

EUGÊNIO JOSÉ PEREIRA LAGES

**ANÁLISE COMPARATIVA DO TECIDO
GENGIVAL DE RATOS EM USO DOS
IMUNOSSUPRESSORES CICLOSPORINA E
TACROLIMUS**



**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
BELO HORIZONTE – MINAS GERAIS
2001**

EUGÊNIO JOSÉ PEREIRA LAGES

**ANÁLISE COMPARATIVA DO TECIDO GENGIVAL DE RATOS
EM USO DOS IMUNOSSUPRESSORES CICLOSPORINA E
TACROLIMUS**

Dissertação apresentada ao Colegiado de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial à obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Área de concentração: Periodontia

Orientador: Prof. Fernando de Oliveira Costa
Co-Orientador: Prof. José Eustáquio da Costa

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
BELO HORIZONTE – MINAS GERAIS
2001**

Dissertação defendida e aprovada em ---/----/2001, pela banca
examinadora constituída pelos professores:

Παρα Βετη, Λυζα ε Λΐωια,
πελο ινχεντιωο ε αποιο χονσταντες.
ζοχ| σ ιλυμιναμ μευσ χαμινηοσ χομ αφε
το ε δεδιχα| ©ο εμ προλ δο μευ χρεσχιμε
ντο πεσσοαλ ε προφισσιοναλ.

Αος μευς παισ,
πελος σαχριφί χιος θυε περιτιραμ μιν
ηα εδυχα| ©ο.

Αο Σρ. Φρανχισχο ε Δ. Μαρια δο Χαρμ
ο,
πελο αποιο χονσταντε δυραντε εσσα φο
ρναδα.

AGRADECIMENTO ESPECIAL

Ao amigo **Fernando de Oliveira Costa**,
pela amizade, confiança, paciência, incentivo e dedicação,
meus sinceros agradecimentos

À sua esposa Rosilene e filhos Guilherme e Lucas pelo
privilégio da convivência.

Ao Professor José Eustáquio da Costa,
pela confiança, amizade e exemplo de dedicação.

AGRADECIMENTOS

Ao Professor Ricardo Santiago Gómez,
pela acolhida, apoio e incentivo para a realização desta pesquisa.

Ao Professor Marcelo Eustáquio da Silva,
pela valiosa e indispensável contribuição durante
a execução da metodologia deste trabalho.

Prof. Jacques Robert Nicoli,
pela acolhida e incentivo à pesquisa.

Ao Dr. Aginaldo Soares Lima e
Dra. Lucimar Gonçalves de Sousa,
pelo apoio técnico na realização do estudo.

Às farmacêuticas Cláudia Madalena Braga e
Silva e Eliete Maria Quintão Santos,
pela boa vontade e auxílio constante.

À minha irmã Flávia Lages,
pelo carinho, atenção e ajuda nesta conquista.

Ao Colegiado do Curso de Pós-Graduação da FOUFMG, pela acolhida.

A todos os colegas do curso de mestrado, em especial à Wanessa Cury,
por transformar esta etapa em um agradável convívio.

À Wanessa e Sílvia,
secretárias do Colegiado do Curso de Pós-Graduação, pela boa vontade e
atenção.

Às minhas secretárias Marilda e Cristiane
pela dedicação e ajuda na minha clínica privada.

Σερρας θυε σε π©ο σαινδο, παρα δεσταπαρ ουτρα
σ σερρας.
Τεμ δε τοδασ ασ χοισασ. ριπενδο σε απρενδε; μας ο
θυε σε απρενδε, μαισ, Γ σ Γ α φαζερ ουτρασ μαιορες
περγυντας.

GUIMARÃES ROSA,
GRANDE SERTÃO: VEREDAS

SUMÁRIO

	LISTA DE FIGURAS	
	LISTA DE TABELAS	
	LISTA DE GRÁFICOS	
	LISTA DE ABREVIATURAS	
	RESUMO	
1.	INTRODUÇÃO	18
2.	OBJETIVO	21
2.1	Objetivo específico	21
3.	REVISÃO DA LITERATURA	23
3.1	Ciclosporina	23
3.1.1	Definição	23
3.1.2	Farmacocinética	24
3.1.3	Farmacodinâmica	25
3.1.4	Ciclosporina e alterações periodontais	25
3.1.5	Estudo de prevalência	29
3.1.6	Estudo em modelo animal	30
3.2	Tacrolimus	34
3.2.1	Definição	34
3.2.2	Farmacocinética	39
3.2.3	Farmacodinâmica	40
3.2.4	Crescimento gengival e tacrolimus	41
4.	METODOLOGIA	45
4.1	Animais	45

4.2	Desenho experimental.....	45
4.3	Monitoramentos dos ratos	46
4.4	Fracionamento e administração das drogas.....	47
4.4.1	Fracionamento da ciclosporina e tacrolimus	47
4.4.2	Administração das drogas.....	48
4.5	Exame clínico dos tecidos gengivais	48
4.5.1	Alterações morfológicas	48
4.5.2	Alterações de coloração.....	51
4.6	Preparação do material para exame histológico.....	52
4.7	Análise estatística.....	52
4.7.1	Análise de concordância	52
4.7.2	Análise dos dados coletados.....	53
4.8	Colaboração e suporte laboratorial.....	53
5.	RESULTADOS.....	55
5.1	Concordância intra-examinador.....	55
5.2	Peso médio e dose utilizada de 12/12 horas durante o experimento.....	56
5.3	Medidas da junção mucogengival à incisal (JMG-I).....	57
5.4	Diferença entre a medida da junção mucogengival à incisal (JMG-I) e da margem gengival à incisal (MG-I)	59
5.5	Alterações de coloração dos tecidos gengivais	63
5.6	Remissão das alterações gengivais	64
6.	DISCUSSÃO	66
7.	CONCLUSÕES	70
8.	SUMMARY.....	72
9.	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	74
10.	ANEXOS	83

LISTA DE TABELAS

1.	Estudos de prevalência do crescimento gengival associado ao uso de CsA	29
2.	Subdivisão dos animais de acordo com a dosagem da droga	46
3.	Comparação entre as duas medidas realizadas pelo mesmo examinador no que se refere à medida da junção mucogengival à incisal (JMG-I)	55
4.	Comparação entre as duas medidas realizadas pelo mesmo examinador no que se refere à medida da margem gengival à incisal (MG-I)	55
5.	Peso médio apresentado pelos animais	56
6.	Medidas de tendência central (média com desvio padrão) da junção mucogengival à incisal (JMG – I)	58
7.	Medidas de tendência central (média com desvio padrão) para diferença entre a medida da distância da junção mucogengival / incisal e da distância da margem gengival / incisal.....	60
8.	Avaliação do efeito das drogas e do tempo na diferença entre a medida da distância da junção mucogengival / incisal e da distância da margem gengival / incisal	60

LISTA DE FIGURAS

1.	Desenho esquemático lateral de incisivo inferior de rato	49
2.	Desenho esquemático frontal de incisivo inferior de rato	49
3.	Vista fotográfica de incisivo inferior de rato.....	50
4.	Vista fotográfica da medição da margem gengival à incisal do incisivo inferior esquerdo de rato.....	51
5.	Grupo controle - ausência de crescimento.....	62
6.	Crescimento gengival em animal do grupo Cs2.....	62

LISTA DE GRÁFICOS

1.	Caracterização dos ratos quanto ao peso corporal em todo o período de acompanhamento considerando-se o grupo.....	57
2.	Medidas da distância da junção mucogengival à incisal, considerando-se o grupo e a época da avaliação.....	59
3.	Diferença entre as medidas da JMG-I e MG-I dos grupos no exame base e segundo exame.....	61
4.	Alterações de cor no segundo exame, considerando-se os grupos.....	63

LISTA DE ABREVIATURAS

Cs1	Grupo ciclosporina 1
Cs2	Grupo ciclosporina 2
CsA	Ciclosporina
EB	Exame base
Gc	Grupo controle
JMG-I	Junção mucogengival à incisal
mg/kg	Miligrama / quilograma
mg/ml	Miligrama / mililitro
MG-I	Margem gengival à incisal
ng/ml	nanograma / mililitro
SE	Segundo exame
Tc	Tacrolimus
Tc1	Grupo tacrolimus 1
Tc2	Grupo tacrolimus 2
TGF-B	Fator B de transformação do crescimento
UNICAMP	Universidade Estadual de Campinas

RESUMO

A proposta deste estudo experimental foi avaliar e comparar as possíveis alterações morfológicas dos tecidos gengivais em ratos, sob administração dos imunossupressores, ciclosporina e tacrolimus. Essa pesquisa foi motivada pela alta prevalência de crescimento gengival associado ao uso de ciclosporina, que pode acarretar alterações estéticas, fonéticas, funcionais e pelos relatos de casos clínicos que demonstraram redução significativa do crescimento gengival após a substituição da ciclosporina pelo tacrolimus. A amostra constou de 50 ratos Sprague Dawley, machos, com quatro a seis semanas de vida com peso médio entre 165 a 225 gramas. Os animais foram divididos em três grupos e receberam, durante 54 dias, por via oral, doses terapêuticas e doses superiores à terapêutica com a finalidade de exacerbar as possíveis alterações adversas. Os animais foram selecionados e divididos homogeneamente em grupos, de acordo com o peso. Após a seleção dos animais, três grupos foram estabelecidos. O grupo controle (Gc), com 10 animais, recebeu medicamento placebo (água destilada). O grupo ciclosporina (Cs), com 20 animais, foi subdividido em dois sub-grupos de 10 animais que receberam 10mg/kg/dia (Cs1) e 30mg/kg/dia (Cs2) de ciclosporina. O grupo tacrolimus (Tc), também com 20 animais, foi subdividido em dois sub-grupos de 10 animais e receberam 3,2mg/kg/dia (Tc1) e 6,4mg/kg/dia (Tc2) de tacrolimus. Os resultados mostraram que a ciclosporina induziu crescimento gengival nos grupos tratados com esse medicamento. A gravidade do crescimento gengival foi maior no grupo de animais que recebeu ciclosporina em dose superior à terapêutica (Cs2) do que no grupo que recebeu a dose terapêutica (Cs1), mostrando uma relação positiva entre dose e gravidade do crescimento gengival. O grupo de animais que recebeu tacrolimus não apresentou nenhuma alteração

morfológica nos tecidos gengivais, apresentando apenas alteração na cor dos tecidos. As evidências dessa pesquisa mostram que o tacrolimus pode ser uma importante opção para prevenção das alterações periodontais nos indivíduos que apresentam grave crescimento gengival.

1 INTRODUÇÃO

As relações entre alterações clínicas e histológicas dos tecidos gengivais decorrentes da terapia com drogas como imunossupressores, anti-convulsivantes e bloqueadores de cálcio estão bem documentadas na literatura (SEYMOUR et al., 1993; SEYMOUR et al., 1996; NISHIKAWA et al., 1996).

A primeira associação entre crescimento gengival e a terapia com drogas foi descrita por KIMBALL (1939). Nesse relato de caso, o medicamento utilizado foi o difenil hidantoinato, num tratamento de epilepsia. A indução do crescimento gengival associada ao tratamento de pacientes com órgãos transplantados em uso de ciclosporina foi relatada pela primeira vez, na década de 70, na literatura médica, por CALNE et al. (1979) e depois por STARZL et al. (1981). Posteriormente, na literatura odontológica, essas alterações foram confirmadas por RATEITSCHAK-PLUSS et al. (1983) e trabalhos experimentais em modelo animal também confirmaram essa associação (RYFFEL et al., 1983). Os primeiros casos de nifedipine induzindo crescimento gengival foram registrados por RAMON et al. (1984) e LEDERMAN et al. (1984).

Na década de oitenta a ciclosporina passou a ser incluída na maioria dos regimes de imunossupressão devido aos sucessos obtidos nos transplantes de órgãos. Com o seu uso, uma alta prevalência de crescimento gengival vem sendo registrada, podendo esse crescimento acarretar alterações estéticas, fonéticas e funcionais (TYLDESLEY & ROTTER, 1984; DALEY et al., 1986; SEYMOUR & HERASMAN, 1992; BUSUTIL et al., 1994).

Apesar dos avanços obtidos com a introdução da ciclosporina em 1978, o problema de rejeição crônica irreversível ainda persiste. Um novo imunossupressor, denominado tacrolimus, surge em 1989 com a promessa de superar algumas limitações na terapia com ciclosporina e atenuar algumas alterações adversas, dentre elas e de especial interesse para o nosso trabalho, o crescimento gengival (BUSUTIL et al., 1994; NEUHAUS et al., 1995;

WILLIAMS et al., 1996; MAYER et al., 1997; SPENCER et al., 1997; BADER et al., 1998; VAN HOOFF & CHRISTIAANS, 1999; PLOSKER & FOSTER, 2000).

Na literatura consultada não foi encontrado nenhum estudo comparando o uso dessas duas drogas e sua influência nos tecidos gengivais. Observaram-se apenas relatos de casos clínicos em humanos que demonstraram redução significativa do crescimento gengival após substituição da ciclosporina pelo tacrolimus (WILLIAMS et al., 1996; BADER et al., 1998; KOHNLE et al., 1998; VAN HOOFF & CHRISTIAANS, 1999; JAMES et al., 2000).

A partir dessa premissa, este estudo propõe uma investigação comparativa da administração da ciclosporina e do tacrolimus em modelo animal (ratos), em relação à presença e gravidade do crescimento gengival, buscando uma melhor compreensão das possíveis alterações e das prováveis diferenças na gravidade do crescimento gengival, almejando um maior respaldo científico para discutir, junto à comunidade médica, a possível substituição dos medicamentos imunossupressores em indivíduos com crescimento gengival grave.

2 OBJETIVO

A presente pesquisa objetiva determinar o comportamento do tecido gengival de ratos em uso das drogas imunossupressoras - ciclosporina e tacrolimus.

2.1 Objetivo específico

- a. Determinar, em modelo animal, a presença ou ausência de crescimento gengival após a administração de ciclosporina e tacrolimus;
- b. comparar, clinicamente, em diferente nível de dosagem de ciclosporina e tacrolimus, a gravidade das alterações gengivais em ratos.

3 REVISÃO DA LITERATURA

3.1 Ciclosporina

3.1.1 Definição

A ciclosporina, inicialmente denominada ciclosporina A (CsA), foi desenvolvida na Suíça. É um endcapeptídeo cíclico, hidrofóbico, lipofílico, originado da fermentação de duas espécies de fungos: *Trichoderma polysporum* e *Cylindrocarpon lucidum* (WYSOCKI et al., 1983; ROSS et al., 1989).

Sua atividade antimicrobiana é fraca, mas investigações mostraram a sua capacidade em inibir a proliferação de linfócitos, induzindo a um tipo de imunossupressão seletiva (BOREAL et al., 1976). Desde a descoberta das propriedades imunossupressoras da CsA, muitos estudos têm mostrado que a droga tem uma ação seletiva sobre os linfócitos T, e uma pequena ação sobre a resposta humoral, os linfócitos B, ocorrendo assim uma rápida expansão de seu uso no tratamento de desordens imunológicas (BUTTON & PALACIOS, 1982).

Com o sucesso obtido com o uso da CsA na prevenção da rejeição nos transplantes de órgãos, a maioria dos regimes imunossupressores na década de 80 passou a utilizar essa droga. Assim, este potente imunossupressor tem sido utilizado, com sucesso, tanto na prevenção da rejeição de transplantes de órgãos quanto no tratamento de várias desordens auto-imunes: diabetes tipo 1, artrite reumatóide, lesões dermatológicas, cirrose biliar primária e síndrome de imunodeficiência humana adquirida (HASSEL & HEFTI, 1991; SEYMOUR & SMITH, 1991; FISCHER & KLINGE, 1994; WILSON et al., 1998; JAMES et al., 1998).

Os pioneiros na terapia com ciclosporina em transplantes humanos observaram que a CsA age como um potente imunossupressor e tem sido usada com

eficácia nos procedimentos aloplásticos, elevando em cinco anos o nível de sucesso dos transplantes de órgãos sólidos e de medula óssea em 96% dos casos (CALNE et al.,1979; STARZL et al., 1981; WILLIAMSON et al., 1994).

O sucesso, obtido com a CsA como imunossupressor em uma ampla variedade de doenças sistêmicas, permite estimar que um bilhão de pessoas em todo o mundo utilizaram CsA em regime crônico na década de 90 (NARES et al., 1996).

