

УНИВЕРЗИТЕТ "СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ"
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ
КЛИНИКА ЗА БОЛЕСТИ НА УСТАТА И ПАРОДОНТОТ
СКОПЈЕ



Кристина Митиќ

ЦИКЛОСПОРИН А- ИНДУЦИРАН РЕАКТИВЕН
ГИНГИВАЛЕН ОДГОВОР

МАГИСТЕРСКИ ТРУД

Скопје, 2007 година

УНИВЕРЗИТЕТ "СВ. КИРИЛ И МЕТОДИЈ"
СТОМАТОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ
КЛИНИКА ЗА БОЛЕСТИ НА УСТАТА И ПАРОДОНТОТ
СКОПЈЕ



Кристина Митиќ

**ЦИКЛОСПОРИН А- ИНДУЦИРАН РЕАКТИВЕН
ГИНГИВАЛЕН ОДГОВОР**

МАГИСТЕРСКИ ТРУД

Ментор: Проф. д-р Ана Ставревска-Миновска

Скопје, 2007 година

СО ОТРОМНА ПОЧИП , СКАМ ДА
ИЗРАЗАМ БЛАГОДАРНОСТ Д

мојот ментор проф.г-р Ана Штавребека-Миновека за
огромната поддршка и помош во текот на
изработката на најистерекниот труд,

проф.г-р Ђинослав Ивановеки, за помошта во
реализација на поставените цели,

проф.г-р Милијана Толовека, и нејзините соработници
асе.г-р Рубене Јовановиќ и асе.г-р Славиц Костадиновека-
Куновека за одвоеното време и корисните консултации

моите најблиски, за огромното разбирање и
бескрајната љубов.

СОДРЖИНА

Вовед 1
Литературен преглед 7
Цел на трудот 19
Материјал и метод на работа 20
Резултати 33
Дискусија 58
Заклучоци 70
Литература 74

Вовед

Вовед

Гингивата како интегрална компонента на пародонталниот комплекс може да биде зголемена како резултат на различни интеракции меѓу организмот и надворешната средина. Иако оваа состојба најчесто претставува хроничен инфламаторен одговор асоциран со локални фактори како дентален плак и калкулус, сепак клиничката манифестација може да биде резултат на зголемена сензибилност кон општите фактори (38).

Гингивалното зголемување може да има идиопатско или генетско потекло. Останати етиолошки состојби како хормонален дисбаланс или администрација на специфични медикаменти можат сигнификантно да ги потенцираат ефектите на локалните фактори во гингивалното сврзно ткиво.

Во најголем број на случаи, гингивалното зголемување се јавува како несакан ефект од медикаментозната системска терапија.

Гингивалното зголемување е дефинирано како абнормален раст на гингивата како дел од пародонталните ткива. Претходната терминологија гингивална „хиперплазија“ и „гингивална хипертрофија“, се должела на хистолошките испитувања (46) кои утврдиле зголемен број на фибробласти во гингивалното сврзно ткиво. Меѓутоа, овие терминологији не ја рефлектираат правилно хистолошката композиција на зголемената гингива, заради новите истражувања кои утврдуваат присуство на зголемена акумулација на екстрацелуларен матрикс, особено колагени компоненти, но не и пролиферација на гингивалните фибробласти (73, 4, 75). Овие дискрепанци, авторите сметаат дека можеби се должат на различните степени на гингивална инфламација кај хуманата популација поради продукцијата на инфламаторни цитокини, како интерлеукин I β , кој е познат стимулатор на гингивалната пролиферација (75) и има потенцијално влијание на колагениот метаболизам во фибробластите (39, 51).

Денес генерално е прифатен ставот дека зголемените гингивални делови, содржат фиброзно или експандирано сврзно ткиво со присуство на различен степен на инфламација и зголемен гингивален епител. Степенот на инфламација, фиброзата и присуството на клеточни елементи зависат од времетраењето на терапијата, дозата, видот

на медикаментот, квалитетот на оралната хигиена, од индивидуалната осетливост која се должи на генетските фактори и амбиентарните влијанија (96).

Медикаментозното зголемување на гингивата претставува нус-ефект од системската терапија кој е лимитирана на гингивалните ткива. Таа не потекнува од пародонтот, но ексклузивитетот на своето манифестирање го пројавува во пародонталните ткива, со различен степен на изразеност во останатите ткива.

Во литературата, постојат различни податоци за фреквенцијата на овој несакан ефект, но најчесто се сретнува кај пациенти со бубрежна трансплантација кои примаат имunosупресивна терапија (циклоспорин) 70%, кај епилептичари 65%, пациенти со хипертензија 30% (34, 47, 93), потенцирајќи го значењето на овој клинички проблем.

Клиничките и хистолошките карактеристики на медикаментозно-индуцираното зголемување, вклучуваат хиперплазија на прикрупениот епител и хипертрофија на кератинизираниот епител (3), како и зголемена сврзно-ткивна акумулација.

Клинички детектибилното фиброзно разраснување на гингивата особено умерените до силно развиените форми можат да ја влошат оралната хигиена и да допринесат за зголемена акумулација на микроорганизми (105).

Оралните инфекции кои потекнуваат од гингивалните зголемувања, потенцијално можат да влијаат на општото здравје и да доведат до негово компромитирање. Ова особено се однесува на трансплантираните реципиенти кои се на континуирана циклоспоринска терапија, а со тоа и можност за развој на системска инфекција. Успешната терапија кај овие пациенти јасно ја наметнува потребата од активно вклучување и на пародонтолози во минимизирање на овие несакани ефекти (96).

