

Luís Otávio de Miranda Cota

**VARIÁVEIS DE RISCO ASSOCIADAS AO  
CRESCIMENTO GENGIVAL  
EM INDIVÍDUOS TRANSPLANTADOS RENAIIS  
SOB OS REGIMES IMUNOSSUPRESSORES DE  
CICLOSPORINA, TACROLIMUS E SIROLIMUS**

Belo Horizonte  
Faculdade de Odontoloiga – UFMG  
2009

Luís Otávio de Miranda Cota

**VARIÁVEIS DE RISCO ASSOCIADAS AO  
CRESCIMENTO GENGIVAL  
EM INDIVÍDUOS TRANSPLANTADOS RENAIIS  
SOB OS REGIMES IMUNOSSUPRESSORES DE  
CICLOSPORINA, TACROLIMUS E SIROLIMUS**

Tese apresentada ao Colegiado de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, como requisito parcial para obtenção do grau de Doutor, área de concentração Periodontia.

Orientação: Prof. Dr. Fernando de Oliveira Costa  
Co-orientação: Profa. Dra. Sheila Cavalca Cortelli

Belo Horizonte  
Faculdade de Odontoloiga – UFMG

2009

Se o teu desejo de chegar for grande, nenhum  
esforço te parecerá demasiado penoso.

E, embora vás a caminho, terás sempre contigo  
qualquer coisa que é já de ter chegado.

Talvez uma certa forma de olhar, resultante daquela  
luz que se acende por dentro quando nos pomos a  
caminho dispostos a tudo o que aparecer.

(Paulo Geraldo)

## **APOIO FINANCEIRO**

CAPES – Coordenação de Aperfeiçoamento de  
Pessoal de Ensino Superior;

FAPEMIG – Fundação de Amparo a Pesquisa do  
Estado de Minas Gerais.

## **AGRADECIMENTOS**

Dr. José Maria Figueiró e toda a equipe da Unidade de Transplante do Hospital Felício Rocho;

Dr. Fernando das Mercês de Lucas Júnior e toda a equipe de Transplante do Ambulatório Bias Fortes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais;

Dr. José Eustáquio da Costa, Dr. Fernando de Oliveira Costa e todos os professores do curso de Periodontia;

Dr. Ricardo Santiago Gómez, Dra. Paula Rocha Moreira e toda a equipe do Laboratório de Patologia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais;

Dr. José Roberto Cortelli, Dra. Sheila Cavalca Cortelli e toda a equipe do Laboratório de Biologia Molecular da Universidade de Taubaté;

Ana Paula Lima de Oliveira, Michelle Beatriz Viana, Fernanda Mafra Siqueira, Érika Storck Cezário, Sérgio Diniz Ferreira e todos os colegas da pós-graduação em Periodontia;

Familliares e amigos;

Obrigado!

## RESUMO

Estudos sobre o crescimento gengival (CG) e fatores de risco a ele relacionados em transplantados renais sob uso dos imunossupressores ciclosporina A (CsA) e tacrolimus (Tcr) têm mostrado resultados diversos e não foram encontrados relatos sobre avaliações com sirolimus (Sir). Assim, o presente estudo, apresentado na forma de uma revisão de literatura e três artigos científicos, teve as seguintes propostas de investigação: 1) avaliar a prevalência, gravidade e variáveis de risco associadas ao CG nos regimes de imunossupressão baseados em Sir; 2) avaliar o polimorfismo do gene da interleucina-6 (IL-6) em indivíduos medicados com CsA, Tcr e Sir e sua associação com o CG; e 3) avaliar a frequência microbiana e variáveis de risco para o CG no regimes de imunossupressão baseados em CsA, Tcr e Sir. Uma amostra elegível foi selecionada em dois hospitais públicos de Belo Horizonte, Brasil. Participaram do estudo transplantados renais de ambos os gêneros, faixa etária variada, grupo racial heterogêneo, com no mínimo 6 dos 12 dentes anteriores. Os dados periodontais incluíram avaliação visual do CG, índice de placa e índice de sangramento papilar. Raspados de mucosa jugal foram coletados e o polimorfismo IL-6 (-174 G/C) avaliado por PCR-RFLP (*Polomyrase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorfism*). Amostras de saliva não estimulada foram coletadas e a presença de

*Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Parvimonas micra*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* foi estabelecida pelo método de PCR (*Polymerase Chain Reaction*). Uma análise descritiva e comparativa das variáveis demográficas, farmacológicas, periodontais, genótipos e alelos G/C, e frequências microbianas foi realizada para a caracterização dos indivíduos, dicotomizados em CG+ e CG-, utilizando testes apropriados. O primeiro estudo (n = 144) mostrou em usuários de Sir uma prevalência de CG de 20,8% associado ao tempo de transplante, ao sangramento papilar e uso prévio de inibidores de calcineurina, entretanto este CG não foi considerado clinicamente significativo. O segundo estudo (n = 135, sendo CsA n = 45, Tcr n = 45, Sir n = 45) mostrou que não houve diferença significativa na distribuição dos genótipos GG, GC e CC, bem como dos alelos G e C para o gene da IL-6 entre indivíduos CG+ e CG- em qualquer dos regimes imunossupressores. O terceiro estudo (n = 135, sendo CsA n = 45, Tcr n = 45, Sir n = 45) mostrou que houve diferença significativa entre indivíduos CG+ e CG- em relação a frequência dos patógenos periodontais avaliados, em especial *Tannerella forsythia* para os regimes imunossupressores baseados em Tcr. De um modo geral, variáveis farmacológicas, representadas pelo uso prévio de CsA e uso concomitante de bloqueadores de canais de cálcio, e periodontais, representadas pelo sangramento papilar, foram associadas ao CG. Os achados do presente estudo apontam para a importância de variáveis de risco periodontais (sangramento/inflamação) e farmacológicas (sinergismo de drogas) na ocorrência do CG. Uma integração entre a equipe de saúde médica e odontológica na terapia de manutenção dos indivíduos transplantados

torna-se necessária. O manejo da condição periodontal em indivíduos pós-transplante renal pode melhorar a sua condição gengival e conseqüentemente a qualidade de vida.

**Palavras-chave:** ciclosporina A, crescimento gengival, fatores de risco, sirolimus, tacrolimus, transplante renal.



## **ABSTRACT**

Studies regarding gingival overgrowth (GO) and its associated risk factors in renal transplant recipients under cyclosporine A (CsA) and tacrolimus (Tcr) immunosuppressive regimens have shown conflicting findings and there is no available data regarding sirolimus (Sir). Therefore, the present study which is displayed as a review of literature and 3 scientific papers aimed to evaluate: 1) prevalence, severity and risk variables associated with GO in subjects under Sir-based regimens; 2) interleukin-6 (IL-6) gene polymorphism in subjects medicated with CsA, Tcr, and Sir and its association with GO; and 3) bacterial frequency and risk variables associated with GO in subjects under CsA, Tcr, and Sir-based immunosuppressive regimens. An eligible sample was selected from two public hospitals in Belo Horizonte city, Brasil. Participants were all renal transplant recipients, from both gender and multiethnic group, were 18 years old or more and had a minimum of six of the twelve most anterior teeth in the upper or lower dental arches. Periodontal assessment included visual inspection of GO, plaque index, and papillary bleeding index. Oral mucosa swabs were taken once from all subjects and IL-6 (-174 G/C) polymorphism evaluated through PCR-RFLP (*Polymerase Chain Reaction - Restriction Fragment Length Polymorphism*). Non-stimulated saliva samples were collected and the presence of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas*

*gingivalis*, *Parvimonas micra*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* was assessed through PCR (*Polymerase Chain Reaction*). A descriptive analysis and comparisons between GO+ and GO- subjects were performed in relation to demographic, pharmacological, and periodontal variables, as well as IL-6 genotypes and alleles, and bacterial frequencies, through appropriate testes. The first study (n = 144) regarding Sir-based regimens demonstrated a GO prevalence of 20.8% associated with time since transplant, papillary bleeding index, and calcineurin inhibitors previous use. However, GO was determined not to be clinically significant. The second study (n = 135, that is CsA n = 45, Tcr n = 45, Sir n = 45) showed no significant differences in the distribution of IL-6 GG, GC, and CC genotypes, as well as G and C alleles between GO+ and GO- subjects in any of the immunosuppressive regimens under investigation. The third study (n = 135, that is CsA n = 45, Tcr n = 45, Sir n = 45) showed a significant difference between GO+ and GO- subjects in relation to the frequency of periodontal pathogens, specially in regards to *Tannerella forsythia* in Tcr-based immunosuppressive regimens. In general, pharmacological variables, represented by CsA previous use and concomitant use of calcium channel blockers, and periodontal variables, represented by papillary bleeding, were associated with GO. Findings from the present study point towards the importance of periodontal variables (bleeding/inflammation) and pharmacological variables (drug synergism) in the occurrence of GO. Cooperation between medical and dental health care personnel in the maintenance therapies of renal transplant recipients prove to be necessary. Managing periodontal conditions in post-transplant subjects under

immunosuppressive maintenance regimens may improve gingival status and quality of life.

**Key-words:** cyclosporine A, gingival overgrowth, renal transplantation, risk factors, sirolimus, tacrolimus.

## SUMÁRIO

	LISTA DE ABREVIATURAS	14
<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO</b>	<b>15</b>
<b>2</b>	<b>HISTÓRICO DA LINHA DE PESQUISA</b>	<b>19</b>
	Crescimento gengival em indivíduos transplantados renais	
<b>3</b>	<b>REVISÃO DE LITERATURA</b>	<b>21</b>
3.1	CRESCIMENTO GENGIVAL E TERAPIAS IMUNOSSUPRESSORAS EM TRANSPLANTADOS RENAIIS	21
3.2	CRESCIMENTO GENGIVAL E TERAPIAS IMUNOSSUPRESSORAS COM CICLOSPORINA	24
3.3	CRESCIMENTO GENGIVAL E TERAPIAS IMUNOSSUPRESSORAS COM TACROLIMUS	25
3.4	CRESCIMENTO GENGIVAL E TERAPIAS IMUNOSSUPRESSORAS COM SIROLIMUS	27
3.5	BIOLOGIA MOLECULAR E CRESCIMENTO GENGIVAL	29
3.6	MICROBIOLOGIA E CRESCIMENTO GENGIVAL	31
<b>4</b>	<b>OBJETIVOS</b>	<b>34</b>
4.1	OBJETIVO GERAL	35
4.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS	35
<b>5</b>	<b>HIPÓTESES</b>	<b>37</b>
<b>6</b>	<b>CONSIDERAÇÕES ÉTICAS E METODOLÓGICAS</b>	<b>38</b>

<b>7</b>	<b>ARTIGOS CIENTÍFICOS</b>	<b>41</b>
7.1	ARTIGO CIENTÍFICO N <sup>o</sup> . 1 Condição gengival de indivíduos transplantados renais brasileiros sob regimes imunossupressores baseados em sirolimus	41
7.2	ARTIGO CIENTÍFICO N <sup>o</sup> . 2 Crescimento gengival nos regimes imunossupressores baseados em ciclosporina, tacrolimus ou sirolimus e o polimorfismo de base única IL-6 (-174 G/C)	70
7.3	ARTIGO CIENTÍFICO N <sup>o</sup> . 3 Variáveis de risco associadas ao crescimento gengival em transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em ciclosporina, tacrolimus ou sirolimus	97
<b>8</b>	<b>CONSIDERAÇÕES FINAIS</b>	<b>128</b>
	<b>REFERÊNCIAS</b>	<b>131</b>
	<b>ANEXOS</b>	<b>151</b>

## LISTA DE ABREVIATURAS

BCC –	bloqueadores de canais de cálcio
CG –	crescimento gengival
CsA –	ciclosporina A
MMF –	micofenolato mofetil
IL-6 –	interleucina 6
INC –	inibidores de calcineurina
PCR –	reação em cadeia da polimerase
Sir –	sirolimus
Tcr –	tacrolimus

## 1 INTRODUÇÃO

O crescimento gengival (CG) é caracterizado por um aumento de volume gengival, localizado geralmente nas papilas gengivais sem se estender além da junção mucogengival (Bader *et al.*, 1998). As regiões anteriores são mais comumente afetadas. Entretanto, este tipo de alteração de volume pode afetar todas as regiões da boca (Somacarrera *et al.*, 1994). Algumas vezes, o CG pode atingir níveis de gravidade maiores e se estender coronariamente, interferindo na oclusão, mastigação, fonética e estética, com prejuízo para a qualidade de vida do indivíduo (James *et al.*, 2000).

O CG pode se originar de uma grande variedade de causas. Está geralmente relacionado à administração sistêmica de algumas drogas (AAP, 2004), como a fenitoína (Angelopoulos, 1975), nifedipina (Jones, 1986), ciclosporina-A (CsA) (Rateitschark-Plüs *et al.*, 1983) e tacrolimus (Tcr) (Ellis *et al.*, 2004).

Este aumento no volume gengival tem sido um efeito colateral freqüente em terapias imunossupressoras pós-transplante (Kataoka *et al.*, 2005). Indivíduos que sofreram transplante de órgãos sólidos são frequentemente medicados com CsA, muitas vezes associada a outros agentes imunossupressores como a azatioprina e a prednisona, para uma terapia de manutenção. Adicionalmente, alguns indivíduos fazem uso concomitante de drogas bloqueadoras de canais de cálcio. Estes agentes auxiliares também apresentam um impacto no CG (AAP, 2004). Estudos têm demonstrado uma ampla variabilidade em relação à

prevalência CG, sugerindo que 25% a 81% dos indivíduos sob regimes de CsA apresentam CG em algum grau (AAP, 2004, Seymour *et al.*, 1992; Thomason *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2006).

Outra droga usada como agente imunossupressor principal em terapias de manutenção pós-transplante é o Tcr. Estudos sobre o CG em regimes imunossupressores de Tcr, um agente alternativo a CsA, têm mostrado resultados diversos. Alguns estudos não relataram alterações de volume nos tecidos gengivais, enquanto outros sugeriram que a ocorrência do CG observada em indivíduos medicados com Tcr é menor que aquele associado à CsA. Além disso, quando ocorre, o CG tende a ser menos grave (James *et al.*, 2000; James *et al.*, 2001; Ellis *et al.*, 2004, Costa *et al.*, 2006).

Alguns estudos tentaram associar o CG com variáveis farmacológicas como a concentração sérica das drogas, com o uso concomitante de bloqueadores de canais de cálcio (BCC) dentre outras (Wilson *et al.*, 1998; Ellis *et al.*, 2004, Costa *et al.*, 2006), com variáveis periodontais (McGaw *et al.*, 1987; Seymour & Smith, 1991; Seymour & Jacobs, 1992, Costa *et al.*, 2006), com achados microbiológicos (Romito *et al.*, 2003; Saraiva *et al.*, 2006) e também com alguma suscetibilidade genética (Linden *et al.*, 2001; Drozdziak *et al.*, 2005; Kurzawski *et al.*, 2006). Entretanto, a influência de potenciais variáveis de risco na ocorrência do CG dentro dos diferentes regimes imunossupressores ainda não é bem estabelecida, assim como a exata patogênese deste tipo específico de crescimento (AAP, 2004; Pernu *et al.*, 1993; Boltchi *et al.*, 1999).



O uso recente do sirolimus (Sir), uma droga antiproliferativa, ofereceu a oportunidade do desenvolvimento de novas estratégias imunossupressoras de manutenção, na tentativa de minimizar os efeitos adversos em longo prazo. Diferentes combinações de CsA, Tcr, Sir, bem como de micofenolato mofetil (MMF) e outros, têm sido testadas e resultados acerca da sobrevida e função do órgão transplantado, da nefrotoxicidade e de outros efeitos colaterais foram relatados (Khauli *et al.*, 2005; Parada *et al.*, 2005; Ciancio *et al.*, 2006). Todavia, não foram encontrados na literatura relatos sobre os efeitos destas diferentes combinações, principalmente aquelas incluindo Sir, sobre os tecidos gengivais, os efeitos da substituição de terapias prévias por novos protocolos, bem como caracterizações microbiológicas e genéticas dos indivíduos afetados.

É importante notar que o transplante renal progrediu ao longo dos anos, tornando-se um procedimento rotineiro e bem sucedido. Este procedimento passou a ser a melhor alternativa terapêutica para a maioria dos indivíduos com doença renal em estágio final (Mcgee & Pascual, 2004). De acordo com informações Sistema Nacional de Transplantes,<sup>1</sup> o Brasil possui hoje um dos maiores programas públicos de transplantes de órgãos e tecidos do mundo. Com 548 estabelecimentos de saúde e 1.376 equipes médicas autorizados a realizar transplantes, o Sistema Nacional de Transplantes está presente em 25 estados do país, por meio das Centrais Estaduais de Transplantes. Durante o primeiro semestre de 2009, foram realizados 1237 transplantes renais em todo o Brasil, sendo 107 no estado de Minas Gerais. A demanda por este tipo de tratamento é alta, sendo que a lista de espera está atualmente composta por 31270 indivíduos

---

<sup>1</sup> Disponível em <http://www.snt/datasus.gov.br/SNT/index.jsf> (acesso em 10/10/2009)

(ativo e semi-ativos) para todo o Brasil, sendo 2994 indivíduos para o estado de Minas Gerais.

Portanto, torna-se importante um maior esclarecimento sobre o efeito de novas terapias sobre os tecidos gengivais e os potenciais fatores de risco associados ao CG nestes regimes de imunossupressão. Desta maneira, buscamos dentro de uma linha de pesquisa já estabelecida, determinar a prevalência do CG em indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores de Sir e, além disso, investigar o CG nas terapias de CsA, Tcr e Sir sobre aspectos farmacológicos, periodontais tanto clínicos como microbiológicos, e genéticos.

Esta tese de doutorado será apresentada em capítulos distintos a fim de propiciar um breve histórico desta linha de pesquisa sobre crescimento gengival em transplantados renais, além de revisar a literatura relacionada ao tema. Além disso, em outros capítulos serão apresentadas as hipóteses e os objetivos do estudo, as considerações éticas e metodológicas envolvidas, culminando com a apresentação de 3 artigos científicos.

Esta tese faz parte de uma linha de pesquisa da área de Periodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais relacionada ao crescimento gengival em indivíduos transplantados renais.

## 2 HISTÓRICO DA LINHA DE PESQUISA

### CRESCIMENTO GENGIVAL EM INDIVÍDUOS TRANSPLANTADOS RENAIIS

Esta linha de pesquisa do programa de Pós-graduação em Odontologia, área de concentração em Periodontia, da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, teve seu início no ano de 2001 e é coordenada pelo Professor Doutor Fernando de Oliveira Costa.

O primeiro estudo conduzido em 2001 no curso de mestrado, intitulado “Comportamento do tecido gengival de ratos em uso dos imunossupressores ciclosporina e tacrolimus”, comparou clinicamente e histologicamente as alterações dos tecidos gengivais de ratos em dois grupos experimentais tratados com as drogas imunossupressoras CsA e Tcr. Este estudo originou um artigo científico publicado no *Journal of The International Academy of Peridontology* (Lages EJP, Costa FO, Cota LOM, Costa JE. Histological and morphological alterations of periodontium in tacrolimus and cyclosporine-treated rats. *J Int Acad Periodontol* 2007;9:112-117.) (Anexo 01).

Posteriormente, um estudo sobre a prevalência e fatores de risco em indivíduos transplantados renais foi realizado. Os indivíduos, sob os regimes triplices de imunossupressão com CsA ou Tcr, foram selecionados na Unidade de Transplante do Hospital Felício Rocho, Belo Horizonte – Minas Gerais. Dados demográficos, farmacológicos e periodontais de todos os participantes foram coletados. Uma primeira análise destes dados originou um artigo científico publicado no *Journal of Periodontology* (Costa FO, Ferreira SD, Cota LOM, Costa

JE, Aguiar MA. Prevalence, severity, and risk variables associated with gingival overgrowth in renal transplant subjects treated under tacrolimus or cyclosporine regimens. *J Periodontol* 2006;77:969-975.) (Anexo 02).

Duas novas análises, a partir deste mesmo banco de dados, foram realizadas para indivíduos sem o uso concomitante de BCC. A primeira análise resultou em um artigo científico também publicado no *Journal of Periodontology* (Costa FO, Ferreira SD, Lages EJP, Costa JE, Oliveira AMSD, Cota LOM. Demographic, pharmacologic, and periodontal variables for gingival overgrowth in subjects medicated with cyclosporin in the absence of calcium channel blockers. *J Periodontol* 2007;78:254-261.) (Anexo 03). Posteriormente, a segunda análise originou outro artigo científico publicado na *Transplantation* (Cezário ES, Cota LOM, Ferreira SD *et al.* Gingival overgrowth in renal transplant subjects medicated with tacrolimus in the absence of calcium channel blockers. *Transplantation* 2008;85:232-236.) (Anexo 4).

Posteriormente, o grupo de pesquisa continuou a coleta de dados em indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores de manutenção em novas unidades de transplante na cidade de Belo Horizonte. Desta forma, com a mudança em alguns protocolos de imunossupressão e a introdução de novas drogas, novas variáveis de risco com potencial efeito na etiopatogenia do CG surgiram e tornaram-se passíveis de investigação

A introdução do Sir e do MMF, bem como a remoção da azatioprina de alguns regimes terapêuticos, abriu novas oportunidades de análise. A prevalência

e gravidade do CG nos novos regimes terapêuticos, a avaliação dos potenciais fatores de risco demográficos, farmacológicos e periodontais, abordagens microbiológicas dos indivíduos afetados, bem como considerações genéticas, tornaram-se tópicos de interesse dentro desta linha de pesquisa.

### **3 REVISÃO DE LITERATURA**

#### **3.1 CRESCIMENTO GENGIVAL E TERAPIAS IMUNOSSUPRESSORAS EM TRANSPLANTADOS RENAIIS**

O principal obstáculo para a realização de um transplante é a rejeição aguda, que pode ser mediada por uma reação celular e/ou humoral. Na tentativa de contornar os problemas relacionados com a rejeição, algumas drogas imunossupressoras foram introduzidas na terapêutica pós-transplante. Os imunossupressores agem sobre alguns componentes importantes do sistema imune, causando inibição seletiva dos mecanismos de defesa (Seymour & Heasman, 1988).

Os primeiros regimes imunossupressores, introduzidos no início dos anos 60, eram baseados em administrações de glicocorticóides e azatioprina. Entretanto, muitos indivíduos desenvolviam rejeição aguda, exigindo altas doses de prednisona. No início dos anos 80, foi introduzido a ciclosporina-A (CsA), que permitia um controle bastante efetivo da rejeição aguda (Haberal *et al.*, 2004). No entanto, problemas associados à dosagem de CsA começaram a aparecer devido

à pequena e imprecisa absorção, estreita janela terapêutica e efeitos colaterais. Assim, a busca por novas combinações de drogas e novos agentes, bem como o monitoramento terapêutico, transformou-se numa necessidade importante (Mahalati *et al.*, 1999). O desenvolvimento de novas drogas imunossupressoras, mais efetivas e eficazes, e o uso concomitante de outros agentes, começou a permitir regimes com menor toxicidade e maior potência que os protocolos baseados em CsA. O tacrolimus (Tcr), introduzido no início dos anos 90, mostrava efeitos mais potentes que os da CsA e bom controle da rejeição aguda. Entretanto, a perda do transplante e alguns efeitos colaterais, especialmente a nefrotoxicidade relacionada à dose, ainda permaneceram nos regimes de imunossupressão (Armstrong & Oellerich, 2001; Haberal *et al.*, 2004). Assim, problemas com a rejeição crônica, começaram a surgir. As buscas por novos agentes imunossupressores, novas combinações de drogas em terapias mais ajustadas aos diferentes casos, tornou-se um objetivo importante para a manutenção do transplante em longo prazo.

Um importante efeito colateral descrito na literatura para estas terapias imunossupressoras, especialmente aquelas com CsA, é o crescimento gengival (CG) (Daley & Wysocki, 1984; Adams & Davies, 1994; Inglés *et al.*, 1999; AAP, 2004; Kataoka *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2006; Costa *et al.*, 2007; Cezário *et al.*, 2008). O CG induzido por drogas é caracterizado por um aumento no volume gengival, localizado geralmente nas papilas, sem se estender além da junção mucogengival (Bader *et al.*, 1998). Este tipo de alteração de volume pode afetar todas as regiões da boca, mas encontra-se mais evidente na região anterior (Somacarrera *et al.*, 1994). Algumas vezes, o crescimento pode atingir níveis de

gravidade maiores e se estender à coroa do dente, interferir na oclusão, mastigação, fonética e estética, com prejuízo para a qualidade de vida do indivíduo (James *et al.*, 2000). Além dos imunossupressores, o CG pode ser induzido por anticonvulsivantes e drogas bloqueadoras de canais de cálcio (AAP, 2004).

Clinicamente e histologicamente o aumento gengival induzido pelos diferentes tipos de drogas são virtualmente indistinguíveis. Apesar do efeito de cada droga ser diferente e específica para cada tecido “alvo” primário, todas parecem agir de maneira semelhante em um tecido “alvo” secundário, o tecido conjuntivo gengival (AAP, 2004). No entanto, a prevalência deste efeito indesejável tem se mostrado distinto entre as diferentes terapias imunossupressoras (Seymour *et al.*, 1996; Hallmon & Rossmann, 1999). Vários estudos relatam desde ausência de CG até prevalências maiores que 80% (Somacarrera *et al.*, 1994; Pernu *et al.*, 1992; Seymour *et al.*, 2000; Thomas *et al.*, 2000; Ellis *et al.*, 2004; Saraiva *et al.*, 2002; AAP, 2004, Romito *et al.*, 2004; Thomason *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2006; Sekiguchi *et al.*, 2006). Assim como as taxas de prevalência, diferentes fatores de risco têm sido reportados (Seymour *et al.*, 2000; AAP, 2004; Costa *et al.*, 2006, Lima *et al.*, 2008). Estes fatores de risco englobam variáveis demográficas, farmacológicas, periodontais, dentre outras.

A recente introdução do sirolimus (Sir) no cenário das terapias imunossupressoras de manutenção pós-transplante ofereceu a oportunidade do desenvolvimento de novos regimes imunossupressores na tentativa de maximizar a profilaxia da rejeição aguda e minimizar a nefrotoxicidade relacionada à droga e

a rejeição em longo prazo. Assim, regimes de imunossupressão mais individualizados surgiram. Os resultados de acerca da sobrevida e função do órgão transplantado, da nefrotoxicidade e de outros efeitos colaterais tem sido bem relatados (Flechner, 2003; Hamdy *et al.*, 2005; Khaulil *et al.*, 2005; Meier-Kriesche *et al.*, 2005; Parada *et al.*, 2005; Augustine *et al.*, 2006; Ciancio *et al.*, 2006). Entretanto, relatos sobre os efeitos destas diferentes combinações e diferentes regimes, principalmente aquelas incluindo SiR, sobre os tecidos gengivais não foram encontrados na literatura.

### **3.2 CRESCIMENTO GENGIVAL E TERAPIAS IMUNOSSUPRESSORAS COM CICLOSPORINA**

A CsA é um polipeptídeo de origem fúngica, usado como imunossupressor em terapias de manutenção pós-transplante, bem como em uma variedade de desordens auto-imunes (Seymour & Jacobs, 1992). Apresenta potente ação imunossupressora, com ação seletiva para linfócitos T, e pequena ou nenhuma ação na resposta de linfócitos B (Borel *et al.*, 1994).

O CG associado ao uso de CsA foi inicialmente descrito por Rateitschal-Pluss *et al.* (1983) e tem sido extensamente explorado desde então. A prevalência de CG reportada na literatura é altamente variável, com resultados indicando de 12 a 84% (Somacarrera *et al.*, 1994; Pernu *et al.*, 1992; Saraiva, 2002; AAP, 2004; Romito *et al.*, 2004; Costa *et al.*, 2006). Contudo, é mais aceito como consenso que aproximadamente 25 a 30 % dos indivíduos mantidos com terapias



imunossupressoras baseadas em CsA deverão desenvolver esta condição. Além disso, de acordo com Seymour *et al.* (1996) o CG parece ser mais prevalente em crianças e adolescentes.

Vários fatores de risco para o CG induzido por CsA têm sido reportados na literatura, incluindo variáveis periodontais (índice de placa, índice gengival), variáveis farmacológicas (dose e concentração sérica da droga, uso concomitante de BCC, dose de prednisona, tempo de transplante) e variáveis individuais (peso corporal, idade) (Somacarrera *et al.*, 1994; Seymour *et al.*, 2000; Thomas *et al.*, 2000; Ellis *et al.*, 2004; Thomason *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2006; Lima *et al.*, 2008). Além disso, alguns relatos sugerem que, em indivíduos susceptíveis, o CG usualmente se desenvolve de 1 a 3 meses após o início da terapia com a CsA (Seymour & Smith, 1991; 1990; Boltchi *et al.*, 1999).

### **3.3 CRESCIMENTO GENGIVAL E TERAPIAS IMUNOSSUPRESSORAS COM TACROLIMUS**

O tacrolimus (Tcr), também denominado FK506, foi introduzido como agente imunossupressor em 1987, com ação imunossupressora mais potente que a CsA. Seu uso clínico é crescente, sendo atualmente a droga base em mais de 80% dos transplantes hepáticos e 30% dos transplantes renais (Kino *et al.*, 1987; Selzner *et al.*, 2001).

