extensão vertical e horizontal das lesões periapicais foram mensuradas, de acordo com o esquema 1, em "software" **Global lab**.



#### ESQUEMA 1

**Tangente A** - medida horizontal das lesões, tangente que passa pelas extremidades do ápice radicular.

**Tangente B** - medida vertical das lesões, tangente que parte do centro do canal radicular a partir da tangente A, até a extremidade da lesão.

## **VII - Análise Estatística**

Foi realizado um experimento inteiramente casualizado com arranjo fatorial dos dois fatores e a análise estatística foi composta de um quadro de análise de variância incluindo o teste "F". As comparações múltiplas das médias foram feitas para os fatores significativos com nível  $\alpha$  (alfa) de 5% no teste "F" pelo teste "Tukey" ( Teste das amplitudes "studetizadas" de Tukey ). Os cálculos foram efetuados em computador pessoal através do sistema "SAS".

## 5 - RESULTADOS

## RESULTADOS

### 5.1. ACHADOS HISTOLÓGICOS

#### **Grupo A - controle (7 dias)**

As observações histológicas permitiram verificar a presença de tecido vivo na porção média e apical do canal radicular. Constatou-se a presença de estruturas vasculares dilatadas e hiperêmicas tanto no terço médio quanto na região apical. Abaixo desta região, estava presente um intenso infiltrado de células inflamatórias, formado principalmente por neutrófilos atuando como barreira defensiva. Na região periapical notam-se vasos dilatados e hiperêmicos, além de um discreto espessamento do espaço correspondente ao ligamento periodontal (**figs. 5 e 6**).

#### **Grupo B - xerostômico (7 dias)**

A análise microscópica foi semelhante à descrita no grupo controle. O tecido pulpar se encontrava necrosado no terço coronário e

inflamado no terço médio e apical. A região periapical apresentava vasos com dilatação e hiperêmicos (**figs.7 e 8**).

#### **Grupo C - xerostômico-imunossuprimido (7 dias)**

Histologicamente se apresentou semelhante aos demais grupos. Na porção coronária podíamos observar uma situação de desorganização e necrose, bem como um processo inflamatório na porção referente ao terço médio do canal radicular. A região periapical apresentava um discreto espessamento e vasos dilatados e hiperêmicos (**figs. 9 e 10**).

#### **Grupo A - controle (14 dias)**

Após este período de exposição pulpar, a necrose se situava na maioria dos casos entre os terços médio e apical, afirmando a evolução do processo. Abaixo da área de necrose, ocorria a presença de um acúmulo de células inflamatórias com predomínio de neutrófilos. A região periapical encontrava-se espessada apresentando vasos dilatados, hiperêmicos e maior celularidade, com maior número de fibroblastos e células inflamatórias mononucleares (**fig. 11 e 12**).

### **Grupo B - xerostômico (14 dias)**

As observações encontradas neste grupo foram similares ao grupo controle. A polpa estava necrosada nas regiões próximas a região apical. Na região periapical observou-se uma moderada concentração de células atuando em resposta ao processo. Havia reabsorções ósseas com a presença de células gigantes mostrando processo ativo (fig.13 e 14).

### **Grupo C - xerostômico-imunossuprimido (14 dias)**

Os 2/3 coronários das polpas se encontravam quase que inteiramente necrosadas, restando a porção apical com vitalidade e notava-se aumento no número de células na região periapical e células gigantes em lacunas do tecido ósseo mostrando um processo de reabsorção óssea contínuo ( fig.15 e 16).

### **Grupo A - controle (21 dias)**

Neste grupo experimental, o tecido pulpar encontrava-se inteiramente necrosado mostrando completa destruição. A região periapical apresentava-se intensamente espessada com atividade osteolítica

promovida pelos osteoclastos. Intensa concentração de células inflamatórias com predomínio de polimorfonucleares (**fig.17 e 18**) observadas próximo ao ápice radicular. Observou-se a presença de microabscessos apicais em pequenas proporções.

#### **Grupo B - xerostômico (21 dias)**

O tecido pulpar encontrava-se totalmente necrosado e em alguns casos observou-se a presença de microabscessos apicais. O periápice encontrava-se bastante espessado com intensa reação inflamatória concentrada no ápice radicular (**fig. 19 e 20**).

#### **Grupo C - xerostômico-imunossuprimido (21 dias)**

A polpa estava completamente necrosada. O periápice apresentavam microabscessos e em atividade osteolítica intensa promovida por osteoclastos (**fig.21 e 22**).

### **Grupo A - controle (28 dias)**

O tecido pulpar encontrava-se completamente destruído e necrosado. A região periapical apresentava focos de células inflamatórias predominantemente polimorfonucleadas caracterizando microabscesso concentrado no ápice radicular. Intensa atividade osteolítica ainda era observada (**fig.23 e 24**).

### **Grupo B - xerostômico (28 dias)**

Como no grupo controle, as polpas estavam inteiramente necrosadas e existia a presença de células inflamatórias em quantidade significativa por toda a região perirradicular caracterizando um microabscesso. Distanciando-se do ápice radicular, o processo inflamatório tornava-se predominantemente crônico, com intensa atividade osteolítica (**Fig.25 e 26**).

### **Grupo C - xerostômico-imunossuprimido (28 dias)**

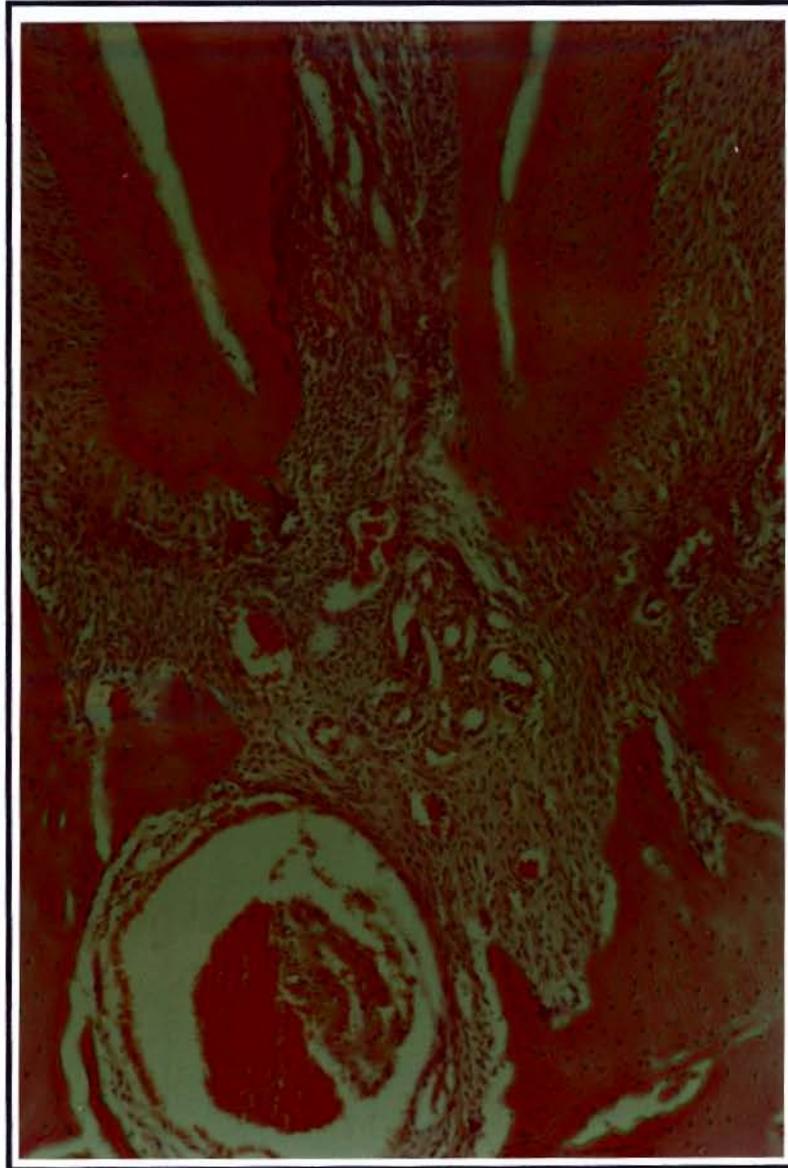
O tecido pulpar totalmente encontrava-se completamente necrosado. Semelhante aos anteriores, notava-se abscesso no ápice radicular e atividade osteolítica (**fig. 27 e 28**).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**

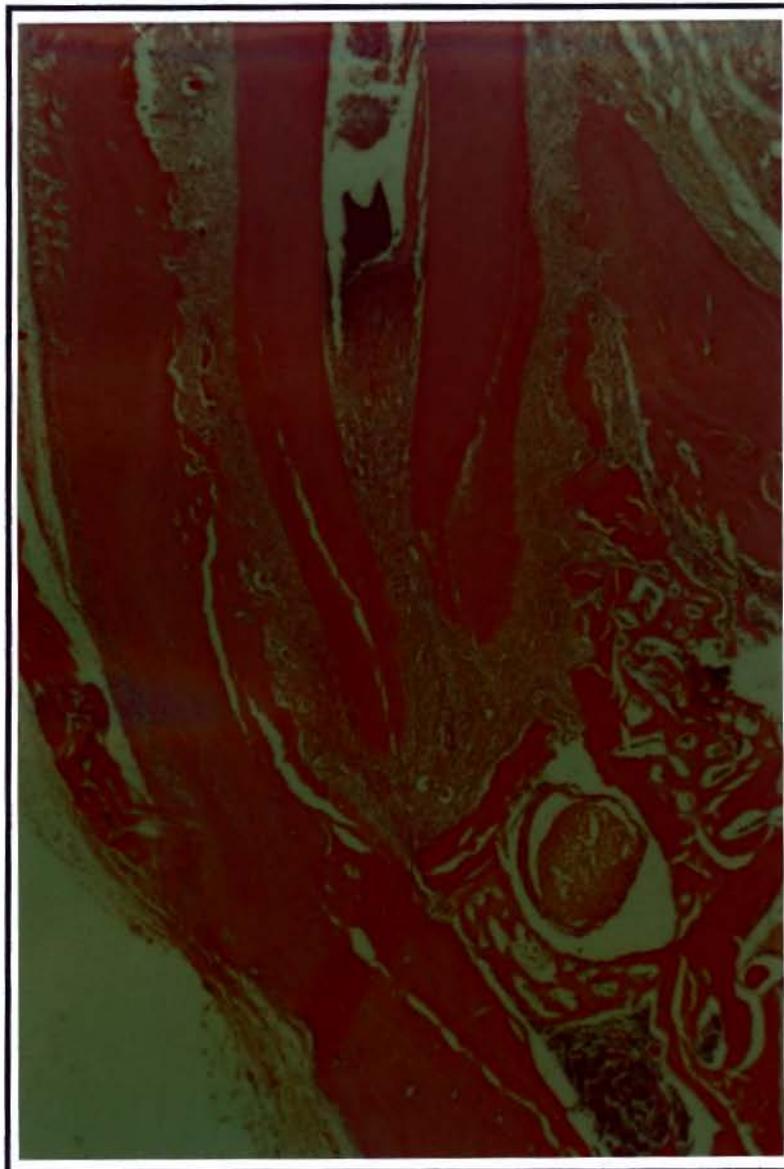


**figura 5 - Grupo A** (controle) com 7 dias de exposição pulpar. Mostrando vitalidade no terço apical do canal radicular e um ligeiro espessamento da região periapical. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS  
NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**

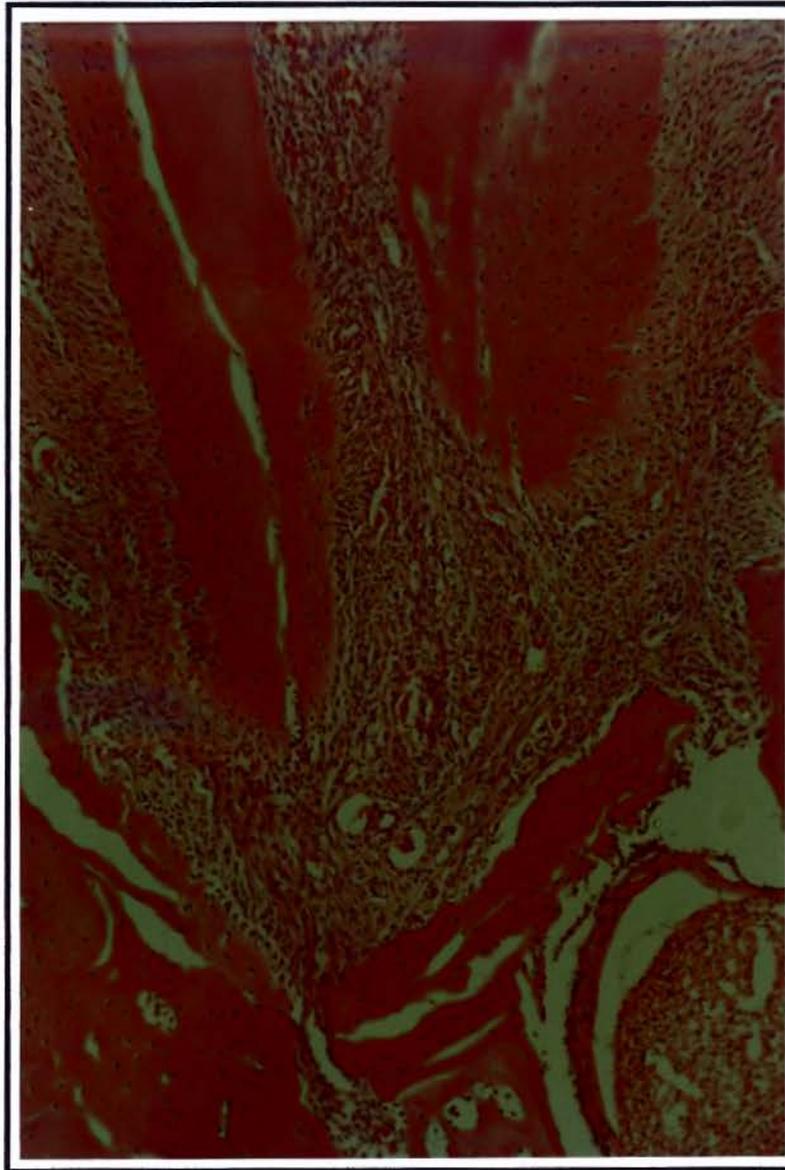


**figura 6 - Grupo A** (controle) com 7 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura anterior mostrando estruturas vasculares dilatadas e hiperêmicas com discreto aumento da celularidade. H.E. (130X).