Гингивалното зголемување резултира со естетски промени и клинички симптоми вклучувајќи болка, крварење, тешкотии при мастикација и говор, патолошка миграција на забите, оклузални проблеми, развој на кариес и пародонтални заболувања (34).

Циклоспоринот претставува полипептиден антибиотик со потентно имunosупресивно дејство кој го пролонгира опстанокот на алогениот графт. Успешно се применува во терапија на многу имуни заболувања како инсулин-зависен дијабет, Кронова болест, Бехчетово заболување, реуматоиден или псориатичен артрит, булезен пемфигоид и пемфигус (2, 32, 53).

И покрај неоспорниот успех како вистински селективен имunosупресивен медикамент, циклоспоринот е асоциран со различни несакани ефекти. Поголем дел од овие ефекти се дозно-зависни и најчесто се реверзибилни при намалување на дозата или дисконтинуитет на медикаментозната терапија (105, 81). Најзначајни несакани ефекти се нефротоксичност, хепатотоксичност, хипертензија, неуротоксичност, предиспозиција кон бактериски, вирусни и фунгални инфекции и фиброза на пулмоналните, перикардните и реналните ткива.

Најпечатлив несакан ефект од циклоспоринската терапија во денталната медицина, претставува гингивалното зголемување кај ренално-трансплантираните пациенти и претставува сериозен проблем во стоматолошката пракса. Фреквенцијата на гингивалното зголемување е високо варијабилно и Chiabria и sor. (13) сметаат дека се јавува во повеќе од 70% кај возрасни трансплантирани пациенти, додека кај деца се движи од 13-85%.

Поради широкиот спектар на циклоспорин А, неговата примена е актуелна а со тоа и загрижувачка за парадонтолозите, поради неговото влијание на гингивалното ткиво и потенцирањето на пародонталната деструкција.

Врската меѓу гингивалната хиперплазија и различни медикаментозни фармакокинетички варијабли се предмет на континуирани истражувања каде што медикаментозната концентрација во гингивалните ткива се јавува како „иницијатор“ или „потенцијатор“ на гингивалните промени (84, 79).

Меѓутоа постојат и други фактори кои можат да влијаат на оваа локална реакција, затоа испитувањата кои се обидоа да докажат дека фармакокинетичките варијабли се примарни во експресијата на овој несакан ефект не дадоа позитивни резултати (18, 74, 83).

Циклоспоринот врши супресија на клеточно-имуниот одговор со сосема мал ефект на хуморалниот одговор. Своето дејствување, циклоспоринот го остварува преку селективното делување на Т-помошните клетки во однос на супресорските клетки кое резултира во зголемен баланс на Т-супресор клетките и имunosупресија. Неафектираните Б-клеточни линии му овозможуваат на пациентот да остварува интактен хуморален имун одговор кон бактериските патогени (19).

Имуниот систем има есенцијална улога во патогенезата на пародонталните заболувања, и затоа интересот на пародонтолозите за медикаментите кои го алтерираат (супримираат) имуниот систем е сосема рабирлив. Главните насоки во кои се одвиваат овие истражувања се да дадат одговор на прашањата дали медикаментите го алтерираат одговорот на пародонталните ткива кон денталниот плак и при тоа да се детерминира улогата на имуниот систем во прогресијата на пародонталните заболувања (80).

Saymour и сор. (80) испитувајќи го ефектот на циклоспоринот и пародонталниот комплекс, смета дека пародонталната болест е резултат на интеракција меѓу денталниот плак и неговите продукти и претставува резултат од инфламаторните и имунолошките промени во пародонталните ткива. При тоа циклоспоринот се јавува во улога на модулатор на квалитетот на инфламаторниот одговор, афектирајќи ја природата на клеточниот инфилтрат или либерацијата на различни цитокини, простагландини и фактори на раст.

Гингивалните ткива генерално се наоѓаат во состојба на алтерација и репарација која инволвира релетивни циклуси од продукција на хемотактични фактори, инфламаторни клетки, ткивна ресорпција и ремоделација. Колагениот „turnover“ е необично висок во пародонталните ткива и при тоа зараснувањето на раните и сврзно-ткивниот обрт се високо контролирани од хемокините и цитокините кои се ослободени од инфламаторните клетки како макрофагите, лимфоцитите и во помал степен од фибробластите (15).

Пролиферацијата и диференцијацијата на сврзно-ткивните клетки и продукцијата на екстрацелуларен матрикс се контролирани од цитокини кои иницираат сигнални каскади зависни од специфични рецептори. Неодамнешните клеточни и молекуларни биолошки техники демонстрираат абнормално високо ниво на специфични цитокини и фактори на раст (IL-6, IL-1B, PDGF-B, FGF-2, TGF-B и CTGF) во гингивално зголемените ткива. Овие истражувања се од голем интерес, и сугерираат дека супстанциите кои предизвикуваат гингивално зголемување го алтерираат нормалниот баланс на цитокините во гингивалните ткива (96).

Повеќе фактори можат да влијаат на врската меѓу индуцирачкиот медикамент и гингивалните ткива. Тргувајќи од податокот дека повеќе од 50% од пациентите со бубрежна трансплантација развиваат гингивално зголемување Wysocki и сор. (107) во

литературата го воведуваат терминот „осетливи“ и „неосетливи“ пациенти, за идентификација на индивидуалните разлики и можеби генетската предиспозиција. Тие известуваат за поврзаноста на циклоспоринот и неговиот метаболит OL-17 со различни фенотипски субпопулации на гингивални фибробласти, предизвикувајќи зголемена синтеза на протеини и ниво на клеточна пролиферација.

