



UNIVERSIDADE FEDERAL DO CEARÁ
FACULDADE DE MEDICINA
DEPARTAMENTO DE PATOLOGIA E MEDICINA LEGAL

**ESTUDO DO POTENCIAL ANTIINFLAMATÓRIO DA CLOREXIDINA
NA GENGIVITE ASSOCIADA AO AUMENTO GENGIVAL HUMANO,
MEDIANTE AVALIAÇÕES HISTOLÓGICAS E
IMUNOHISTOQUÍMICAS**

MARIA GISÉLIA PINHEIRO FEITOSA

FORTALEZA - CE

2006

MARIA GISÉLIA PINHEIRO FEITOSA

**ESTUDO DO POTENCIAL ANTIINFLAMATÓRIO DA CLOREXIDINA
NA GENGIVITE ASSOCIADA AO AUMENTO GENGIVAL HUMANA,
MEDIANTE AVALIAÇÕES HISTOLÓGICAS E
IMUNOHISTOQUÍMICAS**

Dissertação submetida à Coordenação do Curso de Pós-graduação em Patologia e Medicina Legal da Universidade Federal do Ceará, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre em Patologia.

Orientador : Prof. Dr. Talapala Govindaswamy Naidu.

Co-orientadora: Prof^a. Dra. Maria Mônica Studart Mendes Moreira

FORTALEZA - CE

2006

*Especialmente, à minha família, Nelson e Yves,
pelo imenso incentivo, carinho e
companheirismo.*

AGRADECIMENTOS

- *Ao meu orientador, Professor Dr. Talapala Govindaswamy Naidu e à minha co-orientadora Professora Dra. Maria Mônica Studart Mendes Moreira, pelos exemplos de dedicação à pesquisas, motivos de suas orientações seguras e comprometidas;*
- *A todos os professores da pós-graduação do Mestrado em Patologia que contribuíram em minha formação científica nesse curso;*
- *A todos os funcionários e prestadores de serviços que, direto ou indiretamente, contribuem para o sucesso das pesquisas no Departamento de Patologia e Medicina Lega;*
- *Aos técnicos de laboratório Francisco e Margarete, que contribuíram grandiosamente na elaboração deste estudo;*
- *A professora Margarida, pela sua prestação espontânea na leitura das lâminas;*
- *A professora Mônica Helena Neves, UNIFOR, pela sua participação na concretização desse trabalho;*
- *A todas as pessoas que contribuíram, direta ou indiretamente, para a realização dessa pesquisa;*
- *Ao órgão CNPQ, pelo auxílio financeiro, que proporcionou na concretização deste trabalho;*
- *A Universidade Federal do Ceará, pela oportunidade oferecida aos alunos de Mestrado.*

LISTA DE ABREVIATURAS

α : Alfa

β : Beta

γ : Gama

AA: Ácido Aracdônico

ADA: American Dental Association

AMF/SnF₂: Fluoreto de Amino/Fluoreto Estanhoso

AMPC: Adenosina 3,5-Monofosfato Cíclico

B: Célula Linfócito B

°C: Grau Celsius

CD: Determinante de Grupo

CMV: Citomegalo Vírus

Con A: Conavalina A

COX: Ciclooxygenase

CPC: Cloreto de Cetilpirdínio

CSV: Composto Sulfúrico Volátil

DAB: Diaminobenzidina

ELAM: Molécula de Adesão do Leucócito ao Endotélio

Fc: Receptor da Porção

FCG: Fluido Crevicular Gengival

FGH: Fibroblasto de Gengiva Humana

GM-CSF: Fator Estimulante da Colonização de Macrófago

H: Hora

HIV: Vírus da Imunodeficiência Adquirida

HHV: Vírus da Herpes Humana
HSV: Vírus da Herpes Simples
ICAM: Molécula de Adesão Intercelular
Ig: Imunoglobulina
IL: Interleucina
INF: Interferon
ISP: Índice de Sangramento da Papila
LPS: Lipopolisacarídeo
MHC: Complexo de Histocompatibilidade
ml: Mililitro
MMP: Metaloproteinase da Matriz
MØ: Macrófago
NaF: Fluoreto de Sódio
NIC: Nível Clínico de Inserção
NK: Linfócito Nulo
OMS: Organização Mundial de Saúde
PAP: Peroxidase/antiperoxidase
PG: Prostaglandina
PMN: Leucócito Polimorfonuclear
PS: Profundidade à Sondagem
PVP: Polivinil Pirrolidona
s: Segundo
SAD: Sistema de Antidescoloração
SLS: Lauril Sulfato de Sódio
T: Célula Linfócito T
TBS: Tampão Tris-Fosfato

TGF: Fator de Crescimento Tumoral

TH: Célula T-Helper

TNF: Fator de Necrose Tumoral

ZnL: Lactato de Zinco

LISTA DE FIGURAS

Figura 1:	Remoção cirúrgica do aumento gengival em pacientes sem aparelho ortodôntico.....	54
Figura 2:	Remoção cirúrgica do aumento gengival em pacientes com aparelho ortodôntico.....	55
Figura 3:	Aspectos clínicos do aumento gengival em pacientes, antes e após o tratamento com a clorexidina.....	60
Figura 4:	Lâmina histológica do crescimento gengival com processo inflamatório intenso. (coloração Hematoxilina – Eosina, objetiva x 40).....	61
Figura 5:	Corte histológico do crescimento gengival antes do tratamento com a clorexidina a 0,12% (coloração Hematoxilina – Eosina, objetiva x 10).....	62
Figura 6:	Lâmina histológica do crescimento gengival após o uso da clorexidina. (coloração Hematoxilina – Eosina, objetiva x 10). Processo inflamatório reduzido.....	62
Figura 7:	Frequência absoluta do quadro inflamatório gengival de pacientes com aumento gengival (n = 14), antes e após uso da clorexidina. Eixo x = n.....	64
Figura 8:	Porcentagem de alteração do grau de inflamação gengival em pacientes com aumento gengival, após uso da clorexidina.....	65
Figura 9:	Frequência absoluta e relativa do quadro inflamatório gengival de pacientes com aumento gengival, após uso da clorexidina. Colunas em azul = porcentagem, colunas em vermelho = pacientes.....	66
Figura 10:	Visualização imunohistoquímica dos Linfócitos T (CD43 ⁺) em gengivas de pacientes com aumento gengival e processo inflamatório (método PAP, objetiva x100).....	67
Figura 11:	Visualização imunohistoquímica dos Macrófagos (CD68 ⁺) em gengivas de pacientes com aumento gengival e processo inflamatório, antes do tratamento com a clorexidina (método PAP, objetiva x100).....	67

Figura 12:	Visualização imunohistoquímica dos Linfócitos B (CD ₂₀₊) em gengivas de pacientes com aumento gengival e processo inflamatório (método PAP, objetiva x100).....	68
Figura 13:	Visualização imunohistoquímica de macrófagos (CD ₆₈₊) na gengiva de pacientes com crescimento gengival, com processo inflamatório, após o uso de clorexidina (método PAP, objetiva x100).....	69

LISTA DE QUADROS

Quadro 1:	Resultados das avaliações histológicas dos pacientes com aumento gengival, após tratamento com clorexidina.	63
Quadro 2:	Valores das células mononucleares nas gengivas, pelo método de imunohistoquímica (PAP), de pacientes portadores de aumento gengival.....	70

RESUMO

O aumento gengival é uma condição bucal cuja origem é atribuída à interação de múltiplos fatores, dentre eles susceptibilidade genética, influência de hormônios na puberdade e na gravidez, uso de medicamentos como às fenitoína, ciclosporina, diltiazem e anfetamina, ação das citocinas pró-inflamatórias como o TNF- α , e até causas neoplásicas. Embora o acúmulo excessivo da placa dentária e a inflamação crônica gengival, também, estejam relacionados como prováveis fatores predisponentes ao aumento gengival, é controverso se a inflamação pré-existente estimula o crescimento gengival por dificultar a higienização dentária, ocasiona o acúmulo da placa bacteriana e conseqüente processo inflamatório, predispondo o indivíduo à destrutiva doença do periodonto. Desta forma, o presente estudo teve o objetivo de avaliar se a gengivite está presente em todos os pacientes com aumento gengival, e se a evolução do processo inflamatório responde satisfatoriamente ao tratamento com a clorexidina. Quatorze pacientes portadores de crescimento gengival, que se submeteram voluntariamente ao tratamento cirúrgico, aceitaram em participar do estudo. As primeiras biópsias gengivais foram obtidas dos pacientes, antes da realização da gengivectomia, para estudo do processo inflamatório gengival pelos exames histológico (H&E) e para a avaliação da composição das células mononucleares da inflamação, pelo método imunohistoquímico de Peroxidase-Anti-Peroxidase (PAP), utilizando anticorpos monoclonais para os marcadores celulares CD43 (linfócitos T), CD20 (células B) e CD68 (macrófagos). Em seguida os pacientes foram instruídos a realizar bochechos com clorexidina a 0,12% (sem álcool), 30 min após a escovação durante 30 segundos, por dez dias, pela manhã e noite. Subseqüentemente, biópsias gengivais foram obtidas do tecido gengival removido durante o tratamento cirúrgico, para novas avaliações histológica e imunohistoquímicas. Os resultados obtidos foram os seguintes: i) todos os pacientes com aumento gengival apresentaram o processo inflamatório gengival em evolução, num grau histológico de intensidade variando de 1 a 3; ii) o processo inflamatório revelou a presença de células T ($5,7\pm 2,07$ por 6 campos microscópicos), células B ($9,0\pm 4,64$) e macrófagos ($62,6\pm 16,44$); e iii) o tratamento com a clorexidina resultou numa redução histológica da inflamação em 59% dos pacientes, mas não alterou o quadro em quatro pacientes (29%), enquanto que dois pacientes (14%) apresentaram um aumento do processo inflamatório. Após tratamento com a clorexidina, evidenciou-se uma redução de ordem 40% dos macrófagos no tecido gengival ($40,5\pm 9,15$; $p=0.05$), com uma moderada alteração dos valores das células T ($8,25\pm 1,71$) e B ($12,75\pm 6,99$), revelando uma diminuída participação dos macrófagos no processo inflamatório, e a possível ativação das defesas pelos linfócitos. Essas observações sugerem que ao aumento gengival parece estar associada com a gengivite, e o tratamento com a clorexidina, em forma de bochechos diários, pode ser eficaz na redução do processo inflamatório, na maioria dos pacientes.

ABSTRACT

STUDY ON THE ANTIINFLAMMATORY POTENTIAL OF CHLORHEXIDINE IN GINGIVITIS ASSOCIATED WITH HUMAN GINGIVAL HYPERPLASIA, BY HISTOLOGY AND IMMUNOHISTOCHEMISTRY EVALUATIONS.

Maria Gisélia Pinheiro Feitosa. Dept. of Pathology & Legal Medicine, Faculty of Medicine, Federal University of Ceará, Brazil.

Gingival hyperplasia is an oral condition whose origin is attributed to the interaction of multiple factors: among them, genetic susceptibility; hormonal influences during puberty and pregnancy; therapy with drugs as varied as phenontoin, cyclosporine, diltiazem and anphetamines; action of proinflammatory cytokines, as TNF- α ; and even neoplastic causes. Although excessive accumulation of dental plaque and chronic gingivitis have been included among predisposing factors for gingival hyperplasia, it is not yet known if preexisting gingivitis stimulates the gingival growth, or the hypertrophy promotes, due to the difficulties in dental hygiene, the accumulation of bacterial plaque and the consequent gingivitis, predisposing the individual to destructive periodontal disease. This study had the objective of evaluating if gingivitis is present in all gingival hyperplasia patients, and if the inflammation process responds satisfactorily to chlorhexidine treatment. Fourteen patients who were to undergo voluntary surgical treatment for gingival hyperplasia consented to participate in the study. The initial gingival biopsies were obtained from the patients before they underwent gingivectomy, to evaluate the inflammatory process by histology (H&E), and immunohistochemistry by Peroxidase-Anti-Peroxidase (PAP) method, utilizing monoclonal antibodies to cell markers CD43 (T cells), CD20 (B cells) and CD68 (macrophages). The patients were subsequently induced to perform mouthrinses 30 minutes after dental hygiene, with 0.12% chlorhexidine for 30s during 10 days. Biopsies were then obtained from the gingival tissue removed by gingivectomy, for fresh histology and PAP evaluations. The results were as follows: i) all the patients with hyperplasia had gingival inflammation in evolution, of histological grades 1 to 3; ii) the inflammatory process revealed presence of T cells (5.7 ± 2.07 per 6 microscopic fields), B cells (9.0 ± 4.64), and macrophages (62.6 ± 16.44); iii) chlorhexidine treatment resulted histological reduction of inflammation, with a 40% decrease in macrophages (40.5 ± 9.15 ; $p=0.05$), and a moderate rise in T (8.25 ± 1.71) and B (12.75 ± 6.99) cells in the gingival tissue, revealing a decreased participation of macrophages, and possibly an increased engagement of lymphocytes in defenses. These observations suggest that there is a definite association between gingival hyperplasia and gingivitis, and that mouthrinses of chlorhexidine can be effective in diminishing the severity of gingival inflammation, in a majority (59%) of individuals.

SUMÁRIO

LISTA DE ABREVIATURAS.....	vi
LISTA DE FIGURAS.....	ix
LISTA DE TABELAS.....	x
RESUMO.....	xi
ABSTRACT.....	xii
1. INTRODUÇÃO.....	16
2. REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Características Clínicas e Histológicas da Gengiva Normal.....	19
2.2 Processos Inflamatórios: Gengivite e Periodontite.....	20
2.2.1 O início da inflamação gengival.....	21
2.2.2 Gengivite subclínica.....	22
2.2.3 Gengivite clínica.....	22
2.3 Respostas Imunes Específicas na Inflamação.....	25
2.3.1 Respostas imunes mediadas por linfócitos T.....	26
2.3.2 Resposta imune mediada pelo Linfócito B.....	27
2.3.3. Processos inflamatórios estabelecidos.....	28
2.3.4. A lesão gengival/periodontal avançada.....	28
2.4 Moléculas Mediadoras dos Processos Inflamatórios.....	29
2.4.1 Citocinas.....	29
2.5 Lesão Tecidual na Inflamação.....	32
2.5.1 Proteinases e inibidores.....	32
2.5.2 Metaloproteinases da matriz.....	33
2.6 Fatores Inflamatórios no Diagnóstico.....	33
2.7 Aumento Gengival.....	34
2.8 Controle Terapêutico dos Processos Inflamatórios.....	36
2.8.1 Digluconato de clorexina.....	36

2.8.2	Uso clínico de clorexina: A utilização da solução de digluconato de clorexidina está sendo difundida em várias situações clínicas na odontologia.....	40
2.8.3	Efeitos colaterais da clorexidina: Vários efeitos colaterais foram descritos em pacientes com o uso oral da clorexidina, dentre eles destacam-se os seguintes.....	45
2.8.4	Outros colutórios.....	46
2.9	Justificativa e Objetivo.....	47
3.	MATERIAIS E MÉTODOS.....	49
3.1	Aparelhos e Instrumentos Laboratoriais.....	49
3.2	Reagentes.....	50
3.3	Delineamento do estudo.....	51
3.4	Seleção de Pacientes.....	51
3.4.1	Critérios para inclusão no estudo.....	51
3.4.2	Critérios para exclusão do estudo.....	52
3.4.3	Critérios para retirada de pacientes do estudo.....	52
3.5	Procedimentos Clínicos.....	53
3.5.1	Diagnóstico de gengivite hiperplásica.....	53
3.5.2	Tratamento periodontal convencional.....	53
3.5.3	Procedimento cirúrgico.....	53
3.6	Protocolo Clínico.....	55
3.6.1.	Administração da clorexidina.....	55
3.7	Exames Histológicos e Imunohistoquímicos em Gengivas.....	56
3.7.1	Avaliações histológicas em gengivas.....	56
3.7.2	Avaliações imunohistoquímicas em gengivas.....	56
3.8	Análises Estatísticas.....	58
3.9.	Aspectos Éticos.....	58
3.9.1	Considerações éticas e reguladoras.....	58
3.9.2	Consentimento pós-informação.....	58
4.	RESULTADOS.....	60
4.1	Pacientes com Aumento Gengival.....	60
4.2	Efeito da Solução de Clorexidina 0,12% no Tecido Gengival sob Avaliação	

Histológica.....	60
4.2.1 Sítios controles – sem utilização da solução de clorexidina 0,12%.....	60
4.2.2 Sítios após o uso da solução de clorexidina 0,12%.....	61
4.3 Imunohistoquímica para Detecção de Células Mononucleares.....	66
5. DISCUSSÃO.....	71
6. CONCLUSÕES.....	77
7. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	78
8. ANEXOS.....	93

1 INTRODUÇÃO

As reações inflamatórias e imunológicas frente à placa bacteriana representam as características predominantes da gengivite e da periodontite. A reação inflamatória é visível - microscópica e clinicamente - no periodonto infectado e representa a reação do hospedeiro à invasão tecidual da microbiota da placa e seus produtos (SCANNAPIECO, 2004).

Os processos inflamatórios e imunológicos se instalam nos tecidos gengivais para protegê-los contra a presença do microrganismo e seus produtos (o ataque microbiano), e agem para impedir a invasão e a disseminação dos mesmos nos tecidos. Em alguns casos, essas reações de defesa do hospedeiro podem ser prejudiciais, por serem, também, passíveis de danificar as células e estruturas vizinhas do tecido conjuntivo. Ademais, as reações inflamatórias e imunológicas cuja extensão alcança os níveis mais profundos do tecido conjuntivo, além da base do sulco, poderão envolver o osso alveolar nesse processo destrutivo. Assim, tais processos “defensivos” podem, paradoxalmente, responder pela maior parte da lesão tecidual observada na gengivite e na periodontite (MADIANOS *et al.*, 2005).

Embora as reações inflamatórias e imunológicas, no periodonto, possam parecer semelhantes às observadas em outras partes do corpo, há diferenças significantes. Isso ocorre, em parte, devido às características anatômicas e funcionais específicas do periodonto, ou seja, a permeabilidade característica do epitélio juncional resulta em um processo notavelmente dinâmico envolvendo células e fluidos, preservando todo o tempo, a integridade epitelial através da interface tecido duro - tecido mole. Por outro lado, os processos inflamatórios e imunológicos nos tecidos periodontais não representam respostas a uma espécie microbiana, simplesmente, mas a um grande número de microrganismos e seus produtos, agindo durante um período de tempo relativamente longo. As bolsas periodontais podem conter mais de 400 espécies diferentes de microrganismos, apresentando cada um, potenciais diferentes para a patogênese. Esses microrganismos variam de acordo com o meio e o estágio da colonização. A doença periodontal tem sido referida, algumas vezes, como uma “infecção bacteriana mista” para assinalar que mais de uma espécie microbiana contribui para o desenvolvimento da doença (MAYRAND, 1985). As espécies microbianas interagem e, embora algumas possam não ser patógenos suspeitos, ainda influenciam o processo da doença, participando através de fatores específicos que influem no crescimento dos microorganismos ou na atuação

das defesas do organismo, o que pode contribuir para o aumento do potencial de virulência dos próprios microrganismos ou de outros coabitantes do periodonto (YASUI, 2001).

A microbiota, nas bolsas periodontais, encontra-se em um estado de fluxo contínuo. Espécies, que são relevantes em uma fase da doença, podem não ser importantes para uma outra. Desta forma, a destruição periodontal pode ser o resultado da combinação de fatores bacterianos que variam com o tempo. Esta situação contrasta com a maioria das demais doenças infecciosas clássicas, tais como as tuberculoses, sífilis e gonorréia, nas quais o hospedeiro enfrenta apenas um microrganismo em vez de vários, e o diagnóstico de uma fase ativa da doença se relaciona à presença ou à ausência do patógeno, sendo a relação hospedeiro-parasita, portanto, muito mais simples. Os eventos moleculares que desencadeiam e mantêm as reações inflamatórias e imune na doença periodontal podem sofrer alterações constantemente, e isso pode ser devido ao envolvimento de múltiplas espécies microbianas, muitas das quais consideradas organismos comensais (KINANE *et al.*, 2001).

É provável que os atributos de virulência dos microrganismos, também, estejam relacionados a um estado inflamatório ou imune próprio do hospedeiro, tanto quanto à ação direta das próprias bactérias. A destruição periodontal poderia ser causada pelas ações diretas de enzimas virulentas produzidas pelas bactérias que induzem à inflamação, pelas respostas imunológicas que liberam citocinas lesivas aos tecidos, ou pelo lipopolissacarídeo (LPS), componente da membrana externa dos microrganismos Gram-negativos, que superativa as células mononucleares do sistema imune ou desencadeia a ativação das proteínas do sistema do complemento (MADIANOS *et al.*, 2005).

Os conceitos atuais em relação à etiologia e à patogênese da doença periodontal são derivados, principalmente, dos resultados de estudos epidemiológicos, análises de material de autópsia e biópsia, e ensaios clínicos e experimentos com animais (KINANE *et al.*, 2001). A microbiota inicial no processo periodontal está relacionado a *Porphyromonas gingivalis* e *Tannerella forsythia* (*Tannerella forsythensis*) (TANNER *et al.*, 2006).

Indivíduos que mantêm um alto padrão de higiene oral e não controlam a placa, geralmente, podem desenvolver gengivite ou periodontite. Entretanto, estudos clínicos experimentais de curta duração demonstraram que os microrganismos começam rapidamente a colonizar as superfícies dentárias limpas. Todavia, se a pessoa se abster de limpeza mecânica dos dentes, dentro de poucos dias, os sinais microscópicos e clínicos de gengivite estarão aparentes. Estas alterações inflamatórias são solucionadas ou revertidas quando se

retomam as medidas adequadas de higienização dentária (LOE, 1965). Assim, os microrganismos que permanecem na placa bacteriana contêm ou liberam componentes que provocam a inflamação gengival. Em concordância com esta hipótese se encontra o achado de que aplicações tópicas de extratos solúveis da placa produzem alterações inflamatórias nos tecidos gengivais (CALIFANO *et al.*, 2006).

Os resultados das pesquisas revelam fortes indícios de que a doença periodontal é consequência de alterações associadas à placa bacteriana, que têm início como uma inflamação visível na gengiva. Caso não seja tratada em tempo hábil, em alguns indivíduos suscetíveis a inflamação pode propagar-se envolvendo áreas mais profundas do periodonto. Não se compreende porque algumas lesões permanecem localizadas na porção marginal dos tecidos gengivais, enquanto outras progridem envolvendo perda do tecido conjuntivo de inserção e osso alveolar de suporte. É muito provável que algum desequilíbrio na relação hospedeiro-microrganismo ocorra nas lesões destrutivas, o qual se pode restringir àquela área, nos indivíduos com elevada suscetibilidade à doença periodontal, tornando o quadro bastante agressivo, com destruição do periodonto de sustentação e possível perda dental, caso a doença progrida sem tratamento adequado (NUNN, 2003).

Os componentes inflamatórios da placa induzem a gengivite e a periodontite crônica. Alguns dos pacientes podem necessitar de medidas terapêuticas adicionais, dentre elas destaca-se a utilização de substâncias que visam reduzir a inflamação gengival, diminuir a quantidade de placa bacteriana, e reduzir a profundidade à sondagem. O digluconato de clorexina (clorexidina) representa uma substância que apresenta todas essas qualidades e uma substantividade prolongada (American Academy of Periodontology – Research, Science, and Therapy Committee; American Academy of Pediatric Dentistry, 2006).

Desta forma pode-se utilizar colutórios como auxiliares no controle da placa bacteriana, visando uma diminuição dos processos inflamatórios existentes nos tecidos com crescimento gengival.

