ENEIDA BARROS SANTOS DE ARAÚJO

ANÁLISE RADIOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DA EVOLUÇÃO DE LESÕES PERIAPICAIS EM CÃES NORMAIS E IMUNOSSUPRIMIDOS.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Mestre em Clínica Odontológica – Área de Endodontia.

Piracicaba – São Paulo

1998

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

ENEIDA BARROS SANTOS DE ARAÚJO

ANÁLISE RADIOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DA EVOLUÇÃO DE LESÕES PERIAPICAIS EM CÃES NORMAIS E IMUNOSSUPRIMIDOS.

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia de Piracicaba - Universidade Estadual de Campinas, para obtenção do Título de Mestre em Clínica Odontológica – Área de Endodontia.

Orientador: PROF. DR. FRANCISCO JOSÉ DE SOUZA FILHO

Este exemplar foi devidamente corrigido, em acordo com a resolução CCPG 036/83
19/2/98

Piracicaba – São Paulo

1998

Ficha Catalográfica

Araújo, Eneida Barros Santos de.
Ar15a Análise radiográfica e histológica da evolução de lesões periapicais em cães normais e imunossuprimidos / Eneida Barros Santos de Araújo. -- Piracicaba, SP : [s.n.], 1998.
93f. : il.

Orientador : Prof. Dr. Francisco José de Souza Filho.
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Endodontia. 2. Doenças periapicais. 3. Imunossupressão. 4. Cão como animal de laboratório. I. Souza Filho, Francisco José de. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha Catalográfica Elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB / 8 – 6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP.

UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA

A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 11 de Dezembro de 1998, considerou a candidata ENEIDA BARROS SANTOS DE ARAUJO aprovada.

1. Prof. Dr. FRANCISCO JOSE DE SOUZA FILHO _____

2. Profa. Dra. MARCIA CARNEIRO VALERA _____

3. Prof. Dr. ALEXANDRE AUGUSTO ZAIA _____

DADOS CURRICULARES

ENEIDA BARROS SANTOS DE ARAÚJO

Nascimento: 09 de abril de 1966 – Itapetinga - Bahia

Filiação: Samuel de Oliveira Santos

Edla de Barros Santos

1983/1987 - Curso de Odontologia na Universidade Federal de Pernambuco.

1992/1993 - Curso de Especialização em Radiologia na Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Universidade Estadual de Campinas.

1993 - Curso de Especialização em Endodontia na Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Universidade Estadual de Campinas.

1995/1998 - Curso de Pós-graduação em Clínica Odontológica, nível Mestrado, na Faculdade de Odontologia de Piracicaba – Universidade Estadual de Campinas.

"O saber não se dilui ao ser compartilhado, mantém a mesma concentração".

Zilmar Ziller Marcos

Dedico

Ao meu esposo ***Paulo****, companheiro de todas as horas, auxiliando-me nas diversas fases deste trabalho, que confia e dá o incentivo para vencer as dificuldades e com o qual divido esta vitória e a minha filha* ***Luisa****, que trouxe mais amor à minha vida, mostrando-me a alegria de cada conquista diária.*

Aos meus pais ***Samuel*** *e* ***Edla****, que continuam a ensinar a tornar-me uma pessoa melhor através do exemplo de suas vidas, de fidelidade a Deus e respeito ao próximo.*

AGRADECIMENTOS

*A **Deus**, Senhor da minha vida, pela fidelidade e presença em cada momento, permitindo-me vencer etapas, meu louvor e gratidão.*

Às minhas irmãs, ***Sandla*** *e* ***Suely****, à sobrinha* ***Camilla****, ao cunhado* ***Silvio*** *e à sogra* ***Hilda****, que tornam minha vida mais alegre, facilitando a caminhada.*

Ao meu orientador, ***Prof. Dr. Francisco José de Souza Filho****, pelos ensinamentos transmitidos de forma coerente, amizade, respeito e carinho conquistados na convivência diária.*

Ao ***Prof. Dr. Luiz Valdrighi****, pelo incentivo, repassando com humildade, todo o conhecimento adquirido em sua vida, refletindo a essência de um verdadeiro Mestre, mostrando o prazer em formar discípulos.*

Ao ***Prof. Dr. Alexandre Augusto Zaia****, pela solicitude, mostrando-me dentro das dificuldades apresentadas, sua disponibilidade e conhecimentos, sempre com desprendimento.*

À **Faculdade de Odontologia de Piracicaba**, pela oportunidade de realização deste curso de Mestrado.

À **FUNDAÇÃO DE AMPARO À PESQUISA DO ESTADO DE SÃO PAULO** (FAPESP), que viabilizou esta pesquisa.

Ao Prof. Dr. **Antonio Wilson Sallum**, Diretor da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

À Profa. Dra. **Altair A. Del Bel Cury**, Coordenadora geral dos cursos de pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

À Profa. Dra. **Mônica Campos Serra**, Coordenadora do curso de pós-graduação em Clínica Odontológica da Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

Aos Professores Dr. **Joélis Pupo**, Dra. **Brenda P.F.A. Gomes**, **Caio Cezar Randi Ferraz** e **Fabrício Batista Teixeira** da Endodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo apoio e orientações.

À Profa. **Andrea Gonçalves**, da disciplina de Radiologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara – UNESP, pela amizade e colaboração

Ao Prof. Dr. **Márcio A. Lopes**, da disciplina de Semiologia, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela atenção e auxílio.

Ao Prof. Dr. **Ricardo Ferraz**, do Departamento de Botânica da Escola Superior de Agricultura "Luiz de Queiroz", pela anuência na utilização do equipamento necessário à medição das áreas.

Aos Professores Dr. **José Merzel** e Dr. **Pedro Duarte Novaes** da área de Histologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pela cessão do biotério para execução deste trabalho.

Aos colegas de curso **Anamaria P.P. Leite** e **Célio A.M.Silva Jr.** pela convivência.

Às alunas da pós-graduação **Heloisa Valdrighi** e **Maria Cândida de Almeida Lopes**, pelo companheirismo e apoio imprescindíveis.

À Sra. **Maria Aparecida Buscariol** e Sr. **Rubens Marques Payão**, técnicos do laboratório de Endodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, pelo processamento histológico.

À Srta. **Denize Lumena de Pinho** e ao **Adailton dos Santos Lima**, pela colaboração em diversas fases do curso.

À bibliotecária **Heloisa Maria Ceccotti**, pela contribuição com a normatização bibliográfica.

Ao Sr. **Luiz Guedes do Amaral** e Sr. **Sérgio Amaral Campos**, pelo auxílio no manuseio, alimentação e cuidado com os animais.

Ao Sr. **Pedro Justino** pela assistência na documentação fotográfica.

A todos aqueles com os quais convivi e que contribuíram para tornar viável este trabalho.

Sumário

LISTAS....13

Tabelas....13

Figuras....14

RESUMO....17

1. INTRODUÇÃO....18

2. REVISÃO DA LITERATURA....20

2.1 Lesão periapical....20

2.2.Imunossupressão....31

3. PROPOSIÇÃO....35

4. MATERIAL E MÉTODOS....36

5. RESULTADOS....41

6. DISCUSSÃO....75

7. CONCLUSÕES....83

SUMMARY....84

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS....85

LISTAS

Lista de tabelas

Tabela 1. Esquema de grupos, sub-grupos e número de raízes de dentes de cães em relação aos tratamentos adotados.....36

Tabela 2. Médias originais obtidas para a variável tamanho da lesão em função dos tratamentos adotados.....63

Tabela 3. Médias observadas e ajustadas pela equação linear para tamanho (cm^2) da lesão em função dos períodos (dias).....64

Tabela 4. Análise de regressão para a variável tamanho (cm^2) da lesão em função do período, dentro de cada tratamento estudado.....65

Tabela 5. Médias observadas e ajustadas pelas equações de regressão, para tamanho (cm^2) da lesão em função do período (dias), dentro de cada tratamento estudado.....66

Tabela 6. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade da lesão em função de cada tratamento estudado.....68

Tabela 7. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade da lesão em função de cada período estudado.....69

Tabela 8. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade da lesão em função do período dentro de cada tratamento estudado.....71

Tabela 9. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade da lesão em função do tratamento dentro de cada período estudado.....73

Lista de Figuras

Figura 1. Radiografia do grupo NSA, 30 dias.....43

Figura 2. Corte histológico do grupo NSA, 30dias, H.E. 33X.....43

Figura 3. Radiografia do grupo NCA, 30 dias.....44

Figura 4. Corte histológico do grupo NCA, 30 dias. H.E. 33X.....44

Figura 5. Radiografia do grupo NSA, 60 dias.....46

Figura 6. Corte histológico do grupo NSA, 60 dias, H.E. 33X.....47

Figura 7. Corte histológico do grupo NSA, 60 dias, H.E. 63X.....47

Figura 8. Radiografia do grupo NCA, 60 dias.....48

Figura 9. Corte histológico do grupo NCA, 60dias, H.E. 33X.....48

Figura 10. Radiografia do grupo NSA, 90 dias.....50

Figura 11. Corte histológico do grupo NSA, 90 dias, H.E. 33X.....51

Figura 12. Corte histológico do grupo NSA, 90 dias, H.E. 100X.....51

Figura 13. Radiografia do grupo NCA, 90 dias.....52

Figura 14. Corte histológico do grupo NCA, 90 dias, H.E. 33X.....52

Figura 15. Radiografia do grupo ISA, 30 dias.....54

Figura 16. Corte histológico do grupo ISA, 30 dias, H.E. 33X.....54

Figura 17. Radiografia do grupo ICA, 30 dias.....55

Figura 18 Corte histológico do grupo ICA, 30 dias, H.E. 33X.....55

Figura 19. Radiografia do grupo ISA, 60 dias.....57

Figura 20. Corte histológico do grupo ISA, 60 dias, H.E. 33X.....57

Figura 21. Radiografia do grupo ICA, 60 dias.....58

Figura 22. Corte histológico do grupo ICA, 60 dias, H.E. 33X.....58

Figura 23. Radiografia do grupo ISA, 90 dias.....60

Figura 24. Corte histológico do grupo ISA, 90 dias, H.E. 33X.....60

Figura 25. Radiografia do grupo ICA, 90 dias.....61

Figura 26. Corte histológico do grupo ICA, 90 dias, H.E. 33X.....61

Figura 27. Avaliação gráfica da variabilidade encontrada entre os cães utilizados.....62

Figura 28. Médias originais obtidas para a variável tamanho da lesão em função dos tratamentos adotados.....63

Figura 29. Diagrama de dispersão e função ajustada para médias de tamanho (cm^2) da lesão em função dos períodos 64

Figura 30. Diagrama de dispersão e função ajustada para médias de tamanho (cm^2) da lesão em função do período (dias) dentro de cada tratamento.....66

Figura 31. Médias de tamanho (cm^2) da lesão em função do período para cada tratamento estudado.....67

Figura 32. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatóro em função de cada tratamento estudado.....68

Figura 33. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatório em função de cada período estudado.....70

Figura 34. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatório em função do período dentro de cada tratamento estudado.....72

Figura 35. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamtório em função do tratamento dentro de cada período estudado.....74

ANÁLISE RADIOGRÁFICA E HISTOLÓGICA DA EVOLUÇÃO DE LESÕES PERIAPICAIS EM CÃES NORMAIS E IMUNOSSUPRIMIDOS.

RESUMO

A influência da imunossupressão no desenvolvimento de lesões periapicais é pouco conhecida. Neste estudo, os canais radiculares de cães normais e imunossuprimidos foram expostos ao meio bucal para contaminação, após pulpectomia com e sem ampliação do forame apical, para promover o desenvolvimento de lesões periapicais. Foi observado através da análise radiográfica e histológica, que o desenvolvimento de lesões periapicais não apresentou alterações entre cães normais e imunossuprimidos, havendo um aumento linear no tamanho e aumento na intensidade do processo inflamatório, de acordo com os períodos de 30, 60 e 90 dias. A ampliação do forame apical exerceu influência na intensidade da reação inflamatória periapical, nos diversos períodos estudados.

PALAVRAS-CHAVE: Endodontia; doença periapical; imunossupressão; cão como animal de laboratório.

1. INTRODUÇÃO

As bactérias oriundas da cárie dental, são as principais responsáveis pelas alterações pulpares e posteriormente pelas lesões periapicais, e quando instaladas no hospedeiro, provocam a maioria de seus efeitos nocivos através da produção de toxinas e invasão dos tecidos (KAKEHASHI et al., 1965).

A patogênese das lesões periapicais está relacionada a fatores locais e sistêmicos (SELTZER et al., 1967a; b). Dentre estes, a imunossupressão pode alterar o comportamento dos tecidos apicais e modificar o desenvolvimento das lesões periapicais.

Com a evolução da Medicina e o advento de novas drogas, tem-se prolongado a sobrevida de pacientes transplantados, sendo cada vez mais frequente a necessidade de tratamento odontológico e a manutenção da saúde bucal destes pacientes e daqueles portadores de doenças sistêmicas auto-imunes, que requerem tratamento com imunossupressores. Ressalta-se a preocupação crescente com a Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), depressora do sistema imunológico, onde lesões orais importantes são encontradas, como doenças gengivais, periodontais, candidíase, GUNA e sarcoma de Kaposi, que podem ser precursoras de alterações na saúde geral desses pacientes (SCULLY et al., 1991).

A influência da imunossupressão no desenvolvimento das lesões periapicais é pouco conhecida. A possibilidade de induzir a imunossupressão através de timectomia ou drogas como a Ciclosporina A (CsA), tem permitido avaliar o estudo do desenvolvimento de lesões periapicais em animais (LOPES et al., 1997; TEIXEIRA, 1997; WATERMAN Jr. et al., 1998).

A ampliação do forame tem sido estudada, sendo o fator determinante na invaginação do tecido conjuntivo para o interior do canal radicular, influenciando a reparação e também contribuindo na promoção de lesões periapicais (SOUZA FILHO et al., 1987).

Os poucos trabalhos que buscaram avaliar a influência da imunossupressão no desenvolvimento e evolução de lesões periapicais, foram realizados em ratos, não verificando-se os resultados em outros animais de laboratório (LOPES et al., 1997; TEIXEIRA, 1997; WATERMAN Jr. et al., 1998).