Coley и сор. (16) демонстрираат дека ефектот на циклоспоринот на нормалната хумана фибробластна пролиферација варира меѓу индивидуалните клеточни видови, каде се забележува нивна зголемена, намалена или непроменета функција.

Забележани се впечатливи разлики и меѓу фибробластните видови во однос на колагеназната активност и продукцијата на ткивниот инхибитор на металопротеиназата при експозиција на циклоспорин, кое само делумно ги објаснува разликите во гингивалниот одговор кај ренално-трансплантираните пациенти (98).

Овие и останатите студии јасно ја посочуваат способноста на циклоспоринот во алтерирање на метаболизмот на гингивалните фибробласти.

Циклоспоринот предизвикува намален инфлукс на Ca^{2+} (доведува до алтерации во калциум-натриум размената) во гингивалните фибробласти, ја лимитира синтезата и секрецијата на колагеназата, а со тоа доведува и до намалена динамика на сврзано-ткивниот turnover (21). Исто така, во присуство на инфламација која секундарно се јавува како реакција на денталниот плак, катаболичната активност на колагеназата е заситена и инхибираната деградација на екстрацелуларниот матрикс, предизвикува негова локална акумулација (8).

Инфламаторните промени во гингивалното ткиво ја диригираат интеракцијата меѓу циклоспоринот и фибробластите и нивната последователна активност. Проблемот на циклоспорин-индуцираното гингивално разраснување не претставува само едноставна плак асоцираност или медикаментозен нусефект, туку концептот за механизмот на гингивалната хиперплазија претставува нивна интеракција (83).

Патогенезата на циклоспорин-индуцираното гингивално зголемување е мултифакториелен процес кој се чини нејасен и покрај бројните истражувачки студии. Сеуште во потполност не е сигурно дали зголемената реактивност кон циклоспоринот *in vitro* е последица на генетски пренесена осетливост кон медикаментот или е секундарен ефект од долготрајното *in vivo* изложување со циклоспоринот.

Неодамнешните студии не покажаа значителна релација меѓу зголемената фибробластна активност и клиничките знаци на гингивалното зголемување, подржувајќи ја хипотезата за инволвираноста и на некои други фактори заедно со циклоспоринот во патогенезата на циклоспорин-индуцираното гингивално зголемување (12).

Три сигнификантни фактори се потенцираат во експресијата на оваа состојба: медикаментозните варијабли, плак-индуцираните инфламаторни промени во гингивата и генетските фактори (83).

Литературен преглед

Литературен преглед

Медикаментозно-индуцираното гингивално зголемување било предмет на научни истражувања уште во триесеттите години кога се потврдиле повеќе медикаменти кои учествуваат како етиолошки фактор во индуцирањето на гингивалното зголемување. Три големи медикаментозни групи биле асоцирани со јатрогеното гингивално зголемување: антиконвулзиви (особено фенитоин), калциум блокатори (нифедипин) и имуносупресив (циклоспорин). И покрај тоа што нивните фармацевтски ефекти и примарните таргет ткива се сосема различни, тие делуваат слично на гингивалните ткива, предизвикувајќи фиброзно гингивално зголемување (19, 11, 43, 44).

Асоцијацијата меѓу циклоспоринската терапија и гингивалното зголемување прво била забележана во раните осумдесетти години како компликација од третманот на ренално-трансплантираните пациенти (55).

Иако патогенезата е недоволно разјаснета, се смета дека фиброзата настанува заради пореметување на хомеостазата на колагената синтеза и деградација, особено на колаген тип I, резултирајќи во зголемена акумулација на колагени фибри во гингивалните сврзни ткива, што е потврдено и со имунохистохемиски анализи на стаорци (41).

Зголемена акумулација на екстрацелуларен матрикс и неколку инфламаторни клетки во гингивалното сврзно ткиво потврдено е и на експериментални модели на стаорци кои биле третирани со циклоспорин А (75).

Метаболизмот на колагенот прецизно е балансиран преку колагената синтеза и деградација во одржување на ткивниот волумен. Schincaglia и сор. (75) во своите истражувања се согласни за постоењето на стимулаторниот ефект на циклоспоринот на хуманите гингивални фибробласти, за разлика од James и сор. (39) кои посочуваат за неафектирана или инхибирана колагена синтеза по циклоспоринскиот третман.

Колагената деградација може да биде екстрацелуларна, инволвирајќи ја секрецијата на колагеназата и интрацелуларна со фагоцитоза на фибробластите.

Намалената ткивна ресорпција, како механизам кој води кон медикаментозно-зголемена гингива привлекува посебно внимание во последните години. Сврзно-ткивниот

„turnover“ во гингивалните ткива е особено висок и деструкцијата на екстрацелуларниот матрикс се случува како резултат на дејството на екстрацелуларните протеинази, намалена MMP активност, и преку фагоцитоза и интрацелуларна деструкција на екстрацелуларните матрикс компоненти со лизозомални ензими (107). *In vitro* студиите покажаа дека циклоспоринот ја инхибира продукцијата на лизозомалната протеиназа катепсин L, но не и катепсин B, во хумани гингивални фибробласти (6). Циклоспоринот исто така може да ја инхибира фагоцитозата на тип 1 колаген во *in vitro* и *in vivo* студии (41).