Estudos mostram diferentes vantagens do Tcr nas terapias de manutenção, como melhora no perfil de risco cardíaco, na função renal e tempo de sobrevida (Spencer *et al.*, 1997; James *et al.*, 2001), redução do desconforto gástrico e minimização dos riscos relatados pela instabilidade dos níveis de drogas imunossupressoras (Pirsch *et al.*, 2000). Entretanto, o Tcr também tem sido associado a uma série de efeitos colaterais incluindo a nefrotoxicidade, neurotoxicidade e indução de um estado de diabetes. De acordo com Starzl *et al.* (1990), Tcr provoca efeitos adversos muito semelhantes aos da CsA, porém em menor gravidade.

Os relatos encontrados na literatura sobre aumento de volume gengival associado a terapias imunossupressoras com Tcr são conflitantes. Apesar de haver alguns estudos relacionando CG com o Tcr, a maioria dos estudos encontrados na literatura sugere que este medicamento não induz problemas gengivais (Armitage *et al.*, 1993; Asante-Korang *et al.*, 1996; James *et al.*; 2001). Outros estudos, no entanto, associaram o uso de Tcr a alterações de volume gengival em indivíduos transplantados, ainda que em menor frequência e gravidade que as alterações associadas à CsA (Shapiro *et al.*, 1994; Mayer *et al.*, 1997; Shield *et al.*, 1997; Oetting-Barak *et al.*, 2001; MacKaig *et al.*, 2002; Costa *et al.*, 2006; Lima *et al.*, 2008). Ellis *et al.* (2004) demonstraram menor ocorrência de CG em indivíduos tratados com Tcr quando comparados aos que fizeram uso da CsA. Além disso, foi observado que o uso concomitante de BCC e o uso prévio de CsA, são fatores de risco significante para a presença do aumento gengival.

Alguns estudos têm demonstrado uma diminuição ou mesmo resolução do CG pela substituição da CsA pelo Tcr (Budde *et al.*, 1996; Bader *et al.*, 1998; Busque *et al.*, 1999; Hernandez, *et al.*, 2000; Thorp *et al.*, 2000; James *et al.*, 2001; Hernandez *et al.*, 2003).

### **3.4 CRESCIMENTO GENGIVAL E TERAPIAS IMUNOSSUPRESSORAS COM SIROLIMUS**

O sirolimus (Sir), também chamado rapamicina, é eficaz na inibição da proliferação de leveduras, possui ação moderada contra fungos filamentosos, é um forte antagonista do crescimento de várias espécies de *Candida* e possui atividade anti-tumoral in vitro (Cowan & Heizer, 2000). A recente popularidade desta droga está intimamente relacionada com a descoberta do Tcr, devido à semelhança quanto à composição e estrutura química. Assim, após a demonstração de que o Tcr era mais potente que a CsA, a comunidade clínica e científica passou a investigar o potencial terapêutico do Sir (Cowan & Heizer, 2000; Maramattom & Wijdicks, 2004).

O Sir apresenta uma potência acentuada quando comparada ao Tcr. Porém, os efeitos terapêuticos, assim como a toxicidade, são extremamente variáveis entre diferentes espécies animais (Cabezón *et al.*, 2005; Meier-Kriesche *et al.*, 2005).

A CsA e o Tcr, classificados como inibidores de calcineurina (INC), inibem a transmissão do sinal proliferativo entre as células do sistema imunológico, através do bloqueio de eventos cálcio-dependente. Impedem, assim, a produção de IL-2, durante o primeiro passo da ativação do sistema imune. Em contraste, o Sir bloqueia a recepção do sinal produzido pela IL-2, impedindo a ativação das células do sistema imunológico (Cowan & Heizer, 2000).

A terapia com o Sir tem mostrado resultados comparáveis aos da terapia com CsA, em indivíduos transplantados renais (Cabezón *et al.*, 2005; Johnston *et al.*, 2005), porém com pequena nefrototoxicidade (Maramattom & Wijdicks, 2004), melhora na função renal, redução da pressão arterial e diminuição da rejeição aguda (Morales, 2005; Merkel *et al.*, 2006).

Não foram encontrados relatos em relação a alterações de volume gengival associadas ao uso de Sir em terapias imunossupressoras, tão pouco o efeito da substituição de regimes de Csa e TCR por Sir e seu impacto no CG. O artigo científico nº. 1 (*Condição gengival de indivíduos transplantados renais brasileiros sob regimes imunossupressores baseados em sirolimus*), apresentado nesta tese de doutorado, foi o primeiro estudo a descrever a condição gengival em indivíduos medicados com Sir.

### 3.5 BIOLOGIA MOLECULAR E CRESCIMENTO GENGIVAL

Os mecanismos envolvidos no crescimento gengival são ainda pobremente conhecidos (AAP, 2004). Achados ultraestruturais demonstraram que o aumento do volume gengival causado por drogas é primariamente devido a uma resposta do tecido conjuntivo (Mariani *et al.*, 1993). A histopatologia das lesões em todas as categorias de drogas é semelhante e caracterizada por um acúmulo excessivo de proteínas de matriz extracelular, principalmente colágeno (Trackman & Kantarci, 2004; Kataoka *et al.*, 2005). Pelo fato de apenas uma proporção dos indivíduos desenvolverem o CG, tem sido sugerido que estes indivíduos apresentam um perfil de fibroblastos com suscetibilidade específica, com elevado nível de síntese protéica (AAP, 2004).

Apesar do mecanismo de ação das diferentes drogas no tecido gengival ser ainda incerto, existem evidências da participação de citocinas e fatores de crescimento na patogênese das alterações (Ruhl *et al.*, 2004; Morton & Dongari-Bagtzoglou, 1999; Das *et al.*, 2002; Kataoka *et al.*, 2005). Desta forma, tem sido sugerido que a ação das drogas parece alterar o balanço normal de citocinas nos tecidos gengivais (Trackman & Kantarci, 2004).

De fato, o papel de diferentes citocinas tem sido estudado na etiopatogênese do CG. Um efeito sinérgico no aumento da síntese de colágeno por fibroblastos gengivais relacionado à interleucina-1 $\beta$  e exposição à BCC foi descrito (Johnson *et al.*, 2000). Níveis reduzidos de metaloproteinases (MMPs) de matriz, principalmente MMP-1 e MMP-3, foram também demonstrados (Bolzani *et*

*al.*, 2000; Kataoka *et al.*, 2000), sendo assim sugerido um efeito das drogas sobre a ação das colagenases, que contribuiria para o acúmulo de componentes da matriz extracelular (AAP, 2004). Uma redução da fagocitose do colágeno pelos fibroblastos gengivais foi atribuída a uma redução na expressão da integrina  $\alpha 2\beta 1$  (Kataoka *et al.*, 2005).

Parece existir um importante papel da interleucina-6 (IL-6) nos eventos fibróticos gengivais (Williamson *et al.*, 1994; Morton & Dongai-Bagtzoglou, 1999; Chae *et al.*, 2006). Diferentes autores reportaram que uma característica das lesões gengivais induzidas por CsA é um alto nível de IL-6 (AAP, 2004; Trackman & Kantarci, 2004, Kataoka *et al.*, 2005). Esta interleucina parece aumentar a proliferação e exercer uma regulação positiva na síntese de colágeno (AAP, 2004). Foi também sugerido que o fator de crescimento transformador beta (TGF- $\beta$ ) contribui para a liberação de IL-6 nos tecidos gengivais alterados pela CsA (Chae *et al.*, 2006). Existem evidências de níveis aumentados de TGF- $\beta$  nos tecidos gengivais afetados, indicando um importante papel deste fator de crescimento na patogênese do CG (Cotrim *et al.*, 2003; Kuru *et al.*, 2004; Wright *et al.*, 2004; Radwan-Oczko *et al.*, 2006).

Os níveis e expressão de citocinas, bem como sua influência nos tecidos periodontais têm sido bem documentados na literatura em relação a diferentes polimorfismos genéticos. De maneira geral, associações com a gravidade e a extensão da doença periodontal, bem como a resposta ao tratamento foram descritas para interleucina 1-A (IL-1A), IL-6, fator de necrose tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), metaloproteinases de matriz (MMPs), interleucina 10 (IL-10) e TGF- $\beta$  (Taylor *et*

*al.*, 2000; Trevilatto *et al.*, 2003; Kinane *et al.*, 2005; Moreira *et al.*, 2007; Yoshie *et al.*, 2007; Nikolopoulos *et al.*, 2008).

De maneira semelhante, alguns estudos têm investigado o papel de polimorfismos genéticos na etiopatogênese do CG em regimes imunossupressores baseados em CsA e os resultados são diversos. Associações significativas foram reportadas para polimorfismos do gene do TGF- $\beta$  (Linden *et al.*, 2001; Radwan-Oczko *et al.*, 2006), do gene da integrina alfa2 (Ogino *et al.*, 2005), do gene da IL1-A (Bostanci *et al.*, 2006), do gene SPARC (*secreted protein, acidic, cysteine-rich*) (Drozdziak *et al.*, 2007), do gene de resistência múltipla (MDR1) codificador da glicoproteína P (Meisel *et al.*, 2006; De Iudicibus *et al.*, 2008). Contudo, alguns autores não demonstraram associações entre o CG e polimorfismos do MDR1 (Drozdziak *et al.*, 2004), do gene da metaloproteinase-1 de matriz (MMP-1) (Kurzawski *et al.*, 2006), e do gene da IL-6 (Drozdziak *et al.*, 2005). Não foram encontrados dados em relação a polimorfismos genéticos e terapias baseadas em Tcr e Sir.

### **3.6 MICROBIOLOGIA E CRESCIMENTO GENGIVAL**

A importância da placa bacteriana, atualmente reconhecida como biofilme, como um co-fator na etiologia do CG associado a drogas foi apontado no último sistema de classificação das doenças e condições periodontais (Armitage, 1999). Nesta classificação, “aumento gengival induzido por drogas” está na categoria “doenças gengivais induzidas por placa e modificadas por medicações”.

De fato, o acúmulo de placa bacteriana foi fortemente associado ao CG induzido por CsA, tanto em um modelo animal (Fu *et al.*, 1997), como em indivíduos com transplante de órgãos sólidos (Thomas *et al.*, 2000). Além disso, alguns relatos na literatura têm apontado o índice de placa, a higiene bucal e a inflamação como variáveis de risco associada ao CG induzido por CsA (Seymour *et al.*, 1996; Seymour *et al.*, 2000; Thomason *et al.*, 2005; Costa *et al.*, 2006; Guo *et al.*, 2008). Segundo Ciavarella *et al.* (2007), as alterações inflamatórias gengivais podem aumentar a interação entre a CsA e os fibroblastos, levando a mudanças no *turnover* do tecido conjuntivo. Entretanto, o papel da placa dental na patogênese do CG induzido pela CsA não está claramente definido. Tampouco, existem estudos com abordagens microbiológicas em indivíduos sob terapia imunossupressora de TCR ou Sir.

De fato, alguns estudos têm avaliado a microbiota de indivíduos transplantados sob regimes imunossupressores de manutenção e os resultados são diversificados. A microbiota subgengival de indivíduos transplantados renais foi avaliada por Leung *et al.* (2003) e não foram encontradas diferenças entre os indivíduos com ou sem CG. Os resultados mostraram uma microbiota complexa composta de cocos Gram positivos e negativos, bastonetes, formas filamentosas e fusiformes, além de espiroquetas e leveduras.

Foi demonstrado que a presença de *Candida sp.* em amostras de saliva estava associada aos indivíduos sem CG medicados com CsA (Romito *et al.*; 2003). Além disso, uma relação positiva entre a presença de *Parvimonas micra*



(anteriormente *Micromonas micros*) e o CG induzido pela CsA também foi relatada (Romito *et al.* 2004). Existem ainda evidências que *Porphyromonas gingivalis* fimA tipo II e *Treponema denticola* possam ser significativamente associados ao desenvolvimento e gravidade do CG induzido pela CsA (Akyama *et al.*; 2006). Recentemente, a presença de algumas espécies foi também associada à presença e gravidade do CG em terapias com CsA. A ocorrência de *Porphyromonas gingivalis* (96%), *Trepomena denticola* (82%) e *Tannerella forsythia* (89%) foi significativamente maior em indivíduos com CG (Gong *et al.*, 2008)

De acordo com Saraiva *et al.* (2006), *Streptococcus beta-hemoliticus* foi a espécie mais frequentemente encontrada em indivíduos medicados com CsA que não apresentaram alterações de volume gengival. Sem diferenças significativas entre indivíduos com e sem CG, as espécies predominantemente encontradas incluíram *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (anteriormente *Actinobacillus actinomycetemcomitans*), *Porphyromonas. gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Campylobacter rectus*, *Parvimonas micra*, *Capnocytophaga sp*, *Fusobacterium sp*, *Streptococcus sp*, *Pseudomonas sp*, e *candida sp*.

Amostras salivares de indivíduos transplantados medicados com CsA (Romito *et al.*; 2004) mostraram a presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (13%), *Porphyromonas. gingivalis* (13%), *Prevotella intermedia* (93%), *Campylobacter rectus* (0%), *Parvimonas micra* (0%), bastonetes entéricos (0%) e *Candida sp* (30%) sem relação com o CG.

Em relação a regimes imunossupressores baseados em Tcr, apenas um estudo foi encontrado. Spolidorio *et al.* (2006) observaram a presença de CG em 54 indivíduos medicados com CsA + BCC, em 14 indivíduos medicados somente com CsA, em 6 indivíduos medicados com Tcr + BCC e em nenhum paciente medicado com Tcr somente. *Candida albicans* foi a espécie mais frequentemente encontrada nos grupos tratados com CsA (n = 66) e Tcr (n = 17). Além disso, foram observadas no grupo tratados com CsA, indivíduos com *Candida dubliniensis* (n = 10), *Candida parapsilosis* (n = 2), *Candida krusei* (n = 1) e *Candida tropicalis* (n = 1). Indivíduos medicados com Tcr também apresentaram *Candida dubliniensis* (n = 3).

#### 4 OBJETIVOS

De acordo com o exposto anteriormente, 3 propostas de investigação específicas na linha de pesquisa de crescimento gengival foram delineadas, e constaram como objeto de desenvolvimento nesta tese de doutorado:

1. avaliar a prevalência, gravidade e variáveis de risco associadas ao CG em indivíduos transplantados renais sob o regime imunossupressor baseado em Sir;
2. avaliar o polimorfismo (-174 G/C) do gene da interleucina-6 (IL-6) em indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr, Sir;

3. avaliar a freqüência microbiana e variáveis de risco associadas ao CG em indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr, Sir.

#### **4.1 OBJETIVO GERAL**

- Avaliar a ocorrência e gravidade do CG em indivíduos sob regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr e Sir, e sua relação com variáveis demográficas, farmacológicas, periodontais, microbiológicas e genéticas.

#### **4.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Determinar a prevalência e gravidade do CG em indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em sirolimus;

- Determinar a associação de potenciais variáveis de risco demográficas, como gênero, idade e peso do paciente, com a prevalência e gravidade do CG em indivíduos transplantados renais sob os regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr e Sir;

- Determinar a associação de potenciais variáveis de risco farmacológicas, como dose e nível sérico do agente imunossupressor principal, dose de prednisona, dose de MMF, uso prévio de INC, uso

concomitante de BCC e tempo pós-transplante, com a prevalência e gravidade do CG em indivíduos transplantados renais sob os regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr e Sir;

- Determinar a associação de potenciais variáveis de risco periodontais, como índice de placa e índice de sangramento papilar, com a prevalência e gravidade do CG em indivíduos transplantados renais sob os regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr e Sir;

- Determinar a associação da frequência das espécies *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Parvimonas micra*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* com a prevalência e gravidade do CG em indivíduos transplantados renais sob os regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr e Sir;

- Determinar a associação dos genótipos GG, CG, CC, bem como dos alelos G e C, para a região promotora do gene da IL-6 (polimorfismo -174 G/C) com a prevalência e gravidade do CG em indivíduos transplantados renais sob os regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr e Sir.

Os resultados destas investigações serão apresentados na forma de 3 artigos científicos, cada um deles contendo objetivos, metodologias, resultados, discussões e conclusões específicas.

## 5 HIPÓTESES

Para a formulação do problema, temos que o CG induzido nos regimes imunossupressores baseados em Tcr ocorre em menor grau que aquele associado à CsA, em determinados indivíduos, sob a influência de algumas variáveis de risco. Devido aos menores efeitos colaterais reportados na literatura para o imunossupressor Sir, espera-se ausência ou uma menor prevalência e gravidade de CG neste regime imunossupressor.

Assim como dados microbiológicos reportados na literatura para o CG induzido por CsA, espera-se uma possível relação da prevalência e gravidade de CG e espécies bacterianas nos regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr, e também Sir, se o CG for existente. Devido a evidências relatadas na literatura do envolvimento da IL-6 na patogênese do CG associado à CsA, o polimorfismo da região promotora do gene IL-6 poderia influenciar a prevalência e gravidade do CG nos regimes imunossupressores.

Desta forma, algumas hipóteses foram levantadas:

- O CG nos regimes imunossupressores baseados em CsA apresenta maior prevalência e maior gravidade em comparação aos regimes baseados em Tcr e Sir. A prevalência e gravidade do GC nos regimes imunossupressores baseados em Tcr são maiores em comparação aos regimes baseados em Sir;

- O CG nos regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr e Sir está associado ao polimorfismo (-174 G/C) do gene da IL-6;
- O CG nos regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr e Sir, está associado à maior frequência de patógenos periodontais específicos;
- Variáveis demográficas (gênero, idade), farmacológicas (dose e nível sérico do agente imunossupressor principal, uso de BCC), periodontais (índice de placa, índice de sangramento papilar) apresentam uma associação de risco com a prevalência e gravidade do CG em indivíduos sob os regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr e Sir.

## **6 CONSIDERAÇÕES ÉTICAS E METODOLÓGICAS**

Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais COEP/UFMG, no dia 08 de março de 2006, sob o parecer nº. ETIC 514/05 (Anexo 05). Foi também aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Felício Rocho – CEP/HFR no dia 29 de março de 2006, sob o parecer nº. 141/05 (Anexo 06), e pelo Ambulatório Bias Fortes do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais (Anexo 07).

Todos participantes foram devidamente esclarecidos e informados sobre a pesquisa, seus métodos e objetivos, sendo incluídos somente após a obtenção de um consentimento livre e informado devidamente assinado (Anexo 08).

Todos os exames bucais foram realizados em uma sala disponibilizada nas unidades de transplante do estudo, sob condições de iluminação e assepsia adequadas, segundo normas de biossegurança (Cottone *et al.*, 1991). Estes exames constaram de avaliação da higiene oral (índice de placa – Silness & Løe, 1964), do índice de sangramento papilar (Saxer & Mühlemann, 1975) e do crescimento gengival (Anexo 09).

O crescimento gengival foi avaliado através de inspeção visual, nas papilas vestibulares e linguais associadas aos 6 dentes anteriores dos arcos superior e inferior. A presença e gravidade do CG foram classificadas de acordo com Costa *et al.* (2006), através de uma adaptação dos sistemas descritos por Seymour *et al.* (1985); Pernu *et al.* (1993) e Thomason *et al.* (2005). Resumidamente, cada unidade gengival (papila) poderia receber um valor (escore) de acordo com o crescimento no sentido bucolingual (valores de 0, 1 ou 2) e sentido mesiodistal (valores de 0, 1, 2 ou 3), somando um total máximo de 5.

Desta forma, um escore total de 100 por indivíduo seria possível (20 unidades gengivais X 5). O valor final para o indivíduo foi expresso em percentual relativo ao total de papilas presentes e examinadas. Indivíduos com escore de crescimento  $\geq 30\%$  foram classificados como tendo um CG clinicamente significativo (Thomason *et al.*, 1993).

Após os exames e coleta dos dados, os participantes foram devidamente orientados em relação a sua condição periodontal, etiologia e possibilidades de tratamento. Aqueles indivíduos que apresentaram um diagnóstico positivo de CG com crescimento clinicamente significativo foram encaminhados para tratamento nas clínicas de Periodontia da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais. Foi garantido acesso direto à instituição e gratuidade de serviço. Cabe ainda salientar que aqueles indivíduos com doenças periodontais inflamatórias também foram encaminhados para tratamento.

Todas as informações colhidas como identificação geral do indivíduo, história médica, dados dos protocolos de imunossupressão usados, e exame bucal foram transcritos em ficha própria (Anexo 10). Estas informações tiveram finalidade exclusivamente científica e a não identificação do indivíduo na pesquisa foi preservada. A participação no estudo poderia ser cancelada e o consentimento retirado pelo indivíduo a qualquer momento da pesquisa. Foi assegurado o encaminhamento para tratamento mesmo em caso de abandono da pesquisa.

Cada particularidade metodológica será apresentada a seguir nos artigos científicos de acordo com os objetivos específicos propostos.



## 7 ARTIGOS CIENTÍFICOS

### 7.1 ARTIGO CIENTÍFICO NO. 1

CONDIÇÃO GENGIVAL DE INDIVÍDUOS TRANSPLANTADOS RENAI  
BRASILEIROS SOB REGIMES IMUNOSSUPRESSORES DE SIROLIMUS\*

\* publicado no Journal of Periodontology, volume 79, número 11, páginas  
2060-2068, Novembro 2008 (Anexo 11).

#### RESUMO

**Base científica:** Apesar da prevalência do crescimento gengival (CG) em regimes imunossupressores com inibidores de calcineurina (INC) ter sido bem documentada, dados sobre CG em regimes com sirolimus não foram descritos previamente. Nosso objetivo foi investigar a condição gengival de transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em sirolimus em relação à prevalência e potenciais variáveis de risco associadas ao CG.

**Metodologia:** um estudo transversal foi conduzido em um hospital público de Belo Horizonte, Brasil. De 886 indivíduos transplantados, uma amostra de 144 indivíduos elegíveis foi selecionada. Variáveis médicas, farmacológicas e periodontais foram registradas para cada indivíduo. CG foi avaliado através de exame visual e analisado em relação a variáveis de interesse por análise univariada e multivariada.

**Resultados:** Apesar de não ser clinicamente significativo, 20,8% da amostra apresentou CG com um escore médio de  $5,0 \pm 3,98\%$  (intervalo 0-19), CG médio por papila de  $0,378 \pm 0,361$  (intervalo 0,1-1,9), e percentual de papilas afetadas

por CG de  $14,35 \pm 9,86\%$  (intervalo 5-45). O modelo multivariado final, excluindo variáveis periodontais, revelou o uso concomitante de bloqueadores de canais de cálcio ( $p=0,033$ ), e a interação entre tempo de transplante e uso prévio de INC ( $p<0.001$ ) associados ao CG. A adição de variáveis periodontais ao modelo melhorou sua acurácia e incluiu o índice de sangramento papilar ( $p<0.001$ ) que foi fortemente associado ao CG.

**Conclusão:** Foi observado CG em um considerável número de indivíduos sob regimes imunossupressores baseados em sirolimus, apesar de não ser classificado como clinicamente significativo. Estes resultados mostram a importância da integração entre a equipe médica e odontológica na manutenção de indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em sirolimus.

**Palavras-chave:** crescimento gengival, transplante renal, variáveis de risco, sirolimus.

**Sentença-sumário:**

Resultados do presente estudo transversal demonstraram crescimento gengival em um considerável número de indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em sirolimus, entretanto este efeito adverso foi classificado como não clinicamente significativo.

## INTRODUÇÃO

O transplante renal progrediu ao longo dos anos tornando-se um procedimento rotineiro e bem sucedido. Este procedimento foi um grande avanço no tratamento da doença renal terminal, aumentando a qualidade de vida e a sobrevida do indivíduo. A sobrevida do indivíduo, tanto quanto do enxerto, aumentou significativamente.<sup>1,2</sup> Agentes inibidores de calcineurina (INCs), inicialmente a ciclosporina A (CsA) seguida posteriormente pelo tacrolimus (Tcr), tornaram-se a base da terapia imunossupressora desde o início dos anos 80. Apesar do substancial aumento nas taxas de sobrevida em curto prazo, a manutenção do enxerto em longo prazo permaneceu praticamente inalterada.<sup>2,3</sup>

Portanto, os objetivos das terapias imunossupressoras mudaram durante a última década. Com altas taxas de sobrevida dos enxertos e baixa incidência de rejeição aguda, as estratégias mudaram no sentido de não somente eliminar a rejeição aguda, mas também de diminuir a nefropatia crônica, melhorando os resultados em longo prazo e reduzindo os efeitos colaterais dos medicamentos.<sup>4,5</sup> A nefrotoxicidade e efeitos adversos extra renais dos agentes INC, como eventos hipertensivos, dislipidêmicos, ateroscleróticos, diabetogênicos, infecciosos e carcinogênicos, parecem ter um impacto negativo na sobrevida em longo prazo do enxerto.<sup>2,6-8</sup>

Novas estratégias ajustadas de imunossupressão, que poderiam prevenir a perda do enxerto e ao mesmo tempo manter a eficácia da imunossupressão e controlar os efeitos adversos, são de grande interesse. Apesar do regime ótimo não ser

ainda bem definido, a disponibilidade de diversos agentes permite que este regime seja individualizado.<sup>9</sup> Muitas estratégias para minimizar o uso de INC tem sido relatadas, envolvendo tanto evitar o seu uso inicial, quanto a sua redução gradual ou remoção completa. Algumas dessas estratégias envolvem a administração de micofenolato mofetil (MMF) ou sirolimus (Sir), em monoterapias ou terapias combinadas de manutenção.<sup>10-12</sup>

Sir é um inibidor da proteína alvo da rapamicina, uma molécula importante na regulação da ativação celular em resposta a fatores de crescimento. Como resultado, o Sir age tardiamente no ciclo celular inibindo a proliferação de células T estimulada por citocinas, resultando no impedimento do crescimento na fase G.<sup>13</sup>

Alguns autores têm especulado que os regimes imunossupressores baseados em Sir podem drasticamente mudar o curso natural da nefropatia crônica do enxerto e influenciar a sobrevida em longo prazo do indivíduo.<sup>14,15</sup> Apesar de alguns protocolos aparentemente reduzir o risco de rejeição aguda e nefropatia crônica, alguns efeitos adversos foram reportados nos regimes de manutenção baseados em Sir<sup>12,13</sup> incluindo resultados inferiores para o indivíduo e o enxerto,<sup>16</sup> como hiperlipidemia, cicatrização atrasada, linfocele, atralgias, trombocitopenia e desvios de protocolo.<sup>12,13,17-19</sup>

Um efeito colateral bucal bem reconhecido e pesquisado nos regimes baseados em INC é o crescimento gengival (CG). O CG é caracterizado por um distúrbio no metabolismo de colágeno levando a um acúmulo excessivo de fibras de colágeno

tipo I no tecido conjuntivo gengival, com um perfil desbalanceado de citocinas e vários níveis de inflamação, incluindo alterações vasculares e epiteliais, edema e infiltrado celular plasmático.<sup>20,21</sup> CG é uma condição importante, desfigurante e desconfortável para os indivíduos afetados.

As taxas de prevalência reportadas na literatura para esta desordem têm variado grandemente para os regimes imunossupressores baseados em INC. Alguns estudos de prevalência revelaram que aproximadamente 25% a 81% dos indivíduos medicados com CsA, com ou sem associações de outras drogas, apresentavam algum grau de CG.<sup>22-25</sup> Relatos de CG para indivíduos tratados com Tcr sugerem que as taxas de prevalência são menores que aquelas para usuários de CsA, e que o CG tende a ser menos grave.<sup>23,26,27</sup>

Dados de prevalência para CG em regimes de CsA e Tcr tem sido bem documentadas na literatura odontológica.<sup>22-31</sup> Todavia, dados sobre a condição gengival em regimes de Sir não foram previamente descritos, bem como a ocorrência de CG e as relações entre a condição gengival e diferentes variáveis farmacológicas, demográficas e periodontais.

Por esta razão, o objetivo do presente estudo foi investigar a condição gengival de indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em Sir, determinar a prevalência e gravidade do CG, e investigar o efeito de potenciais variáveis de risco associadas ao CG neste grupo de indivíduos.

## **METODOLOGIA**

### **Desenho de estudo e estratégia amostral**

O presente estudo transversal foi conduzido em um hospital público em Belo Horizonte – Brasil. Foi aprovado pelos Comitês de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (ETIC 514/05) e do Hospital Felício Rocho (CEP/HFR 141/05). Todos os participantes foram informados dos objetivos do estudo e assinaram um consentimento livre e esclarecido antes de participarem do estudo. Os direitos dos participantes foram preservados durante todo o tempo.