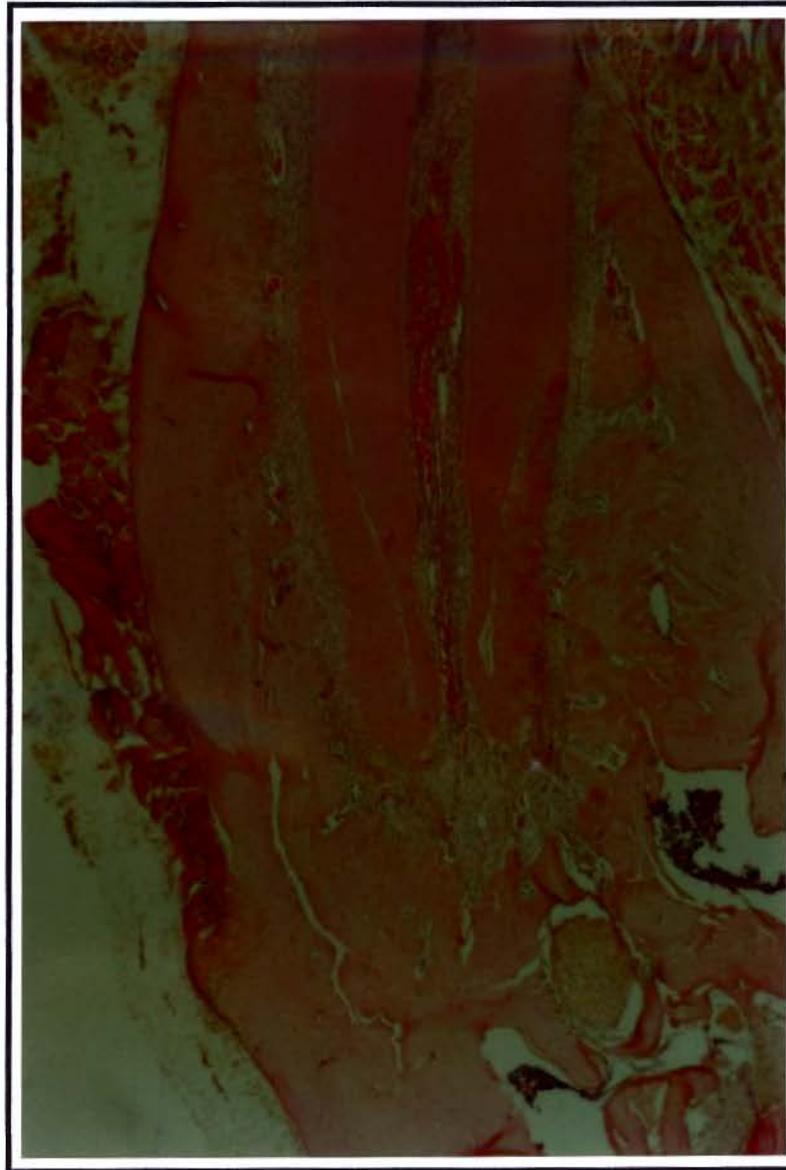
**figura 7 - Grupo B** (xerostômico) com 7 dias de exposição pulpar, onde observa-se um processo degenerativo pulpar que se estabelece na porção coronária e média do canal radicular. A região periapical podemos verificar a presença de tecido vivo. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



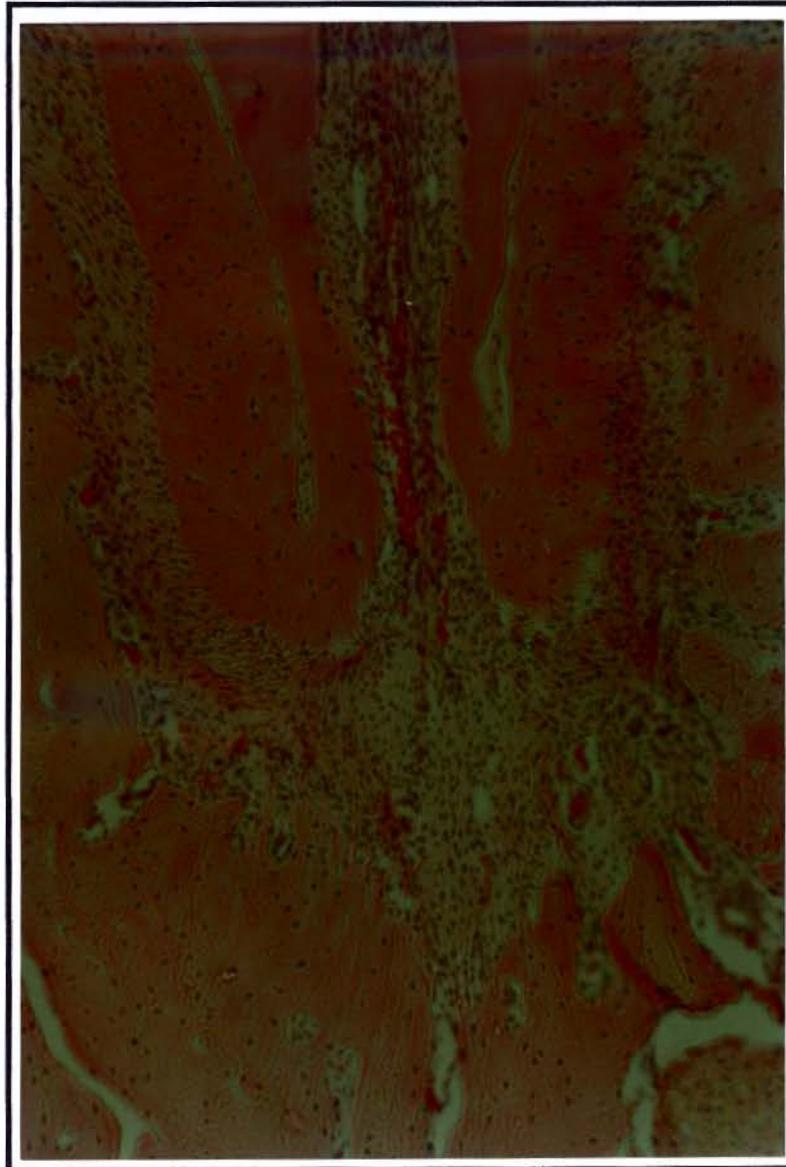
**figura 8 - Grupo B** (xerostômico) com 7 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura anterior. Temos características semelhantes ao do grupo controle com a presença de vasos hiperêmicos na região periapical. H.E. (130X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



**figura 9 - Grupo C** (xerostômico-imunossuprimido) com 7 dias de exposição pulpar. Podemos notar a presença de estruturas vasculares dilatadas no terço médio do canal radicular e na região periapical. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



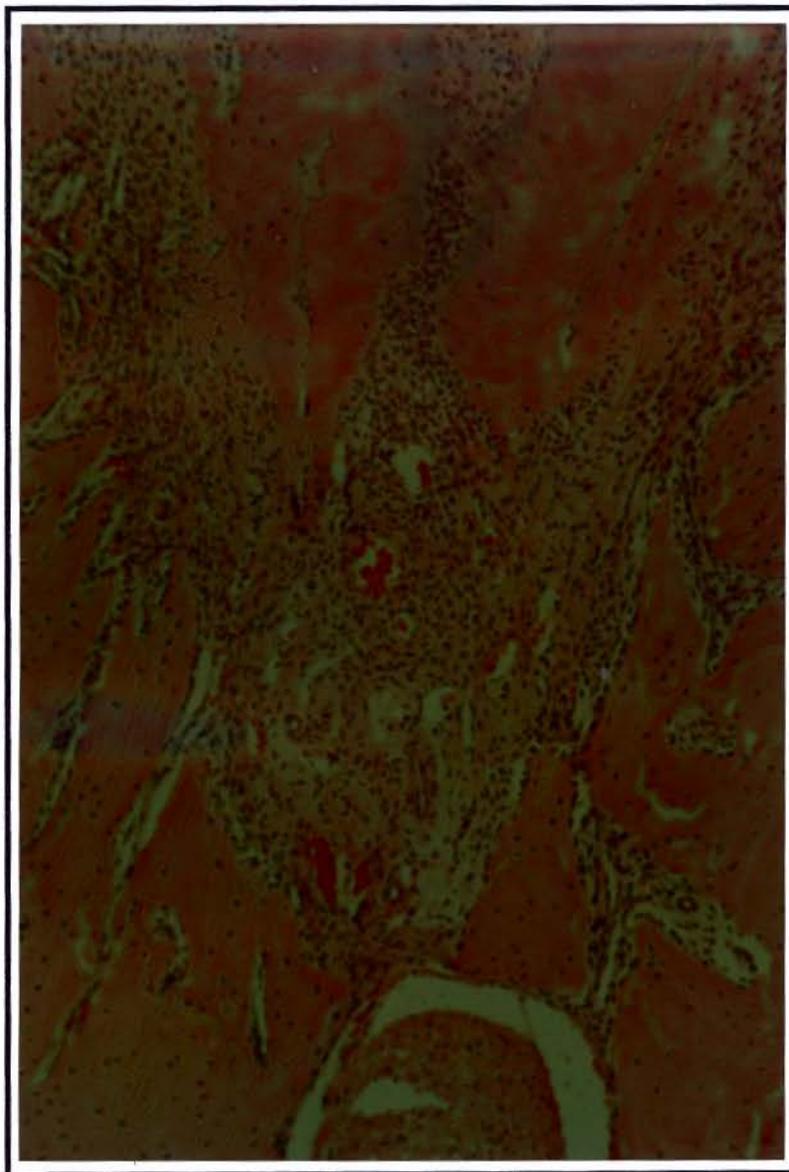
**figura 10 - Grupo C** (xerostômico-imunossuprimido) com 7 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura anterior. Observamos a presença de estruturas vasculares dilatadas na porção periapical. H.E. (130X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



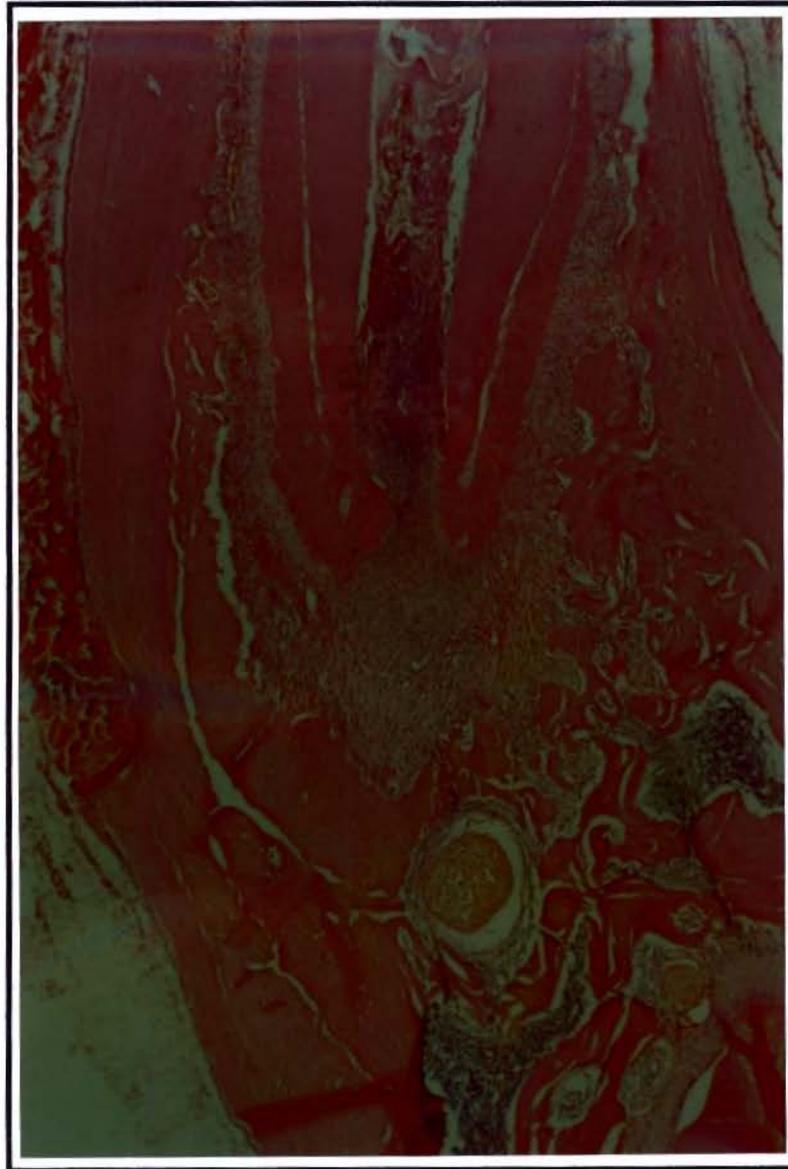
**figura 11 - Grupo A** (controle) com 14 dias de exposição pulpar. Podemos observar a presença de tecido necrótico na porção média do canal radicular e logo abaixo um acúmulo de células inflamatórias. A região periapical se encontra ligeiramente espessa e com vasos dilatados. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



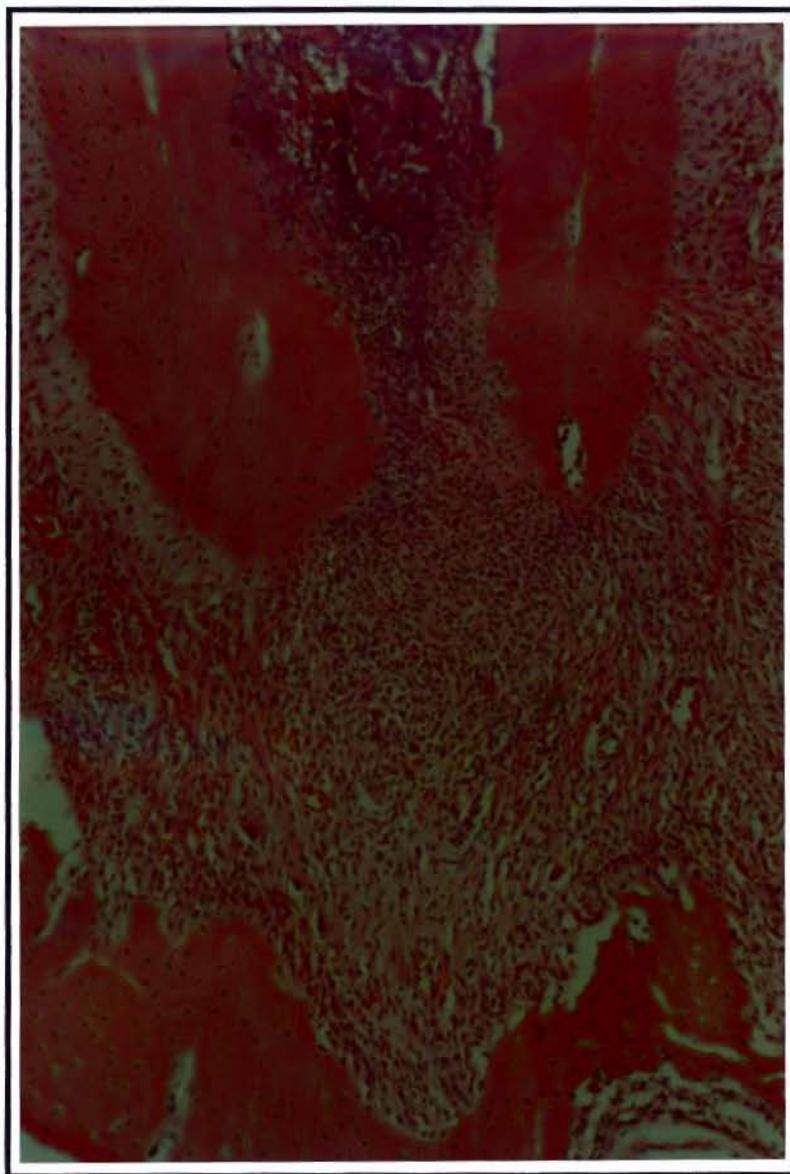
**figura 12 - Grupo A** (controle) com 14 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura anterior. Observar-se um acúmulo de células na região periapical com a presença de vasos hiperêmicos. H.E. (130X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