3.1.2 Farmacocinética

De acordo com DALEY & WYSOCKI (1984), a administração de ciclosporina pode ser realizada de duas formas: oral e parenteral. Seu metabolismo ocorre no fígado e a maior parte dos metabólitos (90%) é excretada pela via biliar, através das fezes e 10% pelos rins (SEYMOUR & JACOBS, 1992), e menos de 0,1% é excretado na forma natural (BUTTON & PALACIOS, 1984).

A dose oral terapêutica de ciclosporina varia de 10 a 20mg/kg/dia, resultando em concentrações sorológicas ideais de 100 a 400ng/ml e sua meia vida metabólica é de aproximadamente quatro horas (DALEY & WYSOCKI, 1984; SEYMOUR & JACOBS, 1992). A dose oral requerida para manter esses níveis plasmáticos é variável de indivíduo para indivíduo, devido à variação pessoal na absorção no nível do trato gastrointestinal. Normalmente atinge o nível de concentração plasmática de três a quatro horas após a administração, com os níveis séricos retornando ao normal em doze horas.

Como a ciclosporina é lipofílica, pode ocorrer deposição dessa droga no fígado, pulmão, baço, linfonodos e tecido adiposo e sua redistribuição ocorre de forma lenta para o sangue. Portanto, baixas concentrações sorológicas desse medicamento foram encontradas após cessar terapia prolongada (DALEY & WYSOCKI, 1984).

3.1.3 Farmacodinâmica

A efetividade da ciclosporina ocorre devido à inibição específica e reversível de linfócitos imunocompetentes. O efeito parece ser maior nas células T auxiliares em relação às células T supressoras, resultando em um desequilíbrio em favor da ação imunossupressora (LAUPACIS et al., 1983).

A ciclosporina tem ação imunossupressora seletiva sobre subpopulações específicas dos linfócitos T, interferindo na população de linfocinas e interleucinas 1 e 2 (BUTTON & PALACIOS, 1982).

Uma das vantagens do uso da ciclosporina é o pouco ou nenhum efeito sobre o sistema de células B do indivíduo, fato de extrema importância. A dose de ciclosporina suficiente para suprimir a função das células T tem pouco ou nenhum efeito sobre o sistemas de células B, o que torna o indivíduo apenas parcialmente imunossuprimido. Sua resposta imune humoral é preservada (DALEY & WYSOCKI, 1984).

A ação imunossupressora da ciclosporina não deprime a hematopoese e não tem nenhum efeito sobre a função das células fagocitárias (HESS & COLOMBANI, 1987; FAULDS et al., 1993). Entretanto uma revisão de literatura realizada por BENNETT & CHRISTIAN (1985) mostrou que a depressão da medula óssea ocorre em 2% das terapias com ciclosporina.

3.1.4 Ciclosporina e alterações periodontais

Está bem estabelecido na literatura que pode ocorrer crescimento gengival em indivíduos em uso de CsA, após transplantes de órgãos (TYLDESLEY & ROTTER, 1984; DALEY et al., 1986; SEYMOUR & HERASMAN, 1992).

Estudos realizados por PALESTINE et al. (1984) mostraram que o crescimento gengival, associado ao uso de ciclosporina, independe da condição sistêmica para o qual o medicamento é indicado.

Variáveis como idade, dose, nível sérico de CsA e placa bacteriana têm sido relatadas como co-fatores na prevalência e gravidade do crescimento gengival. Alguns estudos têm demonstrado que alterações periodontais preexistentes e irritantes locais podem, também, influenciar na gravidade do crescimento gengival (RATEITSCHAK-PLUS et al., 1983; WYSOCKI et al., 1983; SEYMOUR & SMITH, 1991; THOMASON et al., 1993; SEYMOUR et al., 1993; ADAMS & DAVIES, 1994; SOMACARRERA et al., 1994; SEYMOUR et al., 1996; CEBECI et al., 1996a), sugerindo que o controle de placa, educação e orientação dos indivíduos quanto à higiene bucal pode prevenir ou minimizar o crescimento gengival.

Entretanto, outros trabalhos mostraram que o índice de higiene bucal teve efeito limitado para prevenir as alterações da CsA sobre os tecidos periodontais, refutando a hipótese de que o crescimento gengival associado a drogas possa ser desencadeado por uma má higiene bucal (SEYMOUR et al., 1987; SEYMOUR & SMITH, 1991; HEFTI et al., 1994; VARGA et al., 1998; SPRATT et al., 1999). Para esses autores um bom controle de placa pode influenciar na gravidade do crescimento gengival, mas não impedi-lo. De acordo ROSTOCK et al. (1986), uma interação entre fatores locais (placa bacteriana e cálculo) e concentração plasmática da droga é necessária para que o mecanismo de crescimento gengival seja desencadeado.

De acordo com alguns pesquisadores, o grau de crescimento gengival em pacientes transplantados renais é influenciado pela dosagem de uma droga individual ou por terapia com múltiplas drogas, independente da presença local de fatores irritantes (SEYMOUR et al., 1987; ADAMS & DAVIES, 1994; HEFTI et al., 1994; VARGA et al., 1998; WILSON et al., 1998; SPRATT et al. 1999).

De acordo com MARGIOTTA et al. (1996), 60% dos transplantados que usam CsA provavelmente usarão bloqueadores de cálcio (nifedipine, oxidipina, diltiazem e verapamil), devido a alterações cardiovasculares (hipertensão). Essa associação medicamentosa potencializa o crescimento gengival, aumentando a sua prevalência e gravidade (KING et al., 1993; BÖKENKAMP et al., 1994; MARGIOTA et al., 1996; SPRATT et al., 1999; THOMAS et al., 2000).

Além disso, outros pesquisadores acreditam ser controversa a hipótese de que a concentração plasmática de ciclosporina pode influenciar a indução do crescimento gengival (ROSTOCK et al., 1986; SEYMOUR & JACOBS, 1992; FU et al., 1995; CEBECI et al., 1996a; DODD, 1997; BADER et al., 1998; AGUIAR, 2001).

HEFTI et al. (1994) sugerem que pacientes em tratamento com CsA em baixas concentrações podem não apresentar nenhuma alteração nos tecidos periodontais, enquanto que, em concentrações maiores que 400mg/ml, parece ocorrer um maior estímulo à proliferação celular, induzindo o crescimento gengival. Contraditoriamente, estudos como o de FU et al. (1995) e BADER et al. (1998) não mostraram uma correlação positiva entre concentração de CsA e crescimento gengival. Essas observações conflitantes suportam a tese de que o paradigma de especificidade e sensibilidade são importantes, mostrando que, em determinados indivíduos, os fibroblastos gengivais podem ser sensíveis, mesmo em baixas concentrações de CsA.

A gravidade do crescimento gengival induzido pelo uso de CsA chega, em determinados indivíduos, a interferir na oclusão, fonética e mastigação (BENNETT & CHRISTIAN, 1985; SOMACARRERA et al., 1994; MORISAKI et al., 1997).

Mesmo após o tratamento preventivo e cirúrgico, quando são instituídas medidas de controle de placa por métodos mecânicos, químicos, orientação e

educação do paciente, observou-se redução na gravidade do crescimento gengival, mas essas medidas não impediram a ocorrência de recidiva em pacientes susceptíveis (SEYMOUR & SMITH, 1991; SEYMOUR et al., 1993; PILATTI & SAMPAIO, 1997; VARGA et al., 1998; SPRATT et al., 1999).

A alteração periodontal em humanos inicia-se, preferencialmente, na região da papila interdentária. Esse crescimento está restrito à largura da faixa de gengiva ceratinizada até o limite da junção mucogengival, sendo mais comum no segmento anterior, na face vestibular e na região mandibular (BENNETT & CHRISTIAN, 1985; SOMACARRERA et al., 1994; MORISAKI et al., 1997).

Estudos clínicos sugerem que crianças e adolescentes são, aparentemente, mais susceptíveis que os adultos ao crescimento gengival induzido por drogas (WYSOCKI et al., 1983; TYLDESLEY & ROTHER, 1984; DALEY et al., 1986; SOMACARRERA et al., 1994). De acordo com WILSON et al. (1998), a prevalência do crescimento gengival acomete mais adultos, aumentando com a idade. Porém, em adultos, a associação de drogas, como bloqueadores de cálcio, é muito maior do que em crianças e adolescentes, o que poderia justificar esses achados.

Relatos de casos apresentados por BENNETT & CHRISTIAN (1985) mostram que o crescimento gengival ocorreu a partir de oito semanas do início do uso da CsA. WYSOCKI et al. (1983); DELILIERS et al. (1986); SEYMOUR & SMITH, (1991); SEYMOUR & JACOBS (1992) relatam que o crescimento gengival, em pacientes susceptíveis, pode ser observado após 12 semanas de uso da droga. Nos estudos apresentados por RATEITSCHAK-PLUS et al. (1983) e HEFTI et al. (1994) o crescimento gengival ocorreu entre a quarta e sexta semanas.

3.1.5 Estudos de prevalência

Os efeitos adversos do crescimento gengival associado à CsA mostram uma prevalência bastante variável. A TAB. 1 mostra os principais achados dos estudos de prevalência do crescimento gengival correlacionando variáveis como amostra e idade.

TABELA 1

Estudos de prevalência do crescimento gengival associado ao uso de CsA

AUTORES	AMOSTRA (Nº DE PACIENTES)	IDADE	PREVALÊNCIA
LAUPACIS (1983)	142	Adultos	8,5%
WYSOCKI et al. (1983)	18	Adultos	33,3%
TYLDESLEY & ROTTER (1984)	36	15 e 68 anos	25%
DALEY et al. (1986)	100	Crianças e adultos	70%
ROSTOCK et al. (1986)	892	Crianças e adultos	3,49%
FRISKOPP & KLINTMALM (1986)	30	Adultos	81%
MCGAW et al. (1987)	30	Adultos	26,7%
SEYMOUR et al. (1987)	12	Adultos	33,3%
PERNU et al. (1992)	22	Adultos	77,3%
PERNU et al. (1993)	35	Adultos	28,6%
THOMASON et al. (1993)	55	Adultos	41,8%
SOMACARRERA et al. (1994)	100	Crianças e adultos	43%
HEFTI et al. (1994)	90 (40-Grupo teste 50-Grupo controle)	Adultos	17% p/ nível plasmático < 400 mg/ml 59% p/ nível plasmático > 400 mg/ml
BÖKENKAMP et al. (1994)	87	Adultos	84,6%
CEBECI et al. (1996a)	51	Adultos	47,1%
CEBECI et al. (1996b)	52	Adultos	50%

MARGIOTTA et al.(1996)	113	Adultos	37% - CsA 60% - CsA e Bloqueadores de Cálcio
VARGA et al. (1998)	94	Adultos	82,9%
WILSON et al. (1998)	207	147 com 19 a 89 anos 60 com 23 a 18 anos	48% nos pacientes adultos. 30% nos pacientes jovens.

Continua

TABELA 1 - Conclusão

AUTORES	AMOSTRA (Nº DE PACIENTES)	IDADE	PREVALÊNCIA
SPRATTH et al. (1999)	112 84-Grupo teste 36-Grupo controle	Adultos	49%
JAMES et al. (2000)	135	Adultos	47,9%
THOMAS et al. (2000)	236	Crianças	47,9%
AGUIAR (2001)	122	Adultos	83,9%

De acordo com MORISAKI et al. (1997), essa grande variação nas taxas de prevalência demonstra que o crescimento gengival, induzido pelo uso da CsA, não pode ser causado por um simples mecanismo, mas por uma condição mais complexa, que envolve múltiplos fatores ambientais, celulares e hereditários. Essas variáveis dificultam o entendimento de sua patogênese.

3.1.6 Estudos em modelo animal

Apesar de toda investigação científica, os mecanismos moleculares que envolvem a patogênese do crescimento gengival associado a drogas, ainda não estão claros (SEYMOUR et al., 1993; SUGANO et al., 1998; JAMES et al., 1998), assim, os estudos em modelo animal podem facilitar a compreensão do

crescimento gengival induzido por medicamentos. A grande vantagem desses estudos é a padronização das amostras, com controle de variáveis como idade, sexo, peso, dieta, dose e intervalo de ingestão do medicamento e o controle do componente infecção/inflamação. A desvantagem dessas pesquisas é o desconhecimento com relação às funções dos órgãos (HALLMON & ROSSMANN,1999).

Os primeiros estudos em animais, mostrando os efeitos da terapia com CsA nos tecidos gengivais, utilizando cães (15 a 45mg/kg/dia) e gatos (45 a 95mg/kg/dia) foram idealizados por RYFFEL et al. (1983). O crescimento gengival se manifestou em todos os animais, atribuindo-se uma relação causal do medicamento, pois com a interrupção da dieta experimental, as alterações regrediram espontaneamente.

SEIBEL et al. (1989) também estudaram o crescimento gengival em cães Beagle submetidos à ingestão diária de 30mg/kg/dia de CsA por 18 semanas. Em três semanas de terapia houve crescimento gengival em cinco dos 12 animais (41,67%), sobretudo na região mandibular anterior, tornando-se mais grave, em alguns casos, após a sexta semana. Uma observação interessante feita pelo autor foi de que, mesmo com a presença de irritantes locais nos dentes posteriores dos animais, o crescimento gengival só ocorreu na região mandibular anterior.

De acordo com MORISAKI et al. (1993), em animais, a idade é fator determinante, isto é, quanto mais jovens os animais mais susceptíveis são à ação da CsA nos tecidos gengivais. Utilizando 40 ratos Fischer com idade de 15, 30, 45 e 60 dias, o autor observou que o grupo mais jovem apresentou um crescimento gengival mais agressivo em relação aos demais grupos, sugerindo que tal alteração, em ratos, é idade dependente.

FU et al. (1995) avaliaram o efeito da dose da CsA na gravidade do crescimento gengival em 80 ratos, divididos em quatro grupos, que receberam

diariamente dose de 0 (controle), 3, 10, 30mg/kg/dia de CsA, durante seis semanas. O estudo mostrou que o crescimento gengival nos grupos de 10 e 30mg/kg/dia foi mais grave, demonstrando uma relação dose dependente.

NISHIKAWA et al. (1996) realizaram uma revisão de trabalhos experimentais em ratos, comparando a gravidade do crescimento gengival induzido por imunossupressores (CsA), anticonvulsivantes (fenitoína) e bloqueadores dos canais de cálcio (nifedipina) e concluíram que o crescimento é sempre mais agressivo na região vestibular e na mandíbula e que a suspensão da terapia resulta em regressão espontânea das alterações ocorridas. O acúmulo de placa não parece ser essencial para o início do processo, mas interfere na sua gravidade, sendo proporcional à concentração da droga, e os ratos mais jovens e machos são mais susceptíveis. Porém, os autores questionam porque essas drogas, com estruturas químicas tão diferentes e ação farmacológica distintas, induzem a alterações gengivais semelhantes.

Em modelo animal, o crescimento gengival ocorre 15 dias após o uso de CsA (FU et al., 1996; NIEH et al., 1996 e FU et al., 1997a) e com 21 dias (SEIBEL et al., 1989; FISCHER & KLINGE, 1994; PILATTI & SAMPAIO, 1997). Porém, SEIBEL et al. (1989) e NISHIKAWA et al. (1996) ressaltaram que o maior grau de crescimento gengival ocorreu a partir de 40 dias de administração de CsA.

Tem sido investigada, em ratos, a relação entre o tempo de administração e a concentração de CsA com o crescimento gengival. Observou-se uma significativa correlação entre nível sérico e o crescimento gengival, mostrando uma relação direta entre o tempo de administração e a concentração da droga com a gravidade desse crescimento gengival (FU et al., 1995; NISHIKAWA et al., 1996 e MORISAKI et al., 1997). Observou-se, também, uma forte relação entre a dosagem de CsA e o desenvolvimento dos animais. Todos os ratos que receberam uma concentração maior de CsA, tiveram menor ganho de peso em relação aos ratos do grupo controle e aos que receberam menor concentração de CsA (FU et al., 1995; MORISAKI et al., 1997).

FISCHER & KLINGE (1994) demonstraram, em ferrets, uma forte relação entre o uso de CsA, placa bacteriana, irritantes locais e a gravidade do crescimento gengival. Foram avaliadas as alterações clínicas e histológicas induzidas pela administração por via oral de 10mg/kg/dia de CsA e a sua relação com a progressão da doença periodontal induzida por ligaduras introduzidas no sulco gengival. No décimo quarto dia uma significativa alteração nos tecidos periodontais foi detectada nos dentes que receberam ligaduras, em comparação aos tecidos gengivais dos dentes controle (sem ligadura). No vigésimo oitavo dia era possível detectar, no grupo teste, um grave crescimento gengival que, em alguns casos, cobria toda a coroa do dente, enquanto que, no grupo controle, detectou-se apenas uma moderada alteração de volume dos tecidos gengivais.