Uma amostra de indivíduos elegíveis foi selecionada e recrutada na unidade de transplantes de órgãos sólidos do Hospital Felício Rocho, em Belo Horizonte, Brasil, onde estes indivíduos eram examinados regularmente para monitorar a terapia medicamentosa e a sobrevida do enxerto. Um total de 886 indivíduos que receberam transplantes de órgãos sólidos, incluindo fígado, rim e pâncreas, estava sob terapias imunossupressivas de manutenção nesta unidade hospitalar durante o período do estudo. Deste total, 623 eram transplantados renais e 239 estavam sob regimes imunossupressores baseados em SiR. Os dados foram coletados através de questionários, prontuários médicos, e exame periodontal no período de fevereiro a outubro de 2007. Durante o período de coleta de dados, os indivíduos que preenchiam os critérios de inclusão foram aleatoriamente convidados a participar do estudo, de acordo com o acesso e a disponibilidade dos mesmos na rotina da visita de manutenção pós-transplante.

Todos os participantes eram transplantados renais, estavam sob terapia de imunossupressão baseada em Sir como o agente principal, tinham pelo menos 2 meses de transplante, tinham 18 anos ou mais na data do exame, e tinham pelo menos 6 dos 12 dentes anteriores nos arcos superior ou inferior. Indivíduos sob terapias combinadas de Sir + INCs, bem como fumantes e ex-fumantes, foram excluídos do estudo. Baseado nestes critérios, a amostra final constituiu-se de 144 indivíduos.

O CG foi avaliado em relação as seguintes variáveis: idade, gênero, peso, nível de creatinina, índice de placa, índice de sangramento papilar, tempo de transplante, dose de Sir, nível sérico de Sir, doses de prednisona e MMF, uso prévio de INC, e uso concomitante de bloqueadores de canais de cálcio (BCC).

### **Variáveis médicas e farmacológicas**

Dados médicos e farmacológicos foram obtidos dos formulários médicos de cada indivíduo. Como parte da rotina de manutenção em longo prazo, os transplantados renais eram monitorados regularmente em relação às concentrações séricas e sanguíneas de Sir. Dados do exame médico mais recente, usualmente da última visita médica, foram registrados e usados na análise. Todos os registros médicos dos indivíduos foram extensivamente examinados e os dados confirmados pela equipe médica do transplante de órgãos.

### **Avaliação gengival**

Após o exame dos registros médicos dos indivíduos, estes eram encaminhados para a avaliação gengival. Avaliação periodontal através de medidas de nível clínico de inserção e profundidade de sondagem não foi realizada uma vez que a variável dependente do estudo estava relacionada a alterações gengivais. A condição periodontal da amostra foi avaliada através de indicadores de inflamação e higiene bucal como o índice de sangramento papilar e o índice de placa.<sup>27</sup> Esta abordagem metodológica é suportada por estudos transversais que demonstraram que o sangramento gengival tem sido um bom indicador do papel da inflamação induzida pela placa bacteriana na gravidade do CG.<sup>23,24,26,27</sup>

A avaliação gengival foi realizada por um único periodontista treinado e calibrado, que estava “cego” para a identidade de cada indivíduo, bem como para a história médica e o regime imunossupressor. A calibração do examinador foi realizada no início do estudo e repetida 1 mês após para determinar a concordância intra-examinador. Para este propósito, o índice de sangramento papilar e o CG de 10 indivíduos foram avaliados e todos os escores do teste *Kappa* não ponderado foram maiores que 0,92.

O nível de higiene bucal foi obtido através do Índice de Placa.<sup>32</sup> As medidas foram realizadas nas superfícies lingual, vestibular, e interproximais dos 6 dentes anteriores nos arcos superior e inferior. Os escores de cada sítio foram somados e os valores médios registrados. O Índice de Sangramento Papilar foi registrado na papila interproximal dos 6 dentes anteriores em ambos os arcos.<sup>33</sup>



O presente estudo avaliou o CG nos 12 dentes anteriores uma vez que foi demonstrado uma maior taxa de ocorrência de CG nesta área.<sup>34</sup> Dentes anteriores superiores e inferiores foram avaliados através de inspeção visual para o registro do CG com descrito previamente.<sup>23,24</sup> Escores entre 0 e 5, dependendo da quantidade do crescimento tanto horizontal quanto vertical, eram registrados para cada papila lingual e vestibular dos 6 dentes anteriores superiores e inferiores. Assim, de acordo com o número de dentes anteriores disponíveis em cada arco dentário, um total de 20 papilas poderia ser selecionado e examinado. Assim, um valor máximo de 100 para o escore de CG poderia ser atribuído e expresso em percentual. Indivíduos de com escores de CG  $\geq 30$  foram classificados como tendo um crescimento clinicamente significativo, como previamente sugerido.<sup>35</sup>

### **Análise estatística**

Todos os dados dos indivíduos foram coletados e analisados através de um programa estatístico.<sup>†</sup> A amostra foi dividida de acordo com a presença (CG+) e ausência (CG-) do crescimento gengival, bem como o uso concomitante de BCC e o uso prévio de INCs. Estes grupos foram primeiramente descritos em relação a variáveis demográficas, farmacológicas e periodontais. A comparação de variáveis entre os grupos foi realizada através dos testes t para amostras não pareadas e Qui-quadrado, quando apropriado.

---

<sup>†</sup> Statistical Package for Social Sciences, Version 9.0 for Windows - SPSS Inc., Chicago, IL.

O efeito de variáveis independentes na ocorrência do CG foi avaliado através de uma análise de regressão logística multivariada. Dois diferentes modelos, incluindo e excluindo variáveis periodontais, foram criados. Assim, todas as variáveis correspondentes para cada modelo foram selecionadas para a entrada na regressão logística e foram retidas nos modelos se valores de p significativos ( $p < 0,05$ ) eram obtidos. Interações de primeira ordem entre tempo de transplante, uso de BCC, e uso prévio de INC foram testadas nos modelos e mantidas se significativas.

Os coeficientes da regressão, seus intervalos de confiança (IC) em 95%, estimativas de razão das chances (odds ratio - OR), e valores de p foram também determinados. Áreas sob a curva ROC (receiver operating curves), uma estimativa da eficácia dos modelos, foram reportadas.

## **RESULTADOS**

Os achados do presente estudo revelaram nenhum CG clinicamente significativo GO ( $\geq 30\%$ ) entre indivíduos sob regimes imunossupressores baseados em Sir. Entretanto, quando escores  $< 30\%$  foram considerados, uma prevalência de CG de 20,8% ( $n = 30$ ) foi observada. A amostra total apresentou um percentual de papilas afetadas por CG de  $2,99 \pm 7,34\%$  (intervalo 0-45) com um escore médio de CG de  $0,08 \pm 0,22$  (intervalo 0-1,9); o escore médio de CG foi de  $1,04 \pm 2,71\%$  (intervalo 0-19). Do total de indivíduos CG+, 18,8% ( $n = 27$ ) apresentaram escores de 1 a 10%, e 2,1% ( $n = 3$ ) apresentaram escores de 11 a 19%. Nenhum escore de CG acima de 19% foi observado. Além disso, o escore médio de CG foi

de  $5,0 \pm 3,98\%$  (intervalo 0-19), o escore de CG médio por papila foi de  $0,378 \pm 0,361$  (intervalo 0,1-1,9), e o percentual de papilas afetadas por CG foi de  $14,35 \pm 9,86\%$  (intervalo 5-45).

Variáveis demográficas, farmacológicas e periodontais dos indivíduos, divididos de acordo com a presença/ausência de CG, estão detalhadas na Tabela 1. O grupo CG+ mostrou um maior tempo de transplante ( $p = 0,011$ ), um maior número de indivíduos com uso concomitante de BCC ( $p = 0,005$ ), e um maior número de indivíduos com uso prévio de INC ( $p = 0,005$ ) quando comparados àqueles sem CG. Uma associação marginalmente significativa foi observada entre o gênero masculino e o CG ( $p = 0,051$ ). Nenhuma diferença significativa foi observada em relação à dose e nível sérico de Sir, bem como em relação a outras variáveis não periodontais. Em relação a variáveis periodontais, indivíduos CG+ apresentaram um maior índice de sangramento papilar ( $p < 0,001$ ), e um maior percentual de papilas com sangramento após estímulo ( $p < 0,001$ ) quando comparados a indivíduos CG- (Tabela 1).

Variáveis demográficas, farmacológicas e periodontais dos indivíduos, divididos de acordo com o uso concomitante de BCC e o uso prévio de INC, estão apresentadas na Tabela 2. Indivíduos concomitantemente medicados com BCC apresentaram um maior escore de CG ( $p = 0,006$ ), um maior percentual de papilas afetadas por CG ( $p < 0,001$ ), um maior escore médio de CG por papila ( $p = 0,002$ ), bem como um maior índice de sangramento papilar ( $p = 0,005$ ) e um maior percentual de papilas com sangramento após estímulo ( $p = 0,002$ ), quando comparados àqueles indivíduos não medicados com BCC. Indivíduos com uso

prévio de INC apresentaram um maior escore de CG ( $p = 0,003$ ), um maior percentual de papilas afetadas por GC ( $p < 0,001$ ), e um maior escore médio por papila ( $p = 0,002$ ) quando comparados àqueles sem uso prévio de INC (Tabela 2).

Modelos logísticos multivariados para a ocorrência de CG são mostrados na Tabela 3 e 4. O modelo final sem variáveis periodontais (Tabela 3) mostrou o uso de BCC significativamente associado ao CG (OR = 2,65;  $p = 0,033$ ), bem como a interação entre tempo de transplante e uso prévio de INC (OR = 1,03;  $p < 0,001$ ). A acurácia do modelo, determinada pela área sob a curva ROC, foi de 0,6991.

Quando o modelamento para o CG incluiu variáveis peridontais na regressão logística, o modelo preditivo final (Tabela 4) mostrou uma acurácia maior, determinada pela área sob a curva ROC (0,8319). Este modelo incluiu o nível sérico de Sir (OR = 1,19;  $p = 0,032$ ), a interação entre tempo de transplante e o uso prévio de INC (OR = 1,04;  $p < 0,001$ ), e o índice de sangramento papilar (OR = 48,09;  $p < 0,001$ ) como variáveis significativas associadas à presença de CG.

## **DISCUSSÃO**

Baixas taxas de rejeição aguda e excelentes taxas de sobrevida do enxerto têm sido alcançadas com protocolos de imunossupressão baseados em ciclosporina e tacrolimus (INC) que incorporam drogas antiproliferativas e corticosteróides.

Apesar do sucesso em curto prazo, a lenta destruição da função do enxerto em longo prazo e efeitos colaterais dos agentes imunossupressores continuam a ser um problema significativo. Novos agentes imunossupressores como o sirolimus (Sir) aumentaram a possibilidade diminuir ou evitar o uso de INCs e esteróides. Entretanto, uma série de efeitos adversos tem sido relatada nos regimes imunossupressores baseados em Sir.<sup>36,37</sup>

Os achados do presente estudo não mostraram CG clinicamente significativo, definido como um escore limite  $\geq 30\%$ ,<sup>35</sup> como um efeito bucal adverso em indivíduos medicados com Sir. É importante ressaltar que limites de escore para determinar a presença de CG não são claros, resultando em algumas dificuldades e ineficiências na determinação da prevalência.<sup>38</sup> Adicionalmente, a definição de CG clinicamente significativo determinada por escores  $\geq 30\%$  por Thomason *et al.*<sup>35</sup> tem implicações cirúrgicas, uma vez que estes limites de escore mais apropriadamente coincidem com a gravidade de CG que necessita de intervenção cirúrgica.

Como sugerido previamente,<sup>27</sup> a avaliação do CG em pontos de corte abaixo de 30% pode ser considerada uma nova estratégia para se analisar variáveis de risco relacionadas com a sua ocorrência. O reconhecimento do CG desde a menor (1%) até a maior (100%) alteração pode oferecer um grau adequado de sensibilidade para estudos epidemiológicos.<sup>38</sup> Implicações bucais, como desconforto e problemas estéticos, podem ocorrer mesmo que uma intervenção cirúrgica, baseada em pontos de corte anteriormente estabelecidos, não seja requerida. Vale a pena ponderar novos limiares cirúrgicos se levarmos em

consideração que a demanda estética dos indivíduos tem crescido e apresentado padrões individualizados nos tempos atuais. Além disso, formas moderadas de CG podem prejudicar a higiene bucal e levar a um aumento no acúmulo de microorganismos, e como resultado, infecções bucais provenientes do CG poderiam possivelmente comprometer a saúde geral dos indivíduos transplantados afetados.<sup>20</sup>

Quando avaliamos a presença de CG determinada por qualquer escore ( $\geq 1\%$ ), 30 indivíduos (20,8%) foram determinados como afetados. Foi observada uma leve alteração gengival entre os indivíduos CG+, isto é, um escore médio de CG de  $5,0 \pm 3,98\%$ . 90% dos indivíduos afetados apresentaram escores entre 1 e 10%, e um limitado percentual de papilas afetadas por CG ( $14,35 \pm 9,86\%$ ). Variabilidades nas taxas de prevalência de CG entre indivíduos sob regimes imunossupressores podem ser explicadas, além das reais diferenças entre os regimes de drogas, por diferentes métodos aplicados para se medir e avaliar as alterações gengivais, por diferentes parâmetros usados para definir sua significância clínica, e pelo número de indivíduos nas amostras dos estudos.<sup>23,24,27,30</sup> A amostra do presente estudo parecer ser adequada para um primeiro estudo transversal a descrever a condição gengival em indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em SiR. Estudos adicionais abrangendo populações diferentes e maiores são necessários para corroborar os achados do presente estudo.

Relatos sobre o CG induzido por INC sugerem uma maior prevalência e gravidade entre indivíduos sob regimes de CsA quando comparados com aqueles sob os

regimes de Tcr.<sup>31,39</sup> É importante notar que avaliações de CG em pontos de corte abaixo de um limiar de significância cirúrgica não tem sido amplamente utilizadas. Conseqüentemente, comparações de resultados são difíceis.

Foi verificada uma tendência de homens serem mais propícios ao desenvolvimento do CG que mulheres. O grupo CG+ apresentou um maior percentual de homens com uma diferença marginalmente significativa. Tem sido sugerido que o gênero masculino é um fator de risco para a prevalência e gravidade do CG, embora algumas controvérsias foram relatadas. É especulado que estes achados apresentam um viés significativo, uma vez que o transplante de órgãos é mais freqüente em homens.<sup>40</sup> O grupo CG+ apresentou um maior tempo de transplante, um maior número de indivíduos com uso concomitante de BCC, e um maior número de indivíduos com uso prévio de INC. Relatos na literatura falharam em mostrar associação entre duração da terapia e o CG.<sup>23,26,29</sup> Entretanto, esta associação foi previamente sugerida e os resultados mostraram que quanto maior o tempo que os indivíduos tomam INC, maior os escores de CG.<sup>22,24,41</sup> Pode ser especulado que o maior tempo de transplante entre os indivíduos GC+ no presente estudo pode também ter levado a uma maior exposição a BCC e CNI em regimes imunossupressores anteriores. Entretanto, estas questões podem ser melhor avaliadas através da padronização dos indivíduos em relação ao tempo de transplante em estudos prospectivos.<sup>24</sup>

Regimes imunossupressivos de manutenção abrangem uma grande variedade de drogas, por exemplo, prednisona, azatioprina, MMF e BCC, além do agente imunossupressor principal, para melhorar a sobrevida do enxerto e a condição

sistêmica do indivíduo. Relatos prévios mostraram que o uso concomitante de algumas destas drogas pode contribuir para os efeitos bucais colaterais.<sup>23,26,40</sup>

Os efeitos dos BCC no CG foram bem documentados na literatura. Tem sido demonstrado que os BCC podem de maneira independente causar CG embora em uma menor prevalência que a CsA.<sup>42,43</sup> BCC também foram associados à prevalência e gravidade do CG em regimes baseados em INCs.<sup>23,26,30,40,42</sup> Os resultados do presente estudo demonstraram um grande percentual de indivíduos concomitantemente medicados com BCC entre os indivíduos CG+. Além disso, indivíduos medicados com Sir+BCC mostraram uma maior gravidade de CG quando comparados àqueles sem uso concomitante de BCC. A hipótese de que o CG entre indivíduos sob regimes baseados em Sir pode ser atribuído somente ao uso de BCC durante a terapia de imunossupressão deve ser avaliada em futuros estudos, uma vez que indivíduos não medicados com BCC também mostraram algum grau de alteração gengival.

Um número significativo de indivíduos transplantados usaram CsA antes de mudarem para Tcr. Alguns relatos mostraram que o CG induzido pela CsA diminuiu mas não foi completamente eliminado quando a terapia foi mudada.<sup>26,28-</sup>

<sup>30</sup> Assim, o CG observado em indivíduos tratados com Tcr com exposição prévia a CsA pode ser um efeito residual da CsA. De maneira semelhante, alguns indivíduos sob regimes baseados em Sir foram anteriormente tratados com CsA e/ou Tcr. Pode também ser hipotetizado que as alterações gengivais entre os indivíduos medicados com Sir pode ser resultado de uma exposição prévia a INCs. Nossos resultados mostraram um grande percentual de indivíduos com uso



prévio de INC entre os indivíduos CG+. Além disso, indivíduos previamente expostos a terapias com INCs mostraram maior gravidade de CG quando comparados àqueles sem uso prévio de INC.

É reconhecido que o CG pode regredir ou mesmo desaparecer com a substituição do agente imunossupressor. Entretanto, é importante esperar que um tempo de 6 a 12 meses ocorra entre o término do uso da droga causal e a possível resolução do CG. O tempo entre a substituição dos INCs pelo Sir nos indivíduos tratados com Sir+uso prévio de INC foi de  $7,25 \pm 5,74$  meses (intervalo 2 – 20) (dados não mostrados). Um desafio para futuros estudo seria colher dados de indivíduos transplantados que foram medicados com Sir sem uso prévio de INC e sem uso concomitante de BCC, para melhor avaliar a condição gengival relacionada somente ao uso de Sir.

No presente estudo, nenhuma associação entre o índice de placa e o CG foi demonstrada, apesar desta associação ter sido estabelecida em outros estudos.<sup>39,40</sup> Indivíduos CG+ sob regimes baseados em Sir mostraram um maior índice de sangramento papilar e um maior percentual de papilas com sangramento sob estímulo quando comparados com indivíduos CG-. A associação entre inflamação e CG é amplamente aceita.<sup>23,26,27,39-41</sup> Todavia, a maioria das evidências que suportam essa associação é proveniente de estudos transversais. Como resultado disso, não é claro se a inflamação é um fator contribuinte ou uma consequência das mudanças gengivais. Portanto, é difícil de determinar qual lado desta relação é causal.<sup>40,41</sup>

Na análise multivariada, o primeiro modelo preditivo foi criado sem a inclusão de variáveis periodontais. Este modelo mostrou o uso concomitante de BCC e a interação entre o tempo de transplante e o uso prévio de INC como variáveis de risco significativas para a presença de CG. Esta interação pode refletir a maior exposição dos indivíduos CG+ aos agentes INC em regimes imunossupressores prévios e pode indicar que as alterações gengivais pode ser um efeito residual de exposições passadas aos INCs. Somados, esta interação e o uso concomitante de BCC pode ter aumentado a prevalência e gravidade das alterações gengivais. De fato, tem sido demonstrado que os maiores escores de CG foram observados em regimes que incluíam CsA e BCC.<sup>23,26,39</sup> Tem sido sugerido também que a CsA usada em pequenas dosagens e não combinada com BCC pode não estar associada a um risco significativo para o CG.<sup>39</sup>

A adição de variáveis periodontais ao modelo logístico aumentou a sua acurácia. Um risco aumentado para as alterações gengivais foi determinado pelo índice de sangramento papilar, reforçando o papel da inflamação na patogênese do CG. A associação entre inflamação gengival e CG foi certamente a mais forte, em concordância com um relato prévio.<sup>41</sup> A interação entre o tempo de transplante e o uso prévio de INC foi mantida no modelo, com coeficientes e valores de p similares, mostrando a força desta variável na prevalência das alterações gengivais entre os indivíduos tratados com Sir. O nível sérico de Sir também foi retido no modelo final como uma variável significativa. Estudos futuros tornam-se necessários para se investigar o papel das doses e concentrações séricas de Sir no panorama global das alterações gengivais nos regimes baseados em Sir.

## **CONCLUSÕES**

Com base nos nossos resultados, foi observado CG em um considerável número de indivíduos sob regimes imunossupressores baseados em Sir. Entretanto, este CG não foi considerado clinicamente significativo. Adicionalmente, o CG foi fortemente associado a interação entre tempo de transplante e uso prévio de INC, e ao índice de sangramento papilar. Estes achados apontam para a importância de uma integração entre a equipe de saúde médica e odontológica na terapia de manutenção dos indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em Sir. O manejo da condição periodontal em indivíduos pós-transplante renal sob terapias de imunossupressão pode melhorar a condição gengival e a qualidade de vida.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores expressam seus agradecimentos à Unidade de Transplante do Hospital Felício Rocho e a todos os participantes, pelo seu envolvimento e tempo despendido. Este estudo recebeu apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG / #13016). Os autores declaram nenhum conflito de interesse relacionado ao presente estudo.

## **REFERÊNCIAS**

01. Magoha GA, Ngumi ZW. Renal transplantation during the twentieth century: a review. *East Afr Med J* 2001;78:317-321.
02. Magee CC, Pascual M. Update in renal transplantation. *Arch Intern Med* 2004;164:1373-1388.
03. Pascual M, Theruvath T, Kawai T *et al*. Strategies to improve long term outcomes after renal transplantation. *N Eng J Med* 2002;346:580-590.
04. Rajab A, Pelletier RP, Henry ML *et al*. Evolution of immunosuppression in kidney transplantation: the Ohio State University experience. *Clin Transpl* 2005;:111-117.
05. Callaghan CJ, Bradley JA. Current status of renal transplantation. *Methods Mol Biol* 2006;333:1-28.
06. Dannovitch MD. Immunosuppressant-induced metabolic toxicities. *Trasnplantation Rev* 2000;14:65-81.
07. Miller LW. Cardiovascular toxicities of immunosuppressive agents. *Am J Transplant* 2002;347:488-496.
08. Nankivel BJ, Borrows R, Fung CL *et al*. The natural history of chronic allograft nephropathy. *N Eng J Med* 2003;349:2326-2333.
09. Dahm F, Weber M. Kidney transplantation: new developments. *Swiss Surg* 2003;9:205-212.
10. Flechner SM. Minimizing calcineurin inhibitor drugs in renal transplantation. *Transplant Proc* 2003;35:118S-121S (suppl).
11. Bestard O, Cruzado JM, Grinyó JM. Calcineurin-inhibitor-sparing immunosuppressive protocols. *Transplantation Proceedings*

- 2005;37:3729-3732.
12. Barbari AG, Stephan AG, Masri MA. Calcineurim inhibitor-free protocols: risks and benefits. *Saudi J Kidney Dis Transplant* 2007;18:1-23.
  13. Watson CJE. Sirolimus (Rapamycin) in clinical transplantation. *Transplantation Reviews* 2001;15:165-177.
  14. Flechner SM, Goldfarb D, Solez K *et al.* Kidney transplantation with sirolimus and mycophenolate mofetil-based immunosuppression: 5-years results of a randomized prospective trial compared to calcineurin inhibitor drugs. *Transplantation* 2007;83:883-892.
  15. Krüger B, Fischereeder M, Jauch KW *et al.* Five-year follow-up after latter conversion from calcineurim inhibitors to sirolimus in patients with chronic renal allograft dysfunction. *Transplant Proc* 2007;39:518-521.
  16. Srinivas TR, Schold JD, Guerra G, Eagan A, Bucci CM, Kriesche-Meier HU. Mycophenolate mofetil/sirolimus compared to other common immunosuppressive regimens in kidney transplantation. *Am J Transplant* 2007;7:586-594.
  17. Merkel S, Mogilevskaja N, Mengel M, Haller H, Schwarz A. Side effects of sirolimus. *Transplant Proc* 2006;38:714-715.
  18. Webster AC, Lee VW, Chapman JR, Craig JC. Target of rapamycin inhibitors (sirolimus and everolimus) for primary immunosuppression of kidney transplant recipients: a systematic review and meta-analysis of randomized trials. *Transplantation* 2006;81:1234-1248.
  19. Van Gelder T. The ups and downs of sirolimus in kidney transplantation, and the importance of reporting negative findings. *The Journal of*

- Medicine 2007;65:3-4.
20. Trackman PC, Kantarci A. Connective tissue metabolism and gingival overgrowth. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15:165-175.
  21. Kataoka M, Kido J, Shinohara Y, Nagata T. Drug-induced gingival overgrowth – a review. *Biol Pharm Bull* 2005;28:1817-1821.
  22. Vescovi P, Meleti M, Manfredi M, Merigo E, Pedrazzi G. Cyclosporin-induced gingival overgrowth: A clinical-epidemiological evaluation of 121 Italian renal transplant recipients. *J Periodontol* 2005;76:1259-1264.
  23. Costa FO, Ferreira SD, Cota LOM, Costa JE, Aguiar MA. Prevalence, severity, and risk variables associated with gingival overgrowth in renal transplant subjects treated under tacrolimus or cyclosporine regimens. *J Periodontol* 2006;77:969-975.
  24. Costa FO, Ferreira SD, Lages EJP, Costa JE, Oliveira AMSD, Cota LOM. Demographic, pharmacologic, and periodontal variables for gingival overgrowth in subjects medicated with cyclosporin in the absence of calcium channel blockers. *J Periodontol* 2007;78:254-261.
  25. Afonso M, Bello VO, Shibli JA, Sposto MR. Cyclosporin A-induced gingival overgrowth in renal transplant patients. *J Periodontol* 2003;74(1):51-56.
  26. Ellis JS, Seymour RA, Taylor JJ, Thomason JM. Prevalence of gingival overgrowth in transplant patients immunosuppressed with tacrolimus. *J Clin Periodontol* 2004;31:126-131.
  27. Cezário ES, Cota LOM, Ferreira SD *et al.* Gingival overgrowth in renal transplant subjects medicated with tacrolimus in the absence of

- calcium channel blockers. *Transplantation* 2008;85:232-236.
28. Hernández G, Arribal L, Frias MC *et al.* Conversion from cyclosporin A to tacrolimus as a non-surgical alternative to reduce gingival enlargement: a preliminary case series. *J Periodontol* 2003;74:1816-1823.
  29. James JA, Boomer S, Maxwell AP, *et al.* Reduction in gingival overgrowth associated with conversion from cyclosporin A to tacrolimus. *J Clin Periodontol* 2000;27:144-148.
  30. James JA, Jamal S, Hull PA, *et al.* Tacrolimus is not associated with gingival overgrowth in renal transplant patients. *J Clin Periodontol* 2001;28:848-852.
  31. McKaig SJ, Kell D, Shaw L. Investigation of the effect of FK506 (tacrolimus) and cyclosporin on gingival overgrowth following paediatric liver transplantation. *Int J Paediatr Dent* 2002;12:398-403.
  32. Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy: correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964;22:131-135.
  33. Saxer UP, Mühlemann HR. Motivation and education (in German). *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd* 1975;85:905-919.
  34. Thomason JM, Kelly PJ, Seymour RA. The distribution of gingival overgrowth in organ transplant patients. *J Clin Periodontol* 1996;23:367-371.
  35. Thomason JM, Seymour RA, Rice N. The prevalence and severity of cyclosporin and nifedipine induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1993;20:37-40.

36. Ekberg H, Tedesco-Silva H, Demirbas A *et al*. Reduced exposure to calcineurin inhibitors in renal transplantation. *N Engl J Med*. 2007;357:2562-2575.
37. Saber LT, Ikeda MY, Almeida JM. Post transplantation conversion to sirolimus-based immunosuppression: a single center experience. *Transplant Proc*. 2007;39:3098-100.
38. Ellis JS, Seymour RA, Robertson P, Butler TJ, Thomason JM. Photographic scoring of gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 2001;28:81-85.
39. Greenberg KV, Armitage GC, Shiboski CH. Gingival enlargement among renal transplant recipients in the era of new-generation immunosuppressants. *J Periodontol* 2008;79:453-460.
40. Seymour RA, Ellis JS, Thomason JM. Risk factors for drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 2000;27:217-223.
41. Thomason JM, Seymour RA, Ellis JS. Risk factors for gingival overgrowth in patients medicated with ciclosporin in the absence of calcium channel blockers. *J Clin Periodontol* 2005;32:273-279.
42. James JA, Marley JJ, Jamal S *et al*. The calcium channel blocker used with cyclosporin has an effect on gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 2000;27:109-115.
43. Ellis JS, Seymour RA, Steele JG, Robertson P, Butler TJ, Thomason JM. Prevalence of gingival overgrowth induced by calcium channel blockers: a community-based study. *J Periodontol* 1999;70:63-67.



Tabela 1. Variáveis demográficas, farmacológicas e periodontais da amostra de acordo com a presença/ausência do crescimento gengival.