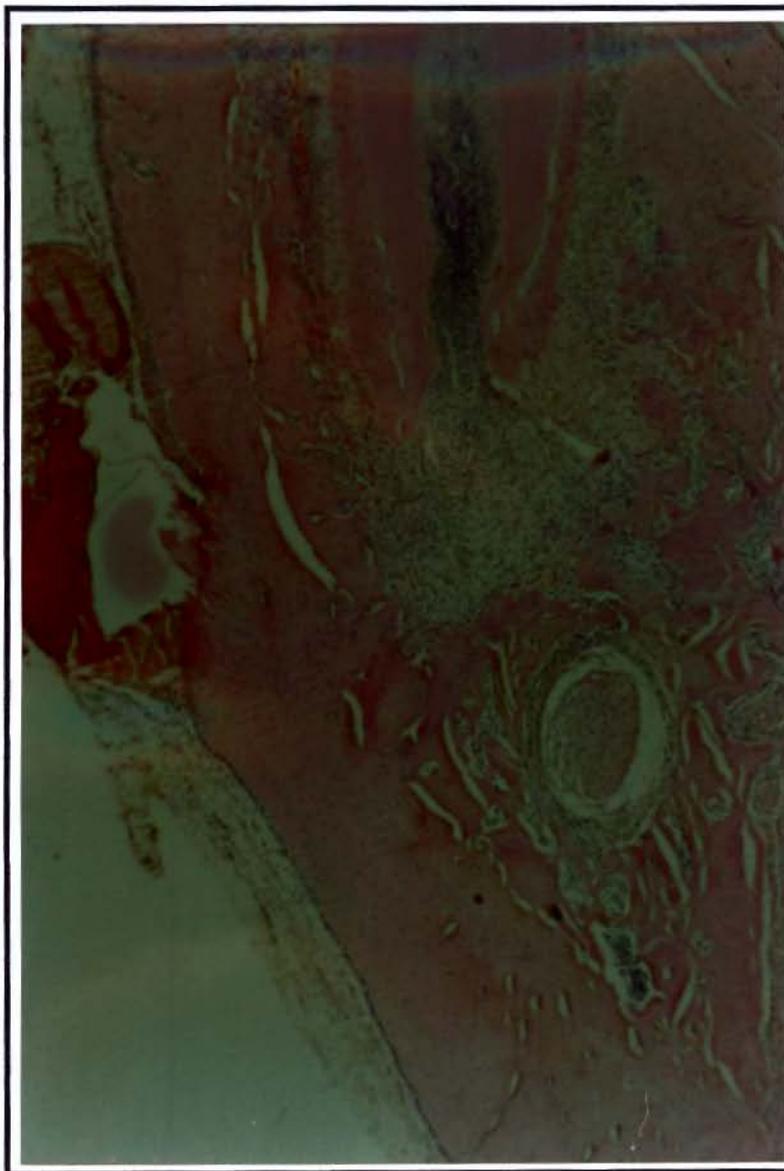
**figura 13 - Grupo B** (xerostômico) com 14 dias de exposição pulpar. Na região periapical, como no grupo controle, observou-se uma moderada concentração de células. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



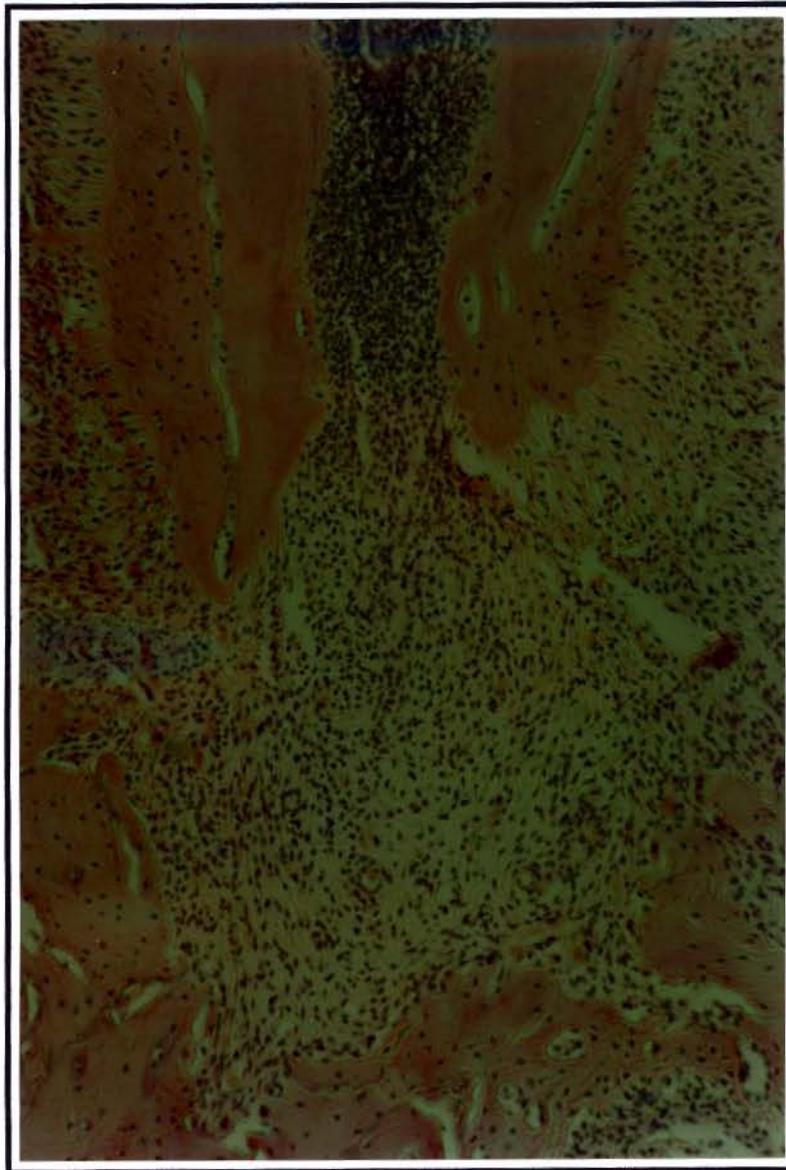
**figura 14 - Grupo B** (xerostômico) com 14 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura anterior. Observa-se um acúmulo de células na porção apical do canal radicular e vasos dilatados na região perirradicular. H.E. (130X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS  
NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



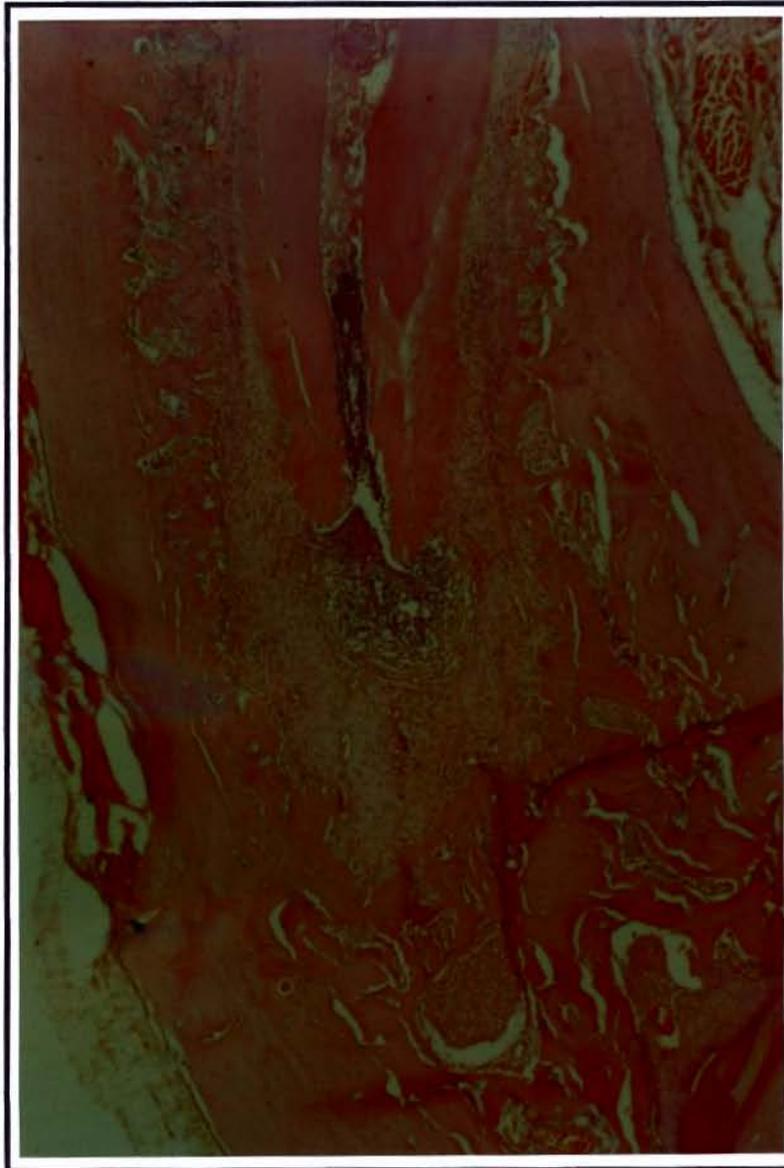
**figura 15 - Grupo C** (xerostômico-imunossuprimido) com 14 dias de exposição pulpar. A porção coronária e média do canal radicular encontram-se quase que inteiramente necrosadas. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS  
NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



**figura 16 - Grupo C** (xerostômico-imunossuprimido) com 14 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura 15. Nota-se um aumento do número de células na região periapical. H.E. (130X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



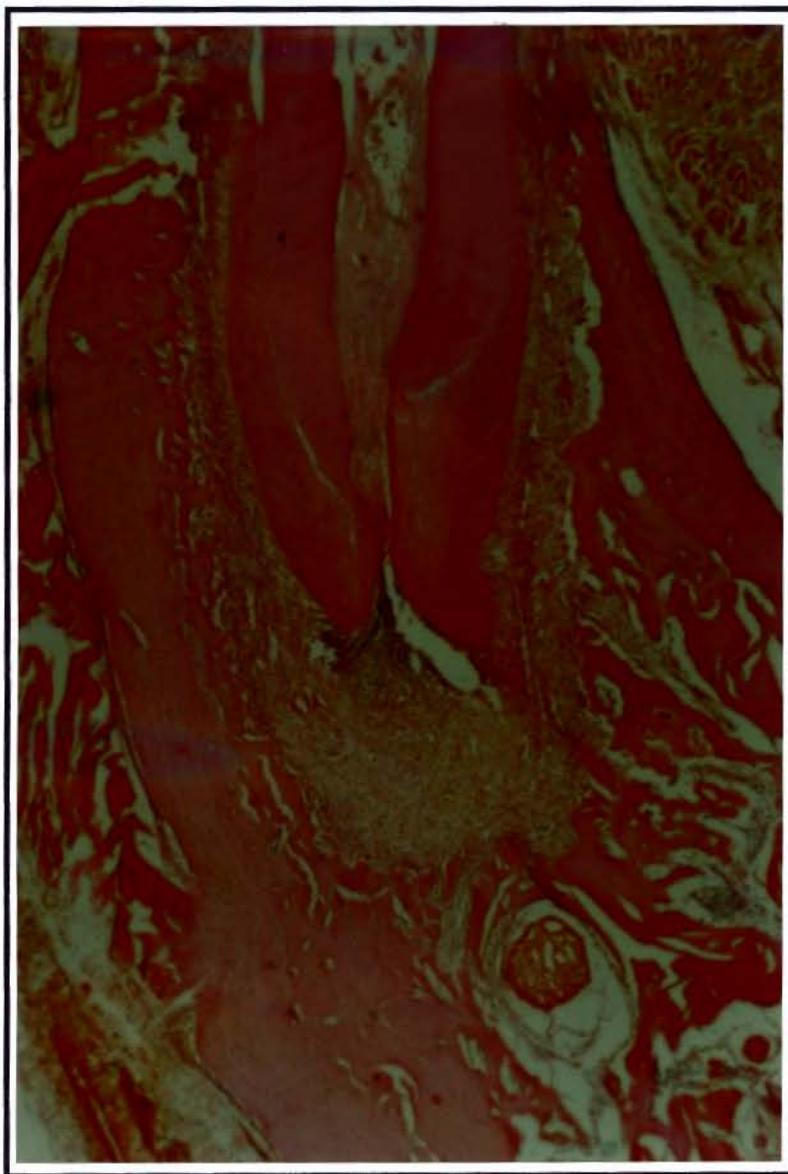
**figura 17 - Grupo A** (controle) com 21 dias de exposição pulpar. O tecido pulpar esta completamente destruído. Notamos um avanço na destruição perirradicular devido a lise óssea. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS  
NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



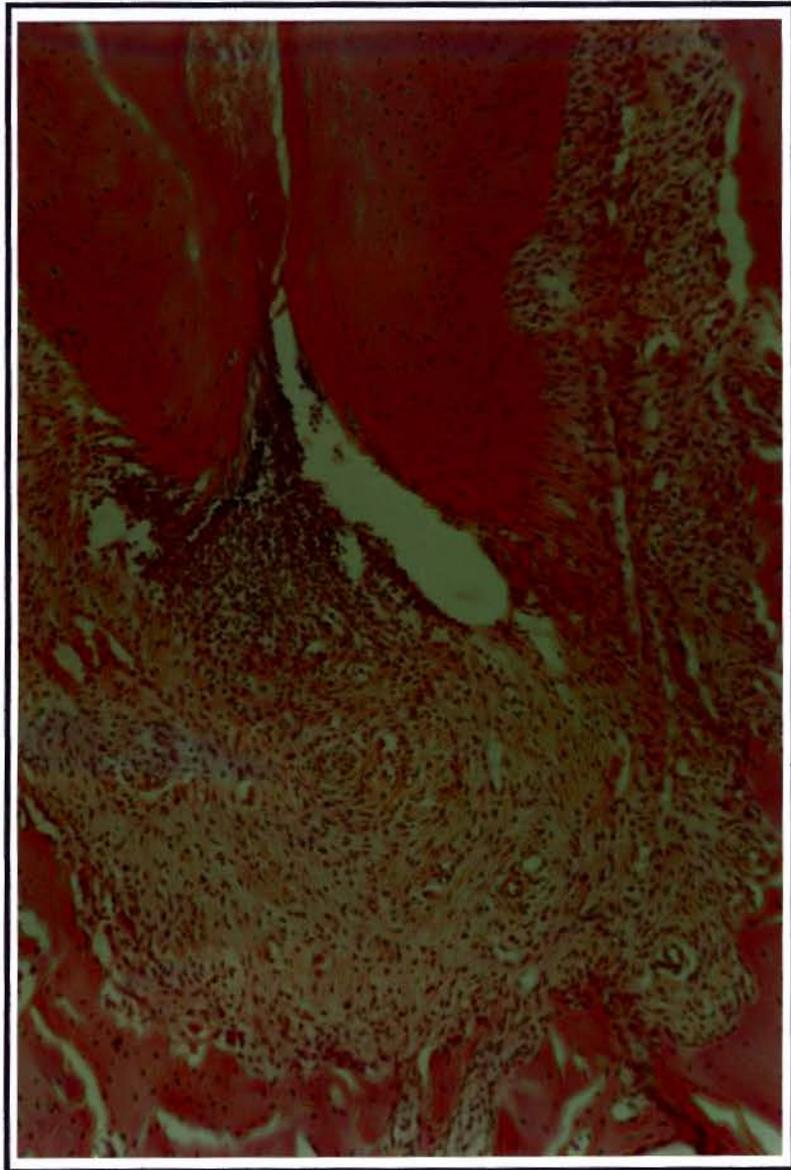
**figura 18 - Grupo A** (controle) com 21 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura anterior. Notamos uma intensa concentração de células inflamatórias com predomínio de polimorfonucleares. Existe também a presença de áreas de destruição tecidual com formação de microabscessos apicais. H.E. (130X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS  
NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