FU et al. (1997b) avaliaram o papel da retenção da placa bacteriana sobre o crescimento gengival induzido por CsA, em ratos. Observaram que o crescimento gengival foi dose dependente e que, as alterações foram mais agressivas nas regiões onde o acúmulo de placa foi induzido. Concluíram que a placa bacteriana é um importante co-fator para o desenvolvimento das alterações gengivais.

Um trabalho experimental foi conduzido por PILATTI & SAMPAIO (1997), em ratos. Os animais foram divididos em grupos controle (G.1), 10mg/kg/dia de ciclosporina A (G.2), 0,12% de clorexidina tópica (G.3) e G.4 recebia 10mg/kg/dia de ciclosporina A e aplicação tópica de 0,12% de clorexidina. Após 21 dias, o G4 teve estatisticamente menor crescimento gengival que o G.2, enquanto que G.1 e G.3 não apresentaram alterações. Os resultados dos trabalhos experimentais de FISCHER & KLINGE (1994); FU et al. (1997b) e PILATTI & SAMPAIO (1997), reforçam as hipóteses de que o controle de placa, educação e orientação dos indivíduos quanto à higiene bucal podem prevenir ou minimizar o crescimento gengival associado ao uso de ciclosporina, mas não impedi-lo, sugerindo que o crescimento gengival associado à

ciclosporina não pode ser desencadeado apenas por uma precária higiene bucal (RATEITSCHARK-PLUS et al., 1983; WYSOCKI et al., 1983; SEYMOUR & SMITH, 1991 e ADAMS & DAVIES, 1994).

JIANG et al. (1999), comparando a eficácia da ciclosporina e do tacrolimus como imunossupressores em ratos que receberam transplante renal, encontraram uma dose de 3,2mg/kg/dia para tacrolimus e de 10mg/kg/dia para ciclosporina como dose terapêutica efetiva para a imunossupressão dos animais. Nesse experimento não foi encontrada diferença significativa na função renal entre os animais transplantados. Assim, com uma eficácia comprovada no prolongamento da sobrevida de aloenxertos hepáticos e renais em modelo animal, até mesmo quando administrado quatro a cinco dias após o transplante, o tacrolimus foi considerado como uma nova terapia para a prevenção e tratamento da rejeição de transplante de órgãos.

3.2 Tacrolimus

3.2.1 Definição

É um macrolide lactone produzido por fermentação. Seu ingrediente ativo foi inicialmente isolado a partir do caldo de cultura de um microorganismo do solo, encontrado em Tsukuba, Japão, em 1984 e, por isso, foi designado *Streptomyces Tsukubaensis*. O tacrolimus foi introduzido como droga imunossupressora em pesquisa, a partir de 1989, no Japão, e surge como promessa de superar algumas limitações da CsA (NEUHAUS et al., 1995).

Apesar dos avanços obtidos com a introdução da CsA em 1978, no regime imunossupressor de transplantes de órgãos e dos bons resultados clínicos em termos de sobrevida do transplante nos primeiros anos, ainda persiste o problema de rejeição crônica irreversível. O tacrolimus surge oferecendo novas esperanças na redução do índice de rejeição crônica em receptores de

transplantes de rim e fígado. Por controlar um primeiro episódio de rejeição aguda, o tacrolimus torna possível a redução de novas incidências de rejeição, aumentando, desse modo, as chances de sobrevivência dos transplantes e dos pacientes (BADER et al., 1998).

Estudos clínicos da Universidade de Pittsburg mostraram que o tacrolimus é uma droga efetiva e bem tolerada no tratamento de transplantes de fígado. Inicialmente, era indicada para resgate de terapias em pacientes com rejeição aguda refratária e em pacientes com intoxicação severa devido a tratamentos com imunossuppressores convencionais. Depois do grupo de Pittsburgh confirmar a eficiência do tacrolimus como imunossupressor, sua eficácia também foi confirmada pela experiência individual de vários centros de tratamento em todo o mundo (NEUHAUS et al., 1995).

Para confirmar esses resultados, vários estudos foram conduzidos na Europa, Estados Unidos e Japão. Estudos multicentros compararam a eficácia do tacrolimus e ciclosporina em regime de imunossupressão na prevenção da rejeição do transplante renal. Um total de 478 adultos e 51 crianças foram randomizados, formando grupos de 263 indivíduos que usaram tacrolimus e de 266 que usaram ciclosporina, os quais foram acompanhados por um ano. Observaram rejeição aguda em 154 transplantados do grupo tacrolimus e, em 173 indivíduos do grupo ciclosporina ($p < 0,002$). Observaram, também, que 43 indivíduos do grupo tacrolimus e 82 do grupo ciclosporina não necessitaram de tratamento com corticosteróides ($p < 0,001$) e que rejeição crônica recorrente (refratária) ocorreu em seis indivíduos do grupo tacrolimus e em 32 do grupo ciclosporina ($p < 0,001$). O tacrolimus foi associado a um maior índice de alterações adversas, sendo que 14% dos indivíduos do grupo tacrolimus e 5% do grupo ciclosporina foram excluídos do estudo devido a esses efeitos adversos ($p < 0,001$). Concluíram, portanto, que o grupo de tacrolimus foi associado, significativamente, a uma menor incidência de episódios de rejeição aguda, crônica e a uma menor utilização de corticosteróides, mas

substancialmente mais efeitos adversos foram registrados nesse grupo (BUSUTIL et al., 1994).

WILLIAMS et al. (1996) tentaram uma avaliação mais efetiva quanto à segurança da terapia com tacrolimus. Realizaram um estudo multicentro na Europa, durante dois anos, comparando o tacrolimus com a ciclosporina. Concluíram que houve uma menor prevalência da infecção aguda no grupo tacrolimus que no grupo de ciclosporina, com a porcentagem de 45,4% e 55,8%, respectivamente ($p=0,006$), menor prevalência da infecção refratária no grupo tacrolimus (1,2%) do que nos usuários de ciclosporina (6,4%) ($p<0,003$) e menor prevalência da rejeição crônica nos indivíduos que usaram tacrolimus (2%) que os usuários de ciclosporina (6,9%) ($p=0,015$). Índices de sobrevivência dos enxertos e pacientes foram também superiores no grupo tacrolimus, apesar desses números não demonstrarem significância estatística. Quanto aos efeitos adversos, hipertensão foi observada em 28% do grupo tacrolimus e em 39,6% do grupo ciclosporina ($p<0,01$), infecção por citomegalovírus em 14,8% do grupo tacrolimus e em 22,3% do grupo ciclosporina ($p<0,01$), hirsutismo não foi observado no grupo tacrolimus e visto em 8,7% do grupo ciclosporina ($p<0,01$) e hiperplasia gengival também não foi observada no grupo tacrolimus e verificada em 2,3% do grupo ciclosporina ($p<0,05$).

MAYER et al. (1997) realizaram uma comparação entre tacrolimus e ciclosporina como imunossuppressores em transplantes de rins. Um total de 448 transplantados renais foram recrutados de 15 diferentes centros de atendimentos em sete países europeus. Esses indivíduos foram submetidos ao sistema tríplice de tratamento, ou seja, utilizaram o tacrolimus ($n=303$) ou a ciclosporina ($n=145$) em associação com azatioprina e corticosteróide. Após um ano de uso da droga, o tacrolimus estava associado com significativa redução dos episódios de rejeição aguda (25%) e, nos indivíduos que usaram ciclosporina, os episódios ocorreram 45,7% ($p<0,001$). A redução do uso dos corticosteróides foi maior no grupo tacrolimus (11,3%) do que nos indivíduos do

grupo ciclosporina (21,6%) ($p < 0,001$). Alterações neurológicas, nefrológicas e gastrointestinais foram freqüentes em ambos os grupos. O grupo tratado com tacrolimus teve maior índice de hiperglicemia, *diabetes mellitus*, tremores e angina pectoris. O grupo tratado com ciclosporina teve maior índice de acne, arritmias, hipertensão, hirsutismo e hiperplasia gengival.

PRATSCHKE et al. (1997) acompanharam a substituição de ciclosporina por tacrolimus em 31 pacientes submetidos a transplante de fígado. A indicação para a substituição dos medicamentos foi devida a alterações nefrológicas em 19 pacientes, a hipertensão em nove pacientes e a distúrbios neurológicos em oito pacientes. Após três meses da troca, a resposta foi favorável em 26 pacientes (84%). Desses 31 pacientes, cinco (16%) continuaram com alterações nefrológicas, sendo que 13 dos 19 pacientes (68%) que sofriam de nefrotoxicidade tiveram seu nível de creatinina diminuído significativamente, enquanto que em seis dos 19 pacientes (32%) não foi observada nenhuma mudança. Terapia com anti-hipertensivo foi reduzida em seis dos nove pacientes, mas é importante salientar que dois desses pacientes já eram hipertensos antes dos transplantes. Em relação às desordens neurológicas, todos os pacientes tiveram melhora significativa. A média de triglicéride e colesterol também foi significativamente menor após os três meses ($p < 0,05$). Portanto, esses autores sugerem que a substituição de ciclosporina para tacrolimus pode se converter em benefício para a maioria dos pacientes.

De acordo com BUSQUE et al. (1999), o alto índice de alterações adversas causadas pelo tacrolimus é devido à concentração da dose inicial (0,15mg/Kg/dia), logo após a substituição da ciclosporina pelo tacrolimus, resultando em um nível de concentração média de 24,2ng/ml. Após a estabilização do indivíduo, a dose vai sendo ajustada, podendo chegar a um nível médio de concentração de 8ng/ml, o que resulta na diminuição significativa desses efeitos adversos.

VAN HOOFF & CHRISTIAANS (1999) demonstraram, em três anos de estudos em um multicentro americano, uma diminuição significativa das perdas de enxertos nos pacientes tratados com tacrolimus, comparados com pacientes tratados com ciclosporina. Os perfis de segurança de ambas as drogas são os mesmos, mas diferentes efeitos adversos foram observados com o uso do tacrolimus. Hiperglicemia e um perfil de risco cardiovascular foram mais acentuados nos pacientes em terapia com o tacrolimus quando comparada à imunossupressão baseada em ciclosporina. Hiperplasia gengival e hirsutismo não foram observados na terapia com tacrolimus.

O tacrolimus normalmente demonstra maior eficácia do que a formulação convencional da ciclosporina na prevenção de episódios de rejeição aguda, possibilitando a redução da utilização de corticosteróides. A redução na necessidade de corticosteróides na terapia com tacrolimus pode ter benefício específico em crianças pré-púberes, que ainda encontram-se em crescimento (SPENCER et al., 1997).

Os efeitos adversos que ocorrem durante a terapêutica com o tacrolimus são geralmente comuns a todos os esquemas imunossupressores. No entanto, *diabetes mellitus* e neurotoxicidade foram mais freqüentes nos indivíduos que receberam o tacrolimus do que naqueles que foram tratados com a ciclosporina e mais freqüentes com a ciclosporina a hiperlipidemia, a hipertensão, o hirsutismo e a hiperplasia gengival. No entanto, clinicamente, a tolerabilidade do tacrolimus está relacionada à dosagem, podendo ocorrer o desaparecimento dos efeitos adversos após o ajuste da dose terapêutica (SPENCER et al., 1997; VAN HOFF & CHRISTIAANS, 1999 e BUSQUE et al., 1999)

PLOSKER & FOSTER (2000) acompanharam um grande estudo multicentro, randomizado, conduzido nos Estados Unidos e Europa, em indivíduos transplantados de fígado e rim, que estavam em regime de imunossupressão com ciclosporina e tacrolimus. O tacrolimus mostrou ser eficaz em vários tipos

de transplantes, inclusive na recuperação de indivíduos com experiência persistente de rejeições agudas. O grupo tratado com ciclosporina não mostrou capacidade similar de reverter rejeições agudas refratárias. O uso reduzido de corticosteróide foi demonstrado em vários estudos com tacrolimus, o que é um grande benefício no tratamento de crianças. Esse estudo mostrou que as duas drogas tiveram o mesmo grau de neurotoxicidade. A ciclosporina, entretanto, mostrou um maior índice de hipertensão, hipercolesterolemia, hirsutismo e hiperplasia gengival, enquanto o tacrolimus mostrou um maior índice de *diabete mellitus*, alguns tipos de neurotoxicidade (tremores, parestesia), diarreia e alopecia. Os diferentes perfis de tolerabilidade entre tacrolimus e ciclosporina devem, portanto, ser considerados na seleção e opção entre as duas drogas na terapia de transplantes de órgãos.

O tacrolimus tem, aparentemente, um espectro de toxicidade similar ao da ciclosporina. Nefrotoxicidade é antecipadamente o maior problema causado pelo uso dessas drogas. As modificações clínicas e histológicas ocasionadas por esses agentes são indistinguíveis. Neurotoxicidade (dor de cabeça, tremores, insônia, *stress*), distúrbios gastrointestinais (diarreias, náuseas, constipação), distúrbios cardiovasculares (hipertensão, arritmias) e alterações metabólicas (hiperglicemia, hiperpotassemia, hipomagnesemia) são seqüelas que podem aparecer ao longo do tratamento com agentes imunossupressores (DIASIO & LOBUGLIO, 1999).

Por outro lado, o tacrolimus tem algumas vantagens como baixa incidência de hipertensão e de infecção por citomegalovírus, uso concomitante de corticosteróides reduzido e uma quase total ausência de hiperplasia gengival e hirsutismo (WILLIAMS et al., 1996; BADER et al., 1998; VAN HOOFF & CHRISTIAANS, 1999). A indicação clínica do tacrolimus em regime de imunossupressão é equivalente à ciclosporina, porém, em concentrações “*in vitro*” de 10 a 100 vezes mais baixas do que aquelas utilizadas com a ciclosporina. O tacrolimus mostrou uma atividade imunossupressora similar à

da ciclosporina (SPENCER et al., 1997; BADER et al., 1998; JIANG et al., 1999 e DIASIO & LOBUGLIO, 1999).

3.2.2 Farmacocinética

A administração do tacrolimus é variável nas formas oral e endovenosa. A administração intravenosa do tacrolimus geralmente é desnecessária e deve ser evitada a fim de minimizar o risco de efeitos adversos. Por via oral, a sua absorção varia de um paciente para outro, sendo fracamente absorvida no trato gastrointestinal. Estudos em ratos indicam que o jejuno e o duodeno são os maiores locais de absorção. Apesar de haver uma grande variação, em receptores de transplante renal, doses únicas por via oral de 0,10 – 0,15 e 0,20mg/kg resultam em níveis médios de concentração de 19,2 – 24,2 e 47,9ng/ml, respectivamente, variando o tempo para atingir os níveis das concentrações. Após a administração oral, concentrações estáveis são alcançadas no período de três dias, e, após acompanhamento, são realizados ajustes da dosagem com base na avaliação clínica da rejeição, da tolerabilidade e das concentrações sanguíneas do tacrolimus (SPENCER et al., 1997).

Ao contrário do que ocorre com a ciclosporina, a bile não influencia na absorção de tacrolimus e, por conseguinte, a administração oral é possível no período pós-operatório imediato. A presença de alimentos afeta a absorção de tacrolimus. Em pacientes em jejum, a concentração sanguínea da droga é aproximadamente o dobro daquela observada em pacientes alimentados. O tacrolimus é altamente lipofílico e sofre extensa distribuição pelos tecidos. A ligação protéica do tacrolimus no plasma é descrita como superior a 98% (BADER et al., 1998; DIASIO & LOBUGLIO, 1999).

O tacrolimus é predominantemente metabolizado no fígado e em menor extensão, no intestino, passa por um extenso metabolismo hepático e menos

de 1% de uma dose intravenosa de tacrolimus é submetida à excreção urinária na forma de medicamento inalterado. A via excretória predominante dos metabólitos do tacrolimus é a biliar (DIASIO & LOBUGLIO, 1999).

3.2.3 Farmacodinâmica

Embora estruturalmente não relacionados, tacrolimus e ciclosporina apresentam efeitos celulares similares e adequadamente caracterizados, compartilhando um mesmo e importante mecanismo de ação, a inibição de atração de células T IL-2 dependentes e que atuam em um estágio precoce no processo de ativação de células T, resultando no desejado efeito imunossupressor (BADER et al., 1998; JIANG et al., 1999).