2 REVISÃO DA LITERATURA

2.1 Características Clínicas e Histológicas da Gengiva Normal

A gengiva caracteriza-se, clinicamente, por sua coloração rósea, consistência firme e contorno parabólico da margem gengival. As papilas interdentais são firmes, não sangram à sondagem delicada e ocupam todo o espaço disponível abaixo das áreas de contato dos dentes. A gengiva exibe, freqüentemente, uma aparência pontilhada e há uma margem em ponta de faca. Embora as gengivas normais encontrem-se, teoricamente, livres de inflamação histológica, esta condição “ideal” somente pode ser conseguida experimentalmente, em humanos, após o controle diário da placa, meticulosamente supervisionado durante várias semanas (OHNO e KUSAMA, 2001).

A gengiva normal, a qual se encontra livre de acúmulo “significante” de células inflamatórias, pode ser mais bem descrita como “gengiva primitiva”. Portanto, encontra-se dois tipos de gengivas saudias: uma que evidencia condição bastante saudável ou estágio “primitivo”, apresentando histologicamente pouco ou nenhum infiltrado inflamatório, e a “gengiva clinicamente sadia”, que parece semelhante do ponto de vista clínico, porém podendo exibir um discreto infiltrado inflamatório como característica histológica, sendo esta “gengiva sadia” que encontra-se nos exames clínicos das situações diárias. A superfície oral da “gengiva primitiva” é revestida por um epitélio queratinizado, que se funde com o epitélio juncional, sendo firmemente aderida à superfície dentária por meio de hemidesmossomos. Até mesmo no estado primitivo, podem ser observados certos leucócitos, por exemplo, neutrófilos e macrófagos, no epitélio juncional. Abaixo dos epitélios oral e juncional se situa o tecido conjuntivo, que contém fibras colágenas proeminentes, as quais mantêm a forma sadia dos tecidos e ajudam na união, relativamente fraca, dos hemidesmossomos do epitélio juncional ao dente. Imediatamente abaixo do epitélio juncional, há um plexo microvascular que alimenta o epitélio com vários nutrientes, células de defesa e moléculas. Um infiltrado inflamatório discreto pode ser observado junto aos vasos. Uma análise morfométrica da gengiva primitiva revela que cerca de 40% do seu volume é ocupado por estruturas epiteliais (epitélio oral 30%, epitélio juncional 10%) e o restante, 60%, por

componentes do tecido conjuntivo, principalmente, fibras colágenas, matriz e células, incluindo vasos e nervos (DENTINO *et al.*, 2005).

A gengiva clinicamente sadia parece enfrentar a infecção microbiana, impedindo que ela progrida para uma condição de doença, por meio de seus vários fatores defensivos, dos quais incluem :

- a. a barreira epitelial intacta;
- b. a descamação regular das células epiteliais para a cavidade oral;
- c. o fluxo positivo do fluido do sulco gengival, que pode remover os microrganismos e seus produtos;
- d. a função fagocitária dos neutrófilos e macrófagos;
- e. o efeito destrutivo do complemento sobre os microrganismos;
- f. a atuação dos anticorpos; (KINANE e LAPPIN, 2002)

Segundo Kinane e Lindhe, 1997, a unidade gengival normal não exhibe, normalmente, células inflamatórias e é composta, aproximadamente, de 40-45% de epitélio e de 55-60% de tecido conjuntivo. A zona de tecido conjuntivo não-infiltrado consiste em colágeno (60%), fibroblastos (13%), vasos (7%) e outros componentes teciduais, tais como a matriz intercelular e os terminais de nervos (20%).

2.2 Processos Inflamatórios: Gengivite e Periodontite

A gengivite se associa, por via de regra, ao acúmulo suficiente de placa dentária, e é conseqüência da reação dos elementos do sistema imune à presença dos microrganismos e seus produtos no tecido gengival. As lesões causadas pela gengivite são acompanhadas de uma perda mais pronunciada de colágeno, embora em áreas discretas, causando alterações teciduais. Um dos microrganismos relacionados a doença periodontal é o *A. actinomycetemcomitans*. Esse microrganismo possui uma leucotoxina que pode destruir eritrócitos, alterando o número de células vermelhas do sangue (BALASHOVA *et al.*, 2006).

A continuação do processo inflamatório gengival proporciona condições para a ativação das respostas imunes adaptativas pelos linfócitos e macrófagos, o que geralmente

resulta na perpetuação do processo inflamatório, acarretando lesões imunodestrutivas nos tecidos. Desta forma, a cronificação do processo inflamatório gengival resulta na evolução da gengivite para a doença periodontal, em indivíduos susceptíveis que apresentarem a coexistência de um ou mais fatores de risco. Todavia o nível da resposta, particularmente na área local, será, consideravelmente, menor do que a intensa destruição tecidual e a perda óssea observada nas lesões periodontais. A gengivite pode persistir em algumas áreas por muitos anos, sem que haja perda de inserção periodontal considerável, destruição do ligamento periodontal ou evidência de perda óssea (TROMBELLI *et al.*, 2006).

2.2.1 O início da inflamação gengival

A inflamação se desenvolve rapidamente à medida em que a placa é depositada sobre o dente. Em 24 horas, alterações acentuadas são evidentes no plexo microvascular, sob o epitélio juncional, quando maior quantidade de sangue chega à área. A dilatação das arteríolas, capilares e vênulas do plexo dento-gengival é evidente sob o aspecto histológico. Há um aumento da pressão hidrostática na microcirculação, com a formação de espaços intercelulares entre células adjacentes dos capilares endoteliais. Isto provoca um aumento na permeabilidade da rede microvascular, de modo que os fluidos e proteínas escoem para os tecidos (TATAKIS e KUMAR, 2005). Após a instalação do acúmulo de placa, neutrófilos e leucócitos mononucleares se deslocam rapidamente para esta área. Inicia-se a formação de um tecido conjuntivo infiltrado, que aumenta de volume durante o período de aproximadamente 28 dias, ficando infiltrado por linfócitos, plasmócitos e macrófagos, que aderem à matriz de colágeno e permanecem, enquanto os neutrófilos continuam a se deslocar para o sulco gengival. Com o influxo extensivo de leucócitos, há uma redução progressiva na quantidade de colágeno e fibroblastos e um aumento no volume do tecido residual (matriz intercelular, colágeno decomposto, exsudato, células degeneradas e mortas) e dos vasos sanguíneos pequenos (TATAKIS e KUMAR, 2005).

2.2.2 Gengivite subclínica

No estágio subclínico da doença, a inflamação é clinicamente inaparente, porém é possível detectar nos exames histológicos uma moderada depleção do colágeno na área infiltrada, juntamente com um aumento das estruturas vasculares. A região do sulco gengival recebe exsudato e transudato, além de proteínas plasmáticas, que deixam os vasos e se disseminam através dos tecidos para o fluido gengival (EMINGIL *et al.*, 2005). Nesta fase, o infiltrado pode ocupar até 5% do volume do tecido conjuntivo, sendo composto por monócitos, macrófagos, linfócitos e neutrófilos polimorfonucleares (PMNs). Estas células são encontradas tanto no epitélio juncional quanto no tecido conjuntivo das gengivas consideradas clinicamente saudáveis. Os neutrófilos predominam na região sulcular e parecem migrar, continuamente, através do epitélio juncional para o sulco. De acordo com Page e Schroeder, 1976, as gengivas “aparentemente saudáveis” que possuem um infiltrado de células inflamatórias, apresentam, predominantemente, neutrófilos associados ao epitélio juncional e linfócitos no tecido conjuntivo subjacente.

2.2.3 Gengivite clínica

Após 10 a 20 dias de acúmulo de placa, sinais clínicos de gengivite se estabelecem na maioria das pessoas, embora haja grandes variações, com alguns indivíduos sendo intrinsecamente resistentes e outros mais propensos à gengivite clínica (VAN DER WEIJDEN *et al.*, 1994). A gengivite caracteriza-se por vermelhidão e tumefação gengival, com tendência aumentada para sangramento dos tecidos moles à sondagem delicada. Nesta fase, os sinais clínicos poderão ser reversíveis, caso a placa microbiana seja removida e medidas eficazes de controle de placa instituídas (TROMBELLI, 2004).

As alterações clínicas podem parecer sutis nos estágios iniciais da gengivite. Entretanto, as alterações histológicas subjacentes são bastante acentuadas. Alterações na rede vascular ocorrem, com congestionamento dos vasos, rompimento de alguns vasos capilares e exsudação do plasma e de proteínas, causando a tumefação dos tecidos. Com o influxo subsequente dos leucócitos, o processo inflamatório se consolida no tecido conjuntivo subjacente ao epitélio juncional. O infiltrado de células inflamatórias na fase aguda

compreende, principalmente, os neutrófilos polimorfonucleares. À medida que o processo se cronifica, os neutrófilos são gradativamente substituídos pelos linfócitos e macrófagos, dando a inflamação crônica o caráter de um processo imune-mediado. À medida que o processo inflamatório se desenvolve, as composições estrutural e celular dos tecidos sofrem alterações (KINANE e LAPPIN, 2002).

- A lesão gengival precoce

À medida que a lesão aumenta, e o fluxo do fluido do sulco gengival aumenta, ocorre a diluição de substâncias nocivas tanto para o tecido quanto para o sulco. As bactérias e seus produtos podem, então, ser difundidos para o sulco. As proteínas plasmáticas que escapam da microcirculação incluem proteínas defensoras como anticorpos, componentes do sistema do complemento e inibidores da protease, além de outras macromoléculas que possuem numerosas funções. O volume do exsudato é proporcional à gravidade da inflamação gengival presente. Os componentes do fluido do sulco gengival são considerados bons indicadores do processo inflamatório, sendo, atualmente, desenvolvidos como indicadores de diagnóstico da doença periodontal (OHNO e KUSAMA, 2001).

Concomitantemente com estas alterações vasculares, o deslocamento dos leucócitos do sistema vascular dentogengival é reforçado pelas moléculas de adesão, molécula-1 de adesão intercelular (ICAM-1) e molécula-1 de adesão do leucócito ao endotélio (ELAM-1) e outras adesinas. Estas moléculas ajudam os leucócitos a aderirem às vênulas pós-capilares, ensejando as células a deixarem o vaso sanguíneo. Os leucócitos migram sob um gradiente quimiotático até o sulco, sendo, provavelmente, auxiliados no seu movimento pelas moléculas de adesão excepcionalmente presentes nas células do epitélio juncional e pela presença de fatores quimiotáticos do hospedeiro e do microrganismo (MOUGHAL *et al.*, 1992). Os linfócitos podem ficar retidos nos tecidos, quando em contato com antígenos, citocinas ou moléculas de adesão, não sendo assim perdidos através do epitélio juncional em direção à placa e à cavidade oral, como acontece com os neutrófilos. A maioria dos linfócitos possui o marcador celular CD44 (CD – determinante do grupo) nas suas superfícies, o que permite a adesão da célula à estrutura do tecido conjuntivo (NAKAJIMA *et al.*, 2005).

A resposta celular fica bem estabelecida, provavelmente, por volta de dois a quatro dias do início do acúmulo da placa, sendo auxiliada por quimiotoxinas geradas pelo sistema do complemento ativado por substâncias microbianas da placa bacteriana, bem como das quimoquinas liberadas pelas células do hospedeiro. Os leucócitos se movem através do tecido conjuntivo e a maior parte parece ficar acumulada na região do epitélio juncional e do sulco gengival. Os neutrófilos parecem entrar, preferencialmente, no sulco gengival, provavelmente auxiliados pelas células do epitélio juncional que expressam algumas moléculas de adesão, sendo freqüentemente denominados leucócitos do sulco (MADIANOS *et al.*, 2005).

A lesão gengival precoce ocorre, aproximadamente, sete dias após o acúmulo de placa. A variação observada entre os seres humanos pode ser devida às diferenças na capacidade de retenção da placa, de acordo com as áreas e os indivíduos, ou às diferenças entre as características individuais, como, por exemplo, os níveis hormonais. Sob o aspecto histológico, os vasos que se encontram abaixo do epitélio juncional permanecem dilatados, mas a sua quantidade aumenta em função da abertura das redes capilares anteriormente inativas (TATAKIS e KUMAR, 2005).

Os neutrófilos são os leucócitos predominantes no infiltrado nesta fase e uma quantidade muito pequena de plasmócitos é observada no interior da lesão (LISTGARTEN e ELLEGAARD, 1973; PAYNE *et al.*, 1975; SEYMOUR *et al.*, 1983; BRECX *et al.*, 1987). Nesta fase, o infiltrado de células inflamatórias pode representar até 15% do volume do tecido conjuntivo. No interior da lesão, ocorre a degeneração dos fibroblastos. Isto ocorre, provavelmente, através de apoptose e serve para remover os fibroblastos da área, permitindo, assim, uma maior infiltração dos leucócitos (PAGE e SCHROEDER, 1976; TAKAHASHI *et al.*, 1995). Do mesmo modo, ocorre a destruição do colágeno na área infiltrada, sendo isto necessário, para que os tecidos possam ser empurrados, acomodando o infiltrado celular (TAKAHASHI *et al.*, 1995).

As células basais do epitélio juncional e sulcular proliferam, representando uma tentativa do organismo de reforçar a barreira inata contra a placa. Cristas epiteliais podem ser vistas invadindo a porção coronária da lesão (SCHROEDER, 1970; SCHROEDER, 1973).

- A lesão gengival estabelecida

Em geral, há uma intensificação do estado inflamatório à medida que a exposição à placa persiste. Há um aumento na exsudação do fluido e na migração dos leucócitos para os tecidos e sulco gengival. Clinicamente, esta lesão exibirá edema maior do que na “gengivite precoce”, podendo ser considerada “gengivite estabelecida”. As duas formas clínicas mais conhecidas da gengivite estabelecida, a não muito progressiva e a progressiva/destrutiva, envolvem a atuação de células de defesas específicas do sistema imune, nos tecidos periodontais (BYKOV, 2005).

2.3 Respostas Imunes Específicas na Inflamação

Na inflamação aguda participam, tanto nas defesas quanto nas lesões teciduais, os elementos da defesa inata (principalmente neutrófilos, plaquetas, sistema do complemento e componentes oriundo do plasma). Diferentemente deste quadro, as formas crônicas da inflamação das estruturas periodontais são promovidas essencialmente pelos elementos da imunidade específica. Conhecida por respostas imunes adaptativas, esses eventos requerem a participação dos elementos específicos do sistema imune, em particular dos linfócitos T e B, que necessitam de ativação por compostos imunogênicos dos agentes infecciosos. Os produtos da ativação dessas células (as células efetoras, os anticorpos e as citocinas moduladoras de atividades de diversos elementos no organismo) acarretam a destruição do agente infeccioso, promovendo concomitantemente, também, lesões destrutivas nos tecidos, desfecho este que muito caracteriza a periodontite estabelecida. A atividade da elastase e dos neutrófilos são altas em pacientes com doença periodontal, assim como em pacientes com gengivite (TAKAHASHI *et al.*, 1995).

Os fatores microbianos e a disfunção das células imunocompetentes provocam destruição do tecido periodontal. As células mastócitos da gengiva, os fibroblastos e o epitelíocitos participam nas reações imune nos processos inflamatórios periodontais (BYKOV, 2005).

Marshall (2004) ressalta que, na área do contato bacteriano com o hospedeiro na região dento-gengival, o epitélio juncional funciona como um portão seletivo, permitindo a

passagem de antígenos, células e moléculas antimicrobianas, servindo dessa forma como estímulo imunogênico específico para os linfócitos T e B.

2.3.1 Respostas imunes mediadas por linfócitos T

Em geral, a imunidade mediada por células tem início, quando o antígeno da placa subgingival penetra no tecido conjuntivo através do epitélio juncional. As células que apresentam o antígeno, como, por exemplo, as células de Langerhans no epitélio. Elas processam o antígeno, alterando-o para uma forma que é reconhecível pelo sistema imune, isto é, um peptídeo antigênico une-se ao complexo principal de histocompatibilidade classe II (MHC). A célula T-helper (CD4+) reconhece esta associação do antígeno estranho com o próprio MHC, fica estimulada, prolifera e libera citocinas. As citocinas, por sua vez, agem sobre outras células linfóides (macrófagos, células B e outras células T), de modo a causar dano ao tecido, a inflamação e a reabsorção óssea. Os linfócitos encontram-se, agora, sensibilizados e, diante da reexposição aos antígenos da placa, eles respondem com a proliferação e síntese das citocinas. Estas citocinas são sinais que agem sobre outros tipos de células para estimular, inibir ou até destruir. Eles podem, também, produzir citocinas, quando estimulados pelas substâncias mitogênicas liberadas pela microbiota subgingival ou por outras células na reação inflamatória (SUAREZ *et al.*, 2004).

As biópsias de gengivas humanas clinicamente sadias apresentam células inflamadas, com predominância de células T, poucas células B ou plasmócitos. Quatro a sete dias de acúmulo de placa resultam em um influxo de linfócitos para o tecido e, após três semanas de acúmulo, a lesão é dominada, principalmente, por células T. Quando esse período ultrapassa os seis meses, a predominância ainda é de linfócitos e PMN (BREX *et al.*, 1988). Ocasionalmente, observaram-se plasmócitos nas lesões inicial e precoce da gengivite induzida experimentalmente, onde a inflamação gengival ocorre após o acúmulo de placa nos indivíduos que se abstêm de praticar medidas de higiene oral. Parece ser necessário, entretanto, que o tempo de acúmulo de placa seja superior a seis meses antes que os plasmócitos constituam uma proporção significativa do tecido conjuntivo infiltrado (BREX *et al.*, 1988). A gengivite é, usualmente, dominada pelos linfócitos e a periodontite, pelos plasmócitos (OHNO e KUSAMA, 2001). Diversos pesquisadores relataram serem necessárias apenas três a quatro semanas de acúmulo de placa para a formação de uma lesão dominada

por plasmócitos (PAYNE *et al.*, 1975; ZACHRISSON, 1968). Na lesão estabelecida clássica, observa-se um grande número de plasmócitos maduros situados, principalmente, na porção coronária do tecido conjuntivo, bem como ao redor dos vasos. A perda de colágeno continua a ocorrer nas direções lateral e apical, à medida que o infiltrado celular sofre expansão, resultando em espaços destituídos de colágeno que se estendem mais profundamente nos tecidos, os quais se encontram, então, disponíveis para a infiltração dos leucócitos. Neste período, o epitélio dentogengival continua a proliferar e as cristas se prolongam no sentido do tecido conjuntivo, numa tentativa de manter a integridade epitelial e formar uma barreira contra a penetração microbiana. O epitélio da bolsa não está aderido à superfície dentária e encontra-se, densamente, infiltrado de leucócitos, predominantemente neutrófilos que, eventualmente, migram através do epitélio para o sulco gengival ou para a bolsa. Em comparação com o epitélio juncional original, o epitélio da bolsa é mais permeável à passagem das substâncias para dentro e para fora dos tecidos conjuntivos subjacentes, podendo sofrer ulcerações temporárias (PRESHAW *et al.*, 2004).

2.3.2 Resposta imune mediada pelo Linfócito B

Ao considerarmos a resposta imune humoral específica na doença periodontal, ou seja, anticorpos direcionados contra microrganismos orais específicos, há várias questões que devem ser discutidas. A etiologia e a patogênese microbianas devem ser consideradas. Os microrganismos podem provocar uma resposta imune, entretanto não preenchem completamente os outros aspectos dos postulados de Koch adaptados por Socransky. Além disso, os anticorpos para as bactérias não orais e para os antígenos não-bacterianos podem ser detectados. *P. gingivales* e *A. actinomycetemcomitans* requerem atenção especial devido à sua forte associação, atualmente conhecida, com a doença periodontal, como estabelecido pelos critérios previamente mencionados (DIXON *et al.*, 2004). As células do linfócito B através da expressão do CD1d podem ativar as células NK, as quais provocam uma destruição severa dos tecidos periodontais nos processos inflamatórios crônicos (AMANUMA *et al.*, 2006).

2.3.3. Processos inflamatórios estabelecidos

Os processos inflamatórios promovidos pelas respostas imunes adaptativas parecem gerar dois tipos de lesões crônicas. No primeiro, a lesão permanece estável e não progride por meses ou anos (LINDHE e RYLANDER, 1975). No segundo, a lesão se torna mais ativa e se transforma em lesão destrutiva progressiva. Existem controvérsias acerca da natureza desta transformação. Seymour *et al.*, (1983) sugeriram que uma mudança do domínio da célula T para a célula B requer a conversão da estabilidade para a atividade envolvendo destruição agressiva. Entretanto, Page (1976) discordou desta opinião. Um estudo adicional mostrou um infiltrado de células B, principalmente, associado a lesões estáveis e não-progressivas na gengivite infantil (GILLET *et al.*, 1986). Em um estudo mais recente, Preshaw *et al.*, 2004, compararam as densidades dos plasmócitos nas áreas com periodontite ativa progressiva e nas áreas que apresentavam bolsas profundas e gengivite, mas sem perda de inserção significativa, durante o período prévio de dois anos. A densidade dos plasmócitos (51,3%) era muito maior nas áreas ativas, quando comparada com as áreas inativas (30%).

2.3.4. A lesão gengival/periodontal avançada

O estágio final neste processo é conhecido como lesão avançada. À medida que há um aprofundamento da bolsa, provavelmente devido à expansão do epitélio em direção apical como resposta à irritação provocada pela placa e por episódios de destruição microscópica de curta duração, a placa prossegue em seu crescimento no sentido apical, desenvolvendo-se nesse nicho ecológico de anaerobiose. O infiltrado inflamatório propaga-se lateralmente e, mais ainda, em sentido apical no tecido conjuntivo. A lesão avançada possui todas as características de lesão estabelecida, mas com diferenças importantes, representadas por perda do osso alveolar, dano extenso às fibras, migração apical do epitélio juncional, a partir da junção cimento-esmalte, e manifestações disseminadas de danos inflamatórios e imunopatológicos aos tecidos. A lesão não é mais localizada e o infiltrado de células inflamatórias se estendem lateral e apicalmente para o tecido conjuntivo (PIHLSTROM *et al.*, 2005).

2.4 Moléculas Mediadoras dos Processos Inflamatórios

Conhecimentos imunológicos recentes comprovam que todos os eventos celulares dos processos inflamatórios, seja na defesa seja nas doenças, são mediadas por moléculas reguladoras, hoje coletivamente conhecidas por citocinas.

2.4.1 Citocinas

As citocinas são proteínas solúveis, secretadas por diversas fontes (células do sistema imune, células epiteliais e endoteliais, ceratinócitos, fibroblastos, dentre outras) que agem como mensageiras, transmitindo sinais entre células, influenciando nas atividades de todas. Elas realizam numerosas ações, as quais incluem a iniciação e manutenção das respostas imunes e inflamatórias, a regulação do crescimento e diferenciação das células. Estas moléculas são liberadas em pequenas quantidades e exercem ações variadas sobre as células que possuem receptores específicos. As citocinas são numerosas, muitas realizam funções que se sobrepõem e são encadeadas, formando uma rede ativa que controla a resposta do hospedeiro. O controle da liberação e da ação da citocina é complexo e envolve inibidores e receptores. Muitas citocinas são capazes de agir sobre as células que as produzem, autoregulando a sua própria produção e as demais atividades das células (GARLET *et al.*, 2004).

- Citocinas quimiotáticas

São uma série de mais de 20 moléculas identificadas, entre elas, a melhor caracterizada é a interleucina - 8 (IL-8), que possui funções quimiotáticas potentes para os leucócitos, particularmente para os neutrófilos, mas, também, para os linfócitos e macrófagos. Conhecidas por quimocinas ou quimotaxinas, estas moléculas agem para recrutar células de defesa para áreas onde elas são necessárias, e são importantes nas respostas mediadas por células. A IL-8 liberada por células inflamatórias na presença da infecção (pelo *P. gingivalis*, por exemplo), aumenta consideravelmente o processo inflamatório (SAHINGUR *et al.*, 2004).