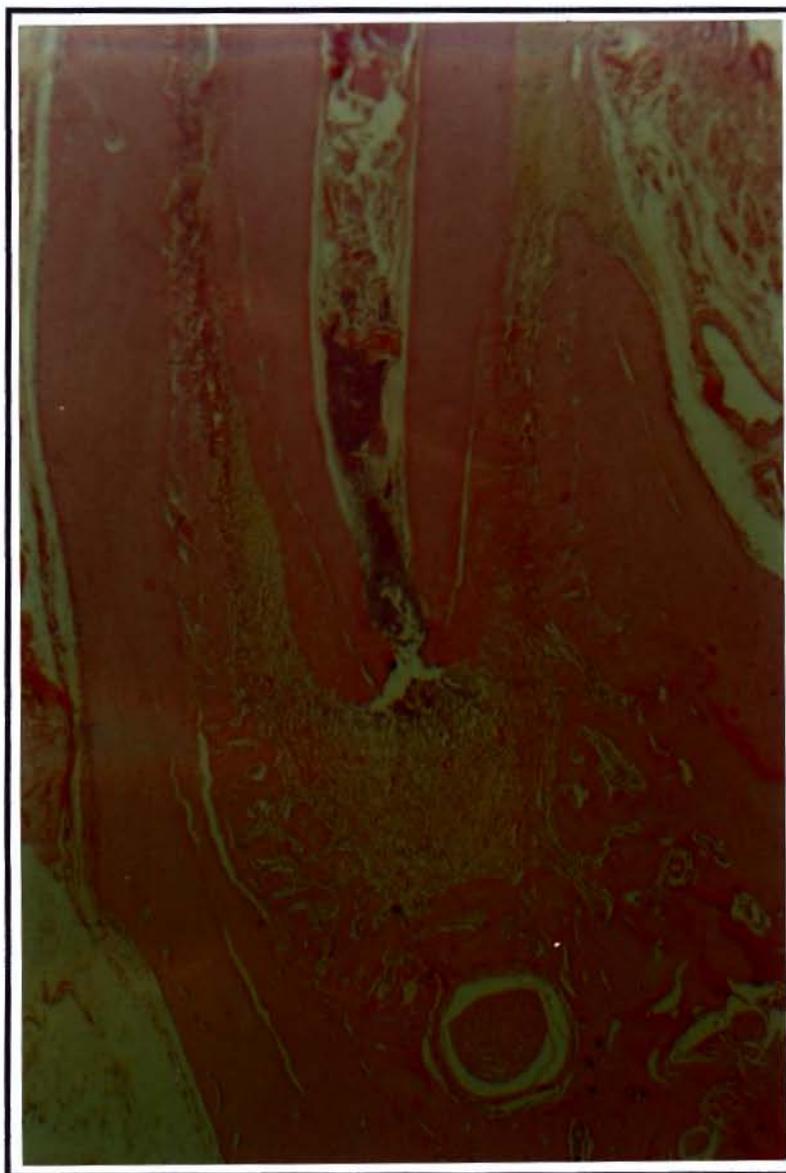
**figura 19 - Grupo B** (xerostômico) com 21 dias de exposição pulpar. Observamos, como no grupo controle, a completa destruição do tecido pulpar. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



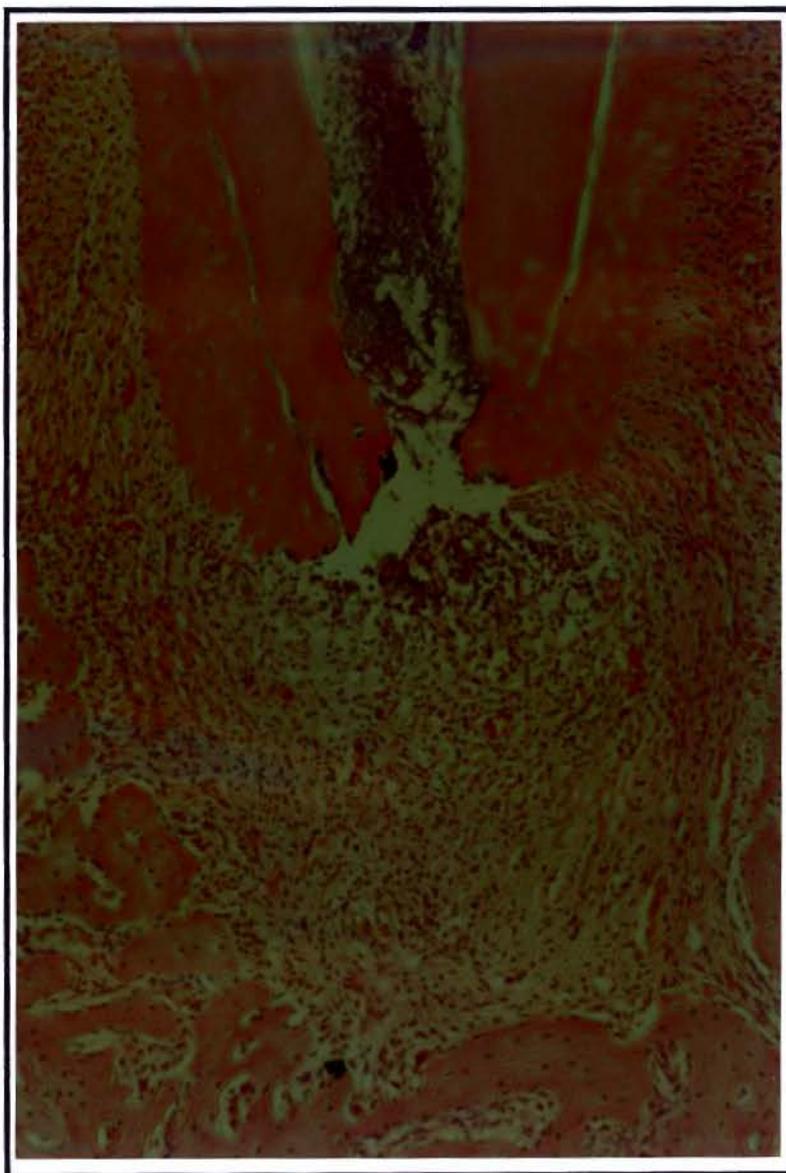
**figura 20 - Grupo B** (xerostômico) com 21 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura anterior. Na região periapical podemos observar a presença de um microabscesso com um acúmulo intenso de células por toda a região. H.E. (130X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS  
NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



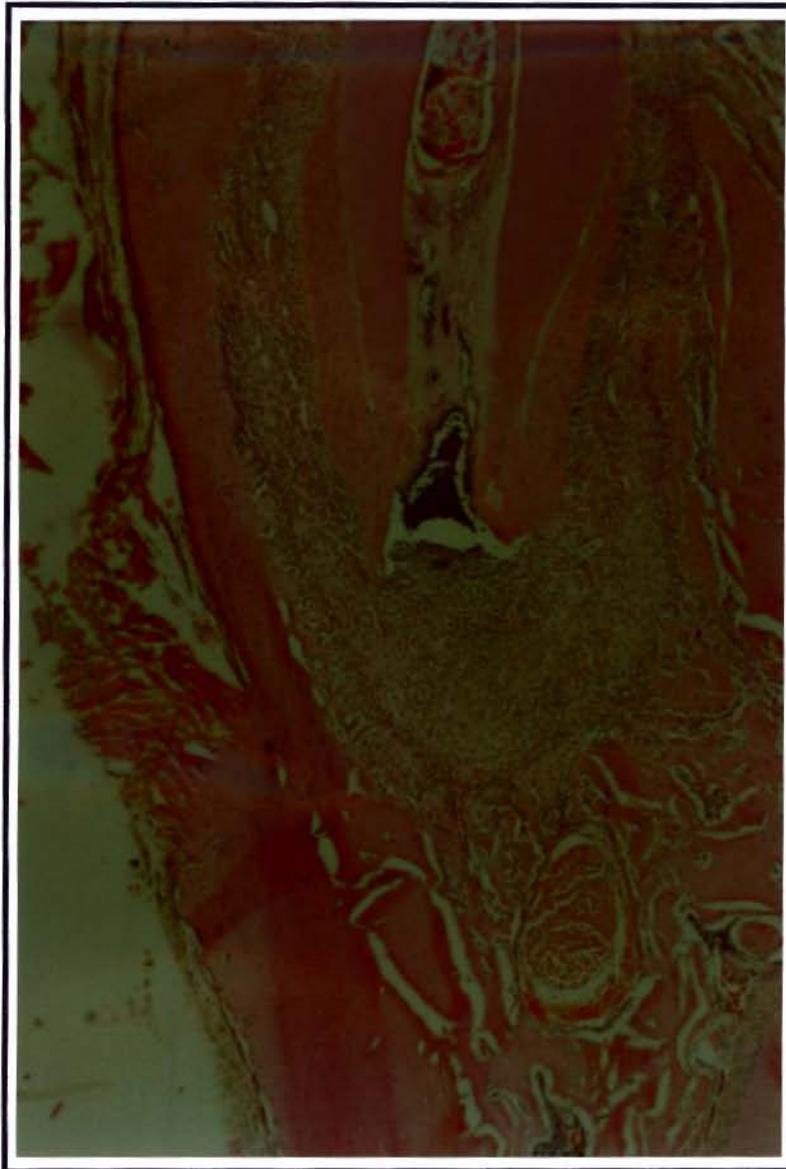
**figura 21 - Grupo C** (xerostômico-imunossuprimido) com 21 dias de exposição pulpar. A polpa esta completamente destruída. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



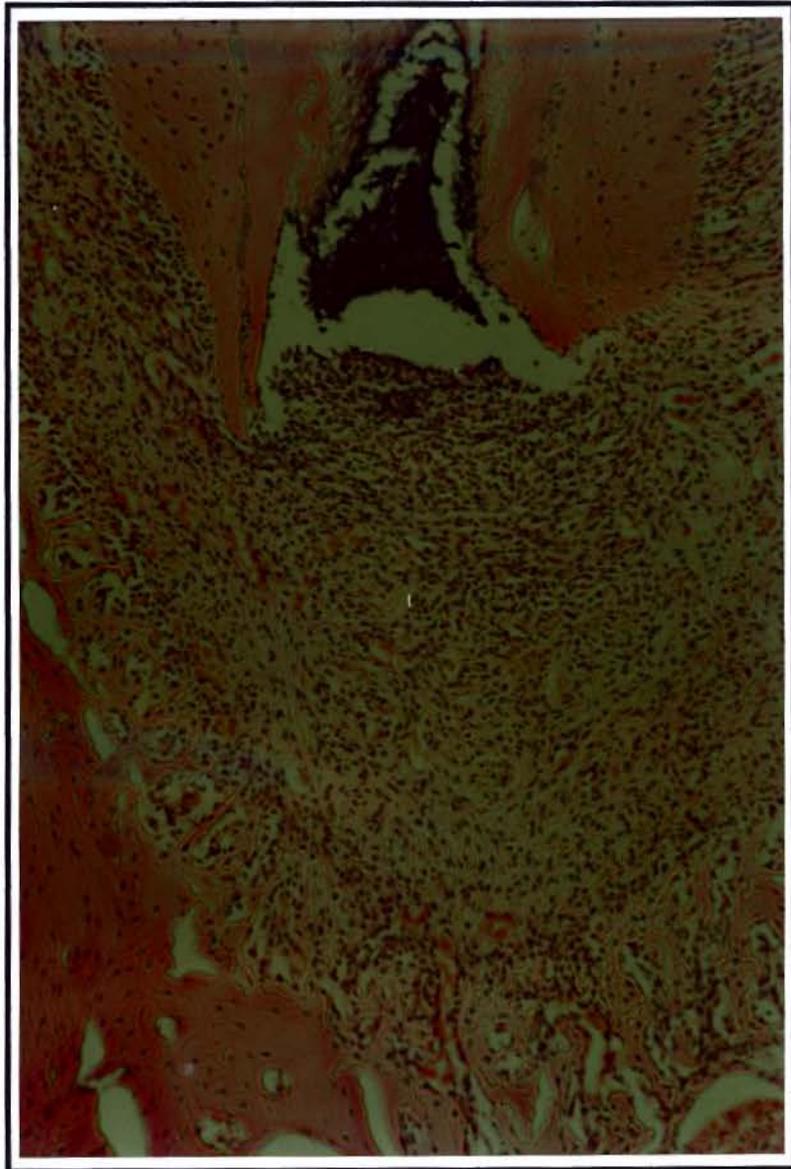
**figura 22 - Grupo C** (xerostômico-imunossuprimido) com 21 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura 21. Podemos observar a presença de destruição tecidual apical, como também reabsorção de cimento e dentina na região periapical. H.E. (130X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**

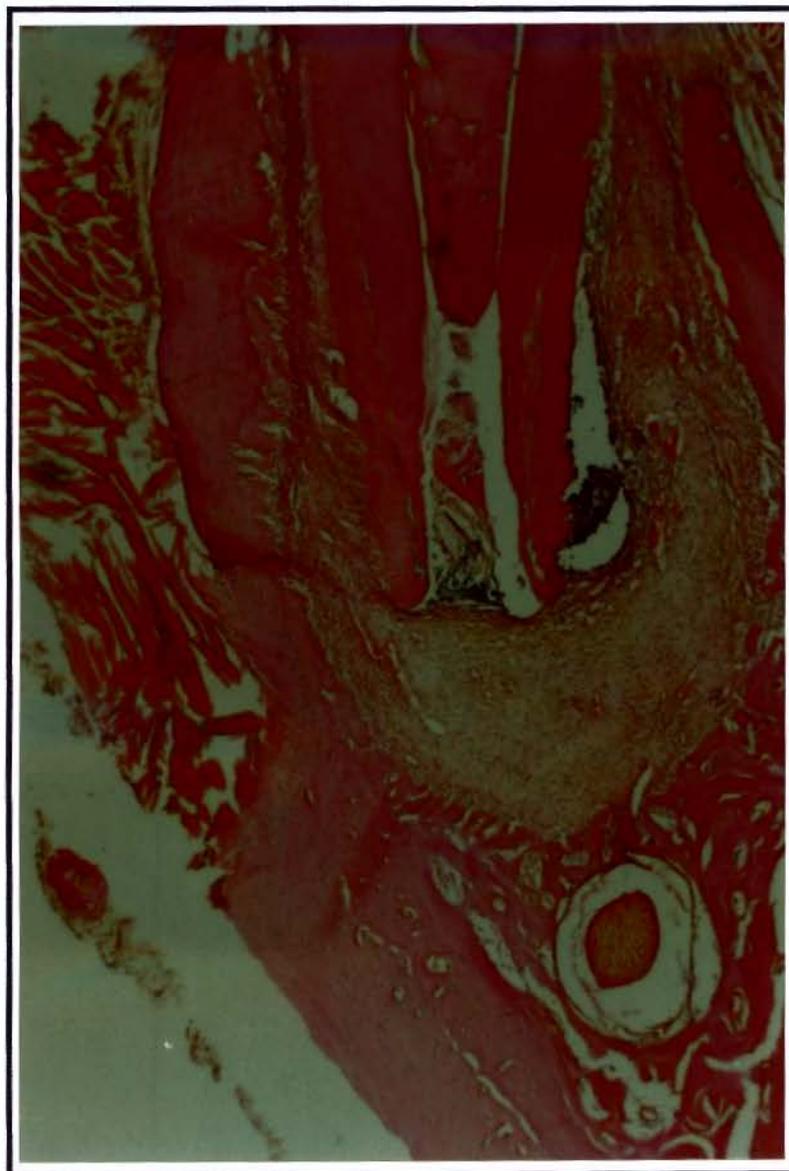


**figura 23 - Grupo A** (controle) com 28 dias de exposição pulpar. Nesse grupo podemos notar com maior constância a presença de microabscessos apicais caracterizado pelo acúmulo de células inflamatórias e destruição pulpar em toda sua extensão. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**