A proliferação secundária de células T ativadas em resposta à IL-2 não é inibida pelo tacrolimus, e o medicamento não interfere com apresentação de antígenos, não modifica a função fagocítica mononuclear, nem a função da célula *killer* natural. O tacrolimus também pode diferir da ciclosporina em relação aos seus efeitos sobre o fator β de transformação do crescimento (TGF- β), sendo que níveis elevados desse fator têm sido implicados na rejeição crônica dos aloenxertos. Enquanto a ciclosporina aumenta os níveis do TGF-B, aparentemente o tacrolimus não modifica acentuadamente esses níveis em pacientes com aloenxertos (SPENCER et al., 1997; JIANG et al., 1999; DIASIO & LOBUGLIO, 1999).

3.2.4 Crescimento gengival e tacrolimus

De acordo com a literatura, o uso do tacrolimus como imunossupressor nos transplantes de órgãos é eficaz e seguro. Portanto, a indicação da troca da ciclosporina para o tacrolimus deve ser considerada para pacientes com grave

crescimento gengival (KOHNLE et al., 1998; HERNANDEZ et al., 2000; KENNEDY & LINDEN, 2000).

Essa droga tem sido investigada como uma estratégia de controle do crescimento gengival em pacientes transplantados, pois, em relatos de casos clínicos, foi observada redução significativa do crescimento gengival após substituição da ciclosporina pelo tacrolimus (DODD, 1997; BADER et al., 1998; KOHNLE et al., 1998; BUSQUE et al., 1999; JAMES et al., 2000).

DODD (1997) apresenta um relato de caso em que uma mulher em tratamento com ciclosporina apresentava um grave crescimento gengival com grande comprometimento estético e que não respondia ao tratamento e controle periodontal. Ao realizar a substituição da ciclosporina pelo tacrolimus, uma significativa melhora foi observada no primeiro mês e com três meses o crescimento gengival havia desaparecido totalmente. Relata, ainda, que no centro pediátrico de transplante renal e cardíaco de Pittsburgh, os pacientes em regime de imunossupressão com tacrolimus estavam livres de alterações nos tecidos gengivais.

KOHNLE et al. (1998) incluíram em seus estudos 28 indivíduos com transplante renal em terapia com ciclosporina, que apresentavam significativo crescimento gengival. Desses, 15 passaram a utilizar tacrolimus como imunossupressor. Todos os indivíduos receberam orientação sobre higiene bucal e foram acompanhados por três meses. Após esse período, o grupo em terapia com tacrolimus teve uma significativa redução do crescimento gengival. Em relação ao índice de sangramento gengival, ambos os grupos tiveram redução significativa.

BADER et al. (1998) relataram um caso de um homem de 59 anos, transplantado renal em janeiro de 1993, em terapia com ciclosporina. Em 1996, o paciente apresentou-se com grave crescimento gengival, o qual já estava interferindo na estética, mastigação, fonética e impossibilitando o uso da

prótese parcial removível. Os 13 dentes remanescentes estavam com doença periodontal agressiva. Foi feita a opção pela troca do medicamento. Após dois meses de tratamento com tacrolimus, o crescimento gengival havia reduzido para a metade de seu volume, mostrando ainda uma aparência inflamada e sangramento espontâneo. Após quatro meses, o volume gengival ainda era alterado nos espaços interdentais, mas nas regiões vestibulares, palatina e lingual houve uma grande regressão, com a gengiva apresentando uma consistência firme e aparentemente menos inflamada. Na terapia periodontal do paciente não foi necessária a realização de gengivectomia.

BUSQUE et al. (1999) mostraram que a hiperplasia gengival e a hipertricose são efeitos adversos associados à terapia com ciclosporina, mas não com o tacrolimus. De agosto de 1996 a maio de 1997, 15 pacientes (nove homens e seis mulheres) tiveram a sua medicação imunossupressora alterada de ciclosporina para tacrolimus. Dos 15 pacientes avaliados inicialmente, 12 tinham hiperplasia gengival, dois tinham hipertricose e um tinha hiperplasia gengival e hipertricose. Nos três primeiros meses, todos os pacientes tiveram redução significativa do crescimento gengival, sendo que cinco deles tiveram completa resolução da hiperplasia gengival. No fim desse período, todos os pacientes apresentaram regressão total do crescimento gengival. Com seis meses houve resolução da hipertricose. Nenhum episódio de rejeição ocorreu com a troca de medicamentos e o nível sérico de creatinina também permaneceu estável. Para esses autores, a conversão de ciclosporina para tacrolimus é segura, tornando-se uma valiosa opção de tratamento para indivíduos com grave crescimento gengival. Na substituição dos imunossupressores, os indivíduos receberam uma dose inicial de tacrolimus de 0,15mg/kg/dia, o que corresponde a um nível sérico de 24,2ng/ml. Após a estabilização do paciente a dose do medicamento foi reduzida, chegando a um nível sérico de 8ng/ml, o que resulta em grande benefício, pois foram reduzidos significativamente os efeitos adversos.

JAMES et al. (2000) monitoraram a resposta do crescimento gengival em indivíduos que tiveram a terapia com ciclosporina convertida para tacrolimus. Foram acompanhados quatro pacientes com transplantes renais durante seis meses. Todos os pacientes tiveram redução significativa do crescimento gengival no tempo estudado, sendo que em apenas um indivíduo a remissão do crescimento gengival foi completa.

O tacrolimus é, portanto, um agente imunossupressor alternativo efetivo para pacientes transplantados que parece não induzir crescimento gengival (BADER et al., 1998; KOHNLE et al., 1998; JAMES et al., 2000; PLOSKER & FOSTER, 2000; HERNANDEZ et al., 2000; KENNEDY & LINDEN, 2000).

4 METODOLOGIA

4.1 Animais

Esta pesquisa propôs uma investigação em modelo animal e utilizou 50 ratos Sprague-Dawley, machos, com quatro a seis semanas de vida e peso variando entre 165-225 gramas. Os animais foram adquiridos do biotério da Universidade Estadual de Campinas (UNICAMP), São Paulo.

4.2 Desenho experimental

Os animais foram selecionados e divididos homogeneamente em grupos, de acordo com o peso, objetivando o cálculo das doses de medicamento de acordo com o peso médio dos animais em cada grupo. Após a seleção dos animais, três grupos foram estabelecidos. O grupo controle (Gc), com 10 animais recebeu medicamento placebo (água destilada). O grupo ciclosporina (Cs), com 20 animais, foi subdividido em dois sub-grupos de 10 animais. Eles receberam 10mg/kg/dia (Cs1) e 30mg/kg/dia (Cs2) de ciclosporina. O grupo tacrolimus (Tc), também com 20 animais, foi subdividido em dois sub-grupos de 10 animais. Eles receberam 3,2mg/kg/dia (Tc1) e 6,4mg/kg/dia (Tc2) de tacrolimus. A composição dos subgrupos foi feita baseada em duas doses de administração das drogas: uma terapêutica (Cs1, Tc1) e uma superior à terapêutica (Cs2, Tc2).

A dose terapêutica, isto é, dose capaz de manter a atividade imunossupressora foi baseada em JIANG et al. (1999). Já a dose superior à terapêutica teve como finalidade exacerbar as possíveis alterações clínicas e foi baseada nos estudos de FU et al. (1996) e HAINES et al. (2000).

4.3 Monitoramento dos ratos

Os animais foram acomodados em cinco gaiolas plásticas (10 animais por gaiola) com as seguintes dimensões 30x20x16cm. A cama dos animais, constituída por serragem autoclavada, era trocada diariamente.

Cada gaiola foi identificada de acordo com os subgrupos e cada animal foi individualizado através de um a 10 furos nas orelhas (TAB. 2).

TABELA 2

Subdivisão dos animais de acordo com a dosagem da droga

Controle	Ciclosporina		Tacrolimus	
Placebo	10mg (Cs1)	30mg (Cs2)	3,2mg (Tc1)	6,4mg (Tc2)
Gc1	Cs1.1	Cs2.1	Tc1.1	Tc2.1
Gc2	Cs1.2	Cs2.2	Tc1.2	Tc2.2
Gc3	Cs1.3	Cs2.3	Tc1.3	Tc2.3
Gc4	Cs1.4	Cs2.4	Tc1.4	Tc2.4
Gc5	Cs1.5	Cs2.5	Tc1.5	Tc2.5
Gc6	Cs1.6	Cs2.6	Tc1.6	Tc2.6
Gc7	Cs1.7	Cs2.7	Tc1.7	Tc2.7
Gc8	Cs1.8	Cs2.8	Tc1.8	Tc2.8
Gc9	Cs1.9	Cs2.9	Tc1.9	Tc2.9
Gc10	Cs1.10	Cs2.10	Tc1.10	Tc2.10

Os animais foram monitorados durante os 86 dias do experimento, com dieta balanceada¹ e água *ad libitum*, além do medicamento específico para cada subgrupo. O experimento começou após um período de sete dias de adaptação dos animais no biotério, sendo a temperatura no mesmo mantida em torno de 25°C.

Da primeira à nona semana do experimento (período no qual os ratos ingeriram os medicamentos), todos os animais foram pesados semanalmente, em

¹ Ração Nuvilab-CR1. Nuvital Nutrientes Ltda. Brasil

balança digital² (ANEXO A). Para a realização desses procedimentos os animais eram colocados numa cubeta de metal.

O peso dos animais de cada subgrupo foi obtido para cálculo e ajuste semanal da dosagem da droga e foi anotado em fichas próprias, desenvolvidas para essa finalidade (ANEXO B).

4.4 Fracionamento e administração das drogas

Os medicamentos foram fracionados e manipulados para cada sub-grupo de acordo com orientação do laboratório de farmacologia da Faculdade de Farmácia da Universidade Federal de Minas Gerais.

4.4.1 Fracionamento da ciclosporina e tacrolimus

Para preparar a dose de ciclosporina, foram utilizados dois frascos de 50ml de ciclosporina³ de 100mg/ml. A ciclosporina era aspirada em uma seringa e diluída em água destilada, na proporção de 1ml de Sandimmun Neoral para 9ml de água, formando uma solução com concentração de 10mg/ml.

A droga tacrolimus (7,5 gramas de Prograf⁴, em dispersão sólida a 20%) foi entregue a um laboratório de manipulação farmacêutica para fracionamento em cápsulas de acordo com a quantidade necessária para os dez animais dos subgrupos, sendo uma cápsula para cada horário de administração. Semanalmente, de acordo com o peso médio dos sub-grupos, as cápsulas eram preparadas. A cada horário de administração, a cápsula era aberta, diluída em água destilada e homogeneizada, formando o medicamento com a concentração necessária.

² Mettler P.C 4000*

³ Ciclosporina – Sandimmun Neoral – NOVARTIS - Suíça

⁴ Tacrolimus – Prograf - FUJISAWA - Japão

4.4.2 Administração das drogas

Os medicamentos foram administrados por via oral (intubação intra-gástrica), de 12 em 12 horas, com seringas de insulina⁵.

O grupo controle (Gc) recebeu 0,2ml de água destilada durante todo o experimento. O peso médio dos animais e sua respectiva dose durante o experimento serão apresentados em resultados

4.5 Exame clínico dos tecidos gengivais

O exame clínico foi realizado para a identificação de alterações morfológicas e de coloração nos tecidos gengivais em todos os animais, no início do experimento (exame base) e decorridos 54 dias da administração das drogas (segundo exame).

4.5.1 Alterações morfológicas

O exame clínico para identificação de alterações morfológicas nos ratos foi realizado tendo como referência as seguintes medidas (FIG. 1, 2, 3):

- a. distância da junção mucogengival a incisal (JMG-I) dos incisivos;
- b. distância da margem gengival a incisal (MG-I) dos incisivos inferiores.

⁵ Plastipak 1ml (1/100) - Becton Indústria Cirúrgica Ltda. - Brasil

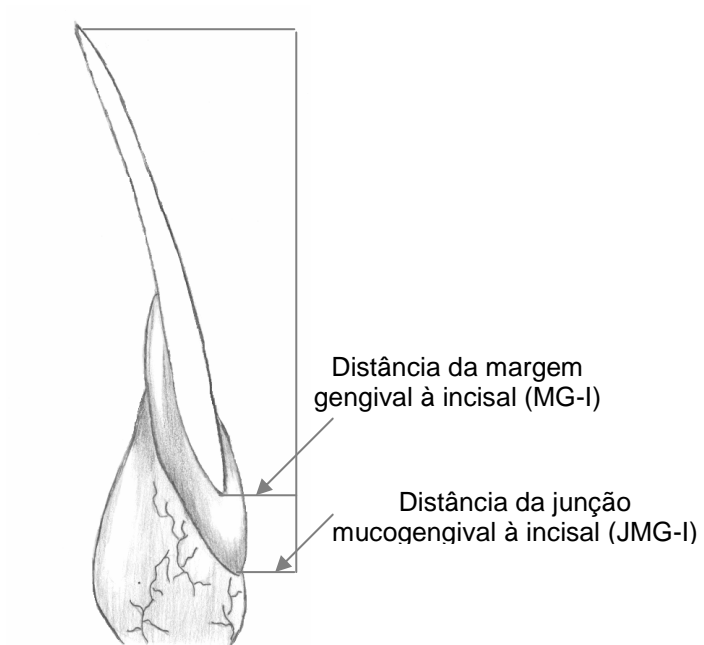


FIGURA 1 - Desenho esquemático lateral de incisivo inferior de rato

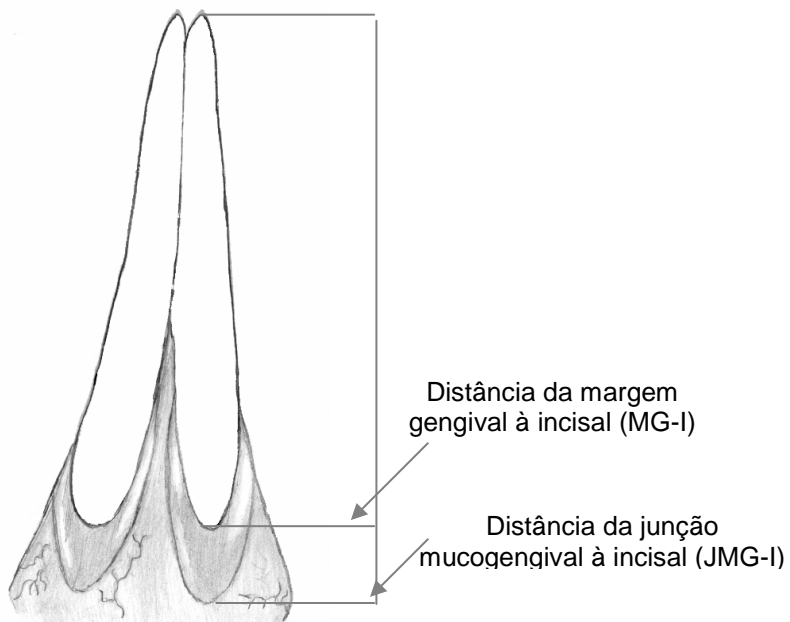


FIGURA 2 - Desenho esquemático frontal de incisivo inferior de rato

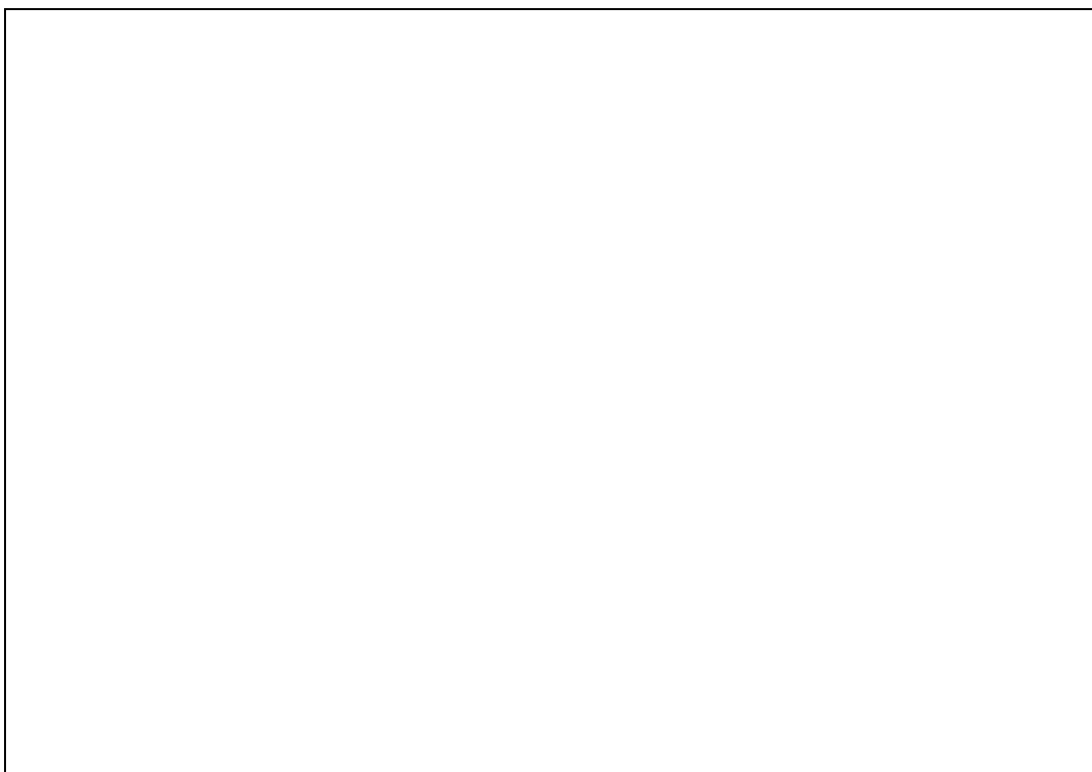


FIGURA 3 - Vista fotográfica de incisivo inferior de rato

Essas medidas foram realizados com uma sonda periodontal milimetrada tipo Hu-Friedy⁶ no início do experimento (exame base - EB) e decorridos 54 dias do experimento (segundo exame - SE), sendo anotadas em fichas individualizadas para esta finalidade (ANEXO C) (FIG. 4).

