



## Bem-vindo Revista Periodontia Janeiro/Junho-2000

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

#### Sinopse

Pedro José DUARTE\*

Antônio Wilson SALLUM\*\*

#### Abstract

Fábio de Freitas DUARTE\*\*\*

Enilson Antônio SALLUM\*\*\*\*

---

#### SINOPSE

Neste estudo foi avaliado, através da análise de radiografias, o efeito da ciclosporina, que é um imunossupressor seletivo para linfócitos T, na evolução da doença periodontal induzida em ratos. Foram utilizados 31 ratos Wistar machos divididos em 2 grupos: GRUPO I recebeu sacarose e irritante; GRUPO II, sacarose, irritante e ciclosporina. Ao final dos períodos experimentais os animais foram sacrificados, e as suas mandíbulas radiografadas. As interpretações das imagens radiográficas foram realizadas através de computador com o software AutoCAD. Os resultados obtidos mostraram uma redução na perda óssea no GRUPO II, quando comparado ao outro grupo, embora não tenha sido estatisticamente significante.

#### UNITERMOS

Ciclosporina, perda óssea, doença periodontal.

## INTRODUÇÃO

A patogênese da doença periodontal não é totalmente conhecida, mas um dos principais fatores no processo de degradação das estruturas periodontais de suporte é a participação do sistema imunológico, como mediador da resposta imunológica <sup>19</sup>.

A perda do osso alveolar é uma característica fundamental na doença periodontal destrutiva sendo mais provável que o osso seja perdido em consequência da atividade osteoclástica, mas pode resultar também de atividade osteogênica reduzida ou prejudicada <sup>16</sup>.

Têm sido identificadas 3 tipos de substâncias como indutoras da reabsorção óssea, ***in vitro***: material microbiano da placa dental, substâncias extraídas da gengiva e fatores gerados pela ativação do sistema imunológico <sup>19</sup>.

Uma das substâncias mais importantes na função do osteoclasto são as prostaglandinas, PGE1 e PGE2. As prostaglandinas têm capacidade de mediar a resposta inflamatória aguda, modular a resposta imunológica, suprir a atividade mitótica, alterar a capacidade de síntese de diversas células, supressão da síntese e renovação de colágeno e indução da reabsorção óssea <sup>19</sup>.

A ciclosporina, um fármaco relativamente novo, foi inicialmente utilizado como agente antifúngico, sendo posteriormente demonstradas suas características imu-nossupressivas. Estudos da ação da ciclosporina no tecido gengival ***in vitro*** e ***in vivo*** demonstraram uma redução na síntese de PGE2. Demonstraram também que essa diminuição na síntese é dose dependente <sup>13</sup>.

MIYAUCHI et al. <sup>12</sup> (1992) sugeriram que a reabsorção óssea causada por PGE2 é dependente da ativação e aumento de osteoclastos e é produzida endogenamente pelas células do hospedeiro estimuladas pela endotoxina bacteriana associada à placa dental, podendo ser um fator patogênico importante na doença periodontal.

Experimentos em ratos imunocomprometidos indicam que a imunossupressão generalizada ou seletiva pode agravar a doença periodontal <sup>9</sup>.

O objetivo da presente pesquisa foi avaliar, radiograficamente, o efeito da ação da ciclosporina na evolução da doença periodontal induzida em ratos.

## REVISÃO DA LITERATURA

A resposta do hospedeiro tem um papel importantíssimo na patogênese de muitos tipos de doença periodontal, por contribuir para o processo da doença ou por modular os efeitos das bactérias. Vários componentes do sistema imune são ativados nas doenças periodontais. Os neutrófilos, linfócitos, plasmócitos e macrófagos variam em número dependendo da condição de saúde ou doença dos tecidos. Os anticorpos locais, sistêmicos e o complemento para as bactérias orais também são de significância. Estas variáveis do hospedeiro podem influenciar a colonização e invasão bacteriana, destruição tecidual, cicatrização e fibrose <sup>14</sup>.