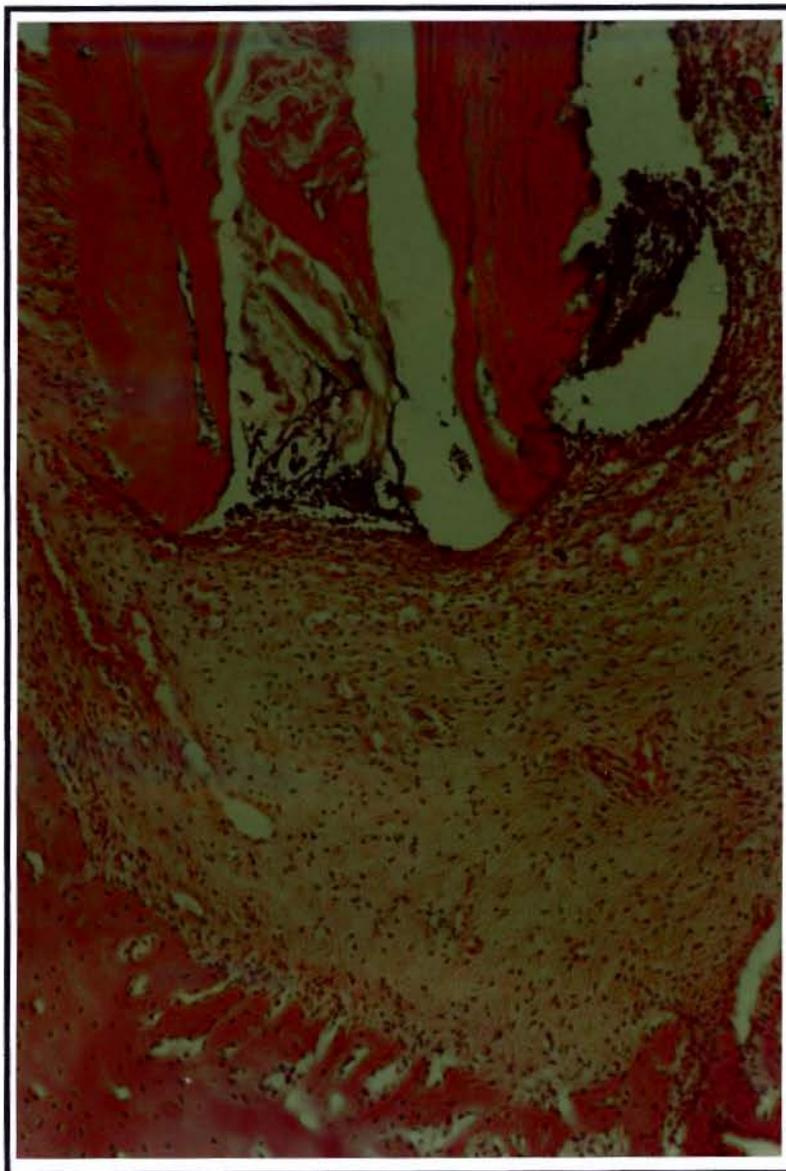


**figura 24 - Grupo A (controle) com 28 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura anterior. Observa-se uma intensa concentração de células, reabsorção cementária e dentinária apical. H.E. (130X).**



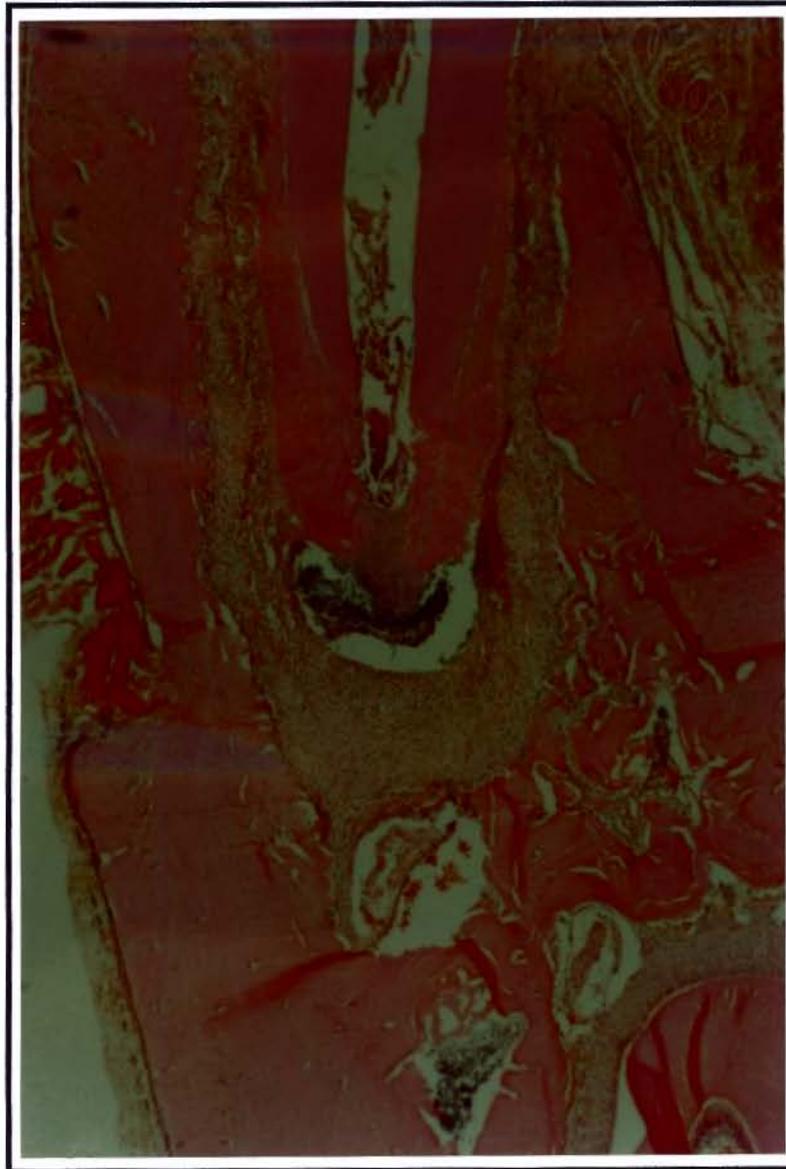
**figura 25 - Grupo B** (xerostômico) com 28 dias de exposição pulpar. Notamos, como no grupo controle, a polpa inteiramente necrosada. Observamos também com maior frequência a presença de microabscesso apical. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS  
NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



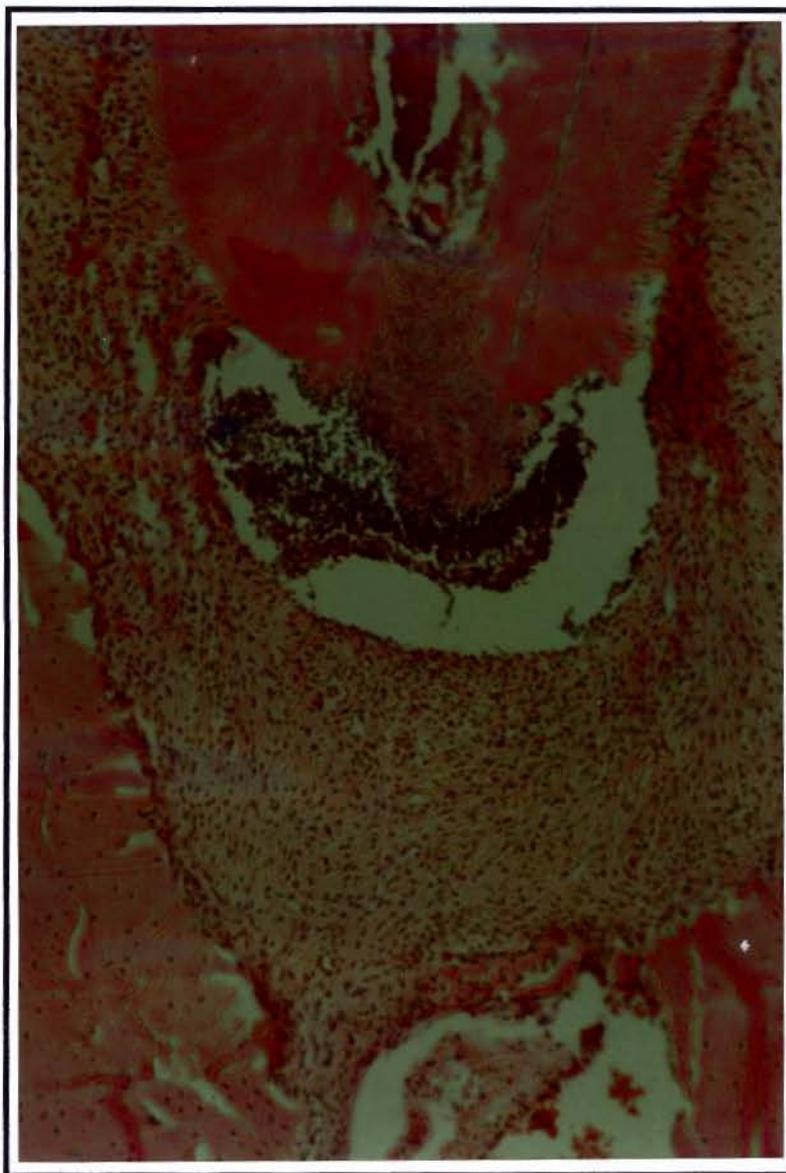
**figura 26 - Grupo B** (xerostômico) com 28 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura 25. Observa-se um microabscesso instalado no ligamento periodontal. H.E. (130X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS  
NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



**figura 27 - Grupo C** (xerostômico-imunossuprimido) com 28 dias de exposição pulpar. Notamos, como nos demais grupos, a polpa inteiramente necrosada e a presença de microabscesso apical. H.E. (60X).

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS  
NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



**figura 28 - Grupo C** (xerostômico-imunossuprimido) com 28 dias de exposição pulpar, maior aumento da figura anterior. Constata-se a presença de microabscesso apical e atividade osteolítica. H.E. (130X).

## **RESULTADOS**

### **5.2. CARACTERÍSTICAS RADIOGRÁFICAS**

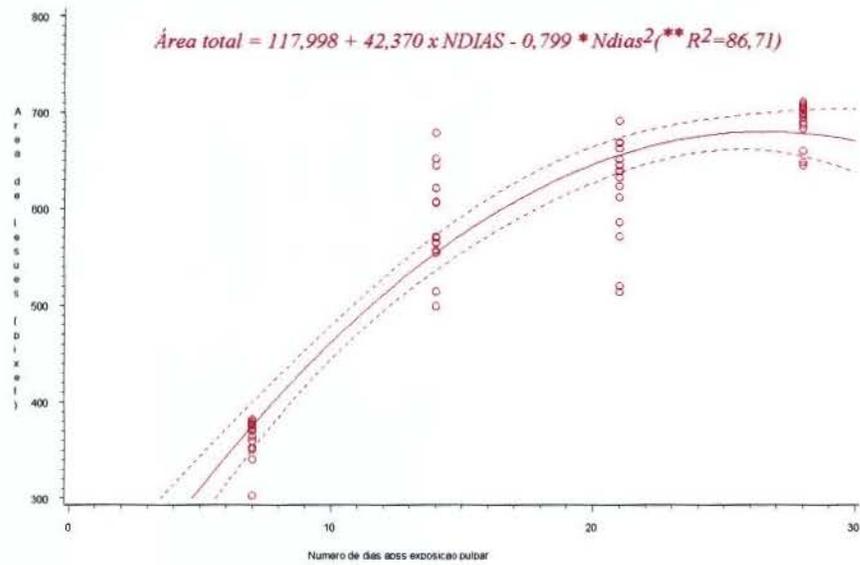
Os dados obtidos com a mensuração das lesões periapicais transferidas para o computador e calculadas através do programa "Global lab", foram submetidos a um estudo de análise estatística em relação a área total resultante. **(Tabela 1)**

Foi efetuado o teste "F", não havendo evidências estatísticas de alterações nas dimensões das lesões periapicais independente do grupo estudado. No entanto notou-se uma forte evidência que as áreas totais dependem do número de dias decorridos após o início da aplicação dos tratamentos. O fator tempo foi determinante no aumento da área total das lesões em relação ao transcorrer do período e estatisticamente não houve diferença significativa entre os períodos de 14 e 21 dias de exposição pulpar.

A evolução das lesões radiograficamente, como mostrado no **gráfico 1**, comportou-se de forma crescente em relação ao número de dias.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
RESULTADOS

**Gráfico 1.** Gráfico representado o desenvolvimento das lesões periapicais em relação as áreas totais mensuradas radiograficamente.



ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS,  
XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
RESULTADOS