⁶ Hu-Friedy - USA



FIGURA 4 - Vista fotográfica da medição da margem gengival à incisal do incisivo inferior esquerdo de rato

As diferenças entre as medidas da JMG-I e MG-I, refletem alterações morfológicas no tecido gengival e foram adaptadas do estudo de FU et al. (1996).

4.5.2 Alterações de coloração do tecido gengival

As alterações de cor foram detectadas através da comparação visual do tecido gengival dos animais do grupo controle com os animais dos outros grupos.

A gengiva clinicamente normal dos animais no grupo controle apresenta-se com uma coloração rosa claro, com pequenas variações desta tonalidade.

4.6 Preparação do material para análise do nível sérico e exame histológico

No quinquagésimo sexto dia, cinco animais de cada grupo foram separados randomicamente, sedados com éter e anestesiados com 0,04ml de ketamina⁷. Após a sedação e anestesia dos animais foi realizada a coleta de sangue e dos tecidos gengivais e, em seguida, os mesmos foram sacrificados.

Os tecidos periodontais foram fixados em metanol (80%) e dimetilsulfox (20%) e incluídos em paraplast para posterior exame histopatológico. A análise do nível sérico e histopatológica destes tecidos não constitui objetivo desta dissertação. A análise histopatológica e do nível sérico estão sendo avaliadas e serão apresentadas posteriormente.

Todos os animais não sacrificados foram mantidos em observação no biotério por um período de trinta dias.

4.7 Análise estatística

4.7.1 Análise de concordância

A concordância intra-examinador foi realizada pelo teste T de *Student* para amostras pareadas. Um único examinador repetiu a leitura das medidas em quatro animais, selecionados aleatoriamente em cada grupo, tanto no exame base quanto no segundo exame, para determinação do grau de concordância (ANEXO D).

⁷ Francotar - Virbac do Brasil Ind. Ltda. - Brasil

4.7.2 Análise dos dados coletados

As medidas descritivas serão apresentadas em porcentagens e tabelas com a média, mediana, mínimo (mín), máximo (máx) e desvio padrão (d.p.).

As comparações entre os grupos GC; Cs1; Cs2; Tc1 e Tc2 foram realizadas utilizando-se o teste de Kruskal-Wallis (JOHNSON & BHATTACHARYYA, 1986; CONOVER, 1999). Este teste, não paramétrico, tem como objetivo comparar duas ou mais amostras independentes em relação a uma medida de interesse. Isto é, o teste não baseia-se na média e desvio-padrão e sim nos postos / posições (*rank* - posição do indivíduo na amostra) das medidas .

A comparação entre exame base e segundo exame, em relação a uma mesma medida (JMG-I e MG-I) foram realizadas pelo teste de Wilcoxon para amostras pareadas (JOHNSON & BHATTACHARYYA, 1986; CONOVER, 1999). Trata-se de um teste não paramétrico que tem como objetivo comparar medidas realizadas na mesma unidade amostral, isto é, comparar se uma medida no exame base difere significativamente desta mesma medida no segundo exame.

Todos os resultados foram considerados significativos para uma probabilidade de significância inferior a 5% ($p < 0,05$) tendo, portanto, pelo menos 95% de confiança nas conclusões apresentadas.

4.8 Colaboração e suporte laboratorial

Este estudo teve o suporte técnico e científico do laboratório de farmacologia japonês FUJISAWA, do laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais e do Departamento de Alimentação da Escola de Nutrição da Universidade Federal de Ouro Preto.

5 RESULTADOS

5.1 Concordância intra-examinador

As TAB. 3 e 4 mostram a comparação entre as duas medidas realizadas pelo mesmo examinador na avaliação da junção muco gengival a incisal (JMG-I) e da margem gengival à incisal (MG-I). Nas duas situações, não foram observadas diferenças significativas nas duas medidas (ANEXO D).

TABELA 3

Comparação entre as duas medidas realizadas pelo mesmo examinador no que se refere à medida da junção mucogengival à incisal (JMG-I)

Medida	Medidas descritivas				p
	Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Média (mm)	Desvio (mm)	
1 ^a	11,0	12,0	11,87	0,33	0,320 1 ^o = 2 ^o
2 ^a	11,0	12,0	11,90	0,30	

Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste T de *Student* para amostras pareadas.

TABELA 4

Comparação entre as duas medidas realizadas pelo mesmo examinador no que se refere à medida da margem gengival à incisal (MG-I)

Medida	Medidas descritivas				p
	Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Média (mm)	Desvio (mm)	
1 ^a	5,0	10,0	9,03	1,12	0,490 1 ^o = 2 ^o
2 ^a	5,0	10,0	9,08	1,10	

Nota: a probabilidade de significância refere-se ao teste T de *Student* para amostras pareadas.

5.2 Peso médio e dose utilizada de 12/12 horas durante o experimento

O peso médio dos animais e a dose de medicamento administrada durante o experimento estão mostrados na TAB. 5 e no GRAF. 1.

TABELA 5
Peso médio apresentado pelos animais

Semana	Controle		Cs1		Cs2		Tc1		Tc2	
	PM (gr.)	D (ml)*	PM (gr.)	D (mg)	PM (gr.)	D (mg)	PM (gr.)	D (mg)	PM (gr.)	D (mg)
1 ^a	225	0,2	168	0,80	165	2,50	190	0,30	211	0,67
2 ^a	264	0,2	211	1,00	200	3,00	231	0,37	242	0,77
3 ^a	284	0,2	247	1,20	233	3,50	261	0,41	252	0,80
4 ^a	308	0,2	277	1,40	256	3,80	250	0,40	290	0,90
5 ^a	323	0,2	303	1,50	266	3,90	312	0,49	313	1,00
6 ^a	341	0,2	306	1,50	257	3,80	324	0,51	319	1,02
7 ^a	351	0,2	339	1,70	279	4,10	345	0,55	345	1,10
8 ^a	363	0,2	344	1,70	288	4,30	353	0,56	352	1,12
9 ^a	376	0,2	339	1,70	274	4,10	356	0,56	359	1,14

PM = peso médio - D = dose - * = água destilada - placebo

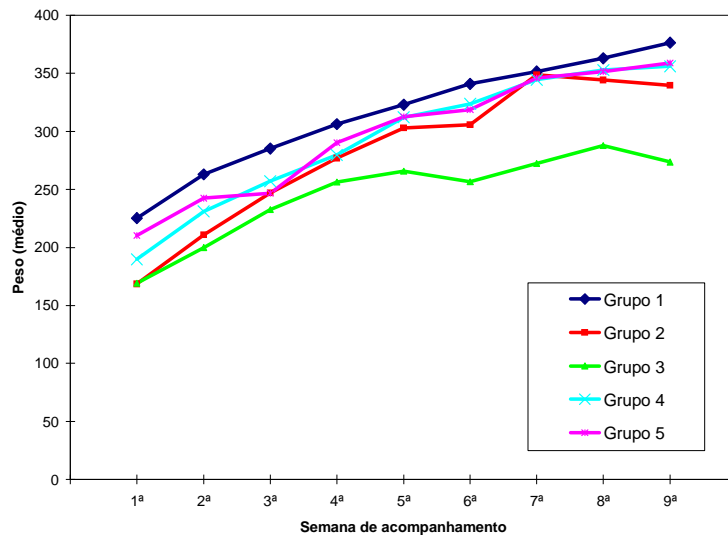


GRÁFICO 1 - Caracterização dos ratos quanto ao peso corporal em todo o período de acompanhamento considerando-se o grupo

5.3 Medidas da junção mucogengival à incisal (JMG-I)

A TAB. 6 e o GRAF.2 mostram que os grupos apresentaram medidas da junção mucogengival a incisal similares, tanto no exame base como no segundo exame.

Considerando o exame base e o segundo exame, respectivamente, as médias encontradas no grupo controle foram de 11,9 ($\pm 0,3$) e 12 ($\pm 0,5$), no grupo Cs1 foram de 12 ($\pm 0,5$) e 12 ($\pm 0,5$), no grupo Cs2 foram de 11,3 ($\pm 0,5$) e 11,3 ($\pm 0,5$), no grupo Tc1 foram de 12 ($\pm 0,0$) e 11,9 ($\pm 0,3$), no grupo Tc2 foram de 11,9 ($\pm 0,3$) e 11,9 ($\pm 0,3$).

TABELA 6

Medidas de tendência central (média com desvio padrão) da junção mucogengival à incisal (JMG-I)

Época	Grupo	Medidas descritivas				
		Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Mediana (mm)	Média (mm)	D.P.
Exame Base	Controle	11,0	12,0	12,0	11,9	0,3
	Cs1	11,0	13,0	12,0	12,0	0,5
	Cs2	11,0	12,0	11,0	11,3	0,5
	Tc1	12,0	12,0	12,0	12,0	0,0
	Tc2	11,0	12,0	12,0	11,9	0,3
Segundo exame	Controle	11,0	13,0	12,0	12,0	0,5
	Cs1	11,0	13,0	12,0	12,0	0,5
	Cs2	11,0	12,0	11,0	11,3	0,5
	Tc1	11,0	12,0	12,0	11,9	0,3
	Tc2	11,0	12,0	12,0	11,9	0,3

D.P. = desvio padrão

De acordo com esses resultados observou-se que a medida da junção mucogengival à incisal permanece estável, tanto no exame base quanto no segundo exame, o que permite concluir que essa medida foi constante durante todo o experimento.

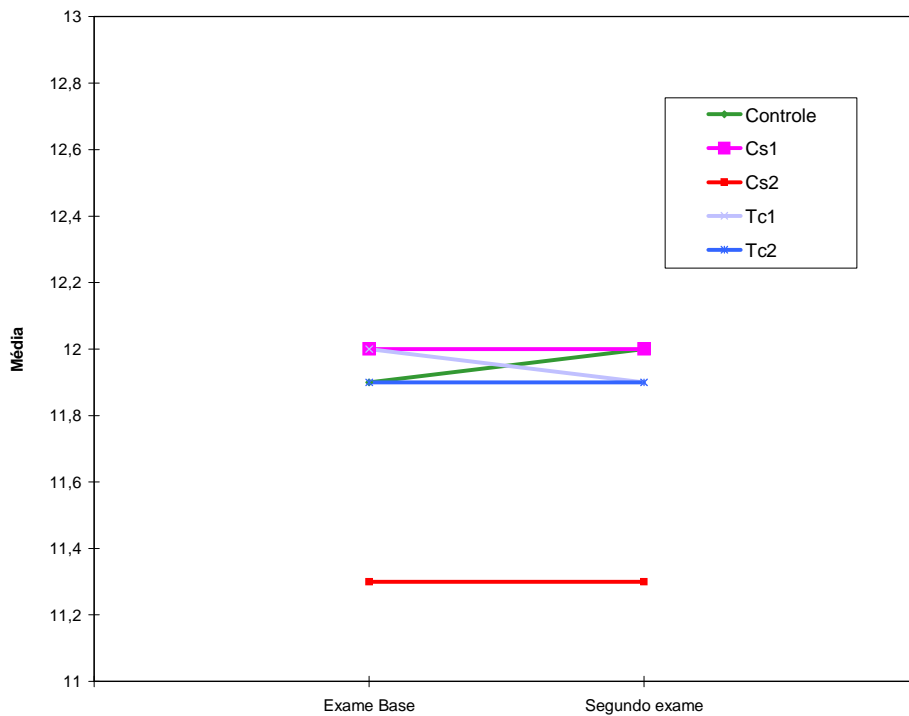


GRÁFICO 2 - Medidas da distância da junção mucogengival à incisal, considerando-se o grupo e a época da avaliação

5.4 Diferença entre a medida da junção mucogengival à incisal (JMG-I) e da margem gengival à incisal (MG-I)

As TAB. 7 e 8 e o GRAF. 3 mostram que os grupos apresentam uma diferença entre as medidas JMG-I e MG-I similar no exame base. No segundo exame, essas medidas apresentaram-se com diferenças significativas.

Considerando o exame base, a média encontrada no grupo controle foi de 2,7 ($\pm 0,5$), no grupo Cs1 de 2,8 ($\pm 0,8$), no grupo Cs2 de 2,3 ($\pm 0,5$), no grupo Tc1 de 2,3 ($\pm 0,5$) e no grupo Tc2 de 2,2 ($\pm 0,6$).

No segundo exame, a média encontrada no grupo controle foi de 2,8 ($\pm 0,4$), no grupo Cs1 foi de 4,0 ($\pm 0,8$), no grupo Cs2 de 5,2 ($\pm 1,2$), no grupo Tc1 de 2,0 ($\pm 0,5$) e no grupo Tc2 de 2,2 ($\pm 0,6$).

TABELA 7

Medidas de tendência central (média com desvio padrão) para diferença entre a medida da distância da junção mucogengival/incisal e da distância da margem gengival/incisal

Época	Grupo	Medidas descritivas				
		Mínimo (mm)	Máximo (mm)	Mediana (mm)	Média (mm)	D.P.
Exame base	Controle	2,0	3,0	3,0	2,7	0,5
	Cs1	2,0	4,0	3,0	2,8	0,8
	Cs2	2,0	3,0	2,0	2,3	0,5
	Tc1	2,0	3,0	2,0	2,3	0,5
	Tc2	1,0	3,0	2,0	2,2	0,6
Segundo exame	Controle	2,0	3,0	3,0	2,8	0,4
	Cs1	3,0	5,0	4,0	4,0	0,8
	Cs2	3,0	7,0	5,0	5,2	1,2
	Tc1	1,0	3,0	2,0	2,0	0,5
	Tc2	1,0	3,0	2,0	2,2	0,6

TABELA 8

Avaliação do efeito das drogas e do tempo na diferença entre a medida da distância da junção mucogengival/incisal e da distância da margem gengival/incisal

Época	Grupo					p
	Control e (mm)	Cs1 (mm)	Cs2 (mm)	Tc1 (mm)	Tc2 (mm)	
Exame Base	2,7	2,8	2,3	2,3	2,2	0,134
Segundo exame	2,8	4,0	5,2	2,0	2,2	< 0,001
p	1,000	0,014	0,006	0,181	—	
Conclusão	EB = SE	EB < SE	EB < SE	EB = SE		

Nota: a probabilidade de significância para a comparação entre os grupos refere-se ao teste Kruskal-Wallis.

A probabilidade de significância para a comparação entre os exames do mesmo grupo refere-se ao teste de Wilcoxon.