A resposta dos neutrófilos à IL-8 é caracterizada por migração de células, liberação de enzimas granulares e outras modificações intra e extracelulares. Constituintes do tecido conjuntivo, elas são eficientemente degradadas pelas enzimas neutrofílicas, liberadas após a ativação (KANER *et al.*, 2006).

Segundo Kaner *et al.*, 2006, os altos níveis de leucócitos no processo inflamatório crônico e o conseqüente elevado grau de inflamação, parecem se relacionar à calprotectina produzida pelas próprias células. Essa substancia é encontrada no fluido crevicular gengival da doença periodontal.

- Citocinas pró-inflamatórias

As interleucinas IL-1, IL-6 e o fator de necrose tumoral (TNF) promovem alterações vasculares, possibilitando a acumulação dos leucócitos nos locais de infecção. Na inflamação crônica, também estimulam a reabsorção óssea e inibem a formação óssea *in vitro* e *in vivo*. Elas são detectadas no fluido do sulco gengival de áreas clinicamente inflamadas em humanos. Estudos revelam que a IL-1 pode agir sobre os fibroblastos, promovendo o reparo ou a destruição da matriz celular (HONDA *et al.*, 2006). A IL-6 estimula produção de óxido nítrico, potencializando o processo inflamatório na doença periodontal (HIROSE *et al.*, 2001). Dados sugerem que inflamação associada com gengivite pode ser bloqueada por inibidores de IL-1 e TNF, evitando desta forma os danos nos tecidos periodontais (ASSUMA *et al.*, 1998).

O TNF tem importante papel na inflamação crônica, como mediador da destruição do tecido. Ele é secretado por macrófagos e monócitos ativados por certas citocinas e pelo LPS bacteriano, e induz a secreção da colagenase por fibroblastos, a reabsorção da cartilagem e o osso, contribuindo para a destruição dos tecidos periodontais na doença periodontal. Foi constatado que, em sítios asépticos, a produção de TNF pode ser iniciada por outros agentes que não bacterianos, assim, outros processos podem ser responsáveis pela destruição dos tecidos periodontais em tais circunstâncias (BODET *et al.*, 2006).

A interleucina 1 β (IL-1 β) é produzida por uma grande variedade de células, dentre elas, macrófagos, linfócitos, neutrófilos e fibroblastos, ativados por microrganismos e seus produtos. Estudos têm demonstrado que IL-1 β humana é mais ativa do que a IL-1 α , quando testada sob condições comparáveis. A IL-1 β pode afetar as atividades das células do tecido

conjuntivo, induzindo mediadores inflamatórios e enzimas proteolíticas. Ela pode modular a resposta imune do hospedeiro, estimular a proliferação de linfócitos, induzir a anticorpopogênese (célula B) e influenciar a síntese de interferons (IFN) (YI-JUNE *et al.*, 1999), fato este comprovado pela presença de IFN no fluido gengival nos casos de periodontite crônica (BAKHTADZE *et al.*, 2006). A IL-1 β tem papel na destruição de tecidos, provoca um efeito catabólico no osso, e é o mais potente conhecido indutor da desmineralização óssea. A IL-1 β e a quimocina IL-8 são proteínas estruturalmente homólogas, com a sinalização e o mecanismo de transdução similares. A regulação das IL-1 β e IL-8 está diretamente ligada à resposta da imunidade do hospedeiro, na doença periodontal (DELALEU e BICKEL, 2004).

O INF- γ , da família de IFN, é encontrado no tecido gengival de pacientes com gengivite ou periodontite, abaixo do epitélio da bolsa e em tecido conjuntivo profundo. Essa citocina é produzida, principalmente, por linfócitos nulos (NK) e potencializa defesas celulares contra patógenos intracelulares (KIKUCHI *et al.*, 2005). Ele é um potente ativador de macrófagos (UKAI *et al.*, 2001), célula esta envolvida em todos os processos destrutivos da periodontite crônica. Segundo Suarez *et al.*, 2004, um outro membro da família IFN, o INF-alfa, pode não ser muito relevante na progressão da doença periodontal agressiva.

- Citocinas sinalizadoras de linfócitos:

Os linfócitos T-helper (TH1 e TH2) regulam as respostas imunes celular e humoral, através de suas citocinas. As citocinas de TH1 (IL-2, INF- γ , GM-CSF e IL-3) intensificam, essencialmente, as respostas mediadas pelas células, construindo defesas contra patógenos intracelulares e neoplasias. As citocinas de TH2 (IL-4, IL-5, IL-10 e IL-13) promovem a produção de anticorpos pelos linfócitos B, e regulam respostas imunes, inclusive das alérgicas (anafiláticas). Essas citocinas, também, influem na classe da imunoglobulina produzida, o que pode ter efeitos profundos sobre as defesas e danos teciduais promovidas no organismo. Por exemplo, as moléculas IgM são mais efetivas do que a IgG na bacteriólise por ativação do sistema do complemento, embora ambas promovam a opsonização. Um estudo feito por Yamazaki e Nakajima, em 1995 indicou a predominância dos linfócitos TH2 nas lesões da periodontite e da gengivite. A predominância da resposta imune humoral na periodontite crônica está associada ao *P. gingivalis* (GARLET *et al.*, 2004; KOBAYASHI *et al.*, 2006).

- Prostaglandinas:

As prostaglandinas (PGs) são derivadas do ácido aracdônico e são mediadores importantes da inflamação (OFFENBACHER *et al.*, 1993). As PGE₂ são potentes vasodilatadores, indutores de citocinas por várias células, estimulam os fibroblastos e osteoclastos, e induzem a síntese das metaloproteinases da matriz. Todos esses eventos promovem o processo de destruição periodontal. A sua concentração no fluido do sulco gengival é maior na gengivite, em relação à gengiva sadia, chegando a altas concentrações durante períodos de progressão da doença (SHOJI *et al.*, 2006). Seus níveis no fluido crevicular correlacionam, de forma geral, com a progressão das doenças periodontais (KONOPKA *et al.*, 2004).

2.5 Lesão Tecidual na Inflamação

A doença periodontal provoca a degradação tecidual, principalmente por proteinases, tanto do hospedeiro quanto dos microrganismos (BEKLEN *et al.*, 2006).

2.5.1 Proteinases e inibidores

As proteinases são enzimas que degradam proteínas através da hidrólise de ligações peptídicas, e são classificadas em endopeptidases e exopeptidases, dependendo da ação da enzima no seu substrato. A atividade das endopeptidases, incluindo as collagenases semelhantes a elastase e tripsina, assim como as serina - proteinases e cisteína, também, foram detectadas em homogeneizados do tecido gengival (COX *et al.*, 2006). A liberação das proteases na gengiva e na área do sulco promove reações inflamatórias e contribui para causar dano ao tecido conjuntivo por diversas vias (IMAMURA, 2003).

As macroglobulina- α 2 e antitripsin- α 1 são inibidoras de proteanases, e servem como moduladores da função das proteases em tecidos, minimizando o processo inflamatório. Porém, há evidências de que as proteinases potentes de microrganismos, tais como a

gingivaína de *P. gingivalis*, sejam capazes de neutralizar esses inibidores (HOULE *et al.*, 2003).

2.5.2 Metaloproteinases da matriz

As metaloproteinases da matrix (MMP) são a família de enzimas proteolíticas que medeiam a degradação da matrix extracelular, incluindo interstício e membrana colagenosa, fibronectina, laminina e proteoglicana (EJEIL *et al.*, 2003).

Segundo Sakalauskiene *et al.*, 2005, tanto as células epiteliais, quanto o tecido gengival inflamado, são capazes de produzir metaloproteinases (MMP) na cultura de tecido, das quais destacam-se as colagenases tipo-4 do neutrófilo, encontradas em altas concentrações na gengiva inflamada. A presença elevada das MMP nos tecidos periodontais inflamados, e a sua redução após o tratamento periodontal sugerem o envolvimento das MMPs na destruição tecidual (BEKLEN *et al.*, 2006). Chang *et al.*, 2002, sugerem que a presença das MMP no sulco se relaciona mais com a migração dos PMN, do que com a destruição do tecido. Os IL-1 e TNF- α regulam a expressão do gene MMP nos tecidos periodontais. A reabsorção óssea osteoclástica não parece estar diretamente, envolvida com MMP, mas algumas evidências sugerem que ela é iniciada pela remoção de uma camada de osteóide pelos osteoclastos, por um processo dependente da colagenase (BORSANI *et al.*, 2005). Todavia, as MMP envolvidas na destruição periodontal promovida pela *P. gingivalis*, ou a regulação de seus inibidores, não são bem conhecidos (ZHOU e WINDSOR, 2006).

2.6 Fatores Inflamatórios no Diagnóstico

Faz parte dos novos métodos de diagnósticos da doença periodontal, em centros mais avançados, a dosagem dos mediadores no fluido crevicular gengival (FCG), haja vista que é um exsudato oriundo da progressão da inflamação dos tecidos periodontais. Eles são derivados do plasma, leucócitos, células estruturais do periodonto e bactérias orais, e servem como indicadores tanto da doença periodontal quanto da saúde periodontal, após terapia (UITTO, 2003; GOODSON, 2003). Mais de 65 componentes do FCG têm sido

preliminarmente examinados como possíveis marcadores da progressão da periodontite, classificados em 3 categorias: 1. enzimas derivadas do hospedeiro e seus inibidores; 2. mediadores inflamatórios e modificadores da resposta do hospedeiro e 3. produtos da degradação tecidual (ARMITAGE, 2004).

2.7 Aumento Gengival

A placa dentária pode funcionar como um fator agravante para a progressão das lesões que podem surgir nas regiões com crescimento gengival (CETINKAYA *et al.*, 2006). Os processos inflamatórios podem ser modificados por hormônios, como nos casos de puberdade ou gravidez, as quais provocam edema e/ou crescimento excessivo de gengiva (BOYAROVA *et al.*, 2001), ou por medicamentos como fenitoína, ciclosporina, nifedipina (EGGERATH *et al.*, 2005; GRASSI *et al.*, 2006), drogas a base de diltiazem (MIRANDA *et al.*, 2005) e anfetamina (HASAN e CIANCIO, 2004) induzem o crescimento excessivo da gengiva. O TNF- α , associado ao processo inflamatório crônico, parece, também, provocar o crescimento gengival (KATO *et al.*, 2006).

Segundo Vescovi *et al.*, 2005, a predisposição genética, a duração do tratamento imunossupressor e o estado de higiene oral representam as variáveis mais importantes relacionadas ao desenvolvimento e grau do crescimento gengival nos pacientes que fazem o uso da ciclosporina. Aimetti *et al.*, 2005a e Aimetti *et al.*, 2005b evidenciaram que o controle excessivo da placa e os procedimentos de manutenções periódicos reduziram satisfatoriamente o processo inflamatório e o crescimento gengival em pacientes que faziam o uso de ciclosporina. Prasad *et al.*, 2004, relatam que a administração sistêmica de ácido fólico retarda e reduz a incidência e severidade do crescimento gengival provocado pela fenitoína.

O aumento gengival pode se relacionar às neoplasias, como o fibroma (YE *et al.*, 2005). A hiperplasia fibrosa focal, uma lesão comum na região anterior cavidade oral, ocorre mais freqüentemente em mulheres do que em homens, sendo usualmente assintomática (LEE, 1968; KFIR *et al.*, 1980). Originária das fibras superficiais do ligamento periodontal, ela caracteriza-se por um tecido hiperplásico colagenoso, pobremente celular, e são menos freqüentes do que as observadas nos granulomas piogênicos e granulomas fibroblásticos calcificantes (AKCA *et al.*, 2005). O epitélio de recobrimento pode demonstrar a

hiperqueratinização, devido aos fatores irritativos. O fibroma de células gigantes se assemelha histologicamente à hiperplasia fibrosa focal, mas possui células multinucleadas e anguladas dispersas, de aspecto e natureza diferentes das células gigantes dos granulomas de células gigantes. As hiperplasias fibrosas focais são tratadas pela excisão cirúrgica completa que inclui, algumas vezes, as fibras do ligamento periodontal superficial (AKCA *et al.*, 2005).

Pacientes portadores de linfoma de Hodgkins podem apresentar o aumento gengival como manifestação inicial desta patologia. Os portadores apresentam um tecido gengival inflamado com células mononucleares (linfocitárias), caracterizando uma gengivite crônica. O agravamento do crescimento gengival ocorre devido a estímulos provocados por bactérias locais, através da eliminação de seus metabólitos ou de suas moléculas estruturais, como o LPS (NICOLATOU-GALITIS *et al.*, 2001).

Segundo Radwan-Oczko *et al.*, 2004, os índices de inflamação são significativamente altos nos grupos de pacientes com hiperplasia gengival tratados com ciclosporina A. Todavia, um substituto dessa droga, o tacrolimus, mostrou-se mais eficaz, no sentido de que, pacientes tratados com o tacrolimus apresentaram índices de inflamação mais baixos.

Para Mavrogiannis *et al.*, 2006, crescimento gengival provocado por drogas deve ser controlado através da remoção cirúrgica e do controle de placa bacteriana, reduzindo o processo inflamatório e as possíveis recorrências. Todas essas proposições estão de acordo com o trabalho realizado por Hakki *et al.*, 2005.

Tentativas para explicar o mecanismo de crescimento gengival através de drogas tem sido proposto, porém algumas indagações ainda não foram respondidas. Acredita-se que alterações morfológicas, no crescimento gengival induzido por drogas, podem começar com a inflamação induzida pela placa, levando a um quadro de hiperemia e tecido gengival edemaciado (VESCOVI *et al.*, 2003).

O tratamento ortodôntico tem sido visto como uma das possíveis causas para o aumento gengival. Pacientes que se encontram em utilização do aparelho ortodôntico para movimentação dentária podem apresentar alteração gengival. Este aumento gengival pode se apresentar de forma generalizada nestes pacientes. A remoção do tecido gengival aumentado é indicada para que os portadores dessas modificações gengivais possam controlar a placa bacteriana adequadamente. Esta remoção se realiza através da gengivectomia, desta forma uma parceria entre o ortodontista e o periodontista é fundamental para o sucesso do tratamento (CLOCHERT *et al.*, 2003; LANDSBERG e SARNE, 2006).

Durante o estado de gravidez, as mulheres podem apresentar um quadro de crescimento gengival (GUNGORMUS *et al.*, 2002). A gravidez leva a uma mudança hormonal, tornando o organismo susceptível a desenvolver alterações gengivais, pois os irritantes locais causam estímulos nos tecidos gengivais, os quais respondem inadequadamente, quando comparados a uma paciente fora do estado gravídico. O aumento gengival pode ser generalizado ou localizado, gerando o granuloma piogênico (BOVAROVA *et al.*, 2001). O controle da placa bacteriana deve ser estimulado nestas pacientes para que o quadro não evolua, mantendo a placa em níveis adequados para que o organismo modificado pelos hormônios da gravidez, não sejam estimulados a levar o tecido gengival ao aumento local. Esta alteração hormonal modifica o metabolismo dos tecidos gengivais, acentuando a resposta aos irritantes locais (GUNGORMUS *et al.*, 2002).

2.8 Controle Terapêutico dos Processos Inflamatórios

Haja vista que os componentes inflamatórios da placa induzem a gengivite e a periodontite crônica, essas doenças podem ser manuseadas efetivamente, na maioria dos pacientes, através do programa de controle de placa pelo paciente e a raspagem radicular pelo profissional, com ou sem o procedimento cirúrgico associado à manutenção periódica. Alguns dos pacientes podem necessitar de medidas terapêuticas adicionais, dentre elas destaca-se a utilização de substâncias que visam reduzir a inflamação gengival, diminuir a quantidade de placa bacteriana, e reduzir a profundidade à sondagem. O digluconato de clorexina (clorexidina) representa uma substância que apresenta todas essas qualidades e uma substantividade prolongada (American Academy of Periodontology – Research, Science, and Therapy Committee; American Academy of Pediatric Dentistry, 2006).

2.8.1 Digluconato de clorexina

A clorexidina, 1,6 di-4-clorofenil-di-guanidohexano do grupo das biguanida, age como um potente agente antibacteriano, por induzir a ruptura da membrana, com a conseqüente precipitação do conteúdo (ALY e MAIBACH., 1979).

A clorexidina pode ter várias apresentações comerciais: solução aquosa a 4%, para antisepsia de pele; solução alcoólica ou tintura a 0,5% em álcool etílico a 70%, para antisepsia complementar e delimitação do campo cirúrgico; e solução aquosa a 4% associada a um detergente, para anti-sepsia das mãos dos operadores (AYLIFFE *et al.*, 1998).

Este produto é muito usado como coadjuvante no tratamento periodontal e nos pré-operatórios cirúrgicos, proporcionando uma baixa apreciável na contagem bacteriana. Seus efeitos colaterais incluem coloração dos dentes, das restaurações, de prótese e da língua, disgeusia, descamação da mucosa bucal e aumento de volume parotídeo. O efeito de tingimento da clorexidina pode ser facilmente removido pelo polimento dos dentes feito pelo dentista. A disgeusia pode durar até 2 horas, após o bochecho feito com clorexidina, porém em alguns casos permanece por 24 horas. Enquanto a sensibilidade para o gosto amargo retorna rapidamente, a recuperação para o gosto doce demora mais. A sensibilidade para o salgado e o ácido volta num tempo intermediário. Quanto ao aumento de volume parotídeo, parece que é proporcional ao vigor com que o indivíduo bochecha, permitindo que a clorexidina penetre no ducto excretor. A descamação da mucosa pode estar relacionada com uma reação de hipersensibilidade do tipo IV (NOIRI *et al.*, 2003).

Óleos essenciais à base de canela, arnica, eucalipto, dentre outros, foram combinados com a clorexidina e apresentam excelente efeito contra *Streptococcus mutans* e *Lactobacillus plantarum*, reforçando seu valor no tratamento de cáries (FILOCHE *et al.*, 2005). Acredita-se que seu efeito anti-cárie se deve a um impacto microbiológico na placa bacteriana, evitando a sua formação (COSYN *et al.*, 2005b).

Embora as bactérias do biofilme subgingival, como *Porphyromonas gingivalis*, sejam geralmente capazes de resistir a altas concentrações de antimicrobianos, nos estudos experimentais em discos de hidroxiapatita, a clorexidina e o cloridrato de minociclina revelaram significante eficácia contra esta bactéria periodontopatogênica. Ao contrário, o metronidazol não se mostrou eficaz (NOIRI *et al.*, 2003). Hoje, o colutório de clorexidina é largamente reconhecido como um auxiliar na manutenção do controle da placa bacteriana, para prevenir a doença periodontal.

A maioria dos colutórios contém álcool, tornando-o impraticável para uso em pacientes com hipersensibilidade da mucosa oral. Muitos colutórios orais contêm álcool acima de 27% (Bhatty 1994 *apud* Poggi 2003). Tais formulações têm mostrado efeitos adversos na cavidade oral como: dor, sensação de queimação e dificuldade de uso por

pacientes que apresentam hipersensibilidade na mucosa oral, além do risco acidental de ingestão do álcool pelas crianças (SHULMAN, 1997 *apud* Poggi 2003). Porém, evidências mostram que colutórios sem álcool podem ser igualmente eficazes, sem causar efeitos colaterais graves. Num estudo duplo-cego e bem-controlado realizado na Faculdade de Medicina e Odontológica da Universidade de Santiago de Compostela, com 97 pacientes criteriosamente selecionados e mantidos em condições padronizadas de higienização bucal, a clorexidina a 0,12% (sem álcool) e uma outra com 11% de etanol, aplicadas por 14 e 28 dias, revelaram igual eficácia na redução da placa bacteriana, gengivite e sangramento papilar (BORRAJO *et al.*, 2002). O estudo de Poggi *et al.*, 2003, também, confirmou que soluções para bochecho sem álcool são tão efetivas quanto as que contem álcool no controle de placa bacteriana e na redução da inflamação gengival. Van Strydonck *et al.*, 2005, considerou que o gosto da clorexidina, sem álcool, foi mais agradável. Contudo, um recente estudo (GURGAN *et al.*, 2006), mostrou que colutórios a base de clorexidina a 0,2 % sem álcool, usados por uma semana, causou maior grau de irritação na mucosa oral e grande sensação de queimação, com aumento alterado na percepção do gosto. Em colutórios de clorexidina a 0,12% sem álcool, a adição de outros ingredientes parecem não produzir efeitos benéficos, podendo até reduzir a efetividade antiplaca ou aumentar as manchas na língua (BASCONES *et al.*, 2005).

O álcool é metabolizado em acetaldeído extra-hepaticamente, nos tecidos orais (LIEBER 1988 *apud* POGGI 2003). Em investigações com fibroblastos da gengiva humana, responsáveis pela produção de proteínas estruturais a matriz extracelular e fundamental na manutenção do crescimento, diferenciação e saúde do epitélio adjacente, o acetaldeído provocou significativo decréscimo na adesão dessas células, porém a suspensão da solução com álcool restaurou a normalidade.

Em estudos, preparações de clorexidina a 0,12% e a 0,2%, por 30s, demonstraram a melhor inibição no acúmulo de placa, porém bochechos desses colutórios por 60s parecem não proporcionar resultados significativamente melhores (KEIJSER *et al.*, 2003). Foi demonstrado, também, que a inclusão de clorexidina a 5% numa resina modificadora do ionômero de vidro, materiais utilizados nas restaurações dentárias, resultou na melhora do efeito antimicrobiano do ionômero de vidro, reduzindo o número de *S. mutans*, sem alterar a consistência química ou modificar as suas propriedades físicas (SANDERS *et al.*, 2002).

Numa comparação entre a solução morna de clorexidina a 0,2% e solução fria de clorexidina a 0,2%, observou-se que a solução morna reduziu a formação da placa 98,98%

para 51,77%. Em comparação, a solução fria proporcionou um índice de redução modesta, de 99,63% para 77,81% (KÖNIG *et al.*, 2002).

O tempo de utilização da clorexidina para o controle de placa não parece influir na formação desta. Num estudo com o bochecho de clorexidina a 0,2% por 15, 30 e 60s, não se observou diferença significativa em nível de placa bacteriana, nos três grupos, após 72h sem escovação dentária (VAN DER WEIJDEN *et al.*, 2005).

A eficácia da solução de clorexidina a 0,2% para a redução da placa bacteriana, parece não ser comprometida pelo ato da escovação com dentífrício, como relatado por dados anteriores na literatura. Em dois estudos com indivíduos que utilizaram dentífrício com sulfato lauril de sódio (SLS) e sem SLS, e após realizaram o bochecho com o colutório, os índices de placa se situaram nos mesmos valores de 1,8 a 1,9 (VAN STRYDONCK *et al.*, 2004a), e de 0,34 a 0,36 (VAN STRYDONCK *et al.*, 2004b), mostrando que não houve modificação significativa do efeito da solução de clorexidina a 0,2% na redução da formação da placa bacteriana.

Quando se avalia a forma (spray ou bochecho) de aplicação da solução de clorexidina na cavidade oral no controle de placa bacteriana, as formas spray e bochecho apresentam a mesma capacidade no controle da placa no sítio determinado, já que a aplicação em spray é localizada. Todavia, a utilização através de spray reduz a formação de manchas quando comparada ao bochecho, pela mesma razão anterior (FRANCETTI *et al.*, 2004). Quando avaliado a eficácia de uma ou duas aplicações por dia de clorexidina a 0,2% em forma de spray, comprovou-se as duas formas tinham a mesma eficácia para reduzir o acúmulo de placa e inflamação gengival (CLAVERO *et al.*, 2003).