**Figura 29** - GRUPO CONTROLE 7 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.



**figura 30** - GRUPO CONTROLE 14 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**

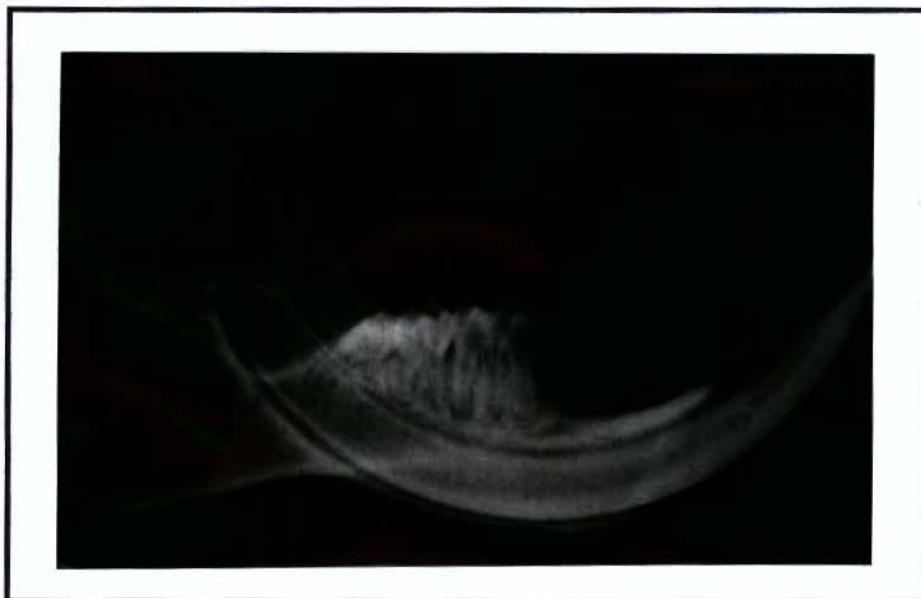


**figura 31** - GRUPO CONTROLE 21 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.

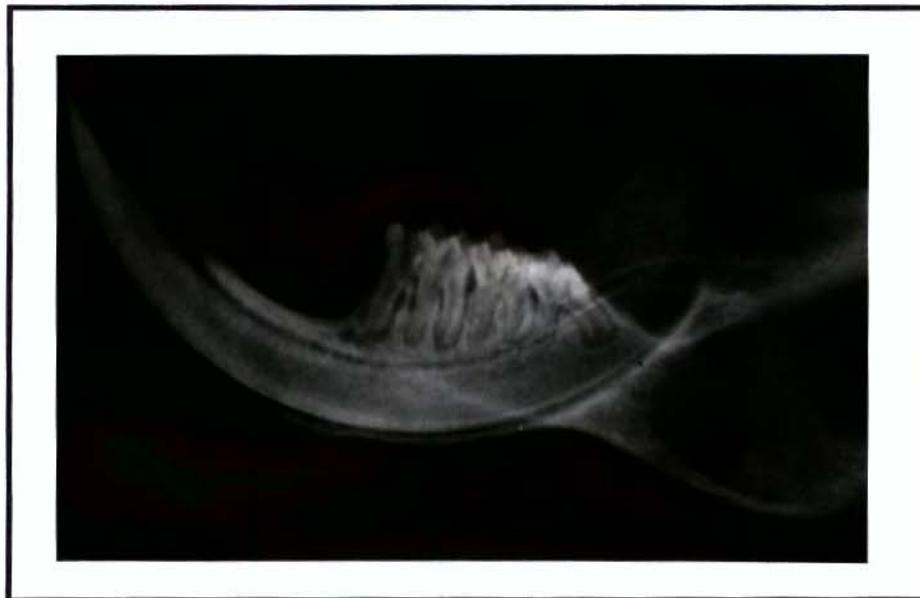


**figura 32** - GRUPO CONTROLE 28 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
RESULTADOS



**figura 33-** GRUPO XEROSTÔMICO 7 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.

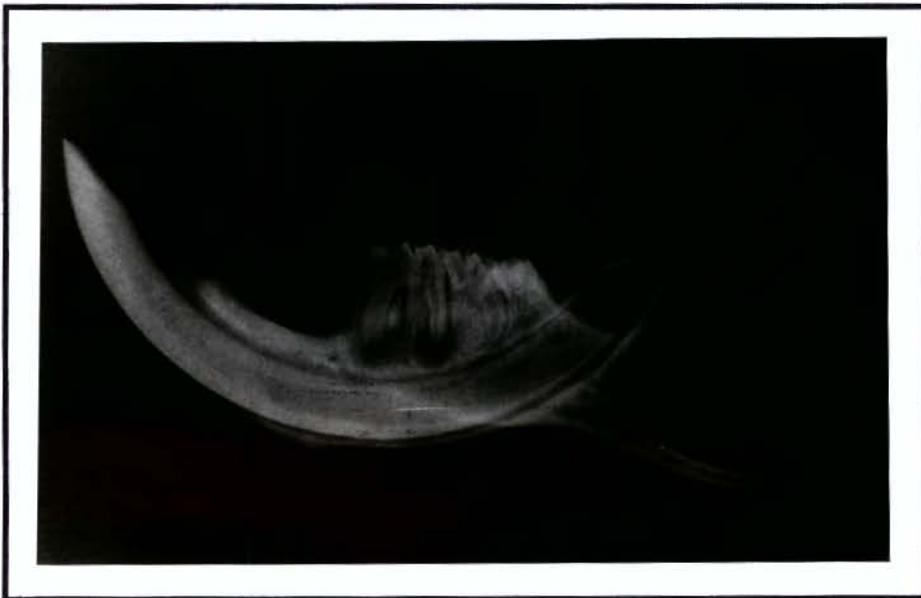


**figura 34 -** GRUPO XEROSTÔMICO 14 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS,  
XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**



**figura 35** - GRUPO XEROSTÔMICO 21 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.



**figura 36**- GRUPO XEROSTÔMICO 28 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
RESULTADOS



**figura 37** - GRUPO XEROSTÔMICO-IMUNOSSUPRIMIDO 7 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.



**figura 38** - GRUPO XEROSTÔMICO-IMUNOSSUPRIMIDO 14 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-MUNOSSUPRIMIDOS.  
RESULTADOS



**figura 39** - GRUPO XEROSTÔMICO-IMUNOSSUPRIMIDO 21 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.



**figura 40** - GRUPO XEROSTÔMICO-IMUNOSSUPRIMIDO 28 DIAS DE EXPOSIÇÃO PULPAR.

## RESULTADOS

### 5.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

#### **Comportamento da Área total**

Os dados obtidos com a mensuração das lesões periapicais transferidas das radiografias para o computador e calculadas através do programa "Global lab", foram submetidos a um estudo de análise estatística em relação a área total resultante. (**Tabela 1**)

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-IMUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**

**Tabela 1.** Medidas da área total das lesões periapicais observadas nas imagens radiográficas.

<b>Controle</b>			
"n"	Numero de dias após exposição		Area de lesões (pixel *)
	pulpar	Repetição	
1	7	1	380.142
2	7	2	372.971
3	7	3	359.971
4	7	4	376.091
5	7	5	364.822
6	14	1	606.356
7	14	2	621.699
8	14	3	499.356
9	14	4	652.013
10	14	5	565.113
11	21	1	632.390
12	21	2	668.841
13	21	3	662.527
14	21	4	638.770
15	21	5	520.002
16	28	1	694.669
17	28	2	706.426
18	28	3	659.841
19	28	4	699.311
20	28	5	708.223

\* Menor ponto de definição de uma tela do computador, que esta relacionado com o grau de resolução desta tela.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-IMUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**

<b>Xerostômico</b>			
<b>"n"</b>	<b>Numero de dias após exposição</b>		<b>Área de lesões</b>
	<b>pulpar</b>	<b>Repetição</b>	<b>(pixel)</b>
21	7	1	545.184
22	7	2	303.083
23	7	3	377.527
24	7	4	341.042
25	7	5	352.970
26	14	1	564.769
27	14	2	514.397
28	14	3	607.326
29	14	4	678.811
30	14	5	570.110
31	21	1	585.971
32	21	2	668.113
33	21	3	645.213
34	21	4	639.385
35	21	5	571.200
36	28	1	710.599
37	28	2	702.799
38	28	3	681.213
39	28	4	698.112
40	28	5	690.300

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-IMUNOSSUPRIMIDOS.  
**RESULTADOS**

<b>Xerostômico - imunossuprimido</b>			
<b>"n"</b>	<b>Numero de dias após exposição</b>		<b>Área de lesões (pixel)</b>
	<b>pulpar</b>	<b>Repetição</b>	
41	7	1	370.556
42	7	2	378.143
43	7	3	351.142
44	7	4	376.011
45	7	5	382.145
46	14	1	621.598
47	14	2	554.669
48	14	3	644.912
49	14	4	556.527
50	14	5	571.012
51	21	1	611.841
52	21	2	691.285
53	21	3	623.527
54	21	4	651.355
55	21	5	513.799
56	28	1	703.769
57	28	2	704.184
58	28	3	687.598
59	28	4	683.355
60	28	5	645.071

Estatisticamente não observou-se evidências de que os tratamentos foram capazes de alterar as dimensões da área total das lesões. O fator número de dias, por sua vez, mostrou uma forte evidência estatística que as áreas totais dependem do número de dias decorridos após o início da aplicação dos tratamentos. Utilizou-se também o teste de "Tukey", determinando que houve um aumento na área total das lesões em relação ao transcorrer do período. Não houve diferença entre todos os grupos estudados em relação ao fator tratamento.

RESULTADOS

RESULTADOS

5.3. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Referentes as dimensões verticais e horizontais

Os dados das mensurações realizadas através do software "GGlobal lab", foram devidamente separados e agrupados. Estes foram submetidos a uma análise estatística. Abaixo são listados todas as medidas das lesões periapicais no sentido de área total expressa em pixels \*(Tab. 2).

Tabela 2. Listagem dos dados observados no experimento em relação as dimensões verticais e horizontais das lesões periapicais.

"n"	Tratamento	Rep		Dimensão horizontal	Dimensão vertical
1	7	1	1	265.198	114.654
2	7	1	2	257.661	118.013
3	7	1	3	262.393	95.609
4	7	1	4	258.001	101.004
5	7	1	5	234.552	97.508
6	7	2	1	174.011	106.005
7	7	2	2	207.002	114.018
8	7	2	3	277.824	129.402
9	7	2	4	257.001	128.322
10	7	2	5	179.021	103.011
11	7	3	1	247.683	121.672
12	7	3	2	256.491	102.071
13	7	3	3	255.321	107.024
14	7	3	4	260.119	101.002

\* Menor ponto de definição de uma tela do computador, que esta relacionado com o grau de resolução desta tela.

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-IMUNOSSUPRIMIDOS.

RESULTADOS

continuação...

15	7	3	5	238.502	93.021
16	14	1	1	391.005	317.006
17	14	1	2	340.006	299.241
18	14	1	3	370.163	360.228
19	14	1	4	544.033	354.141
20	14	1	5	348.021	291.212
21	14	2	1	522.001	295.042
22	14	2	2	358.872	291.022
23	14	2	3	352.002	290.340
24	14	2	4	371.100	352.052
25	14	2	5	398.479	292.281
26	14	3	1	387.505	357.799
27	14	3	2	302.275	219.764
28	14	3	3	583.000	308.486
29	14	3	4	482.021	302.126
30	14	3	5	339.007	285.189
31	21	1	1	446.001	381.043
32	21	1	2	435.000	397.011
33	21	1	3	531.008	314.014
34	21	1	4	549.374	328.002
35	21	1	5	472.020	384.021
36	21	2	1	444.000	382.106
37	21	2	2	414.030	395.032
38	21	2	3	531.008	339.178
39	21	2	4	524.000	352.172
40	21	2	5	442.100	391.043
41	21	3	1	519.477	329.328
42	21	3	2	502.819	367.049
43	21	3	3	429.429	362.231
44	21	3	4	532.090	315.021
45	21	3	5	484.019	392.012
46	28	1	1	577.009	303.015
47	28	1	2	489.050	355.013
48	28	1	3	586.577	370.741
49	28	1	4	598.214	326.014
50	28	1	5	594.627	382.050
51	28	2	1	568.309	396.863
52	28	2	2	494.162	377.000
53	28	2	3	538.526	373.920
54	28	2	4	545.300	315.420
55	28	2	5	478.202	415.900
56	28	3	1	580.187	445.028
57	28	3	2	536.479	385.914
58	28	3	3	432.057	365.404
59	28	3	4	476.206	420.933
60	28	3	5	482.050	372.052

**RESULTADOS**

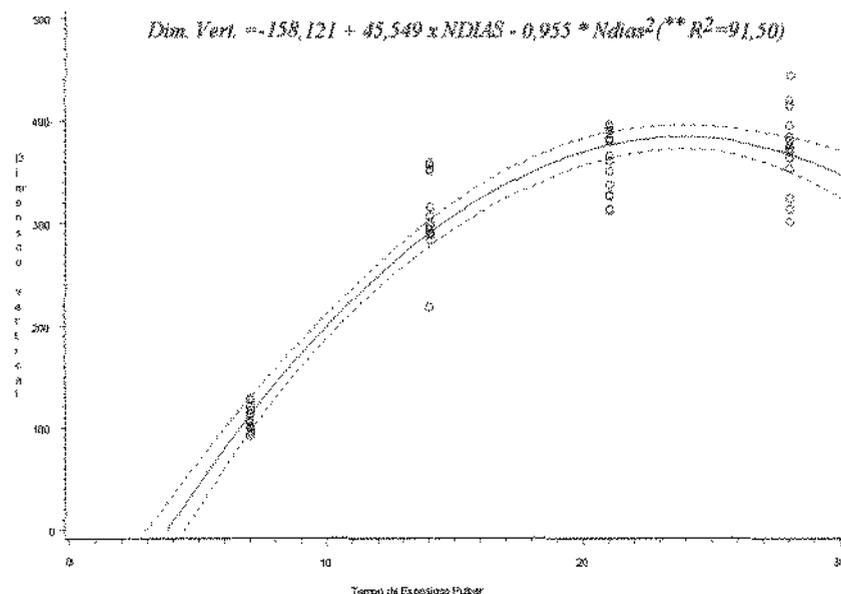
**Comportamento da dimensão vertical**

Estatisticamente podemos dizer que houve uma forte evidência de que as dimensões verticais foram influenciadas somente pelo fator tempo decorrido após o início da aplicação dos tratamentos. Os tratamentos não demonstraram nenhuma diferença entre os grupos estudados. Abaixo, através do teste Tukey, demonstra-se que não ocorreu diferença estatisticamente os grupos experimentais dos períodos de 21 e 28 dias de exposição pulpar.

Foi possível delimitar um gráfico (**Gráf.1**) mostrando as evoluções das lesões periapicais durante todo o período de tempo. O desenvolvimento das lesões tornou-se crescente por todo o período e se estabilizando no período próximo aos 28 dias de exposição pulpar.

RESULTADOS

**Gráfico 2** -Comportamento da Dimensão Vertical medidas histometricamente de acordo com o passar do tempo.



### Comportamento da dimensão horizontal

A partir dos valores obtidos podemos dizer que houve uma forte evidência estatística que as dimensões horizontais dependem exclusivamente do número de dias decorridos após o início da aplicação dos tratamentos. Não detectou-se diferença entre os grupos estudados em relação aos tratamentos aplicados.

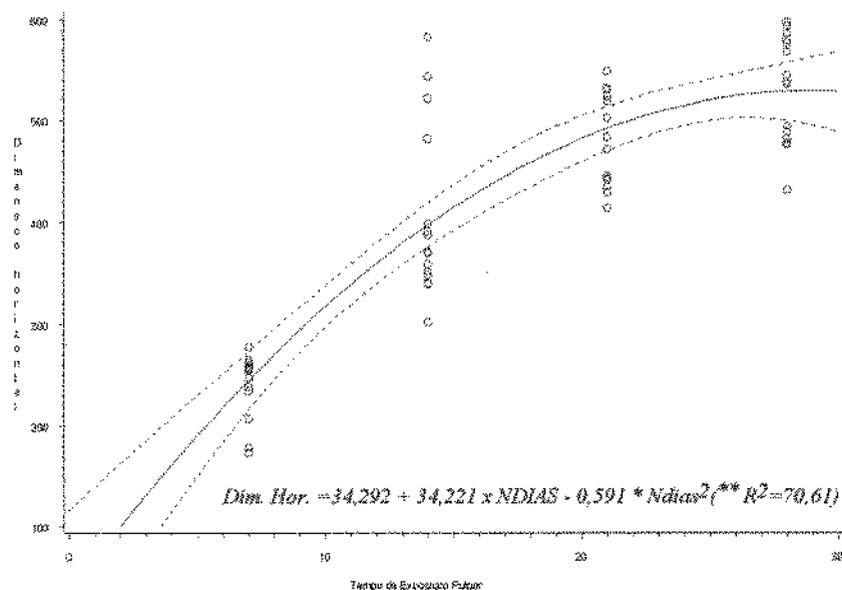
Podemos através do gráfico (**Gráf.2**), demonstrar toda a situação do desenvolvimento das lesões durante todos os períodos de tratamento. O

ANÁLISE COMPARATIVA DO DESENVOLVIMENTO DE LESÕES PERIAPICAIS EM RATOS NORMAIS, XEROSTÔMICOS E XEROSTÔMICOS-IMUNOSSUPRIMIDOS.

RESULTADOS

desenvolvimento das lesões tornou-se crescente ficando constante aos 28 dias.

**Gráfico 3** - Comportamento das dimensões horizontais das lesões medidas histometricamente em relação ao tempo.



## 6 - DISCUSSÃO

## DISCUSSÃO

A xerostomia é uma condição clínica, na qual ocorre uma diminuição da produção salivar. Pode estar associada a tratamentos de neoplasias por irradiação e quimioterapia, como também estar associada a condições sistêmicas como a Síndrome de Sjögren, Anemia perniciosa, diabetes mellitus, deficiência de vitamina A e hormônios ( **CONNER et al** <sup>16</sup>, **1970**). Podendo estar associada também, a alterações transitórias com a utilização de medicamentos, anormalidades no desenvolvimento das glândulas salivares, obstruções físicas (sialolítos), infecções e certas doenças que afetam as porções eferentes e aferentes no reflexo de transmissão neural (**CHISHOLM et al** <sup>13</sup>, **1978**). A saliva tem importantes funções como: proteção da mucosa bucal, controle da microbiota e neutralização de alguns ácidos na cavidade oral (**GLASS et al** <sup>30</sup>, **1984**; **BOWEN et al** <sup>7</sup>, **1988**; **CARL W**<sup>11</sup>, **1993**; **PAPAS et al** <sup>52</sup>, **1993**; **O'CONNEL et al** <sup>60</sup>, **1993**; **ATKINSON J & WU A**<sup>2</sup>, **1994**).