Морфолошките студии изведени на хумана циклоспорински третирана гингива, регистрираат намалена колагена фагоцитоза (88), со која се во согласност и Kataoka и сор. (41) кои ја потврдуваат намалената фагоцитоза и кај експериментални модели на стаорци. Интересно е што во овие испитувања, пронајдена е сигнификантна супресија на колаген тип 1 и на колагеназната mRNA. Циклоспорин-индуцираното гингивално зголемување се должи на намалената деградација на колаген тип 1, преку редукција на колагената фагоцитоза од фибробластите, а не поради зголемената синтеза на колагенот (41).

Неодамнешните студии, известуваат дека циклоспоринското зголемување на гингивата претставува таков тип на зголемување, каде релативно е зголемен неколагениот матрикс со релативно намален колаген-матрикс, спореден со нормалните гингивални ткива.

Развојот на гингивалното зголемување е асоцирано со гингивална инфламација, каде е документирана зголемена инфилтрација на мононуклеарни клетки во сврзното ткиво.

Овие мононуклеарни клетки можат директно или индиректно да учествуваат во патогенезата на медикаментозното алтерирање на сврзното ткиво (33).

Активираниите макрофаги/моноцити учествуваат во продукција на TNF- α , кој покажува зголемени вредности кај инфламираана гингива, а воедно ја стимулира колагеназната активност во гингивалните фибробласти како и биосинтезата на простагландин E2 (PGE2). Авторите известуваат за циклоспоринската нагорна регулација на PGE2 во гингивалните фибробласти која е дозно-зависна и условена од IL-1 или TNF- α .

Испитувањата насочени кон откривањето на механизмот на гингивалното зголемување, укажуваат на јака инхибиција на циклоспорин А во продукција на PGI₂ во *in vitro* и *in vivo* студиите. PGI₂ го продуцира гингивалното ткиво и има антипролиферативен ефект. Ниската вредност на PGI₂ резултира во намалено ниво на cAMP и последователно зголемена митотска активност и клеточна пролиферација (55).

Инфламаторните клетки кои се алтерирани како резултат на медикаментозната терапија, можат да го модифицираат гингивалниот ткивен одговор.

Инхибираната продукција на интерлеукините и последователното делување се потентни стимулатори во колагеназната продукција на фибробластите (62).

Кај пародонталните заболувања постои локален инфилтрат од инфламаторни клетки асоциран со деградација на екстра целуларни матрикс-молекули и колагени фибри кои се главни компоненти на гингивалното сврзно ткиво и претставуваат главни носители во неговата архитектура. При губење на колагената компонента се интензивира степенот на пародонталното заболување кое може да се следи преку интраепителните лимфоцитни субсетови како одговор на бактериските елементи и колагената деградација асоцирана со инфламација (29).

Bartold (5) укажува на способноста на циклоспоринот во инхибиција на ефектот на липополисахаридите кон фибробластите. Во концентрација при која липополисахаридите од денталниот плак нормално би биле цитотоксични за фибробластите, присуството на циклоспоринот го анулира или намалува овој ефект, и дозволува фибробластна пролиферација.

McGaw и сор. (49) денталниот плак го сметаат за локално депо на циклоспорин, кој води кон супресија на имуниот одговор во гингивалниот епител. Епителните клетки посебно кератиноцитите и Лангерхансовите клетки (антиген-презентирачки клетки) стапуваат во директен контакт со денталниот плак, кој како „локален извор“ за циклоспорин врши интраепителен депозит на медикаментот и супресија на имуниот одговор во гингивалниот епител. Намалениот број на Лангерхансовите клетки кај циклоспорин-зголемената гингива, сугерира за модифицирана инфламаторна реакција која влијае на нивото на Т-помошните лимфоцити и цитокиниот профил во гингивалните ткива (97). Лангерхансовите клетки играат улога во иницијација и развој на гингивалната инфламација при што нивниот број и дистрибуција следен преку CD 1 или HLA-DR е

зголемен соодветно према степенот на гингивалното зголемување (100). Спротивно на нив група автори (84) известуваат за намален број на CD 1 со сигнификантно намалување на АТР-азната активност на Лангерхансовите клетки која се одигрува кај пародонталните заболувања за разлика од здрав гингивален епител. Тие сугерираат дека со прогресија на пародонталното заболување (одреден према губењето на колагенот), бројот на Лангерхансовите клетки се намалува поради нивната миграција кон сврзното ткиво и овој редуциран број истовремено ја превенира имуната хиперстимулација.

Со имунохистохемиски методи утврдено е негативното влијание на циклоспорин А на антиген презентирачката улога на Лангерхансовите клетки поради ниската фреквенција на интеракција со Т-клетките. Тоа е последица од нивниот намален број во епителот, супресија на нивната презентирачка функција и блокирање на HLA-DR на Т-клетките (87). Супресијата на функционалниот капацитет на Лангерхансовите клетки е дозно зависна и употребата на концентрации поголеми од 100ng/ml циклоспорин доведува до инхибиција на нивната функција до 50% (18), додека (27) се согласуваат за концентрација поголема и до 10 пати за постигнување на ефективна инхибиција. Granelli и Ripetto (30) демонстрираат дека функцијата на помошничките Т-клетки од хуманата периферна циркулација не е намалена ни при користење на високи концентрации на медикаментот од 1000ng/ml. Овие дискрепанци во различни студии можат да се објаснат со различните методи на мерење, разликите во дозата на медикаментот и фреквенцијата на неговата администрација.