Num estudo realizado com pessoas portadoras de gengivite, foi utilizada solução de clorexidina a 0,2% por 60s, nas formas de bochecho, gargarejo ou aplicação na língua, por quatro dias sem nenhuma higiene oral, com o intuito de retardar o acúmulo de placa bacteriana nas superfícies dentárias. Constatou-se que o número de microrganismos presentes no biofilme, dentre eles o gênero *Actinomyces*, foi significativamente afetado pelo uso do anti-séptico (SEKINO *et al.*, 2004).

Um outro estudo analisou o efeito da aplicação da clorexidina na cavidade oral em goma de mascar à base de xilitol/clorexidina, nos índices de placa bacteriana e gengivite de 111 pacientes idosos. A mastigação da goma de mascar, duas vezes ao dia, por 15min, durante

12 meses, resultou em índices, significativamente, decrescentes no controle de placa e da gengivite (SIMONS *et al.*, 2001).

2.8.2 Uso clínico de clorexina: A utilização da solução de digluconato de clorexidina está sendo difundida em várias situações clínicas na odontologia

- Microbiota oral e placa bacteriana

Em estudos clínicos, a clorexidina tem demonstrado efeitos consideráveis sobre a microbiota oral e a placa bacteriana, melhorando os índices de saúde oral. O estudo clínico de Quirynen *et al.*, 2005a, demonstrou que clorexidina a 0,12% + CCP 0,05%, sem álcool, apresentou ótimo índice de efetividade como agente anti-placa. Simons *et al.*, 2001, demonstraram que indivíduos que utilizaram uma goma de mascar com xilitol/clorexidina, duas vezes ao dia durante 12 meses, apresentaram índices, significativamente decrescentes de placa. Borrajo *et al.*, 2002, demonstraram que a clorexidina, com ou sem o álcool, apresentou efeitos significativos no controle da placa bacteriana. A eficácia da clorexidina a 0,2%, aplicada em forma de spray uma única vez por dia durante 30 dias, no controle da placa foi demonstrada por Clavero *et al.*, 2003. Quanto ao uso dos dentifrícios com atividade bacteriana, Sheen *et al.*, 2003, consideram que a atividade anti-placa da pasta dental se torna mais eficaz, quando ela é usada antes do bochecho por, pelo menos 60 segundos, com a clorexidina ou o clorídio de cetilpiridínio. Segundo Clavero *et al.*, 2003, clorexidina 0,2%, na forma de spray, tem-se mostrado muito eficaz para o controle da placa dentária, em idosos e pacientes especiais. Nas avaliações com concentração de 0,03%, 0,06% e 0,12%, a clorexidina revelou efeito dose-dependente em bactérias salivares, assim como uma significativa diminuição de bactérias produtoras de sulfídio de hidrogênio relacionado com casos de halitose (SREENIVASAN e GITTINS, 2004). Foi demonstrado, também, que a clorexidina, em forma de spray ou bochecho, reduz a acumulação de placa e, ao mesmo tempo, reduz a formação de manchas superficiais nos dentes (FRANCETTI *et al.*, 2004). Um estudo por Sekino *et al.*, 2004, mostrou que aplicações de bochechos (por 60s), gargarejos (por 10s) de clorexidina a 0,2% ou gel de clorexidina a 1,0% na língua (por 60s), foram

eficazes na redução da formação da placa dentária associada ao ao gênero *Actinomyces*, em indivíduos portadores de gengivite.

- Sangramento gengival

Colutório de clorexidina, com ou sem álcool, tem-se mostrado eficaz no controle do sangramento papilar (BORRAJO *et al.*, 2002). Num estudo clínico brasileiro com 43 pacientes com distúrbios mentais, a aplicação de um gel de clorexidina a 0,5% através de moldeiras, duas vezes ao dia, num período acima de 8 semanas, se mostrou eficaz na redução do sangramento interdental gengival (PANNUTI *et al.*, 2003).

- Inflamação gengival

A solução de clorexidina a 0,2%, continua como destaque entre os enxaguatórios bucais na prevenção do desenvolvimento da gengivite. Inúmeros estudos clínicos demonstraram a eficácia da clorexidina no controle da infecção gengival (SIMONS *et al.*, 2001; QUIRYNEN *et al.*, 2001a; CLAVERO *et al.*, 2003; SEKINO *et al.*, 2004; CETIN *et al.*, 2004).

- Periodontite

A clorexidina vem sendo considerada como o melhor e mais seguro agente químico no controle dos agentes formadores da placa bacteriana e da microflora periodontal. Ela tem sido usada, desde 1964, também, como veículo fácil e efetivo para flúor (MATTHIJS e ADRIAENS, 2002). Em relação à doença periodontal crônica, a raspagem radicular em sítios com profundidade a sondagem, apresenta uma melhor inserção do periodonto, quando adicionado a aplicações de clorexidina (COSYN *et al.*, 2005a). Seu estudo mostrou que uma implementação com a clorexidina, durante a raspagem e alisamento radicular melhora,

também, a inserção do tecido periodontal, em comparação com a utilização, somente, de raspagem e alisamento radicular.

Cetin *et al.*, 2004, estudaram a liberação de drogas, como clorexidina, meloxicam e indometacina a partir de um filme de acetato de celulose colocadas dentro das bolsas periodontais, para modular a resposta inflamatória mediante o controle da microbiota patogênica, dessa forma limitando a destruição dos tecidos periodontais. Observou-se que a indometacina foi liberada rapidamente do filme, enquanto meloxicam e clorexidina tiveram uma liberação mais lenta. Os autores concluíram que o filme sintético de acetato de celulose é o melhor material para liberação lenta de clorexidina em bolsas periodontais.

Daneshmand *et al.*, 2002, relataram que a utilização de um “chip” biodegradável nos sítios subgingivais, contendo 2,5mg de clorexidina no sulco gengival em voluntários com periodontite moderada ou avançada, como adjunto a raspagem e ao alisamento radicular, não provocou um melhor controle de microrganismos quando evidenciada, em comparação dos indivíduos que tiveram somente, alisamento e raspagem radicular. O efeito clínico da clorexidina como um adjunto na raspagem e alisamento radicular no tratamento de periodontite crônica foi avaliado na Turquia por Azmak *et al.*, 2002, em 22 pacientes de ambos os sexos e de idades entre 36 e 62 anos, com periodontite crônica moderada para severa. Observou-se que “chip” de clorexidina, inserido num sítio após a raspagem e alisamento radicular, proporcionou diminuição dos índices de profundidade a sondagem (PS), nível de inserção clínica (NIC), índice de placa (IP) e índice de sangramento da papila (ISP), com 1,3 e 6 meses, além de diminuir significativamente o nível da colagenase-2 de MMP-8 no FCG.

Num estudo com 595 pacientes, Soskolne *et al.*, 2003, observaram que o chip de clorexidina, repostado a cada 3 meses durante 2 anos, funcionou como uma opção segura e efetiva, para tratamento de periodontite crônica. Desde então, vários centros clínicos tem estabelecido que o uso adjunto subgingival do chip de clorexidina, reduz significativamente a profundidade e o sangramento a sondagem, e melhora o nível de inserção clínica, comparado a prática, somente, de raspagem e alisamento (COSYN e WYN, 2006).

- Implantes e Osseointegração

Nos últimos anos, um crescente número da população vem usando reabilitação oral através de implantes osseointegrados, o que requer o controle da placa bacteriana. Em estudos clínicos, o uso pós-cirurgia após o primeiro estágio da cirurgia de implante de tanto os colutórios a base de clorexidina quanto a base de fluoreto de amino/fluoreto estanhoso tem se mostrado eficaz no controle da placa (HORWITZ *et al.*, 2005). Num outro estudo, a adição de 0,12% de clorexidina a um cimento de poliacrilato, reduziu a placa, melhorando a qualidade das peças protéticas cimentadas por, no mínimo, 13 semanas; comprovando que a manutenção da microflora poderá ser compatível com a saúde periodontal (ORUG *et al.*, 2005).

- Halitose

Uma outra indicação do uso da solução de clorexidina é na halitose, a qual se define por um odor ofensivo emanado da cavidade oral. Estudos epidemiológicos têm mostrado que a maioria dos casos de halitose tem origem na cavidade oral (QUIRYNEN *et al.*, 2005b), tendo a sua etiologia na putrefação das atividades da bactéria Gram-negativa anaeróbica (YOUNG *et al.*, 2003), em particular, a degradação bacteriana dos ácidos amino-sulfúricos (como metioninas, cistinas e cisteínas), e os compostos sulfúricos voláteis – CSV (principalmente, o sulfídio de hidrogênio, a metil mercaptana, e em baixa extensão, o sulfídio de dimetil).

Para o combate a halitose, diferentes agentes tópicos antimicrobianos têm sido testados, dentre eles a clorexidina, clorídio de cetilpiridínio, triclosan, óleos essenciais, dióxido de cloro, sais de zinco, peróxido de hidrogênio e bicarbonato de sódio, sozinhos ou em diferentes combinações. Numa avaliação clínica de Steenberghe *et al.*, (2001), foram avaliados três colutórios comerciais, durante 12 dias sem controle mecânico da placa, em 12 estudantes com periodontos saudáveis, com dois bochechos ao dia, por um minuto. Os resultados demonstraram que as formulações (a) clorexidina a 0,2% e (b) clorexidina a 0,05% + cloreto de cetilpiridínio (CCP) a 0,05% + lactato de zinco (ZnL) a 0,14%, reduziram, significativamente, a microbiota da língua e saliva, tanto aeróbios como anaeróbios, porém a combinação clorexidina a 0,12% + fluoreto de sódio (NaF) se mostrou menos eficaz. Em

estudos duplo-cego em voluntários com estado saudável de cavidade oral, cinco enxugatórios contendo clorexidina (somente clorexidina a 0,12%, ou com álcool, com CCP a 0,05%, com NaF ou com ZnL), foram constatadas diferenças importantes nas formulações variadas de clorexidina, tanto em relação ao seu efeito anti-halitose, como na atividade anti-microbiano na saliva. Clorexidina + CCP proporcionou o melhor resultado, com a combinação de clorexidina + NaF dando o pior resultado (ROLDAN *et al.*, 2004).

- Mucosite

A solução de clorexidina tem sido utilizada no tratamento das mucosites peri-implantares, visto que a manutenção dos implantes depende da baixa de microrganismos, pois os implantes, assim como os dentes, são susceptíveis ao acúmulo de placa bacteriana e formação de cálculo, levando a um risco de desenvolvimento de mucosites peri-implantares ou peri-implantites. Num estudo de 17 adultos com peri-implantites, clorexidina a 0,12% com seringa plástica e a aplicação tópica da mesma em gel, se mostraram efetivas na redução da mucosite peri-implantar, profundidade a sondagem e melhora no nível de inserção (PORRAS *et al.*, 2002).

- Candidíase

A clorexidina tem sido usada como um adjunto na terapia convencional à candidíase bucal (*Candida albicans*), a mais freqüente infecção fúngica da cavidade oral. Isso se deve à sua capacidade de permanência na cavidade oral, já que inúmeras outras drogas não conseguem se manter no meio oral devido ao fluxo salivar e aos movimentos da musculatura. A clorexidina parece, também, atuar contra micoses associadas à prótese total (ELLEPOLA e SAMARANAYAKE, 2001).

- Infecções virais

Segundo Baqui *et al.*, 2001, a clorexidina apresenta um papel anti-viral de destaque, *in vitro*, contra o HIV-1 (vírus da imunodeficiência adquirida-1) e HSV-1 (vírus da herpes simples tipo-1).

2.8.3 Efeitos colaterais da clorexidina: Vários efeitos colaterais foram descritos em pacientes com o uso oral da clorexidina, dentre eles destacam-se os seguintes:

- Manchas dentárias

Um dos mais frequentes é o aparecimento de manchas nos dentes e membranas da mucosa, os quais causam alterações nos pacientes. Um produto à base de clorexidina com um sistema de anti-descoloração (SAD), reduziu o número de manchas em pacientes, apresentando igual eficácia à clorexidina (BERNARDI *et al.*, 2004). Num estudo utilizando a clorexidina a 0,06% com pirrolidone de polivinil (PVP), foi constatada a redução de manchas nas superfícies dentárias e línguais, provavelmente devido à presença do PVP. Contudo, foi observada, também, uma perda na inibição de placa bacteriana (CLAYDON *et al.*, 2001). Uma avaliação entre escovas elétrica e manual, utilizadas em casa por pacientes, foi executada para se verificar as suas eficácias na remoção das manchas provocadas pela clorexidina. As manchas foram acentuadas com bochecho morno de chá preto. Ao final do estudo, foi constatado que havia uma pequena diferença relativa entre as duas escovas, em remover as manchas: a escova elétrica se mostrou mais eficiente do que a escova manual, em minimizar o nível de manchas durante o período de uso em casa (MORAN *et al.*, 2004). Um estudo relatou que o acréscimo à clorexidina de um agente oxidante, como perborato de sódio monohidratado, apresentou resultados na inibição da formação da placa e desenvolvimento da gengivite, melhores do que a clorexidina sozinha. Em relação às manchas nas superfícies dentais, o combinado permitiu a utilização de uma quantidade menor do que a clorexidina isoladamente (GRÜNDEMANN *et al.*, 2000).

- Reações alérgicas

As conhecidas reações provocadas pela clorexidina são reações de hipersensibilidade como dermatite de contato, erupções ligadas a droga e reações de fotosensibilidade. Um aumento no número de alergias do tipo imediato como urticária de contato, asma ocupacional e choque anafilático tem sido observado. Garvey *et al.*, 2001, evidenciaram sérias reações anafiláticas em quatro dinamarqueses submetidos a cirurgias sob anestesia, e tendo a clorexidina como o principal desinfetante durante a pré-cirurgia, procedimentos invasivos, utilização como solução para bochecho ou para desinfecção de pequenas escoriações. Porém, um estudo posterior de Pannuti *et al.*, 2003, do mesmo país, revelou que nenhum dos 104 voluntários investigados desenvolveu reações de hipersensibilidade tipos I a IV, durante o período de investigação, mostrando ser rara a possibilidade da alergia à clorexidina, mesmo em pessoas em contato constante com essa substância. Krautheim *et al.*, 2002, considera que, embora reações de hipersensibilidade à clorexidina sejam raras, o seu potencial para causar choque anafilático é subestimado.

- Genotoxicidade

Um outro possível efeito colateral da clorexidina é a genotoxicidade em células. Segundo Ribeiro *et al.*, 2004, o uso da clorexidina a 0,12% por 8 dias, induziu, em ratos, danos no DNA em leucócitos e em células da mucosa oral, porém sem quebra de cromossomos ou perda dos eritrócitos. Entretanto, o seu uso no controle da placa bacteriana, da gengivite e na desinfecção dos canais radiculares, durante o tratamento endodôntico, é largamente difundido. Para reduzir o efeito negativo da solução de clorexidina, uma nova formulação com a clorexidina a 0,05% adicionada com cloridato de cetilpiridinium a 0,05% sem álcool, foi proposta. Ela pode ser usada por longo tempo e apresenta uma efetiva ação antiplaca (QUIRYNEN *et al.*, 2005b).

2.8.4 Outros colutórios

Embora a solução de clorexidina tenha sido utilizada como o padrão de ouro no controle da placa supragengival, vários outros enxaguatórios comerciais vem sendo avaliados e alguns se encontram em uso, para diversas aplicações clínicas.

Os colutórios bucais de fluoreto de amino/ fluoreto estanhoso (AmF/SnF₂) tem mostrado efeito antimicrobiano e útil como agente antiplaca, podendo serem utilizados como alternativas à clorexidina no tratamento de periodontite (HORWITZ *et al.*, 2000). Num estudo comparativo, os cloreto de cetilpiridínio (CCP) e o triclosan 0,3% mostraram igual eficácia na redução de sangramento gengival e controle de placa, a clorexidina, porém, tem se mostrado melhor que esses (YATES *et al.*, 2002). Sharma *et al.*, 2003, relataram que enxaguatório à base de hexetidine (0,1%) mostraram eficiência na redução da placa bacteriana supragengival e inflamação gengival. No mesmo ano, Cullinan *et al.*, 2003, constataram que o uso de dentifício com triclosan a 0,3%/copolímero a 2% era efetivo no retardamento da progressão da doença periodontal, principalmente, em indivíduos com profundidade a sondagem interproximal $\geq 3,5$ mm. Numa avaliação comparativa, Pizzo *et al.*, 2004, observaram que o colutórios com AmF/SnF₂ se mostrou mais eficaz do que as proteínas antimicrobianas, porém seu efeito foi inferior ao de clorexidina a 0,12%. Welk *et al.*, no estudo de 2005, demonstraram que o cloreto de biguanida de polihexametileno a 0,2% inibi a placa bacteriana melhor do que o 0,3% triclosan, porém a sua eficácia foi, também, menor do que a de clorexidina.

Contudo, Pontefract *et al.*, 2001, aconselha que enxaguatórios bucais com pH ácido devem ser evitados, pois podem acarretar desgaste (abrasão) na superfície do esmalte, principalmente, quando são usados por longo tempo ou usos contínuos e, jamais, antes de escovação dentária.

2.9 Justificativa e Objetivo

A experiência clínica da patologia hiperplásica gengival revela, de um modo geral, que esses pacientes apresentam, também, um processo inflamatório em curso no tecido; principalmente, em casos com causas desconhecidas do crescimento gengival. Todavia, a relação entre a inflamação e o crescimento gengival não é bem conhecida. É controverso, por exemplo, se o crescimento gengival é a consequência da gengivite progressiva, ou a causa dela. Portanto, estudos do processo inflamatório na gengivite hiperplásica poderão ser valiosos para uma melhor caracterização dessa patologia gengival, como, também, para

avaliar futuramente se tratamentos para a contenção do processo inflamatório poderão ser de alguma valia para o controle, se não o combate, do crescimento gengival.

O presente trabalho visa caracterizar melhor o processo inflamatório gengival em pacientes portadores da gengivite hiperplásica, mediante avaliações clínicas, histológicas e imunohistoquímicas. Adicionalmente, o estudo objetiva, também, avaliar se a clorexidina é eficaz para controlar o quadro inflamatório gengival, nesses mesmos pacientes.

Os objetivos específicos deste trabalho foram os seguintes:

1. Realizar avaliações clínicas do quadro de gengivite em pacientes com a hiperplasia gengival;
2. Realização de exames histológicos em gengivas biopsiadas dos pacientes portadores de hiperplasia gengival, para comprovar precisamente o processo inflamatório;
3. Realização de avaliações imunohistoquímica das células imunes engajadas no processo inflamatório, para caracterizar o processo imune envolvido na gengivite hiperplásica;
4. Avaliação dos efeitos de tratamento com a clorexidina nos pacientes portadores da gengivite hiperplásica, mediante exames clínicos, histológicos e imunohistoquímicos.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

3.1 Aparelhos e Instrumentos Laboratoriais

- Centrífuga de bancada;
- Freezer - 20° C e/ou - 70° C;
- Geladeira;
- Microondas;
- Micrótomo;
- Lâmina p/ imunohistoquímica (c/ cola);
- Balança analítica de precisão;
- Capela de fluxo laminar;
- Medidor de pH;
- Tambor com nitrogênio líquido;
- Microscópio ótico;
- 16 consultórios odontológicos completos;
- Aparelho de ultra-som;
- Estufa;
- Auto-clave.

Instrumental:

- espelhos bucais;
- sondas periodontais milimetradas tipo Williams;
- conjuntos de raspadores tipo Mini-Grayce nº 5-6;
- pinças clínicas;

- cabos de bisturi Bard-Parker;
- bisturis de Kirkland;
- bisturis de Orban;
- lâminas para bisturi Bard-Parker nº 15c;
- tesouras serrilhadas para gengiva;
- aparelhos de ultra-som e pontas de ultra-som; contrapartida;
- Material de consumo: Equipamento de Proteção Individual (EPI) – gases, sugadores descartáveis, agulhas descartáveis.

3.2 Reagentes

- Solução de digluconato de clorexidina a 0,12%;
- Lidostesina a 3%;
- Reagentes de rotina para preparação do material, para exames histológicos;
- “Fixador específico para tecidos moles”,

Formol (10%)	450 mL
Álcool absoluto	40 mL
Ácido acético	10 mL
- Anticorpo monoclonal anti-CD43, para Linfócitos T (DAKO);
- Anticorpo monoclonal anti-CD68, para Macrófago (DAKO);
- Anticorpo monoclonal anti-CD20, para Linfócito B (DAKO);
- Complexo Avidina-Biotina-ABC (DAKO);
- Tampão TBS/BSA;
- Solução de Peróxido de Hidrogênio;
- Hematoxilina de Harris, para contra-coloração;
- Diaminobenzidina (DAB);

- Soro normal de coelho.

3.3 Delineamento do estudo

O presente estudo foi desenvolvido para realizar inicialmente a triagem dos pacientes, remoção da 1ª biópsia, tratamento com a solução de clorexidina a 0,12%, sem álcool, em seguida a 2ª biópsia, e por fim, avaliações histológicas e imunohistoquímicas. O objetivo seria abranger um número equivalente a 40 participantes. Foram triados 30 pessoas com o perfil para o estudo. Todavia pelas dificuldades enfrentadas com os pacientes em terminar todo o protocolo proposto, apenas 14 participantes retornaram para a finalização do estudo. Tendo, desta forma, um n=14 no presente estudo.

3.4 Seleção de Pacientes

Foram selecionados 14 pacientes de ambos os sexos, oito mulheres e seis homens com idades entre 18 e 25 anos, diagnosticados como portadores de crescimento gengival em ambos as arcadas, perfazendo dois sítios, e iniciando tratamento na Clínica de Periodontia da Universidade Federal do Ceará. Todos apresentavam o quadro de crescimento gengival (FIGURA 1 e 2), e preencheram os requisitos de inclusão no estudo. O estudo realizado foi através de controle pelo próprio paciente.

3.4.1 Critérios para inclusão no estudo

- Pacientes apresentarem um quadro de aumento gengival em, no mínimo, dois locais distintos, a serem tratadas pela remoção cirúrgica;
- Diagnóstico de gengivite moderada a grave firmado em bases clínicas, com sondagem;
- Ausência de doenças sistêmicas com reconhecida repercussões periodontais, tais como diabetes, lupus (LES), hemofilia e anemia grave;

- Não ter feito uso de fármacos antimicrobianos, imunossupressores ou contraceptivos por, no mínimo, três meses antes do início do estudo (MEYER *et al.*, 2006);
- Não uso extraordinário de nenhum tipo de enxaguatório bucal para a sua higiene oral, durante o estudo.

3.4.2 Critérios para exclusão do estudo

- Tratamento concomitante com outras drogas experimentais, antiinflamatórios ou antibióticos;
- Mulheres grávidas ou em amamentação, mulheres em idade fértil não usando contracepção mecânica;
- Portadores de lesões prévias na mucosa oral, de qualquer natureza, bem como aqueles com queixas clínicas recentes de diarreia, náuseas ou vômitos; ou
- Qualquer outra condição que, na opinião do investigador, possa trazer risco ao paciente ou interferir nos objetivos do estudo.

3.4.3 Critérios para retirada de pacientes do estudo

- Voluntário não desejar continuar no estudo por razões pessoais;
- Eventos adversos da droga do estudo, ou intolerância aos procedimentos do estudo;
- Não adesão às exigências do protocolo;
- Doença intercorrente requerendo medicação;
- Indisponibilidade; ou
- Qualquer outra condição que, a juízo do investigador, seja do interesse para manutenção da saúde do voluntário.