As respostas imunes podem tanto ser benéficas (protetoras) como injuriosas (destrutivas) <sup>14</sup>. A maior parte das substâncias produzidas e liberadas pelos microorganismos da placa é antigênica, desencadeando reações imunológicas mediadas tanto por células como por anticorpos <sup>19</sup>.

Linfócitos encontrados na periodontite são normalmente células B; as células T constituem menos de 6% da população de linfócitos <sup>14</sup>. A doença periodontal progressiva parece, portanto, estar associada a lesões dominadas por células B e onde o acúmulo de células plasmáticas e linfócitos nos tecidos periodontais sugere que as linfocinas, produzidas pelos linfócitos T "sensibilizados", participam na patologia da doença

periodontal <sup>15</sup>.

Pacientes que recebem tratamento com ciclosporina visando sucesso no transplante de órgãos apresentam o sistema imunológico deficiente, estando potencialmente propensos a adquirirem infecções oportunistas no período pós-transplante <sup>20</sup>.

Desde a descoberta de sua propriedade imunossupressiva, vários estudos têm mostrado que a droga tem uma ação seletiva nos linfócitos T, com pequena ou nenhuma ação nos linfócitos <sup>2,7</sup>.

A ciclosporina inibe vários estágios relacionados à resposta das células T, atuando tanto no nível celular quanto molecular, sendo esses efeitos dose dependente, agindo assim como um poderoso inibidor das reações inflamatórias imunomediadas e crônicas, mas não tem nenhum efeito nas inflamações agudas <sup>1</sup>.

Uma das substâncias mais importantes na função do osteoclasto são as prostaglandinas, PGE1 e PGE2. As prostaglandinas têm capacidade de mediar a resposta inflamatória aguda, modular a resposta imunológica, suprir a atividade mitótica, alterar a capacidade de síntese de diversas células, supressão da síntese e renovação de colágeno e indução da reabsorção óssea <sup>19</sup>.

Estudos da ação da ciclosporina no tecido gengival *in vitro* e *in vivo* demonstraram uma redução na síntese de PGE2; demonstraram, também, que essa diminuição na síntese é dose dependente <sup>13</sup>.

Também a interleucina 1 (IL1), produzida e liberada localmente na doença periodontal, em concentrações suficientes, pode também mediar a inflamação tecidual e a reabsorção óssea agindo de duas maneiras principais: uma seria a inibição de síntese de prostaglandina E2 (PGE2), outra como potente indutor de perda de cálcio <sup>11</sup>.

Se a destruição vista na periodontite é causada principalmente pela hiper-reação imunológica contra a bactéria periodontal, nós devemos esperar que a destruição seja menos pronunciada em animais com uma resposta imunológica reduzida<sup>9</sup>.

Experimentos em ratos imunocomprometidos indicam que a imunossupressão generalizada ou seletiva pode agravar a doença periodontal. Em particular, o estado imunológico do hospedeiro, no momento da introdução dos patógenos periodontais, parece ser importante no desenvolvimento da periodontite <sup>9</sup>.

Ciclosporina A é um potente inibidor da síntese de interleucina 2 (IL2) pelo linfócito T helper, inibindo significativamente a perda óssea periodontal em ratos LBNF 1 induzida por ligadura. COX et al. <sup>4</sup> (1987) estudando o papel da síntese de interleucina 2 (IL 2) no desenvolvimento e progressão da perda óssea periodontal em ratos LBNF1 com ligadura, concluíram que a administração de interleucina 2 (IL2) reverte a inibição da perda óssea produzida pela ciclosporina A. A função das células T, isto é IL2, parece ser necessária para a perda óssea.

Estudos demonstraram que ligaduras colocadas em torno dos segundos molares superiores de ratos induzem significante reabsorção óssea. Ciclosporina A (10mg/kg de peso), administrada diariamente durante o período em que a ligadura ficou colocada em ratos LBNF 1, inibiu o desenvolvimento de perda óssea (93% de inibição) <sup>3</sup>.