Variáveis	Amostra total (n=144)	CG+ (n=30)	CG- (n=114)	p
% homens (n)	54,2% (78)	70,0% (21)	50,0% (57)	
% mulheres (n)	45,8% (66)	30,0% (9)	50,0% (57)	0,051*
Idade (anos)	40,45±10,65 (18-69)	41,30±12,06 (21-62)	40,24±10,30 (18-69)	0,629 <sup>†</sup>
Peso (kg)	64,40±13,99 (37-114)	66,95±14,51 (37-106)	63,73±13,84 (37-114)	0,264 <sup>†</sup>
Tempo de transplante (meses)	28,71±21,08 (2-109)	37,36±24,12 (3-83)	26,43±19,70 (2-109)	<b>0,011<sup>†</sup></b>
Dose diária de Sir (mg)	2,63±1,00 (1-6)	2,80±1,2 (1-6)	2,58±0,94 (2-6)	0,284 <sup>†</sup>
Concentração sérica de Sir (µg/l)	7,06±2,99 (0,5-14,3)	7,82±3,21 (2,3-14,3)	6,86±2,92 (0,5-14,3)	0,119 <sup>†</sup>
Dose diária de Micofenolato (mg)	851,0±295,94 (0-2000)	840,0±256,0 (0-1440)	853,9±306,5 (0-2000)	0,819 <sup>†</sup>
Dose diária de Prednisona (mg)	2,26±2,72 (0-20)	2,00±2,31 (0-10)	2,33±2,82 (0-20)	0,557 <sup>†</sup>
Nível de Creatinine (mg/dl)	1,79±1,19 (0,76-8,9)	1,73±0,82 (0,8-3,7)	1,80±1,27 (0,76-8,9)	0,775 <sup>†</sup>
Uso concomitante de BCC	29,2%	50,0%	23,7%	<b>0,005*</b>
Uso prévio de INC	29,2%	50,0%	23,7%	<b>0,005*</b>
Índice de placa	1,37±0,74 (0,02-3,00)	1,54±0,76 (0,02-2,92)	1,33±0,73 (0,08-3,00)	0,179 <sup>†</sup>
Índice de sangramento papilar	0,170±0,250 (0-1,3)	0,367±0,271 (0-0,90)	0,114±0,211 (0-1,3)	<b>&lt;0,001<sup>†</sup></b>
% de papilas com sangramento após estímulo	11,53±15,85 (0-60)	23,73±17,54 (0-57)	8,32±13,75 (0-60)	<b>&lt;0,001<sup>†</sup></b>

CG = crescimento gengival; Sir = sirolimus; BCC = bloqueadores de canais de cálcio; INC = inibidores de calcineurina. \*teste Qui-quadrado; <sup>†</sup>teste t Student; média±DP (intervalo) a não ser quando especificado; valores estatisticamente significativos em negrito.

Tabela 2. Variáveis demográficas, farmacológicas e periodontais da amostra de acordo com o uso concomitante de BCC e uso prévio de INC.

Variáveis	Sir+BCC (n=42)	Sir sem BCC (n=102)	p	Sir+ INC prévio (n=42)	Sir sem INC prévio (n=102)	p
% homens (n)	69%	48%		57,1%	52,9%	
% mulheres (n)	31%	52%	<b>0,021*</b>	42,9%	47,1%	0,645*
Idade (anos)	42,02±12,01 (21-67)	39,81±10,04 (18-69)	0,259 <sup>†</sup>	41,66±11,40 (21-62)	39,96±10,35 (18-69)	0,384 <sup>†</sup>
Peso (kg)	69,50±16,17 (43-106)	62,30±12,48 (37-114)	<b>0,004<sup>†</sup></b>	65,45±16,36 (43-106)	63,95±12,95 (37-114)	0,564 <sup>†</sup>
Tempo de transplante (meses)	29,45±24,00 (2-109)	28,40±19,52 (2-82)	0,787 <sup>†</sup>	35,14±21,07 (5-83)	26,05±20,61 (2-109)	<b>0,018<sup>†</sup></b>
Dose diária de Sir (mg)	2,55±0,77 (2-4)	2,66±1,08 (1-6)	0,554 <sup>†</sup>	2,57±0,91 (2-6)	2,65±1,04 (1-6)	0,682 <sup>†</sup>
Concentração sérica de Sir (µg/l)	6,96±2,90 (2,3-13,2)	7,10±3,05 (0,5-14,3)	0,802 <sup>†</sup>	6,96±3,02 (1-14,3)	7,10±3,00 (0,5-14,3)	0,802 <sup>†</sup>
Dose diária de Micofenolato (mg)	934,4±287,2 (0-1440)	816,6±293,9 (0-2000)	<b>0,029<sup>†</sup></b>	868,0±290,7 (0-1440)	846,9±299,2 (0-2000)	0,658 <sup>†</sup>
Dose diária de Prednisona (mg)	2,75±2,59 (0-10)	2,06±2,57 (0-20)	0,165 <sup>†</sup>	1,78±2,01 (0-7,5)	2,45±2,95 (0-20)	0,179 <sup>†</sup>
Nível de Creatinine (mg/dl)	2,00±1,22 (0,8-8,2)	1,70±1,17 (0,8-8,9)	0,159 <sup>†</sup>	1,97±1,30 (0,8-8,2)	1,71±1,14 (0,8-8,9)	0,234 <sup>†</sup>
Uso concomitante de BCC	1,31±0,65 (0,02-2,60)	1,40±0,77 (0,08-3,00)	0,505*	1,24±0,74 (0,02-2,79)	1,43±0,74 (0,10-3,00)	0,165*
Uso prévio de INC	0,25±0,31 (0-1,0)	0,13±0,20 (0-1,3)	<b>0,005*</b>	0,16±0,24 (0-0,9)	0,16±0,25 (0-1,3)	0,985*
Índice de placa	17,86±20,36 (0-60)	8,92±12,80 (0-50)	<b>0,002<sup>†</sup></b>	11,35 ±16,10 (0-50)	11,60±15,82 (0-60)	0,934 <sup>†</sup>

Escore de CG (%)	2,00±3,65 (0-19)	0,65±2,12 (0-12)	<b>0,006</b> <sup>†</sup>	2,07±3,79 (0-11)	0,62±1,99 (0-19)	<b>0,003</b> <sup>†</sup>
% de papilas afetadas por CG	6,15±10,33 (0-45)	1,68±5,21 (0-35)	<b>&lt;0,001</b> <sup>†</sup>	6,12±10,69 (0-45)	1,70±9,92 (0-28,5)	<b>&lt;0,001</b> <sup>†</sup>
CG médio por papila	0,166±0,336 (0-1,9)	0,043±0,143 (0-1,0)	<b>0,002</b> <sup>†</sup>	0,166±0,342 (0-1,9)	0,042±0,137 (0-1,0)	<b>0,002</b> <sup>†</sup>

BCC = bloqueadores de canais de cálcio; INC = inibidores de calcineurina; Sir = sirolimus; CG = crescimento gengival. \*teste Qui-quadrado; <sup>†</sup>teste t Student; média±DP (intervalo) a não ser quando especificado; valores estatisticamente significantes em negrito.

Tabela 3. Modelo multivariado final para ocorrência do crescimento gengival (sem variáveis periodontais).

<b>Variáveis</b>	<b>Coefficiente</b>	<b>IC 95%</b>	<b>Razão das chances (OR)</b>	<b>p</b>
Constante	-2,196	NA	NA	<0,001
Uso concomitante de BCC	0,975	0,077 – 1,873	2,65	0,033
Interação entre tempo de transplante e uso prévio de INC	0,037	0,017 – 0,057	1,03	<0,001

Área sob a curva ROC para o modelo = 0,6991.

NA = Não se aplica; BCC = bloqueadores de canais de cálcio; INC = inibidores de calcineurina.

Tabela 4. Modelo multivariado final para ocorrência do crescimento gengival (com variáveis periodontais).

Variáveis	Coefficiente	IC 95%	Razão das chances (OR)	p
Constante	-4,091	NA	NA	<0,001
Nível sérico de Sir	0,180	0,016 – 0,344	1,19	0,032
Interação entre tempo de transplante e uso prévio de INC	0,043	0,020 – 0,066	1,04	<0,001
Índice de sangramento papilar	3,873	2,025– 5,721	48,09	<0,001

Área sob a curva ROC para o modelo = 0,8319.

NA = Não se aplica; Sir = Sirolimus; INC = inibidores de calcineurina.

## 6.2 ARTIGO CIENTÍFICO NO. 2

### CRESCIMENTO GENGIVAL NOS REGIMES IMUNOSSUPRESSORES BASEADOS EM CICLOSPORINA, TACROLIMUS OU SIROLIMUS E O POLIMORFISMO DE BASE ÚNICA IL-6 (-174 G/C)

(formatado de acordo com as normas do *Journal of Peridontology*)

#### RESUMO

**Base científica:** Interleucina-6 (IL-6) parece estar envolvida na etiopatogênese do crescimento gengival (CG) induzido por drogas. O presente estudo foi conduzido para avaliar a associação entre o polimorfismo do gene da IL-6 (-174 G/C) e o CG em indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em ciclosporina (CsA), tacrolimus (Tcr) ou sirolimus (Sir).

**Metodologia:** De uma população elegível, 135 indivíduos não relacionados foram selecionados, sendo 45 para cada grupo – CsA, Tcr, e Sir. O CG foi avaliado visualmente e os indivíduos classificados como controles (CG- / não-respondentes) ou casos (CG+ / respondentes) em uma definição *post-hoc*. O polimorfismo do gene da IL-6 foi avaliado através da reação em cadeia da polimerase e digestão. A distribuição dos genótipos e a frequência dos alelos em respondentes e não-respondentes foi comparada através do teste Qui-quadrado.

**Resultados:** O número de respondentes foi de 27 (60,0%), 13 (28,9%), e 7 (15,6%) nos grupos CsA, Tcr, e Sir, respectivamente. Nenhuma diferença foi observada na frequência dos genótipos -174GG, -174CG, -174CC entre respondentes e não-respondentes nos grupos CsA, Tcr, e Sir. Semelhante aos

genótipos, a frequência dos alelos não mostrou diferença significativa entre respondentes e não-respondentes em todos os grupos ( $p > 0,05$ ).

**Conclusão:** Nenhuma associação entre o polimorfismo do gene IL-6 (-174 G/C) e crescimento gengival foi observada em transplantados renais sob regimes imunossupressores de manutenção baseados em CsA, Tcr, ou Sir.

**Palavras-chave:** crescimento gengival, imunossupressores, interleucina-6, polimorfismo, transplante renal.

### **Sentença-sumário**

O polimorfismo do gene da interleucina-6 (-174 G/C) não está associado ao crescimento gengival em transplantados renais brasileiros sob regimes imunossupressores de manutenção baseados em ciclosporina, tacrolimus ou sirolimus.

## **INTRODUÇÃO**

O aumento fibroso da gengiva pode surgir como efeito colateral de diferentes categorias de drogas, incluindo anticonvulsivantes, bloqueadores de canais de cálcio (BCC), e imunossupressores.<sup>1</sup> Está comumente presente em indivíduos transplantados renais sob terapias imunossupressoras baseadas em ciclosporina (CsA) ou tacrolimus (Tcr) como o agente imunossupressor principal.<sup>2-8</sup> Recentemente, este efeito adverso denominado crescimento gengival (CG) foi também descrito em indivíduos transplantados sob regimes baseados em

sirolimus (Sir), embora em um limiar não clinicamente significativo.<sup>9</sup> O controle do aumento gengival induzido por drogas neste grupo de transplantados de órgãos sólidos é uma preocupação entre os profissionais da área de saúde odontológica devido a suas possíveis complicações funcionais, estéticas e sistêmicas.

Os mecanismos envolvidos na resposta gengival às medicações que induzem o CG não são bem compreendidos. Como um pequeno grupo de indivíduos desenvolve CG, tem sido sugerido que eles apresentam fibroblastos com um perfil de susceptibilidade anormal.<sup>1,10,11</sup> Existem ainda evidências que citocinas gengivais estão envolvidas na patogênese desta alteração. Indivíduos que apresentam CG parecem ter uma resposta não balanceada de citocinas, com níveis anormais de citocinas específicas nos tecidos gengivais.<sup>10</sup> Tem sido reportado que a interleucina-6 (IL-6), de ação pró-inflamatória, tem um papel importante nos eventos fibróticos do CG induzido por drogas. A IL-6 parece atingir os fibroblastos exercendo um aumento da proliferação e uma regulação na síntese de colágeno e glicosaminoglicanos.<sup>12,13</sup> De fato, um aumento na expressão de IL-6 nos tecidos conjuntivos gengivais tem sido relatado como uma característica histológica do CG induzido pela CsA.<sup>12,14</sup> Entretanto, não existem dados na literatura sobre esta influência em regimes de Tcr e Sir.

É reconhecido que uma variação na produção de citocinas e receptores celulares pode ser, pelo menos em parte, explicada pela presença de polimorfismos genéticos, que resultariam em uma expressão alterada ou mudanças estruturais nas moléculas codificadas, possivelmente tornando os indivíduos mais susceptíveis a uma dada doença, ou resultando num aumento da gravidade da



mesma.<sup>15,16</sup> Polimorfismos na região promotora do gene da IL-6 podem resultar em uma variação inter-individual na transcrição e expressão desta citocina. Foi sugerido que um polimorfismo de base única -174 G/C, localizado na região promotora do gene da IL-6, parece influenciar a expressão da IL-6, com indivíduos heterozigotos e homozigotos apresentando diferentes níveis de citocinas.<sup>16,17</sup>

Neste sentido, variações individuais na susceptibilidade e resposta ao CG podem ser resultado de variáveis farmacológicas e demográficas, condição bucal e/ou predisposição genética. De fato, diferentes estudos investigaram possíveis fatores de risco para o desenvolvimento do CG. Enquanto certos estudos mostraram algum grau de associação entre o CG e variáveis como gênero, tempo de transplante, índice de sangramento papilar, uso de bloqueadores de canais de cálcio (BCC) e dose do imunossupressor, outros falharam em demonstrar associações significativas para estas variáveis.<sup>4-7,9,18</sup> Diferentes polimorfismos de genes específicos foram também investigados como potenciais fatores de risco para o CG em alguns estudos<sup>19-22</sup> e os dados são diversos. Um estudo avaliando o polimorfismo do gene da IL-6 não demonstrou associação com o CG em indivíduos de origem polonesa medicados com CsA.<sup>20</sup>

Deste modo, o CG é considerado multifatorial e ainda permanece pouco claro porque alguns indivíduos desenvolvem CG e outros permanecem não afetados. Por esta razão, a busca por possíveis fatores de risco ainda é indispensável. O termo “respondente” foi sugerido para descrever indivíduos que reagem positivamente às drogas e desenvolvem CG em diferentes níveis.

Tendo em vista o fato de que: a) IL-6 parece ser uma citocina importante no CG induzido por drogas; b) o polimorfismo do gene da IL-6 parece determinar indivíduos com níveis alterados de expressão desta citocina; c) somente um estudo prévio<sup>20</sup> investigou a associação entre o polimorfismo do gene da IL-6 (-174 G/C) e o CG em transplantados medicados com CsA, e; d) não existem dados em relação ao polimorfismo do gene da IL-6 (-174 G/C) e CG em indivíduos sob regimes imunossupressores baseados em Tcr ou Sir; o objetivo do presente estudo foi avaliar a possível associação entre o polimorfismo de base única IL-6 (-174 G/C) e o CG em pacientes transplantados renais sob regimes imunossupressores de manutenção baseados em CsA, Tcr ou Sir.

## **METODOLOGIA**

### **Desenho de estudo e estratégia amostral**

O presente estudo apresentou um desenho transversal e envolveu um grupo de transplantados renais não relacionados sob terapias imunossupressoras de manutenção baseados em CsA, Tcr e Sir, na cidade de Belo Horizonte, na região sudeste do Brasil. Foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (ETIC 514/05). Todos os participantes foram informados dos objetivos da pesquisa e assinaram um consentimento livre e esclarecido antes da participação no estudo. Os direitos dos indivíduos foram respeitados e protegidos em todos os momentos.

Uma amostra elegível foi selecionada e recrutada das unidades de transplante de 2 hospitais públicos, onde os indivíduos eram examinados regularmente para monitorar a terapia medicamentosa e a sobrevida do enxerto. Durante o período de coleta de dados (de setembro 2007 a outubro de 2008), os indivíduos que preenchiam os critérios de inclusão foram convidados a participar do estudo de acordo com o acesso e a disponibilidade dos mesmos na rotina da visita de manutenção pós-transplante.

Com esta estratégia, todo indivíduo elegível que concordou em participar do estudo foi examinado e incluído nos grupos de acordo com o agente imunossupressor principal. Eles foram também classificados como controles (não respondentes / indivíduos CG-) ou casos (respondentes / indivíduos CG+) em uma definição *post-hoc*. Desta forma, uma amostra de conveniência de 135 indivíduos foi formada e dividida em: grupo CsA (n = 45), grupo Tcr (n = 45) e grupo Sir (n = 45).

Foram adotados os seguintes critérios de inclusão: 1) apresentar pelo menos 2 meses de transplante e estar sob terapias imunossupressoras baseadas em CsA, Tcr ou Sir como o agente imunossupressor principal; 2) ter idade de 18 anos ou mais na data do exame; 3) apresentar pelo menos 6 dos 12 dentes anteriores nos arcos superior ou inferior. Indivíduos sob terapias combinadas de CsA, Tcr, ou Sir, indivíduos medicados com drogas anticonvulsivantes, bem como fumantes e ex-fumantes foram excluídos do estudo. Os participantes eram ainda da mesma macro região geográfica de residência, de nível sócio-econômico baixo e grupo étnico variado. Etnia não foi uma variável estabelecida, uma vez que os

problemas em classificar os brasileiros por cor ou raça já foram previamente relatados.<sup>23</sup>

### **Variáveis médicas e farmacológicas**

Dados médicos e farmacológicos foram obtidos dos registros médicos de cada indivíduo. Como parte da rotina de manutenção em longo prazo, os transplantados renais são monitorados regularmente em relação às concentrações séricas e sanguíneas do imunossupressor principal. Dados do exame médico mais recente (0 – 30 dias), usualmente da última visita médica, foram registrados. Gênero, idade, tempo de transplante, dose e nível sérico do imunossupressor principal, bem como o uso concomitante de bloqueadores de canais de cálcio (BCC) foram coletados e usados na análise. Todos os registros médicos dos indivíduos foram extensivamente examinados e os dados confirmados pela equipe médica do transplante de órgãos.

### **Avaliação gengival**

Após o exame dos registros médicos dos indivíduos e a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, estes eram encaminhados para a avaliação gengival. Os exames foram realizados em uma sala separada nas unidades hospitalares, sob condições adequadas de iluminação e controle de infecção. Condição de higiene e inflamação gengival bucal foram avaliadas através do Índice de Placa<sup>24</sup> e Índice de Sangramento Papilar.<sup>25</sup> Esta abordagem metodológica é suportada por estudos transversais que demonstraram que o sangramento gengival tem sido um

bom indicador do papel da inflamação induzida pela placa bacteriana na gravidade do CG.<sup>4,5,7,9</sup>

O nível de higiene bucal foi obtido de acordo com o Índice de Placa.<sup>24</sup> As medidas foram realizadas nas superfícies lingual, vestibular, e interproximais dos 6 dentes anteriores nos arcos superior e inferior. Os escores de cada sítio foram somados e os valores médios registrados. O Índice de Sangramento Papilar foi registrado na papila interproximal dos 6 dentes anteriores em ambos os arcos.<sup>25</sup>

A avaliação gengival foi realizada por um único periodontista calibrado, que estava mascarado para a identidade de cada indivíduo, bem como para a história médica e o regime imunossupressor. Para determinar a concordância intra-examinador, o índice de sangramento papilar e o CG de 10 pacientes foram avaliados no início do estudo e repetidos com um intervalo de aproximadamente 1 mês. Todos os escores do teste *Kappa* não ponderado foram maiores que 0,92 e os coeficientes de correlação intraclassa foram maiores que 0,90.

O presente estudo avaliou o CG nos 12 dentes anteriores como previamente descrito e justificado em diferentes estudos.<sup>4,5,7,9</sup> Resumidamente, dentes anteriores superiores e inferiores foram avaliados através de inspeção visual. Escores entre 0 e 5, dependendo da quantidade do crescimento tanto buco-lingual quanto méso-distal, eram registrados para cada papila lingual e vestibular dos 6 dentes anteriores superiores e inferiores. Assim, de acordo com o número de dentes anteriores disponíveis em cada arco dentário, um total de 20 papilas poderia ser selecionado e examinado. Deste modo, um possível valor máximo de

100 para o escore de CG poderia ser atribuído e expresso em percentual. Indivíduos com escores de CG  $\geq$  30% foram classificados como tendo um crescimento clinicamente significativo como previamente sugerido.<sup>26</sup>

### **Coleta das amostras e extração do DNA**

Raspados de mucosa bucal foram colhidos de todos os participantes com espátulas plásticas estéreis. Após raspar gentilmente a mucosa, os materiais coletados foram imediatamente colocados em microtubos estéreis de 2 ml contendo 1500  $\mu$ l de solução de Krebs (NaCl 20%, KCl 2%, CaCl<sub>2</sub> 2%, H<sub>2</sub>O 2%, 0,29 g/L MgSO<sub>4</sub>, 5,95 g/L KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>, 1,80 g/L C<sub>6</sub>H<sub>12</sub>O<sub>6</sub>). A extração do DNA foi realizada como descrito previamente.<sup>16</sup> Um *pellet* de células epiteliais foi obtido por centrifugação a 200 *xg* por 5 min. O sobrenadante foi removido e 20  $\mu$ l de sílica (SiO<sub>2</sub>)<sup>‡</sup> e 450  $\mu$ l de tampão de lise (6,0 M GuSCN, 65 mM Tris-HCl pH 6,4, 25 mM EDTA and 1.5% Triton X-100) foram adicionados. As amostras foram homogeneizadas no vortex e incubadas por 30 min a 56°C. Após esta incubação, as amostras foram submetidas à outra centrifugação (200 *xg*) e o sobrenadante descartado. O *pellet* obtido (com o DNA adsorvido na sílica) foi lavado 2 vezes com o tampão de lavagem (6,0 M GuSCN, 65 mM Tris-HCl, pH 6,4), 2 vezes com 450  $\mu$ l de etanol 70%, uma vez com 450  $\mu$ l de acetona e secado a 56°C por 20 min. Finalmente, 100  $\mu$ l de tampão TE (10 mM Tris- HCl pH 8,0 e 1 mM EDTA) foi adicionada e incubado a 56°C por 12 h. Após incubação, a solução foi homogeneizada, centrifugada para obtenção do sobrenadante contendo o DNA.

---

<sup>‡</sup> Sigma, St. Louis, MO, USA

## Reação em cadeia da polimerase (PCR) e Digestão por endonuclease de restrição

O polimorfismo IL-6 (-174G/C) foi avaliado pela amplificação por PCR e digestão. O primer<sup>27</sup> *sense* 5'-CAGAAGAACTCAGATGACTG-3' e o primer<sup>27</sup> *antisense* 5'-GTGGGGCTGATTGGAAACC-3' foram usados, gerando um produto de 431 pares de base (pb). A reação de PCR foi realizada com um volume total de 50 µl, contendo 10 µl da solução de DNA (aproximadamente 400 ng), tampão pré-mix (50 mM KCl, 10 mM Tris-HCl pH 8.4, 0.1% Triton X-100, 1.5 mM MgCl<sub>2</sub>, desoxinucleotídeo trifosfato, *Taq* DNA polymerase<sup>§</sup>) e primers (20 pmol/ reação). As condições de amplificação consistiram de 94°C por 3 minutos seguidos de 35 ciclos de 94°C por 30 segundos, 56°C por 35 segundos e 72°C por 30 segundos. O processo foi completado pelo alongamento final a 72°C por 5 minutos.

Os produtos foram digeridos com 6 unidades de *Hsp92II*<sup>\*\*</sup> a 37°C por 4 horas e os produtos da digestão de 229 + 122 + 51 + 29 pb e 229 + 173 + 29 pb foram obtidos para os alelos C e G, respectivamente. Portanto, os genótipos foram determinados como se segue: a) CC = 229 + 122 + 51 + 29 pb; b) GC = 229 + 173 + 122 + 51 + 29 pb; c) GG = 229 + 173 + 29 pb. A separação e visualização dos produtos de digestão foi realizada em um gel de poliacrilamida 6,5% de 10 x 7 cm com coloração de prata.

---

<sup>§</sup> Phorontria, Brazil.

<sup>\*\*</sup> Promega, Madison, WI, USA.

## Análise estatística

A normalidade dos dados foi testada através do teste de Lilliefors. A amostra total e os grupos de imunossupressores foram descritos em relação a variáveis de interesse. Inicialmente, a amostra foi dividida de acordo com a presença (respondentes) ou ausência (não-respondentes) do crescimento gengival, independentemente do agente imunossupressor principal (CsA, Tcr, ou Sir). Respondentes e não-respondentes foram comparados através dos testes t Student e Mann-Whitney quando apropriado. Posteriormente, a presença/ausência do CG foi avaliada em cada grupo de imunossupressor. Para comparações múltiplas de dados paramétricos, uma análise one-way ANOVA foi utilizada para se determinar a variância geral, seguida por um teste *post-hoc* t Student para a comparação dos pares. Para comparações múltiplas de dados não paramétricos, um teste Kruskal-Wallis foi utilizado para se determinar a variância geral, seguido por um teste *post-hoc* Dunn para a comparação dos pares. A distribuição dos genótipos e a frequência dos alelos entre respondentes e não-respondentes foi comparada através do teste Qui-quadrado. A correção de Yates foi usada quando apropriada. Os grupos do estudo foram testados para o equilíbrio Hardy-Weinberg, através da comparação das frequências esperadas e observadas dos genótipos.<sup>28</sup> Todos os dados coletados foram analisados em um programa estatístico<sup>††</sup> e as estimativas foram consideradas significativas se o valor de  $p < 0,05$ .

---

<sup>††</sup> Statistical Package for Social Sciences, Version 16.0 for Windows - SPSS Inc., Chicago, IL.



## RESULTADOS

Características da amostra em relação ao CG são apresentadas na Tabela 1. Na amostra total, quando consideramos todos os indivíduos independentes do agente imunossupressor principal utilizado, o número de respondentes [(CG+) indivíduos apresentando qualquer escore de CG] foi de 47 (34,8%) com um escore médio de  $16,88 \pm 13,71$ . Dos 47 indivíduos com CG, 10 indivíduos (7,4%) foram classificados como apresentando CG clinicamente significativo (escores  $\geq 30\%$ ).

Quando o CG foi avaliado em cada grupo de imunossupressores, o número de respondentes foi de 27 (60,0%), 13 (28,9%) e 7 (15,6%) nos grupos CsA, Tcr e Sir, respectivamente. O grupo CsA apresentou um escore médio de CG de  $19,20 \pm 13,95$  sendo que 6 indivíduos (13,3%) foram classificados como apresentando CG clinicamente significativo. O grupo Tcr apresentou um escore médio de CG de  $17,08 \pm 15,25$  sendo que 4 indivíduos (8,9%) foram classificados como apresentando CG clinicamente significativo. O grupo Sir apresentou um escore médio de CG de  $7,57 \pm 2,44$  e nenhum indivíduo foi classificado como apresentando CG clinicamente significativo.

Características da amostra em relação a variáveis de interesse são apresentadas na Tabela 2. Na amostra total, respondentes apresentaram um maior tempo de transplante ( $p < 0.001$ ) e uma maior frequência de uso concomitante de BCC ( $p < 0.001$ ) quando comparados com os não-respondentes. Nenhuma diferença significativa entre respondentes e não-respondentes foi observada em relação ao gênero e idade. Nos grupos CsA ( $p = 0.011$ ), Tcr ( $p < 0.001$ ) e Sir ( $p = 0.016$ ), respondentes apresentaram uma maior frequência de uso concomitante de BCC

quando comparados a seus respectivos controles (não-respondentes dentro do mesmo grupo imunossupressor). Adicionalmente, nenhuma diferença em relação a gênero, idade, tempo de transplante, e dose do imunossupressor principal foi observada.

A distribuição dos genótipos bem como a frequência dos alelos está apresentada na Tabela 3. Respondentes e não-respondentes foram caracterizados por uma distribuição semelhante para os genótipos IL-6. Quando consideramos os grupos CsA, Tcr, e Sir de maneira isolada, nenhuma diferença na frequência dos genótipos –174GG, –174CG, –174CC entre indivíduos CG+ e CG- foi observada, bem como quando os indivíduos foram considerados no total independente do imunossupressor principal utilizado. De maneira similar ao encontrado para os genótipos, a frequência dos alelos (G e C) não mostrou diferença significativa entre respondentes e não respondentes em todos os grupos.

Quando a frequência dos genótipos e alelos foi comparada entre indivíduos com CG clinicamente significativo e indivíduos não-respondentes na amostra total, nenhuma diferença significativa foi também observada (dados não mostrados).

## **DISCUSSÃO**

Não existem dados disponíveis para a associação entre o polimorfismo IL-6 (–174 G/C) e o CG em transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em Tcr e Sir. Em relação aos regimes baseados em CsA, a ausência desta associação foi relatada em um único estudo prévio.<sup>20</sup> O presente estudo fornece

evidências preliminares de que o polimorfismo IL-6 (-174 G/C) não apresenta efeito nos regimes imunossupressores de manutenção baseados em Tcr e Sir e corrobora os dados disponíveis para os regimes de CsA.