2. REVISÃO DA LITERATURA

2.1. Lesões periapicais

A infecção pulpar tem sido descrita como fator determinante das alterações patológicas do periápice, como seqüela da cárie dental. Com a persistência dos estímulos nocivos na cavidade pulpar, através do forame apical, podem ocorrer alterações na região periapical, que variam de acordo com a natureza, quantidade, qualidade e tempo de ação dos agentes agressores, bem como da reação de defesa do organismo (De DEUS, 1992).

SHOVELTON (1964) analisando a distribuição e localização de bactérias em dentes com polpas necrosadas, relatou a presença de microrganismos na pré-dentina e canal radicular, sendo mínima a penetração em dentina calcificada, mesmo em dentes com alto grau de infecção. O granuloma periapical associado a canal radicular contendo bactéria não apresentou microrganismos.

KAKEHASHI et al. (1965) estudando os efeitos da exposição pulpar em dentes superiores de ratos normais e "germ-free", nos períodos de 1 a 42 dias, relataram a presença bacteriana como fator determinante na necrose e instalação dos processos inflamatórios. Nos ratos normais ocorreu necrose total da polpa, com formação de abscessos e granulomas, contrastando com os animais "germ-free", onde estas alterações não foram encontradas.

SELTZER et al. (1967a; b) analisando as causas de insucessos no tratamento endodôntico através de análise clínica, radiográfica e histológica,

concluíram que são resultantes de fatores locais como infecção, obturação deficiente, fraturas de instrumentos, reabsorções, perfurações e não por fatores sistêmicos como idade, deficiências nutricionais, influências hormonais entre outras doenças, observando que a reabsorção cementária e/ou dentinária está frequentemente associada à presença de tecido de granulação, onde são encontrados osteoclastos, os quais provocam reabsorção do tecido.

SINAI et al. (1967) estudando a resposta dos tecidos periapicais após pulpectomia em dentes de macacos e humanos, evidenciaram a inflamação periapical devido a presença de tecido necrótico no interior do canal.

STORMS (1969) avaliando o efeito de diversos fatores e métodos de tratamento que podem influenciar o resultado do tratamento endodôntico, não encontrou relação entre a condição sistêmica e o percentual de sucesso do tratamento.

ANDREASEN & RUD (1972) através de técnica histobacteriológica, analisaram 66 biópsias contendo os ápices e estruturas periapicais, para determinação da localização da bactéria e constataram que a maior concentração bacteriana estava nos túbulos dentinários, próximos ao canal radicular. Não houve relação entre a quantidade e localização da bactéria nos túbulos e a intensidade do processo inflamatório periapical, pois o cemento funciona como uma barreira.

GRAVENMADE (1975) avaliando algumas substâncias fixadoras de uso endodôntico, relatou que as lesões periapicais são causadas fundamentalmente por sub-produtos da degradação ou autólise protéica, no processo da necrose e por enzimas e toxinas resultantes do metabolismo

bacteriano do canal radicular. A difusão de produtos tóxicos do interior do canal para a área periapical, resulta em irritação química aos tecidos do periápice podendo acarretar inflamação, caso haja alta concentração destes componentes tóxicos.

TAGGER & MASSLER (1975) observando as modificações dos tecidos periapicais em dentes de ratos, após exposição pulpar à cavidade oral nos períodos de 2 dias a 1 ano, concluíram que essa exposição induz o processo de necrose, com posterior comprometimento tanto da região do periápice através do forame apical como dos pequenos canais acessórios, sendo que o tecido pulpar vital funciona como barreira contra estas irritações, cuja eficácia é proporcional à quantidade de tecido vital remanescente.

KEUDELL et al. (1976) isolando e identificando microrganismos da câmara pulpar de dentes humanos, detectaram 64% de bactérias estritamente anaeróbias em polpas necróticas, reforçando a idéia da necessidade de instrumentação e obturação de qualidade.

MADDOX et al. (1977) comparando a incidência de dor pós-operatória em relação a alguns medicamentos e fatores como sexo e idade, relataram que fatores microbianos de virulência são inerentes ou produzidos pelos microrganismos, permitindo que eles causem danos teciduais. Substâncias relacionadas à virulência podem ser exotoxinas, cápsulas, endotoxinas, produtos metabólicos, ou componentes antigênicos.

ISERMANN & KAMINSKI (1979) avaliando radiográfica e histologicamente a resposta pulpar em 26 dentes de cães, relataram o desenvolvimento de lesões periapicais em todos os dentes que foram expostos

e contaminados por bacterias, contudo dentre 10 dentes expostos às bactérias em cavidades profundas mas sem exposição pulpar, apenas dois apresentaram alterações inflamatórias e perda da função dos odontoblastos, diretamente relacionados à infecção dos túbulos dentinários.

PITT FORD (1982) estudando a reação dos tecidos periapicais de dentes de cães, obturados após 7 dias de exposição à cavidade oral, verificou uma íntima associação entre infecção e inflamação e também entre infecção e reabsorção, em contraste com o processo infeccioso e a extensão de debris no canal radicular, os quais não apresentaram inter-relação.

McCORMICK et al. (1983) descreveram o papel do pH no desenvolvimento de lesões periapicais em cães, observando que os leucócitos polimorfonucleares e osteoclastos, funcionaram melhor em pH levemente ácido, encontrado no início do processo inflamatório agudo, onde as células elaboram hidrolase ácida, que causa a desmineralização dos componentes do tecido duro.

PITT FORD (1983) analisou "in vitro" a capacidade seladora de cimentos obturadores, relacionando às respostas dos tecidos periapicais em cães, concluindo que a obturação do canal radicular é fator importante na redução do espaço para colonização bacteriana, além de prevenir a movimentação dos produtos bacterianos no interior do canal.

TORABINEJAD et al. (1985) estudando os aspectos imunológicos e inflamatórios da patogenia de lesões periapicais em dentes humanos, concluíram que decorrente da necrose pulpar, o sistema de canais radiculares adquire a capacidade de nutrir a bactéria e suas toxinas, desnaturando os

tecidos do hospedeiro.Estas alterações estão diretamente ligadas à natureza, quantidade desses antígenos, além da duração da exposição da região ao agente agressor, podendo as reações inflamatórias não específicas e as reações imunológicas resultar em destruição do tecido periapical.

BYSTRÖM et al. (1987) numa avaliação quanto a eficácia do tratamento endodôntico em 79 dentes infectados, relataram a atuação direta da bactéria no desenvolvimento de lesões periapicais. Quando estão localizadas em áreas inacessíveis ao tratamento endodôntico,como em túbulos dentinários, lacunas do cemento celular ou forame apical, perpetuam a lesão.

PATERSON & WATTS (1987) em estudo comparativo entre dentes de ratos normais e "germ-free", expostos à cavidade bucal para contaminação nos períodos de 1 a 28 dias, observaram a ocorrência de inflamação periapical ao redor dos dentes, após sete dias de exposição pulpar, relatando que apenas o trauma mecânico não induz o processo inflamatório, tendo a bactéria um papel importante no desenvolvimento do processo inflamatório.

SOUZA FILHO et al. (1987) relataram que canais radiculares obturados após a ampliação do diâmetro do forame apical, em dentes de cães com necrose e contaminação, apresentaram reparo apical e periapical pela invaginação de tecido conjuntivo para o interior do canal radicular. Nos canais ampliados e não obturados, a presença de bactérias foi fator determinante na persistência de lesões periapicais.

TRONSTAD et al. (1987) examinando pacientes com lesões periapicais assintomáticas, refratárias ao tratamento endodôntico, encontraram bactérias no interior dessas lesões, sendo capazes de sobreviver e manter o processo

infeccioso nos tecidos periapicais.

YOSHIDA et al. (1987) correlacionando os sintomas e os microrganismos isolados de canais radiculares de 36 dentes humanos portadores de lesões periapicais, observaram que o crescimento de bactérias anaeróbias no canal radicular está intimamente relacionado à presença de sintomas clínicos.

FUKUSHIMA et al. (1990) através de testes de cultura e microscopia eletrônica, para localizar e identificar bactérias no ápice de dentes humanos, portadores de lesões periapicais assintomáticas, encontraram bactérias na região apical, exceto no forame ou superfície do ápice, estando presentes antes ou durante o tratamento endodôntico, não sendo resultado do processo de anacorese. O insucesso do tratamento endodôntico está relacionado clinicamente à persistência da infecção bacteriana, decorrente de procedimentos inadequados de debridamento e obturação.

NAIR et al. (1990) utilizando microscopia ótica e eletrônica, analisaram a presença da bactéria na região periapical de dentes humanos que apresentavam lesões periapicais radiograficamente visíveis, nos períodos de 4 a 10 anos e observaram microrganismos nas lesões periapicais resistentes à terapia endodôntica convencional.

WATTS & PATERSON (1990) em estudo para detectar bactérias nas polpas de dentes de ratos expostos à contaminação da flora bucal, relataram que em cavidades profundas na dentina sem exposição pulpar, ocorreu formação de dentina reparadora, como proteção da polpa às bactérias e suas toxinas.

LIN et al. (1991) estudando clínica, radiográfica e histologicamente 150 casos de insucessos no tratamento endodôntico, concluíram que a maior parte deles era devido à infecção microbiana. Entretanto, em 9 casos com polpa necrótica, foram encontrados cistos radiculares no exame histológico, embora, radiograficamente estes dentes não apresentassem lesões periapicais visíveis durante o tratamento endodôntico. Para os autores, o desenvolvimento do cisto radicular pode ser devido a outros fatores que não os microbianos, tais como a presença de irritantes nos canais radiculares e tecidos periapicais (ex: restos pulpares, materiais obturadores, etc).

Esses autores também discutiram as razões porque as bactérias não são frequentemente encontradas nos tecidos periapicais vitais inflamados, sendo relacionadas as seguintes: a) a área periapical apresenta uma rede vascular muito rica, com circulação colateral; b) o tecido periapical é mais acessível aos mecanismos de defesa do hospedeiro (*e.g.* fagócitos, células imunocompetentes, imunoglobulinas e componentes do sistema complemento) que os canais radiculares; c) os microrganismos são facilmente destruídos com administração sistêmica de antibióticos, devido a esta rede vascular presente na área periapical.

LIN et al. (1992) correlacionaram a infecção bacteriana e radiolucidez periapical nos insucessos endodônticos, indicando como principais fatores, a persistência da infecção no canal e/ou área periapical e a presença de rarefação apical.

STASHENKO (1992) relatou que a invasão bacteriana na polpa dental, estimula a resposta local do hospedeiro. Esta resposta é uma mistura de

linfócitos T helper e T supressores, células B, plamócitos, PMNs e macrófagos. Várias reações no hospedeiro são assim ativadas, incluindo a imunidade humoral, imunidade celular e reações inflamatórias não-específicas mediadas por PMNs. Se a infecção progride, uma segunda linha de defesa se estabelece na região periapical, na forma de um granuloma apical, o qual localiza a infecção no canal radicular.

Este autor descreve que os elementos imunes presentes no granuloma periapical são semelhantes àqueles dentro da polpa infectada. A medida que o granuloma se expande, ocorre a reabsorção óssea, em resposta a estímulos desconhecidos. A reabsorção óssea pode ser estimulada por produtos bacterianos, tais como LPS, ou por mediadores do hospedeiro, incluindo as citocinas de reabsorção óssea (IL-1β, IL-1α, TNFα, TNFβ) ou prostaglandinas. A regeneração do osso reabsorvido ocorre somente após a remoção químico-mecânica das bactérias e de seus produtos do interior dos canais radiculares.

WAYMAN et al. (1992) em uma avaliação bacteriológica e histológica de lesões não solucionadas através de tratamento endodôntico, encontraram bactérias em granulomas, cistos e abscessos, sendo apontadas como uma das causas da persistência da lesão, além de doenças periodontais, fraturas verticais, perfurações, dentre outros.

WANG & STASHENKO (1993) avaliando o processo de reabsorção óssea em lesões periapicais de dentes humanos, relataram que os mecanismos, através dos quais a destruição óssea periapical é mediada, após a invasão bacteriana na polpa, são desconhecidos, apesar de identificados alguns prováveis mediadores, como o efeito direto de lipopolissacarídeos

bacterianos (LPS) e outros componentes das paredes celulares, além de substâncias derivadas do hospedeiro, cuja produção é estimulada pela bactéria, como as citocinas (interleucina 1/IL-1), fator de necrose tumoral (FNT), prostaglandinas e bradicinina.

GOMES et al. (1994) analisando microbiologicamente canais radiculares de dentes humanos para correlacionar os achados microbiológicos com sinais e sintomas de origem endodôntica, encontraram associações entre bactérias e certos aspectos clínicos, por exemplo entre dor e a presença de *Prevotella* e *Peptostreptococus* spp.

STASHENKO et al. (1994) analisando os mecanismos patogênicos das lesões periapicais em dentes de ratos, descreveram os estimuladores da reabsorção óssea, por exemplo: os componentes bacterianos como lipopolissacarídeos (LPS), prostaglandinas, bradicininas, complexo antígeno/anti-corpo e citocinas, incluindo interleucina-1α (IL-1α), IL-1β e fator de necrose tumoral (TNFα). Relataram ainda, a predominância de células T-helper na fase aguda e células T-supressoras na fase crônica, enquanto a IL-1 α predomina em ambas as fases, sendo o mediador chave na destruição óssea periapical.

YAMASAKI et al. (1994) investigaram histológica e histometricamente as modificações nos tecidos pulpares e periapicais após exposição pulpar em dentes de ratos. Segundo estes autores, quando a infecção bacteriana e seus produtos, e os derivados da degradação pulpar atingem o periápice, ocorre uma resposta inflamatória nesta região, indicando a possibilidade de radiolucidez periapical com resquício de tecido pulpar vital.

GOMES (1995) investigando a associação entre grupos de batérias e aspectos clínicos de origem endodôntica, relataram que LPS-endotoxina (potente imunógeno), potencializa respostas inflamatórias através da ativação do sistema complemento, o qual pode resultar em destruição tecidual com exsudação purulenta. Além de liberar endotoxinas, os organismos Gram-negativos podem produzir substâncias que ajudam as bactérias a escapar do sistema de defesa do hospedeiro, incluindo células do sistema imune.

NAGAOKA et al. (1995) estudando a invasão bacteriana nos túbulos dentinários de dentes humanos vitalizados e desvitalizados, concluíram que em dentes vitais, os processos odontoblásticos ocupam espaço nos túbulos dentinários, agindo como barreira física à invasão bacteriana, enquanto nos dentes desvitalizados, essa barreira é diminuída, aumentando a patência dos túbulos, permitindo a penetração de bactérias.