## MATERIAIS E MÉTODOS

Para a presente pesquisa foram utilizados 31 ratos machos (*Rattus Norvegicus*, *Albinus*, *Wistar*, SPF), com peso inicialmente variando de 200 a 240 g e com aproximadamente 2 meses de idade, originários do Centro de Bioterismo-Unicamp. Durante os experimentos, os animais foram tratados com ração "Labina" (Purina) e água "ad libitum". À água foi adicionada sacarose na proporção de 20% <sup>17</sup>, para aumentar o acúmulo de placa supra-gengival, durante os 15 dias iniciais do

experimento.

Após verificação das boas condições gengivais, os animais foram divididos aleatoriamente em 2 (dois) grupos: GRUPO I recebeu sacarose e irritante; GRUPO II, sacarose, irritante e ciclosporina. Após este procedimento, foi colocado um fio de algodão de cor preta ao nível do sulco gengival do 1º molar inferior do lado esquerdo, para atuar como irritante gengival e favorecendo o acúmulo de placa bacteriana, servindo o molar contra lateral como controle <sup>18</sup>.

A dose de ciclosporina administrada foi de 10 mg/kg de peso corporal dia, injetado subcutaneamente em uma única vez e, após os períodos experimentais, os animais foram sacrificados e as hemi-mandíbulas radiografadas utilizando o método do paralelismo com o posicionador para películas tipo HAN SHIM.

As radiografias obtidas foram escaneadas.

As interpretações radiográficas das imagens foram realizadas através de um computador por intermédio dos SOFTWARES, AutoCAD Release e CAD OVERLAY, processo durante o qual a área inter-radicular foi medida. Uma linha que iniciava no ponto A (porção mais apical da raiz mesial), percorria toda face distal da raiz mesial, contornava a bifurcação, indo de encontro ao ponto B (porção mais apical da raiz distal), percorrendo a face mesial da raiz distal e fechando o polígono, retornava ao ponto A foi traçada. O osso remanescente foi demarcado por uma outra linha, unindo os pontos C e D (porção mais coronária da crista óssea remanescente), radiograficamente mais radiopaca, (pontos A, C, D e B).

Para a determinação da perda óssea, foi subtraído do valor encontrado para perda óssea total o encontrado no osso remanescente. Estas mensurações foram realizadas 3 (três) vezes para cada interpretação radiográfica, expressas em mm<sup>2</sup> e em percentagem e obtidas uma média.

## RESULTADOS

Na tabela 1 estão representadas as médias e erros padrão das médias em mm<sup>2</sup>, da perda óssea nos grupos I e II e os dias decorridos após o início do experimento. Na tabela 2 está representada a análise de variância dos dados apresentados na tabela 1.

No gráfico 1, estão representadas as médias, para percentual de perda, segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.

Dias decorridos	G I (irr + SAC)	G II (IRR + SAC + Droga)
10	1,145 ± 0,038	1,236 ± 0,147
20	1,319 ± 0,100	1,376 ± 0,148
30	1,494 ± 0,191	1,360 ± 0,165

**TABELA I:** Médias e erro padrão das médias, em mm<sup>2</sup>, para a perda óssea segundo os grupos e os dias decorridos após início do experimento.

Causas de Variação	G L	SQ	QM	F
Tratamento	6	0,3839	0,064	0,47 ns
Resíduo	25	3,9564	0,1364	
Total	31	4,3403		