За разлика од цитотокичните медикаменти кои не поседуваат специфичност и афектираат поголем дел од имуниот систем, дејството на циклоспоринот е лимитирано воглавно на Т-лимфоцитната функција, која резултира со реакција на гингивалните ткива кон плак-асоцираните иританси (37).

Yamaki и сор. (109) во своите студии ги документираат ултраструктурните карактеристики на фибробластите изолирани од циклоспорин-зголемена гингива, тргнувајќи од фактот дека фибробластите претставуваат есенцијална компонента за сврзно-ткивното зголемување и „host-defense“ механизмите. Највпечатлив дел претставува регистрирањето на модифицирани фибробласти (миофибробласти), кои можат да се сретнат и кај различни други патолошки состојби кои се карактеризираат со активна фиброплазија, како и кај туморовидните пролиферативни состојби. Воедно тие

известуваат за намалена фибробластна цитотоксичност, во однос на истата добиена од гингивално зголемување кое не е резултат на циклоспоринското дејство, и сметаат дека таа се должи на инхибицијата на Т-лимфоцитната функција. Ултраструктурните и имунохистохемиските истражувања документираат активна протеинска синтеза и секреција, со намалени цитотоксични или дегенеративни промени.

Миофибробластите обично се асоцирани со доцните фази на ткивниот „turnover“, и нивното присуство во сврзните и гингивалните ткива, Boltchi и сор. (7) претпоставуваат дека се должи на медикаментозно условеното егзацербирање на нормалниот ткивен „turnover“.

Во обид да се прецизира, дали овие несакани ефекти се должат на директното дејство на циклоспоринот на хуманите фибробласти или се тие под индиректно влијание на фактори ослободени од лимфоцитите, Willers и сор. (104) во *in vitro* услови во инкубирани култури на хумани фибробласти во период од 72 часа известуваат за дозно-зависна стимулација на DNK синтеза, додека синтезата на глюкозаминогуканите бележи слаба супресија. Долготрајната инкубација (6 недели) со 1 μ g/ml циклоспорин, резултира во повторна стимулација на растечките параметри иако матрикс синтезата била послаба во однос на краткотрајната инкубација. Споредено со нетретираните фибробласти, клеточниот број е зголемен за 168%, протеините за 159%, колагенот и глюкозамините биле зголемени за 120%.

Сите типови на ткивно зголемување бележат поврзаност меѓу клеточниот број, нивото на клеточната пролиферација и продукцијата на екстрацелуларниот матрикс. Во случајот со циклоспоринското зголемување на гингивата, зголемениот број на фибробластите, авторите сметаат дека е придружен и со пропорционално зголемување на ткивниот матрикс (59). Добиените резултати *in vitro*, само делумно ги потврдуваат *in vivo* обсервациите, бидејќи матрикс синтезата не е пропорционално следена и со клеточна маса.

Bartold (5), демонстрира дека циклоспоринот е способен да индуцира *in vitro* пролиферација без драстично алтерирање на синтетската активност. *In vivo*, циклоспоринот е врзан со плазматските протеини, еритроцитите и липопротеините (79) и како таков е присутен во високо васкуларизираните ткива (гингивата). Индуцираната

пролиферација на фибробластите кое резултира во продукција на матрикс компоненти, само делумно го објаснуваат проблемот на зголемената ткивна маса и целуларитет.

Во последните години направени се повеќе функционални студии анализирајќи ги биолошките механизми, кои можеби се одигруваат на единствен начин кај хуманите гингивални ткива. Нивото на цитокините и факторите на раст се во пораст кај медикаментозно-зголемената гингива, вклучувајќи ги интерлеукин-6 (IL-6), IL-1 β , тромбоцитен фактор на раст (PDGF-B), фибробластен фактор на раст (FGF-2), трансформиращки фактор на раст (TGF- β) и сврзно-ткивен фактор на раст (CTGF) (42). Испитувањата индуцираат нагорна регулација на CTGF од TGF- β ₁ и негово стимулирање на колагена акумулација во хумани гингивални фибробластни култури.

Циклоспорин-индуцираното зголемување на гингивата претставува интересен пример на ткивно-специфичен механизам, при кој циклоспоринот го стимулира нивото на TGF- β *in vivo* (22) и ја зголемува неговата продукција во реналните клетки и лимфоцитите и доведува до ренална фиброза и нефропатија. Тргувајќи од овој податок, се чини разумно да се очекува дека ќе постои висока експресија на TGF- β ₁ и CTGF кај циклоспоринското зголемување на гингивата, но спротивно од овие очекувања Echelard (102) известува за постоење на висока инфламација на ткивата и за непостоење на зголемено ниво на TGF β и CTGF (77). Забележаната зголемена инфламација, секако е резултат на интеракцијата меѓу оралните микроорганизми, гингивалните клетки и циклоспоринската амбиентарност кои ја разликуваат оваа состојба од останатите гингивални зголемувања. Авторите посочуваат дека овие ткива имаат помал степен на фиброза за разлика од гингивалните ткива кои се третирани со нифедипин и фенитоин (97).

Тромбоцитниот фактор на раст (PDGF) претставува хемоатрактант за фибробластната пролиферација и за синтезата на глюкозаминогукани, фибронектин и колаген. Зголеменото ниво на овој фактор во гингивата можеби е одговорен за пролиферација на фибробластите и продукцијата на екстрацелуларниот матрикс (7).

Резултатите од студијата на Voltchi и сор. (7) сугерираат за слаба поврзаност меѓу фибробластната активност и клиничките знаци на гингивалното разраснување поддржувајќи ја хипотезата за постоење на мултифакториелен концепт во патогенезата на ова заболување.