Em nosso estudo realizamos a sialoadenectomia bilateral das glândulas salivares maiores, visando mudanças na flora da cavidade bucal dos animais experimentais, que pudessem causar alterações no desenvolvimento das alterações das lesões periapicais. Apesar da xerostomia estar relacionada com intensa modificação da flora bucal

acarretando um aumento significativo das lesões cariosas (**BOWEN et al**<sup>7</sup>, 1988; **PAPAS et al**<sup>62</sup>, 1993), no desenvolvimento de lesões periapicais, onde as bactérias são os principais agentes etiológicos, a xerostomia não influenciou. Entretanto, não foi possível analisar se a flora que coloniza os canais radiculares durante o processo degenerativo da polpa sofreu alteração na xerostomia.

A ciclosporina é um polipeptídeo cíclico produzido pelo metabolismo de dois fungos, *Frichoderma polysporum* e *Cylindrocas pumilucidum*. Sendo comumente usada no tratamento imunossupressor em casos de transplantes de órgãos, principalmente rins ( **MARIANI et al**<sup>49</sup>, 1993). Segundo **THOMAS & GORDON**<sup>75</sup> (1986), a ciclosporina atua nos linfócitos inibindo a expressão de IL-2 a nível de transmissão do RNA mensageiro. Interfere também no metabolismo de outras linfocinas, bem como nas células B, macrófagos, fibroblastos e células do tecido conjuntivo. O uso prolongado da ciclosporina acarreta diversos efeitos colaterais, sendo o mais severo, as alterações observadas nos rins (**MARIANI et al**<sup>49</sup>, 1993; **DONGARI et al**<sup>17</sup>, 1993; **COHEN et al**<sup>14</sup>, 1984), Na cavidade bucal, pode ocorrer hiperplasia gengival após a utilização desta droga (**MARIANI et al**<sup>49</sup>, 1993; **DONGARI et al**<sup>17</sup>, 1993).

**NOBUHARA et al**<sup>58</sup> (1993) relataram a presença de poucos polimorfonucleares (PMN) em tecidos perirradiculares de dentes com a

polpa vital ou parcialmente necrosada, quando sofreram instrumentação excessiva seguido da administração de dexametasona.

Inflamações mediadas por células T podem ser parcialmente bloqueadas pela ciclosporina A. **SPOLIDORIO<sup>66</sup> (1991)**, utilizando-se de reações de hipersensibilidade provocadas pelo **DNCB\***, constatou que em ratos a ciclosporina usada na dosagem de 5mg/Kg inibe as células T.

**JONTEL et al<sup>36</sup> (1987)**, verificaram através da utilização de marcadores de membrana celular que, linfócitos T "helper" e citotóxico, e macrófagos são encontrados no tecido pulpar em seu estado normal.

Variáveis vias de administração de ciclosporina têm sido estudadas. **WASSEF et al<sup>85</sup> (1985)**, estudaram a influência de diferentes vias de administração bem como variáveis doses de ciclosporina em ratos e relataram que a melhor maneira seria através da via subcutânea, por ser de fácil execução, bem tolerável pelo animal que não necessita ser anestesiado, requer pouco tempo gasto e reproduz níveis adequados de ciclosporina no organismo. Portanto esta foi a via de administração adotada neste estudo. Em relação a dose de ciclosporina administrada, utilizamos 10mg/Kg de peso corporal (**SPOLIDORIO<sup>66</sup>, 1991**), sendo esta dose suportável pelo animal em relação a toxicidade. **WASSEF et al<sup>85</sup>(1985)**, utilizaram doses entre 5 e 10 mg/Kg/dia em seu estudo, onde procuraram

---

\* **DNCB** - Dinitroclorobenzeno

determinar uma farmacocinética de ciclosporina em ratos usando diferentes vias de administração e doses da droga, obtendo dentro desta concentração, resultados satisfatórios. Os animais experimentais que se submeteram a utilização desta droga, sofreram uma perda de peso, como citado no estudo de **FARTING & CLARK<sup>25</sup> (1981)** devido a perda de apetite causado por esta droga, observando-se também que em ratos a toxicidade é mínima.

O desenvolvimento de lesões periapicais em ratos está bem descrito na literatura, sendo este animal rotineiramente utilizado no estudo de alterações pulpares e periapicais.

Muitos investigadores (**KAKEASHI et al<sup>37</sup>, 1965; EURASQUIN & MURUZABAL<sup>21, 22, 23, 24</sup> 1967 a, b, c, 1968; STAHL et al<sup>68</sup>, 1969; KORZEN et al<sup>40</sup>, 1974; TAGGER & MASSLER<sup>74</sup>, 1975; WATTS & PATERSON<sup>86</sup>, 1981; ARAÚJO et al<sup>1</sup>, 1983; YAMASAKI et al<sup>89</sup>, 1992; BANDO & NAGAYAMA<sup>3</sup>, 1993; STASHEMKO<sup>69</sup>, 1994; YAMASAKI et al<sup>90</sup>, 1994**) têm demonstrado histologicamente o desenvolvimento de lesões periapicais em ratos, mas não tem observado mudanças histométricas dos tecidos perirradiculares e a correlação entre os tamanhos das lesões e os achados histológicos. **YAMASAKI et al<sup>90</sup> (1994)** analisando o desenvolvimento de lesões em ratos normais, mostraram em seus achados que primeiro a lesão se desenvolvia no sentido horizontal e depois no sentido vertical. Histometricamente em 14 dias, o crescimento

horizontal e a área da lesão periapical estavam significativamente aumentadas. Em nosso estudo, as lesões periapicais se comportavam com um processo evolutivo durante todo o período de tempo. Primeiramente, ocorria um crescimento no sentido horizontal, o qual se manteve superior ao crescimento vertical em todos os períodos estudados.

**WATTS & PATERSON<sup>86</sup> (1990)**, demonstraram com a utilização de diferentes tipos de materiais, que as reações pulpares em molares de rato resultaram em respostas similares as reações pulpares no homem. Em cães estas respostas reacionais ocorreram de forma diferente. Portanto a escolha deste animal experimental é pertinente, visto que poderíamos levar adiante as considerações obtidas neste estudo em relação as respostas periapicais.

Apesar de possuírem uma certa semelhança, até o presente momento não foi relatado a formação de cistos em ratos, sendo uma característica comum em seres humanos. Contudo, **BANDO & NAGAYAMA<sup>3</sup> (1993)**, estudaram a formação de um cisto odontogênico induzido em ratos e suportaram a hipótese que um estímulo inflamatório dos ápices radiculares pode causar mudanças císticas no epitélio do esmalte que recobre os dentes incisivos destes animais. O cisto induzido neste estudo, era semelhante ao ceratocisto odontogênico observado no homem.

As análises histológicas realizadas neste trabalho, não mostraram nenhuma formação cística radicular apical provenientes de um

processo degenerativo pulpar, mesmo constatando a presença de restos epiteliais de Malassez em diversos cortes estudados. As lesões periapicais resultam de uma infecção bacteriana originada via canal radicular. No momento da realização da exposição pulpar a cavidade bucal, a polpa é contaminada por bactérias e conseqüentemente com a evolução do processo sofrerá necrose, com a formação de alterações periapicais (**KAKEASHI et al**<sup>37</sup>, 1965). Endotoxinas e bactérias gram-negativas têm um importante papel na formação das lesões periapicais em ratos(**YAMASAKI et al**<sup>86</sup>, 1992). Analisando 58 lesões periapicais de humanos, **WAYMAN et al**<sup>87</sup>, 1992, obtiveram cultura positiva para a presença de bactérias em 51 casos estudados mesmo identificando em exame histopatológico somente oito. **TROSNTAD**<sup>78</sup>, 1992 examinando a quantidade e tipos de bactérias no interior de um mesmo canal contaminado, relatou ser limitado, em torno de 3 a 6 espécies.

Alguns investigadores (**STAHL et al**<sup>68</sup>, 1969; **WALLSTROM et al**<sup>88</sup>, 1993; **STASHENKO et al**<sup>69</sup>, 1994; **YAMASAKI et al**<sup>90</sup>, 1994; **KOSHAKA et al**<sup>39</sup>, 1996), relataram que ao sétimo dia de exposição pulpar, a necrose se estendia por todo canal radicular até o ápice. Através da análise radiográfica, realizada em nosso estudo, a presença de lesões periapicais foram observadas a partir da segunda semana de exposição pulpar, enquanto que histologicamente foi possível detectar alterações na porção apical da raiz entre o 7º e o 14º dia de exposição pulpar, em todos

os grupos estudados, porém necrose de toda extensão do canal radicular foi observado entre o 14º e 21º dias.

**TAGGER & MASSLER<sup>74</sup> (1975)**, observaram que a formação destas lesões periapicais eram histologicamente evidentes entre 3 a 4 semanas de exposição pulpar. Neste estudo histológico a necrose pulpar estendia-se gradualmente da porção coronária até a porção apical do canal radicular após a exposição pulpar e as alterações periapicais já podiam ser observadas em 7 dias. Resultados semelhantes foram descritos por **YAMASAKI et al<sup>89</sup>, 1992**, e relataram em seus achados uma concentração de endotoxinas nos tecidos periapicais suficiente para a formação de lesões periapicais neste período.

A exposição pulpar foi realizada através da utilização de brocas esféricas  $\frac{1}{2}$ , como citado em trabalhos citados anteriormente (**KAKEHASHI et al<sup>37</sup>, 1965**; **TAGGER & MASSLER<sup>74</sup>, 1975**; **ARAÚJO et al<sup>1</sup>, 1983**; **YAMASAKI et al<sup>89</sup>, 1992**; **BANDO & NAGAYAMA<sup>3</sup>, 1993**; **WALLSTROM et al<sup>88</sup>, 1993**; **YAMASAKI<sup>90</sup>, 1994**; **STASNHENKO et al<sup>69</sup>, 1994**; **KOSHAKA et al<sup>39</sup>, 1996**), podendo-se variar com a utilização de broca cone invertida  $33 \frac{1}{4}$  (**WATTS & PATERSON<sup>86</sup>, 1990**, **LOPES et al<sup>43</sup>, 1997**).

A exposição realizada na fóssula mesial do primeiro molar inferior foi capaz de produzir um processo contínuo de necrose que se estendeu por todo tecido pulpar. No período de 7 dias de exposição pulpar, ocorreu uma desorganização e necrose de toda a polpa coronária, terço cervical e médio

da raiz. Abaixo deste tecido ocorria um acúmulo de células inflamatórias polimorfonucleares. Neste mesmo período não ocorria, radiograficamente, evidências de uma formação de lesão, somente ligeiro espessamento do espaço correspondente ao ligamento periodontal.

Após 14 dias a necrose se estendia por todo o canal radicular da raiz. Na região perirradicular geralmente havia acúmulo de neutrófilos. Radiograficamente já era possível notar a presença de lesões periapicais. No período de 21 dias após a exposição, as polpas se encontravam necrosadas em todos os casos, com formação de microabscessos na região apical de alguns casos. Radiograficamente as lesões eram facilmente identificadas.

Após 28 dias de exposição pulpar, já se tornava mais constante a presença de acúmulo de polimorfonucleares próximos ao forame apical, caracterizando microabscesso.

Tanto nos animais do grupo controle quanto nos grupos de ratos xerostômicos e xerostômicos-imunossuprimidos, ocorria predominantemente a formação de microabscesso.

Em poucos casos pode-se notar a drenagem dos abscessos através do ligamento periodontal, devido este ser a via mais frágil para tal. Não foi observado em nenhum caso a presença de cistos, apesar de serem freqüentes em seres humanos.

**LOPES et al**<sup>43</sup> (1997) demonstraram que a imunossupressão causada pela ciclosporina em ratos, não foi capaz de produzir alterações no desenvolvimento de lesões periapicais em relação ao grupo controle. Mesmo com a associação entre a xerostomia e a imunossupressão, quando o animal apresentava alteração tanto no agente etiológico como no processo de defesa do organismo o desenvolvimento da lesão periapical foi semelhante ao grupo de animais normais. **WALLSTROM et al**<sup>88</sup> (1993), relataram que as lesões periapicais produzidas experimentalmente em ratos não são totalmente dependentes da presença dos linfócitos T, sendo estas lesões um fenômeno multifatorial.

**KOSHAKA et al**<sup>89</sup> (1996), encontraram uma diferença significativa em um estudo do desenvolvimento de lesões periapicais em ratos normais e em ratos diabéticos. Neste estudo, os autores concluíram que as lesões periapicais em ratos diabéticos apresentaram-se mais desenvolvidas em relação aos animais normais.

Em nosso estudo os resultados indicaram que tanto a imunossupressão quanto a xerostomia não foram capazes de alterar as respostas de defesa ou a evolução das lesões periapicais. Uma possível diminuição da resposta inflamatória mediada pela ciclosporina poderia favorecer a presença destas lesões, bem como uma alteração da flora bacteriana causada pela xerostomia, o que não ocorreu no desenvolvimento das lesões periapicais.

A ausência de modificação no desenvolvimento de lesões periapicais frente a alterações sistêmicas como a imunossupressão e fatores locais como a xerostomia, sugere que estes fatores não são capazes de alterar a evolução dessas lesões em ratos.

## 7 - CONCLUSÕES

## CONCLUSÕES

Através dos resultados obtidos podemos concluir que:

1. Analisando radiograficamente o desenvolvimento das lesões periapicais, constatou-se que a área total da lise óssea, não apresentou diferença entre os grupos estudados.
2. Histometricamente não se observou diferenças no desenvolvimento das lesões periapicais em ratos normais, xerostômicos e xerostômicos-imunossuprimidos.
3. Estatisticamente, a única variável que influenciou o desenvolvimento das lesões periapicais foi o fator tempo.
4. A xerostomia provocada pela extirpação cirúrgica das glândulas salivares, associada ou não a imunossupressão pela ciclosporina, não foi capaz de alterar o desenvolvimento das lesões periapicais das raízes dos primeiros molares inferiores direitos de ratos, após a exposição pulpar ao meio bucal.

8 - SUMMARY

## SUMMARY

The purpose of this study was to investigate and to compare radiographically and histologically the development of periapical lesions in the left lower first molar of normal, sialoadenectomized and sialoadenectomized-immunossupressed rats.

Sixty Wistar rats, male, weighing from 170 to 200 gr were utilized. The animals were divided equally in three groups: group A - 20 control, group B - 20 sialoadenectomized; and group C-20 sialoadenectomized-immunossupressed. The groups B and C were sialoadenectomized according to modified CHEYNE technique (1939). After two weeks, the group C was submitted to a immunossupression regimen by daily subcutaneous ciclosporine A injection (SANDIMUN.10 mg/Kg body weight). After a week of the immunossupresion of this group, the pulps of all the animals (group A, B and C) were exposed to the oral cavity.

Five animals of each group were killed at 7, 14 21 and 28 days after the exposure. Their mandibles were removed surgically and a radiographic analisis was made. The measurement of the lesions was made by **Global lab** software.