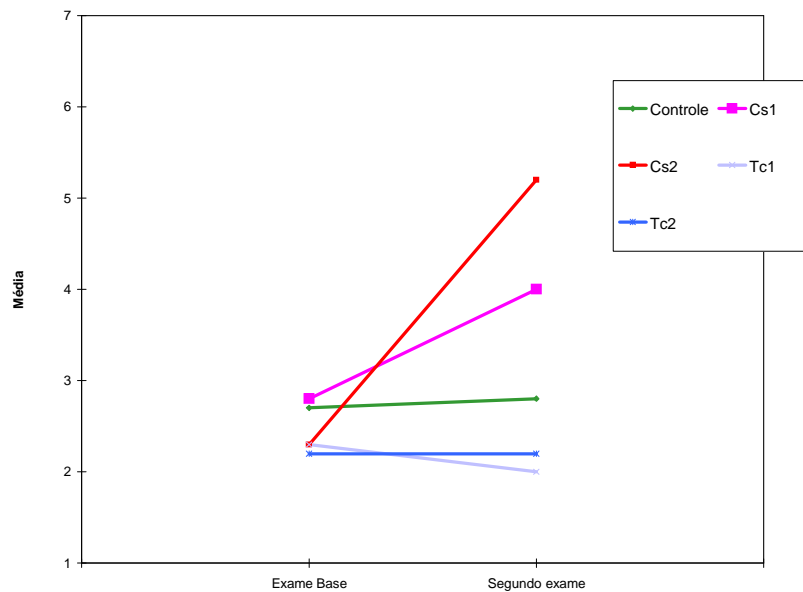


GRÁFICO 3 - Diferença entre as medidas da JMG-I e MG-I dos grupos no exame base e segundo exame

Comparando-se a diferença das medidas da junção mucogengival à incisal e da margem gengival à incisal, verificou-se que nos cinco grupos avaliados essas medidas foram similares no exame base. No segundo exame, verificou-se uma diferença significativamente maior no grupo que recebeu a dose superior à terapêutica de ciclosporina (Cs2), seguido do grupo que recebeu ciclosporina em dosagem terapêutica (Cs1). Já o grupo controle (FIG. 5) bem como os dois sub-grupos tacrolimus não apresentaram diferenças estatisticamente significativas. Assim, ocorreram mudanças significativas nas medidas entre o exame base e o segundo exame, apenas nos grupos que receberam ciclosporina (TAB. 7 e 8 e o GRAF. 3).

Dessa maneira, conclui-se que quanto maior a diferença entre as medidas da JMG-I e MG-I do exame base para o segundo exame, maior a alteração morfológica dos tecidos gengivais, o que neste estudo é interpretado como crescimento gengival (FIG. 6).

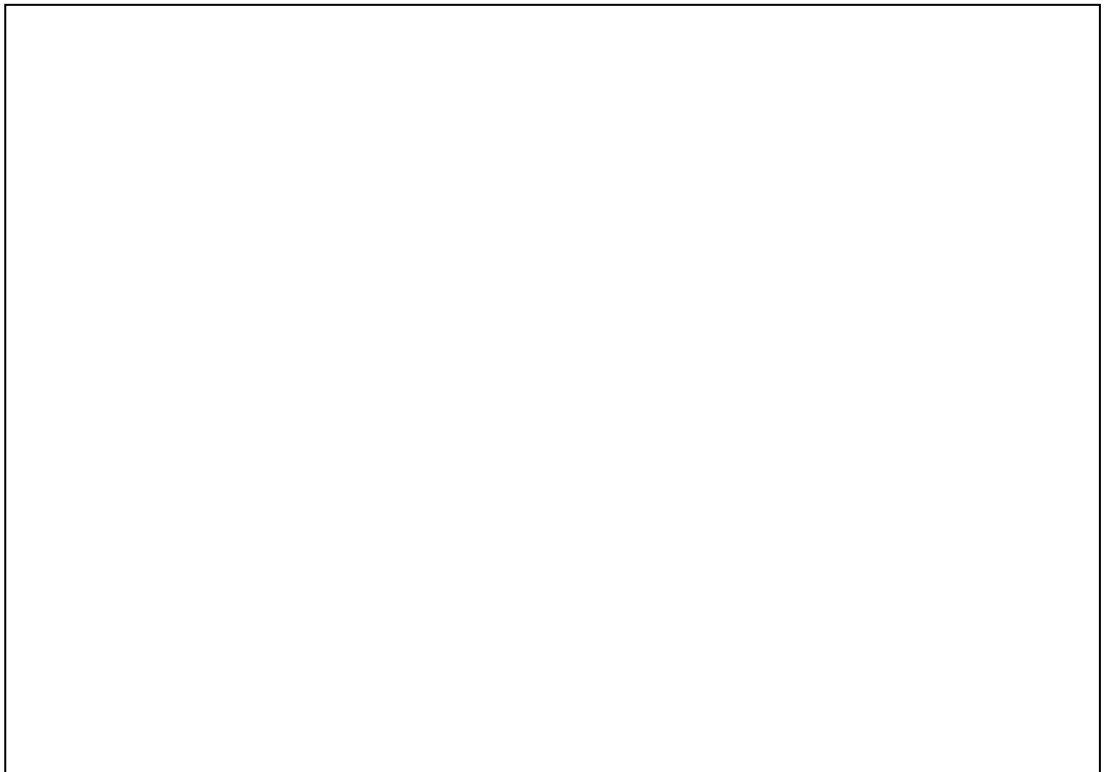


FIGURA 5 - Grupo controle - ausência de crescimento

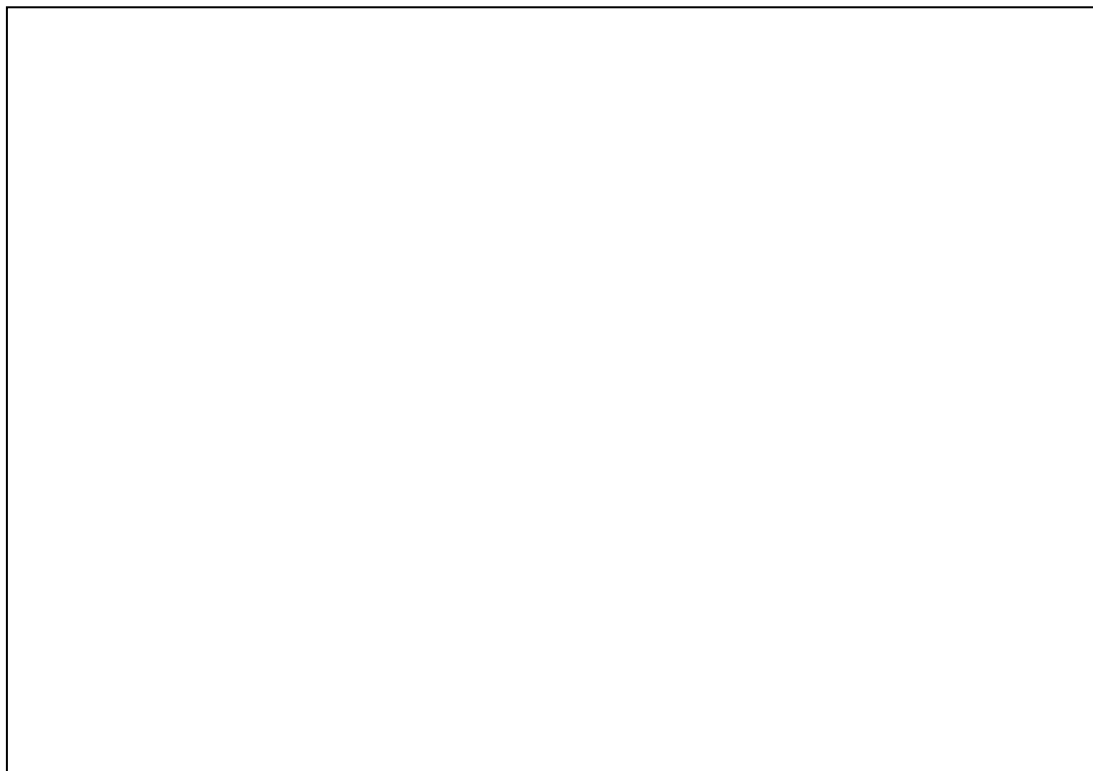


FIGURA 6 - Crescimento gengival em animal do grupo Cs2
5.5 Alterações de coloração dos tecidos gengivais

A coloração dos tecidos gengivais variou de rosa claro para tonalidades de vermelho intenso a azuladas.

Essas alterações de cor foram verificadas no segundo exame nos grupos que receberam dose superior à terapêutica de ciclosporina e tacrolimus, em todos os animais. No grupo que recebeu dose terapêutica de ciclosporina não constatou-se nenhuma alteração de cor. No grupo que recebeu dose terapêutica de tacrolimus, constatou-se alteração de cor em 60% dos ratos. Os animais do grupo controle não apresentaram alterações de cor (GRAF.4).

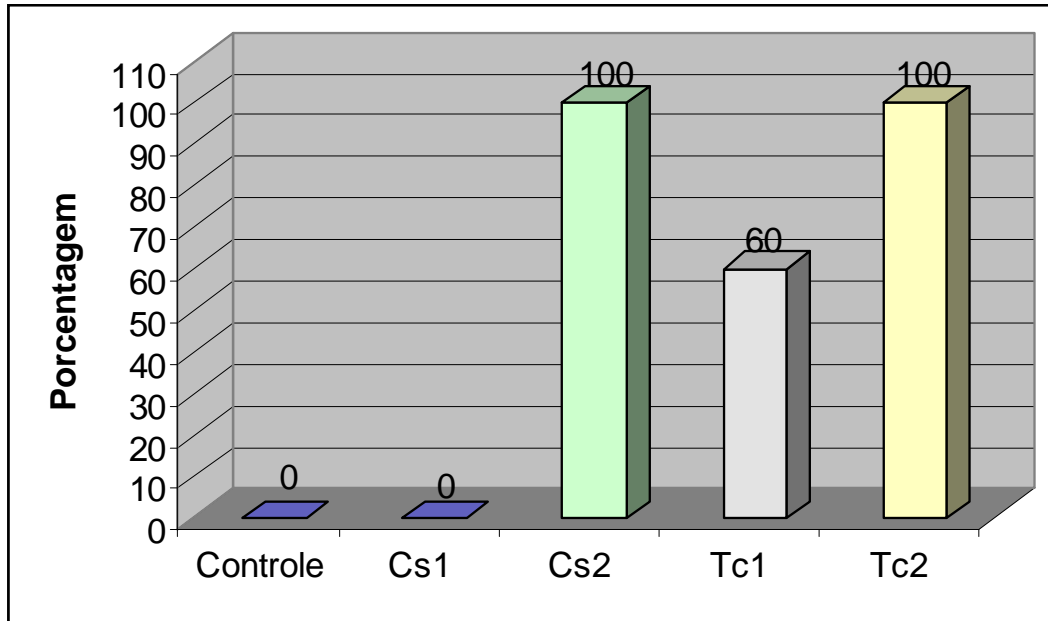


GRÁFICO 4 - Alterações de cor no segundo exame, considerando-se os grupos

5.6 Remissão das alterações gengivais

Após quinze dias da suspensão das drogas, novos exames clínicos foram realizados nos animais remanescentes e foi constatado que os tecidos gengivais retornaram às suas condições normais, com remissão de todas as alterações gengivais anteriormente apresentadas.

6 DISCUSSÃO

A alta prevalência de alterações nos tecidos gengivais em indivíduos em uso de ciclosporina, após transplantes de órgãos, está bem documentada na literatura (WYSOCKI et al., 1983; TYLDESLEY & ROTTER, 1984; FRISKOPP & KLINTMALM, 1986; DALEY et al., 1986; MCGAW et al., 1987; SEYMOUR et al., 1987; PERNU et al., 1992; PERNU et al., 1993; THOMASON et al., 1993; SOMACARRERA et al., 1994; HEFTI et al., 1994; BÖKENKAMP et al., 1994; CEBECI et al., 1996a,b; MARGIOTTA et al., 1996; VARGA et al., 1998; WILSON et al., 1998; SPRATT et al., 1999; JAMES et al., 2000; THOMAS et al., 2000; AGUIAR, 2001).

Diversos estudos têm comparado a eficácia da ciclosporina e do tacrolimus na terapia imunossupressora em pacientes transplantados (BUSUTIL et al., 1994; NEUHAUS et al., 1995; WILLIAMS et al., 1996; MAYER et al., 1997; BADER et al., 1998; SPENCER et al., 1997; VAN HOOFF & CHRISTIAANS, 1999; PLOSKER & FOSTER, 2000).

Não foi encontrado na literatura consultada nenhum estudo em modelo animal que comparasse a ciclosporina com o tacrolimus e a influência dessas drogas no tecido gengival.

Os resultados encontrados nesta pesquisa apontaram crescimento gengival significativo nos animais que fizeram uso de ciclosporina (subgrupo Cs1 e Cs2) e são condizentes com estudos experimentais, em modelo animal, que mostram os efeitos da ciclosporina induzindo crescimento nos tecidos gengivais (RYFFEL et al., 1983; SEIBEL et al., 1989; MORISAKI et al., 1993; FISCHER & KLINGE, 1994; FU et al., 1995; NISHIKAWA et al., 1996; NIEH et al., 1996; PILATTI & SAMPAIO, 1997; MORISAKI et al., 1997).

Nesse experimento, foi verificada uma maior gravidade do crescimento gengival induzido pela ciclosporina nos animais que receberam uma dose aumentada desse medicamento (subgrupo Cs2), resultados que são comparáveis aos reportados por FU et al. (1995) e MORISAKI et al. (1997) que também mostraram uma correlação positiva entre a gravidade do crescimento gengival e dose de ciclosporina .

Neste estudo, os animais que fizeram uso de tacrolimus não apresentaram alterações morfológicas nos tecidos gengivais, sendo interessante relatar a ausência na literatura de experimentos em modelo animal correlacionando o uso de tacrolimus com alterações nos tecidos gengivais. Entretanto, relatos de casos clínicos em humanos confirmaram a eficácia do tacrolimus como imunossupressor sem evidências de alteração nos tecidos gengivais (DODD, 1997; BADER et al., 1998; KOHNLE et al., 1998; BUSQUE et al., 1999; JAMES et al., 2000).

FU et al. (1995); NIEH et al. (1996); MORISAKI et al. (1997) e JIANG et al. (1999) relatam em seus experimentos que os grupos de animais que receberam uma dose aumentada de ciclosporina apresentaram um menor desenvolvimento no peso corporal. No presente experimento, os animais do subgrupo Cs2 apresentaram um desenvolvimento menor do que os demais grupos. JIANG et al. (1999) compararam a eficácia da ação imunossupressora da ciclosporina e do tacrolimus em ratos transplantados renais e também observaram que os animais do grupo ciclosporina, que receberam uma dose superior à terapêutica, também apresentaram menor ganho de peso em relação aos outros grupos. Entretanto, em seu estudo, os animais do grupo tacrolimus apresentaram menor desenvolvimento em relação ao grupo ciclosporina, o que não foi observado nesta pesquisa.

Vários efeitos adversos dos agentes imunossupressores são dose-dependentes e esse fato é descrito na literatura por vários autores (SEYMOUR et al., 1987; ADAMS & DAVIES, 1994; HEFTI et al., 1994; SPENCER et al.,

1997; WILSON et al., 1998; VARGA et al., 1998; BUSQUE et al., 1999; SPRATT et al., 1999). Nesta pesquisa, após 15 dias de suspensão do uso dos dois medicamentos, todos os animais que ficaram em observação passaram a apresentar o tecido gengival em condições de normalidade, mostrando uma relação dose-dependente da droga em relação ao efeito adverso.

Durante os exames clínicos, foram evidentes as alterações visuais de coloração nos tecidos gengivais dos grupos Cs2; Tc1 e Tc2 quando comparados ao grupo controle. Em relação ao tacrolimus, todos os animais do grupo Tc2 (dose superior à terapêutica) apresentaram alteração da coloração gengival e 60% daqueles que receberam dose terapêutica também mostraram essa alteração. Na literatura consultada, não foi encontrado nenhum trabalho que relatasse essas alterações provenientes da terapia com ciclosporina ou tacrolimus. Entretanto, são necessárias maiores investigações quando à natureza deste achado.

Baseado na eficácia do tacrolimus como agente imunossupressor (BUSUTIL et al., 1994; WILLIAMS et al., 1996; MAYER et al., 1997; PRATSCHKE et al., 1997; BADER et al., 1998; VAN HOOFF & CHRISTIAANS, 1999; JAMES et al., 2000), nos relatos de casos clínicos em humanos mostrando a redução do crescimento gengival advindos da substituição da ciclosporina para o tacrolimus (DODD, 1997; BADER et al., 1998; KOHNLE et al., 1998; BUSQUE et al., 1999; JAMES et al., 2000; HERNANDEZ et al., 2000; KENNEDY & LINDEN, 2000) e nas evidências apresentadas por este estudo, pode-se sugerir uma provável indicação para a substituição da ciclosporina pelo tacrolimus nos indivíduos que apresentam um grave crescimento gengival, após avaliação dos diferentes perfis de tolerabilidade dessas drogas. Assim, o tacrolimus pode ser uma importante opção para a prevenção das alterações periodontais nos indivíduos submetidos a transplantes de órgãos.