Неодамна беше демонстрирано дека циклоспоринот не само што го блокира имуниот систем преку инхибиција на сигнали преку Т клеточниот рецептор (превенира продукција на цитокини кои нормално го стимулираат имуниот одговор), туку ја стимулира и продукцијата на TGFβ₁ кој претставува најодговорен цитокин за продукцијата на екстрацелуларниот матрикс, колагените фибри, глюкозаминогукани и протеоглукани.

Група автори (99), по пат на имунохистохемиски анализи на цитоскелетонот кај нормални и хипертрофирани гингивални фибробласти третирани со циклоспорин и TGFβ₁ и контролни здрави фибробласти, не покажаа некакви морфолошки разлики меѓу третираните и контролните клетки, без присуство на неопластични клеточни линии. Биохемиските промени во екстрацелуларниот матрикс, авторите сметаат дека повеќе се предизвикани од цитокините (TGFβ₁), отколку од циклоспоринот. Циклоспоринот не индуцирал морфолошки промени во фибробластните култури добиени од хипертрофирана и нормална гингива.

Зголемената секреција на глюкозаминогуканите индуцира зголемена густина на негативен електрицитет кој ги привлекува осмотски активните катјони како натриум, кој води кон привлекување на големо количество врзувачка вода и последователно висок волумен и зголемен осмотски притисок во екстрацелуларниот матрикс (99).

Иако ефектот на циклоспоринот на гингивалните ткива бил предизвик за многу научници, сепак патогенезата за нејзиното настанување е само делумно дефинирана. Резултатот од клеточните култури и имунохистохемиските студии, сугерираат дека плак индуцираните инфламаторни промени се сигнификантни во патогенезата на оваа состојба. Одредени автори (54), кои компарираат циклоспорин-третирани пациенти со здрави субјекти, документираат зголемен број на CD68 (+) мононуклеарни клетки, плазма клетки, CD3 (+) Т лимфоцити, и повисок однос на CD4:CD8 кај циклоспорин групата. Сите овие и многу други податоци, сугерираат дека самостојно, ни еден целуларен или молекуларен фактор не може да биде фундаментален во развојот на гингивалното зголемување. Иако е познат фактот дека плакот индуцира повеќе инфламаторни промени во гингивалните ткива, авторите сметаат дека повеќе клетки кој ја условуваат плак продукцијата, можат да ја модулираат интеракцијата фибробласт-медикамент во гингивално зголемување.

Vulut и сор. (10) во своите имунохистохемиски испитувања кај циклоспорин-зголемена гингива и системски здрави контролни субјекти со гингивит, ги испитувале степенот на инфламаторните промени и експресијата на одредени клеточни антигени (Ki 67, CD 71, CD 98, CD 45, CD 50, CD 11a, CD 162, CD 227, CD 231). Резултатите покажале слично ниво на експресија за Ki-67 во гингивалниот епител кај циклоспорин-третираните ренални реципиенти и здрава контролна група, покажувајќи слична пролиферативна активност во базалните епителни клетки кај двете групи. Овие резултати се во спротивност со претходните хистопатолошки студии кои известуваат за асоцијација меѓу зголемените епителни слоеви кај нифедипин и циклоспорин-индуцираното гингивално зголемување и зголемената митотска активност (59). Понатаму, авторите (10) известуваат за инхибиторниот ефект на циклоспоринот кон кератиноцитниот раст директно или индиректно, а *in vitro* студиите го покажуваат анти-пролиферативниот ефект на циклоспоринот на кератиноцитите сметајќи дека, пролиферацијата можеби се одвивала на не променет начин кај циклоспоринските ткива. Со оваа теза согласни се и Niimi и сор. (61, 63) кои поради зголемениот број на ДНК полимеразата алфа (+) во базалните кератиноцити, сметаат дека феноменот на гингивално зголемување не се должи на зголеменото ниво на кератиноцитната пролиферација, туку на зголемениот животен век на кератиноцитите.

Тргувајќи од добиените резултати за зголемениот моноклеарен клеточен инфилтрат кај ткива кои биле третирани со циклоспорин во однос на не третирани ткива (контролна група), Vulut и сор. (10) го подржуваат размислувањето за учеството на инфламацијата и локалните инфламаторни стимули во развојот на гингивалното зголемување, кој сепак останува дека е мултифакториелен процес. Клеточната композиција и присуството на инфламаторни клетки ја рефлектира неговата хронична природа, која може да резултира во долготраен локален стимулаторен процес кој води кон гингивално зголемување.

Овие испитувања се во согласност и со Echelard и сор. (23), кои испитувајќи го степенот на инфламација на здрава и циклоспорин-индуцирана гингива користеле инфламаторни маркери познати како протеин S-100A8 и S-100A9 и утврдиле сигнификантна инфламација во сврзното ткиво кај третираната гингива споредено со здрава гингива. Оралните бактерии и гингивалните клетки и ткива, кај пациентите кои

примаат циклоспоринска терапија реагираат на специфичен начин кој се манифестира со релативно високо ниво на инфламација и целуларитет, спореден со другите форми на гингивално разраснување (42).

Циклоспоринот ја регулира цитокината експресија во гингивалните ткива. Преку селективна имunosупресија, тој има способност за инхибиција на интерлеукините (IL-6, IL-1 β), кои се потентни стимулатори на колагеназата, и на таков начин има важна улога во патогенезата на гингивалното зголемување. Myrillas и сор. известуваат за цитокината инхибиција која се одвива на дозно-зависен начин (54).