After this analisis, the specimens were descalcified in EDTA and sectioned sagittally at a thickness of 7  $\mu$ m and stained with hematoxylin

and eosin. The measurement of the lesions was made by *Global lab* software too.

The results showed an enhanced growth of the lesions during the period, however none significant difference was observed between the groups. It was concluded that the changes in the oral flora due the xerostomia, associated or not to the immunossupresion, didn't disrupt the development of the periapical lesions in rats.

**KEY - WORDS :** - Xerostomia

- Immunosuppression
- Periapical lesions
- Rats

## 9 - REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

**REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS \***

1. Araújo NS, Araújo VC, Zelante F, Franco BR, Bryn AL, Alves MP. Lesão periapical experimental em ratos. Rev Ass Paul Cirurg Dent 1983; 37: 263-70.
2. Atkinson JC, Wu AJ. Salivary gland dysfunction: causes, symptoms and treatment. J Am Den Assoc 1994; 125(4): 409-16.
3. Bando Y, Nagayama M. Odontogenic cyst induction by periapical infection in rats. J Oral Pathol Med 1993; 22: 323-6.
4. Bergenholtz G, Nagavka S , Jontel M. Class II antigen expressing cells in experimentally induced pulpitis. Int Endodont J 1991; 24: 8-14.
5. Borel JF, Feuber C, Gubler HU, Stahelin H. Biological effects of cyclosporin A: a new antilymphocyte agent. Agents Actions 1976; 6: 468-75.

---

\* Referências Bibliográficas redigidas de acordo com as normas do **Journal of Endodontists**

6. Bottcher W, Wanner K, Pignat W. Anti-inflammatory effects of cyclosporin A (CyA) in carrageenan - induced pleurisy in rats. *Agents Actions* 1990; 29: 105-7.
7. Bowen WH, Pearson SK, Young DA. The effect of desalivation on coronal and root surface caries in rats. *J Den Res* 1988; 67: 21-23.
8. Buchner A, Sreenby LM. Enlargement of salivary glands. *Oral Surg* 1972; 34: 209-22.
9. Burckardt JJ, Guggenheim B. Cyclosporin A: "in vitro" and "in vivo" supression of rat T-lymphocyte function. *Immunology* 1979; 36: 753-57.
10. Calne R. Cyclosporin A initially as the only immunosuppressant in 34 recipients of cadaveric organs; 32 Kidneys, 2 pancreases and 2 livers. *Lancet* 1979; 2: 1033-6.
11. Carl W. Local radiation and systemic chemotherapy: preventing and managing the oral complications. *J Am Den Ass* 1993.
12. Cheyne VD. A description of the salivary glands of the rat and a procedure for their extirpation. *J Dent Res* 1939; 18: 457-68.

13. Chisholm DM, Ferguson M, Jones J, Mason DK. Introduction to oral medicine. Philadelphia 1978; W.B. Saunders Company, pp.143-44.
14. Cohen DJ, Loesrtscher R, Rubin MF, Tilney NL, Carpenter CB, Strom TB. Cyclosporine: A new immunosuppressive agent for organ transplatation. *Annals of Internal Med* 1984; 101: 667-82.
15. Cohen DJ, BURNS R. Pathways of the pulp. 6ª Ed. E.U.A.: Mosby 1994. 753p.
16. Conner S, Irampour B, Mills J. Alterations in parotid salivary flow in diabetes mellitus. *Oral Surg* 1970; 30: 54-59.
17. Dongari A, Mcdonnell HT, Langlais RP. Drug-induced gingival overgrowth. *Oral Surg* 1993; 76: 543-8.
18. Edgar WM. Saliva and dental health. *Br Den J* 1990; 11: 96-8.
19. Edgar WM. Saliva: its secretion, composition and fiunctions. *Br Den J* 1992; 172: 305-12.

20. Epstein JB, Scully C. The role of saliva in oral health and the causes and effects of xerostomia. *J Can Den Assoc* 1992; 58: 217-21.
21. Eurasquin J, Muruzabal M. A method for root canal treatment in the molar of the rat. *Oral Surg* 1967a; 24: 540-6.
22. Eurasquin J, Muruzabal M. Tissue reaction to root canal cements in the rat molar. *Oral Surg* 1967b; 26: 360-73.
23. Eurasquin J, Muruzabal M. Necrosis of cementum induced by root canal treatments in the molar teeth of rats. *Archs Oral Biol* 1967c; 12: 1123-32.
24. Eurasquin J, Muruzabal M. Evolution of blood clot after root canal treatment in rat molars. *J Den Res* 1968; 47: 34-40.
25. Farthing MJG, Clark ML. Nature of the toxicity of cyclosporin A in the rat. *Biochemical Pharmacology* 1981; 30: 3311-16.
26. Fishel R. Cyclosporine A: Impairs Wound - healing in rats. *J Surg Res* 1983; 34: 572-5.

27. Fox PC. Saliva and salivary gland alterations in HIV infection. *J Am Den Assoc* 1991; 122: 46-8.
28. Fox PC. Salivary gland involvement in HIV-1 infection. *Oral Surg* 1992; 73: 168-70.
29. Fukushima H, Yamamoto K, Hirohata K, Sagawa H, Leung K-P, Walker CB. Localization and identification of root canal bacteria in clinically asymptomatic periapical pathosis. *J Endod* 1990; 16: 534-8.
30. Glass BJ, Van Dis ML, Langlais RP, Miles DA. Xerostomia: Diagnosis and treatment planning considerations. *Oral Surg* 1984; 8: 248-52.
31. Gomes BPFA, Drucker DB, Lilley JD. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. *Int Endod J* 1994; 27: 291-98.
32. Grossman LI. Bacteriologic status of periapical tissue in 150 cases of infected pulpless teeth. *J Den Res* 1959; 38: 101-4.
33. Herrera JL, Lyons MF, Johnson LF. Saliva: its role in health and disease. *J Clin Gastroenterol* 1988; 10: 569-78.

34. Huang C, Ming KL, Man TF. Hepatitis B liver disease in cyclosporine treatment renal allograft recipients. *Transplantation* 1990; 49: 540-4.
35. Ito VS. Efeitos da xerostomia nas estruturas bucais do rato. Piracicaba, Faculdade de Odontologia de Piracicaba-UNICAMP, 1990. 68p. (Dissertação de Tese de Mestrado).
36. Jontel M, Gunraj M, Berganholtz G. Immunocompetent cells in normal dental pulp. *J Den Res* 1987; 66: 1149-53.
37. Kakehashi S, Stanley HR, Fitzgerald RJ. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. *Oral Surg* 1965; 20: 340-49.
38. Keene HJ, Fleming TJ, Toth BB. Cariogenic microflora in patients with Hodgkin's disease before and after mantle field radiotherapy. *Oral Surg* 1994; 78: 577-81.
39. Koshaka T, Kumazawa M, Yamasaki M, Nakamura H. Periapical lesions in rats with streptozotocin-induced rats. *J Endod* 1996; 22(8): 418-21.

40. Korzen BH, Krakov AA, Green DB. Pulpal and periapical tissue responses in conventional and monoinfected anantibiotic rats. *Oral Surg* 1974; 37: 783-802.
41. Lambertenghi-Deliliers G, Santoro F, Polli N, Bruno E, Fumagalli L, Risciotti E. Light and electron microscopic study of cyclosporin A-induced gingival hiperplasia. *J Periodontol* 1986; 57: 771-5.
42. Langeland K, Block RM, Grossman LI. A histopathologic and histobacteriologic study of 35 periapical endodontic surgical specimens. *J Endod* 1977; 3: 8-23.
43. Lopes MA, Spolidório LC, Line SRP, Almeida OP. Pulpal lesions in normal and cyclosporin A treated rats. *J Endod* 1997; 23: 52-3.
44. Mandel ID. The functions of saliva. *J Den Res* 1987; 66: 623-7.
45. Mandel ID. The role of saliva in maintaining oral homeostasis. *J Am Dent Assoc* 1989; 119: 293-304.
46. Mandel ID. The diagnostic uses of saliva. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 119-25.

47. Mangkornkarn C, Steiner JC, Bohman R, Lindemann RA. Flow cytometric analysis of human dental pulp. *J Endod* 1991; 17: 49-53.
  
48. Marton IJ, Kiss C. Characterization of inflammatory cell infiltrate in dental periapical lesions. *Int Endod J* 1993; 26: 131-6.
  
49. Mariani G, Calastini C, Carinci F, Marzola R, Calura G. Ultrastructural features of cyclosporine A-induced gingival hyperplasia. *J Periodontol* 1993; 64: 1092-7.
  
50. Mjör IA, Trosntad L. Experimentally induced pulpitis. *Oral Surg* 1972; 34: 102-8.
  
51. Molloy D. Comparative tissue tolerance of a new endodontic sealer. *Oral Surg* 1992; 73: 490-3.
  
52. Mihatsch M. Morphology of ciclosporine nephrotoxicity in the rat. *Clin Nephrol* 1986; 25: 52-8.

53. Mundorff-Sherstha AS, Featherstone JDB, Eisenberg AD, Cowles E, Curzon MEJ, Espeland MA, Shields CP. Cariogenic potencial of foods II. Relationship of food composition, plaque microbial counts, and salivary parameters to caries in the rat model. *Caries Res* 1994; 28: 106-15.
54. Nair PNR. Light and electron microscopic studies of root canal flora and periapical lesions. *J Endod* 1987; 13: 29-39.
55. Nair PNR, Sjögren U, Krey G, Kahnberg K, Sunqvist G. Intraradicular bacteria and fungi in roofilled asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. *J Endod* 1990; 12: 580-8.
56. Navazesh M, Christesen C, Brightman V. Clinical criteria for the diagnosis of salivary gland hypofunction. *J Den Res* 1992; 71: 1363-693.
57. Nenlander, A. Effect of ciclosporine on Wound healing. *Transplantation* 1983; 36: 1-6.
58. Nobuhara WK, del Rio CE. Incidence of periapical pathoses in endodontic treatment failures. *J Endod* 1993; 19: 315-18.

59. Nussenblatt RB, Pallestine AG. Cyclosporine: immunology, pharmacology and therapeutic uses. *Surv Ophthalmol* 1986; 31: 159-69.
60. O'connel AC, Van Wuyckhuysse BC, Pearson SK, Bowen WH. The effect of propranolol on salivary gland function and dental caries development in young and aged rats. *Archs Oral Biol* 1993; 38: 853-61.
61. O'connel AC, PEARSON SK, BOWEN WH. Pilocarpina alters caries development in partially-desalivated rats. *J Den Res* 1994; 73(3): 637-43.
62. Papas AS, Joshi A, MacDonald S, Mararelis-splagounias L, Prepata-Spanedda P, Curro FA. Caries prevalence in xerostomic individuals. *J Can Dent Assoc* 1993; 59: 171-79.
63. Paterson RC, Watts A. Pulp response to, and cariogenicity of, a strain of *Streptococcus mutans*. *Int Endod J* 1989; 22: 1-8.
64. Platz KP, Sollinger HW, Hullet DA, Eckoff DE, Eugvi EM, Allison AC. R.S. - 61443: a new, potent immunosuppressive agent. *Transplantation* 1991; 51: 27-31.

65. Seltzer S, Farber PA. Microbiologic factors in endodontology. *Oral Surg* 1994; 78: 634-45.
66. Spolidório LC. Efeito da ciclosporina sobre o processo de reparo em tecido cutâneo de rato. Piracicaba, 1991 (Tese de Mestrado - Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP).
67. Steinmuller DR. Cyclosporine and organ Transplantation. *Cleveland Clin* 1985; 52: 263-70.
68. Stahl SS, Weiss R, Tonna EA. Autoradiographic evaluation of periapical responses to pulpal injury. I. Young rats *Oral Surg* 1969; 28: 249-58.
69. Stashenko P, Wang C, Tani-Ishi N, Yu SM. Pathogenesis of induced rat periapical lesions. *Oral Surg* 1994; 78: 494-502.
70. Schiodt M. HIV-associated salivary gland disease: A review. *Oral Surg* 1992; 73: 164-7.

71. Schiodt M, Caroline L, Greenspan D, Daniels TE, Chernoff D, Hollander H, Wara D, Greenspan JS. Natural history of HIV-associated salivary gland disease. *Oral Surg* 1992; 74: 326-31.
72. Sumrani NB, Delaney V, Ding Z, Davis R, Daskalakis P, Friedman EA, Butt KM, Hong JH. Diabetes mellitus after renal transplantation in the cyclosporine. Analysis of risk factors. *Transplantation* 1991; 51: 343-47.
73. Sutton RBO, Smales FC. Cross-sectional study of the effects of immunosuppressive drugs on chronic periodontal disease in man. *J Clin Periodont* 1983; 10: 317-26.
74. Tagger M, Massler M. Periapical tissue reactions after pulp exposure in rat molars. *Oral Surg* 1975; 39: 304-17.
75. Thomas SE, Gordon DS. Cyclosporine. *Sth Med J* 1986; 205-14.
76. Treshan JJ, Whitworth JA, Scoggins BA, Bennett WM. Cyclosporine - induced hypertension in sheep. *Transplantation* 1990; 49: 144-8.

77. Trosntad L, Barnett F, Flax M, Slots J. Anaerobic bacteria in periapical lesions of human teeth. AAE Abstract of Papers 1986; 12: 29.
78. Tronstad L. Recent development in endodontic research. Scand J Den Res 1992; 100: 52-9.
79. Totti JAOC, Almeida OP, Scully C. The effect of sialoadenectomy on the carriage of *Candida albicans* in the mouth of rats. J Oral Pathol Med 1993; 22: 223-9.
80. Twetman S, Lindquist L, Sund ML. Effect of human lysosyme on 2-deoxyglucose uptake by *Streptococcus mutans* and other oral microorganisms. Caries Res 1986; 20: 223-9.
81. Vathsala A, Verani R, Schoenberg L, Lewis RM, Van Buren CT, Kerman RH, Kahan BD. Proteinuria in ciclosporine- treated renal transplant recipients. Transplantation 1990; 49: 35-41.
82. Walton R, Torabinejad M. Principles and practice of endodontics. 1<sup>a</sup>. Ed. E.U.A.: Saunders, 1989.496p.

83. Wang, Stashenko. Kinetics of bone resorbing activity in developing periapical lesions. J Den Res 1991; 70: 1362-6.
84. Warren BS, Pelker RR, Friedlaender GE. Effects of short-term cyclosporin-A on biomechanical properties of intact and fractured in the rat. J Orthopaedic Res 1985; 3: 96-100.
85. Wassef R, Cohen Z, Langer B. Pharmacokinetic profiles of cyclosporine in rats. Transplantation 1985; 40(5): 489-93.
86. Watts A, Paterson. Detection of bacteria in histological sections of the dental pulp. Int End J 1990; 23: 1-12.
87. Wayman BE, Murata SM, Almeida RJ, Fowler CB. A Bacteriological and histological evaluation of 58 periapical lesions. J Endod 1992; 18: 152-55.
88. Wallstrom J B, Torabinejad M, Kettering J, McMillan P. Role of T cells in the pathogenesis of periapical lesions. O surg 1993; 76: 213-8.

89. Yamasaki M, Nakane A, Kumazawa M, Hashioka K, Horiba N, Nakamura H. Endotoxin and Gram-negative bacteria in the rat periapical lesions. J Endod 1992; 18: 501-4.
  
90. Yamasaki M, Kumazawa M, Khosaka T, Hiroshi N, Kameyama Y. Pulpal and periapical tissue reactions after experimental pulpal exposure in rats. J Endod 1994; 20: 13-7.