7 CONCLUSÕES

Este estudo comparativo em modelo animal pôde concluir que:

- a. a ciclosporina induziu crescimento gengival tanto na dose terapêutica como na dose superior à terapêutica;
- b. a gravidade do crescimento gengival foi maior no subgrupo Cs2 (dose superior à terapêutica) do que no subgrupo Cs1 (dose terapêutica), mostrando uma correlação positiva entre dose e gravidade do crescimento gengival;
- c. o tacrolimus não promoveu nenhuma alteração morfológica nos tecidos gengivais em ambos os subgrupos (Tc1 e Tc2);
- d. os efeitos adversos das drogas imunossupressoras neste experimento mostraram ser reversíveis; após a suspensão dos medicamentos houve completa remissão das alterações gengivais em 15 dias;
- e. os animais dos subconjuntos CS2 (dose superior à terapêutica) TC1 (dose terapêutica), TC2 (dose superior à terapêutica), apresentaram alteração de cor nos tecidos gengivais, quando comparado aos animais do grupo controle. Portanto, essas alterações clínicas necessitam de mais investigações.

8 SUMMARY

The purpose of this experimental study was to evaluate and compare the possible morphological alterations in the gingival tissues of rats, under the administration of the immunosuppressors cyclosporine and tacrolimus. This research was motivated by the high prevalence of gingival overgrowth associated with the use of cyclosporine, which can cause aesthetic, phonetic and functional alterations, and also by the reports of clinical cases that had shown significant decrease in gingival overgrowth after the replacement of the cyclosporine by the tacrolimus. The sample included 50 Sprague Dawley male rats, four to six weeks old, with an average weight of 165 to 225 grams. The animals were divided in five groups and received, during 54 days, through oral medication, therapeutic and higher than therapeutic doses in order to exacerbate the possible negative side effects. The animals were homogeneously selected and divided in groups, according to their weight. After animal selection, three groups were established. The Control Group (Cg), with 10 animals, received distilled water. The cyclosporine Group (Cs), made up of 20 animals, was subdivided in two sub groups of ten animals that received 10mg/kg/day (Cs1) and 30mg/kg/day (Cs2) of cyclosporine respectively. The tacrolimus group (Tc), also of 20 animals, was subdivided in two sub groups of ten animals that received 3,2mg/kg/day (Tc1) and 6,4mg/kg/day (Tc2) of tacrolimus respectively. The results have shown that the cyclosporine induced overgrowth in the groups treated with this medication. The severity of this overgrowth was higher in the animal group that received a higher cyclosporine dosage (Cs2) than in the group that received the therapeutic dose, showing a positive relation between dose and severity of gingival overgrowth. Based on this study evidences, we can suggest a possible prescription for the substitution of the cyclosporine by the tacrolimus in the individuals who show severe gingival overgrowth.

1. ADAMS, D.; DAVIES, G. Gingival hyperplasia associated with cyclosporin A; a report of 2 cases. **Br. Dent. J.**, London, v.157, n.3, p.89-90, Aug. 1994.
2. AGUIAR, M. A. **Crescimento gengival induzido por ciclosporina em indivíduos transplantados renais**. Belo Horizonte: Faculdade de Odontologia da UFMG, 2001. 264p. (Dissertação de mestrado, área de concentração: Periodontia).
3. BADER, G. et al. Reduction of cyclosporine-induced gingival overgrowth following a change to tacrolimus. A case history involving a liver transplant patient. **J. Periodontol.**, Chicago, v.69, n.6, p.729-732, June 1998.
4. BENNETT, J. A.; CHRISTIAN, J. M. Cyclosporine-induced gingival hyperplasia; case report and literature review. **J. Amer. Dent. Assoc.**, Chicago, v.111, n.2, p.272-273, Aug. 1985.
5. BÖKENKAMP, A. et al. Nifedipine aggravates cyclosporina A – induced gingival hyperplasia. **Pediatr. Nephrol.**, Berlin, v.8, n.2, p.181-185, Apr. 1994.
6. BOREAL, J. F.; FEURE, C.; GUBLER, H. U.; STAHELIN, H. Biological effects of cyclosporin A; a new antilymphocytic agent. **Agents and Actions**, v.6, p.468-475, 1976 apud SEYMOUR, R. A.; JACOBS, D. J. Cycloporin and the gingival tissues. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.19, n.1, p.1-11, Jan. 1992.
7. BUSQUE, S. et al. Hypertrichosis and gingival hypertrophy regression in renal transplants following the substitution of cyclosporin by tacrolimus. **Transplantation Proceedings**, v.8, n.8, p.87-89, July 1999.
8. BUSUTIL, R. W. et al. A comparison of tacrolimus (FK 506) and cyclosporine for immunosuppression in liver transplantation. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.331, n.12, p.1110-1115, Oct. 1994.
9. BUTTON, S.; PALACIOS, R. Cyclosporin A - usefulness, risks and mechanism of action. **Immunol. Rev.**, v.65, p.5, 1982 apud DALEY, T. D.; WY SOCK, G. P. Cyclosporine therapy. Its significance to the periodontist. **J. Periodontol.**, Chicago, v.55, n.12, p.708-712, Dec. 1984.

10. CALNE, R.Y. et al. Cyclosporin A in patients receiving renal allografts from cadaver donors. **Lancet**, London, v.1, n.1, p.1323-1327, Dec. 1979.
11. CEBECI, I. et al. Evaluation of the frequency of HLA determinants in patients with gingival overgrowth induced by ciclosporine-A. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.3, n.8, p.734-742, Aug. 1996b.
12. CEBECI, I. et al. The effect of verapamil on the prevalence and severity of cyclosporine-induced gingival overgrowth in renal allograft recipients. **J. Periodontol.**, Chicago, v.67, n.11, p.1201-1205, 1996a.
13. CONOVER, W. J. **Practical nonparametric statistics**. 3.ed. New York: John Wiley & Sons, 1999. 493p.
14. DALEY, T. D. et al. Clinical and pharmacologic correlations in cyclosporine-induced gingival hyperplasia. **Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol.**, St. Louis, v.62, n.4, p.417-421, Oct. 1986.
15. DALEY, T. D.; WYSOCKI, G. P. Cyclosporine therapy; its significance to the periodontist. **J. Periodontol.**, Chicago, v.55, n.12, p.708-712, Dec. 1984.
16. DELILIERS, G. L. et al. Light and electron microscopic study of cyclosporin A – induced gingival hyperplasia. **J. Periodontol.**, Chicago, v.57, n.12, p.771-775, Dec. 1986.
17. DIASIO, R. B., LOBUGLIO, A. F. **Imunomoduladores, imunossupressores e imunoestimulantes**. In: HARDMAN J.G. et al. Goodman & Gilman; As bases farmacológicas da terapêutica. 9.ed. Rio de Janeiro: McGraw Hill, 1999, 1436p. Cap. 52: p.953-965.
18. DODD, D. A. Rapid resolution of gingival hiperplasia after switching to tacrolimus (letter). **Journal of Heart and Lung Transplantation**, v.16, p.576, 1997.
19. FAULDS, D.; GOA, K. L.; BENFIELD, P. Cyclosporine; a review of its pharmacodynamic and pharmacokinetic properties use in immunoregulatory disorders. **Drugs**, Auckland, v.45, p.953-1040, 1993 apud CEBICI, I. et al. The effect of verapamil on the prevalence and severity of cyclosporine-induced gingival overgrowth in renal allograft recipients. **J. Periodontol.**, Chicago, v.67, n.11, p.1201-1205, Nov. 1996a.

20. FISCHER, R.G.; KLINGE, B. Clinical and histological evaluation of ligature induced periodontal breakdown in domestic ferrets immunosuppressed by cyclosporin A. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.21, p.240-249, May 1994.
21. FRISKOPP, J.; KLINTMALM, G. Gingival enlargement; a comparison between cyclosporine and azathioprine treated renal allograft recipients. **Swedish Dental Journal**, Jönköping, v.10, n.3, p.85-92, Dec. 1986.
22. FU, E. et al. Cyclosporine A induced gingival overgrowth in rats; macroscopic and microscopic observations. **Int. J. Periodontics Restorative Dent.**, Chicago, v.16, n.3, p.278-291, June 1996.
23. FU, E. et al. Dose-dependent gingival overgrowth induced by cyclosporine A in rats. **J. Clin. Periodontol.**, Chicago, v.66, n.7, p.594-598, July 1995.
24. FU, E. et al. Gingival overgrowth and dental alveolar alterations; possible mechanisms of cyclosporine-induced tooth migration. An experimental study in the rat. **J. Periodontol.**, Chicago, v.68, n.12, p.1231-1236, Dec. 1997a.
25. FU, E.; NIEH, S.; WIKESJÖ, U. M. E. The effect of plaque retention on cyclosporine-induced gingival overgrowth in rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v.68, p.92-98, Jan. 1997b.
26. HAINES, D. D. et al. Cardioprotective effects of the calcineurin inhibitor FK506 and the PAF receptor antagonist and free radical scavenger, Egb 761, in isolated ischemic / reperfused rat hearts. **J. Cardiovasc. Pharmacol.**, v.135, n.1, p.37-44, Jan. 2000.
27. HALLMON, W. W.; ROSSMANN, J. A. The role of drugs in the pathogenesis of gingival overgrowth. A collective review of current concepts. **Periodontology 2000**, Copenhagen, v.21, p.176-196, Oct. 1999.
28. HASSEL, T. M.; HEFTI, A. F. Drug-induced gingival overgrowth: old problem, new problem. **Crit. Rev. Oral Biol. Med.**, v.1, n.2, p.103-137, 1991.
29. HEFTI, A. F. et al. Gingival overgrowth in cyclosporine A treated multiple sclerosis patients. **J. Periodontol.**, Chicago, v.65, n.8, p.744-749, Aug. 1994.

30. HERNANDEZ, G.; ARRIBA, L.; LUCAS, M.; de ANDRES, A. Reduction of severe gingival overgrowth in a kidney transplant patient by replacing cyclosporine A with tacrolimus. **J. Periodontol.**, v.71, n.10, p.1630-1636, Oct. 2000.
31. HESS, A. D.; COLOMBANI, P. M. Mechanism of action of cyclosporine: a unifying hypothesis. **Adv. Exp. Med. Biol.**, New York, v.213, p.309-330, 1987.
32. JAMES, J. A. et al. Gingival fibroblast response to cyclosporine A and transforming growth factor B1. **J. Periodont. Res.**, v.33, n.1, p.40-48, Jan. 1998.
33. JAMES, J. A. et al. Reduction in gingival overgrowth associated with conversion from cyclosporine A to tacrolimus. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.27, n.2, p.144-148, Feb. 2000.
34. JIANG, H. et al. Tacrolimus versus cyclosporine A; a comparative study on rat renal allograft survival. **Transpl. Int.**, v.12, n.2, p.92-99, Mar. 1999.
35. JOHNSON, R.; BHATTACHARYYA, G. **Statistics principles and methods**. New York: John Wiley & Sons, 1986, 578p.
36. KENNEDY, D.S.; LINDEN, G.J. Resolution of gingival overgrowth following change from cyclosporine to tacrolimus therapy in a renal transplant patient.. **J. Ir. Dent. Assoc.**, Ireland, v.46, n.1, p.3-4, 2000.
37. KIMBALL, O. P. The treatment of epilepsy with sodium diphenil hydantoinate. **J. Am. Med. Assoc.**, Chicago, v.112, n.13, p.1244-1245, Apr. 1939.
38. KING, G. N. et al. Gingival hiperplasia in renal allograft recipients receiving cyclosporine-A and calcium antagonists. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.20, n.4, p.286-293, Apr. 1993.
39. KOHNLE, P. et al. Conversion to tacrolimus in cyclosporine A treated patients with gum hyperplasia. **Transpl. Proc.**, New York, v.30, p.2122-2123, 1998.
40. LAUPACIS, A. et al. Cyclosporine A; a powerful immunossupressant. **Can. Med. Assoc. J.**, Ottawa, v.126, p.1041-1046, 1982 apud SEYMOUR, R. A.; JACOBS, D. J. Cyclosporine and the gingival tissues. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.19, n.1, p.111, Jan. 1992.

41. LEDERMAN, D. et al. Gingival hyperplasia associated with nifedipine therapy. **Oral Surg. Oral Med. Oral Pathol.**, St. Louis, v.57, p.620-622, 1984.
42. MARGIOTTA, V., et al. Cyclosporine-and nifedipine – induce gingival overgrowth in renal transplant patients: correlation with periodontal and pharmacological parameters, and HLA – antigens. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.25, n.3, p.128, Mar. 1996.
43. MAYER, A. D. et al. Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection. **Transplantation**, v.64, n.3, p.436-443, Aug. 1997.
44. McGAW, T.; LAM, S.; COATES, J. Cyclosporine-induced gingival overgrowth; correlation with dental plaque scores, gingivitis scores, and cyclosporine levels in serum and saliva. **Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol.**, St. Louis, v.64, n.3, p.293-297, Sept. 1987.
45. MORISAKI, I. et al. Age dependency of cyclosporine A-induced gingival overgrowth in rats. **Pediatr. Dent.**, Chicago, v.15, n.6, p.414-417, Nov./Dec. 1993.
46. MORISAKI, I. et al. Positive correlation between blood cyclosporine A level and severity of gingival overgrowth in rats. **J. Periodontol.**, Chicago, v.68, n.1, p.7-11, Jan. 1997.
47. NARES, S. et al. Cyclosporine A upregulates platelet-derived growth factor B Cain in hyperplastic human gingival. **J. Periodontol.**, Chicago, v.67, n.3, p.271-278, Mar. 1996.
48. NEUHAUS, H. et al. Comparison of FK 506 and cyclosporine A-based immunosuppression in primary orthotopic liver transplantation. **Transplantation**, Berlin, v.49, n.1, p.31-40, Jan. 1995.
49. NIEH, S. et al. Histopathology alterations of periodontium in cyclosporin-treated rats. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.23, n.8, p.730-736, Aug. 1996.
50. NISHIKAWA, S. et al. Pathogenesis of drugs-induced gingival overgrowth. A review of studies in the rat model. **J. Periodontol.**, Chicago, v.67, n.5, p.463-471, May 1996.
51. PALESTINE, A. G.; NUSSENBLANTT, R. B.; CHAN, C-C. Side effects of systemic cyclosporine in patients not undergoing transplantation. **Am. J. Med.**, Newton, v.77, p.652-656, Oct. 1984.

52. PERNU, H. E. et al. Effect of periodontal treatment on gingival overgrowth among cyclosporine A – treated renal transplant recipients. **J. Periodontol.**, Chicago, v.64, n.11, p.1098-1100, Nov. 1993.
53. PERNU, H. E. et al. Gingival overgrowth among renal transplant recipients related to immunosuppressive medication and possible local background factors. **J. Periodontol.**, Chicago, v.63, n.6, p.548-553, June 1992.
54. PILATTI, G. L.; SAMPAIO, J. E. The influence of chlorhexidine on the severity of cyclosporine A – induced gingival overgrowth. **J. Periodontol.**, Chicago, v.68, n.9, p.900-904, Sept. 1997.
55. PLOSKER, G. L.; FOSTER, R. H. Tacrolimus a further update of its pharmacology and therapeutic use in the management of organ transplantation. **Drugs**, v.59, n.2, p.323-389, Feb. 2000.
56. PRATSCHKE, J. et al. Treatment of cyclosporine-related adverse effects by conversion to tacrolimus after liver transplantation. **Transplantation**, Berlin, v.64, n.6, p.938-940, Sept. 1997.
57. RAMON, Y. et al. Gingival hyperplasia caused by nifedipine; a preliminary report. **Int. J. Cardiol.**, Limerick, v.5, n.2, p.195-206, Feb. 1984.
58. RATEITSCHAK-PLUSS, E. M. et al. Initial observation that cyclosporine A induces gingival enlargement in man. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.10, n.3, p.237-246, May 1983.
59. ROSS, P. J. et al. Effects of cyclosporine A on gingival status following liver transplantation. **Journal of Dentistry for Children**, Guilford, v.56, n.1, p.56-59, Jan./Feb. 1989.
60. ROSTOCK, M. H.; FRY, H. R.; TURNER, J. E. Severe gingival overgrowth associated with cyclosporine therapy. **J. Periodontol.**, Chicago, v.57, n.5, p.294-299, May 1986.
61. RYFFEL, B. et al. Toxicological evaluation of cyclosporine A. **Archives of Toxicology**, Berlin, v.53, n.2, p.107-141, June 1983.
62. SAS INSTITUTE INC. SAS. User's guide: **Statistics version 5**. Cary NC: SAS Institute Inc., 1985.
63. SEIBEL, W. et al. Cyclosporine - induced gingival overgrowth in beagle dogs. **J. Oral Pathol. Med.**, Copenhagen, v.18, n.4, p.240-245, Apr. 1989.