PETERS et al. (1995) relataram que o insucesso do tratamento endodôntico parece não estar relacionado ao pequeno número de bactérias que permanecem nos túbulos dentinários após adequados procedimentos de instrumentação e obturação do sistema de canais radiculares. Ainda observam que, futuros trabalhos serão necessários para responder a questão: bactérias sobrevivem nos túbulos dentinários, e crescem em número suficiente para serem patologicamente significantes?

GOMES et al. (1994; 1996) relataram que as espécies Gram-negativas (e.g. "*Bacteroides*" de pigmento preto, fusobactéria), podem ter significado clínico devido à presença da endotoxina, um lipopolissacarídeo (LPS), que é um componente estrutural do envelope celular externo, e pode ser secretada

pelo organismo ou liberados durante a lise celular. Esta endotoxina tem outras atividades biológicas como indução de febre, atividade adjuvante, reação de Swartzman, citotoxicidade, coagulação sanguínea e fibrinólise. A zona de infecção está localizada no sistema de canais radiculares e túbulos dentinários e que independentemente de sua virulência, se estiver presente em grande número, pode estimular uma reação inflamatória apical pela difusão de antígenos bacterianos.

2.2 Imunossupressão

O desenvolvimento de lesões periapicais pode estar associado a fatores sistêmicos como a imunossupressão que é o estado de incapacidade do sistema imunológico.

A Síndrome da Imunodeficiência Adquirida (AIDS), tem impulsionado estudos avaliando os efeitos da imunossupressão sobre o organismo humano. As doenças imunes são caracterizadas por deficiência nas células B e células T. Na AIDS, a imunossupressão afeta a imunidade mediada por células, resultando principalmente na perda ou diminuição da sobrevida das células T-helper (COTRAN, 1996).

Para o estudo em animais, a imunossupressão pode ser produzida através de timectomia ou pela administração de drogas imunossupressoras.

Descrita por BOREL (1972), citado por WISKOTT (1983), a Ciclosporina A é a medicação mais utilizada como agente imunossupressor. Derivada de espécies do fungo *Thrichoderma polysporum* Rifai, é um polipeptídeo cíclico hidrofóbico, que contém 11 aminoácidos de fórmula $C_62H_{11}O_{12}$, com peso molecular de 12062,6 kDa, sendo produzida comercialmente da cultura do *Tolypocladium inflatum*. Apresenta alta eficiência como imunossupressor, sendo amplamente utilizado na profilaxia e tratamento da rejeição de órgãos em transplantes alogênicos.

BURCKHARDT & GUGGENHEIN (1979) descreveram a utilização de ciclosporina em animais, ressaltando o êxito em homoenxertos de pele, medula óssea, pâncreas, fígado, rins, pulmões, ovários e intestino delgado, caracterizando-se pela supressão de linfócitos.

CALNE et al. (1979) relatou a utilização da Ciclosporina A em transplantes de órgãos, inibindo a rejeição e agindo a nível de linfócitos T, reduzindo a síntese e liberação de linfocinas como a interleucina 2 nos linfócitos CD4, tendo efeitos mínimos na imunidade humoral. Entretanto, alguns efeitos colaterais indesejáveis como nefrotoxicidade, hepatotoxicidade, tremor, hipertensão, anemia e hiperplasia gengival são verificados com a utilização deste medicamento.

SALLAY et al. (1982) avaliando o efeito da imunossupresão na reabsorção do osso alveolar em ratos, com a utilização de Ciclofosfamida[1] , concluíram que o agente imunossupressor inibe a proliferação de osteoblastos, mas não interfere na atividade dos osteoclastos e com a imunossupressão das defesas do hospedeiro, a destruição óssea é facilitada.

WASSEF et al. (1985) e SEIBEL et al. (1989) recomendaram a administração desta medicação imunossupressora por via oral ou injetável, na dosagem de 10-20 e 30 mg/kg para ratos e cães, respectivamente

[1] Cytoxan® Bristol – Myers - USA

SEIBEL et al. (1989) em estudo com cães, obsevaram o efeito da CsA no desenvolvimento de hiperplasias gengivais, relatando que a severidade da lesão estava diretamente relacionada à concentração de CsA no sangue, havendo relação direta entre o uso do medicamento e este efeito colateral, ocorrendo diminuição progressiva após suspensão da droga. A utilização da ciclosporina A em cães, promoveu a hiperplasia gengival, demonstrando a viabilidade desses animais na avaliação das respostas locais e sistêmicas quando da utilização da CsA.

KITAMURA et al. (1990) observaram que a hiperplasia gengival decorrente da utilização de CsA, consiste de tecido conjuntivo fibroso sem aumento significativo do número de fibroblastos ou células inflamatórias

PISANTY et al. (1990) relataram a hiperplasia gengival em decorrência da utilização de CsA, não sendo este efeito o resultado do aumento na produção de colágeno mas devido principalmente à proliferação epitelial.

WALLSTROM et al. (1993) analisando o papel das células T na patogenicidade das lesões periapicais, relataram que o desenvolvimento de lesões periapicais em ratos normais e atímicos não é totalmente dependente da presença de linfócitos T, não havendo diferenças significativas entre os grupos.

TANI-ISHII et al. (1995) descreveram que a formação de lesões periapicais envolve uma resposta imune do hospedeiro a microrganismos orais e seus produtos, sendo resultante de respostas humorais e imunológicas mediadas por células. Investigando a diferença entre a formação de lesões em macacos normais e com deficiência de células-T, através do método

imunohistoquímico, concluindo que estas células têm papel importante na patogenicidade das lesões periapicais.

LOPES et al. (1997) e TEIXEIRA (1997) em estudos com ratos utilizando a ciclosporina relacionando-a ao desenvolvimento de lesões periapicais, não evidenciaram modificações destas.

WATERMAN Jr. et al. (1998) compararam o desenvolvimento de lesões periapicais em ratos normais e imunossuprimidos com a utilização de Ciclofosfamida[2], deixando as polpas dos primeiros molares inferiores dos animais expostas para contaminação. Após analise radiográfica e histopatológica, os resultados estatísticos não revelaram diferenças significativas entre os dois grupos estudados, concluindo-se que a redução de leucócitos circulantes pode não ter afetado significantemente o desenvolvimento das lesões periapicais.

---

[2]idem 1

3. PROPOSIÇÃO

Esta pesquisa teve o propósito de avaliar radiográfica e histologicamente a influência da imunossupressão no desenvolvimento de lesões periapicais em dentes de cães, com e sem ampliação do forame apical, após os períodos de 30, 60 e 90 dias.

4. MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizadas 88 raízes dos terceiros e quartos pré-molares inferiores de ambos os lados, de 11 cães adultos, com aparência sadia, sem raça definida, pesando entre 8 e 10 quilogramas, provenientes do canil central da Universidade de Campinas, já vacinados e submetidos ao período de quarentena. Os cães foram separados em dois grupos, normais e imunossuprimidos, divididos em dois sub-grupos, com e sem ampliação do forame apical (Tabela 1).

Tabela 1. Esquema de grupos, sub-grupos e número de raízes de dentes de cães em relação aos tratamentos adotados.

GRUPOS/Nº CÃES	FORAME APICAL	Nº DE RAÍZES	SIGLA
NORMAIS (06)	Ampliado	24	NCA
	Sem ampliação	24	NSA
IMUNOSSUPRIMIDOS (05)	Ampliado	20	ICA
	Sem ampliação	20	ISA

O experimento consistiu em avaliar radiograficamente o tamanho da lesão e histologicamente a intensidade do processo inflamatório periapical, relacionados a três períodos (30, 60 e 90 dias), em função de quatro procedimentos clínicos, (perfazendo 12 combinações), como descritas abaixo:

- pulpectomia em cães normais (NSA);
- pulpectomia com ampliação do forame apical em cães normais(NCA);
- pulpectomia em cães imunossuprimidos (ISA);
- pulpectomia com ampliação do forame apical em cães imunossuprimidos (ICA).

Para promover a imunossupressão, adotou-se a Ciclosporina-A[3], em cápsulas gelatinosas, administradas na dose de 30 mg/kg de massa corporal, misturadas na ração diária (SEIBEL et al., 1989). Os animais foram pesados quinzenalmente para ajuste na dosagem do medicamento.

O experimento foi realizado 7 dias após o início da administração do medicamento imunossupressor. Para a realização da pulpectomia, os animais foram anestesiados com Pentobarbital Sódico[4], injetado endovenosamente na concentração de 30 mg/kg de massa corporal. Adotou-se como pré-anestésico Cloridrato de tiazina[5], aplicado por via intramuscular, na concentração de 3 mg/kg de massa corporal, para promover sedação e ligeiro relaxamento muscular dos animais, facilitando os procedimentos de pesagem e da anestesia geral.

Após raspagem coronária e profilaxia com taças de borracha e pedra pomes, foi realizada a anti-sepsia da cavidade bucal com álcool iodado, sendo os dentes radiografados para confirmação da normalidade periapical e periodontal com filme "ultra-speed" Kodak, utilizando-se aparelho de raio X (DABI ATLANTE – Spectro 70x/8mA) com tempo de exposição padronizado em 0,6". As radiografias periapicais foram reveladas manualmente pelo método tempo/temperatura.

---

[3] Sandimmun Neoral® - Sandoz/SA Indústria farmacêutica – Brasil
[4] Hypnol® – Cristália/LTDA Indústria farmacêutica – Brasil
[5] Rompun® Bayer/SA Indústria farmacêutica – Brasil

A abertura coronária para o acesso da câmara pulpar foi realizada inicialmente com brocas esféricas 1112 (Sorensen) complementada com 3070 (Sorensen), para pontas de alta rotação e brocas de largo #2 em motor de baixa rotação, para o preparo da entrada dos canais. A odontometria foi determinada inserido-se uma lima tipo K, compatível com a amplitude do canal, até o forame apical. Para a pulpectomia, foi selecionada uma lima tipo K que se ajustasse ao canal radicular, indo até à base cementária existente no ápice dos dentes de cães.

Os dentes foram radiografados para determinação da odontometria e em seguida, a polpa foi extirpada, com movimentos de rotação e tração, seguido de irrigação com soro fisiológico. Para os dentes do sub-grupo com ampliação do forame, utilizou-se limas tipo K preparadas para a ampliação do forame apical dos pré-molares, até o diâmetro correspondente às limas tipo K #30, para estabelecer uma ampla comunicação entre o canal radicular e a região periapical. Após estes procedimentos, os dentes foram novamente radiografados e mantidos abertos, com os canais expostos ao meio bucal para contaminação.

Decorrido o período experimental de 30, 60 e 90 dias, os animais foram novamente radiografados, e então sacrificados pela injeção de sobredose de anestésico geral, sendo as mandíbulas removidas e mantidas por um período mínimo de 1 semana em solução de formalina 10%, para fixação. Após esse período, os dentes tratados foram removidos em blocos e descalcificados em solução de ácido fórmico a 50% e citrato de sódio a 20%, (MORSE, 1945), trocando-se a solução de 2 em 2 dias, até a completa descalcificação do osso

e dos dentes, ocorrido em aproximadamente 4 meses. Após a descalcificação, as raízes foram separadas com auxílio de lâminas de bisturi e preparadas individualmente para inclusão em parafina. Procedeu-se cortes longitudinais semi-seriados de 7μm no sentido mésio-distal, que foram corados em hematoxilina-eosina, analisados e fotografados em fotomicroscópio Zeiss.

A análise histológica foi realizada em fotomicroscópio Zeiss e a intensidade do processo inflamatório, categorizada como leve (+), moderada (++) e severa (+++), foi avaliada através da análise visual de cinco observadores, de forma comparativa.

O estudo radiográfico foi realizado através da projeção das imagens a uma distância padronizada e transcritas em papel, para medição (cm^2) das lesões periapicais, utilizando-se o Medidor de Área (Modelo 3100 LI-COR).

Adotou-se para análise da variância do parâmetro tamanho (cm^2) da lesão, o delineamento inteiramente ao acaso em esquema fatorial desbalanceado.

As hipóteses (H_0) testadas para a referida variável foram:

- H_0: não existe diferença entre as médias de tratamentos;
- H_0: não existe diferença entre as médias de períodos;
- H_0: não existe diferença entre as médias das combinações de tratamentos com períodos.

Considerou-se 5% como nível mínimo de significância para rejeição dessas hipóteses, ou seja, sempre que o valor da probabilidade do teste F for menor ou igual a 0,05 ($\alpha \leq 0,05$) não se rejeita que há diferença significativa entre pelo menos duas médias de tratamentos, períodos ou da interação entre

esses fatores, procedendo-se então ao detalhamento da análise.

Para o fator tratamentos, o detalhamento da análise foi realizado através do teste de Tukey para comparação das médias duas a duas, considerando-se um nível mínimo de significância de 5% ($\alpha \leq 0,05$).

Para o fator períodos, realizou-se a análise de regressão para verificação do comportamento do tamanho da lesão no decorrer do intervalo de tempo adotado, através do ajuste de funções lineares e quadráticas.

Para que os modelos de análise e os testes fossem validados, houve a necessidade de serem safisfeitas as pressuposições:

- homogeneidade de variâncias para comparação dos tratamentos;
- independência dos erros;
- erros com distribuição normal (ou aproximadamente normal).

A variável intensidade do processo inflamatório obtida através da análise visual, por se tratar de categorias, não pode ser avaliada como os dados paramétricos, não sendo possível ajustar um modelo matemático para análise da variância, utilizando-se um teste de independência. Assim, foram feitas tabelas de contingência para cada cruzamento dos fatores estudados (tratamentos e períodos), sendo utilizada a estatística χ^2 (qui-quadrado) de Pearson para inferência, montadas de acordo com as categorias para cada variável, estabelecidas como:

- avaliação visual da intensidade do processo inflamatório: leve, moderada ou intensa;
- tratamentos: NSA, NCA, ISA, ICA.
- períodos: 30, 60 e 90 dias.

5. RESULTADOS

Resultados radiográficos e histopatológicos

Cães normais

30 dias

Sem ampliação do forame apical

Observa-se quanto ao aspecto radiográfico do periápice dos pré-molares inferiores do grupo NSA após 30 dias de exposição à cavidade bucal, uma discreta área radiolúcida difusa, com perda da lâmina dura, sugerindo a presença de lesões periapicais. Percebe-se ainda, imagem radiopaca arredondada entre as raízes do 3º pré-molar inferior, compatível com corpo estranho (Fig. 1).