Надоврзувајќи се на претходните клинички обсервации, Rateitschak-Pluss и сор. (69) во 1983 година известуваат за гингивалните промени кај хумани трансплантирани реципиенти. Детерминирање на вистинската инциденца е многу сложена поради бројни конфузни варијабли меѓу испитуваните субјекти, влучувајќи разлики во дозата на медикаментот, неговата концентрација во плазмата, времетраењето на терапијата, методот на нотирање на гингивалното зголемување, пародонталниот статус (особено инфламаторната компонента), возраста на пациентите, здравствениот статус, како и употребата на останати медикаменти.

Seymour (79) известува за мал процент (2%) на зафатена гингива кога циклоспоринот се употребува кај коскени трансплантати. Тој смета дека гингивалното зголемување почесто се јавува кај деца отколку кај возрасни, и притоа тој ја поставува хипотезата за можна корелација меѓу циклоспоринот, половите хормони и гингивалните фибробласти.

Кај осетливи пациенти гингивалното зголемување се јавува по 1 до 3 месеци од почетокот на циклоспоринската терапија (81). Циклоспорин-индуцираното гингивално зголемување започнува како папиларно зголемување кое е повеќе назначено на лабијалните површини од гингивата во однос на палатиналните и лингвалните. Зголемувањето се движи од слабо назначени промени до комплетно препокривање на коронката.

Интензитетот на гингивалното зголемување е многу по назначено доколку во оралната празнина се присутни разни ортодонтски или протетски реконструкции, постоење на некоректни полнења или назално дишење кај пациентите. Klintmalm (26) посочува дека ова зголемување се јавува на кератинизираната гингива, со можност за

коронарно екстендирање и интерферирање со оклузијата, мастикацијата и говорот. Авторите укажуваат дека кај 21 од 26 испитувани пациенти (81%) кои примаат циклоспоринска терапија, развиваат гингивално зголемување, за разлика од контролната група која користела азатриопин кај која немало ни еден случај со промени на гингивата. Зголемените ткива многу често манифестираат инфламаторни промени, тие се хиперемични, со мека конзистентност, екстремно фракилни и лесно крварат при сондирање.

Rostock и сор. (73) демонстрираат спонтанa репозиција на мигрираните заби по оперативното отстранување на зголеменото ткиво, резултирајќи во видливо намалување на дијастемите, индицирајќи дека миграцијата на забите се јавува како резултат на циклоспоринското зголемување на гингивата.

Како надополнување на естетските проблеми, гингивалното зголемување може да доведе до намалена орална хигиена со последователен карлес, пародонтопатија и инфекции кои можат да резултираат во септикемија и да доведат до компликации кај пациентите со компромитиран имунитет (96).

Гингивалните промени честопати доведуваат до нутритивни потешкотии, особено кај детската популација, кај кои ова зголемување може да ја алтерира нормалната дентална ерупција (14).

Сеуште постојат контроверзности околу асоцијацијата на гингивалното зголемување и медикаментозните варијабли. Некои автори индицираат постоење на корелација меѓу степенот на гингивалната хиперплазија и дозата на циклоспоринот (15, 93) додека други автори известуваат за спротивни наоди (94, 108, 51). Somacarrera и сор. (85) се согласуваат дека е потребна одредена иницијална концентрација на медикаментот во серум, за да се постигне ефектот на зголемена гингива, при што сугерираат-поголема серумска концентрација, побрз одговор на гингивата.

Nefti и сор. (35) во својата двојно-слепа проба извршена кај 90 пациенти, од кои 40 биле третирани со циклоспорин А, а останатите 50 со плацебо медикамент, покажаа позитивна корелација меѓу циклоспоринот во серум и степенот на гингивалното зголемување. 17% од пациентите кои регистрираа вредност на циклоспоринот во серум под 400ng/ml, развија гингивално зголемување, додека истиот ефект се доби во 59% од случаите кај пациентите кои имаа поголеми вредности на циклоспоринот од 400ng/ml.

Синергистички ефекти забележани се кај пациенти кои примале комбинирана терапија на циклоспорин со калциум блокатори за разлика од оние кои примале само циклоспоринска терапија (94).

O' Valle и сор. (61) преку споредбена морфометриска анализа на биоптични материјали на гингива третирана со циклоспорин и циклоспорин заедно со нифедипин, забележале сигнификантна разлика во гингивалното зголемување. Комбинираната терапија ја сметаат за ризик фактор во прогресијата и рекурентноста на ова заболување.

Тргувајќи од фактот дека циклоспоринот се секретира преку плунка, повеќе студии го испитувале ефектот на саливарната концентрација на циклоспоринот и развојот на гингивалното зголемување. Но, исто како и со серумската концентрација на циклоспоринот, останува неизвесно дали локалната концентрација на медикаментот игра значајна улога во гингивалното зголемување. Директна релација меѓу степенот на гингивалното зголемување и циклоспоринската концентрација во стимулирана плунка била демонстрирана во испитувањата на Nefti (35), а спротивно од нив, за слаба корелација меѓу нестимулирана саливарна циклоспоринска концентрација и гингивално зголемување известуваат King и сор. (45). McGaw и King, овие конфликтни резултати ги објаснуваат преку способноста на денгалниот плак да учествува како локален резервоар на циклоспорин, кој се ослободува со дејството на стимулираната плунка.