A IL-6 é uma citocina pleiotrópica capaz de regular a proliferação, diferenciação e atividade de uma grande variedade de células. Tem sido demonstrado que ela afeta positivamente o crescimento e o metabolismo de células do tecido conjuntivo, incluindo fibroblastos,<sup>10</sup> e apresenta um papel regulador importante no *turnover* dos tecidos periodontais.<sup>10,29</sup> Deste modo, parece ter um importante efeito patogênico nos eventos fibróticos.<sup>30-33</sup> Seus níveis de secreção são determinados pelo tipo de célula produtora, por uma base genética, e pela natureza do estímulo.<sup>29</sup> Existem evidências que a CsA estimula a secreção de IL-6 por fibroblastos do tecido gengival<sup>13,14,34</sup> e de outros tecidos,<sup>35</sup> modificando a síntese e degradação da matriz extracelular.

Os mecanismos moleculares envolvidos no CG em terapias imunossupressoras com Tcr e Sir não foram descritos, mas similaridades com o CG induzido pela CsA podem ser especuladas uma vez que diversos estudos tem reportado achados ultra-estruturais análogos para o CG em todas as categorias de droga.<sup>1,11,36,37</sup> Além disso, similaridades entre os efeitos dos BCC e da CsA no metabolismo da matriz colagenosa extracelular pelos fibroblastos gengivais foram reportados.<sup>10</sup>

O CG é o termo de escolha para todas as lesões gengivais relacionadas a drogas anteriormente chamadas hipertrofia gengival ou hiperplasia. Uma vez que estas

terminologias não refletiam precisamente a histologia dos tecidos gengivais modificados por drogas, elas foram descartadas.<sup>1</sup> Embora o efeito farmacológico de cada droga seja único, todas elas parecem ter uma ação similar no tecido conjuntivo gengival, causando alterações clínicas e ultra-estruturais comuns.<sup>1,36</sup> Adicionalmente, as características clínicas e patológicas do CG induzido por drogas parecem ser independentes da droga administrada. A histopatologia da lesão é similar em todas as categorias de drogas. Análises estruturais de amostras gengivais demonstraram que o volume gengival aumentado é devido a uma resposta do tecido conjuntivo, caracterizada por um acúmulo excessivo de matriz extracelular, especialmente colágeno. Um aumento do número de fibroblastos tem sido relatado, mas ainda é controverso.<sup>1,10,11,36,37</sup>

O gene da IL-6 está localizado no braço curto do cromossoma 7 (7p21) em humanos. Ele apresenta um polimorfismo de base única na região promotora (-174 G/C), o qual foi demonstrado estar associado a variações na expressão e níveis séricos da IL-6. Os genótipos para o polimorfismo da IL-6 foram avaliados em relação à transcrição e aos níveis desta citocina no plasma ou nos tecidos. Algumas evidências mostraram que níveis mais elevados parecem ocorrer no genótipo GG, que o alelo G agrega níveis plasmáticos mais elevados de IL-6, apresenta maior atividade de transcrição e desenvolvem maiores respostas indutoras de IL-6 quando comparados a indivíduos com genótipo CC.<sup>17,38,39,40</sup> Todavia, discrepâncias nestes perfis foram reportadas.<sup>41</sup>

Evidências da ligação entre o polimorfismo genético e algumas condições ou doenças, gravidade de doença e/ou achados clínicos de doenças já foram

reportados,<sup>15,39,40</sup> incluindo eventos fibróticos.<sup>42</sup> O papel do polimorfismo da IL-6 nas doenças periodontais já foi amplamente documentado e alguns estudos mostraram associação com a gravidade, a extensão e a resposta ao tratamento.<sup>16,38,39,43,44,45</sup>

Por esta razão, uma transcrição alterada e, portanto, níveis de IL-6 alterados devido a variantes no genótipo IL-6 poderiam influenciar a resposta inflamatória local e apresentar algum impacto no CG. Drozdik *et al.*,<sup>20</sup> baseando-se nesta suposição, avaliou indivíduos transplantados renais de origem polonesa e não mostrou associação significativa entre o polimorfismo -174 G/C do gene da IL-6 e o CG. Os autores reportaram que a distribuição dos genótipos e alelos G/C entre indivíduos com e sem CG não se diferiu marcadamente. Nossos achados foram análogos, não apresentando associação entre o polimorfismo da IL-6 e o CG para indivíduos sob regimes imunossupressores baseados em CsA. Nenhuma associação também foi observada no presente estudo quando o CG foi considerado nos regimes baseados em Tcr ou Sir, tampouco para amostra como um todo. Estudos futuros, envolvendo populações maiores e diferentes, se mostram necessários para confirmar estes achados, especialmente em relação aos regimes envolvendo Tcr e Sir. Uma característica de resultados de associação em estudos genéticos que investigam a relação entre polimorfismos e doenças ou condições específicas é que eles podem ser diferentes entre populações.<sup>28</sup>

Comparável a Drozdik *et al.*,<sup>20</sup> respondentes e não-respondentes no presente estudo mostraram semelhantes fatores relacionados à terapia que poderiam estar

envolvidos no CG, como dose do imunossupressor principal, tempo de transplante, gênero e idade. Entretanto, respondentes (CG+) apresentaram uma maior frequência de uso concomitante de BCC. BCC tem sido apontados como agentes causais do CG,<sup>1,10,36</sup> bem como fatores de risco para o CG em regimes imunossupressores baseados em CsA,<sup>2,4,8</sup> Tcr,<sup>4,8</sup> e Sir<sup>9</sup>.

Tem sido especulado que a ocorrência do CG entre indivíduos transplantados renais sob medicados com CsA ou Tcr pode ser fortemente atribuído ao uso de BCC.<sup>8</sup> Greenberg *et al.*<sup>8</sup> avaliaram 115 indivíduos sob regimes imunossupressores de manutenção com e sem uso concomitante de BCC e reportaram uma prevalência geral para o CG de 34%, com as maiores taxas para aquele indivíduos medicados com CsA e BCC (76%). Nosso resultados são semelhantes, mostrando uma prevalência geral de 34.8% e de 66.7% para indivíduos medicados com CsA e BCC. Ainda no presente estudo, os dados de prevalência de CG para os grupos CsA, Tcr, e Sir estão também de acordo com outros relatos de prevalência.<sup>4,5,7,9</sup>

Avaliações do polimorfismo (-174 G/C) do gene da IL-6 em relação ao CG entre indivíduos medicados somente com BCC deveria ser considerado em estudos futuros.

## CONCLUSÕES

Com base em nossos resultados, o polimorfismo de base única do gene da IL-6 (–174 G/C) não estava associado ao crescimento gengival em indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores de manutenção baseados em ciclosporina, tacrolimus ou sirolimus.

## AGRADECIMENTOS

Os autores gostariam de expressar seus agradecimentos às Unidades de Transplante do Hospital Felício Rocho e do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gérias, e a todos os participantes do estudo pelo seu tempo e envolvimento. Este estudo recebeu apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG / #13016). Os autores declaram nenhum conflito de interesse relacionado ao presente estudo.

## REFERÊNCIAS

01. American Academy of Periodontology (AAP). Drug-associated gingival enlargement. *J Periodontol* 2004;75:1424-1431.
02. James JA, Marley JJ, Jamal S *et al.* The calcium channel blocker used with cyclosporine has an effect on gingival overgrowth. *J Clin*

- Periodontol* 2000;27:109-115.
03. Afonso M, Bello VO, Shibli JA, Sposto MR. Cyclosporin A-induced gingival overgrowth in renal transplant patients. *J Periodontol* 2003;74:51-56.
  04. Costa FO, Ferreira SD, Cota LOM, Costa JE, Aguiar MA. Prevalence, severity, and risk variables associated with gingival overgrowth in renal transplant subjects treated under tacrolimus or cyclosporine regimens. *J Periodontol* 2006;77:969-975.
  05. Costa FO, Ferreira SD, Lages EJP, Costa JE, Oliveira AMSD, Cota LOM. Demographic, pharmacologic, and periodontal variables for gingival overgrowth in subjects medicated with cyclosporin in the absence of calcium channel blockers. *J Periodontol* 2007;78:254-261.
  06. Vescovi P, Meleti M, Manfredi M, Merigo E, Pedrazzi G. Cyclosporin-induced gingival overgrowth: A clinical-epidemiological evaluation of 121 Italian renal transplant recipients. *J Periodontol* 2005;76:1259-1264.
  07. Cezário ES, Cota LOM, Ferreira SD *et al.* Gingival overgrowth in renal transplant subjects medicated with tacrolimus in the absence of calcium channel blockers. *Transplantation* 2008;85:232-236.
  08. Greenberg KV, Armitage GC, Shiboski CH. Gingival enlargement among renal transplant recipients in the era of new-generation immunosuppressants. *J Periodontol* 2008;79:453-460.
  09. Cota LOM, Oliveira APL, Costa JE, Cortelli SC, Costa FO. Gingival status of Brazilian renal transplant recipients under sirolimus-based regimens. *J Periodontol* 2008;79:2060-2068.



10. Trackman PC, Kantarci A. Connective tissue metabolism and gingival overgrowth. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004;15:165-175.
11. Kataoka M, Kido J, Shinohara Y, Nagata T. Drug-induced gingival overgrowth – a review. *Biol Pharm Bull* 2005;28:1817-1821.
12. Myrillas TT, Linden GJ, Marley JJ, Irwin CR. Cyclosporin A regulates interleukin-1beta and interleukin-6 expressions in gingival: implications for gingival overgrowth. *J Periodontol* 1999;70:294-300.
13. Chae HJ, Ha MS, Yun DH *et al.* Mechanism of cyclosporine-induced overgrowth in gingiva. *J Dent Res* 2006;85:515-519.
14. Morton RS, Dongari-Bagtzoglou AI. Regulation of gingival fibroblast interleukin-6 secretion by cyclosporine A. *J Periodontol* 1999;70:1464-1471.
15. De Sá AR, Moreira PR, Xavier GM *et al.* Association of CD14, IL1B, IL6, IL10 and TNFA functional gene polymorphisms with symptomatic dental abscesses. *Int Endod J* 2007;40:563-572.
16. Moreira PR, Lima PMA, Sathler KOB *et al.* Interlukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. *Clin Exp Immunol* 2007;148:119-126.
17. Terry CT, Loukaci V, Green FR. Cooperative influence of genetic polymorphisms on interleukin 6 transcriptional regulation. *J Biol Chem* 2000;24:18138-18144.
18. Seymour RA, Ellis JS, Thomason JM. Risk factors for drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 2000;27:217-223.

19. Bostanci N, Ilgenli T, Pirhan DC *et al.* Relationship between IL-1A polymorphisms and gingival overgrowth in renal transplant recipients receiving Cyclosporin A. *J Clin Periodontol* 2006;33:771-778.
20. Drozdziak M, Kurzawski M, Drozdziak A, Kotrych K, Banach J, Pawlik A. Interleukin-6 gene polymorphism in renal transplant patients with and without gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 2005;32:955-958.
21. Linden GJ, Simone EH, Maxwell AP *et al.* The influence of transforming growth factor- $\beta$ 1 gene polymorphisms on the severity of gingival overgrowth associated with concomitant use of cyclosporin A and a calcium channel blocker. *J Periodontol* 2001;72:808-814.
22. Kurzawski M, Drozdziak A, Dembowska E, Pawlik A, Banach J, Drozdziak M. Matrix metalloproteinase-1 gene polymorphism in renal transplant patients with and without gingival enlargement. *J Periodontol* 2006;77:1498-1502.
23. Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:177-182.
24. Silness J, L oe H. Periodontal disease in pregnancy: correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964;22:131-135.
25. Saxer UP, M uhlemann HR. Motivation and education (in German). *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd* 1975;85:905-919.
26. Thomason JM, Seymour RA, Rice N. The prevalence and severity of cyclosporin and nifedipine induced gingival overgrowth. *J Clin*

- Periodontol* 1993;20:37-40.
27. Klein W, Tromm A, Griga T *et al.* The polymorphism at position -174 of the IL-6 gene is not associated with inflammatory bowel disease. *Eur J Gastroenterol Hepatol* 2001;13:45-47.
  28. Zintzaras E, Lau J. Synthesis of genetic association studies for pertinent gene-disease associations requires appropriate methodological and statistical approaches. *J Clin Epidemiol* 2008;61:634-645.
  29. Taylor JJ, Preshaw PM, Donaldson PT. Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. *Periodontol* 2000 2004;35:158-182.
  30. Moodley YP, Misso NL, Scaffidi AK *et al.* Inverse effects of interleukin-6 on apoptosis of fibroblasts from pulmonary fibrosis and normal lungs. *Am J Respir Cell Mol Biol* 2003;29:490-498.
  31. Gomes I, Mathur SK, Espenshade BM, Mori Y, Varga J, Ackerman SJ. Eosinophil-fibroblast interactions induce fibroblast IL-6 secretion and extracellular matrix gene expression: implications in fibrogenesis. *J Allergy Clin Immunol* 2005;116:796-804.
  32. Nieto N. Oxidative-stress and IL-6 mediate the fibrogenic effects of [corrected] Kupffer cells on stellate cells. *Hepatology* 2006;44:1487-501.
  33. Lockett-Chastain LR, Gallucci RM. Interleukin (IL)-6 modulates transforming growth factor-beta expression in skin and dermal fibroblasts from IL-6-deficient mice. *Br J Dermatol* 2009;29:epud ahead of print.
  34. Bostrom A, Bharath H, Saulewicz A, Narayanan AS. Cyclosporin a

- affects signaling events differentially in human gingival fibroblasts. *J Dent Res* 2005;84:532-536.
35. Abe M, Yokoyama Y, Syuto T, Ishibuchi H, Ishikawa O. Interleukin-6 counteracts effects of cyclosporine A on extracellular matrix metabolism by human dermal fibroblasts. *Cell Tissue Res* 2008;333:281-288.
  36. Hallmon WW, Rossmann JA. The role of drugs in the pathogenesis of gingival overgrowth. A collective review of current concepts. *Periodontol* 2000 1999;21:176-196.
  37. Lages EJP, Costa FO, Cota LOM, Costa JE. Histological and morphological alterations of periodontium in tacrolimus and cyclosporine-treated rats. *J Int Acad Periodontol* 2007;9:112-117.
  38. Nikolopoulos GK, Dimou NL, Hamdrakas SJ, Bagos PG. Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. *J Clin Periodontol* 2008;35:754-767.
  39. Raunio T, Nixdorf M, Knuutila M, Karttunen R, Vainio O, Tervonen T. The extent of periodontal disease and the IL-6 -174 genotype as determinants of serum IL-6 level. *J Clin Periodontol* 2007;34:1025-1030.
  40. Cozen W, Gill PS, Ingles SA *et al.* IL-6 levels and genotype are associated with risk of young adult Hodgkin lymphoma. *Blood* 2004;103:3216-3221.
  41. Haddy N, Sass C, Maumus S *et al.* Biological variations, genetic polymorphisms and familial resemblance of TNF-alpha and IL-6 concentrations: STANISLAS cohort. *Eur J Hum Genet* 2005;13:1009-

- 117.
42. Sfrent-Cornateanu R, Mihai C, Balan S, Ionescu R, Moldoveanu E. The IL-6 promoter polymorphism is associated with disease activity and disability in systemic sclerosis. *J Cel Mol Med* 2006;10:955-959.
43. Nibali L, D'Aiuto F, Donos N *et al.* Association between periodontitis and common variants in the promoter of the interleukin-6 gene. *Cytokine* 2009;45:50-54.
44. Yoshie H, Kobayashi T, Tai H, Galicia JC. The role of genetic polymorphisms in periodontitis. *Periodontol 2000* 2007;43:102-132.
45. Tervonen T, Raunio T, Knuuttila M, Karttunen R. Polymorphisms in the CD14 and IL-6 genes associated with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2007;34:377-383.

Tabela 1. Características da amostra em relação ao crescimento gengival.

Variáveis	Indivíduos CG+ (respondentes)			
	Amostra total	Grupo CsA	Grupo Tcr	Grupo Sir
<b>Número de indivíduos</b>	47 (34,8%)	27 (60,0%)	13 (28,9%)	7 (15,6%)
<b>Número de indivíduos com escores de CG</b>				
de 1 a 10%	24 (17,8%)	13 (28,8%)	7 (15,5%)	6 (13,3%)
de 11 a 20%	5 (3,7%)	2 (4,4%)	2 (4,4%)	1 (2,2%)
de 21 a 29%	8 (5,9%)	8 (17,8%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)
≥ 30% (cl clinicamente significativo)	10 (7,4%)	6 (13,3%)	4 (8,9%)	0 (0,0%)
<b>Escore médio de CG (%)</b>	16,88 ± 13,71 (2,00 – 52,00)	19,20 ± 13,95 (3,00 – 52,00)	17,08 ± 15,25 (2,00 – 44,00)	7,57 ± 2,44 (4,00 – 22,00)
<b>Escore médio de CG por papila</b>	0,84 ± 0,69 (0,10 – 2,60)	0,96 ± 0,70 (0,15 – 2,60)	0,85 ± 0,76 (0,10 – 2,20)	0,38 ± 0,12 (0,20 – 0,60)
<b>% de papilas afetadas por CG</b>	34,31 ± 23,15 (5,00 – 95,00)	41,20 ± 24,25 (10,00 – 95,00)	30,77 ± 20,40 (5,00 – 80,00)	14,29 ± 4,50 (10,00 – 20,00)

CsA = ciclosporina; Tcr = tacrolimus; Sir = sirolimus; CG = crescimento gengival; média±DP (intervalo) a não ser quando especificado; percentuais em relação ao total de indivíduos no grupo.

Tabela 2. Características da amostra em relação a variáveis de interesse, de acordo com a presença / ausência de crescimento gengival.

Variáveis	Respondentes (GO +)	Não-respondentes (GO-)	p
<b>Amostra total (n = 135)</b>			
Homens (n)	30 (63,8%)	49 (55,7%)	
Mulheres (n)	17 (36,2%)	39 (44,3%)	0,360*
Idade (anos)	42,64 ± 9,94	43,02 ± 11,21	0,844 <sup>†</sup>
Tempo de transplante (meses)	85,72 ± 51,62	50,03 ± 46,52	<0,001 <sup>‡</sup>
Uso concomitante de BCC	31 (66,0%)	16 (18,2%)	<0,001*
<b>Grupo CsA (n = 45)</b>			
Homens (n)	17 (63,0%)	9 (50,0%)	
Mulheres (n)	10 (37,0%)	9 (50,0%)	0,388*
Idade (anos)	42,29 ± 10,27	43,72 ± 9,99	0,975 <sup>§</sup>
Dose diária de CsA (mg)	182,78 ± 49,87	169,44 ± 55,94	0,407 <sup>‡</sup>
Tempo de transplante (meses)	111,85 ± 47,67	107,67 ± 52,16	>0,05 <sup>¶</sup>
Uso concomitante de BCC	18 (66,7%)	5 (27,8%)	<b>0,011*</b>
<b>Grupo Tcr (n = 45)</b>			
Homens (n)	9 (69,2%)	17 (53,1%)	
Mulheres (n)	4 (30,8%)	15 (46,9%)	0,321*
Idade (anos)	41,23 ± 9,47	43,72 ± 11,20	0,975 <sup>§</sup>
Dose diária de Tcr (mg)	6,69 ± 4,21	5,00 ± 2,88	0,202 <sup>‡</sup>
Tempo de transplante (meses)	53,31 ± 34,66	34,56 ± 31,44	>0,05 <sup>¶</sup>
Uso concomitante de BCC	9 (69,2%)	5 (15,6%)	<0,001*
<b>Grupo Sir (n = 45)</b>			
Homens (n)	4 (57,1%)	23 (60,5%)	
Mulheres (n)	3 (42,9%)	15 (39,5%)	0,867*
Idade (anos)	42,71 ± 10,67	42,11 ± 11,95	0,975 <sup>§</sup>
Dose diária de Sir (mg)	2,57 ± 1,13	2,60 ± 1,03	0,938 <sup>‡</sup>
Tempo de transplante (meses)	45,14 ± 30,15	35,76 ± 31,29	>0,05 <sup>¶</sup>
Uso concomitante de BCC	4 (57,1%)	6 (15,8%)	<b>0,016*</b>

CG = crescimento gengival; CsA = ciclosporina; Tcr = tacrolimus; Sir = sirolimus; BCC = bloqueadores de canais de cálcio; média±DP a não se quando especificado; comparações entre respondentes e não respondentes: \*teste Qui-quadrado, <sup>†</sup>teste t Student, <sup>‡</sup>teste Mann-Whitney, <sup>§</sup>ANOVA, <sup>¶</sup>teste Dunn (Kruskal-Wallis); teste valores de p significativos em negrito.

Tabela 3. Distribuição dos genótipos -174C/G IL-6 e frequência dos alelos nos grupos de imunossupressor de acordo com a presença / ausência do crescimento gengival.

IL6	Respondentes (GO +)	Não-respondentes (GO-)	p*
<b>Amostra total</b>			
Genótipos			
-174GG	29 (61,7%)	43 (48,9%)	
-174CG	16 (34,0%)	35 (39,8%)	
-174CC	2 (4,3%)	10 (11,4%)	0,228
Alelos			
-174G	78,7%	68,8%	
-174C	21,3%	31,2%	0,081
<b>Grupo CsA</b>			
Genótipos			
-174GG	18 (66,7%)	11 (61,1%)	
-174CG	8 (29,6%)	6 (33,3%)	
-174CC	1 (3,7%)	1 (5,6%)	0,913
Alelos			
-174G	81,5%	77,8%	
-174C	18,5%	22,2%	0,667
<b>Grupo Tcr</b>			
Genótipos			
-174GG	6 (46,2%)	15 (46,9%)	
-174CG	7 (53,8%)	12 (37,5%)	
-174CC	0 (0,0%)	5 (15,6%)	0,270
Alelos			
-174G	73,1%	65,6%	
-174C	26,9%	34,4%	0,493
<b>Grupo Sir</b>			
Genótipos			
-174GG	5 (71,4%)	17 (44,7%)	
-174CG	1 (14,3%)	17 (44,7%)	
-174CC	1 (14,3%)	4 (10,5%)	0,316
Alelos			
-174G	78,6%	67,1%	
-174C	21,4%	32,9%	0,394

CG = crescimento gengival; \*comparações entre respondentes e não respondentes: teste Qui-quadrado.



## 6.2 ARTIGO CIENTÍFICO NO. 3

VARIÁVEIS DE RISCO ASSOCIADAS AO CRESCIMENTO GENGIVAL EM  
TRANSPLANTADOS RENAIIS EM REGIMES IMUNOSSUPRESSORES  
BASEADOS EM CICLOSPORINA, TACROLIMUS E SIROLIMUS  
(formatado de acordo com as normas do *Journal of Peridontology*)

### RESUMO

**Base científica:** A determinação de indivíduos susceptíveis ao crescimento gengival (CG) ainda não é clara e até o presente momento não existe na literatura estudos comparativos entre terapias com ciclosporina (CsA), tacrolimus (Tcr) e sirolimus (Sir). Este estudo objetivou avaliar a prevalência e variáveis de risco demográficas, farmacológicas, periodontais e microbiológicas associadas ao CG em indivíduos transplantados renais medicados com CsA, Tcr e Sir.

**Metodologia:** De uma população elegível, 135 indivíduos foram selecionados, sendo 45 para cada grupo – CsA, Tcr, e Sir. O CG foi avaliado visualmente e os indivíduos classificados como respondentes (CG+) e não-respondentes (CG-), em uma definição *post-hoc*. Amostras de saliva foram coletadas e a presença de patógenos periodontais foi avaliada por PCR. Variáveis de risco demográficas, farmacológicas, periodontais, e microbiológicas foram comparadas entre respondentes e não-respondentes através de análises univariada e multivariada.

**Resultados:** A prevalência geral de CG foi de 34,8%, sendo 27 (60,0%), 13 (28,9%), e 7 (15,6%) nos grupos CsA, Tcr, e Sir, respectivamente. Nas terapias

baseadas em CsA, o CG estava associado ao sangramento papilar ( $p = 0,001$ ); nas terapias baseadas em Tcr, o CG estava associado ao uso prévio de CsA ( $p = 0,013$ ) e uso de bloqueadores de canais de cálcio (BCC) ( $p = 0,003$ ); nas terapias baseadas em Sir, o CG estava associado ao sangramento papilar ( $p = 0,018$ ) e uso de BCC ( $p = 0,020$ ). Uma maior frequência de *Tannerella forsythia* foi observada entre indivíduos CG+ medicados com Tcr.

**Conclusão:** Variáveis farmacológicas e periodontais foram associadas ao CG nos diferentes regimes imunossupressores estudados. Uma abordagem odontológica na terapia de manutenção pós-transplante dos indivíduos pode melhorar a condição gengival e a qualidade de vida dos mesmos.

**Palavras-chave:** crescimento gengival, fatores de risco, imunossupressores, microbiologia, transplante renal.

### **Sentença-sumário**

O sangramento papilar e o uso concomitante de bloqueadores de canais de cálcio são importantes variáveis de risco associadas ao crescimento gengival em indivíduos transplantados renais medicados com ciclosporina, tacrolimus, ou sirolimus.

## **INTRODUÇÃO**

O transplante renal é a melhor alternativa terapêutica para a maioria dos indivíduos com doença renal em estágio final. Tornou-se um procedimento

rotineiro e seguro que, de maneira evidente, melhora a qualidade de vida destes indivíduos.<sup>1</sup> As primeiras décadas do transplante renal se caracterizaram pela busca de agentes imunossupressores direcionados a reduzir a incidência e gravidade da rejeição aguda.<sup>1,2,3</sup> A introdução dos inibidores de calcineurina (INC) ciclosporina-A (CsA), no início década de 80, e tacrolimus (Tcr), no início da década de 90, diminuiu drasticamente as taxas de rejeição aguda. Os INC se tornaram a base fundamental das terapias imunossupressoras desde então. Entretanto, estes agentes mostraram grande nefrotoxicidade em longo prazo, levando ao aparecimento da rejeição crônica de caráter irreversível.<sup>3,4</sup>

Atualmente, as terapias imunossupressoras de manutenção no transplante renal focalizam uma melhora na função do enxerto em longo prazo e a redução de efeitos colaterais.<sup>3,5</sup> O uso do sirolimus (Sir) e o Micofenolato mofetil (MMF), duas novas drogas antiproliferativas, trouxe a expectativa de menores efeitos nefrotóxicos em longo prazo.<sup>3,5,6</sup> Diferentes protocolos, com diferentes combinações de drogas, têm sido testados em relação à sobrevida do enxerto e do paciente em curto e longo prazos.<sup>1,3,5</sup>

O crescimento gengival (CG) tem sido descrito como um importante efeito colateral em indivíduos transplantados renais sob diferentes regimes imunossupressores. Diferentes estudos têm demonstrado que o CG está comumente presente em regimes imunossupressores baseados em CsA, sendo que o uso de agentes farmacológicos coadjuvantes, como prednisona, azatioprina e bloqueadores de canais de cálcio (BCC), bem como a inflamação gengival parecem influenciar a ocorrência e gravidade deste evento.<sup>7,8,9,10</sup> Estudos que

avaliaram regimes imunossupressores baseados em Tcr, mostraram resultados controversos em relação à ocorrência do CG. Alguns autores falharam em demonstrar a ocorrência de CG em terapias com Tcr,<sup>9,11,12</sup> enquanto outros demonstraram menor prevalência e gravidade quando comparado a terapias com CsA.<sup>7,8,10</sup> A condição gengival de indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em Sir foi recentemente descrita por nosso grupo de pesquisa,<sup>13</sup> e a ocorrência de CG parece não atingir níveis clinicamente significativos. A influência de variáveis de risco farmacológicas e periodontais também foi descrita para os regimes baseados em Tcr<sup>7,10,14</sup> e Sir.<sup>13</sup>

De fato, diferentes variáveis de risco demográficas, farmacológicas e periodontais têm sido associadas à ocorrência do CG,<sup>15</sup> embora ainda permaneça pouco clara a determinação de indivíduos susceptíveis. O termo “respondente” tem sido proposto para identificar indivíduos que desenvolveram CG. A identificação de pacientes com risco aumentado é importante para o manejo clínico e o tratamento. Nesta busca por fatores de risco, o efeito da presença de patógenos periodontais na ocorrência do CG também tem sido investigado em indivíduos usuários de CsA, com resultados diversos sendo reportados.<sup>16,17,18</sup> Dados relativos a presença de patógenos periodontais e a ocorrência de CG em regimes imunossupressores baseados em Tcr ou Sir não foram encontrados na literatura.

Existem poucos dados relativos a comparações da prevalência e gravidade de CG, bem como de fatores de risco associados, entre diferentes regimes imunossupressores, particularmente ausência de estudos comparativos incluindo Sir. Desta forma, a proposta do presente estudo foi avaliar a prevalência e

gravidade do CG em indivíduos transplantados renais sob os regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr, e Sir, bem como investigar o efeito de possíveis variáveis de risco demográficas, farmacológicas, periodontais clínicas e microbiológicas associadas ao CG neste grupo de indivíduos.