3.5 Procedimentos Clínicos

3.5.1 Diagnóstico de gengivite hiperplásica

Foi estabelecido baseando-se nos seguintes critérios, conforme o indicado pela Organização Mundial de Saúde (OMS) (AKCA *et al.*, 2005): pacientes apresentando sangramento com escores de 2 ou 3 após a sondagem marginal feita com sonda periodontal, e o aumento do volume gengival com, no mínimo, dois sítios diferentes de crescimento gengival na cavidade oral, verificado ausência de perda óssea radiográfica. Todos os pacientes apresentavam alterações gengivais, aumento desses tecidos moles ao redor do dente, os quais seriam difíceis a sua diminuição através de tratamento de raspagem e alisamento radicular, isto é, um tratamento sem remoção de tecido mole local. A remoção cirúrgica é considerada a melhor escolha para esse tipo de alteração gengival, visto que não há comprometimento de nenhuma estrutura periodontal desnecessária.

3.5.2 Tratamento periodontal convencional

Os pacientes receberam uma sessão de instrução sobre higiene bucal, uma sessão de remoção de fatores retentivos da placa supragengival como o cálculo dentário, através do uso dos aparelhos de ultra-som e raspagem subgengival, com o auxílio das curetas Mini-Grayce. Tal procedimento foi confirmado pelo Comitê de Ética, visto que todo o estudo tem que ser realizado em benefício do paciente.

3.5.3 Procedimento cirúrgico

Após os procedimentos de instrução oral e raspagem gengival, o paciente foi submetido à remoção cirúrgica de um dos dois sítios da hiperplasia gengival, nessa mesma sessão. O paciente recebeu anestésico local, infiltrativo a base de lidostesina a 3%. Com a utilização de um cabo de bisturi e de uma lâmina de bisturi foi realizado o procedimento cirúrgico. A lâmina de número 15 foi introduzida obliquamente ao tecido hiperplásico,

perfazendo um ângulo de 45° com o plano da gengiva inserida ou da cortical óssea vestibular. Numa incisão primária e contínua, o tecido crescido foi removido do primeiro sítio.

O tecido gengival removido foi conservado no fixador de tecidos moles, para exames histológicos posteriores. A técnica utilizada foi a técnica de gengivectomia e gengivoplastia, as quais removem o excesso gengival e regulariza a espessura do tecido gengival, respectivamente. O paciente, então, recebeu aplicações do colutório de clorexidina a 0,12% (sem álcool), duas vezes ao dia, por 10 dias (KEIJSER *et al.*, 2003).

Como os pacientes apresentavam grandes áreas de crescimento gengival, o que impossibilitava a remoção total do tecido hiperplásico em uma única etapa, o procedimento cirúrgico de remoção gengival foi realizado em duas sessões, para minimizar o desconforto do paciente. Realizando, primeiramente, num sítio e, posteriormente, num outro.

Concluída toda a remoção gengival, o(a) paciente recebeu uma porção de cimento cirúrgico sem eugenol, em cima de toda a área lesionada, para cobrir a área do tecido conjuntivo deixado exposto pelo bisel externo empregado na técnica cirúrgica, por sete dias consecutivos.

Após a última aplicação do colutório (no 10º dia), foi realizada a remoção cirúrgica da gengiva hiperplasiada do segundo sítio. Todos os procedimentos utilizados na primeira cirurgia foram realizados na segunda cirurgia, e a técnica de cirurgia foi, também, a gengivectomia e gengivoplastia, acima descrita. O tecido removido foi conservado no fixador, para exames histológicos posteriores. Os pacientes foram acompanhados durante o período de cicatrização.

A-Hiperplasia Gengival



B-Incisão Primária



C-Pós-cirúrgico



Figura 1: Remoção cirúrgica do aumento gengival em pacientes sem aparelho ortodôntico

Antes da remoção tecidual



Após remoção tecidual



Figura 2: Remoção cirúrgica do aumento gengival em pacientes com aparelho ortodôntico

3.6 Protocolo Clínico

3.6.1. Administração da clorexidina

Os candidatos fizeram o uso de clorexidina, entre as sessões clínico-cirúrgicas para a remoção de gengiva hiperplásica. Todos eles utilizaram diguclonato de clorexidina a 0,12% (sem álcool), duas vezes ao dia (pela manhã e noite), durante 10 dias, realizando bochechos de 30 segundos, meia hora após a escovação, iniciando-se após a primeira cirurgia de correção gengival. A solução de clorexidina foi administrada na quantidade de 20ml por cada bochecho realizado, constituindo uma substância de manipulação. Durante os dez dias o paciente foi orientado para seguir esse mesmo protocolo de utilização do colutório de clorexidina.

Completada a aplicação da clorexidina, cada paciente foi submetido a uma nova fase de cirurgia no segundo sítio, sem remoção cirúrgica durante a primeira fase. O material foi novamente recolhido e conservado, para exames histológicos e imunohistoquímicos.

3.7 Exames Histológicos e Imunohistoquímicos em Gengivas

3.7.1 Avaliações histológicas em gengivas

Após a remoção cirúrgica, o tecido gengival biopsiado foi conservado no fixador específico para tecidos moles (ver lista de materiais). Posteriormente, as peças foram incluídas em blocos de parafina, e processados para exames histológicos. Foram efetuados cortes de tecidos, de 5-8 μ (microns) de espessura em micrótomos, as secções do tecido gengival montadas em lâminas, fixadas e coradas pelo método de Hematóxilina & Eosina (H&E), para realização de exames em microscópios ópticos.

Os cortes corados das biópsias foram estudadas no microscópio óptico, inclusive sob imersão de óleo de objetiva x 100, no Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, UFC. As três lâminas mais representativas do tecido retirado de cada paciente, em termos de adequação para o estudo do tecido biopsiado, da integridade de conservação e da qualidade de coloração do mesmo, foram avaliadas qualitativamente quanto as suas características histológicas, definidas pela a intensidade geral do infiltrado inflamatório e a presença relativa das células inflamatórias mononucleares e polimorfonucleares neles, os quais parâmetros histológicos serviriam, conjuntamente, como indicadores do processo inflamatório em curso na gengiva hiperplasiada.

Os escores adotados variaram de 0 a 3, onde 0 equivale a ausência de células inflamatórias nas lâminas; o escore 1, representa 1/3 do campo observado com células inflamatórias; escore 2, 2/3 do campo presente com células inflamatórias e o escore 3, completamente repleto de células inflamatórias.

3.7.2 Avaliações imunohistoquímicas em gengivas

A caracterização individual das células inflamatórias nas gengivas de pacientes com a hiperplasia gengival, foi efetuada pela Técnica Imunoenzimática (Imunohistoquímica) de Peroxidase/Anti-Peroxidase - PAP, através do uso de anticorpos monoclonais específicos para

“marcadores” selecionados para as principais células mononucleares inflamatórias. A técnica foi conduzida da seguinte forma:

Os tecidos em blocos de parafina foram processados no criostato e as secções de tecido de cada paciente sob estudo foram fixadas em várias lâminas. As mesmas foram, então, descongeladas e lavadas em TBS e em seguida na solução de peróxido de hidrogênio, para bloquear a ação da peroxidase endógena. Em seguida, as secções foram tratadas com o soro normal de coelho, por 20 minutos, a fim de limpar os epítomos, facilitando a leitura das lâminas. A seguir, as secções foram recobertas com 20 µL de anticorpo primário de camundongo anti-humano (anticorpo monoclonal específico para os marcadores celulares CD₄₃, CD₆₈ e CD₂₀, para linfócitos T, macrófago e linfócitos B, respectivamente) e incubadas em câmara úmida, a 4°C, durante 16-18 horas. Então, as secções teciduais lavadas em TBS e, em seguida, novamente incubadas com anticorpo anti-camundongo biotilado de coelho, por 30 minutos. Posteriormente, elas foram banhadas em TBS e tratadas com o complexo avidina-biotina-peroxidase por 30 minutos, para a amplificação da reação. Em seguida, as lâminas foram lavadas em TBS e incubadas na solução de substrato à peroxidase, a diaminobenzidina (DAB), para revelar a reação imunoenzimática. Na fase final, as lâminas foram lavadas em água corrente/destilada e submetidas à contra-coloração com hematoxilina de Harris, desidratadas em concentrações crescentes de álcoois e xilol. Por fim, as secções gengivais foram cobertas com bálsamo do Canadá e lamínulas, e prontificadas para exames microscópicos.

As secções gengivais coradas para os marcadores celulares e contra-coradas, foram examinadas no microscópio óptico, sob imersão de óleo de objetiva x100, para identificar as células “coradas” pela reação enzimática da peroxidase sobre o substrato. Houve um esforço para se examinar o máximo possível de campos microscópicos de cada secção, para avaliar a presença e a distribuição da célula mononuclear sob avaliação, como, também, o grau da intensidade da presença do mesmo na lesão, para tornar o resultado encontrado o mais representativo ao processo inflamatório em curso no paciente. Cada um dos três parâmetros celulares avaliados pelos marcadores CD₄₃ (Célula T), CD₆₈ (Macrófago) e CD₂₀ (Célula B), foi examinado em secções distintas marcadas, com o anticorpo monoclonal empregado para caracterizar um único marcador celular. Desta forma, cada tecido gengival biopsiado foi examinado em três grupos, representando os três tipos de células inflamatórias presentes nas gengivas hiperplasiadas.

Todos os resultados dos exames histológicos e imunohistoquímicos foram devidamente documentados pela fotomicrografia. O processo foi realizado no Departamento de Patologia e Medicina Legal, Faculdade de Medicina, UFC.

3.8 Análises Estatísticas

Com o propósito de atingir os objetivos deste estudo, os dados nominais (ausência de inflamação, inflamação leve, inflamação moderada e inflamação intensa) foram codificados em números (de 0 a 3 consecutivamente) e contou-se o número de observações de cada atributo. Foram descritos em termos de frequência absoluta (f) e relativa (%), sendo apresentados em quadro e diagramas de barras. Para comparar os dados nominais utilizou-se o teste Qui-quadrado, que constitui uma medida da discrepância entre as frequências observadas e as esperadas.

Os dados contínuos foram trabalhados através da estatística descritiva (mediana, média e desvio padrão) e inferencial (teste t Studente para amostra dependentes), sendo apresentados em quadro.

Em todas as situações, foi utilizado o nível de significância de 5% ($p \leq 0,05$).

3.9 Aspectos Éticos

3.9.1 Considerações éticas e reguladoras

Este estudo foi realizado em conformidade às Diretrizes e Normas de Pesquisa em Seres Humanos, estabelecidas pelo Conselho Nacional de Saúde em outubro de 1996, após aprovação pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Universitário Walter Cantídio da UFC-CE (Of. N^o 234/05 da COMEPE, em ANEXOS).

3.9.2 Consentimento pós-informação

Antes do início, os pacientes voluntários foram informados sobre objetivos do estudo, os métodos a serem utilizados, os benefícios previstos e potenciais riscos e incômodo aos quais possam ser submetidos. Foram cientificados que informações pessoais deles obtidas serão tratadas com confidencialidade, mantendo-se o anonimato do paciente quando das eventuais divulgações em fóruns e veículos científicos. Também foi esclarecido que a participação no estudo seria voluntária, com livre direito de se retirar a qualquer momento, sem fornecer o motivo e sem prejuízo ao tratamento junto ao Serviço de Periodontia da UFC. De cada voluntário obteve-se o termo de consentimento livre e esclarecido, antes do início do ensaio clínico (ANEXO I).

4 RESULTADOS

4.1 Pacientes com Aumento Gengival

Antes do início do tratamento, todos os pacientes apresentavam a condição clínica da gengivite, com crescimento do tecido gengival. O crescimento gengival cobria a parte da estrutura dentária, variando de um terço a dois terços da face dentária, e apresentava sangramento marginal (Figura 3).

Antes do uso da clorexidina



Após o uso da clorexidina



Figura 3: Aspectos clínicos do aumento gengival em pacientes, antes e após o tratamento com a clorexidina.

4.2 Efeito da Solução de Clorexidina 0,12% no Tecido Gengival sob Avaliação Histológica

4.2.1 Sítios controles – sem utilização da solução de clorexidina 0,12%

A análise histopatológica do tecido gengival nos pacientes examinados, mostrou que no início da pesquisa, no primeiro momento cirúrgico, todos os participantes desse estudo apresentavam processo inflamatório no tecido conjuntivo das peças cirúrgicas avaliadas. Dentre os pacientes examinados observamos que os processos inflamatórios variavam de leve

a intenso, dentro do grau de severidade da inflamação. Todas as lâminas apresentaram um número acentuado de células macróficas em relação a qualquer outro tipo de células inflamatórias. O número de neutrófilos polimorfonucleares foi considerado baixo quando comparado ao número de macrófagos existentes. Cada paciente analisado na pesquisa funcionou como um auto-controle, a fim de comparar as duas avaliações das biópsias, antes do uso da solução de clorexidina 0,12% e após o uso dessa substância.

O quadro clínico com processo inflamatório foi constatado com a evidência de um concentrado de células inflamatórias no tecido conjuntivo gengival.

Os tecidos submetidos a biópsia apresentavam alterações celulares, evidenciando células inflamatórias em quantidade superior ao normal, quando são comparados aos encontrados em tecidos gengivais saudáveis (Figuras 4 e 5).

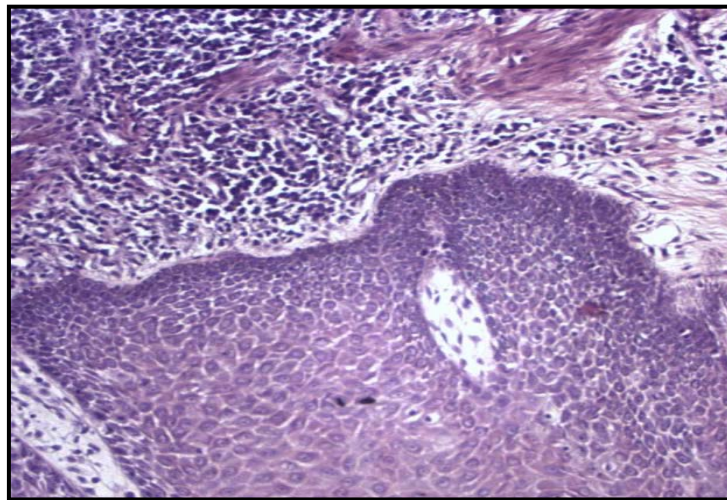


Figura 4: Lâmina histológica do crescimento gengival com processo inflamatório intenso. (coloração Hematoxilina – Eosina, objetiva x 40)

4.2.2 Sítios após o uso da solução de clorexidina 0,12%

Após o uso da solução de clorexidina, exames histológicos nas gengivas revelaram que, dos 14 indivíduos resultantes no estudo, oito tiveram melhora no quadro inflamatório, evidenciada pela diminuição quantitativa do exsudato inflamatório e redução na presença das células inflamatórias. Dos restantes, quatro não sofreram alteração detectável no quadro inflamatório; ao passo que em dois, houve evidências da progressão do processo patológico para um grau mais intenso (Quadro 1).

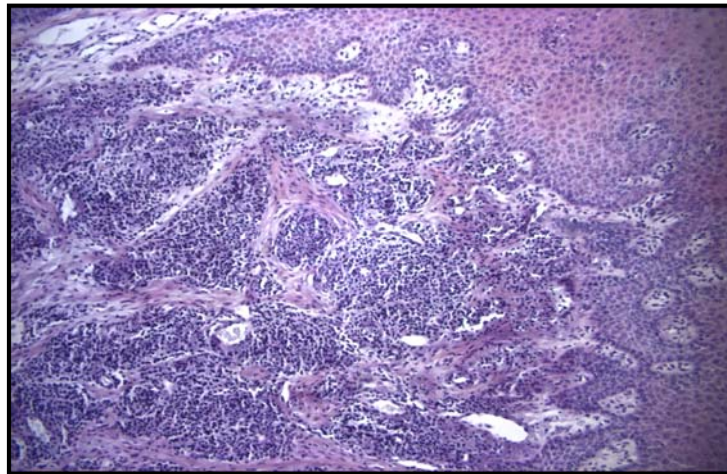


Figura 5: Corte histológico do crescimento gengival antes do tratamento com a clorexidina a 0,12% (coloração Hematoxilina – Eosina, objetiva x 10)

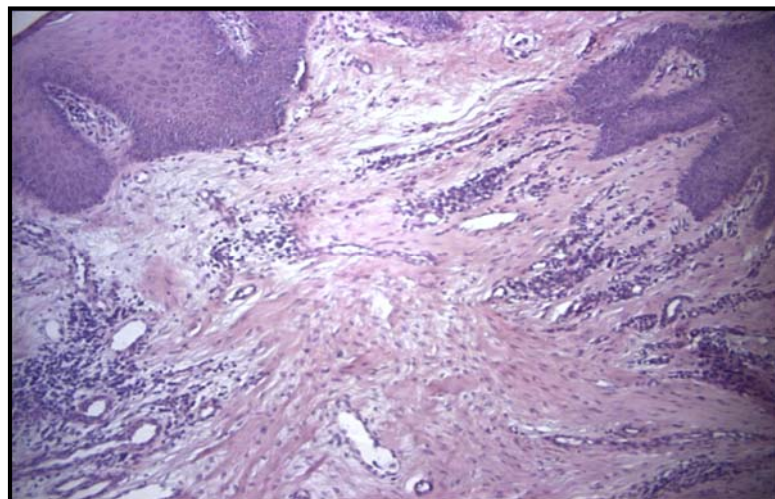


Figura 6: Lâmina histológica do crescimento gengival após o uso da clorexidina. (coloração Hematoxilina – Eosina, objetiva x 10). Processo inflamatório reduzido.

Quadro 1: Resultados das avaliações histológicas dos pacientes com aumento gengival, após tratamento com clorexidina.

INDIVÍDUO	ANTES DO TRATAMENTO (INTENSIDADE DA INFLAM. GENGIVAL)	APÓS TRATAMENTO (INTENSIDADE DA INFLAM. GENGIVAL)	ALTERAÇÃO NO QUADRO
FRCB	2	1	↓
LSA	3	1	↓
TPCS	3	1	↓
BAA	3	3	---
JCT	3	1	↓
MLLS	2	3	↑
JF	3	1	↓
RRFA	1	0	↓
ADSN	3	3	---
AEPS	1	3	↑
AMB	3	3	---
DAS	3	3	---
RSC	1	0	↓
BOR	3	1	↓

Legendas:

0 = Ausência da Inflamação (---) = Sem alteração no quadro

1 = Inflamação leve; 2 = Inflam. moderada; 3 = Inflam. intensa

↓ = Redução da inflamação ↑ = Intensificação da inflamação

Figura 7. Frequência absoluta do quadro inflamatório gengival de pacientes com aumento gengival (n = 14), antes e após uso da clorexidina. Eixo x = n.

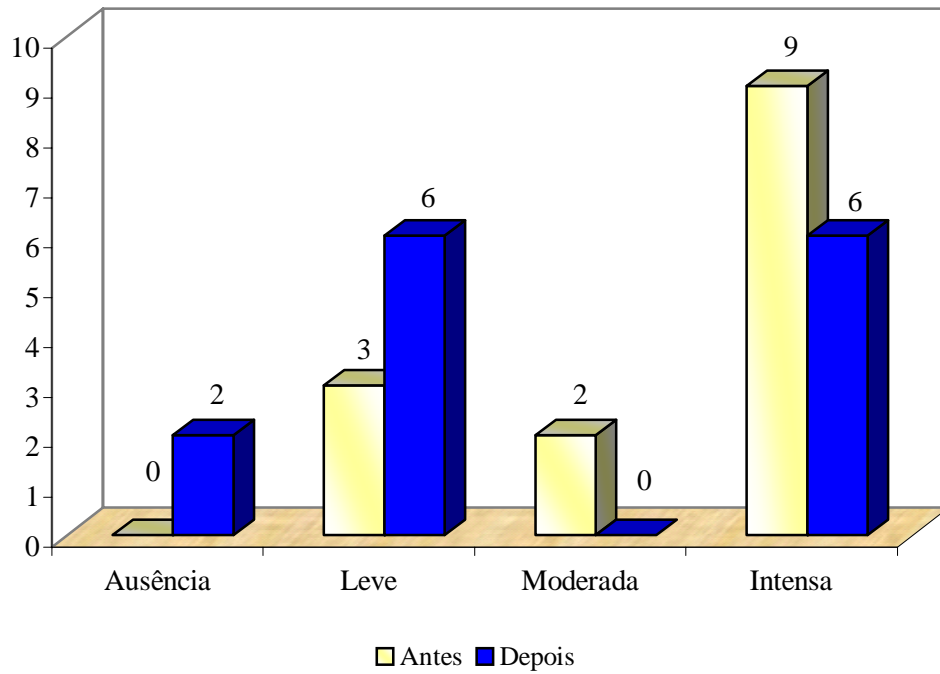


Figura 8: Porcentagem de alteração do grau de inflamação gengival em pacientes com aumento gengival, após uso da clorexidina.

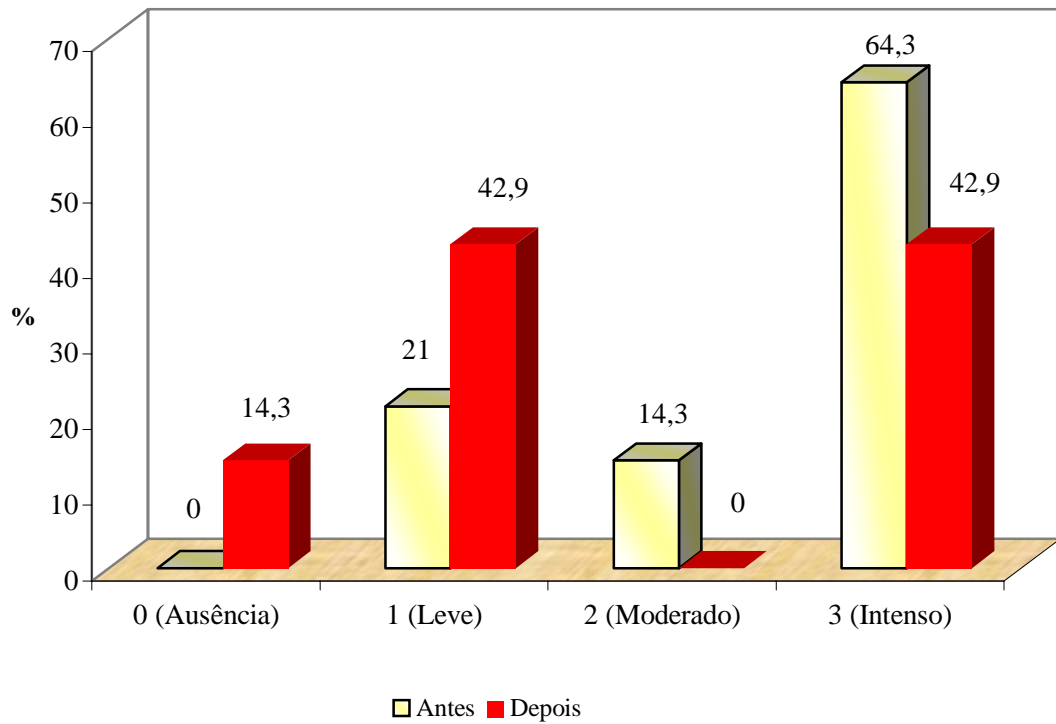
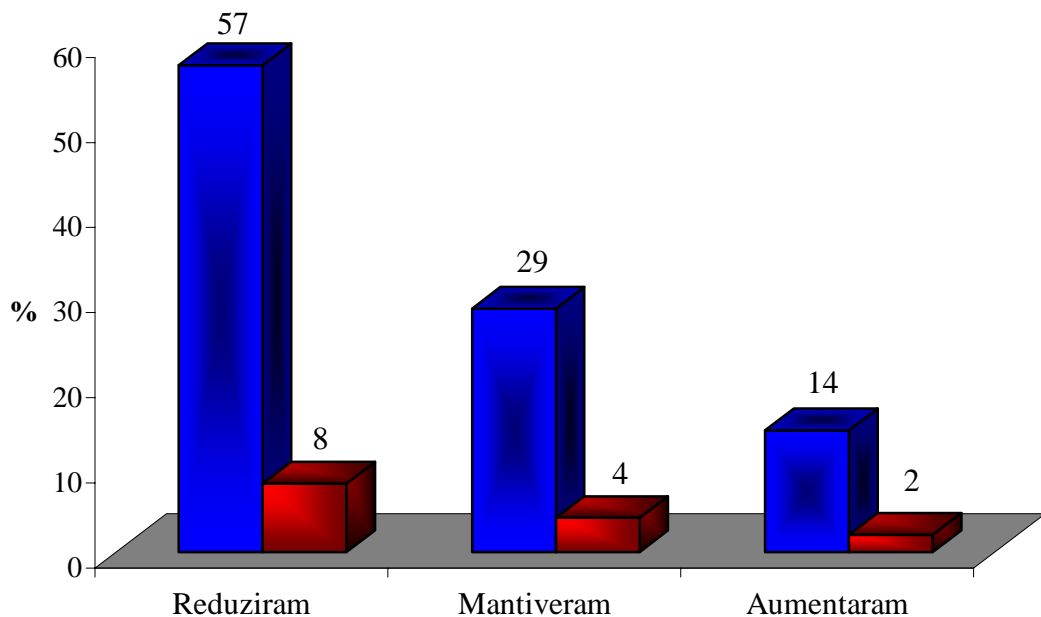


Figura 9: Frequência absoluta e relativa do quadro inflamatório gengival de pacientes com aumento gengival, após uso da clorexidina. Colunas em azul = porcentagem, colunas em vermelho = pacientes.