Após pulpectomia e exposição ao meio bucal, o aspecto histológico da região apical e periapical da raiz distal do 4º pré-molar inferior esquerdo mostra reação inflamatória, com aumento do espaço periodontal, em consequência da destruição do tecido ósseo periapical (Fig. 2).

Com ampliação do forame apical

Radiograficamente, 30 dias após pulpectomia e ampliação do forame apical, nota-se imagens radiolúcidas na região apical dos pré-molares

inferiores direitos, sugestivas de osteíte rarefaciente difusa, sem continuidade da lâmina dura. A mesma imagem radiopaca arredondada vista na figura 2, pode também ser observada (Fig. 3).

No corte histológico da raiz distal do $4^{\underline{o}}$ pré-molar inferior direito, observa-se intensa reação inflamatória, com áreas de abscesso apical agudo. Na superfície radicular, a necrose do cemento e pequenas áreas de reabsorção podem ser detectadas (Fig. 4).

Figura 1. Radiografia periapical de pré-molares inferiores esquerdos, de cão do grupo NSA, após 30 dias de exposição ao meio bucal, observando-se rarefação óssea periapical difusa, com perda da lâmina dura.

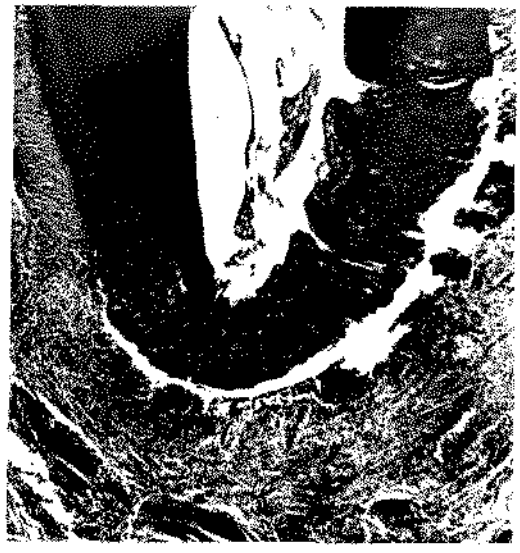

Figura 2. Corte histológico da raiz distal do 4^{0} pré-molar inferior esquerdo, grupo NSA, após 30 dias de exposição ao meio bucal, apresentando infiltrado inflamatório e áreas de reabsorção na superfície radicular. H.E. 33X.

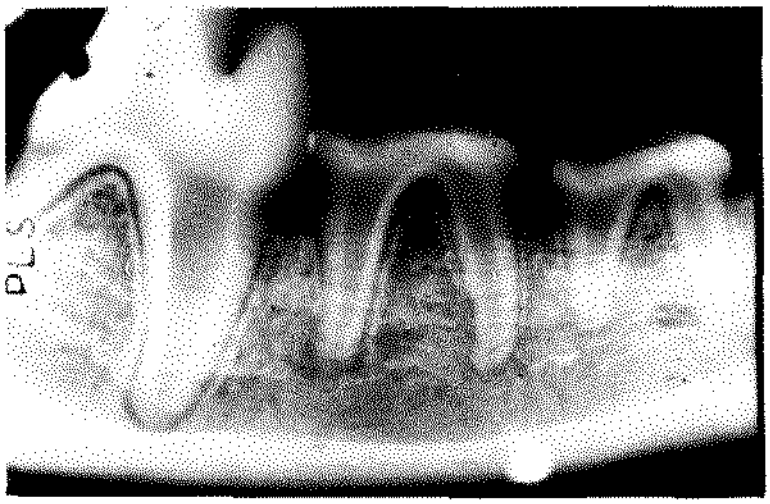

Figura 3. Radiografia periapical da região de 3º e 4º pré-molares inferiores do grupo NCA, após 30 dias de exposição ao meio bucal, percebendo-se áreas radiolúcidas na região dos ápices, sugerindo a presença de lesões periapicais.

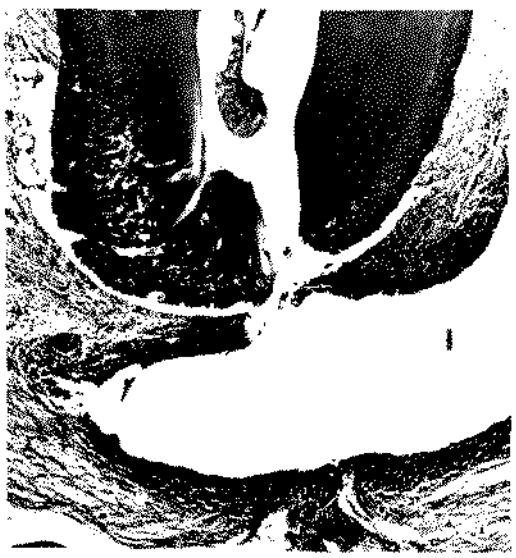

Figura 4. Aspecto histológico da região periapical da raiz distal do 4º pré-molar inferior direito, grupo NCA, após 30 dias de exposição ao meio bucal, notando-se intensa reação inflamatória apical, com áreas de abscesso. H.E. 33X.

60 dias

Sem ampliação do forame apical

Após pulpectomia e exposição ao meio bucal pelo período de 60 dias, observa-se nas raízes do $3^{\underline{o}}$ pré-molar inferior esquerdo, rarefação óssea periapical difusa e, na raiz distal do $4^{\underline{o}}$ pré-molar, rarefação óssea periapical circunscrita (Fig. 5).

Histologicamente, verifica-se a presença de infiltrado inflamatório (Fig.6). Na superfície radicular, áreas de reabsorção cementária podem ser visualizadas (Fig. 7).

Com ampliação do forame apical

Observa-se no aspecto radiográfico, presença de osteíte rarefaciente difusa, envolvendo 2/3 da raiz distal, terço apical da raiz mesial do $4^{\underline{o}}$ pré-molar e terço apical da raiz distal do $3^{\underline{o}}$ pré-molar inferiores direitos, após pulpectomia e ampliação do forame apical, transcorridos 60 dias (Fig. 8).

Através do exame histológico, pode-se detectar ampla comunicação do canal radicular com o periápice, e presença de áreas de abscesso na saída do forame. (Fig. 9).

Figura 5. Imagem radiográfica de pré-molares inferiores esquerdos do grupo NSA, após 60 dias de exposição ao meio bucal, evidenciando imagens radiolúcidas periapicais (seta).

Figura 6. Corte histológico da raiz distal do 4º pré-molar inferior esquerdo, grupo NSA, 60 dias após exposição ao meio bucal, detectando-se moderado infiltrado inflamatório, com aumento do espaço periodontal apical. H.E. 33X.

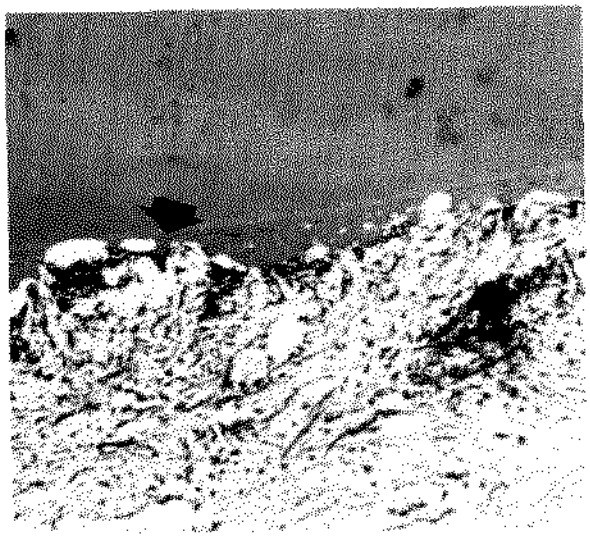

Figura 7. Superfície radicular do grupo NSA, 60 dias após exposição ao meio bucal, observando-se rebsorção do cemento apical (seta). H.E. 63X.

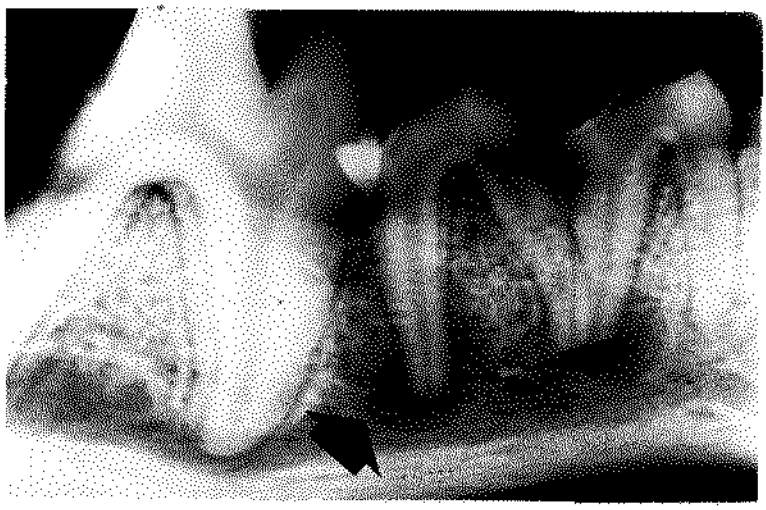

Figura 8. Radiografia periapical mostrando rarefação óssea periapical difusa no 4º pré-molar (seta) e na raiz distal do 3º pré-molar inferiores direitos, grupo NCA, após 60 dias de exposição ao meio bucal.

Figura 9. Aspecto histológico da raiz distal do 4º pré-molar, constatando-se intensa reação inflamatória periapical e presença de abscesso (seta), grupo NCA, após 60 dias de exposição ao meio bucal. H.E. 33X.

90 dias

Sem ampliação do forame apical

A imagem radiográfica mostra áreas radiolúcidas envolvendo a porção apical das raízes do 4º pré-molar e distal do 3º pré-molar inferiores esquerdos, após pulpectomia e exposição à cavidade bucal (Fig. 10).

Histologicamente, áreas de infiltrado inflamatório e necrose podem ser detectadas próximo à saída do delta apical (Figs. 11 e 12).

Com ampliação do forame apical

Radiograficamente, observa-se rarefação óssea periapical difusa nas raízes distais e mesiais do 3º e 4º pré-molares inferiores direitos (Fig. 13).

O aspecto histológico apresenta a comunicação do canal radicular com a região periapical e intenso infiltrado inflamatório. Raspas de dentina podem ser observadas na região da saída do forame (Fig. 14).

Figura 10. Radiografia periapical de pré-molares inferiores esquerdos do grupo NSA, após 90 dias de exposição ao meio bucal, percebendo-se áreas radiolúcidas ao redor do periápice destes dentes.

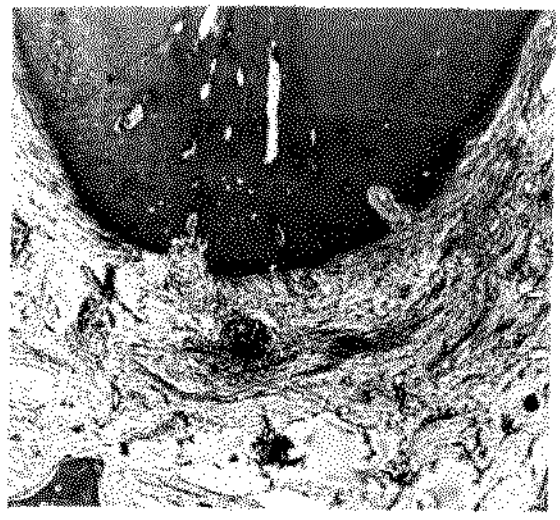

Figura 11. Corte histológico da raiz distal do 4^{0} pré-molar do grupo NSA, após 90 dias de exposição ao meio bucal, visualizando-se a reação inflamatória periapical, com aumento do espaço periodontal apical. H.E.33X

Figura 12. Maior aumento da figura anterior, destacando-se a presença do infiltrado inflamatório na embocadura do canal do delta apical (seta).H.E. 100X.

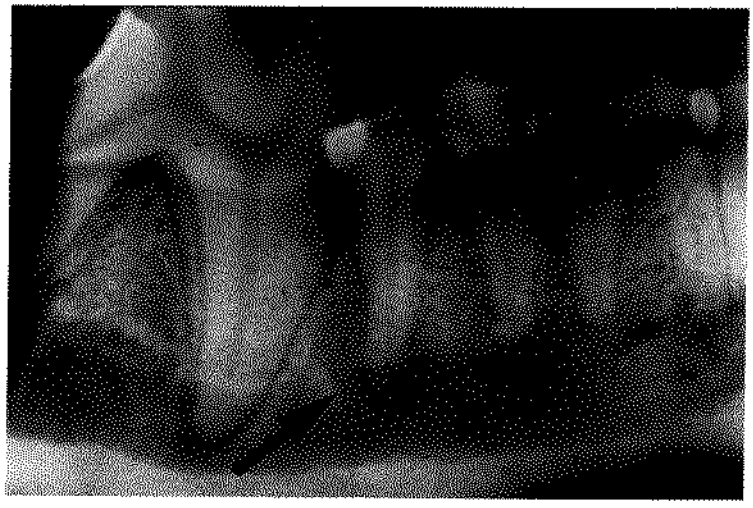

Figura 13. Radiografia da região de pré-molares inferiores direitos do grupo NCA, após 90 dias de exposição ao meio bucal, notando-se radiolucência periapical (seta), sugestiva de osteíte rarefaciente difusa.

Figura 14. Aspecto histológico da raiz distal do 4º pré-molar do grupo NCA após 90 dias de exposição ao meio bucal, observando-se intensa reação inflamatória periapical. Na região da saída do forame, nota-se acúmulo de raspas de dentina (seta), desprendidas durante o ato de ampliação do forame apical. H.E. 33X.

Cães imunossuprimidos

30 dias

Sem ampliação do forame apical

Na radiografia periapical dos pré-molares inferiores esquerdos, após 30 dias da exposição dos canais radiculares ao meio bucal, nota-se aumento do espaço periodontal apical na raiz distal do $4^{\underline{o}}$ pré-molar e osteíte rarefaciente difusa na raiz mesial deste dente e na raiz distal do $3^{\underline{o}}$ pré-molar (Fig. 15).

No corte histológico da raiz distal do $3^{\underline{o}}$ pré-molar, percebe-se ausência de tecido no canal do delta apical e aumento do espaço periodontal apical (Fig. 16).