## **METODOLOGIA**

### **Desenho de estudo e estratégia amostral**

O presente estudo apresentou um desenho transversal e envolveu um grupo de indivíduos transplantados renais sob terapias imunossupressoras de manutenção baseadas em CsA, Tcr e Sir, na cidade de Belo Horizonte – Brasil. Foi aprovado pelo Comitê de Ética e Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais (ETIC 514/05). Todos os participantes foram informados dos objetivos da pesquisa e assinaram um consentimento livre esclarecido antes da participação no estudo. Os direitos dos indivíduos foram respeitados e protegidos em todos os momentos.

Uma amostra elegível foi selecionada e recrutada das unidades de transplante de 2 hospitais públicos, onde os indivíduos eram examinados regularmente para monitorar a terapia medicamentosa e a sobrevida do enxerto. Durante o período de coleta de dados (de setembro de 2007 a outubro de 2008), os indivíduos que preenchiam os critérios de inclusão foram aleatoriamente convidados a participar do estudo de acordo com o acesso e a disponibilidade dos mesmos na rotina da visita de manutenção pós-transplante.

Com esta estratégia, todo indivíduo elegível foi examinado e incluído nos grupos de acordo com o agente imunossupressor principal. Eles foram também classificados como controles (não respondentes / indivíduos CG-) ou casos (respondentes / indivíduos CG+) em uma definição *post-hoc*. Desta forma, uma amostra de conveniência de 135 indivíduos foi formada e dividida em: grupo CsA (n = 45), grupo Tcr (n = 45) e grupo Sir (n = 45).

Foram adotados os seguintes critérios de inclusão: 1) apresentar pelo menos 2 meses de transplante e estar sob terapias imunossupressoras baseadas em CsA, Tcr ou Sir como o agente imunossupressor principal; 2) ter idade de 18 anos ou mais na data do exame; 3) apresentar pelo menos 6 dos 12 dentes anteriores nos arcos superior ou inferior. Por outro lado, foram excluídos do estudo indivíduos sob terapias combinadas de CsA, Tcr, ou Sir, indivíduos medicados com drogas anticonvulsivantes, indivíduos submetidos a antibioticoterapia em até 3 meses antes do exame, bem como fumantes e ex-fumantes. Os participantes eram de nível sócio-econômico baixo e grupo étnico variado. Etnia não foi uma variável determinada, uma vez que os problemas em classificar os brasileiros por cor ou raça já foram previamente relatados.<sup>19</sup>

### **Variáveis médicas e farmacológicas**

Dados médicos e farmacológicos foram obtidos dos registros médicos de cada indivíduo. Como parte da rotina de manutenção em longo prazo, os transplantados renais são monitorados regularmente em relação às

concentrações séricas do imunossupressor principal. Dados do exame médico mais recente (0 – 30 dias), usualmente da última visita médica, foram registrados. Gênero, idade, tempo de transplante, dose e nível sérico do imunossupressor principal, bem como o uso concomitante de bloqueadores de canais de cálcio (BCC) foram coletados e usados na análise. Todos os registros médicos dos indivíduos foram extensivamente examinados e os dados confirmados pela equipe médica do transplante de órgãos.

### **Avaliação gengival**

Após o exame dos registros médicos dos indivíduos e a aplicação dos critérios de inclusão e exclusão, estes eram encaminhados para a avaliação gengival. Os exames foram realizados em uma sala separada nas unidades hospitalares, sob condições adequadas de iluminação e controle de infecção. Inflamação gengival e condição de higiene bucal foram avaliadas através do Índice de Placa<sup>20</sup> e Índice de Sangramento Papilar.<sup>21</sup> Esta abordagem metodológica é suportada por estudos transversais que demonstraram que o sangramento gengival tem sido um bom indicador do papel da inflamação induzida pela placa bacteriana na gravidade do CG.<sup>7,8,13,14</sup>

O nível de higiene bucal foi obtido de acordo com o Índice de Placa.<sup>20</sup> As medidas foram realizadas nas superfícies lingual, vestibular, e interproximais dos 6 dentes anteriores nos arcos superior e inferior. Os escores de cada sítio foram somados e os valores médios registrados. O Índice de Sangramento Papilar foi registrado na papila interproximal dos 6 dentes anteriores em ambos os arcos.<sup>21</sup>

A avaliação gengival foi realizada por um único periodontista calibrado, que estava mascarado para a identidade de cada indivíduo, bem como para a história médica e o regime imunossupressor. Para determinar a concordância intra-examinador, o índice de sangramento papilar e o CG de 10 pacientes foram avaliados no início do estudo e repetidos com um intervalo de aproximadamente 1 mês. Todos os escores do teste *Kappa* não ponderado foram maiores que 0,92 e os coeficientes de correlação intraclasse foram maiores que 0,90.

O presente estudo avaliou o CG nos 12 dentes anteriores como previamente descrito e justificado em diferentes estudos.<sup>7,8,13,14</sup> Resumidamente, dentes anteriores superiores e inferiores foram avaliados através de inspeção visual. Escores entre 0 e 5, dependendo da quantidade do crescimento tanto horizontal quanto vertical, era registrado para cada papila lingual e vestibular dos 6 dentes anteriores superiores e inferiores. Assim, de acordo com o número de dentes anteriores disponíveis em cada arco dentário, um total de 20 papilas poderia ser selecionado e examinado. Deste modo, um possível valor máximo de 100 para o escore de CG poderia ser atribuído e expresso em percentual. Indivíduos com escores de CG  $\geq$  30% foram classificados como tendo um crescimento clinicamente significativo como previamente sugerido.<sup>22</sup>

### **Coleta de amostras e avaliação microbiológica**

Por se tratar de um método não invasivo e apropriado para estudos populacionais com análise por Reação em Cadeia da Polimerase (PCR),<sup>23</sup> a detecção bucal de



patógenos periodontais específicos foi realizada em amostras de saliva. A não invasividade do método assume particular importância para populações mais vulneráveis como a analisada no presente estudo. O uso da saliva como um método fácil e eficiente para a identificação de patógenos tem sido advogado por diferentes autores, sendo que correlações positivas entre amostras subgingivais e salivares foram relatadas.<sup>24,25,26</sup>

Para cada participante, uma amostra de saliva total não estimulada foi coletada em tubo falcon descartável estéril, imediatamente diluída em solução de Ringer<sup>‡‡</sup> reduzida (0,1ml saliva/1ml Ringer) e congelada (-20°C).<sup>26</sup> Posteriormente, para o processamento das amostras, estas foram descongeladas, centrifugadas a 12.000 xg por 3 min, e o DNA foi extraído com auxílio de matriz comercial de extração e purificação de DNA (InstaGene Matrix)<sup>§§</sup> de acordo com as especificações do fabricante. O processo de extração foi confirmado pela amplificação com primers universais. Posteriormente, a presença de *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Parvimonas micra*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* foi estabelecida por PCR utilizando-se primers<sup>¶¶</sup> espécie-específicos sob condições padronizadas.<sup>27</sup> Resumidamente, 5 µl da amostra de DNA foi adicionada a 45 µl da solução de reação contendo 5 µl de tampão para PCR 10X,<sup>\*\*\*</sup> 1.25 unidades de *Taq* DNA polymerase,<sup>†††</sup> e 0.2 mM de mistura de desoxiribonucleotídeos.<sup>‡‡‡</sup>

---

‡‡ Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire, United Kingdom.

§§ BioRad Laboratories, Hercules, CA, USA.

¶¶ Invitrogen, Carlsbad, CA, USA

\*\*\* Promega, Madison, WI, USA

††† Promega, Madison, WI, USA

‡‡‡ Pharmacia LKB, Piscataway, NJ, USA

O primers específicos para cada patógeno periodontal utilizado neste estudo foram:

1) *A. actinomycetemcomitans* (sense, 5'-AAACCCATCTCTGAGTTCTTCTTC-3', e antisense, 5'-ATGCCAACTTGACGTAAAT-3' (550 pb); *P. gingivalis*, sense, 5'-AGGCAGCTTGCCATACTGCGG-3', e antisense, 5'-ACTGTTAGCAACTACCGATGT-3' (404 pb); *P. micra*, sense, 5'-AGTGGGATAGCCGTTGGAAA-3', e antisense, 5'-GACGCGAGCCCTTCTTACAC-3' (328 pb); *T. denticola*, sense 5'-TAATACCGAATGTGCTCATTTACAT-3', e antisense 5'-TCAAAGAAGCATTCCCTCTTCTTCTTA-3' (316 pb); *T. forsythia*, sense, 5'-GCGTATGTAACCTGCCCGCA-3', and antisense, 5'-TGCTTCAGTGTCAGTTATACCT-3' (641 pb).

Após eletroforese em gel de agarose 1,5%, os fragmentos de DNA foram pigmentados com brometo de etídio e visualizados sob irradiação UV 300 nm. Os produtos amplificados foram comparados com controles positivos e negativos.

### **Análise estatística**

A normalidade dos dados foi testada através do teste de Lilliefors. Inicialmente, a amostra total (considerando-se todos os indivíduos independente do agente imunossupressor usado), e posteriormente os grupos de imunossupressores separadamente (CsA, Tcr e Sir), foram descritos em relação a variáveis de interesse. A amostra total e cada grupo imunossupressor foram divididos de acordo com a presença (CG+ / respondentes) ou ausência (CG- / não-

respondentes) do crescimento gengival. Respondentes e não respondentes foram comparados em relação a variáveis demográficas, farmacológicas, periodontias, em como a frequência de patógenos periodontais, por testes apropriados. Análises univariadas incluíram os testes t Student, Mann-Whitney, one-way ANOVA (*post-hoc* t Student), Kruskal-Wallis (*post-hoc* Dunn) e Qui-quadrado. Análises multivariadas foram realizadas através de regressão logística. Todas as variáveis correspondentes para cada modelo foram selecionadas para a entrada na regressão e foram retidas nos modelos se valores de p significativos ( $p < 0,05$ ) eram obtidos. Interações de primeira ordem entre tempo de transplante e outras variáveis farmacológicas foram testadas e mantidas nos modelos se significativas. Todos os dados coletados foram analisados em um programa estatístico<sup>§§§</sup> e as estimativas foram consideradas significativas se o valor de  $p < 0,05$ .

## RESULTADOS

Características da amostra em relação à presença e gravidade do CG são apresentadas na Tabela 1. Na amostra total, quando consideramos todos os indivíduos independentes do agente imunossupressor principal utilizado, o número de respondentes [(CG+) indivíduos apresentando qualquer escore de CG] foi de 47 (34,8%) com um escore médio de  $16,88 \pm 13,71$ . Dos 47 indivíduos com CG, 10 indivíduos (7,4%) foram classificados como apresentando CG clinicamente significativo (escores  $\geq 30\%$ ). Quando o CG foi avaliado em cada grupo de imunossupressores, o número de respondentes foi significativamente

---

<sup>§§§</sup> Statistical Package for Social Sciences, Version 16.0 for Windows - SPSS Inc., Chicago, IL.

diferente entre eles, sendo 27 (60,0%), 13 (28,9%) e 7 (15,6%) nos grupos CsA, Tcr e Sir, respectivamente (Tabela 1). O número de indivíduos apresentando CG clinicamente significativo também foi estatisticamente diferente entre os grupos, sendo 6 (13,3%) no grupo CsA, 4 (8,9%) no grupo Tcr e 0 (0,0%) no grupo Sir. Ainda na Tabela 1, podemos verificar que o escore médio de CG também foi significativamente diferente entre os grupos, sendo 19,20 ( $\pm$  13,95), 17,08 ( $\pm$  15,25) e 7,57 ( $\pm$  2,44) para os grupos CsA, Tcr e Sir respectivamente.

Variáveis demográficas, farmacológicas e periodontais dos indivíduos, divididos de acordo com a presença/ausência de CG, estão detalhadas na Tabela 2 para a amostra total. Indivíduos respondentes (CG+), independentemente do regime imunossupressor usado, apresentaram maior peso corporal ( $p = 0,045$ ), maior tempo de transplante ( $P < 0,001$ ), maiores doses diárias de prednisona ( $p = 0,001$ ), azatioprina ( $p = 0,008$ ) e micofenolato ( $p = 0,042$ ), maior frequência de uso concomitante de BCC ( $p < 0,001$ ), maior índice de sangramento papilar ( $p < 0,001$ ) e maior percentual de papilas com sangramento após estímulo ( $p < 0,001$ ).

Assim como na análise univariada para a amostra total (Tabela 2), todas as variáveis demográficas, farmacológicas e periodontais de interesse [gênero, idade, peso corporal, tipo de doador, tempo de transplante, dose e nível sérico do agente principal, dose de prednisona, dose de azatioprina, dose de MMF, creatinina, uso concomitante de BCC, uso prévio de CsA (para Tcr), uso prévio de INC (para Sir), índice de placa, índice de sangramento papilar, percentual de papilas com sangramento após estímulo] foram testadas para os grupos CsA, Tcr e Sir, com os indivíduos divididos de acordo com a presença/ausência de CG. As

variáveis significativas para cada grupo são apresentadas na Tabela 3. Podemos visualizar que indivíduos respondentes usuários de CsA apresentaram maior frequência de uso concomitante de BCC ( $p = 0,001$ ), maior índice de sangramento papilar ( $p < 0,001$ ) e maior percentual de papilas com sangramento após estímulo ( $p < 0,001$ ). Indivíduos respondentes usuários de Tcr apresentaram maior frequência de uso concomitante de BCC ( $p < 0,001$ ), maior frequência de uso prévio de CsA ( $p = 0,009$ ), maior índice de sangramento papilar ( $p = 0,008$ ) e maior percentual de papilas com sangramento após estímulo ( $p < 0,001$ ). Ainda na Tabela 3, é mostrado que indivíduos respondentes usuários de Sir apresentaram frequência de uso concomitante de BCC ( $p = 0,016$ ), maior frequência de uso prévio de INC ( $p < 0,001$ ), maior índice de sangramento papilar ( $p = 0,027$ ) e maior percentual de papilas com sangramento após estímulo ( $p = 0,006$ ).

Uma caracterização da amostra em relação à frequência dos patógenos periodontais avaliados é apresentada na Tabela 4. Indivíduos repondentes apresentaram uma maior frequência de *T. forsythia* ( $p = 0,040$ ) quando avaliados na amostra total, e uma maior frequência de *T. forsythia* ( $p = 0,020$ ) no grupo Tcr. Nenhuma diferença foi observada em relação a outros patógenos em nenhum dos outros grupos de imunossupresores.

A associação entre o CG e a combinação de espécies (presença de  $\geq 1$  espécies,  $\geq 2$  espécies,  $\geq 3$  espécies,  $\geq 4$  espécies) também foi avaliada para a amostra total e grupos imunossupressores separados (dados não mostrados). É importante citar que indivíduos respondentes apresentaram maior frequência de

uma ou mais espécies ( $p = 0,044$ ) e maior frequência de 2 ou mais espécies ( $p = 0,006$ ) quando comparados a indivíduos não respondentes, quando considerados independente do agente imunossupressor. No grupo Tcr, indivíduos respondentes apresentaram maior frequência de uma ou mais espécies ( $p = 0,042$ ). Não foram observadas diferenças significativas entre as combinações de espécies entre respondentes e não respondentes para os outros grupos de imunossupressores quando avaliados separadamente.

A Tabela 5 apresenta os modelos finais de regressão logística para a ocorrência do CG. A ocorrência do CG na amostra total, independente do agente imunossupressor usado, estava associada ao percentual de papilas com sangramento após estímulo ( $OR = 1,05$ ;  $p < 0,001$ ) e ao uso concomitante de BCC ( $OR = 7,99$ ;  $p < 0,001$ ). Para indivíduos usuários de CsA, a ocorrência do CG estava associada ao índice de sangramento papilar ( $OR = 359,8$ ;  $p = 0,001$ ). Para indivíduos usuários de Tcr, a ocorrência do CG estava associada ao uso prévio de CsA ( $OR = 18,27$ ;  $p = 0,013$ ) e ao uso concomitante de BCC ( $OR = 29,70$ ;  $p = 0,003$ ). Para indivíduos usuários de Sir, a ocorrência do CG estava associada ao percentual de papilas com sangramento após estímulo ( $OR = 1,06$ ;  $p = 0,018$ ) e ao uso concomitante de BCC ( $OR = 12,51$ ;  $p = 0,020$ ).

## **DISCUSSÃO**

As taxas de prevalência para CG em indivíduos transplantados renais variam consideravelmente na literatura.<sup>7-14,22,28,29</sup> Tem sido sugerido que estas variações podem ser relacionadas ao tipo de regime imunossupressor, a dose diária do

agente principal, ao tempo de transplante, e a diferentes combinações de drogas dentro dos regimes de imunossupressão.<sup>7-9,13-15,22,29,30</sup> Além destas variáveis, variações na prevalência podem estar relacionadas a diferentes metodologias empregadas para avaliar o CG.<sup>9,28</sup>

Estudos que avaliaram a ocorrência de CG em transplantados renais, independente do agente imunossupressor, reportaram taxas de prevalência geral de 47,0%<sup>10</sup> e 34,0%.<sup>9</sup> Os resultados do presente estudo mostraram uma taxa de prevalência geral de CG de 34,8%. Quando o CG foi avaliado em regimes de drogas específicas, diferentes autores relataram maiores taxas de prevalência para indivíduos medicados com CsA quando comparados com aqueles medicados com Tcr.<sup>7,9,10,29,31</sup> De fato, taxas de prevalência de CG reportadas na literatura para regimes baseados em CsA tem variado entre 15-80%,<sup>7-10,12,22,28,31</sup> e para regimes baseados em Tcr tem variado entre 0-30%.<sup>7,9-12,14,29,31</sup> Os resultados do presente estudo também mostraram maior ocorrência de CG em indivíduos medicados com CsA quando comparados àqueles medicados com Tcr. Comparações entre regimes baseados em CsA, Tcr e Sir não foram encontradas na literatura. Quando avaliamos a ocorrência de CG em indivíduos sob regimes baseados em Sir, esta foi menor que aquelas observada para os regimes baseados em CsA ou Tcr. Esta ocorrência foi próxima a um relato prévio de nosso grupo,<sup>13</sup> que reportou 20,8%.

Algumas variáveis demográficas foram apontadas como fatores de risco para o CG, particularmente para regimes baseados em CsA. Estas variáveis incluem o gênero, com homens mais propensos a ocorrência do CG, e a idade,

inversamente correlacionada ao CG.<sup>7,10,15</sup> O papel protetor da idade foi recentemente reforçado.<sup>10</sup> Entretanto, alguns vieses metodológicos parecem existir em relação a análise destas variáveis.<sup>15,28</sup> No presente estudo, a ocorrência de CG não esteve associada a nenhuma destas variáveis para nenhum dos regimes imunossupressores avaliados. Estes achados são similares a outros relatos que não demonstraram associação para gênero e/ou idade.<sup>8,9,14,32</sup>

A relação entre algumas variáveis farmacológicas e a ocorrência e gravidade do CG apresenta algumas controvérsias.<sup>15</sup> A dose e nível sérico do agente imunossupressor parecem ser pobres preditores para as alterações gengivais,<sup>7,14,15,33</sup> enquanto o perfil farmacocinético das drogas tem sido alvo de discussão.<sup>15,34</sup> Entretanto, algumas associações significativas foram relatadas.<sup>8,13,29,33</sup> A ocorrência do CG entre os indivíduos do presente estudo não mostrou associação com dose e nível sérico dos agentes imunossupressores.

Alguns autores têm relatado que o uso de agentes coadjuvantes na terapia de imunossupressão, como prednisona e azatioprina, parece interferir no CG.<sup>7,14,28,32,35</sup> Estes agentes coadjuvantes, além de contribuírem para o uso de menores doses do agente imunossupressor principal, apresentam propriedades anti-inflamatórias. Desta forma parecem exercer um efeito protetor contra a ocorrência ou gravidade do CG.<sup>15</sup> Nenhuma associação entre o CG e o uso de prednisona ou azatioprina foi encontrada neste estudo. De maneira similar, o MMF, droga antiproliferativa, também usado com coadjuvante em alguns regimes de imunossupressão, não mostrou associação com o CG no presente estudo. Deve-se ressaltar que avaliações prévias do MMF no crescimento gengival em



regimes imunossupressores baseados em Sir<sup>13</sup> não mostraram efeitos significativos.

O tempo de transplante foi uma variável positivamente associada ao CG, quando avaliamos os indivíduos na amostra total, independente do imunossupressor usado. Relatos acerca da influência desta variável são controversos na literatura. Alguns autores falharam em demonstrar essa associação,<sup>7,29,36</sup> enquanto outros demonstraram que quanto maior o tempo da terapia de imunossupressão, maior a ocorrência e gravidade do CG.<sup>8,13,32,37</sup> Como sugerido anteriormente,<sup>13</sup> podemos especular que quanto maior o tempo de transplante, maior a exposição do indivíduo ao agente imunossupressor principal bem como a BCC, além do possível efeito residual das terapias anteriores.

Nossos achados mostraram uma forte associação entre a ocorrência de CG e o uso concomitante de BCC, para todos os regimes imunossupressores avaliados. O uso de BCC apresenta grande influência na ocorrência e gravidade do CG, de acordo com alguns autores.<sup>7,13,29,32</sup> Este fato parece ser reforçado por estudos que sugeriram que o CG em regimes baseados em CsA<sup>9</sup> ou Tcr<sup>9,12,38</sup> ocorre apenas na presença de BCC. De fato, os BCC têm sido implicados como agentes independentes causadores de CG.<sup>28,39,40</sup>

Algumas variáveis periodontais parecem exacerbar a ocorrência do CG independente da droga causadora.<sup>15</sup> Uma associação entre pobre controle de placa e ocorrência de CG foi sugerida,<sup>21,37,39,41</sup> embora relatos contraditórios tenham sido reportados.<sup>7,8,16,34</sup> De fato, o importante papel do biofilme dental

como co-fator etiológico no CG induzido por drogas aparece na última classificação das doenças peridontais<sup>28</sup> e foi reforçado em um recente estudo.<sup>9</sup> Além disso, uma forte associação entre inflamação induzida pela placa e ocorrência de CG foi suportada por diferentes estudos.<sup>7,8,13,14</sup> No presente estudo, a inflamação periodontal, representada pelo índice de sangramento papilar e o percentual de papilas com sangramento, foi confirmada como uma importante variável de risco para o CG em indivíduos transplantados renais.

Uma resposta inflamatória reacional a desequilíbrios na microbiota foi sugerida como um possível mecanismo para o CG.<sup>42</sup> A validade do índice de placa para analisar a associação entre placa e CG tem sido questionada,<sup>16,43</sup> uma vez que a qualidade da microbiota e não a quantidade pode estar relacionada a ocorrência do CG. Na verdade, o perfil microbiológico de indivíduos CG+ ainda foi pouco estudado.

Alguns estudos avaliaram a microbiota bucal de indivíduos CG+ e CG-, e os resultados são diversos.<sup>16,17,18,38</sup> Foi reportado que a frequência de *Streptococcus*  $\beta$ -hemolítico é maior em indivíduos não-respondentes,<sup>17</sup> e que a frequência de *Parvimonas micra* (anteriormente *Micromomas micros*) é maior em indivíduos respondentes.<sup>16</sup> Uma maior frequência de *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* e *Tannerella forsythia* também foi reportada para indivíduos respondentes.<sup>18</sup> Indivíduos respondentes em nosso estudo mostraram uma maior ocorrência de *T. forsythia*, especialmente aqueles medicados com Tcr, corroborando achados prévios. É importante notar que os estudos apresentam

diferentes métodos de coleta e análise, o que pode ter contribuído para estas divergências.

Nosso estudo optou por métodos não invasivos de coleta nesta população, por se tratar de um grupo de indivíduos imunocomprometidos, com risco aumentado para doenças bucais.<sup>38</sup> O uso de amostras de saliva para identificação de patógenos periodontais tem sido suportado por diferentes estudos.<sup>16,23,24,25,38</sup> Contudo, é importante observar que diferentes espécies bacterianas podem apresentar diferentes perfis de ocorrência salivar, de acordo com características da população em estudo.<sup>23</sup> De fato, apesar da coleta salivar ser representativa da coleta subgengival em indivíduos imunocompetentes, em um grupo de transplantados cardíacos medicados com CsA, a ocorrência de algumas espécies periodontopatógenas diferiu entre estes sítios.<sup>16</sup> Estudos abrangendo transplantados renais sob diferentes regimes imunossupressores tornam-se importantes para a avaliação do perfil de ocorrência bacteriana em diferentes sítios bucais.

## **CONCLUSÕES**

A prevalência e gravidade do CG é maior nos regimes imunossupressores baseados em CsA quando comparados aos regimes baseados em Tcr e Sir, e maior nos regimes baseados em Tcr quando comparados aos regimes de Sir. O uso concomitante de BCC e a inflamação gengival, representada pelo sangramento papilar, são variáveis fortemente associadas ao CG em indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores de manutenção. A

presença de patógenos específicos parece estar associada ao CG, principalmente em regimes imunossupressores baseados em Tcr. O manejo terapêutico e preventivo correto da condição periodontal neste grupo de indivíduos pós-transplante pode melhorar a condição gengival e a qualidade de vida dos mesmos.

## **AGRADECIMENTOS**

Os autores gostariam de expressar seus agradecimentos às Unidades de Transplante do Hospital Felício Rocho e do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gérias e a todos os participantes do estudo pelo seu tempo e envolvimento; e a Juliana Guimarães dos Santos pela assistência técnica na análise microbiológica. Este estudo recebeu apoio financeiro da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e da Fundação de Amparo a Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG / #13016). Os autores declaram nenhum conflito de interesse relacionado ao presente estudo.

## **REFERÊNCIAS**

01. Callaghan CJ, Bradley JÁ. Currents status of renal transplantation. *Metodhs Mol Biol* 2006;333:1-28
02. Hariharan S, Johnson CP, Bresnahan BA et al. Improved graft survival after renal transplantation in the United States, 1988 to 1996. *N Engl J Med* 2000;342:605-612.

03. Gourishankar S, Turner P, Halloran P. New developments in immunosuppressive therapy in renal transplantation. *Expert Opin Biol Ther* 2002;2:483-501.
04. Gourishankar S, Halloran PF. Late deterioration of organ transplants: a problem in injury and homeostasis. *Curr Opin Immunol* 2002;14:576-583.
05. Jorga A, Johnston A. Novel therapies in transplantation. *Expert Opin Investig Drugs*. 2005;14:295-304.
06. Ciancio G, Burke GW, Gaynor JJ et al. A randomized long-term trial of tacrolimus and sirolimus versus tacrolimus and mycophenolate mofetil versus cyclosporine (neoral) and sirolimus in renal transplantation. I. Drug interactions and rejection at one year. *Transplantation* 2004;77:244-251.
07. Costa FO, Ferreira SD, Cota LOM, Costa JE, Aguiar MA. Prevalence, severity, and risk variables associated with gingival overgrowth in renal transplant subjects treated under tacrolimus or cyclosporine regimens. *J Periodontol* 2006;77:969-975.
08. Costa FO, Ferreira SD, Lages EJP, Costa JE, Oliveira AMSD, Cota LOM. Demographic, pharmacologic, and periodontal variables for gingival overgrowth in subjects medicated with cyclosporin in the absence of calcium channel blockers. *J Periodontol* 2007;78:254-261.
09. Greenberg KV, Armitage GC, Shiboski CH. Gingival enlargement among renal transplant recipients in the era of new-generation immunosuppressants. *J Periodontol* 2008;79:453-460.
10. Lima RB, Benini V, Sens YA. Gingival overgrowth in renal transplant recipients: a study concerning prevalence, severity, periodontal, and

- predisposing factors. *Transplant Proc* 2008;40:1425-1428.
11. James JA, Jamal S, Hull PS et al. Tacrolimus is not associated with gingival overgrowth in renal transplant patients. *J Clin Periodontol* 2001;28:848-852.
  12. McKaig SJ, Kell D, Shaw L. Investigation of the effect of FK506 (tacrolimus) and cyclosporine on gingival overgrowth following pediatric liver transplantation. *Int J Paediatr Dent* 2002;12:398-403.
  13. Cota LOM, Oliveira APL, Costa JE, Cortelli SC, Costa FO. Gingival status of Brazilian renal transplant recipients under sirolimus-based regimens. *J Periodontol* 2008;79:2060-2068.
  14. Cezário ES, Cota LOM, Ferreira SD et al. Gingival overgrowth in renal transplant subjects medicated with tacrolimus in the absence of calcium channel blockers. *Transplantation* 2008;85:232-236.
  15. Seymour RA, Ellis JS, Thomason JM. Risk factors for drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 2000;27:217-223.
  16. Romito AG, Pustiglioni FE, Saraiva L, Pustiglioni AN, Lotufo RFM, Stolf NAG. Relationship of subgingival and salivary microbiota to gingival overgrowth in heart transplant patients following cyclosporin A therapy. *J Periodontol* 2004;75:918-924.
  17. Saraiva L, Lotufo RFM, Pustiglioni AN, Silva Jr HT, Imbronito AV. Evaluation of subgingival bacterial plaque changes and effects on periodontal tissues in patients with renal transplants under immunosuppressive therapy. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2006;101:457-462.