4.3 Imunohistoquímica para Detecção de Células Mononucleares

Avaliações imunohistoquímicas para a caracterização das células mononucleares nas gengivas de pacientes, antes e depois do tratamento com a clorexidina, revelaram moderadamente alterados, para os linfócitos T (CD₄₃₊), macrófagos (CD₆₈₊) e linfócitos B (CD₂₀₊) (Figuras 11, 12 e 13). A presença dos macrófagos nas gengivas foi marcadamente maior em todos os pacientes, tanto antes quanto após o tratamento. Em comparação, os linfócitos T e B estavam presentes em números significativamente menores, porém sem revelar diferenças significativas nas médias e medianas entre si. Esses resultados estão apresentados no Quadro 2.

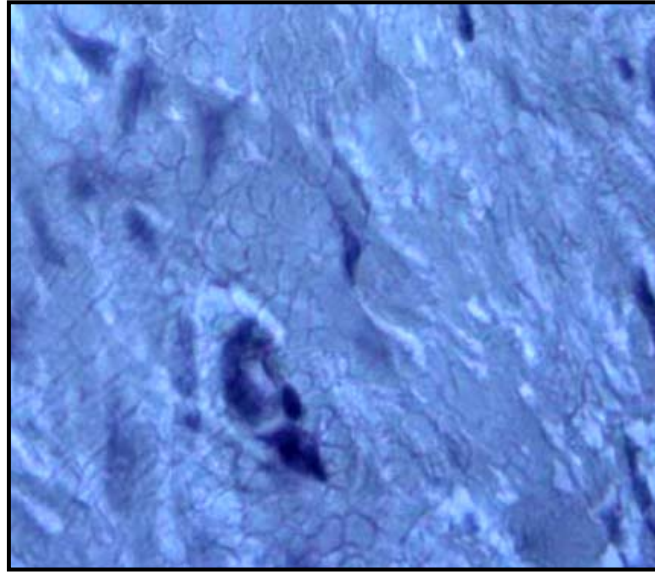


Figura 10: Visualização imunohistoquímica dos Linfócitos T ($CD43^+$) em gengivas de pacientes com aumento gengival e processo inflamatório (método PAP, objetiva x100).

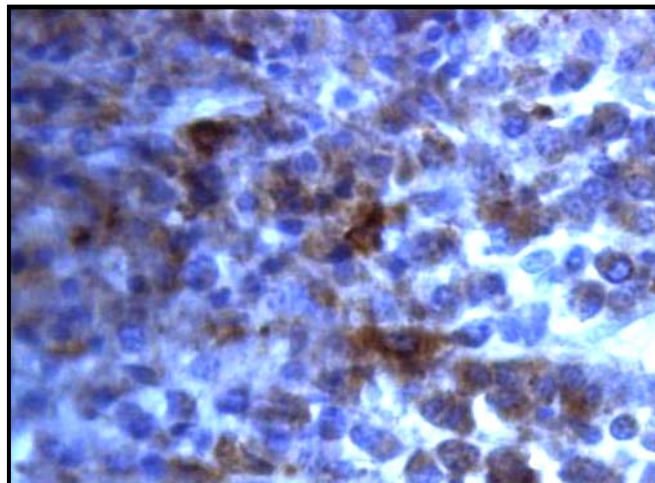


Figura 11: Visualização imunohistoquímica dos Macrófagos ($CD68^+$) em gengivas de pacientes com aumento gengival e processo inflamatório, antes do tratamento com a clorexidina (método PAP, objetiva x100).

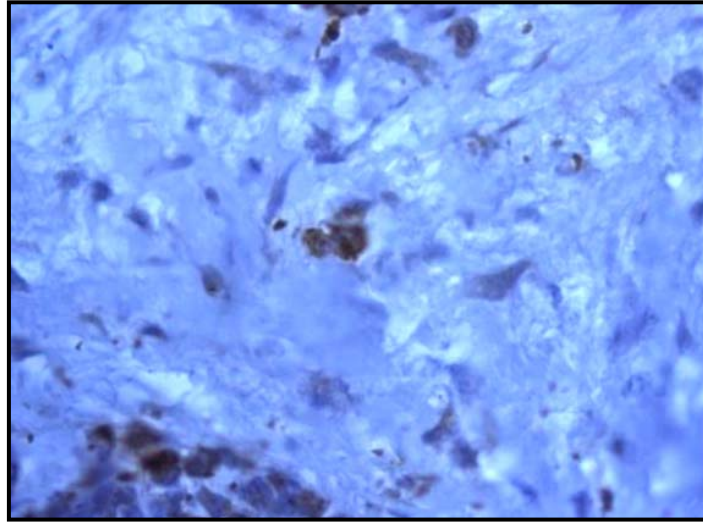


Figura 12: Visualização imunohistoquímica dos Linfócitos B (CD₂₀₊) em gengivas de pacientes com aumento gengival e processo inflamatório (método PAP, objetiva x100).

Para os linfócitos T, os valores (média e mediana) revelaram um discreto aumento após o tratamento, em comparação com os valores da primeira fase da experiência (antes do tratamento). Essa mesma tendência foi observada, também, para os linfócitos B. Os valores, da média e da mediana, foram moderadamente mais elevados do que os valores observados para os linfócitos T. Os valores do linfócito B apresentaram elevação de aproximadamente 40% após o tratamento, todavia a diferença se mostrou não significativa.

O tratamento com a clorexidina proporcionou uma redução, de ordem 35% a 40% nos valores média e mediana, dos macrófagos nos tecidos gengivais de pacientes, comprovando a tendência para diminuição do processo inflamatório (Quadro 2).

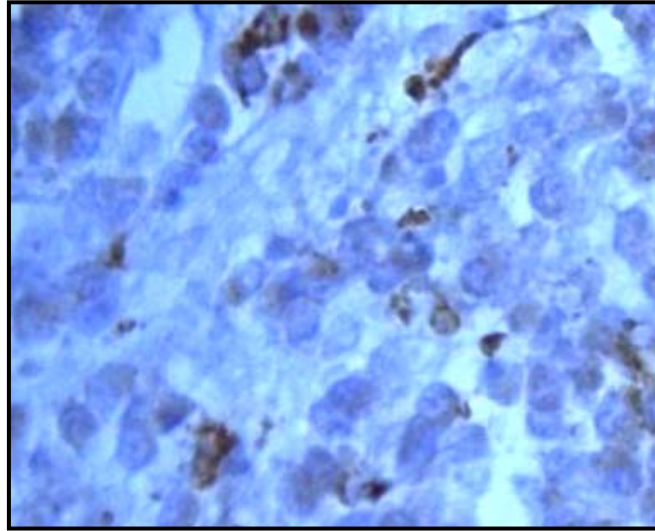


Figura 13: Visualização imunohistoquímica de macrófagos (CD₆₈₊) na gengiva de pacientes com crescimento gengival, com processo inflamatório, após o uso de clorexidina (método PAP, objetiva x100).

Células mononucleares (Marcadores celulares)	Antes do tratamento *		Depois do tratamento *	
	Linfócito T (CD ₄₃₊)	Mediana	5**	Mediana
Média ± DP		5,66 ± 2,07 **	Média ± DP	8,25±1,71 †
Macrófago (CD ₆₈₊)	Mediana	55	Mediana	40
	Média ± DP	62,6 ± 16,44 † †	Média ± DP	40,5 ± 9,15 † †
Linfócito B (CD ₂₀₊)	Mediana	7	Mediana	12
	Média ± DP	9 ± 4,64 †	Média ± DP	12,75 ± 6,99 †

Quadro 2: Valores das células mononucleares nas gengivas de pacientes portadores de aumento gengival, antes e após o tratamento com clorexidina (método imunohistoquímico - PAP).

Legendas:

* Tratamento com clorexidina a 0,12% por 10 dias.

**Valores em 6 campos microscópicos (x100) por lâmina do corte histológico.

† Diferença não significativa

† † Diferença significativa, a $p = 0,05$

5 DISCUSSÃO

O aumento gengival é uma condição anormal do tecido periodontal que pode estar ligada ao processo inflamatório, visto que a existência de profundidade à sondagem, conseqüência da formação de uma falsa bolsa periodontal, é um fator preponderante, bem como um nicho de bactérias orais, para que esses pacientes desenvolvam a gengivite, trazendo dificuldades de higienização local pelos pacientes, o que subsidia o início do processo inflamatório local.

Os pacientes deste estudo foram selecionados por apresentarem a condição de aumento gengival, revelando evidências clínicas do processo inflamatório no tecido conjuntivo, com uma descaracterização anatômica do seu aspecto de normalidade. As prováveis causas do aumento gengival dos pacientes não eram conhecidas. Todos os indivíduos incluídos neste estudo apresentavam o quadro clínico do processo inflamatório gengival, e exames histológicos preliminares em biópsias iniciais das gengivas comprovaram esse diagnóstico, o que levava a desconfiar que o aumento gengival se relacionava, de alguma forma, ao processo inflamatório. A literatura relaciona alguns fatores com a evolução dos processos inflamatórios gengivais para o quadro de hiperplasia; dentre eles: hormônios (BOYAROVA *et al.*, 2001); anfetamina (HASAN E CIANCIO, 2004); drogas a base de diltiazem (MIRANDA *et al.*, 2005) e medicamentos como fenitoína, ciclosporina, nifedipina (EGGERATH *et al.*, 2005; GRASSI *et al.*, 2006). O levantamento dos históricos revelou que, exceto a placa dentária, nenhuma dessas conhecidas condições poderiam ter sido a causa do crescimento gengival dos pacientes. Um dos 14 indivíduos relatou ter sido submetido à remoção cirúrgica da gengiva hiperplasiada, em dois momentos distintos e anteriores ao presente estudo, o que caracterizou uma condição existente há algum tempo, porém sem associação a nenhum fator externo considerado relacionado ao crescimento hiperplásico. Uma avaliação cuidadosa dos históricos dos pacientes nos leva a acreditar que os quadros hiperplásicos gengivais eram espontâneos e inespecíficos.

Neste estudo, objetivou-se avaliar, inicialmente, a comprovação das evidências clínicas da gengivite em pacientes com hiperplasia gengival.

Avaliações histológicas realizadas nas biópsias gengivais dos pacientes hiperplásicos demonstraram que nove dos 14 indivíduos (64,3%) tinham o quadro inflamatório intenso (grau 3), dois apresentavam inflamação moderada (grau 2) e os três restantes tinham

características de inflamação leve (grau 1) (Quadro 1). A constatação da inflamação intensa na grande maioria dos pacientes, e a existência do processo inflamatório nas gengivas hiperplasiadas de todos os pacientes, parecem comprovar uma relação definitiva entre a hiperplasia e a inflamação gengival.

Boyarova *et al.*, (2001) considerou que os hormônios poderiam modificar o processo inflamatório, provocando o crescimento gengival, estabelecendo dessa forma uma relação indireta entre as duas patologias. Vescovi *et al.*, (2003) associou as alterações morfológicas no crescimento gengival (hiperplasia) induzido por drogas, à inflamação induzida pela placa bacteriana. Radwan-Oczko *et al.*, 2004, constaram elevados índices de inflamação em casos de hiperplasia gengival relacionados ao tratamento com a ciclosporina. Kato *et al.*, (2006) opinaram que o TNF- α , citocina proeminentemente associada ao processo inflamatório crônico, poderá provocar o crescimento gengival, sugerindo que o processo inflamatório em curso (crônico) poderá induzir o crescimento gengival. Hakki *et al.*, (2005) e Mavrogiannis *et al.*, (2006) consideraram que o controle da hiperplasia gengival exigia a contenção da placa bacteriana, além da remoção cirúrgica, sugerindo, dessa forma, que o controle do processo inflamatório seria necessário para o combate ao ressurgimento da hiperplasia gengival.

A literatura aqui revisada parece ser um tanto contraditória, no que diz respeito à relação da inflamação ao processo de crescimento gengival. Considerando-se o fato de que todos esses trabalhos acima citados, ainda não parece ter um consenso se a inflamação é a causa, ou a consequência, do aumento gengival. O presente trabalho se limitou a demonstrar, apenas, a relação entre essas duas patologias, sem investigar se os pacientes eram portadores da inflamação gengival crônica antes da alteração de crescimento gengival, ou a inflamação foi posterior ao crescimento da gengiva, por não ter sido possível realizar tal investigação durante o período de realização deste estudo.

O presente estudo avaliou, também, o efeito do tratamento com a clorexidina sobre o processo inflamatório na gengiva em pacientes com aumento gengival. No colutório empregado para o tratamento dos pacientes, a concentração de 0,12% da clorexidina foi utilizada, a qual foi amplamente demonstrada ser a mais eficaz, em diversos estudos, para a contenção da placa bacteriana e para o controle da inflamação em doenças bucais (BORRAJO *et al.*, 2002; KEIJSER *et al.*, 2003; SREENIVASAN e GITTINS, 2004; BASCONES *et al.*, 2005).

Dentre os pacientes tratados, 57% apresentaram uma redução detectável no quadro inflamatório (Figura 10), revelando que a clorexidina exerceu, de fato, um efeito de controle sobre o processo inflamatório associado ao crescimento gengival (dos 14 pacientes tratados, dois apresentaram a redução total da inflamação; em cinco, o índice de inflamação diminuiu de 3 para 1; e mais um revelou redução da inflamação do grau 2 para 1).

O presente estudo, também, revelou que o tratamento a clorexidina não proporcionou melhora no quadro inflamatório em seis dos 14 (43%) pacientes: em quatro indivíduos (29%) o quadro inflamatório inicial se manteve inalterado apesar do tratamento, e em dois dos pacientes (14%), o processo inflamatório avançou durante o período do tratamento. As razões para essas últimas duas observações são desconhecidas. É possível especular que no grupo de pacientes que não responderam à clorexidina, o quadro inflamatório tornou-se refratário ao tratamento, talvez pela razão de ter evoluído ao “ponto-sem-retorno”, ou o processo inflamatório não estava relacionado à infecção originária da placa bacteriana. E nos dois que sofreram o avanço da inflamação, é provável que o processo estava sendo promovido pela atuação exagerada dos elementos do sistema imune hiperativado.

Neste estudo, não foi possível avaliar se o tratamento com a clorexidina reduziria significativamente o crescimento gengival nos pacientes devido, principalmente, à limitação de tempo do estudo. Haja vista que a clorexidina só foi administrada pelo período de 10 dias nos pacientes com a hiperplasia gengival, o objeto principal do estudo tem sido os efeitos da clorexidina sobre o processo inflamatório, e não a possível redução do aumento gengival em tão curto tempo. É provável que a reversão de crescimento sofrido pelo tecido gengival, mesmo que a clorexidina seja capaz de promover tal efeito, seja lento e gradual, necessitando o tratamento por muito mais tempo do que os poucos dias de aplicação empregada neste estudo. Havia alguns indícios nos dados coletados nesse trabalho, mostrando que houve uma certa redução no volume da gengiva hiperplasiada em todos os pacientes tratados com a clorexidina, porém não foi possível realizar nas gengivas dos pacientes os exames histológicos específicos e detalhados necessários para a verificação da alteração no quadro hiperplásico. Considerando-se que a clorexidina proporcionou uma diminuição do aspecto de hiperemia e de edema gengival marginal, parece razoável supor que o prolongamento do tratamento por algumas semanas, ou até por alguns meses, poderá efetuar uma reversão substancial, ou até completa, do tecido gengival.

No presente trabalho, estudos imunohistoquímicos, também, foram realizados nas gengivas de pacientes portadores de hiperplasia gengival, antes do tratamento com a clorexidina e após este. A técnica da imunohistoquímica é valiosa para a evidência individual das células inflamatórias engajadas no processo inflamatório gengival, mediante a identificação de marcadores celulares específicos, o que é imprescindível para a caracterização da resposta imune envolvida no processo inflamatório em curso. Tais dados ajudam na caracterização do processo inflamatório como uma resposta inespecífica do sistema imune à presença do agente infeccioso em tecido, ou como uma resposta inflamatória específica do organismo frente à infecção. A constatação da presença majoritária das células mononucleares (linfócitos e monócito/macrófagos) nos tecidos inflamados caracteriza, de um modo geral, a construção do processo imune-inflamatório, com atividade dos linfócitos T CD₄₊ que gera as citocinas IL-2, IFN- γ , TNF, GM-CSF, dentre outras, responsáveis pelo recrutamento e ativação dos monócitos/macrófagos que constroem o processo inflamatório crônico nos tecidos periodontais. A atuação do linfócito T CD₄₊, uma das duas células do sistema imune que se ativam mediante o reconhecimento específico de antígenos dos agentes infecciosos, confere a esse processo o caráter de uma resposta inflamatória imune-mediada, a qual, pela própria natureza e dinâmica, é duradora e mais destrutiva para as estruturas do periodonto (FUJIHASHI *et al.*, 1993). Embora ambos os linfócitos T e macrófago estejam conjuntamente envolvidos no desencadeamento do processo inflamatório, a presença relativa dos macrófagos é sempre majoritária e os linfócitos T respondem por 10 a 20% das células inflamatórias. Nas lesões imune-inflamatórias, a presença dos linfócitos B geradores de anticorpos, é normalmente limitada e discreta, podendo predominar em lesões necróticas e supurativas das doenças periodontais.

Avaliações imunohistoquímicas constataram a presença dos Linfócitos T CD₄₃₊ e monócito/macrófagos (CD₆₈₊) comprovando o estado ativado e funcional destas células nas gengivas de pacientes portadores hiperplásicos não tratados com a clorexidina, como, também, após esse tratamento para o controle do processo inflamatório (Quadro 2), o que confirma o processo inflamatório como imune-mediado. Todavia, esta investigação não pode esclarecer se o estímulo antigênico, essencial para o desencadeamento da resposta imune específica, veio de algum componente do tecido aumentado ou dos microrganismos que por ventura se estabeleceram no tecido gengival.

Os dados apresentados no Quadro 2, revelam que, em ambos os momentos da pesquisa, a presença dos monócitos/macrófagos foi substancialmente maior, do que dos linfócitos T e B. Nos linfócitos, os da linhagem B foram evidenciados em valor médio ligeiramente maior que o dos linfócitos T, tanto antes quanto depois do tratamento. Os dados revelam, também, que as presenças dos linfócitos T e B se elevaram nas gengivas tratadas com a clorexidina. Apesar dos aumentos em aproximadamente 40%, os valores médios das duas células não se mostraram estatisticamente significantes. O aumento dos dois linfócitos após o tratamento poderá representar uma maior atividade dessas células nas respostas imunes direcionadas para o controle dos agentes infecciosos que por ventura estejam presentes, reforçando, dessa forma, o efeito da clorexidina no controle da inflamação gengival.

Essas avaliações imunohistoquímicas comprovaram que o tratamento com a clorexidina resultou na redução substancial dos macrófagos, embora diferença nos valores médios estivesse situada apenas no nível de significância de 5%. Considerando que o macrófago, sob o comando das citocinas do linfócito T CD₄₊, se comporta como o carro-chefe do processo inflamatório, essa redução representa um controle realmente importante da gengivite nos pacientes hiperplásicos.

Pernu e Knuutila, 2001, e Galogre *et al.*, 2005, verificaram imunohistoquimicamente que o tecido gengival hiperplásico apresentava um alto índice de células linfocitárias T e B. O presente estudo comprova a presença dos linfócitos T e B nas gengivas de todos os pacientes com aumento gengival, porém em valores médios discretos. Os dados desse estudo se encontram parcialmente de acordo com as observações desses autores. Por outro lado, em estudos anteriores, Fisher e Klinge, 1994, e Ayanoglou e Lesty, 1999, encontraram as células polimorfonucleares, e não das células mononucleares, em maior prevalência nas gengivas de pacientes com o processo inflamatório gengival associado à hiperplasia. Os dados da presente investigação não estão de acordo com estes relatos. É provável que esses dois estudos tenham sido realizados em pacientes com gengivite aguda e recente, associado aos processos infecciosos. Na gengivite crônica e estabelecida, a dinâmica das respostas imunes resulta na participação das células mononucleares, com predominância dos macrófagos; consistente com o que foi evidenciado no presente estudo, e por Nurmenniemi *et al.*, 2002.

Nakajima *et al.*, 2005, relataram que o número de células linfocitárias é bem maior em pacientes com processos inflamatórios mais intensos. Estes estudos não esclareceram se “o

processo inflamatório mais intenso” significava inflamação necrosante e supurativa, na qual evidencia-se a presença marcante dos linfócitos B e plasmócitos. Embora todos os pacientes investigados no presente estudo tivessem revelado o processo inflamatório gengival, apenas nove dos 14 pacientes revelaram um quadro histológico considerado “intenso”, com graus clínicos da intensidade um tanto diferente.

Em conjunto com os dados histológicos das gengivas, os resultados das avaliações imunohistoquímicas do presente estudo sugerem que o tratamento a base de clorexidina pode ser eficaz no controle do processo inflamatório associado ao aumento gengival.

6. CONCLUSÕES

- Exames histológicos das biópsias nas gengivas de 14 pacientes portadores de aumento gengival revelaram processo inflamatório acentuado (grau 3) em nove, inflamação moderada em três (grau 2), e inflamação leve (grau 1) em dois;
- Avaliações imunohistoquímicas pelo método PAP, utilizando anticorpos monoclonais para os marcadores CD₄₃ (linfócito T), CD₆₈ (macrófago) e CD₂₀ (linfócito B), constataram presença dessas células nas gengivas; o que caracteriza o processo inflamatório como expressão da imunidade adaptativa (específica) direcionada contra algum antígeno - do agente infeccioso ou do tecido hiperplásico;
- Bochechos de clorexidina (0,12%, 30s diários por 10 dias, manhã e noite) resultaram na redução histológica do processo inflamatório gengival em 57% dos pacientes, e não alteraram o quadro em quatro (29%). Em 14% dos pacientes, a gengivite apresentou evolução para o grau maior;
- Exames imunohistoquímicos evidenciaram uma redução substancial (~40%) dos macrófagos nas gengivas, após o tratamento, significando um reduzido envolvimento dessas células no processo inflamatório. Os linfócitos T e B apresentaram uma moderada elevação, possivelmente sinalizando uma maior atuação nos processos imunes de defesa;
- Esses dados indicam que existe uma associação definitiva entre o aumento e a inflamação gengival, e a clorexidina pode ser eficaz na redução do processo inflamatório gengival associado a essa doença, na grande maioria dos casos.