**TABELA II:** Análise de variância dos dados apresentados na tabela I.

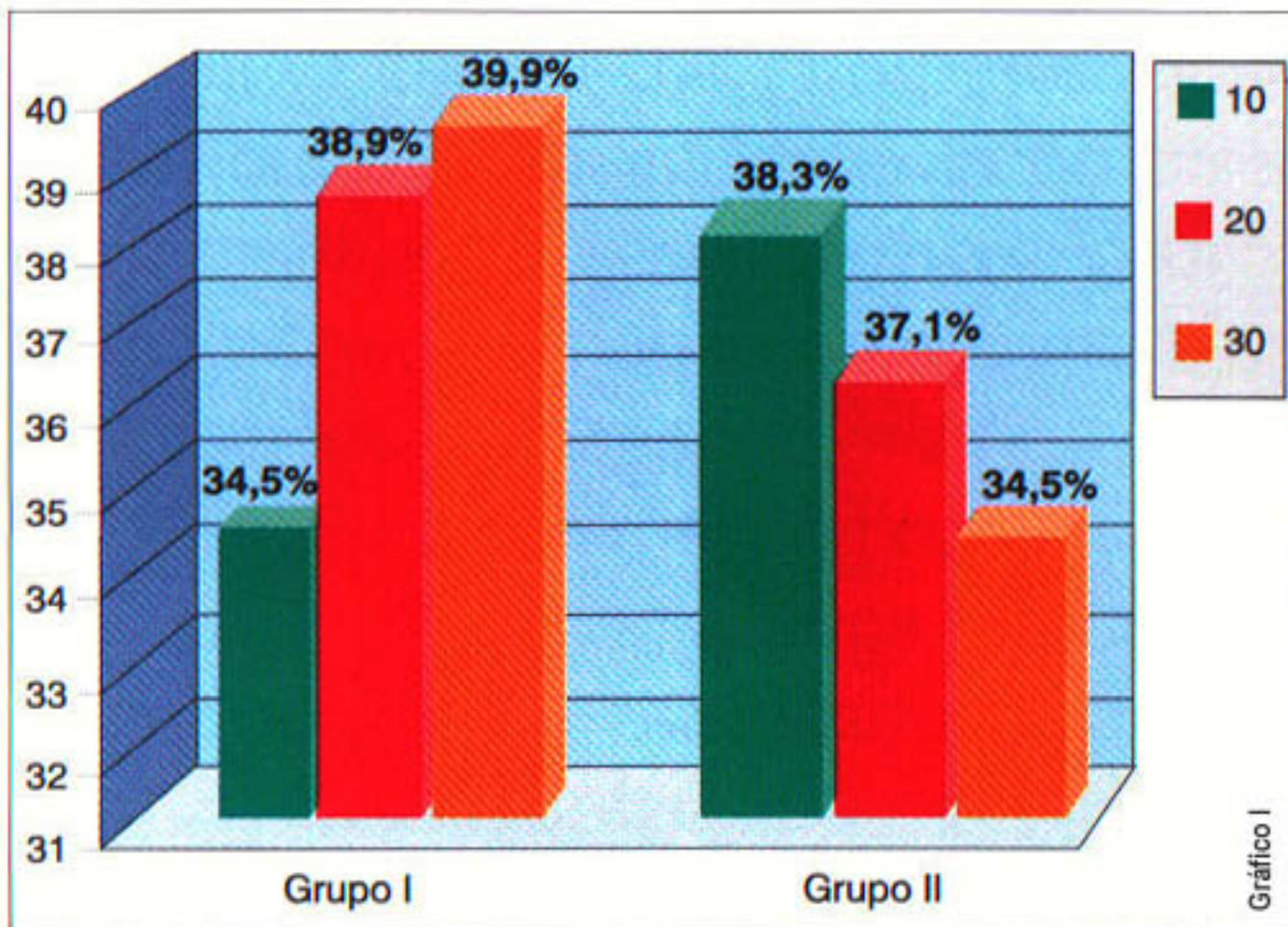


Gráfico I: Médias, para percentual de perda, segundo os grupos e os dias decorridos após o início do experimento.

## DISCUSSÃO

Microorganismos presentes na placa bacteriana, em contato com o sulco gengival e no interior da bolsa, ou substâncias derivadas deles constituem o agente etiológico extrínseco primário e possivelmente o único participante na doença periodontal inflamatória periodontal <sup>19</sup>.

A periodontite é caracterizada pela destruição do osso alveolar, que parece ser fundamentalmente consequência da atividade osteoclástica <sup>16</sup>. Uma das substâncias mais importantes na função do osteoclasto é a

prostaglandina (PGE1 e PGE2), que tem a capacidade de mediar a resposta inflamatória aguda, modular a resposta imunológica e indução da reabsorção óssea <sup>19</sup>.

Estudos da ação da ciclosporina no tecido gengival *in vitro* e *in vivo* demonstraram uma redução na síntese de PGE2 <sup>13</sup>.