Com ampliação do forame apical

Na radiografia periapical dos pré-molares inferiores do grupo ICA, com 30 dias após ampliação do delta apical e exposição ao meio bucal, observa-se espessamento do espaço periodontal apical do $4^{\underline{o}}$ pré-molar e discreta rarefação óssea periapical difusa na raiz distal do $3^{\underline{o}}$ pré-molar (Fig. 17).

Histologicamente, nota-se o espaço do canal radicular ampliado e a presença de áreas de intensa celularidade, compatíveis com reação inflamatória na região próxima ao forame apical (Fig. 18).

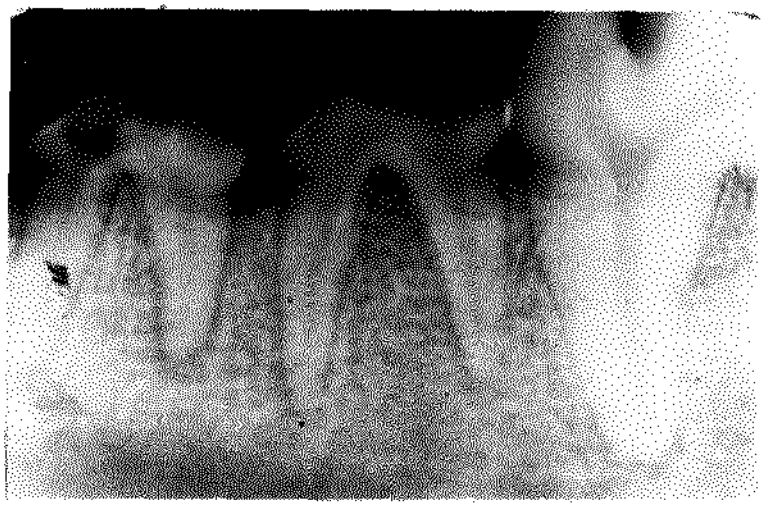

Figura 15. Radiografia periapical dos pré-molares inferiores esquerdos do grupo ISA, após 30 dias de de exposição ao meio bucal, observando-se áreas radiolúcidas ao redor dos periápices, sugerindo lesões periapicais.

Figura 16. Corte histológico da raiz distal do 3º pré-molar inferior do grupo ISA, após 30 dias de exposição ao meio bucal, apresentando aumento do espaço periodontal apical. H.E. 33X.

Figura 17. Radiografia periapical de cão do grupo ICA, após 30 dias de exposição ao meio bucal, notando-se aumento do espaço periodontal no 4º pré-molar e imagem radiolúcida na raiz distal do 3º pré-molar.

Figura 18. Histologicamente, na raiz distal do 3º pré-molar inferior direito do grupo ICA, após 30 dias de exposição ao meio bucal, nota-se o espaço do canal radicular ampliado e a presença de áreas de intensa celularidade, compatíveis com reação inflamatória na região próxima ao forame apical. H.E. 33X.

60 dias

Sem ampliação do forame apical

No aspecto radiográfico do periápice dos pré-molares inferiores após pulpectomia e exposição à cavidade bucal pelo período de 60 dias, observa-se áreas de rarefação óssea envolvendo as raízes distal do 3º e 4º pré-molares inferiores, sugerindo a presença de lesões periapicais. Nota-se ainda, início de reabsorção óssea (Fig. 19).

No corte histológico da raiz distal do 4º pré-molar inferior, visualiza-se aumento do espaço periodontal apical e a presença de tecido granulomatoso próximo à abertura do forame apical (Fig. 20).

Com ampliação do forame apical

Na imagem radiográfica dos pré-molares inferiores do lado direito percebe-se rarefação óssea periapical difusa na raiz distal do 4º pré-molar, e reabsorção óssea longitudinal (Fig. 21).

No corte histológico da raiz distal do 4º pré-molar direito nota-se intensa reação inflamatória periapical, com presença de tecido granulomatoso na porção apical do canal radicular (Fig. 22).

Figura 19. Radiografia periapical dos 3^{0} e 4^{0} pré-molares inferiores esquerdos do grupo ISA, após 60 dias de exposição ao meio bucal, percebendo-se discretas áreas de radiolucências periapicais (seta).

Figura 20. Aspecto histopatológico da raiz distal do 3^{0} pré-molar esquerdo do grupo ISA, após 60 dias de exposição ao meio bucal, detectando-se aumento do espaço periodontal apical. H.E. 33X.

Figura 21. Radiografia periapical de pré-molares do grupo ICA, após 60 dias de exposição ao meio bucal, percebendo-se imagens radiolúcidas nos periápices, sugerindo lesões periapicais (seta).

Figura 22. Corte histológico do periápice da raiz distal do 4º pré-molar direito do grupo ICA, após 60 dias de exposição ao meio bucal, observando-se intensa reação inflamatória, com aumento do espaço periodontal apical. H.E. 33X.

90 dias

Sem ampliação do forame apical

Transcorridos 90 dias após pulpectomia e exposição ao meio bucal, nota-se no aspecto radiográfico, áreas radiolúcidas envolvendo as raízes mesiais e distais do 3º e 4º pré-molares inferiores esquerdos e aumento do espaço periodontal da raiz mesial do 3º pré-molar inferior esquerdo. Observa-se ainda, reabsorção óssea das cristas alveolares(Fig. 23).

Histologicamente, observa-se a presença de células inflamatórias relacionadas à abertura do forame apical. Percebe-se no canal radicular pequena lesão periapical, com infiltrado inflamatório próximo às foraminas (Fig. 24).

Com ampliação do forame apical

Radiograficamente, nota-se áreas de rarefação óssea periapical das raízes mesiais e distais dos 3º e 4º pré-molares inferiores direitos, atingindo mais de 2/3 da raiz mesial do 3º pré-molar. Observa-se ainda reabsorção óssea horizontal, após pulpectomia e ampliação do forame apical, com exposição ao meio bucal pelo período de 90 dias (Fig. 25).

Histologicamente, percebe-se o tecido pulpar necrosado, além de lesão periapical com intenso infiltrado inflamatório. Na região cementária, áreas de reabsorção desconfiguram o aspecto morfológico do ápice (Fig. 26).

Figura 23. Radiografia dos pré-molares inferiores esquerdos do grupo ISA, após 90 dias de exposição ao meio bucal, observando-se áreas radiolúcidas periapicais com aumento do espaço periodontal da raiz mesial do 3º pré-molar (seta).

Figura 24. Corte histológico do ápice da raiz mesial do 4º pré-molar inferior do grupo ISA, após 90 dias de exposição ao meio bucal, observando-se aumento do espaço apical. H.E. 33X.

Figura 25. Radiografia periapical de pré-molares inferiores direitos do grupo ICA, após 90 dias de exposição ao meio bucal, notando-se áreas radiolúcidas periapicais (seta) e reabsorção óssea nos terços médio e cervical das raízes.

Figura 26. Região periapical da raiz distal do 4º pré-molar inferior direito do grupo ICA, após 90 dias de exposição ao meio bucal, visualizando-se intensa reação inflamatória e comunicação do canal com o periápice devido à ampliação do forame apical. H.E. 33X.

Resultados estatísticos

Na análise de variância e teste F detectou-se a heterogeneidade (tipo regular) de variâncias entre os dados de tamanho (cm^2) da lesão, devido ao fator períodos, sendo eliminada através da transformação logarítmica, restabelecendo-se a homogeneidade de variâncias e normalidade aos resíduos.

Observa-se na Figura 27 a discrepância entre os dados obtidos nos cães de números 4, 7, 9, dos demais. Os cães 11 e 12 também formaram um grupo diferenciado.

Figura 27. Avaliação gráfica da variabilidade encontrada entre os cães utilizados.

A análise estatística da variável tamanho (cm^2) da lesão em função dos tratamentos, através do teste de Tukey a nível de 5% de probabilidade, é apresentada na Tabela 2 (Figura 28).

Tabela 2. Médias originais obtidas para a variável tamanho da lesão em função dos tratamentos adotados.

Tratamentos	Médias
NSA	4,14 a
NCA	5,59 a
ISA	3,59 a
ICA	6,45 a

Médias seguidas de letras iguais na coluna, não diferem entre si pelo teste de Tukey ao nível de 5% de probabilidade

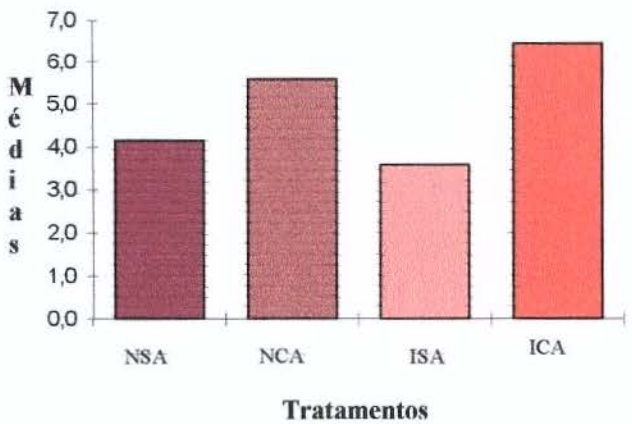

Figura 28. Médias originais obtidas para a variável tamanho da lesão em função dos tratamentos adotados.

A análise estatística da variável período (dias), com as médias originais e as ajustadas pela equação de regressão é apresentada na Tabela 3 (Figura 29). Foi detectada regressão linear significativa entre o tamanho da lesão

(cm^2) e os períodos (dias).

Tabela 3. Médias observadas e ajustadas pela equação linear para tamanho (cm^2) da lesão em função dos períodos (dias).

Períodos	Médias ajustadas pela equação linear	
Dias	Observadas	Linear
30	3,32	3,35
60	4,96	4,92
90	6,47	6,48
Coeficiente de determinação (R^2) %		99,94

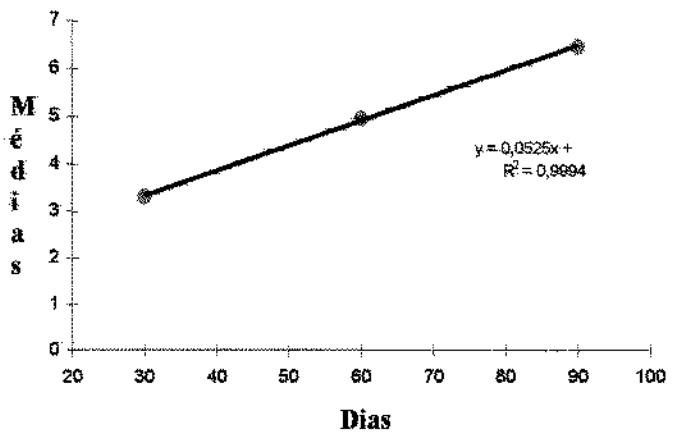

Figura 29. Diagrama de dispersão e função ajustada para médias de tamanho (cm^2) da lesão em função do período (dias).

Embora a análise de variância não tenha detectado diferença significativa pelo teste F para a interação tratamentos x períodos, considerando-se que os dados eram desbalanceados, efetuou-se um desdobramento entre a referida interação. A análise de regressão para tamanho (cm^2) da lesão para os quatro tratamentos no decorrer dos períodos, é apresentada na Tabela 4 (Figura 30). Evidencia-se que a interação

significativa entre tratamentos e períodos é devida ao comportamento dos períodos dentro do tratamento forame ampliado em animal imunossuprimido, já que foi a única regressão significativa detectada na análise. Observa-se também que essa regressão significativa foi apenas linear. As médias observadas e ajustadas pela equação linear dentro dos quatro tratamentos são apresentadas na Tabela 5 (Figura 31).

Tabela 4. Análise de regressão para a variável tamanho (cm^2) da lesão em função do período, dentro de cada tratamento estudado.

Causas da Variação	G.L.	Quadrados Médios			
		NSA	NCA	ISA	ICA
Regressão Linear	1	0.0826279^{ns}	0.0143691^{ns}	0.3468955^{ns}	2.5014840**
Regressão Quadrática	1	0.1448098^{ns}	0.3055030^{ns}	0.0113772^{ns}	0.9569964^{ns}
Resíduo	73	21.7651913	21.7651913	21.7651913	21.7651913

** = Significativo pelo teste F ao nível de 1% probabilidade.
ns = Não significativo, considerando-se como n.m.s. 5% de probabilidade.

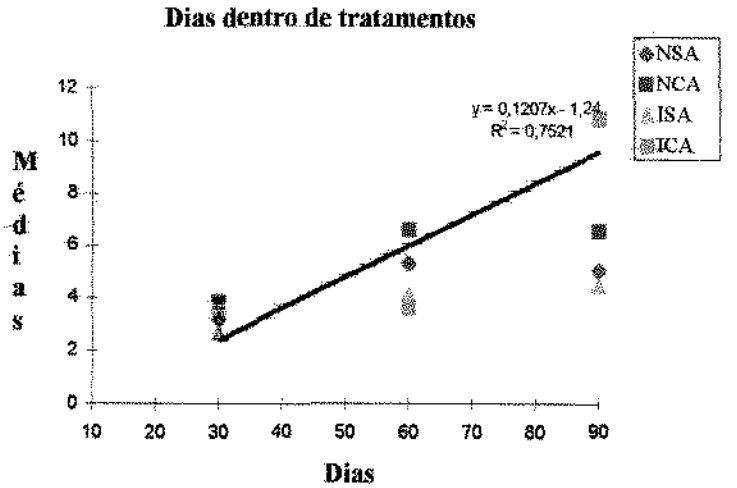

Figura 30. Diagrama de dispersão e função ajustada para médias de tamanho (cm^2) da lesão em função do período (dias) dentro de cada tratamento.

Tabela 5. Médias observadas e ajustadas pelas equações de regressão, para tamanho (cm^2) da lesão em função do período (dias), dentro de cada tratamento estudado.