18. Gong YM, Cão LF, Ynag Y, Gu ZY. Relationship of putative periodontopathogenic bacteria and drug-induced gingival overgrowth. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2008;43:347-351.
19. Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2003;100:177-182.
20. Silness J, Løe H. Periodontal disease in pregnancy: correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964;22:131-135.
21. Saxer UP, Mühlemann HR. Motivation and education (in German). *SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd* 1975;85:905-919.
22. Thomason JM, Seymour RA, Rice N. The prevalence and severity of cyclosporin and nifedipine induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1993;20:37-40.
23. Könönen E, Paju S, Pussinen PJ, Hyvönen M, Di Tella P, Suominen-Taipale L, Knuuttila M. Population-based study of salivary carriage of periodontal pathogens in adults. *J Clin Microbiol* 2007;45:2446–2451.
24. Umeda M, Contreras A, Chen C, Bakker I, Slots J. The utility of whole saliva to detect the oral presence of periodontopathic bacteria. *J Periodontol* 1998;69:828-833.
25. Testa M, Ruiz de Valladares R, Benito de Cardenas IL. Correlation between bacterial counts in saliva and subgingival plaque. *Acta Odontol Latinoam* 1999;12:63-74.
26. Cortelli SC, Feres M, Rodrigues AAB, Aquino DR, Shibli JÁ, Cortelli JR.

- Detection of *Actinobacillus actinomycetencomitans* in unstimulated saliva of patients with chronic periodontitis. *J Periodontol* 2005;76:204-209.
27. Cortelli JR., Cortelli SC, Jordan S, Haraszthy VI, Zambon JJ. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2005;32:860-866.
  28. American Academy of Periodontology (AAP). Drug-associated gingival enlargement. *J Periodontol* 2004;75:1424-1431.
  29. Ellis JS, Seymour RA, Taylor JJ, Thomason JM. Prevalence of gingival overgrowth in transplant patients immunosuppressed with tacrolimus. *J Clin Periodontol* 2004;31:126-131.
  30. James JA, Marley JJ, Jamal S *et al*. The calcium channel blocker used with cyclosporin has an effect on gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 2000;27:109-115.
  31. Gong YM, Xu M, Gu ZY. Investigation of the prevalence of drug-induced gingival overgrowth in renal transplant recipients medicated with cyclosporine A or tacrolimus. *Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi* 2008;17:121-124.
  32. Thomason JM, Seymour RA, Ellis JS. Risk factors for gingival overgrowth in patients medicated with cyclosporin in the absence of calcium channel blockers. *J Clin Periodontol* 2005;32:273-279.
  33. Seymour RA, Jacobs DJ. Cyclosporin and the gingival tissues. *J Clin Periodontol* 1992;19:1-11.
  34. Wondimu B, Sandberg J, Modeer T. Gingival overgrowth in renal transplant patients administered cyclosporin A in mixture or in capsule



- form. A longitudinal study. *Clin Transplantation* 1996;10:71-76.
35. Wilson RF, Morel A, Smith D et al. Contribution of individual drugs to gingival overgrowth in adult and juvenile renal transplant patients treated with multiple therapy. *J Clin Periodontol* 1998;25:457-464.
  36. James JA, Boomer S, Maxwell AP et al. Reduction in gingival overgrowth associated with conversion from cyclosporin A to tacrolimus. *J Clin Periodontol* 2000;27:144-148.
  37. Vescovi P, Meleti M, Manfredi M, Merigo E, Pedrazzi G. Cyclosporin-induced gingival overgrowth: a clinical-epidemiological evaluation of 121 Italian renal transplant recipients. *J Periodontol* 2005;76:1259-1264.
  38. Spolidorio LC, Spolidorio DMP, Massucato SEM, Neppelenbroek KH, Campanha NH, Sanches MH. Oral health in renal transplant recipients administered cyclosporin A or tacrolimus. *Oral Dis* 2006;12:309-314.
  39. Ellis JS, Seymour RA, Steele JG, Robertson P, Butler TJ, Thomason JM. Prevalence of gingival overgrowth induced by calcium channel blockers: a community-based study. *J Periodontol* 1999;70:63-67.
  40. Güncü GN, Caglayan F, Dincel A, Bozkurt A, Ozmen S, Karabulut E. Clinical and pharmacological variables as a risk factor for nifedipine-induced gingival overgrowth. *Aust Dent J* 2007;52:295-299.
  41. Somacarrera ML, Hernandez G, Acero J, Moskow BS. Factors relating to the incidence and severity of cyclosporin-induced gingival overgrowth in transplant patients. A longitudinal study. *J Periodontol* 1994;65:671-675.
  42. Fisher RG, Edwardsson S, Klinge B, Attstrom R. The effect of cyclosporin-A on the oral microflora at gingival sulcus of the ferret. *J Clin Periodontol*

1996;23:853-860.

43. King GN, Fullinfaw R, Higgins TJ, Walker RG, Francis DMA, Wiesenfeld D. Gingival hyperplasia in renal allograft recipients receiving cyclosporin-A and calcium antagonists. *J Clin Periodontol* 1993;20:286-293.

Tabela 1. Características da amostra e grupos imunossupressores em relação ao crescimento gengival.

Variáveis	Indivíduos CG+ (respondentes)				p*
	Amostra total	Grupo CsA	Grupo Tcr	Grupo Sir	
<b>Número de indivíduos</b>	47 (34,8%)	27 (60,0%)	13 (28,9%)	7 (15,6%)	<b>&lt;0,001<sup>†</sup></b>
<b>Número de indivíduos com escores de CG</b>					
<b>de 1 a 10%</b>	24 (17,8%)	13 (28,8%)	7 (15,5%)	6 (13,3%)	
<b>de 11 a 20%</b>	5 (3,7%)	2 (4,4%)	2 (4,4%)	1 (2,2%)	
<b>de 21 a 29%</b>	8 (5,9%)	8 (17,8%)	0 (0,0%)	0 (0,0%)	
<b>≥ 30%</b>	10 (7,4%)	6 (13,3%)	4 (8,9%)	0 (0,0%)	<b>0,048<sup>†</sup></b>
<b>Escore médio de CG (%)</b>	16,88 ± 13,71 (2,00 – 52,00)	19,20 ± 13,95 (3,00 – 52,00)	17,08 ± 15,25 (2,00 – 44,00)	7,57 ± 2,44 (4,00 – 22,00)	<b>&lt;0,001<sup>‡</sup></b>
<b>Escore médio de CG por papila</b>	0,84 ± 0,69 (0,10 – 2,60)	0,96 ± 0,70 (0,15 – 2,60)	0,85 ± 0,76 (0,10 – 2,20)	0,38 ± 0,12 (0,20 – 0,6)	<b>&lt;0,001<sup>‡</sup></b>
<b>% de papilas afetadas por CG</b>	34,31 ± 23,15 (5,00 – 95,00)	41,20 ± 24,25 (10,00 – 95,00)	30,77 ± 20,40 (5,00 – 80,00)	14,29 ± 4,50 (10,00 – 20,00)	<b>&lt;0,001<sup>‡</sup></b>

CsA = ciclosporina; Tcr = tacrolimus; Sir = sirolimus; CG = crescimento gengival; média±DP (intervalo) a não ser quando especificado; percentuais em relação ao total de indivíduos no grupo; \*comparações entre grupos CsA, Tcr e Sir: <sup>†</sup>teste Qui-quadrado, <sup>‡</sup>teste Kruskal-Wallis (grupos se diferem pelo teste de Dunn p < 0,05); valores de p significativos em negrito.

Tabela 2. Características da amostra em relação a variáveis demográficas, farmacológicas e periodontais de interesse, de acordo com a presença / ausência de crescimento gengival.

Variáveis	Amostra total (n = 135)	Respondentes (CG+ n = 47)	Não respondentes (CG- n = 88)	p*
<b>Homens (n)</b>	79 (58,5%)	30 (63,8%)	49 (55,7%)	
<b>Mulheres (n)</b>	56 (41,5%)	17 (36,2%)	39 (44,3%)	0,360 <sup>†</sup>
<b>Idade (anos)</b>	42,89 ± 10,75 (18 – 70)	42,64 ± 9,94 (24 – 63)	43,02 ± 11,21 (18 – 70)	0,844 <sup>‡</sup>
<b>Peso (kg)</b>	65,39 ± 15,14 (42,50 – 120,00)	68,96 ± 17,21 (44,00 – 120,00)	63,49 ± 13,64 (42,50 – 108,00)	<b>0,045<sup>‡</sup></b>
<b>Tipo de doador</b>				
<b>Vivo</b>	78 (57,8%)	26 (55,3%)	52 (59,1%)	
<b>Cadáver</b>	57 (42,2%)	21 (44,7%)	36 (40,9%)	0,673 <sup>†</sup>
<b>Agente imunossupressor principal</b>				
<b>Ciclosporina (CsA)</b>	45 (33,33%)	27 (57,4%)	18 (20,5%)	NA
<b>Tacrolimus (Tcr)</b>	45 (33,33%)	13 (27,7%)	32 (36,4%)	
<b>Sirolimus (Sir)</b>	45 (33,33%)	7 (14,9%)	38 (43,2%)	
<b>Tempo de transplante (meses)</b>	62,46 ± 51,10 (4,00 – 237,00)	85,72 ± 51,62 (4,00 – 237,00)	50,03 ± 46,52 (4,00 – 186,00)	<b>&lt; 0,001<sup>‡</sup></b>
<b>Dose diária de Prednisona (mg)</b>	5,34 ± 4,46 (0,00 – 20,00)	7,03 ± 4,59 (0,00 – 20,00)	4,43 ± 4,13 (0,00 – 20,00)	<b>0,001<sup>‡</sup></b>
<b>Dose diária de Azatioprina (mg)</b>	15,00 ± 40,33 (0,00 – 250,00)	29,79 ± 53,12 (0,00 – 250,00)	7,10 ± 28,85 (0,00 – 175,00)	<b>0,008<sup>‡</sup></b>
<b>Dose diária de Micofenolato (mg)</b>	756,22 ± 562,90 (0,00 – 2000,00)	605,11 ± 685,06 (0,00 – 2000,00)	836,93 ± 470,07 (0,00 – 2000,00)	<b>0,042<sup>‡</sup></b>
<b>Creatinina (mg/dl)</b>	1,66 ± 0,89 (0,60 – 6,00)	1,54 ± 0,58 (0,66 – 4,70)	1,72 ± 1,02 (0,60 – 6,00)	0,190 <sup>‡</sup>
<b>Uso concomitante de BCC</b>	47 (34,8%)	31 (66,0%)	16 (18,2%)	<b>&lt; 0,001<sup>†</sup></b>
<b>Índice de placa</b>	1,40 ± 0,73 (0,08 – 3,00)	1,56 ± 0,68 (0,37 – 3,00)	1,31 ± 0,74 (0,08 – 3,00)	0,058 <sup>‡</sup>
<b>Índice de sangramento papilar</b>	0,20 ± 0,25 (0,00 – 1,05)	0,38 ± 0,26 (0,00 – 1,05)	0,11 ± 0,19 (0,00 – 1,00)	<b>&lt; 0,001<sup>†</sup></b>
<b>% de papilas com sangramento após estímulo</b>	27,75 ± 31,27 (0,00 – 100,00)	51,90 ± 31,57 (0,00 – 100,00)	14,85 ± 22,28 (0,00 – 100,00)	<b>&lt; 0,001<sup>†</sup></b>

CG = crescimento gengival; BCC = bloqueadores de canais de cálcio; NA = não se aplica; média±DP (intervalo) a não ser quando especificado; \*comparações entre respondentes e não respondentes; <sup>†</sup>teste Qui-quadrado; <sup>‡</sup>teste Mann-Whitney; valores de p significativos em negrito.

Tabela 3. Variáveis significativas de interesse (demográficas, farmacológicas e periodontais) para os grupos de imunossupressores, de acordo com a presença / ausência de crescimento gengival.

Variáveis	Amostra total	Respondentes	Não respondentes	p*
		(CG+)	(CG-)	
<b>Grupo CsA</b>	<b>(n = 45)</b>	<b>(n = 27)</b>	<b>(n = 18)</b>	
<b>Uso concomitante de BCC</b>	23 (51,1%)	18 (66,7%)	5 (27,8%)	0,011 <sup>†</sup>
<b>Índice de sangramento papilar</b>	0,31 ± 0,30 (0,00 – 1,05)	0,44 ± 0,30 (0,00 – 1,05)	0,10 ± 0,18 (0,00 – 0,55)	<0,001 <sup>‡</sup>
<b>% de papilas com sangramento após estímulo</b>	39,47 ± 36,37 (0,00 – 100,00)	55,90 ± 34,74 (0,00 – 100,00)	14,84 ± 22,49 (0,00 – 70,00)	<0,001 <sup>‡</sup>
<b>Grupo Tcr</b>	<b>(n = 45)</b>	<b>(n = 13)</b>	<b>(n = 32)</b>	
<b>Uso concomitante de BCC</b>	14 (31,1%)	9 (69,2%)	5 (15,6%)	<0,001 <sup>†</sup>
<b>Uso prévio de CsA</b>	12 (26,7%)	7 (53,8%)	5 (15,6%)	0,009 <sup>†</sup>
<b>Índice de sangramento papilar</b>	0,19 ± 0,24 (0,00 – 1,00)	0,33 ± 0,22 (0,00 – 0,80)	0,13 ± 0,23 (0,00 – 1,00)	<0,001 <sup>‡</sup>
<b>% de papilas com sangramento após estímulo</b>	26,57 ± 30,60 (0,00 – 100,00)	51,54 ± 30,23 (0,00 – 100,00)	16,42 ± 24,64 (0,00 – 100,00)	<0,001 <sup>‡</sup>
<b>Grupo Sir</b>	<b>(n = 45)</b>	<b>(n = 7)</b>	<b>n = 38)</b>	
<b>Uso concomitante de BCC</b>	10 (22,2%)	4 (57,1%)	6 (15,8%)	0,016 <sup>†</sup>
<b>Uso prévio de INC</b>	14 (31,1%)	5 (71,4%)	9 (23,7%)	<0,001 <sup>†</sup>
<b>Índice de sangramento papilar</b>	0,12 ± 0,17 (0,00 – 0,93)	0,24 ± 0,07 (0,15 – 0,30)	0,09 ± 0,17 (0,00 – 0,93)	<0,001 <sup>‡</sup>
<b>% de papilas com sangramento após estímulo</b>	17,20 ± 21,56 (0,00 – 100,00)	37,14 ± 16,04 (20,00 – 60,00)	13,52 ± 20,53 (0,00 – 100,00)	<0,001 <sup>‡</sup>

CG = crescimento gengival; CsA = ciclosporina; Tcr = tacrolimus; Sir = sirolimus; BCC = bloqueadores de canais de cálcio; INC = inibidores de calcineurina; média±DP (intervalo) a não ser quando especificado; \*comparações entre respondentes e não respondentes: <sup>†</sup>teste Qui-quadrado, <sup>‡</sup>teste Kruskal-Wallis (respondentes e não respondentes se diferem pelo teste de Dunn p < 0,005).

Tabela 4. Frequência salivar de patógenos periodontais na amostra, de acordo com os grupos imunossupressores e a presença / ausência de crescimento gengival.

Patógenos periodontais	Amostra total	Respondentes	Não respondentes	p*
		(CG+)	(CG-)	
<b>Amostra total</b>	<b>(n = 135)</b>	<b>(n = 47)</b>	<b>(n = 88)</b>	
<b>Aa</b>	1 (0,7%)	1 (2,1%)	0 (0,00%)	0,170
<b>Pg</b>	52 (38,5%)	22 (46,8%)	30 (34,1%)	0,148
<b>Pm</b>	64 (47,4%)	27 (57,4%)	37 (42,0%)	0,088
<b>Td</b>	62 (45,9%)	26 (55,3%)	36 (40,9%)	0,109
<b>Tf</b>	91 (67,4%)	37 (78,7%)	54 (61,4%)	<b>0,040</b>
<b>Grupo CsA</b>	<b>(n = 45)</b>	<b>(n = 27)</b>	<b>(n = 18)</b>	
<b>Aa</b>	1 (2,2%)	1 (3,7%)	0 (00,0%)	0,409
<b>Pg</b>	19 (42,2%)	13 (48,1%)	6 (33,3%)	0,324
<b>Pm</b>	27 (60,0%)	18 (66,7%)	9 (50,0%)	0,264
<b>Td</b>	21 (46,7%)	13 (48,1%)	8 (44,4%)	0,807
<b>Tf</b>	30 (66,7%)	20 (74,1%)	10 (55,6%)	0,197
<b>Grupo Tcr</b>	<b>(n = 45)</b>	<b>(n = 13)</b>	<b>(n = 32)</b>	
<b>Aa</b>	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	NA
<b>Pg</b>	14 (31,1%)	6 (46,2%)	8 (25,00%)	0,165
<b>Pm</b>	17 (37,8%)	6 (46,2%)	11 (34,4%)	0,460
<b>Td</b>	18 (40,0%)	8 (61,5%)	10 (31,2%)	0,060
<b>Tf</b>	26 (57,8%)	11 (84,6%)	15 (46,9%)	<b>0,020</b>
<b>Grupo Sir</b>	<b>(n = 45)</b>	<b>(n = 7)</b>	<b>(n = 38)</b>	
<b>Aa</b>	0 (0,00%)	0 (0,00%)	0 (0,00%)	NA
<b>Pg</b>	19 (42,2%)	3 (42,9%)	16 (42,1%)	0,970
<b>Pm</b>	20 (44,4%)	3 (42,9%)	17 (44,7%)	0,927
<b>Td</b>	23 (51,1%)	5 (71,4%)	18 (47,4%)	0,242
<b>Tf</b>	35 (77,8%)	6 (85,7%)	29 (76,3%)	0,583

CG = crescimento gengival; Aa = *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; Pg = *Porphyromonas gingivalis*; Pm = *Parvimonas micra*; Td = *Treponema denticola*; Tf = *Tannerella forsythia*; CsA = ciclosporina; Tcr = tacrolimus; Sir = sirolimus; NA = não se aplica; \*comparações entre respondentes e não respondentes: teste Qui-quadrado; valores de p significativos em negrito.

Tabela 5. Modelos multivariados finais (regressão logística) para a ocorrência do crescimento gengival na amostra total e grupos imunossupressores, de acordo com o grupo imunossupressor.

Variáveis	Coefficiente	Intervalo de confiança 95%	Razão das chances (Odds ratio = OR)	p*
<b>Amostra total</b> (pseudo R <sup>2</sup> = 0,3794)				
Constante	-2,841	-3,734 – -1,948	-	-
% de papilas com sangramento após estímulo	0,045	0,027 – 0,063	1,05	<0,001
Uso concomitante de BCC	2,079	1,106 – 3,052	7,99	<0,001
<b>Grupo CsA</b> (pseudo R <sup>2</sup> = 0,2910)				
Constante	-0,999	-1,971 – -0,028	-	-
Índice de sangramento papilar	5,886	2,276 – 9,496	359,8	0,001
<b>Grupo Tcr</b> (pseudo R <sup>2</sup> = 0,3873)				
Constante	-3,314	-5,340 – -1,288	-	-
Uso prévio de CsA	2,905	0,603 – 5,207	18,27	0,013
Uso concomitante de BCC	3,391	1,145 – 5,638	29,70	0,003
<b>Grupo Sir</b> (pseudo R <sup>2</sup> = 0,3165)				
Constante	-3,951	-6,163 – -1,739	-	-
% de papilas com sangramento após estímulo	0,054	0,009 – 0,099	1,06	0,018
Uso concomitante de BCC	2,527	0,400 – 4,654	12,51	0,020

CG = crescimento gengival; CsA = ciclosporina; Tcr = tacrolimus; Sir = sirolimus.

## 8 CONSIDERAÇÕES FINAIS

Para as diferentes propostas de investigação desta pesquisa, em relação a ocorrência e gravidade do CG em indivíduos sob regimes imunossupressores baseados em CsA, Tcr e Sir, bem como a sua relação com variáveis de risco, as seguintes considerações finais foram estabelecidas:

- Em relação ao CG sob os regimes imunossupressores baseado em sirolimus, observou-se um CG de forma discreta (escore médio  $5,0 \pm 3,98\%$ ) em um considerável número de indivíduos (20,8%). Todavia, este CG não foi considerado clinicamente significativo. Adicionalmente, o CG foi fortemente associado à interação entre tempo de transplante e uso prévio de inibidores de calcineurina (CsA e/ou Tcr), e ao índice de sangramento papilar. É importante ressaltar que, como primeiro estudo a relatar efeitos adversos no periodonto em indivíduos sob uso de Sir, esta pesquisa sinaliza para a importância e necessidade de estudos futuros com o intuito de investigar o papel das doses e concentrações séricas de Sir, bem como dos agentes coadjuvantes e suas interações, no panorama global das alterações gengivais nestas terapias imunossupressoras de manutenção em diferentes populações.
- Em relação aos achados de ocorrência do polimorfismo de base única do gene da IL-6 (-174 G/C), não houve associação deste polimorfismo com o CG em indivíduos transplantados renais sob os regimes imunossupressores de manutenção baseados em CsA, Tcr e Sir.



- O crescimento gengival afeta uma considerável proporção de transplantados renais em terapias de manutenção, com prevalência e gravidade que variam de acordo com os regimes de imunossupressão. A prevalência e gravidade do CG é maior em regimes imunossupressores baseados em CsA quando comparados a regimes baseados em Tcr e Sir. A ocorrência de CG em indivíduos sob regimes baseados em Sir é menor quando comparada aquelas para os regimes baseados em CsA ou Tcr.
- Na análise das variáveis de risco, de um modo geral em relação a todos os regimes de imunossupressão estudados, variáveis farmacológicas representadas pelo uso prévio de CsA / INC e uso concomitante de BCC, e variáveis periodontais representadas pelo sangramento papilar, foram associadas ao CG. Especificamente, para os regimes baseados em CsA, o CG foi associado ao sangramento papilar; para os regimes baseados em Tcr, o CG estava associado ao uso concomitante de BCC e ao uso prévio de CsA; e para os regimes baseados em Sir, o CG estava associado ao uso concomitante de BCC e ao sangramento papilar.
- Os achados microbiológicos sugerem uma diferença entre indivíduos CG+ e CG- em relação a presença de patógenos periodontais avaliados, em especial a *Tannerella forsythia* para os regimes imunossupressores baseados em Tcr.

Neste sentido, esta pesquisa aponta para a importância de uma integração entre a equipe de saúde médica e odontológica na terapia de manutenção dos indivíduos transplantados renais sob regimes imunossupressores baseados em Csa, Trc e Sir. O correto manejo terapêutico da condição periodontal em indivíduos pós-transplante renal sob terapias de imunossupressão pode melhorar a condição gengival e a qualidade de vida dos mesmos. Estudos adicionais, abrangendo diferentes populações, se fazem necessários para corroborar nossos achados.

**REFERÊNCIAS**

01. ADAMS, D.; DAVIES, G. Gingival hyperplasia associated with cyclosporin A: a report of 2 cases. **British Dent J**, London, v. 157, n. 3, p. 89-90, Aug. 1994.
02. AKYAMA, S.; AMANO, A.; KATO, T.; TAKADA, Y.; KIMURA, K. R.; MORISAKI, I. Relationship of periodontal bacteria and *Porphyromonas gingivalis fimA* variations with phenytoin-induced gingival overgrowth. **Oral Dis**, Copenhagen, v. 12, n. 1, p. 51-56, Jan. 2006.
03. AAP – AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. Drug-associated gingival enlargement. **J Periodontol**, Copenhagen, v. 75, n. 10, p. 1424-1431, July 2004.
04. ANGELOPOULOS, A. P. Diphenylhydantoin gingival hyperplasia. A clinicalpathological review. 1. Incidence, clinical features and histopathology. **J Can Dent Assoc**, Toronto, v. 41, n. 2, p. 103-106, Feb. 1975.
05. ARMITAGE, G. C. Development of a classification system for periodontal diseases and conditions. **Ann Periodontol**, Chicago, v.1, n. 4, p. 4-6, Dez. 1999.
06. ARMITAGE, J. M.; FRICKER, F. J.; del NIDO, P.; STARZL, T. E.; HADERSTY, R. L.; GRIFFITH, B. P. A decade (1982 to 1992) of pediatric cardiac transplantation and the impact of FK 506 immunosuppression. **J Thorac Cardiovasc Surg**, St Louis, v. 105, n. 3; p. 464-472, Mar 1993.

07. ARMSTRONG, V. W.; OELLERICH, M. New developments in the immunosuppressive drug monitoring cyclosporine, tacrolimus, and azathioprine. **Clin Biochem**, Toronto, v. 34, n. 1, p. 9-16, Feb. 2001.
08. ASANTE-KORANG, A.; BOYLE, G. J.; WEBBER, S. A.; MILLER, S. A.; FRICKER, F. J. Experience of FK506 immune suppression in pediatric heart transplantation: a study of long-term adverse effects. **J Heart Lung Transplant**, Chicago, v. 15, n. 4, p. 415-422, Apr. 1996.
09. AUGUSTINE, J. J.; CHANG, P. C.; KNAUSS, T. C.; AEDER, M. I.; BODZIAK, K. A.; SCHULAK, J. A.; HRICIK, D. E. Improved renal function after conversion from tacrolimus/sirolimus to tacrolimus/mycophenolate mofetil in kidney transplant recipients. **Transplantation**, Baltimore, v. 81, n. 7, p. 1004-1009, Apr. 2006.
10. BADER, G.; LEJEUNE, S.; MESSNER, M. 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, Oct. 1998.
11. BOLZANI, G.; DELLA COLETTA, R.; MARTELLI JUNIOR, H.; GRANER, E. Cyclosporin A inhibits production and activity of metalloproteinases by gingival fibroblasts. **J Periodontol Res**, Copenhagen, v. 35, n. 1, p. 51-58, Feb. 2000.
12. BOLTCHI, F. E.; REES, T. D.; IACOPINO, A. M. Cyclosporine A-induced gingival overgrowth: a comprehensive review. **Quintessence Int**, Berlin, v. 30, n. 11, p. 775 - 783, Nov. 1999.
13. BOREL, J. F.; FEURER, C.; GUBLER, H. U.; STÄHELIN, H. Biological

- effects of cyclosporin A: a new antilymphocytic agent. 1976. **Agents Actions**, Suíça, v. 43, n. 3-4, p.179-186, Dez. 1994.
14. BOSTANCI, N.; ILGENLI, T.; PIRHAN, D. C.; CLARKE, F. M.; MARCENES, W.; ATILLA, G.; HUGHES, F. J.; MCKAY, I. J. Relationship between IL-1A polymorphisms and gingival overgrowth in renal transplant recipients receiving Cyclosporin A. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 33, n.11, p. 771-778, Set. 2006.
  15. BUDDE, K.; FRITSCHÉ, L.; MAI, I.; BAUER, S.; SMETTAN, S.; WAISER, J. Clinical pharmacokinetics of tacrolimus in rescue therapy after renal transplantation. **Int J Clin Pharmacol Ther**, Washington, v. 34, n. 11, p. 493-497, Nov. 1996.
  16. BUSQUE, S.; DEMERS, P.; SAINT-LOUIS, G.; BOILY, J. G.; TOUSIGNAT, J.; LEMIEUX, F. Hypertrichosis and gingival hypertrophy regression in renal transplants following the substitution of cyclosporine by tacrolimus. **Ann Chir**, London, v. 53, n. 8, p. 687-689, Sep. 1999.
  17. CABEZÓN, S; LAGE, E; HINOJOSA, R; ORDÓÑEZ, A; CAMPOS, A. Sirolimus improves renal function in cardiac transplantation. **Transplant Proc**, New York, v. 37, n. 3, p. 1546-7, Apr 2005.
  18. CEZÁRIO, E. S.; COTA, L. O. M.; FERREIRA, S. D.; SIQUEIRA, F. M.; SOARES, R. V.; ZENÓBIO, E. G.; COSTA, F. O. Gingival overgrowth in renal transplant subjects medicated with tacrolimus in the absence of calcium channel blockers. **Transplantation**, Baltimore, v. 85, n. 2, p. 232-236, Jan. 2008.
  19. CHAE, H.J.; HA, M. S.; YUN, D. H.; PAE, H. O.; CHUNG, H. T.; CHAE,

- S. W.; JUNG, Y. K.; KIM, H. R. Mechanism of cyclosporine-induced overgrowth in gingiva. **J Dent Res**, Chicago, v. 85, n. 6, p. 515-519, Jun. 2006.
20. CIANCIO, G.; BURKE, G. W.; GAYNOR, J. J.; RUIZ, P.; ROTH, D.; KUPIN, W.; ROSEN, A.; MILLER, J. A randomized long-term trial of tacrolimus/sirolimus versus tacrolimus/mycophenolate versus cyclosporine/sirolimus in renal transplantation: three-year analysis. **Transplantation**, Baltimore, v. 81, n. 6, p. 845-852, Mar. 2006.
21. CIAVARELLA D.; GUIGLIA, R.; CAMPISI, G.; DI COSOLA, M.; DI LIBERTO, C.; SABATUCCI, A.; ESCUDERO, N.; BASCONES, A.; LO MUZIO, L. Update on gingival overgrowth by cyclosporine A in renal transplants. **Med Oral Patol Oral Cir Bucal**, Spain, v. 12, n. 1, p.E19-25, Jan 2007.
22. CORTELLI, S. C.; FERES, M.; RODRIGUES, A. A.; AQUINO, D. R.; SHIBLI, J. A.; CORTELLI, J. R. Detection of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in unstimulated saliva of patients with chronic periodontitis. **J Periodontol**, Chicago, v. 76, n. 2, p. 204-209, Feb. 2005.
23. CORTELLI, J. R.; CORTELLI, S. C.; JORDAN, S. F.; HARASZTHY, V. I.; ZAMBON, J. J. Prevalence of periodontal pathogens in Brazilians with aggressive or chronic periodontitis. **J Clin Periodontol**, Chicago, v. 32, n. 8, p. 860-866, Aug. 2005.
24. COTRIM, P.; MARTELLI-JUNIOR, H.; GRANER, E.; SAUK, J. J.; COLETTA, R. D. Cyclosporin A induces proliferation in human gingival fibroblasts via induction of transforming growth factor- $\beta$ 1. **J Periodontol**,