7 REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

AIMETTI, M.; ROMANO, F.; PRIOTTO, P.; DEBERNARDI, C. Non-surgical periodontal therapy of cyclosporine. A gingival overgrowth in organ transplant patients. Clinical results at 12 months. **Minerva Stomatol.**, v. 54, n. 5, p. 311-31, May 2005a

AIMETTI, M.; ROMANO, F.; DEBERNARDI, C. Effectiveness of periodontal therapy on the severity of cyclosporine A-induced gingival overgrowth. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 8, p. 846-850, Aug 2005b.

AKCA, A. E.; ORTAKOGLU, K.; PIKDOKEN, L.; DEVECI, S. Histopathological evaluation of five unusual gingival enlargement cases. **Mil. Med.**, v. 170, n. 11, p. 986-990, Nov. 2005.

ALY, R. E.; MAIBACH, H. I. Comparative study of the antimicrobial effect of 0,5% chlorhexidine gluconate and 70% isopropyl alcohol on the normal flora of hands. **Appl. Environ. Microbiol.**, v. 37, n. 3, p. 610-613, 1979.

AMANUMA, R.; NAKAJIMA, T.; YOSHIE, H.; YAMAZAKI, K. Increased infiltration of CD1d and natural Killer T cells in periodontal disease tissues. **J. Periodontal Res.**, v. 41, n. 1, p. 73-79, Feb. 2006.

AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. Research, Science and Therapy Committee. American Academy of Pediatric Dentistry. Treatment of plaque-induced gingivitis, chronic periodontitis, and other clinical conditions. **Pediatr. Dent.**, v. 27, n. 7, p. 2002-2011, 2005-2006.

ARMITAGE, G. C. Analysis of gingival crevice fluid and risk of progression of periodontitis. **Periodontology 2000**, v. 34, p. 109-119, 2004.

ASSUMA, R.; OATES, T.; COCHRAN, D.; AMAR, S.; GRAVES, D. T. IL-1 and TNF antagonists inhibit the inflammatory response and bone loss in experimental periodontitis. **J. Immunol.**, v. 160, n. 1, p. 403-409, Jan 1, 1998.

AYLIFFE, G. A. J.; LOWBURY, E. J. L.; GEDDE, A. M.; WILLIAMS, J. D. **Controle de infecção hospitalar. Manual prático.** 3. ed. Rio de Janeiro: Revinter, 1998.

AYANOGLU, C. M.; LESTY, C. Cyclosporin A-induced gingival overgrowth in the rat: a histological, ultrastructural and histomorphometric evaluation. **J. Periodontal Res.**, v. 34, n. 1, p. 7-15, Jan. 1999.

AZMAK, N.; ATILLA, G.; LUOTO, H.; SOUSA, T. The Effect of Subgingival Controlled – Release Delivery of Chlorhexidine Chip on Clinical Parameters and Matrix Metalloproteinase – 8 Levels in Gingival Crevicular Fluid. **J. Periodontol.**, v. 73, p. 608-615, June 2002.

BAKHTADZE, M.; MARGVELASHVILI, V.; AMKAMIDZE, G. Interferon-gama and neopterin in blood serum of patients with chronic periodontitis. **Georgian Med News**, n. 130, p. 50-53, Jan. 2006.

BALASHOVA, N. V.; CROSBY, J. A.; AL GHOFAILY, L.; KACHLANY, S. C.; Leukotoxin confers beta-hemolytic activity to Actinobacillus actinomycetemcomitans. **Infect. Immun.**, v. 74, n. 4, p. 2015-2021, Apr. 2006.

BAQUI, A. A. M. A.; KELLEY, J. I.; JABRA-RIZK, M. A.; DEPAOLA, L. G.; FALKLER, W. A.; MEILLER, T. F. In vitro effect of oral antiseptics on human immunodeficiency virus-1 and herpes simplex virus type 1. **J. Clin. Periodontol.**, v. 28, n. 7, p. 610, July 2001.

BASCONES, A.; MORANTE, S.; MATEOS, L.; MATA, M.; POBLET, J. Influence of additional active ingredients on the effectiveness of non-alcoholic chlorhexidine mouthwashes: a randomized controlled trial. **J. Periodontol.**, v. 76, n. 9, p. 1469-1475, Sep. 2005.

BERNARDI, F.; PINCELLI, M. R.; CARLONI, S.; GATTO, M. R.; MONTEBUGNOLI, L. Chlorhexidine with an Anti Discoloration System. A comparative study. **Int. J. Dent. Hyg.**, v. 2, n. 3, p. 122, Aug. 2004.

BEKLEN, A.; TUTER, G.; SORSA, T.; HANEMAAIJER, R.; VIRTANEN, I.; TERVAHARTIALA, T.; KONTTINEN, Y. T. Gingival tissue and crevicular fluid co-operation in adult periodontitis. **J. Dent. Res.**, v. 85, n. 1, p. 59-63, Jan. 2006.

BODET, C.; CHANDAD, F.; GRENIER, D. Anti-inflammatory activity of a high-molecular-weight Cranberry fraction on macrophages stimulated by lipopolysaccharides from periodontopathogens. **J. Dent. Res.**, v. 85, n. 3, p. 235-239. Mar. 2006.

BORRAJ, J. L. L.; VARELA, L. G.; CASTRO, G. L.; RODRIGUEZ-NUNEZ, I.; FIGUEROA, M. G.; TORREIRA, M. G. Efficacy of chlorhexidine mouthrinses with and without alcohol: a clinical study. **J. Periodontol.**, v. 73, p. 317-321, Mar. 2002.

BOYAROVA, T. V.; DRYANKOVA, M. M.; BOBEVA, A. I.; GENADIEV, G. I. Pregnancy and gingival hyperplasia. **Folia Med (Plovdiv)**, v. 43, n. 1-2, p. 53-56. 2001.

BORSANI, E.; SALGARELLO, S.; MENSI, M.; BONINSEGNA, R.; STACCHIOTTI, A.; REZZANI, R.; SAPELLI, P.; BIANCHI, R.; RODELLA, L. F. Histochemical and immunohistochemical evaluation of gingival collagen and metalloproteinases in peri-implantitis. **Acta Histochem.**, v. 107, n. 3, p. 231-240, 2005.

BREX, M. C.; GAUTSCHI, M.; GEHR, P.; LANG, N. P. Variability of histologic criteria in clinically healthy human gingiva. **J. Periodont. Res.**, v. 22, p. 468-472, 1987.

BREX, M. C.; LEHMANN, B.; SIEGWART, C. M.; GEHR, P. E.; LANG, N. P. Observation on the initial stages of healing following human experimental gingivitis. A clinical and morphometric study. **J. Clin. Periodontol.**, v. 15, p. 123-129, 1988.

BYKOV, V. L. Human gingival immunocompetent cells in the norm and in inflammatory periodontal diseases. **Arkth. Patol.**, v. 67, n. 2, p. 51-55, Mar-Apr. 2005.

CALIFANO, J. V.; AMERICAN ACADEMY OF PERIODONTOLOGY. Research, Science and Therapy Committee. American Academy of Pediatric Dentistry. Periodontal diseases of children and adolescents. **Pediatr. Dent.**, v. 27, n. 7, p. 189-196, 2005-2006.

CETIN, E. O.; BUDUELI, N.; ATILHAN, E.; KIRLMAZ, L. In vitro studies on controlled-release cellulose acetate films for local delivery of chlorhexidine, indomethacin and meloxicam. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 12, p. 1117, Dec. 2004.

CETINKAYA, B. O.; ACIKGOZ, G.; YDIN, O.; KORKMAZ, A.; KELES, G. C. The relationship between proliferating cell nuclear antigen expression and histomorphometrical alterations in cyclosporin A-induced gingival overgrowth in rats. **Toxicol. Pathol.**, v. 34, n. 2, p. 180-186, 2006.

CHANG, YU-CHAO.; YANG, SHUN-FA.; LAI, CHUNG-CHIH.; LIU, JER-YUH.; HSIEH, YIH-SHOU. Regulation of matrix metalloproteinase production by cytokines, pharmacological agents and periodontal pathogens in human periodontal ligament fibroblast cultures. **J. Periodont. Res.**, v. 37, n. 3, p. 196, June 2002.

CLAVERO, J.; BACA, P.; JUNCO, P.; GONZALEZ, M. P. Effects of 0.2% chlorhexidine spray applied once or twice daily on plaque accumulation and gingival inflammation in a geriatric population. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, n. 9, p. 773, Sep. 2003.

CLAYDON, N.; ADDY, M.; JACKSON, R.; SMITH, S.; NEWCOMBE, R. G. Studies on the effect of polyvinyl pyrrolidone on the activity of chlorhexidine mouthrinse: plaque and stain. **J. Clin. Periodontol.**, v. 28, n. 6, p. 558, June 2001.

CLOCHERET, K.; DEKEYSER, C.; CARELS, C.; WILLEMS, G. Idiopathic gingival hyperplasia and orthodontic treatment: a case report. **J. Orthod.**, v. 30, n. 1, p. 13-19, Mar. 2003.

COSYN, J.; WYN, I.; DE ROUCK, T.; SABZEVAR, M. M. A chlorhexidine varnish implemented treatment strategy for chronic periodontitis – short-term clinical observations. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 7, p. 790, July 2005a.

COSYN, J.; WYN, I.; DE ROUCK, T.; COLLYS, K.; BOTTENBERG, P.; MATTHIJS S.; SABZEVAR, M. M. Short-term anti-plaque effect of two chlorhexidine varnishes. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 8, p. 899, Aug. 2005b.

COSYN, J.; WYN, I. A systematic review on the effects of the chlorhexidine chip when used as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 77, n. 2, p. 257-264, Feb. 2006.

COX, S. W.; ELEY, B. M.; KIILI, M.; ASIKAINEN, A.; TERVAHARTIALA, T.; SORSA, T. Collagen degradation by interleukin-1beta-stimulated gingival fibroblasts is accompanied by release and activation of multiple matrix metalloproteinases and cysteine proteinases. **Oral Dis.**, v.12, n. 1, p. 34-40, Jan. 2006.

CULLINAN, M. P.; WESTERMAN, B.; HAMLET, S. M.; PALMER, J. E.; FADDY, M. J.; SEYMOUR, G. J. The effect of a triclosan-containing dentifrice on the progression of periodontal disease in an adult population. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, n. 5, p. 414, May 2003.

DANESHMAND, N.; JORGENSEN, M. G.; NOUZARI, H.; MORRISON, J. L.; SLOTS, J. Initial effect of controlled release chlorhexidine on subgingival microorganisms. **J. Periodontal. Res.**, v. 37, n. 5, p. 375, Oct. 2002.

DELALEU, N.; BICKEL, M. Interleukin-1b and interleukin-8: regulation and activity in local inflammation. **Periodontology 2000**, v. 35, p. 42-52, 2004.

DENTINO, A. R.; KASSAB, M. M.; RENNER, E. J. Prevention of periodontal diseases. **Dent. Clin. North Am.**, v. 49, n. 3, p. 573-594, Jul. 2005.

DIXON, D. R.; BAINBRIDGE, B. W.; DARVEAU, R. D. Modulation of the innate immune response within the periodontium. **Periodontology 2000**, v. 35, n. 1, p. 5, June 2004.

EGGERATH, J.; ENGLISH, H.; LEICHTER, J. W. Drug-associated gingival enlargement: case report and review of aetiology, management and evidence-based outcomes of treatment. **J. N. Z. Soc. Periodontol.**, n. 88, p. 7-14, 2005.

EJEIL, A. L.; IGONDJO-TCHEN, S.; GHOMRASSENI, S.; PELLAT, B.; GODEAU, G.; GOGLY, B. Expression of matrix metalloproteinases (MMPs) and tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMPs) in healthy and diseased human gingiva. **J. Periodontol.**, v. 74, n. 2, p. 188-195, Feb. 2003.

ELLEPOLA, A. N. B.; SAMARANAYAKE, L. P. Adjunctive use of chlorhexidine in oral candidosis: a review. **Oral Dis.**, v. 7, n. 1, p. 11, Jan. 2001.

EMINGIL, G.; ATILLA, G.; BASKESEN, A.; BERDELI, A. Gingival crevicular fluid EMAP-II, MIP-1 α and MIP-1 β levels of patients with periodontal disease. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 8, p. 880-885, Aug. 2005.

FILOCHE, S. K.; SOMA, K.; SISSONS, C. H. Antimicrobial effects of essential oils combination with chlorhexidine digluconate. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 20, n. 4, p. 221, Aug. 2005.

FISCHER, R. G.; KLINGE, B. Clinical and histological evaluation of ligature-induced periodontal breakdown in domestic ferrets immunosuppressed by Cyclosporin-A. **J. Clin. Periodontol.**, v. 21, n. 4, p. 240-249, Apr. 1994.

FRANCETTI, L.; DEL FABBRO, M.; BASSO, M.; TESTORI, T.; TASCHIERI, S.; RWEINSTEIN, R. Chlorhexidine spray versus mouthwash in the control of dental plaque after implant surgery. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 10, p. 857, Oct. 2004.

FUJIHASHI, K.; KONO, Y.; BEAGJEY, K. W.; YAMAMOTO, M.; MCGHEE, J. R.; MESLECKY, J.; KIYONO, H. Cytokines and periodontal disease: Immunopathological role of interleukins for B cell responses in chronic inflamed gingival tissues. **J. Periodontol.**, v. 64, p. 400-406, 1993.

GALOGRE, A. G.; MAGLAKELIDZE, N. N.; TSAGARELI, Z. G. Ultrastructural characteristics of gingival mucous cellular composition in experimental gingivitis. **Georgian Med. News**, n. 120, p. 71-74, Mar. 2005.

GARLET, G. P.; MARTINS, W.; FONSECA, B. A. L.; FERREIRA, B. R.; SILVS, J. S. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 8, p. 671, Aug. 2004.

GARVEY, L. H.; ROED-PETERSEN, J.; HUSUM, B. Anaphylactic reactions in anaesthetized patients – four cases of chlorhexidine allergy. **J. Clin. Periodontol.**, v. 45, n. 10, p. 1290, Nov. 2001.

GILLETT, R.; CRUCHLEY, A. E.; JOHNSON, N. W. The nature of the inflammatory infiltrates in childhood gingivitis, juvenile periodontitis and adult periodontitis. Immunocytochemical studies using a monoclonal antibody to HLA Dr. **J. Clin. Periodontol.**, v. 13, p. 281-288, 1986.

GOODSON, J. M. Gingival crevice fluid flow. **Periodontology 2000**, v. 31, p. 43-54, 2003.

GURGORMUS, M.; AKGUL, H. M.; YILMAZ, A. B.; DAGISTANLI, S.; ERCIYAS, K. Generalized gingival hyperplasia occurring during pregnancy. **J. Int. Med. Res.**, v. 30, n. 3, p. 353-355, May-June 2002.

GURGAN, C. A.; ZAIM, E.; BAKIRSOY, I.; SOYKAN, E. Short-term side effects of 0,2% alcohol-free chlorhexidine mouthrinse used as an adjunct to non-surgical periodontal treatment: a double-blind clinical study. **J. Periodontol.**, v. 77, n. 3, p. 370-384, Mar. 2006.

GRASSI, F. R.; PAPPALARDO, S.; BAGLIO, A. O.; FRATEIACCI, A.; SCORTICHIN, A.; PAPA, F.; DE BENEDETTIS, M.; PETRUZZI, M. Gingival overgrowth in renal transplant recipients induced by pharmacological treatment. Review of the literature. **Minerva Stomatol.**, v. 55, n. 1-2, p. 59-65, Jan-Feb. 2006.

GRÜNDEMANN, L. J. M. M.; TIMMERMAN, M. F.; IJZERMAN, Y.; VAN DER VELDEN, U.; VAN DER WEIJDEN, G. A. Satín, plaque and gingivitis reduction by combining chlorhexidine and peroxyborato. **J. Clin. Periodontol.**, v. 27, n. 1, p. 9-15, Jan. 2000.

HAKKI, S. S.; ATAOGU, T.; AVUNDUK, M. C.; ERDEMLI, E.; GUNHAN, O.; RAHMAN, N. Periodontal treatment of two siblings with juvenile hyaline fibromatosis. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 9, p. 1016-1021, Sep. 2005.

HASAN, A. A.; CIANCIO, S. Relationship between amphetamine ingestion and gingival enlargement. **Pediat. Dent.**, v. 26, n. 5, p. 396-400, Sep.-Oct. 2004.

HIROSE, M.; ISHIHARA, K.; SAITO, A.; NAKAGAWA, T.; YAMADA, S.; OKUDA, K. Expression of cytokines and inducible nitric oxide synthase in inflamed gingival tissue. **J. Periodontol.**, v. 72, n. 5, p. 590-597, May 2001.

HONDA, T.; DOMON, H.; OKUI, T.; KAJITA, K.; AMANUMA, R.; YAMAZAKI, K. Balance of inflammatory response in stable gingivitis and progressive periodontitis lesions. **Clin. Exp. Immunol.**, v. 144, n. 1, p. 35-40, Apr. 2006.

HORWITZ, J.; MACHTEI, E. E.; ZUABI, O.; PELEOL, M. Amine fluoride/stannous fluoride and chlorhexidine mouthwashes as adjuncts to single – stage dental implants: a comparative study. **J. Periodontol.**, v. 76, n. 334-340, Mar. 2005.

HOULE, M. A.; GRENIER, D.; PLAMONDON, P.; NAKAYAMA, K. The collagenase activity of porphyromonas gingivalis is due to Arg-gingipain. **FEMS Microbiol. Lett.** v. 221, n. 2, p. 181-185, Apr. 2003.

IMAMURA, T. The role of gingipains in the pathogenesis of periodontal disease. **J. Periodontol.**, v. 74, n. 1, p. 111-118, Jan. 2003.

KANER, D.; BERNIMOULIN, J. P.; KLEBER, B. M.; HEIZMANN, W. R.; FRIEDMANN, A. Gingival crevicular fluid levels of calprotectin and myeloperoxidase during therapy for generalized aggressive periodontitis. **J. Periodontol. Res.**, v. 41, n. 2, p. 132-139, Apr. 2006.

KATO, T.; OKAHASHI, N.; OHNO, T.; INABA, H.; KAWAI, S.; AMANO, A. Effect of pheytoin on collagen accumulation by human gingival fibroblasts exposed to TNF- alpha in vitro. **Oral Dis.**, v. 12, n. 2, p. 156-162, Mar. 2006.

KEIJSER, J. A. M.; VERKADE, H.; TIMMERMAN, M. F.; WEIJDEN, F. A. V. Comparison of 2 commercially available chlorhexidine mouthrinses. **J. Periodontol.**, v. 74, p. 214-218, Feb. 2003.

KFIR, Y.; BUCHNER, A. E.; HANSEN, L. S. Reactive lesions of the gingival. A clinicopathological study of 741 cases. **J. Periodontol.**, v. 51, p. 655-661, 1980.

KIKUCHI, T.; WILLIS, D. L.; LIU, M.; PURKALL, D. B.; SUKUMAR, S.; BARBOUR, S. E.; SCHENKEIN, H. Á.; TEW, J. G. Dendritic-Nk cell interactions in P. gingivalis-specific responses. **J. Dent. Res.**, v. 84, n. 9, p. 858-862, Sep. 2005.

KINANE, D. F. Causation and pathogenesis of periodontal disease. **Periodontology 2000**, v. 25, p. 8-20, 2001.

KINANE, D. F.; LINDHE, J. Patogênese da periodontia. In: LINDHE, J. **Tratado de periodontia clínica e implantologia oral**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1997.

KINANE, D. F.; LAPPIN, D. F. Immune process in periodontal disease: a review. **Ann. Periodontol.**, v. 7, n. 1, p. 62-71, Dec. 2002.

KOBAYASHI, T.; KANEKO, S.; TAHARA, T.; HAYAKAWA, M.; ABIKO, Y.; YOSHIE, H. Antibody responses to porphyromonas gingivalis hemagglutinin A and outer membrane protein in chronic periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 77, n. 3, p. 364-369, Mar. 2006.

KONIG, J.; STORCKS, V.; KOCHER, T.; BOSSMANN, K.; PLAGMANN, H-C. Anti-plaque effect of tempered 0.2% chlorhexidine rinse: an in vivo study. **J. Clin. Periodontol.**, v. 29, n. 3, p. 207, Mar. 2002.

KONOPKA, T.; RUTKOWSKA, M.; HIRNLE, L.; KOPEC, W. IL-1beta and PGE2 production in whole blood and gingival fluid in women with periodontitis and preterm low birth weight. **Ginekol. Pol.**, v. 75, n. 5, 352-360, May 2004.

KRAUTHEIM, A. B.; JERMANN, T. H. M.; BIRCHER, A. J. Chlorhexidine anaphylaxis: case report and review of the literature. **Int. J. Dent. Hyg.**, v. 50, n. 3, p. 207, Mar. 2002.

LANDSBERG, C. J.; SARNE, O. Management of excessive gingival display following adult orthodontic treatment: a case report. **Pract. Proced. Aesthet. Dent.**, v. 18, n. 2, p. 89-96 quiz 96,122, Mar. 2006.

LEE, K. W. The fibrous epulis and related lesions. (Granuloma pyogenicum, pregnancy tumour, fibro-epithelial polyp and calcifying fibroblastic granuloma). A clinico-pathological study. **Periodontics**, v. 6, p. 277-292, 1968.

LINDHE, J.; RYLANDER, H. Experimental gingivitis in young dogs. **Scand. J. Dental Res.**, v. 83, p. 314-326, 1975.

LISTGARTEN, M. A.; ELLEGAARD, B. Experimental gingivitis in the monkey. Relationship of leucocyte in junctional epithelium, sulcus depth and connective tissue inflammation scores. **J. Periodontal Res.**, v. 8, p. 199-214, 1973.

LOË, H.; THEILADE, E.; JENSEN, S. B. Experimental gingivitis in man. **J. Periodontol.**, v. 36, p. 177-187, 1965.

MADIANOS, P. N.; BOBETSIS, Y. A.; KINANE, D. F. Generation of inflammatory stimuli: how bacteria set up inflammatory responses in the gingival. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, Suppl. 6, p. 57-71, 2005.

MARSHALL, R. I. Gingival defensins: linking the innate and adaptive immune responses to dental plaque. **Periodontology** 2000, v. 35, p. 14-20, 2004.

MATTHIJS, S.; ADRIAENS, P. A. Chlorhexidine varnishes : a review. **J. Clin. Periodontol.**, v. 29, n. 1, p. 1-8, Jan. 2002.

MAYRAND, D. Virulence promotion by mixed bacterial infections. In: JACKSON, G. G.; THOMAS H. (Eds.). **The pathogenesis of bacterial infections**. Berlin: Springer-Verlag, 1985. p. 282-291.

MAVROGIANNIS, M.; ELLIS, J. S.; THOMASON, J. M.; SYMOUR, R. A. The management of drug-induced gingival overgrowth. **J. Clin. Periodontol.**, v. 33, n. 6, p. 434-439, June 2006.

MEYER, B.; TRAUNMUELLER, F.; BOJIC, A.; LOCKER, G.; SCHMID, R.; WINKLER, S.; THALHAMMER, F. Single-dose pharmacokinetics in critically ill elderly patients. **Int. J. Antimicrob. Agents.**, v. 27, n. 4, p. 335-338, Apr. 2006.

MIRANDA, J.; BRUNET, L.; ROSET, P.; BERINI, L.; FARRE, M.; MENDIETA, C. Prevalence and risk of gingival overgrowth in patients treated with diltiazem or verapamil. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 3, p. 294-298, Mar. 2005.