Períodos (dias)	Médias observadas e ajustadas pela equação linear							
	NSA		NCA		ISA		ICA	
	Observ.	Linear	Obs.	Linear	Obs.	Linear	Obs.	Linear
30	3,17	3,78	3,84	4,69	2,68	2,99	3,58	1,85
60	5,30	4,48	6,61	5,76	4,07	3,76	3,60	5,91
90	5,00	5,19	6,55	6,83	4,38	4,53	10,82	9,96

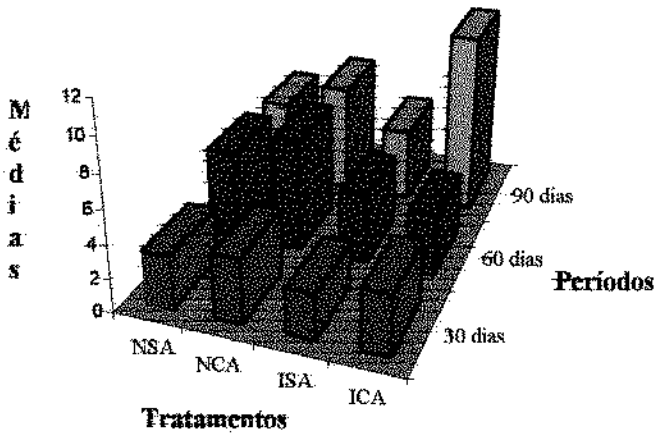

Figura 31. Médias de tamanho (cm^2) da lesão em função do período para cada tratamento estudado.

Os dados categorizados (estatística não paramétrica) da variável intensidade do processo inflamatório obtidos através da análise visual, são apresentados na Tabela 6 (Figura 32), que mostra a frequência das avaliações para cada tratamento. Observa-se que a maior parte das avaliações (48,33%) foi para a categoria Severa, e que a maior parcela dessa percentagem foi provocada pelos tratamentos forame ampliado em cães normais e imunossuprimidos. A segunda percentagem (33,33%) foi para a categoria Moderada, onde a maior parcela foi provocada pelo tratamento pulpectomia cão normal, seguido pelo forame ampliado em cão normal e pulpectomia em cão imunossuprimido. Na categoria Leve, detectou-se menor percentagem (18,33%), sendo a maior parcela promovida pela pulpectomia em cão imunossuprimido.

A estatística χ^2 para testar a hipótese de independência entre os tratamentos e as avaliações mostrou que o observado (22,95) foi maior que o

tabelado a 1% (16,81), rejeitando-se a hipótese de independência entre os tratamentos e o resultado da avaliação visual, ou seja, as avaliações dependeram do tratamento.

Tabela 6. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatório em função de cada tratamento estudado.

	Intensidade do processo inflamatório			
Tratamento	Leve	Moderada	Severa	Total/Tratamentos
ICA	0	4	11	15
NCA	0	5	10	15
ISA	8	5	2	15
NSA	3	6	6	15
Total/Avaliações	11	20	29	60
%	18,33	33,33	48,33	

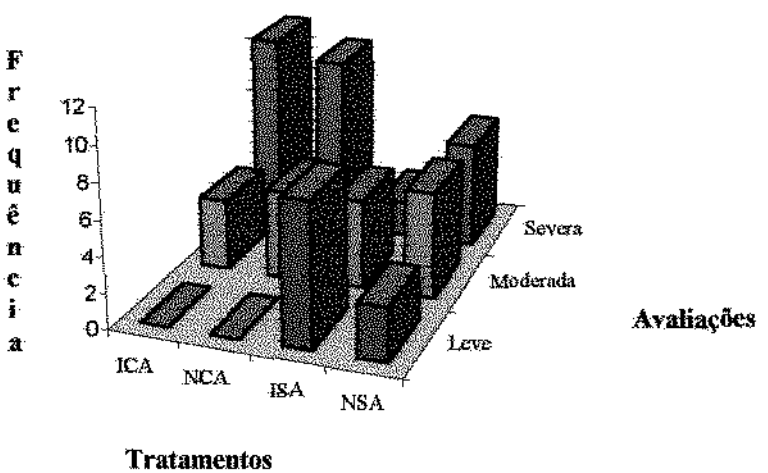

Figura 32. Freqüência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatório em função de cada tratamento estudado.

Os dados da variável intensidade do processo inflamatório obtidos através da análise visual, são apresentados na Tabela 7 (Figura 33), que mostra a frequência das avaliações para cada período estudado. Observa-se que a maior parte das avaliações (48,33%) foi para a categoria Severa e a maior parcela dessa porcentagem foi provocada aos 90 dias, seguido dos 60 dias, ou seja, pelos maiores períodos. A segunda percentagem (33,33%) foi para a categoria Moderada, onde a maior parcela foi provocada aos 30 dias. Percebe-se que a categoria Leve apresentou menor porcentagem (18,33), sendo a maior parcela provocada pelos 60 dias.

A estatística χ^2 para testar a hipótese de independência entre os períodos e as avaliações mostrou que o observado (12,77) foi maior que o tabelado a 5% (9,49), rejeitando-se a hipótese de independência entre os períodos e o resultado da avaliação visual, ou seja, as avaliações dependeram do tempo.

Tabela 7. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatório em função de cada período estudado.

Períodos	Intensidade do processo inflamatório			
(dias)	Leve	Moderada	Severa	Total
30	3	11	6	20
60	7	4	9	20
90	1	5	14	20
Total	11	20	29	60
%	18,33	33,33	48,33	

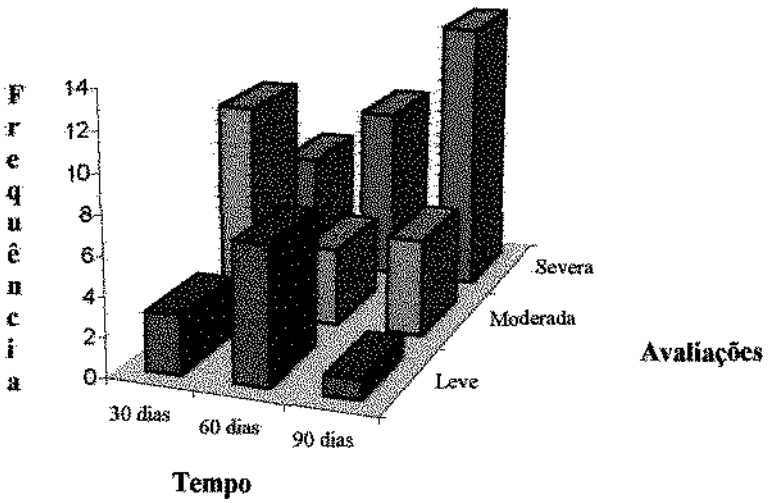

Figura 33. Freqüência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatório em função de cada período estudado.

Os dados da variável intensidade do processo inflamatório obtidos através da análise visual, são apresentados na Tabela 8 (Figura 34), que mostra a frequência das avaliações para o período dentro de cada tratamento estudado. Pode ser observado, que a maioria das avaliações (73,33%) foi para a categoria Severa, dentro de forame ampliado em cão imunossuprimido, e que a maior parcela dessa porcentagem foi provocada igualmente aos 60 e 90 dias. A segunda percentagem (66,67%) foi para a categoria Severa, dentro de ampliação do forame em cão normal, onde a maior parcela foi provocada igualmente aos 60 e 90 dias, indicando que as maiores lesões ocorreram nos tratamentos com ampliação do forame apical, quanto maiores os períodos. Observa-se também que 53,33% das avaliações Leve aconteceram dentro do tratamento pulpectomia em cão imunossuprimido, provocada aos 30 e 60 dias; sendo igual a porcentagem (40,00%) de Moderada e Severa dentro de pulpectomia em cão normal e nenhuma ocorrência de Leve dentro de

ampliação do forame em cães normais e imunossuprimidos.

A estatística χ^2 para testar a hipótese de independência entre os dias e as avaliações dentro dos tratamentos mostrou que apenas dentro de pulpectomia em cão normal e ampliação do forame em cão imunossuprimido o valor observado foi maior que o tabelado (aos níveis de 5% e 1%, respectivamente), indicando que as avaliações dependeram do tempo apenas quando foram utilizados esses dois tratamentos. Para os tratamentos ampliação do forame em cão normal e pulpectomia em cão imunossuprimido há evidencia que não há dependência entre avaliações e o período conforme Quadro abaixo:

Testes	NSA	NCA	ISA	ICA
Qui-quadrado observado	11,00	2,40	4,35	10,91
Qui-Quadrado tabelado 5%	9,49	5,99	9,49	5,99
Qui-Quadrado tabelado 1%	13,28	9,21	13,28	9,21

Tabela 8. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatório em função do período dentro de cada tratamento estudado.

	INTENSIDADE DO PROCESSO INFLAMATÓRIO POR TRATAMENTO											
PERÍODO	NSA			NCA			ISA			ICA		
(dias)	LEVE	MOD.	SEV.	LEVE	MOD.	SEV.	LEVE	MOD.	SEV.	LEVE	MOD.	SEV.
30	0	3	2	0	3	2	3	1	1	0	4	1
60	3	2	0	0	1	4	4	1	0	0	0	5
90	0	1	4	0	1	4	1	3	1	0	0	5
Total	3	6	6	0	5	10	8	5	2	0	4	11
%	**20,00**	**40,00**	**40,00**	**0,00**	**33,33**	**66,67**	**53,33**	**33,33**	**13,33**	**0,00**	**26,67**	**73,33**

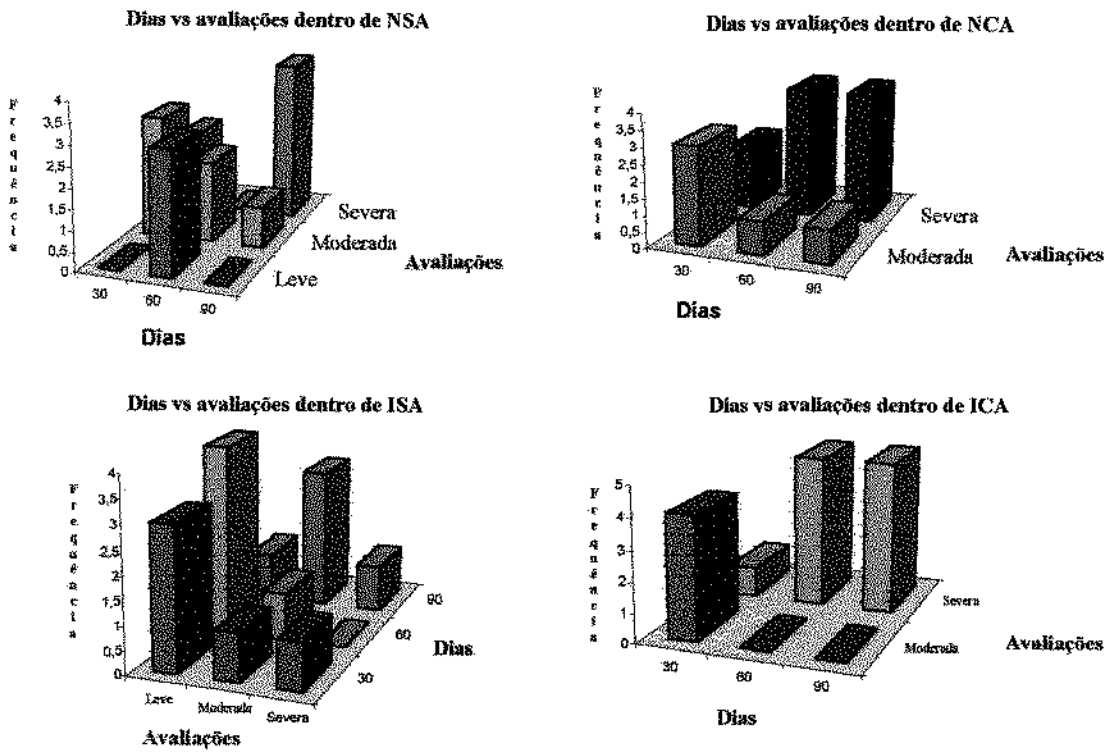

Figura 34. Freqüência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatório em função do período dentro de cada tratamento estudado.

Os dados da variável intensidade do processo inflamatório obtidos através da análise visual, são apresentados na Tabela 9 (Figura 35), que mostra a frequência das avaliações em cada tratamento dentro de cada período estudado. Observa-se que a maior parte das avaliações (70,00%) foi para a categoria Severa aos 90 dias, e que a maior parcela dessa porcentagem foi provocada pelo tratamento ampliação do forame em cão imunossuprimido, seguida igualmente pelos tratamentos pulpectomia e ampliação do forame em cães normais. A segunda percentagem (55,00%) foi para a categoria Moderada aos 30 dias, onde a maior parcela foi provocada pelo tratamento pulpectomia em cão imunossuprimido, seguida igualmente pelos tratamentos pulpectomia e ampliação do forame em cães normais,

indicando maiores e menores lesões aos 90 e 30 dias, respectivamente. Observa-se também 45% das avaliações Severa aos 60 dias, foram provocadas pelos tratamentos ampliação do forame em cães normais e imunossuprimidos.

A estatística χ^2 para testar a hipótese de independência entre os tratamentos e as avaliações dentro dos períodos mostrou o seguinte:

Testes	30 dias	60 dias	90 dias
Qui-Quadrado observado	11,00	4,35	10,91
Qui-quadrado tabelado 5%	9,49	9,49	5,99
Qui-quadrado tabelado 1%	13,28	13,28	9,21

Percebe-se que dentro de 30 dias o valor observado foi maior que o tabelado a 5%, aos 90 dias o valor observado foi maior que o tabelado a 1%, embora não tenha ocorrido aos 60 dias, indicando que as avaliações dependeram dos tratamentos apenas aos 30 e 90 dias.

Tabela 9. Frequência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatório em função do tratamento dentro de cada período estudado.