64. SEYMOUR, R. A.; SMITH, D. G. The effect of a plaque control program on the incidence and severity of cyclosporine-induced gingival changes. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.18, n.2, p.107-110, Feb. 1991.
65. SEYMOUR, R. A.; ELLIS, J. S.; THOMASON, J. M. Drug-induced gingival overgrowth and its management. **J. Coll. Surg.** Edinh, v.38, n.6, p.328-332, Dec. 1993. (Abstract Available) [Medline].
66. SEYMOUR, R. A.; HERASMAN, P. A. Drugs and the periodontium. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.15, n.1, p.1-16, Jan. 1992.
67. SEYMOUR, R. A.; JACOBS, D. J. Cyclosporine and the gingival tissues. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.19, n.1, p.1-11, Jan. 1992.
68. SEYMOUR, R. A.; SMITH, D. G.; ROGERS, S. R. The comparative effects of azathioprine and cyclosporine on some gingival health parameters of renal transplant patients. A longitudinal study. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.14, p.610-613, 1987.
69. SEYMOUR, R. A.; THOMASON, J. M.; ELLIS, J. M. The pathogenesis of drugs-induced gingival overgrowth. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.23, n.3, p.165-175, Mar. 1996.
70. SOMACARRERA, M. L. et al. Factors related to the incidence and severity of cyclosporine-induced gingival overgrowth in transplant patients; a longitudinal study. **J. Periodontol.**, Chicago, v.65, n.7, p.671-675, July 1994.
71. SPENCER, C. M.; GOA, K. L.; GILLIS, J. C. An update of its pharmacology and clinical efficacy in the management of organ transplantation. **Aids International Limited**, Auckland, v.54, n.6, p.925-975, Dec. 1997.
72. SPRATT, H. et al. Cyclosporine associated gingival overgrowth in renal transplant recipients. **Oral Diseases**, Houndmills, v.5, n.1, p.27-30, Jan. 1999.
73. STARZL, T. E. et al. Liver transplantation with use of ciclosporina A and prednisone. **N. Engl. J. Med.**, Boston, v.305, n.5, p.266-269, July 1981.
74. SUGANO, N. et al. Cyclosporine A inhibits collagenase gene expression via AP-1 and JNK suppression in human gingival fibroblasts. **J. Periodontal Res.**, v.33, n.8, p.448-452, Nov. 1998.
75. THOMAS, D. W.; NEWCOMBE, R. G.; OSBORNE, G. R. Risk factors in the development of cyclosporine-induced gingival overgrowth. **Transplantation**, Baltimore, v.69, n.4, p.522-526, Feb. 2000.

76. THOMASON, J. M.; SEYMOUR, R. A.; RICE, N. The prevalence and severity of cyclosporine and nifedipine-induced gingival overgrowth. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.20, n.1, p.37-40, Jan. 1993.
77. TYLDESLEY, W. R.; ROTTER, E. Gingival hyperplasia induced by cyclosporine A. **Br. Dent. J.**, London, v.157, n.10, p.305-309, Nov. 1984.
78. VAN HOOFF, J. P.; CHRISTIAANS, M. H. Use of tacrolimus in renal transplantation. **Transplant Proc.**, v.8, p.3298-3299, Dec. 1999. Disponível [www.infoc.com.br.imloc.@janbr.Jnj.com](http://www.infoc.com.br/imloc.@janbr.Jnj.com). Acesso em 18/07/00.
79. VARGA, E. et al. Pre-transplant gingival hyperplasia predicts severe cyclosporine-induced gingival overgrowth in renal transplant patients. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.25, n.3, p.225-230, Mar. 1998.
80. WILLIAMS, R. et al. Two year data from the European multicentre tacrolimus (FK 506) liver study. **Transplant Int. Suppl.**, v.1, p.144-150, 1996. Disponível em infoc@jamb.Jnj.com. Acesso em 10/07/00.
81. WILLIAMSON, M. S. et al. Cyclosporine A upregulates interleukin-6 gene expression in human gingival; possible mechanism for gingival overgrowth. **J. Periodontol.**, Chicago, v.65, n.10, p.895-903, Oct. 1994.
82. WILSON, R. F. et al. Contribution of individual drugs to gingival overgrowth in adult and juvenile renal transplant patients treated with multiple therapy. **J. Clin. Periodontol.**, Copenhagen, v.25, n.6, p.457-464, June 1998.
83. WYSOCKI, G. P. et al. Fibrous hyperplasia of the gingiva; a side effect of cyclosporine A therapy. **Oral Surg., Oral Med., Oral Pathol.**, New York, v.55, n.3, p.274-278, Mar. 1983.

ANEXO A

Peso individual dos ratos, considerando-se os grupos

Grupo	Sema-na	Ratos									
		1 (gr)	2 (gr)	3 (gr)	4 (gr)	5 (gr)	6 (gr)	7 (gr)	8 (gr)	9 (gr)	10 (gr)
Gc	1ª	233,4	232,9	207,9	206,4	250,8	175,2	275,2	181,2	220,3	268,3
	2ª	278,7	251,9	251,3	271,8	281,8	220,8	299,7	231,0	255,2	297,6
	3ª	300,2	304,7	275,7	288,7	271,2	247,0	311,9	266,4	272,4	305,8
	4ª	321,5	301,6	293,7	311,5	310,0	300,0	326,1	289,1	292,3	332,0
	5ª	352,5	374,0	334,5	338,0	372,7	291,0	319,7	341,7	328,7	355,4
	6ª	339,1	317,3	310,8	332,0	332,0	342,2	290,1	312,0	348,7	364,0
	7ª	379,4	403,4	304,1	359,6	328,2	326,4	370,5	349,8	352,6	354,5
	8ª	394,5	414,5	375,5	356,5	330,5	341,5	383,5	355,0	355,5	365,5
	9ª	369,8	404,5	362,3	364,3	338,2	373,5	317,7	355,1	366,5	347,3
Cs1	1ª	175,0	178,5	170,5	154,5	165,5	151,0	195,0	150,7	190,5	152,5
	2ª	218,4	212,5	212,9	195,3	196,4	216,0	204,9	231,9	185,5	234,7
	3ª	266,8	238,0	251,8	245,7	230,2	253,5	262,0	270,7	225,9	226,1
	4ª	299,0	294,5	269,3	289,0	261,9	256,9	258,7	258,4	299,3	283,1
	5ª	325,8	276,1	281,2	322,5	308,3	284,9	290,6	280,4	341,1	319,1
	6ª	331,3	279,5	283,5	328,5	281,5	316,2	322,5	291,2	286,0	336,2
	7ª	378,2	397,8	316,3	366,0	310,9	343,0	375,9	323,6	318,3	357,3
	8ª	378,5	299,4	324,6	375,2	316,6	329,5	390,9	372,6	327,7	326,7
	9ª	351,2	300,0	343,5	372,0	307,5	327,5	380,5	325,5	323,2	366,0
Cs2	1ª	185,5	170,5	166,0	193,8	153,7	139,5	209,0	150,5	177,0	147,0
	2ª	205,7	191,4	195,4	193,8	176,8	201,3	253,7	191,0	207,9	182,0
	3ª	259,5	227,7	230,7	217,9	228,9	210,6	285,6	200,9	235,6	228,4
	4ª	244,1	240,3	259,3	254,3	267,9	304,6	240,0	264,7	251,3	236,0
	5ª	259,4	252,1	281,7	262,4	269,2	251,2	276,9	296,3	251,6	257,2
	6ª	242,7	239,5	274,5	279,5	240,5	248,5	254,0	279,5	259,5	248,5
	7ª	211,3	271,6	313,9	250,6	271,3	268,4	269,6	312,4	289,0	264,6
	8ª	269,6	275,7	319,5	248,4	291,0	295,8	281,5	318,2	294,7	282,7
	9ª	248,5	249,0	322,5	224,0	281,5	291,0	270,0	314,0	279,0	256,0
Tc1	1ª	188,5	175,7	178,5	206,3	195,5	205,2	203,7	193,1	173,6	177,2
	2ª	228,4	201,5	227,7	254,1	248,0	244,6	238,5	234,4	214,8	218,4
	3ª	251,7	228,3	226,7	281,5	276,2	258,2	284,2	260,8	258,6	244,1
	4ª	272,9	275,6	286,4	238,7	299,2	303,8	279,5	275,0	266,0	300,0
	5ª	309,0	341,8	265,3	327,7	314,5	297,8	317,8	342,2	306,9	298,4
	6ª	311,5	352,5	266,3	314,5	337,0	392,5	312,5	348,5	296,0	305,5
	7ª	338,5	286,4	346,8	384,3	360,7	395,4	324,4	331,4	355,0	323,3
	8ª	340,4	297,7	358,1	392,8	371,5	390,7	333,9	366,9	344,2	333,8
	9ª	368,5	304,5	396,0	341,5	375,5	393,0	333,5	368,0	336,5	345,5
Tc2	1ª	208,7	203,5	207,2	204,3	189,4	214,5	224,3	214,2	210,5	226,5
	2ª	262,0	235,3	242,9	232,9	219,7	243,9	265,2	243,8	224,8	253,4
	3ª	227,6	246,4	248,5	241,5	226,3	253,6	272,8	252,1	233,2	266,1
	4ª	327,6	291,3	279,8	287,1	283,4	256,3	310,9	294,1	275,4	296,8
	5ª	307,8	300,8	278,7	293,9	309,7	318,4	335,8	325,6	293,6	361,6
	6ª	367,0	302,7	299,2	315,8	312,5	287,4	331,5	330,0	324,4	315,8
	7ª	401,7	341,1	328,3	319,6	313,6	341,0	347,4	360,2	338,1	368,3
	8ª	419,3	343,1	324,8	326,6	348,3	320,5	360,8	362,0	345,0	366,0
	9ª	412,5	349,8	324,5	338,0	349,5	369,5	365,5	364,5	347,5	367,5

ANEXO B

Medidas de tendência central (média com desvio padrão) para peso individual dos ratos

Grupo	Semana	Medidas descritivas				
		Mínimo (gr)	Máximo (gr)	Média (gr)	Desvio	CV
Gc	1 ^a	175,20	275,20	225,16	33,75	14,99
	2 ^a	220,80	299,70	263,98	26,54	10,05
	3 ^a	247,00	311,90	284,40	21,11	7,42
	4 ^a	289,10	332,00	307,78	14,96	4,86
	5 ^a	290,10	364,00	322,82	21,54	6,55
	6 ^a	291,00	374,00	340,82	24,92	7,31
	7 ^a	317,70	404,50	350,92	23,03	6,40
	8 ^a	304,10	403,40	362,85	28,51	8,08
	9 ^a	330,50	414,50	376,25	25,23	6,87
Cs1	1 ^a	150,70	195,00	168,37	16,69	9,73
	2 ^a	185,50	234,70	210,85	15,74	7,47
	3 ^a	225,90	270,70	247,07	16,64	6,73
	4 ^a	256,90	299,30	277,01	17,77	6,41
	5 ^a	276,10	341,10	303,00	23,17	7,65
	6 ^a	279,50	336,20	305,64	23,24	7,60
	7 ^a	310,90	397,80	348,73	30,66	8,79
	8 ^a	299,40	390,90	344,17	31,75	9,22
	9 ^a	300,00	380,50	339,69	27,45	8,08
Cs2	1 ^a	139,50	209,00	169,25	22,34	13,20
	2 ^a	176,80	253,70	199,90	21,23	10,62
	3 ^a	200,90	285,60	232,58	24,28	10,44
	4 ^a	236,00	304,60	256,25	20,16	7,87
	5 ^a	251,20	296,30	265,80	15,08	5,67
	6 ^a	239,50	279,50	256,67	15,85	6,17
	7 ^a	211,30	313,60	272,27	29,61	10,88
	8 ^a	248,40	319,50	287,71	21,46	7,46
	9 ^a	224,00	322,50	273,55	30,61	11,19
Tc1	1 ^a	173,60	206,30	189,73	12,90	6,79
	2 ^a	201,50	254,10	231,04	16,28	7,05
	3 ^a	226,70	284,20	257,03	20,18	7,85
	4 ^a	238,70	303,80	279,71	19,36	6,92
	5 ^a	265,30	342,20	312,14	22,82	7,31
	6 ^a	266,30	392,50	323,68	35,13	10,85
	7 ^a	286,40	395,40	344,62	31,60	9,17
	8 ^a	297,70	392,80	353,00	29,05	8,23
	9 ^a	304,50	396,00	356,25	28,88	8,11
Tc2	1 ^a	189,40	226,50	210,31	10,66	5,07
	2 ^a	219,70	265,20	242,39	14,89	6,14
	3 ^a	226,30	272,80	246,81	15,38	6,23
	4 ^a	256,30	327,60	290,27	19,49	6,72
	5 ^a	278,70	361,60	312,59	23,97	7,67
	6 ^a	287,40	367,00	318,63	21,93	6,88
	7 ^a	313,60	401,70	345,93	25,77	7,45
	8 ^a	320,50	419,30	351,64	28,71	8,17
	9 ^a	324,50	412,50	358,88	23,70	6,60

ANEXO C

Medidas do exame base e do segundo exame

<i>Ratos</i>		Exame base					Segundo exame				
		C	Cs1	Cs2	Tc1	Tc2	C	Cs1	Cs2	Tc1	Tc2
1.	JMG/I	12	12	11	12	12	12	12	11	12	12
	MG/I	9	10	6	10	10	9	9	6	10	10
2.	JMG/I	12	12	12	11	12	12	12	12	11	12
	MG/I	9	9	5	10	9	9	8	5	10	9
3.	JMG/I	12	13	12	12	12	12	13	12	12	12
	MG/I	9	9	7	10	9	9	8	7	10	9
4.	JMG/I	12	12	11	12	12	12	12	11	12	12
	MG/I	9	9	5	10	10	9	9	5	10	10
5.	JMG/I	12	12	11	12	12	12	12	11	12	12
	MG/I	9	9	4	10	10	9	7	4	10	10
6.	JMG/I	12	11	11	12	12	12	11	11	12	12
	MG/I	9	9	8	10	9	9	8	8	10	9
7.	JMG/I	13	12	11	12	12	13	12	11	12	12
	MG/I	10	9	6	10	10	10	7	6	10	10
8.	JMG/I	12	12	11	12	11	12	12	11	12	11
	MG/I	9	10	7	9	10	9	8	7	9	10
9.	JMG/I	11	12	12	12	12	11	12	12	12	12
	MG/I	9	9	7	10	10	9	8	7	10	10
10.	JMG/I	12	13	11	12	12	12	12	11	12	12
	MG/I	10	9	6	10	10	10	8	6	10	10

Legenda:

C = Controle

Cs1 = Ciclosporina 1

Cs2 = Ciclosporina 2

JMG/I = Junção mucogengival / incisal

MG/I = Margem gengival / incisal

Tc1 = Tacrolimus 1

Tc2 = Tacrolimus 2

Concordância intra-examinador

<i>Ratos</i>		Exame base					Segundo exame				
		C	Cs1	Cs2	<i>Tc1</i>	Tc2	C	Cs1	Cs2	<i>Tc1</i>	Tc2
1.	JMG/I	12	12	12	12	12	12	12	11	12	12
	MG/I	9	9	9	10	10	9	9	6	10	10
2.	JMG/I	12		12	12		12		12	11	
	MG/I	9		9	10		9		5	9	
3.	JMG/I				12	12				12	12
	MG/I				9	10				10	10
4.	JMG/I	12	12			12	12	12			12
	MG/I	9	10			10	9	9			10
5.	JMG/I				12	12				12	12
	MG/I				10	9				10	10
6.	JMG/I	12		11			12	11			
	MG/I	9		9			9	8			
7.	JMG/I		12					12			
	MG/I		9					7			
8.	JMG/I		12					12			
	MG/I		9					8			
9.	JMG/I			12					12		
	MG/I			9					8		
10.	JMG/I										
	MG/I										

Legenda:

C = Controle

Cs1 = Ciclosporina 1

Cs2 = Ciclosporina 2

JMG/I = Junção mucogengival / incisal

Tc1 = Tacrolimus 1

Tc2 = Tacrolimus 2

MG/I = Margem gengival / incisal