MOUGHAL, N. A.; ADONOGIANAKI, E.; THORNHILL, M. H.; KINANE, D. F. Endothelial cell leucocyte adhesion molecule-1 (ELAM-1) and intercellular adhesion molecule-1 (ICAM-1) expression in gingival tissue during health and experimentally induced gingivitis. **J. Periodontal Res.**, v. 27, p. 623-630, 1992.

MORAN, J.; CLAYDON, N. C. A.; ADDY, M.; NEWCOMBE, R. A clinical study to assess the ability of a powered toothbrush to remove chlorhexidine/tea dental stain. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 2, p. 95, Feb. 2004.

NAKAJIMA, T.; UEKI-MARUYAMA, K.; ODA, T.; OHSAWA, Y.; ITO H.; SEYMOUR, G. J.; YAMAZAKI, K. Regulatory T-cells infiltrate periodontal disease tissues. **J. Dent. Res.**, v. 84, n. 7, p. 639-43, Jul. 2005.

NICOLATOU-GALITIS, O.; PAPADAKI, T.; MOSHOVI, M.; KAMMA, J. J.; Van VILET-CONSTANTINIDOU, C.; TSOUMAKAS, C.; KATTAMIS, A.; TZORTZATOU-STATHOPOULOU, F. Gingival overgrowth as the initial paraneoplastic manifestation of Hodgkin's lymphoma in a child. A case report. **J. Periodontol.**, v. 72, n. 1, p. 107-112, Jan. 2001.

NOIRI, Y.; OKAMI, Y.; NARIMATSU, N.; TAKAHASHI, Y.; KAWAHARA, T.; EBISU, S. Effects of chlorhexidine, minocycline and metronidazole on porphiromonas gingivalis strain 381 in biofilms. **J. Periodotal.**, v. 74, p. 1647-1651, Nov. 2003 .

NURMENNIEMI PK.; PERNU, H. E.; LAUKKANEN, P.; KNUUTTILA, M. L. Macrophage subpopulations in gingival overgrowth induced by nifedipine and immunosuppressive medication. **J. Periodotal.**, v. 73, n. 11, p. 1323-1330, Nov. 2002.

NUNN, M. E. Understanding the etiology of periodontitis – an overview of periodontal risk factors. **Periodontology 2000**, v. 32, p. 11-23, 2003.

OFFENBACHER, S.; HEASMAN, P. A.; COLLINS, J. G. Modulation of host PGE2 secretion as a determinant of periodontal disease expression. **J. Periodontol.**, v. 64, p. 432-444, 1993.

OHNO, J.; KUSAMA, K. Pathology of periodontal disease. **Clin. Calcium**, v. 11, n. 3, p. 278-284, Mar. 2001.

ORUG, B. O.; BAYSALLAR, M.; CETINER, D.; KUCUKKARAASLAN, A.; DOGAN, B.; DOGANCI, L.; AKCA, E.; BAL, B. Increased antibacterial activity of zinc polycarboxylate cement by the addition of chlorhexidine gluconate in fixed prosthodontics. **Int. J. Prosthodont**, v. 18, n. 5, p. 377-382, Sep-Oct. 2005.

PAGE, R. C.; SCHROEDER, H. E. Pathogenesis of inflammatory periodontal disease. A summary of current work. **Lab. Invest.**, v. 33, p. 235-249, 1976.

PANNUTI, C. M.; SARAIVA, M. C.; FERRARO, A.; FALSI, D.; CAI, S.; LOTUFO, R. F. M. Efficacy of a 0.5% chlorhexidine gel on the control of gingivitis in Brazilian mentally handicapped patients. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, n. 6, p. 573, June 2003.

PAYNE, W.A.; PAGE, R.C.; OGILVIE, A.L.; HALL, W. B. Histopathologic features of the initial and early stages of experimental gingivitis in man. **J. Periodontal Res.**, v. 10, p. 51-64, 1975.

PERNU, H. E.; KNUUTTILA, M. L. Macrophages and lymphocyte subpopulations in nifedipine- and cyclosporin A-associated human gingival overgrowth. **J. Periodontol.**, V. 72, n. 2, p. 160-166, Feb. 2001.

PIHLSTROM, B. L.; MICHALOWICZ, B. S.; JOHNSON, N. W. Periodontol disease. **Lancet**, v. 366, n. 9499, p. 1809-1820, Nov. 19, 2005.

PIZZO, G.; GUIGLIA, R.; LA CARA, M.; GIULIANA, G.; D'ANGELO, M. The Effects of an amine fluoride/stannous fluoride and an antimicrobial host protein mouthrinse on supragingival plaque regrowth. **J. Periodontol.**, v. 75, p. 852-857, June 2004.

POGGI, P.; BAENA, R. P.; RIZZO, S.; ROTA, M. T. Mouthrinses with alcohol: cytotoxic effects on human gingival fibroblasts in vitro. **J. Periodontol.**, v. 74, p. 623-629, Feb. 2003.

PONTEFRACCT, H.; HUGHES, J.; KEMP, K.; YATES, R.; NEWCOMBE, R. G.; ADDY, M. The erosive effects of some mouthrinses on enamel – A study in site. **J. Clin. Periodontol.**, v. 28, n. 4, p. 319, Apr. 2001.

PORRAS, R.; ANDERSON, G. B.; CAFFESSE, R.; NAREDRAN, S.; TREJO, P. M. Clinical response to two different therapeutic regimes to treat peri-implants mucositis. **J. Periodontol.**, v. 73, p. 1118-1125, Oct. 2002.

PRASAD, V. N.; CHAWLA, H. S.; GOYAL, A.; GAUBA, K.; SINGHI, P. Folic acid and phenytoin induced overgrowth is there a preventive effect. **J. Indian Soc. Pedod. Prev. Dent.**, v. 22, n. 2, p. 82-91, June 2004.

PRESHAW, P. M.; SEYMOUR, R. A.; HEASMAN, P. A. Current concepts in periodontal pathogenesis. **Dent. Update**, v. 31, n. 10, p. 570-572, 574-578, Dec. 2004.

QUIRYNEN, M.; SOERS, C.; DESNYDER, M.; DEKEYSER, C.; PAUWELS, M.; VAN STEENBERGHE, D. A 0,05% cetyl pyridinium chloride;0,05% chlorhexidine mouth rinse during maintenance phase after initial periodontal therapy. **J. Clin Periodontol.**, v. 32, n. 4, p. 390-400, Apr. 2005a

QUYRINEN, M.; ZHAO, H.; SOERS, C.; DEKEYSER, C.; PAUWELS, M.; COUCKE, W.; STEENBERGHE, D. The impact of periodontal therapy and the adjunctive effect of antiseptics on breath odor-related outcome variables: a double-blind randomized study. **J Periodontol.**, v .76, n. 5, p. 705-712, May 2005b.

RADWAN-OCZKO, M.; BORATYNSKA, M.; ZIETEK, M. Clinical evaluation of marginal parodontium condition in patients after kidney graft treated with calcineurine inhibitors and calcium channel blockers. **Bull. Group Int. Rech Sci. Stomatol. Odonto.**, v. 46, n. 2-3, p. 46-51, May-Dec. 2004.

RIBEIRO, D. A.; BAZO, A. P.; FRANCHI, C. A. S.; MARQUES, M. E. A.; SALVADORI, D. M. F. Chlorhexidine induces DNA damage in rat peripheral leukocytes and oral mucosal cells. **J. Periodontal Res.**, v. 39, n. 5, p. 358, Oct. 2004.

ROLDÁN, S.; HERRERA, D.; SANTA-CRUZ, I.; O'CONNOR, A.; GONZÁLEZ, I.; SANZ, M. Comparative effects of different chlorhexidine mouth-rinse formulations on volatile sulphur compounds and salivary bacterial counts. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, p. 1128-1134, 2004.

SAKALAUSKIENE, J.; SURNA, A.; IVANAUSKIENE, E.; ZEKONIS, G.; GLEIZNYS, A. Secretory function of neutrophilic leukocytes of the patients with periodontal diseases. **Stomatologija**, v. 7, n. 3, p. 90-94, 2005.

SANDERS, B. J.; GREGORY, R. L.; AVERY, R. Antibacterial and physical properties of resin modified glass-ionomers combined with chlorhexidine. **J. Oral Rehabil.**, v. 29, n. 6, p. 553, June 2002.

SAHINGUR, S. E.; COHEN, R. E. Analysis of host responses and risk for disease progression. **Periodontology 2000**, v. 34, p. 57-83, 2004.

SCANNAPIECO, F. A. Periodontal inflammation: from gingivitis to systemic disease. **Compend. Contin. Educ. Dent.**, v. 25, n.7 Suppl. 1, p. 16-25, Jul. 2004.

SCHROEDER, H. E. Quantitative parameters of early human gingival inflammation. **Arch. Oral Biol.**, v. 15, p. 383-400, 1970

SCHROEDER, H. E. Transmigration and infiltration of leucocytes in human junctional epithelium. **Histopathol Odontol. Acta**, v. 17, p. 6-15, 1973

SEKINO, S.; RAMBERG, P.; UZEL, N. G.; SOCRANSKY, S.; LINDHE, J. The effect of a chlorhexidine regimen on de novo plaque formation. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 8, p. 609, Aug. 2004.

SEYMOUR, G. J.; POWELL, R. N.; COLE, K. L.; AITKEN, J. F.; BROOKS, D.; BECKMAN, I.; ZOLA, H.; BRADLEY, J.; BURNS, G. F. Experimental gingivitis in humans. A histochemical and immunological characterization of the lymphoid cell subpopulations. **J. Periodontal Res.**, v. 18, p. 375-385, 1983.

SHARMA, N. C.; GALUSTIANS, H. J.; QAQISH, J.; CHARLAS, C. H.; VINCENT, J. W.; McGUIRE, J. A. Antiplaque and antigingivitis effectiveness of a hexetidine mouthwash. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, n. 7, p. 590, July 2003.

SHEEN, S.; EISENBURGER, M.; ADDY, M. Effect of toothpaste on the plaque inhibitory properties of a cetylpyridinium chloride mouth rinse. **J. Clin. Periodontol.**, v. 30, n. 3, p. 255, Mar. 2003.

SHOJI, M.; TANABE, N.; MITSUI, N.; TANAKA, H.; SUZUKI, N.; TAKEICHI, O.; SUGAYA, A.; MAENO, M. Lipopolysaccharide stimulates the production of prostaglandin E2 and the receptor Ep4 in osteoblasts. **Life Sci.**, v. 78, n. 17, p. 2012-2018, Mar. 20, 2006.

SIMONS, D.; BRAILSFORD, S.; KIDD, E. A. M.; BEIGHTON, D. The effect of chlorhexidine acetate/xylitol chewing gum on the plaque and gingival indices of elderly occupants in residential homes. **J. Clin. Periodontol.**, v. 28, n. 11, p. 1010, Nov. 2001.

SREENIVASAN, P. K.; GITTINS, E. Effects of low dose chlorhexidine mouthrinses on oral bacteria and salivary microflora including those producing hydrogen sulfide. **Oral Microbiol. Immunol.**, v. 19, n. 5, p. 309, Oct. 2004.

STEENBERGHE, D.; AVONTROODT, P.; PEETERS, W.; PAUWELS, M.; COUCKE, W.; LIJNEN, A.; QUIRYNEN, M. Effects of different mouthrinses on morning breath. **J. Periodontol.**, v. 72, p. 1183-1191, Sept. 2001.

SUAREZ, L. J.; OCAMPO, A. M.; DUENAS, R. E.; RODRIGUEZ, A. Relative proportions of T-cell subpopulations and cytokines that mediate and regulate the adaptive response in patients with aggressive periodontitis. **J. Periodontol.**, v. 75, n. 9, p. 1209-1215, Sep. 2004.

TAKAHASHI, K.; POOLE, I.; KINANE, D. F. Detection of IL-1 mRNA-expressing cells in human gingival crevicular fluid by in situ hybridization. **Arch. Oral Biol.**, v. 40, p. 941-947, 1995.

TANNER, A. C.; PASTER, A. C.; LU, S. C.; KANASI, E.; KENT, R. Jr, VAN DYKEN, T.; SONIS, S. T. Subgingival and tongue microbiota during early periodontitis. **J. Dent. Res.**, v. 85, n. 4, p. 318-323, Apr. 2006.

TATAKIS, D. N.; KUMAR, P. S. Etiology and pathogenesis of periodontal diseases. **Dent Clin North Am.**, v. 49, n. 3, p. 491-516, July 2005.

TROMBELLI, L. Susceptibility to gingivitis: a way to predict periodontal disease? **Oral Health Prev. Dent.**, v. 2, Suppl. 1, p. 265-269, 2004.

TROMBELLI, L.; SCAPOLI, C.; TATAKIS, D. N.; MINENNA, L. Modulation of clinical expression of plaque-induced gingivitis: response in aggressive periodontitis subjects. **J. Clin. Periodontol.**, v. 33, n. 2, p 79-85, Feb. 2006.

UITTO, V. J. Gingival crevice fluid – an introduction. **Periodontology** 2000, v. 31, p. 9-11, 2003.

UKAI, T. U.; MORI, Y.; ONOYAMA, M.; HARA, Y. Immunohistological study of interferon- γ and interleukin-40 bearing cells in human periodontitis gingival. **Arch. Oral Biol.**, v. 46, p. 901-908, 2001.

VAN STRYDONCK, D. A. C.; TIMMERMAN, M. F.; VAN DER VELDEN, U.; VAN DER WEIJDEN, G. A. Plaque inhibition of two commercially available chlorhexidine mouthrinses. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 3, p. 305, Mar. 2005.

VAN STRYDONCK, D. A. C.; SCALÉ, S.; TIMMERMANN, M. F.; VAN DER VELDEN, U.; VAN DER WEIJDEN, G. A. Influence of a SLS-containing dentifrice on the anti-plaque efficacy of a chlorhexidine mouthrinse. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 3, p. 219, Mar. 2004a.

VAN STRYDONCK, D. A. C.; DEMOOR, P. H.; TIMMERMANN, M. F.; VAN DER VELDEN, U.; VAN DER WEIJDEN, G. A. The anti-plaque efficacy of a chlorhexidine mouthrinse used in combination with toothbrushing with dentifrice. **J. Clin. Periodontol.**, v. 31, n. 8, p. 691, Aug. 2004b.

VAN DER WEIJDEN, G. A.; TIMMERMAN, M. F.; DANSER, M. M.; NIJBOER, A.; SAXTON, C. A.; VAN DER WELDEN, U. Effect of pre-experimental maintenance care duration on the development of gingivitis in a partial mouth experimental gingivitis model. **J. Periodontol Res.**, v. 29, p. 168-173, 1994.

VAN DER WEIJDEN, G. A.; TIMMERMANN, M. F.; NOVOTNY, A. G. A.; ROSEMA, N. A. M.; VERKERK, A. A. J. Three different rinsing times and inhibition of plaque accumulation with chlorhexidine. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 1, p. 89, Jan. 2005.

VESCOVI, P.; MELETI, M.; MANFRETI, M.; BONANINI, M. Pathogenesis of cyclosporine induced gingival overgrowth. *Minerva Stomatol.*, v. 52, n. 5, p. 219-229, May 2003.

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.**, v. 76, n. 8, p. 1259-1264, 2005.

WELK, A.; SPLIETH, C. H.; SCHMIDT-MARTENS, G.; SCHWAHN, Ch.; KOCHER T.; KRAMER, A.; ROSIN, M. The effect of a polyhexamethylene biguanide mouthrinse compared with a triclosan rinse and a chlorhexidine rinse on bacterial counts and 4-day plaque re-growth. **J. Clin. Periodontol.**, v. 32, n. 5, p. 499, May 2005.

YATES, R.; SHEARER, B. H.; HUNTINGTON, E.; ADDY, M. A method to compare four mouth rinse: time to gingivitis level as the primary outcome variable. **J. Clin. Periodontol.**, v. 29, n. 6, p. 519, June 2002.

YE, X.; SHI, L.; CHENG, Y.; PENG, G.; HUANG, S.; LIU, J.; HUANG, M.; PENG, B.; BIAN, Z. A novel locus for autosomal dominant hereditary gingival fibromatosis, GINGF3, maps to chromosome 2p22.3-p23.3. **Clin Genet.**, v. 68, n. 3, p. 239-244, Sep. 2005.

YI-JUNE, L.; CHEING-MEEI, L.; MAN-YING, W.; LEIN-TUAN, H.; WEI-KUEI, C. Interleukin 1B-secreting cells in inflamed gingival tissue of adult periodontitis patients. **Cytokine**, v. 11, n. 8, p. 626-633, Aug. 1999.

YOUNG, A.; JONSKI, G.; ROLLA, G. Inhibition of orally produced volatile sulfur compounds by zinc, chlorhexidine or cetylpyridinium chloride-effect of concentration. **Eur. J. Oral Sci.**, v. 111, n. 5, p. 400-404, Oct. 2003.

ZACHRISSON, B.U. A histological study of experimental gingivitis in man. **J. Periodontal Res**, v. 3, p. 293-302, 1968.

ZHOU, J.; WINDSOR, L. J. Porphyromonas gingivalis affects host collagen degradation by affecting expression, activation and inhibition of matrix metalloproteinases. **J. Periodontal Res.**, v. 41, n. 1, p. 47-54, Feb. 2006

8 ANEXOS

ANEXO I

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

Você está sendo convidado(a) a participar de um projeto de pesquisa. Neste mesmo documento, encontra-se uma explicação, em linguagem simples e resumida, daquilo que se pretende descobrir com sua colaboração e o que acontecerá, caso você decida tomar parte neste projeto, incluindo qualquer risco potencial ou desconforto.

A gengivite é uma inflamação nas gengivas e caracteriza-se por apresentar sangramento espontâneo ou durante a escovação ou mastigação. Nosso objetivo é estudar uma solução à base de clorexidina, para que possa vir a ser utilizado como tratamento desses sangramentos.

Para que possamos demonstrar se a solução à base de clorexidina é boa para tratar essa inflamação e sangramento da gengiva, nós vamos precisar de 14 pessoas que tenham esse tipo de problema.

Para que consigamos efetuar esta pesquisa, você será solicitado a fazer cirurgia para remoção do excesso de gengiva e bochechos diariamente, durante dez dias, duas vezes ao dia, com a solução na boca durante trinta segundos. Sempre realizará o bochecho meia hora após a escovação, pela manhã e à noite. Após dez dias de bochecho, será feita a segunda cirurgia. Todas as cirurgias são necessárias, pois o tratamento do aumento gengival, que você apresenta é realizado através de cirurgias. Logo, necessitamos da sua autorização para utilizarmos esse material, o que não representará desconforto adicional ou prejuízo para a sua saúde, nem perda do anonimato dos resultados encontrados.

O objetivo do estudo, portanto, é saber se a clorexidina é boa para tratar essa inflamação chamada gengivite. Com isso, tal estudo pode fornecer um tratamento mais eficiente para o seu problema.

As informações relacionadas à sua pessoa só serão do conhecimento da equipe que estiver trabalhando nesta pesquisa. Por ocasião da exposição ou publicação final dos resultados você não será identificado(a).

Sua participação é importante, porém você não deve fazer isso contra sua vontade. Se, ao completar a leitura desta página, você decidir não tomar parte desse projeto, seu atendimento, cuidado ou tratamento nessa instituição não será, de forma alguma, afetados por sua decisão.

Se durante a pesquisa você tiver qualquer dúvida, poderá entrar em contato com a Dra. Maria Gisélia Pinheiro Feitosa, no telefone 99925310.

O Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) do Hospital Walter Cantídio e do Centro de Ciências da Saúde da UFC aprovou este termo de consentimento e você pode apresentar recursos ou reclamações em relação ao presente estudo, contactando a Secretaria do Comitê de Ética diretamente pelo telefone (0xx85) 40098331.

POR FAVOR, MARQUE COM UM “X” A RESPOSTA APROPRIADA:

1. Você está preenchendo este termo de consentimento em seu próprio nome ou em nome de outra pessoa () Em meu próprio nome () Em nome de outro		
2. Se a sua resposta à pergunta anterior foi “em nome de outro”, por favor, escreva no espaço abaixo o nome da pessoa por quem você está respondendo. -----		
3. Você leu com atenção todas as informações contidas no verso desta folha?	Sim	Não
4. Foi dada a você a oportunidade suficiente para fazer perguntas e pedir esclarecimentos?	Sim	Não
5. Você recebeu respostas satisfatórias a todas as suas perguntas?	Sim	Não
6. Qual o nome da pessoa que lhe deu os esclarecimentos relativos a esse estudo? Dr(a)/Sr(a).:		
7. Você está ciente de que terá liberdade de desistir de participar deste estudo no momento que desejar, sem que isso venha a interferir no seu atendimento odontológico nesta Instituição?	Sim	Não
8. Você concorda em participar deste estudo?	Sim	Não

Assinatura do paciente/voluntário:

Data: ___/___/___

Nome (legível): _____

RG: _____

CPF: _____

Assinatura de quem obteve o consentimento:

Data: ____/____/____

Nome (legível): _____

RG: _____

CPF: _____

ANEXO II

Quadro 3. Exame das lâminas

PACIENTES ANTES DO BOCHECHO		APÓS BOCHECHO	
1.a. Processo inflamatório moderado	2	1.b. Processo inflamatório leve	1
2.a. Processo inflamatório intenso	3	2.b. Processo inflamatório leve	1
3.a. Processo inflamatório intenso	3	3.b. Processo inflamatório leve	1
4.a. Processo inflamatório intenso	3	4.b. Processo inflamatório intenso	3
5.a. Processo inflamatório intenso	3	5.b. Processo inflamatório leve	1
6.a. Processo inflamatório moderado	2	6.b. Processo inflamatório intenso	3
7.a. Processo inflamatório intenso	3	7.b. Processo inflamatório leve	1
8.a. Processo inflamatório leve	1	8.b. Ausência de inflamação	0
9.a. Processo inflamatório localizado/intenso	3	9.b. Processo inflamatório generalizado/intenso	3
10.a. Processo inflamatório leve	1	10.b. Processo inflamatório intenso	3

11.a. Processo inflamatório intenso	3	11.b. Processo inflamatório intenso	3
12.a. Processo inflamatório intenso	3	12.b. Processo inflamatório intenso	3
13.a. Processo inflamatório leve	1	13.b. Ausência de inflamação	0
14.a. Processo inflamatório intenso/localizado	3	14.b. Processo inflamatório leve	1

0 = Ausência da inflamação;

1 = Inflamação Leve

2 = Inflamação Moderada

3 = Inflamação Intensa



Universidade Federal do Ceará
Comitê de Ética em Pesquisa

Fortaleza, 29 de abril de 2005

Of. N° 234/05

Protocolo COMEPE n° 97/05

Pesquisador responsável: Maria Giselia Pinheiro Feitosa

Dept°./Serviço: Departamento de Clínica Odontológica

Título do Projeto: "Estudo do potencial imunoterapêutico da Clorexidina no processo inflamatório gengival humano (gingivite) mediante avaliações clínicas e imunohistológicas"

Levamos ao conhecimento de V.Sa. que o Comitê de Ética em Pesquisa e do Complexo Hospitalar da Universidade Federal do Ceará - COMEPE, dentro das normas que regulamentam a pesquisa em seres humanos, do Conselho Nacional de Saúde - Ministério da Saúde, Resolução n°196 de 10 de outubro de 1996 e Resolução n° 251 de 07 de agosto de 1997, publicadas no Diário Oficial, em 16 de outubro de 1996 e 23 de setembro de 1997, respectivamente, aprovou o projeto supracitado na reunião do dia 28 de abril de 2005.

Outrossim, informamos, que o pesquisador deverá se comprometer a enviar o relatório parcial e final do referido projeto.

Atenciosamente,

Prof. Dr. Fernando A. Frota Bezerra
Coordenador Adjunto do Comitê
de Ética em Pesquisa
COMEPE/HUWC/UFC