LISTGARTEN et al. <sup>10</sup> (1978) concluíram que o processo destrutivo em resposta às bactérias gram-negativas pode ocorrer na ausência de resposta imune mediada por células e suporta a proposição de IRVING et al. <sup>8</sup> (1975), de que um mecanismo mediado por endotoxina é o provável componente na reabsorção óssea. Na presente pesquisa, o processo imunológico mostrou participar de alguma forma no grau de reabsorção óssea.

Neste trabalho foi adicionada sacarose na dieta dos animais, nos primeiros 15 dias, nos grupos I e II, para aumentar o acúmulo de placa supragengival <sup>17</sup>, similar ao realizado por GUGGENHEIM et al. <sup>6</sup> (1981), o qual investigando-se a imunossupressão com ciclosporina A tinha um efeito no estabelecimento e progresso da doença periodontal em ratos monoassociados com *actinomyces viscosus*, concluíram, através de investigações hematológicas e histológicas, que a doença periodontal parece ser de etiologia multifatorial. De acordo com os nossos resultados isto parece ser uma verdade.

Sendo que a ciclosporina é um potente inibidor da síntese de interleucina 2 (IL2) pelo linfócito T helper, COX e WILLIAMS<sup>4</sup> (1987) estudando perda óssea periodontal em ratos LBNF1, induzida por ligadura, concluiu que houve uma significativa perda óssea concordando com os nossos achados.

FISCHER & KLINGE <sup>5</sup> (1994), estudando furões, clínica e histologicamente usando ciclosporina A, na mesma concentração de nosso trabalho, e num período experimental próximo (28 dias), encontraram clinicamente um aumento significativo nas médias dos valores de profundidade de sondagem de bolsa, sondagem do nível de inserção e histologicamente uma significativa perda de inserção e reabsorção óssea.

Quanto à reabsorção óssea, motivo do nosso trabalho, não houve concordância nos achados, porém estes foram realizados em animais diferentes e através de estudos histológicos, enquanto os nossos, através de radiografias.

O fato da participação da ação da ciclosporina na redução da perda óssea

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

## CONCLUSÕES

1 - Nas áreas de bifurcações, as diferenças das perdas ósseas não mostraram diferenças estatísticas nos grupos estudados.

2 - Os animais do grupo 2 mostraram uma menor perda óssea quando comparado com o grupo 1, não detectada por testes estatísticos.

3 - Embora a análise estatística não tenha detectado esta redução da perda óssea, não podemos descartar a possibilidade da ciclosporina participar, de alguma forma, nos mecanismos de desenvolvimento da doença periodontal.

## ABSTRACT

The effect of the cyclosporine, which is a selective immunosuppressor for lymphocytes T, on the evolution of the induced-periodontal disease in rats; was assessed in this study, through analysis of radiography. Thirty-one Wistar male rats divided in two groups: GROUP I received sucrose and irritating; GROUP II received sucrose, irritating and cyclosporine. In the end of the experiment periods, the animals were sacrificed and their jaws radiographed. The radiographic images were interpreted in the computer with software AutoCAD. The results obtained showed a reduction of bone loss in GROUP II, when compared to the other group. Although it was not statistical significant.

## KEY WORDS

Cyclosporine, bone loss, periodontal disease.

## REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- 1 - BOREL, J.F., et al. Pharmacology of cyclosporine (sandimmune). *Pharmac. Rev.*, Baltimore, v.41, n.3, p.239, 1979.
- 2 - BRITTON, S., PALACIOS, R. Cyclosporin A usefulness risks and mechanisms of action. *Immunol. Rev.*, Copenhagen, v.65, p.5-22, 1982.
- 3 - COX, D.S., WILLIAMS-MILLER, C. Ligature bone loss and cyclosporin A in the homozygous and heterozygous nude rats. *J. dent. Res.*, Washington, v.65, p.331, 1986 [Abstract, 1458].
- 4 - COX, D.S., WILLIAMS-MILLER, C. Role of interleukin 2 in periodontal bone loss in the ligated rat. *J. Periodont.*, Chicago, v.58, p.130, 1987.
- 5 - FISCHER, R.G., KLINGE, B. Clinical and histological evaluation of ligature-induced periodontal breakdown in domestic Ferrets immunosuppressed by cyclosporin A. *J. clin. Periodont.*, Copenhagen, v.21, n.4, p.240-249, Apr., 1994.
- 6 - GUGGENHEIM, B., et al. The effect of cyclosporin A on periodontal disease in rats monoassociated with *actinomyces viscosus* ny1. *J. periodont.*, Copenhagen, v.16, n.1, p.26-38, Jan., 1981.
- 7 - HESS, A.D., COLOMBANI, P.M. Mechanism of action of cyclosporin: hypothesis. *Adv. exp. Med. Biol.*, New York, v.213, p.309-330, 1987.
- 8 - IRVING, J.T., et al. Histological changes in experimental periodontal disease in rats monoinfected with a gram-negative organism. *Archs oral biol.*, Oxford, v.20, p.219-220, 1975.

- 9 - KLAUSEN, B. Microbiological and immunological aspects of experimental periodontal disease in rats. A review article. J. periodont., Chicago, v.62, p.59-73, 1991.
- 10 - LISTGARTEN, M.A. et al. Histopathology of periodontal disease in gnotobiotic rats moniinfected with eikenella corrodens. J. periodont., Copenhagen, v.13, n.2, p.134-148, Mar., 1978.
- 11 - MASADA, M.P. et al. Measurement of interleukin 1a and 1b in gingival crevicular fluid: implications for the pathogenesis of periodontal disease. J. periodont., Copenhagen, v.25, p.156-163, 1990.
- 12 - MIYAUCHI, M. et al. Effect of exogenously applied prostaglandin E2 on alveolar bone loss-histometric analysis. J. periodont., Chicago, v.63, n.5, p.405-411, May, 1992.
- 13 - NELL, A. et al. evidence that cycloporine inhibits periodontal prostaglandin E2 synthesis. J. periodont., Copenhagen, v.31, p.131-134, 1996.
- 14 - NEWMAN, M.G., SANS, M., NISENGARD, R. Interações hospedeiro-bactérias das doenças periodontais. In: GLICKMAN, I, CARRANZA JR, F. A. Periodontia clínica. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1992, cap.25, p. 280-290.
- 15 - NISENGARD, R.J. NEWMAN, M.G., SANZ, M. A resposta do hospedeiro: conceitos básicos. In: GLICKMAN PERIODONTIA BÁSICA. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 1992. cap. 1, p. 1-4, cap. 23, p. 250-257.
- 16 - RAMFJORD, S.P., ASH JR., M.M. Periodontologia e periodontia: teoria e prática moderna. São Paulo: Editora Santos, 1991, cap. 6, 7, 9 - p. 31-46, 47-59, 75-104.
- 17 - REBELLO, M.A.B. Estudo in situ da composição bioquímica da placa dental em função da frequência diária do uso de sacarose. Tese (mestrado) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1994.
- 18 - SALLUM, A.W. Estudo da participação do trauma de oclusão na evolução da doença periodontal. Tese (Livre docência) - Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, 1982.
- 19 - SCHLUGER, S., YUODELIS, R.A., PAGE, E.C. Periodontia fenômenos

básicos, tratamento e inter-relações oclusais e restauradora. Rio de Janeiro: Interamericana, 1981. p.79-99, 107-135, 189-226.

20 - TUTSCHKA, P.J. et al. Use of cyclosporin A in allogenic bone marrow transplantation in the rat. Nature, London, v.280, July, 1979.

---

**\* Mestre em odontologia pela Universidade de Campinas - FOP/UNICAMP;  
Professo adjunto responsável de Periodontia - PUC- Campinas**

**\*\* Professor Titular de periodontia - FOP/UNICAMP**

**\*\*\* Aluno da Pós-graduação em Periodontia, USP-São Paulo, Profesor Graduado de Periodontia - PUC - Campinas**

**\*\*\*\* professor Doutor de Periodontia - FOP/UNICAMP**