	Intensidade do processo inflamatório nos períodos								
	30 dias			60 dias			90 dias		
Tratamento	LEVE	MOD.	SEV.	LEVE	MOD.	SEV.	LEVE	MOD.	SEV.
NSA	0	3	2	3	2	0	0	1	4
NCA	0	3	2	0	1	4	0	1	4
ISA	3	1	1	4	1	0	1	3	1
ICA	0	4	1	0	0	5	0	0	5
Total.	3	11	6	7	4	9	1	5	14
%	**15,00**	**55,00**	**30,00**	**35,00**	**20,00**	**45,00**	**5,00**	**25,00**	**70,00**

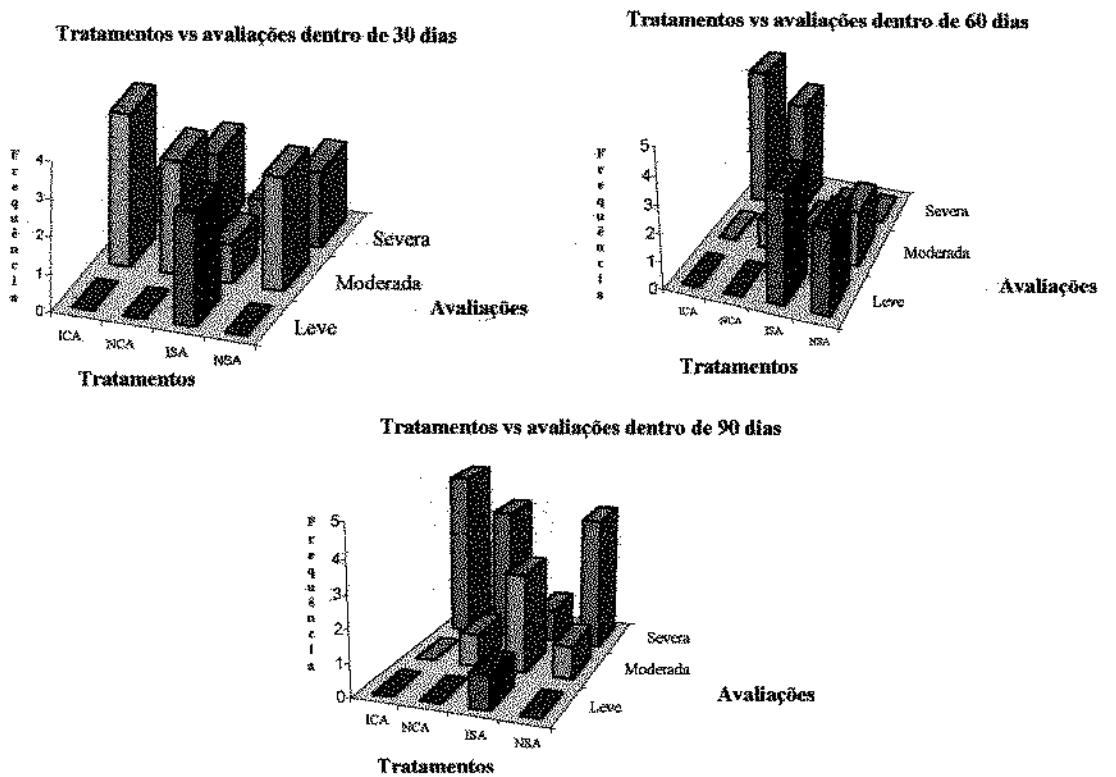

Figura 35. Freqüência observada através da avaliação visual para a variável intensidade do processo inflamatório em função do tratamento dentro de cada período estudado.

6. DISCUSSÃO

A utilização de cães como animal de experimentação para avaliação de tratamentos endodônticos, tem sido descrita na literatura, por ser um animal de fácil manuseio, apresentar duas raízes bem diferenciadas dos pré-molares inferiores, retas e amplas, assemelhando-se aos humanos (MATSUMIA & KITAMURA, 1960; HOLLAND et al., 1979a; b; c; McCORMICK et al., 1983; BENATTI et al., 1985; SOUZA FILHO et al., 1987;).

A ampliação do forame apical foi realizada com o objetivo de facilitar a comunicação do canal radicular com o periápice, em decorrência de que a porção apical dos dentes de cães apresentam um complexo delta formado por várias foraminas, que por sua vez, não impede o tratamento em toda extensão radicular.

Em dentes de cães se tem realizado a perfuração intencional do ápice, objetivando-se o estudo da região periapical à ação de materiais obturadores (HOLLAND et al., 1979a), de medicamentos utilizados como curativos (HOLLAND et al., 1992) e a influência do diâmetro do forame apical no processo de reparação da região periapical (BENATTI et al., 1985; SOUZA FILHO et al., 1987).

A ampliação do forame apical permite a invaginação de tecido conjuntivo para o interior do canal radicular, porém se houver persistência da contaminação do canal, a invaginação não ocorre, acarretando a continuidade do processo inflamatório (SOUZA FILHO et al., 1987).

A exposição pulpar ao meio bucal induz uma contaminação bacteriana, resultando num processo de necrose com desenvolvimento de lesões periapicais, sendo a presença da bactéria fator determinante (KAKEHASHI et al., 1965; ANDREASEN & RUD, 1972; BYSTRÖM et al., 1987; NAIR et al., 1990).

ISERMANN & KAMINSKI (1979) analisaram radiográfica e histologicamente a resposta da polpa frente à infecções, observando lesões periapicais nos dentes expostos à contaminação bacteriana.

A existência de uma flora microbiana bucal densa constitui uma possibilidade danosa constante ao tecido pulpar e tecidos adjacentes. As células bacterianas e suas estruturas atingem o tecido pulpar através de contato direto ou pela migração através dos canalículos dentinários (SUNDQVIST, 1994).

Os microrganismos afetam a estrutura pulpar através da ação direta das bactérias, liberação de toxinas e competição com células do hospedeiro. Atribui-se ao lipopolissacarídeo endotoxina, ser a substância de maior potencial irritativo aos tecidos humanos (JAWETZ et al., 1988).

Na análise histológica de granulomas, tecido cicatricial e cistos não inflamados, SCHONFELD et al. (1982) detectaram a presença de endotoxinas na maioria das lesões inflamadas, promovendo alterações vasculares e celulares, principalmente de fibroblastos. Quando em baixas concentrações, estas alterações promoveram um estímulo de crescimento celular e proliferação vascular compatíveis com a formação de granulomas.

A imunossupressão tem sido amplamente estudada nas últimas duas

décadas em decorrência do aparecimento da Síndrome de Imunodeficiência Adquirida (AIDS) descrita em 1979 . Desde então, há uma busca intensa, na tentativa de compreender os mecanismos que controlam o sistema imunológico. Isso contribuiu para descoberta de novas drogas que agem direta e indiretamente no controle do sistema imunológico, modificando seu funcionamento, permitindo maior sobrevida aos pacientes submetidos a transplantes de órgãos (CALNE et al., 1979).

Os medicamentos imunossupressores deprimem o sistema imunológico, diminuindo a rejeição de transplantes, aumentando a possibilidade de sucesso desse tipo de tratamento. O número de pacientes imunossuprimidos tem aumentado consideravelmente nos últimos anos, em decorrência tanto da AIDS como do número de pacientes submetidos à terapia imunossupressora.

No concernente ao aspecto odontológico, se faz necessária melhor avaliação da influência da imunossupressão sobre os mecanismos de defesa tanto no tecido pulpar, como na região periapical, onde o sistema imunológico está ativo no combate a microrganismos e suas toxinas. Assim, buscou-se avaliar a influência da imunossupressão sobre o desenvolvimento de lesões periapicais em cães.

Neste trabalho, a hiperplasia gengival como efeito colateral, foi observada em todos os animais submetidos à administração da Ciclosporina A, como resultado da ação da medicação, o que confirma a imunossupressão. A escolha da Ciclosporina A (CsA) como agente imunossupressor justifica-se pelo fato deste medicamento ser utilizado em grande escala por pacientes transplantados e pelo conhecimento da sua farmacocinética e efeitos

colaterais, já descritos na literatura (CALNE et al., 1979; NUSSENBLAT & PALESTINE, 1986; THOMAS & GORDON, 1986; PLATZ et al., 1991).

Conforme observado na Figura 27, a amostragem e procedimentos experimentais relacionados ao parâmetro tamanho (cm^2) da lesão promoveu desbalanceamento nos resultados obtidos tanto em função da heterogeneidade de peso, idade e linhagem dos animais, como em função do metabolismo biológico inerente em relação ao medicamento imunossupressor, que foi adequado conforme recomendação da relação massa corpórea do animal e miligramas da dosagem, buscando-se a diminuição dos efeitos não controláveis nas causas destas variações.

Na análise histológica das lesões periapicais, avaliou-se a intensidade das células presentes no infiltrado inflamatório, através de análise visual (semi-quantitativa) das lâminas, realizada por cinco pesquisadores, que classificaram em discreta (+), moderada (++) e intensa (+++) a celularidade da lesão.

Quanto a variável intensidade da reação inflamatória, constatou-se que os tratamentos ampliação do forame apical, tanto em cães normais como imunossuprimidos, apresentaram a maior percentagem, esta dentro da categoria Severa (Tabela 6; Figura 32), detectando-se dependência das avaliações em relação aos tratamentos adotados, através do teste de χ^2.

Radiograficamente, o tamanho da lesão em função dos tratamentos adotados, não apresentou diferenças significativas, sendo as médias ordenadas no sentido decrescente, da pulpectomia com ampliação do forame apical nos cães imunossuprimidos e normais, seguidos de pulpectomia em

cães normais e imunossuprimidos, respectivamente. Pode-se inferir que o procedimento pulpectomia com ampliação do forame, independente dos tratamentos, apresentou as maiores médias.

Os resultados obtidos ratificam àqueles encontrados em dentes de ratos por LOPES et al. (1997) que não encontraram diferenças da intensidade do processo inflamatório em ratos normais e imunossuprimidos com a utilização da ciclosporina. Constataram ainda, que a intensidade da inflamação periapical, estava correlacionada aos diâmetros dos canais radiculares e dos forames apicais, sendo mais frequente abscessos na raiz distal, por se apresentarem mais amplos. Estes resultados corroboram com os achados de WATERMAN Jr. et al. (1998).

Avaliando o efeito de doenças sistêmicas em relação ao resultado do tratamento do sistema de canais radiculares, STORMS (1969) reportou que a presença ou ausência de doenças sistêmicas não influenciam no sucesso do tratamento endodôntico.

Ao analisar o desenvolvimento de lesões periapicais em ratos normais, xerostômicos e xerostômicos-imunossuprimidos, TEIXEIRA (1997) utilizou a CsA para indução da imunossupressão, não encontrando diferenças significativas entre os referidos grupos.

Conforme análise da imagem radiográfica, observa-se a expansão do processo de reabsorção óssea nos periápices, independentemente dos tratamentos adotados, em função do processo inflamatório, concordando com COOLIDGE (1931).

Neste trabalho, os resultados estão de acordo com trabalhos anteriores

em dentes de ratos, mostrando que a reabsorção óssea foi semelhante nos grupos imunossuprimidos e normais (LOPES et al., 1997; TEIXEIRA, 1997; WATERMAN Jr. et al., 1998). No entanto, SELTZER et al. (1964) estudando lesões periapicais, observaram que a extensão apresenta-se histologicamente maior do que radiograficamente e que em cães, as estruturas frequentemente causam superposições ósseas sobre os ápices radiculares nas radiografias.

ROWE & BINNIE (1974) estudando lesões periapicais em dentes de cães com rizogênese incompleta, relataram que as radiografias são substitutas insatisfatórias do exame histológico na detecção de lesões periapicais crônicas em dentes de cães. Resultados semelhantes também foram observados em estudos com cadáveres por DAMANTE & CARVALHO (1988), demonstrando que defeitos confinados ao osso esponjoso, somente são detectados radiograficamente quando assumem grandes proporções.

MALOOLEY et al. (1979) ao avaliarem a resposta ao tratamento endodôntico de lesões periapicais induzidas através de análise histológica e radiográfica, detectaram a presença bacteriana apenas nos canais radiculares, sem atingir os tecidos periapicais, relatando ainda, que a contribuição do exame radiográfico para o diagnóstico histológico do periápice não deve ser considerada quantitativamente precisa, independente da padronização da angulação, distância filme-dente e qualidade do filme, havendo uma correlação mínima.

Referente aos períodos (30, 60 e 90 dias) após pulpectomia com e sem ampliação do forame apical para o desenvolvimento de lesões, detectou-se o efeito significativo em relação ao tamanho (cm^2) das referidas lesões,

indicando um aumento linear no decorrer do tempo de avaliação.

A intensidade do processo inflamatório em relação aos referidos períodos, recebeu maior percentagem de notas referentes aos 90 dias, na categoria Severa (Tabela 7; Figura 33), detectando-se através do teste de χ^2, que a intensidade das lesões dependeram do período.

Os resultados encontrados corroboram com aqueles obtidos em cães, onde a lesão foi observada já a partir de 4 semanas, havendo crescimento com o transcorrer do tempo até 12 semanas (FOUAD et al., 1992). Em ratos, YAMASAKI et al. (1994) detectaram inflamação nos tecidos periapicais aos 3 dias pós-tratamento, aumentando a severidade do processo até aos 28 dias, decrescendo em seguida até aos 56 dias, em referência ao período observado.

Foi detectado para a variável tamanho (cm^2) da lesão, relacionada à interação entre os tratamentos e os períodos, uma diferença significativa (Tabela 5; Figura 31), em decorrência do comportamento dos períodos dentro do tratamento pulpectomia com ampliação do forame apical nos animais imunossuprimidos.

Observou-se que a intensidade do processo inflamatório nas avaliações para os períodos dentro de cada tratamento estudado, na maioria das avaliações foi para a categoria Severa dentro do tratamento forame ampliado em cão imunossuprimido, sendo a maior percentagem igualmente provocada aos 60 e 90 dias (Tabela 8, Figura 34), indicando que as avaliações dependeram do período apenas quando utilizados estes dois tratamentos, através do teste χ^2.

Em relação às observações de intensidade do processo inflamatório

para os tratamentos dentro de cada período estudado, observou-se que a maioria das avaliações foi para a categoria Severa aos 90 dias, sendo a maior percentagem provocada pelo tratamento ampliação do forame em cão imunossuprimido, seguido da Moderada aos 30 dias, detectando-se através do teste de χ^2 que as avaliações dependeram dos tratamentos apenas aos 30 e 90 dias.

Devido a redução na atividade linfocitária provocada pela imunossupressão, esperava-se um aumento significativo do número de neutrófilos e macrófagos, na região da reabsorção, embora isso não tenha sido observado. Isso sugere a necessidade de metodologia mais adequada através de análise imunohistoquímica, na avaliação da qualidade celular do processo inflamatório de um animal imunossuprimido em relação aos animais normais.

7. CONCLUSÕES

Em decorrência dos resultados obtidos nas condições deste experimento, conclui-se que:

- através da análise radiográfica e histológica, o desenvolvimento de lesões periapicais não apresentou alterações entre cães normais e imunossuprimidos com a utilização da ciclosporina A;
- a pulpectomia mais ampliação do forame apical, tanto em cães normais como imunossuprimidos, influenciou a intensidade do processo inflamatório, observando-se maior frequência na categoria Severa;
- em relação aos períodos observados, detectou-se um aumento linear no tamanho e aumento na intensidade do processo inflamatório.