- Chicago, v. 74, n. 11, p. 1625-1633, Nov. 2003.
25. COSTA, F. O.; FERREIRA, S. D.; COTA, L. O. M.; COSTA, J. E.; AGUIAR, M. A. Prevalence, severity, and risk variables associated with gingival overgrowth in renal transplant subjects treated under tacrolimus or cyclosporin regimens. **J Periodontol**, Chicago, v. 77, n. 6, p. 969-975, Jun. 2006.
  26. COSTA, F. O.; FERREIRA, S. D.; LAGES, E. J.; COSTA, J. E.; OLIVEIRA, A. M.; COTA, L. O. M. Demographic, pharmacologic, and periodontal variables for gingival overgrowth in subjects medicated with cyclosporin in the absence of calcium channel blockers. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 2, p. 254-261, Feb. 2007.
  27. COTONNE, J.A.; MOLINARI, J.A. State-of-the-art infection control in dentistry. **J Am Dent Assoc**, Chicago, v. 122, n. 9, p. 33-41, Aug. 1991.
  28. COWAN, P. A.; HEIZER, K. E. Sirolimus: mammalian target of rapamycin inhibitor to prevent kidney rejection. **Nephrol Nurs J**, Oxford, v. 27, n. 6, p. 623-625, Dec. 2000.
  29. 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.
  30. DAS, S. J.; NEWMAN, H. N.; OLSEN, I. Keratinocyte growth factor receptor is up-regulated in cyclosporine A-induced gingival hyperplasia. **J Dent Res**, Chicago, v. 81, n. 10, p. 683-687, Out. 2002.
  31. DE IUDICIBUS, S.; CASTRONOVO, G.; GIGANTE, A.; STOCCO, G.; DECORTI, G.; DI LENARDA, R.; BARTOLI, F. Role of MDR1 gene

- polymorphisms in gingival overgrowth induced by cyclosporine in transplant patients. **J Periodontal Res**, Copenhagen, v. 43, n. 6, p. 665-672, Jun. 2007.
32. DROZDIZIK, M.; KURZAWSKI, M.; DROZDZIK, A.; KOTYCH, K.; BANACH, J.; PAWLIK, A. Interleukin-6 gene polymorphism in renal transplant patients with and without gingival overgrowth. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 32, n. 9, p. 955-958, Sep. 2005.
33. DROZDZIK, A.; KURZAWSKI, M.; KOZAK, M.; BANACH, J.; DROZDZIK, M. SPARC gene polymorphism in renal transplant patients with gingival overgrowth. **J Periodontol**, Chicago, v. 78, n. 11, p. 2185-2189, Nov. 2007.
34. DROZDZIK, M.; MYSLIWIEC, K.; LEWINSKA-CHELSTOWSKA, M.; BANACH, J.; DROZDZIK, A.; GRABAREK, J. P-glycoprotein drug transporter MDR1 gene polymorphism in renal transplant patients with and without gingival overgrowth. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 31, n. 9, p. 758-763, Set. 2004.
35. ELLIS, J. S.; SEYMOUR, R. A.; TAYLOR, J. J.; THOMASON, J. M. Prevalence of gingival overgrowth in transplant patients immunosuppressed with tacrolimus. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 31, n. 2, p. 126-131, Feb. 2004.
36. FLECHNER, S. M. A. Minimizing calcineurin inhibitor drugs in renal transplantation. **Transplant Proc**, New York, v. 35, n. 3 (Suppl), p. 118s-121s, May 2003.
37. FU, E.; NIEH, S.; WIKESJÖ, U. M. The effects of plaque retention on



- cyclosporine-induced gingival overgrowth in rats. **J Periodontol**, Chicago, v. 68, n. 1, p. 92-98, Jan. 1997.
38. GONG, Y. M.; CAO, L. F.; YANG, Y.; GU, Z. Y. Relationship of putative periodontopathogenic bacteria and drug-induced gingival overgrowth. **Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi**, China, v. 43, n. 6, p. 347-351, Jun. 2008.
39. GUO, J.; WANG, W.; YAO, L.; YAN, F. Local inflammation exacerbates cyclosporine a-induced gingival overgrowth in rats. **Inflammation**, New York, v. 31, n. 6, p. 399-407, Dec 2008.
40. HABERAL, M.; EMIROGLU, R.; DALGIC, A.; KARAKAYLI, H.; MORAY, G.; BILGIN, N. The impact of cyclosporine on the development of immunosuppressive therapy. **Transplant Proc**, New York, v. 36, n. 2(Suppl), p. 143s-147s, Mar. 2004.
41. HALLMON, W. W.; ROSSMANN, J. A. The role of drugs in the pathogenesis of gingival overgrowth. A collective review of current concepts. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 21, p. 176-196, Oct. 1999.
42. HAMDY, A. F.; EI-AGROUDY, A. E.; BAKR, M. A.; MOSTAFA, A.; EI-BAZ, M.; EI-SHAHAWY, el-M.; GHONEIM, M. A. Comparisons of sirolimus with low-dose tacrolimus versus sirolimus-based calcineurin inhibitor-free regimen in liver donor renal transplantation. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 5, n. 10, p. 2531-2538, Oct. 2005.
43. HERNANDEZ, G.; ARRIBA, L.; LUCAS, M.; DE ANDRÉS, A. Reduction of severe gingival overgrowth in a kidney transplant patient by replacing cyclosporin A with tacrolimus. **J Periodontol**, Chicago, v. 71, n. 10,

- p.1630-1636, Oct. 2000.
44. HERNÁNDEZ, G.; ARRIBA, L.; FRIAS, M. C.; de LA MACORRA, J. C.; de VICENTE, J. C.; JIMENEZ, C.; de ANDRES. A.; MORENO, E. Conversion from cyclosporin A to tacrolimus as a non-surgical alternative to reduce gingival enlargement: a preliminary case series. **J Peirodontol**, Chicago, v. 74, n. 12, p. 1816-1823, Dec. 2003.
  45. INGLÈS, E.; ROSSMANN, J. A.; CAFFESSE, R. G. New clinical index for drug-induced gingival overgrowth. **Quintessence Int**, Berlin, v. 30, n. 7, p. 467-473, Jul. 1999.
  46. JAMES, J. A.; BOOMER, S.; MAXWELL, A. P.; HULL, P. S.; SHORT, C. D.; CAMPBELL, B. A.; JONHSON, R. W.; IRWIN, C. R.; MARLEY, J. J.; SPRATT, H.; LINDEN, G. J. Reduction in ginivival overgrowth associated with conversion from cyclosporine A to tacrolimus. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 27, n. 2, p. 144-148, Feb. 2000.
  47. JAMES, J. A.; JAMAL, S.; HULL, P. A.; MACFARLANE, T. V.; CAMPBELL, B. A.; JOHNSON, R. W. G.; SHORT, C. G. Tacrolimus is not associated with gingival overgrowth in renal transplant patients. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 28, n. 9, p. 848-852, Sep. 2001.
  48. JONES, C. M. Gingival hyperplasia associated with nifedipine. **Br Dent J**, London, v. 160, n. 12, p. 416-417, Jun. 1986.
  49. JOHNSON, R. B.; ZEBROWSKI, E. J.; DAI, X. Synergistic enhancement of collagenous protein synthesis by human gingival fibroblasts exposed to nifedipine and interleukin-1-beta in vitro. **J Oral Pathol Med**, Copenhagen, v. 29, n. 1, p. 8-12, Jan. 2000.

50. KATAOKA, M.; KIDO, J.; SHINOHARA, Y.; NAGATA, T. Drug-induced gingival overgrowth: a review. **Biol Pharm Bull**, Tokyo, v. 28, n. 10, p. 1817-1821, Oct. 2005.
51. KATAOKA, M.; SHIMIZU, Y.; KUNIKIYO, K.; ASAHARA, Y.; YAMASHITA, K.; NINOMIYA, M.; MORISAKI, I.; OHSAKI, Y.; KIDO, J. I.; NAGATA, T. Cyclosporin A decreases the degradation of type I collagen in rat gingival overgrowth. **J Cell Physiol**, Philadelphia, v. 182, n. 3, p. 351-358, Mar. 2000.
52. KHAULI, R. B.; HOUJAIJ, A.; SAWAH, S.; EI-HOUT, Y.; MEDAWWAR, W.; HUSSEIN, M.; HABBAL, A.; DAOUK, M.; UWAYDAH, M.; MAACARON, H.; ABDELNOOR, A. Observations on quadruple immunosuppression maintenance therapy using rapamycin, low-dose cyclosporine, mycophenolate mofetil, and prednisone following ATG induction. **Transplant Proc**, New York, v. 37, n. 7, p. 3031-3033, Sep. 2005.
53. KINANE, D. F.; SHIBA, H.; HART, T. C. The genetic basis of periodontitis. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 39, n. 1, p. 91-117, Oct. 2005.
54. KINO, T.; HATANAKA, H.; MIYATA, S.; INAMURA, N.; NISHIYAMA, M.; YAJIMA, T.; GOTO, T.; OKUHARA, M.; KOHSAKA, M.; AOKI, H. FK-506, a novel immunosuppressant isolated from a Streptomyces. II. Immunosuppressive effect of FK-506 *in vitro*. **J Antibiot**, Tokyo, v. 40, n. 9, p. 1256-65, Sep. 1987.
55. KURU, L.; YILMAZ, S.; KURU, B.; KÖSE, K. N.; NOYAN, U. Expression

- of growth factors in the gingival crevice fluid of patients with phenytoin-induced gingival enlargement. **Arch Oral Biol**, Oxford, p. 49, n. 11, p. 945-950, Nov. 2004.
56. KURZAWSKI, M.; DROSDZIK, A.; DEMBOWSKA, E.; PAWLIK, A.; BANACH, J.; DROZDZIK, M. Matrix metalloproteinase-1 gene polymorphism in renal transplant patients with and without gingival enlargement. **J Periodontol**, Chicago, v. 77, n. 9, p. 1498-1502, Set. 2006.
57. LEUNG, W. K.; YAU, J. Y. Y.; JIN, L. J.; CHAN, A. W. K.; CHU, F. C. S.; TSANG, C. S. P.; CHAN, T. M. Subgingival microbiota of renal transplant recipients. **Oral Microbiol Immunol**, Copenhagen, v. 18, n. 1, p 37-44, Feb. 2003
58. LIMA, R. B.; BENINI, V.; SENS, Y. A. Gingival overgrowth in renal transplant recipients: a study concerning prevalence, severity, periodontal, and predisposing factors. **Transplant Proc**, New York, v. 40, n. 5, p. 1425-1428, Jun 2008.
59. LINDEN, G. J.; HAWORTH, S. E.; MAXWELL, A. P.; POULTON, K. V.; DYER, P. A.; MIDDLETON, D.; IRWIN, C. R.; MARLEY, J. J.; MCNAMEE, P.; SHORT, C. D.; HULL, P. S.; JAMES, J. A. The influence of transforming growth factor- $\beta$ 1 gene polymorphisms on the severity of gingival overgrowth associated with concomitant use of cyclosporin A and a calcium channel blocker. **J Periodontol**, v. 72, n. 6, p. 808-814, Jun. 2001.

60. MAHALATI, K. BELITSKY, P.; SKETRIS, I.; WEST, K.; PANEK, R. Neoral monitoring by simplified sparse sampling area under the concentration-time curve: its relationship to acute rejection and cyclosporine nephrotoxicity early after kidney transplantation. **Transplantation**, Baltimore, v. 68, n. 1, p. 55-62, Jul. 1999.
61. MARAMATTOM, B. V.; WIJDICKS, E. F. Sirolimus may not cause neurotoxicity in kidney and liver transplant recipients. **Neurology**, Mineapolis, v. 63; n.10, p. 1958-1959, Nov. 2004.
62. MARIANI, G.; CALASTRINI, C.; CARINCI, F.; MARZOLA, R.; CALURA, G. Ultrastructural features of CsA-induced gingival hyperplasia. **J Periodontol**, v. 64, n. 11, p. 1092-1097, Nov. 1993.
63. MAYER, A. D.; DMITREWSKI, J.; SQUIFFLET, J. P.; BESSE, T.; GRABENSSE, B.; KLEIN, B. Multicenter randomized trial comparing tacrolimus (FK506) and cyclosporine in the prevention of renal allograft rejection: a report of the European Tacrolimus Multicenter renal Study Group. **Transplantation**, Baltimore, v. 64, n. 3, p. 436-443, Mar. 1997.
64. McGAW, T.; LAM, S.; COATES, J. Cyclosporin-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, Sep. 1987.
65. MAGEE CC, PASCUAL M. Update in renal transplantation. **Arch Intern Med**, Chicago, v. 164, n. 13, p.1373-1388, July 2004.

66. McKAIG, S. J.; KELL, D.; SHAW, L. Investigation of the effect of fk506 (tacrolimus) and cyclosporin on gingival overgrowth following paediatric liver transplantation. **Int J Paediatr Den**, Oxford, v. 12, n. 5, p.398-403, May 2002.
67. MEIER-KRIESCHE, H. U.; SCHOLD, J. D.; SRINIVAS, T. R.; HOWARD, R. J.; FUJITA, S.; KAPLAN, B. Sirolimus in combination with tacrolimus is associated with worse renal allograft survival compared to mycophenolate mofetil combined with tacrolimus. **Am J Transplant**, Copenhagen, v. 5, n. 9, p. 2273-2280, Sep. 2005.
68. MEISEL, P.; GIEBEL, J.; KUNERT-KEIL, C.; DAZERT, P.; KROEMER, H. K.; KOCHER, T. MDR1 gene polymorphisms and risk of gingival hyperplasia induced by calcium antagonists. **Clin Pharmacol Ther**, St. Louis, v. 79, n. 1, p. 62-71, Jan. 2006.
69. MERKEL, S.; MOGILEVSKAJA, N.; MENGEL, M.; HALLER, H.; SCHWARZ, A. Side effects of sirolimus. **Transplant Proc**, New York, v. 38, n. 3, p.714-715, Apr. 2006.
70. MORALES, J. M. Cardiovascular risk profile in patients treated with sirolimus after renal transplantation. **Kidney Int Suppl**, New York, v. 3, n. 1, p. 69-73, Jan. 2005.
71. MOREIRA, P. R.; LIMA, P. M.; SATHLER, K. O.; IMANISHI, S. A.; COSTA, J. E.; GOMES, R. S.; GOLLOB, K. J.; DUTRA, W. O. Interlukin-6 expression and gene polymorphism are associated with severity of

- periodontal disease in a sample of Brazilian individuals. **Clin Exp Immunol**, Oxford, v. 148, n. 1, p. 119-126, Abr. 2007.
72. MORTON, R. S.; DONGARI-BAGTZOGLOU, A. I. Regulation of gingival fibroblast interleukin-6 secretion by cyclosporine A. **J Periodontol**, Chicago, v. 70, n. 12, 70:1464-1471, Dez. 1999.
73. NIKOLOPOULOS, G. K.; DIMOU, N. L.; HAMODRAKAS, S. J.; BAGOS, P. G. Cytokine gene polymorphisms in periodontal disease: a meta-analysis of 53 studies including 4178 cases and 4590 controls. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 35, n. 9, p. 754-767, Set. 2008.
74. OETTING-BARAK, O.; BARAK, S.; MACHTEI, E. E.; ARDEKIAN, L.; BARUCH, Y.; PELED, M. Periodontal changes in liver cirrhosis and post-transplantation patients. I: clinical findings. **J Periodontol**, Chicago, v. 72, n. 9, p. 1236-1240, Sep. 2001.
75. OGINO, M.; KIDO, J.; BANDO, M.; HAYASHI, N.; WADA, C.; NAGATA, T.; NISHIMURA, F.; SOGA, Y.; TAKASHIBA, S.; KUBOTA, T.; TAGAKI, M.; SHIMADA, Y.; TAI, H.; YOSHIE, H.; YAMAZAKI, N.; SHINOHARA, Y.; KATAOKA, M.  $\alpha 2$  Integrin +807 polymorphism in drug-induced gingival overgrowth. **J Dent Res**, Chicago, v. 84, n. 12, p. 1183-1186, Dez. 2006.
76. PARADA, B.; MOTA, A.; NUNES, P.; MACARIO, F.; PRATAS, J.; BASTOS, C.; FIGUEIREDO, A. Calcineurin inhibitor-free immunosuppression in ranla transplantation. **Transplan Proc**, New York,

- v. 37, n. 6, p. 2759-2761, Jul-Aug. 2005.
77. PERNU, H. E.; PERNU, L. M. H.; KNUUTILA, M. L. E.; HUTTUNEN, K. R. H. Gingival overgrowth among renal transplant recipients and uraemic patients. **Nephrol Dial Transplant**, Oxford, v. 8, n. 11, p. 1254-1258, Nov. 1993.
78. PIRSCH, J.; BEKERSKY, I.; VICENTI, F.; BOSWELL, G.; WOODLE, E. S.; ALAK, A.; KRUELLE, M.; FASS, N.; FACKLAM, D.; MEKKI, Q. Coadministration of tacrolimus and mycophenolate mofetil in stable kidney transplant patients, pharmacokinetics and tolerability. **J Clin Pharmacol**, Stamford, v. 40, n. 5, p. 527-32, May 2000.
79. RADWAN-OCZKO, M.; BORATYŃSKA, M.; ZIETEK, M.; ZOŁEDZIEWSKA, M.; JONKISZ, A. The relationship of transforming growth factor-beta1 gene polymorphism, its plasma level, and gingival overgrowth in renal transplant recipients receiving different immunosuppressive regimens. **J Periodontol**, Chicago, v. 77, n. 5, p. 865-73, Mai 2006.
80. RATEITSCHAK-PLUSS, E. M.; HEFTI, A.; LORTSCHER, R.; THIEL, G. Initial observation that ciclosporin-A induces gingival enlargement in man. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 10, n. 3, p. 237-246, May 1983.
81. ROMITO, G. A.; LOTUFO, R. F. M.; SARAIVA, L.; PUSTIGLIONI, A. N.; PUSTIGLIONI, F. E.; STOLF, N. A. G. Superinfecting microorganisms in



patients under treatment with cyclosporin-A and its correlation to gingival overgrowth. **Pesq Odontol Bras**, São Paulo, v. 17, n. 1, p. 35-40, Jan 2003.

82. ROMITO, G. A.; PUSTIGLIONI, F. E.; SARAIVA, L.; PUSTIGLIONI, A. N.; LOTUFO, R. F.; STOLF, N. A. Relationship of subgingival and salivary microbiota to gingival overgrowth in heart transplant patients following cyclosporine A therapy. **J Periodontol**, Chicago, v. 75, n. 7, p. 918-924, Jul. 2004.
83. RUHL, S.; HAMBERGER, S.; BETZ, R.; SUKKAR, T.; SCHMALZ, G.; SEYMOUR, R. A.; HILLER, K. A.; THOMASON, J. M. Salivary proteins and cytokines in drug-induced gingival overgrowth. **J Dent Res**, Chicago, v. 83, n. 4, p. 322-326, Abr. 2004.
84. SARAIVA, L. **Avaliação clínica e microbiológico e parâmetros periodontais de pacientes submetidos a terapia imunossupressora. Estudo longitudinal.** 2002. 106f. Tese (Doutorado em Odontologia – Periodontia), Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
85. SARAIVA, L.; LOTUFO, R. F. M.; PUSTIGLIONE, A. N.; SILVA Jr, H. T.; IMBRONITO, A. V. Evaluation of subgingival bacterial plaque changes and effects on periodontal tissues in patients with renal transplants under immunosuppressive therapy. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Rad Endod**, St. Louis, v. 101, n. 4, p. 457-462, April 2006.

86. SAXER, U. P. & MUHLEMANN, H. R. . Motivation and education. **SSO Schweiz Monatsschr Zahnheilkd**, Bern, v. 85, n. 4, p. 905-919, Apr. 1975.
87. SEKIGUCHI, R. T. **Avaliação clinica do crescimento gengival induzido por ciclosporina-A e tacrolimus em indivíduos transplantados renias: um estudo prospectivo.** 2006. 74f. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Periodontia), Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, São Paulo.
88. SELZNER, N.; DURAND, F.; BERNUAU, J.; HENEGHAN, M. A.; TUTTLE-NEWHALL, J. E.; BELGHITI, J.; CLAVIEN, P. A. Conversion from cyclosporine to FK506 in adult liver transplant recipients: a combined North American and European experience. **Transplantation**, Baltimore, v. 72, n. 6, p. 1061-1065, Sep. 2001.
89. SEYMOUR, R. A.; ELLIS, J. S.; THOMASON, J. M. Risk factors for drug-induced gingival overgrowth. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 27, n. 4, p. 217-223, Apr. 2000.
90. SEYMOUR, R. A.; HEASMAN, P. A. Drugs and the periodontium. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 15, n. 1, p. 1-16, Jan. 1988.
91. SEYMOUR, R. A.; JACOBS, D. J. Cyclosporin and the gingival tissues. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 19, n. 1, p. 1-11, Jan 1992.
92. SEYMOUR, R. A.; SMITH, D. G. The effect of a plaque control programme on the incidence and severity of cyclosporin-induced gingival

- changes. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 18, n. 2, p. 107-110, Feb. 1991.
93. SEYMOUR, R. A.; SMITH, D. G.; TURNBULL, D. N. The effects of phenytoin and sodium valproate on the periodontal health of adult epileptic patients. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 12, n. 5, p. 610-613, May 1985.
94. SEYMOUR, R. A.; THOMASON, J. M.; ELLIS, J. S. The pathogenesis of drug-induced gingival overgrowth. **J Clin Periodontol**, Copenhagen, v. 23, n. 3, p. 165-175, Mar. 1996.
95. SHAPIRO, R.; JORDAN, M., SCANTLEBURY, V.; VIVAS, C.; FUNG, J.; MCCAULEY, J. A prospective, randomized trial of FK-506 in renal transplantation – a comparison between double- and triple-drug therapy. **Clin Transplant**, Copenhagen, v. 8, n. 6, p. 508-515, Jun. 1994.
96. SHIELD, C. F.; McGRAFTH, M. M.; GOSS, T. F. Assessment of health-related quality of life in kidney transplant patients receiving tacrolimus (FK506)-based versus cyclosporine-based immunosuppression. FK 506 Kidney Transplant Group. **Transplantation**, Baltimore, v. 64, n. 12, p. 1738-1743, Dez. 1997.
97. SILNESS, J.; LEO, H. Periodontal disease in pregnancy. II. Correlation between oral hygiene and periodontal condition. **Act Odontol Scand**, Stockholm, v. 22, n. 7, p. 121-135, Sep. 1964.
98. SOMACARRERA, M. L.; HERNANDEZ, G.; ACERO, J.; MOSKOW, B. S.

- 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, Jul. 1994.
99. SPENCER, C. M.; GOA, K. L.; GILLIS, J. C. Tacrolimus: an update of its pharmacology and clinical efficacy in the management of organ transplantation. **Drugs**, Auckland, v. 54, n. 6, p. 925-975, Jun. 1997.
100. SPOLIDORIO, L. C.; SPOLIDORIO, D. M. P.; MASSUCATO, E. M. S.; NEPPELENBROEK, K. H.; CAMPANHA, N. H.; SANCHES, M. H. Oral health in renal transplant recipients administered cyclosporine A or tacrolimus. **Oral Dis**, Copenhagen, v. 12, n. 3, p. 309-314, May 2006.
101. STARZL, T. E.; FUNG, J.; JORDAN, M.; SHAPIRO, R.; TZAKIS, A.; McCAULEY, J. Kidney transplantation under FK 506. **J Am Med Assoc**, Chicago, v. 264, n. 1, p. 63-67, Jan 1990.
102. TAYLOR, J. J.; PRESHAW, P. M.; DONALDSON, P. T. Cytokine gene polymorphism and immunoregulation in periodontal disease. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 35, n. 1, p. 158-182, Jun. 2004.
103. 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.
104. THOMASON, J. M.; SEYMOUR, R. A.; ELLIS, J. S. Risk factors for gingival overgrowth in patients medicated with cyclosporin in the absence of calcium channel blockers. **J Clin Periodontol**, Chicago, v. 32, n. 3, p.

273-279, Mar. 2005.

105. THOMASSON, J. M.; SEYMOUR, R. A.; RICE, N. Prevalence and severity of cyclosporine and nifedipine-induced gingival overgrowth. **J Clin Peirodontol**, Chicago, v. 20, n. 1, p. 37-40, Jan. 1993.
106. THORP, M.; DeMATTOS, A.; BENNET, W.; BARRY, J.; NORMAN, D. The effect of conversion from cyclosporine to tacrolimus on gingival hyperplasia, hirsutism and cholesterol. **Transplantation**, Baltimore, v. 69, n. 6, p. 1218-1220, June 2000.
107. TRACKMAN, P. C.; KANTARCI, A. Connective tissue metabolism and gingival overgrowth. **Crit Rev Oral Biol Med**, Florida, v. 15, n. 3, p. 165-175, Jun. 2004.
108. TREVILATTO, P. C.; SCAREL-CAMINAGA, R. M.; DE BRITO, R. B. J. R.; DE SOUZA, A. P.; LINE, S. R. Polymorphism at position-174 of IL-6 gene is associated with susceptibility to chronic periodontitis in a Caucasian Brazilian population. **J Clin Periodontol**, Chicago, v. 30, n. 5, p. 438-442, Maio 2003.
109. YOSHIE, H.; KOBAYASHI, T.; TAI, H.; GALICIA, J. C. The role of genetic polymorphisms in periodontitis. **Periodontol 2000**, Copenhagen, v. 43, n. 1, p. 102-132, Fev. 2007.
110. WILLIAMSON, M. S.; MILLER, E. K.; PLEMONS, J.; REES, T.; IACOPINO, A. M. Cyclosporine A upregulates interleukin-6 gene expression in human gingival: Possible mechanism for gingival

- overgrowth. **J Periodontol**, Chicago, v. 65, n. 10, p. 595-903, Out. 1994.
111. WILSON, R. F.; MOREL, A.; SMITH, D.; KOFFMAN, C. G.; OGG, C. S.; RIGDEN, S. P. A.; ASHLEY, F. P. 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, Jun. 1998.
112. WRIGHT, H. J.; CHAPPLE, I. L. C.; BLAIR, F.; MATTEWS, J. B. Crevicular fluid levels of TGB $\beta$ 1 in drug-induced gingival overgrowth. **Arch Oral Biol**, Oxford, v. 49, n. 5, p. 421-425, Maio 2004.

## ANEXOS

### ANEXO 01

Lages EJP, Costa FO, Cota LOM, Costa JE. Histological and morphological alterations of periodontium in tacrolimus and cyclosporine-treated rats. *J Int Acad Periodontol* 2007;9:112-117.

### ANEXO 02

Costa FO, Ferreira SD, Cota LOM, Costa JE, Aguiar MA. Prevalence, severity, and risk variables associated with gingival overgrowth in renal transplant subjects treated under tacrolimus or cyclosporine regimens. *J Periodontol* 2006;77:969-975.

### ANEXO 03

Costa FO, Ferreira SD, Lages EJP, Costa JE, Oliveira AMSD, Cota LOM. Demographic, pharmacologic, and periodontal variables for gingival overgrowth in subjects medicated with cyclosporin in the absence of calcium channel blockers. *J Periodontol* 2007;78:254-261.

### ANEXO 04

Cezário ES, Cota LOM, Ferreira SD *et al.* Gingival overgrowth in renal transplant subjects medicated with tacrolimus in the absence of calcium channel blockers. *Transplantation* 2008;85:232-236.

### ANEXO 05

Parecer no. ETIC 514/05 – Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Minas Gerais COEP/UFMG.

### ANEXO 06

Parecer no. 141/05 – Comitê de Ética em Pesquisa do Hospital Felício Rocho CEP/HFR.

## ANEXO 07

Aprovação do Hospital das Clínicas da Universidade Federal de Minas Gerais

## ANEXO 08

Consentimento livre e informado.

## ANEXO 9

Exames periodontais.

## ANEXO 10

Ficha clínica.

## ANEXO 11

Cota LOM, Oliveira APL, Costa JE, Cortelli SC, Costa FO. Gingival status of Brazilian renal transplant recipients under sirolimus-based regimens. J Periodontol 2008;79:2060-2068.