RADIOGRAPHIC AND HISTOLOGIC ANALYSES OF THE EVOLUTION OF THE PERIAPICAL LESIONS IN IMMUNOSUPPRESSED AND NON-IMMUNOSUPPRESSED DOGS.

SUMMARY

The influence of the immunosuppresion on the development of periapical lesions is not well elucidated. In this study, the root canals of either normal or immunosupressed dogs were exposed to the oral environment after pulpectomy with or without enlargement of the apical foramen in order to induce the development of periapical lesions. Histologic and radiographic analyses showed that there is no significant association between the development of the lesions and the presence or not of immunosuppression. However, there is a linear increase in the size and intensity of the inflammatory process on the 30th, 60th and 90th days in both groups, especially after the enlargement of the apical foramen.

INDEX TERMS: Endodontics; periapical disease; immunosuppressed; dogs as experimental model.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS[6]

ANDREASEN, J.O. & RUD, J. A histobacteriologic study of dental and periapical structures after endodontic surgery. **Int. J. Oral Surg.**, Copenhagen, v.1, 272-281, 1972.

BENATTI, O. et al. A histological study of the effect of diameter enlargement of the apical portion of the root canal. **J. Endod.**, Baltimore, v.11, n.10, p.428-434, 1985 .

BURCKHARDT, J.J. & GUGGENHEIM, B. Cyclosporin A: in vivo and in vitro supression of rat T-lymphocyte function. **Immunology**, Oxford, v.36, n.4, p.753-757, apr. 1979.

BYSTRÖM, A. et al. Healing of periapical lesions of pulpless teeth after endodontic treatment with controlled asepsis. **Endod. dent. traumat.**, Copenhagen, v.3, n.2, p.58-63, 1987.

CALNE, R. et al. Cyclosporin A initially as the only imunosupressant in 34 recipientes of cadaveric organs, 32 kidneys, 2 pancreases and livers. **Lancet**, London, v.2, p.1033-1036, 1979.

COOLIDGE, E.D. The reaction of cementum in the presence of injury and infection. **J. Am. dent. Ass.**, Chicago, p.499-525, mar. 1931.

---

[6] De acordo com ANBR 6023, de agosto de 1989, da Associação Brasileira de Normas Técnicas (ABNT). Abreviatura dos periódicos em conformidade com o "Word List of Scientific Periodicals".

COTRAN, R.S.; KUMAR, V.; ROBBINS, S.L. **Robbins:** Patologia estrutural e funcional. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, cap. 6, p.152-212, 1996.

DAMANTE, J.H. & CARVALHO, P.V. Contribuição à interpretaçào radiográfica de lesões ósseas produzidas experimentalmente em mandíbulas secas (Parte I). **Revta. Odont. Univ. S Paulo**, São Paulo, v.2, n.3, p.131-138, 1988.

De DEUS, Q.D. **Endodontia**. 5. ed. Rio de Janeiro: MEDSI, cap. 6, p.155-188, 1992.

FOUAD, A., WALTON, R., RITTMAN, B.R. Induced periapical lesions in ferret canines: histologic and radiographic evaluation. **Endod. dent. traumat.**, Copenhagen, v.8, n.1, p.56-62, 1992.

FUKUSHIMA, H. et al. Localization and identification of root canal bacteria in clinically asymptomatic periapical pathosis. **J. Endod.**, Baltimore, v.16, n.11, p.534-538, nov. 1990.

GOMES, B.P.F.A.; DRUCKER, D.B.; LILLEY, J.D. Association of specific bacteria with some endodontic signs and symptoms. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.27, n.6, p.291-298, 1994.

GOMES, B.P.F.A. An investigation into the root canal microflora. Manchester, 1995. (**Thesis of Doctor of Philosohy** – UDHM, UK).

GOMES, B.P.F.A.; LILLEY, J.D; DRUCKER, D.B. Clinical significance of dental root canal microflora. **J. Dent.**, Oxford, v.24, n.1-2, p.47-55, 1996.

GRAVENMADE, E.J. Some biochemical considerations of fixation in endodontics. **J. Endod.**, Baltimore, v.1, n.7, p.233-237, 1975.

HOLLAND, R. et al. A histological study of the effect of calcium hidroxyde in the treatment of pulpless teeth of dogs. **J. Br. Endod. Soc.**, London, v.12, n.1, p.15-23, 1979a.

HOLLAND, R. et al. Root canal tratment with calcium hidroxyde. I. Effect of overfilling and refilling. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.47, n.1, p.87-92, 1979b.

HOLLAND, R. et al. Root canal treatment with calcium hidroxyde. II. Effect of overfilling and refilling. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.47, n.1, p.93-96, 1979c.

HOLLAND, R.; SOARES, I.J.; SOARES, I.M. Influence of irrigation and intracanal dressing on the healing process of dogs teeth with apical periodontitis. **Endod. dent. traumat.**, Copenhagen, v.8, p.223-229, 1992.

ISERMANN, G.T. & KAMINSKI, E.J. Pulpal response to bacteria in the dog. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.48, n.4., p.353-357, oct. 1979.

JAWETZ, E., MELNICK, J.L., ADELBERG, E.A. Estrutura da célula. In:_____**Microbiologia Médica**. ed. 15, Rio de Janeiro: Guanabara, p.6-27, 1988.

KAKEHASHI, S.; STANLEY, H.R.; FITZGERALD, R.J. The effects of surgical exposures of dental pulps in germ-free and conventional laboratory rats. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.20, n.3, p.340-349, sep. 1965.

KEUDELL, K. et al. Microorganisms isolated from pulp chambers. **J. Endod.**, Baltimore, v.2, n.5, p.146-148, may 1976.

KITAMURA, K. et al. Gingival overgrowth induced by cyclosporin A in rats. **Archs oral Biol.**, Oxford, v.35, n.6, p.483-486, 1990.

LIN, L.M. et al. Clinical, radiographic, and histologic study of endodontic treatment failures. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.71, n.5,p.603-611, may 1991.

LIN, L.M., SKRIBNER, J.E., GAENGLER, P. Factors associated with endodontic treatment failures. **J. Endod.**, Baltimore, v.18, n.12, p.625-627, dec. 1992.

LOPES, M. A. et al. Pulp lesions in normal and cyclosporin A treated rats. **J. Endod.**, Baltimore, v.23, n.1, p.52-3, jan. 1997.

MADDOX, D.L.; WALTON, R.E.; DAVIS, C.O. Incidence of posttreatment endodontic pain related to medicaments and other factors. **J. Endod.**, Baltimore, v.3. n.12, p.447-452, 1977.

MALOOLEY, J,Jr.; PATTERSON, S.S.; KAFRAWY, A. Response of periapical pathosis to endodontic treatment in monkeys. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.47, n.6, p.545-554, jun. 1979.

MATSUMIA, S. & KITAMURA, H. Histo-pathological and histo-bacteriological studies of the relation between the condition of sterilisation of the interior of the interior of the root canal and the healing process of periradicular tissues in experimentally infected root canal treatment. **Bull. Tokyo dent. Coll.**, Tokyo, v.1,n.1, p.1-40, oct. 1960.

McCORMICK, J.E.; WEINE, F.S.; MAGGIO, J.D. Tissue pH of developing periapical lesions in dogs. **J. Endod.**, Baltimore, v.9, n.2, p.47-51, feb. 1983.

MORSE, A. Formic acid-sodium citrate decalcification and butyl alcoholdehydration of teeth and bones for sectioning in paraffin. **J. dent. Res.**, Washington, v.24, n.3-4, 143-153, 1945.

NAGAOKA, S. et al. Bacterial invasion into dentinal tubules of human vital and nonvital teeth. **J. Endod.**, Baltimore, v.21, n.2, p.70-73, 1995.

NAIR, P.N.R. et al. Intraradicular bacteria and fungi in root-filled, asymptomatic human teeth with therapy-resistant periapical lesions: a long-term light and electron microscopic follow-up study. **J. Endod.**, Baltimore, v.16, n.12, p.580-588, dec., 1990.

NUSSENBLATT, R. & PALESTINE, A.G. Cyclosporine: immunology, pharmacology and therapeutic uses. **Surv. Ophthal.**, Baltimore, v.31, n.3, p.159-169, nov. 1986.

PATERSON, R.C. & WATTS, A. Pulp response to and cariogenicity of a strain of *Streptococcus mutans*. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.22, n.3, p.1-8, 1987.

PETERS, L.B. WESSELINK, P.R., MOORER, W.R. The fate and the role of bacteria left in root dentinal tubules. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.28, n.2 p.95-99, 1995.

PISANTY, S. et al.. Prolonged systemic administration of cyclosporin A affects gingival epithelium. **J. Periodont.**, Chicago, v.61, n.2, p.131-138, feb. 1990.

PITT FORD, T.R. The effects on the periapical tissues of bacterial contamination of the filled root canal. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.15p.16-22, 1982.

PITT FORD, T.R. Relation between seal of root fillings and tissue response. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.55, n.3, n.1, p.291-294, mar. 1983.

PLATZ, K.P. et al. R.S.- 61443: a new potent immunosuppressive agent **Transplantation**, Baltimore, v.51, n.1, p.27-31, 1991.

ROWE, A. H. R. & BINNIE, W.H. Correlation between radiological and histological inflammatory changes following root canal treatment. **J. Br. Endod. Soc.**, London, v.7, n.1, p.57-63, 1974.

SALLAY, K. et al. Alveolar bone destruction in the immunosuppressed rat. **J. periodont.**, Copenhagen, v.17, p.263-274, 1982.

SCHONFELD, S.E. et al.. Endotoxic activity in periapical lesions. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.53, n.1, p.82-87, jan. 1982.

SCULLY, C. et al. Oral manifestations of HIV infection and their management. I. More common lesions. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.71, n.2, p.158-166, feb. 1991.

SEIBEL, W. et al. Cyclosporine-induced gingival overgrowth in beagle dogs. **J. oral Path. Med.**, Copenhagen, v.18, n.4, p.240-245, 1989.

SELTZER, S. et al. A histological evaluation of periradicular repair following positive and negative root canal cultures. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.17, n.4, p.507-32, apr. 1964.

SELTZER, S. et al. Endodontic failures – An analysis based on clinical, roentgenographic, and histologic findings. Part I. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.23, n.4, p.500-516, apr. 1967a.

SELTZER, S. et al. Endodontic failures – An analysis based on clinical, roentgenographic, and histologic findings. Part II. . **Oral Surg.**, Saint Louis, v.23, n.4, p. 517-529, apr. 1967b.

SHOVELTON, D.S. The presence and distribution of micro-organisms within non-vital teeth. **Br. dent. J.**, London, v.117, n.3, p.101-107, aug. 1964.

SINAI, I. et al. Biologic aspects of endodontics. Part II. Periapical tissue reactions to pulp extirpation. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.23, n.5, p.664-679, may 1967.

SOUZA FILHO, F.J.; BENATTI, O.; ALMEIDA, O.P. Influence of the enlargement of the apical foramen in periapical repair of contaminated teeth of dog. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.64, n.4, p.480-484, 1987.

STASHENKO, P. Immunological aspects of pulpal infection. In:_____Slots, J. & Taubman, M.S. **Contemporary Oral Microbiology and Immunology**, ed.1, p.555-560. St. Louis, 1992.

STASHENKO, P. et al. Pathogenesis of induced rat periapical lesions. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.78, n.4, p.494-502, oct. 1994.

STORMS, J.L. Factors that influence the success of endodontic treatment. **J. Can. dent. Ass.**, Ottawa, v.35, n.2, p.83-97, 1969.

SUNDQVIST, G. Taxonomy, ecology, and pathogenicity of the root canal flora. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.78, n.4, p.522-530, oct. 1994.

TAGGER, M. & MASSLER, M. Periapical tissue reactions after pulp exposure in rat molars. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.39, n.2, p.304-317, feb. 1975.

TANI-ISHII, N. et al. Effect of T-cell deficiency on the formation of perirradicular lesions in mice: histological comparison between perirradicular lesion formation in BALB/c and BALB/c nu/nu mice. **J. Endod.**, Baltimore, v.21, n.4, p. 195-199, apr. 1995.

TEIXEIRA, F.B. Análise comparativa do desenvolvimento de lesões periapicais em ratos normais, xerostômicos e xerostômicos-imunossuprimidos. Piracicaba, 1997 (**Tese de Mestrado** – Faculdade de Odontologia de Piracicaba UNICAMP - SP)

THOMAS, S.E. & GORDON, D.S. Cyclosporine. **Sth. med. J.**, La Grange, p.205-214, 1986.

TORABINEJAD, M., EBY, W.C., NAIDORF, I.J. Inflammatory and Immunological aspects of the pathogenesis of human periapical lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v.11, n.11, p.479-488, nov. 1985.

TRONSTAD, L. et al. Extraradicular endodontic infections. **Endodon. dent. traumat.**, Copenhagen, v.3., n.2, p.86-90, 1987.

WALLSTROM, J.B. et al. Role of T cells in the pathogenesis of periapical lesions. A preliminary report. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.76, n.2, p.213-218, aug. 1993.

WANG, C-Y. & STASHENKO, P. Characterization of bone-resorbing activity in human periapical lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v.19, n.3, p.107-111, mar. 1993.

WASSEF, F.R., COHEN, Z., LANGER, B. Pharmacokinetic profiles of cyclosporine in rats. **Transplantation**, Baltimore, v.40, n.5, p.489-493, 1985.

WATERMAN, P.A. Jr. et al. Development of periradicular lesions in immunosuppressed rats. **Oral Surg.**, Saint Louis, v.85, n.6, p.720-725, jun. 1998.

WATTS, A. & PATTERSON, R.C. Detection of bacteria in histological sections of the dental pulp. **Int. Endod. J.**, Oxford, v.23, p.1-12, 1990.

WAYMAN, B.E. et al. A bacteriological and histolological evaluation of 58 periapical lesions. **J. Endod.**, Baltimore, v.18, n.4, p.152-155, apr.1992.

WISKOTT, E. Sandimmun – The prototype of a new generation of immunosuppressive agents. **Int. Sandoz Gazette**, v.45, 1983.

YAMASAKI, M. et al. Pulpal and periapical tissue rections after experimental pulpal exposure in rats. **J. Endod.**, Baltimore, v.20, n.1, p.13-17, jan. 1994.

YOSHIDA, M. et al. Correlation between clinical symptoms and microorganisms isolated from root canals of teeth with periapical pathosis. **J. Endod.**, Baltimore, v.13, n.1, p.2428, jan. 1987.