Постоењето на функционални хетерогени субпопулации на фибробласти во нормална гингива е документирано уште во лабораториските испитувања на Hassel и Stanek (33) во 1983 година, кои ги потенцираат бројните функционални параметри како што се нивото на клеточната пролиферација, протеинската синтеза, колагената продукција, и одговорот кон различни хемиски супстанции. Хетерогените фибробласти и нивниот колагенолитички одговор кон циклоспоринот беше испитуван од Tipton и сор. (98). Изолирани беа 14 различни гингивални фибробластни видови од здрави индивидуи, на кои им беше одредувана колагеназната активност и ткивниот инхибитор на металопротеиназата, пред и по терапија со циклоспорин (0, 1 - 0, 75ng/ml). Студијата покажа впечатливи интер-индивидуални разлики во колагеназната активност пред и по терапија со циклоспорин.

Индивидуалната преосетливост на гингивата, може да биде поврзана со генетската predisпозиција. Детектирање на различни гингивални одговори кон

циклоспоринот и неговиот главен метаболит OL-17 (46), манифестирани преку зголемена синтеза на протеини и колагена продукција бил испитуван од страна на Coley (16), Zebrowski (110), Schincaglia (75), кој покажал дека одговорот е дозно-зависен и сигнификантен кај концентрација на медикаментот од 500ng/ml. Спротивни наоди кои говорат за намалена фибробластната синтеза, ни даваат истражувањата на Friscopp (26).

Постоењето на две различни клеточни популации на фибробласти е докажано и со користење на флуоресцентна форма на циклоспорин, при што 35% од клеточната популација на фибробластите не покажала поврзување со флуоресцентниот циклоспорин, додека 41% се поврзале и покажале одговор манифестиран како зголемена синтеза и пролиферација (63). Овие ефекти биле модифицирани со додавање на супернатанти од лимфоцитните култури, индицирајќи за можна интеракција меѓу лимфоцитните продукти и гингивалните фибробласти.

Chabria и сор. (12) во своите истражувања докажуваат дека кај „осетливите пациенти“, постои одредена микстура на фибробласти и лимфоцитни субпопулации кои реагираат со циклоспоринот во инфламираните гингивални ткива, со краен исход на гингивално зголемување.

Фактот дека генетската предиспозиција корелира со медикаментозната експресија на гингивалната хиперплазија, произлегува од испитувањата на експресијата на хуманиот лимфоцитен антиген (HLA) како корисен генетички маркер за идентификација на пациенти со ризик за развој на медикаментозно условената гингивална хиперплазија (64).

Пациенти кои покажуваат HLA-DR1+ експресија имаат извесен степен на протективно дејство кон развој на овој несакан ефект, додека оние кои покажуваат HLA-DR2+ поседуваат зголемен ризик за медикаментозно индуцирана гингивална хиперплазија (14).

Генетските фактори сигнификантно влијаат на останатите фактори во релацијата циклоспорин-плак-гингивално зголемување.

Цел на трудот

Цел на трудот

Современите литературни стручно научни податоци за поврзаноста на циклоспоринот и гингивалното зголемување кај пациентите кои се под имunosупресивна терапија, доминантно се однесуваат на суптилните и сложени молекуларно сигнални механизми кои резултираат во нагласена фибробласна активност клинички презентирани со гингивален хиперпластичен одговор. Не разјаснетите аспекти околу овој несакан ефект беа мотив за поставување на целта на нашиот труд:

- одредување на оптимална терапевска концентрацијата на медикаментот, која ќе придонесе во минимизирање на степенот на гингивалната хиперплазија;
- одредување на взаемната поврзаност меѓу степенот на гингивалното зголемување, фармаколошките и пародонталните параметри;
- квалитативно продлабочување на морфолошките анализи на ткивните примероци;
- детекција на одредени Ag во ткивата со помош на соодветни Ат.

Материјал и метод

Материјал и метод

За остварување на поставената цел, проследени се вкупно 120 пациенти со бубрежна трансплантација на возраст од 16-62 години, кај кои дијагностициравме гингивално зголемување. На Клиниката за болести на устата и пародонтот, при Стоматолошкиот Клинички Центар „Св. Пантелејмон“ во Скопје и Клиниката за нефрологија-Клинички Центар-Скопје, кај сите испитаници беа спроведени :комплетна анамнестичка постапка и клинички преглед. На Институтот за патолошка анатомија и Институтот за фармакологија при Медицинскиот факултет во Скопје беа спроведени дел од параклиничките испитувања содржани во целта на оваа студија.

Оформената група од 120 испитаници ја сочинуваа пациенти со бубрежен трансплантат и стабилна графт функција. Пост-трансплантациската имunosупресивна терапија кај сите испитаници се состоеше од циклоспорин (Neoral; 6 - 8mg/kg/ден) за постигнување на C2 ниво (концентрација во серум 2 часа по администрација на медикаментот), преднизолон (1mg/kg/ден), mycophenolate mofetil (Cellcept 1, 5 - 2g/ден) и Diltiazem (2x90mg), кој ја подобрува ресорпцијата на циклоспоринот. По спроведената анамнеза кај испитаниците беа исклучени следните состојби:

- заболувања на меките и тврдите ткива во оралната празнина со исклучок на кариес и пародонтопатија;
- присуство на протетски реконструкции во усната празнина;
- присуство на ортодонтски апарати во усната празнина;
- примена на антиконвулзиви (особено фенитоин) асоцирани со јатрогеното зголемување на гингивата.

Според дневната доза на циклоспоринот, пациентите беа групирани во 4 групи:

- **Прва група** од 30 пациенти, каде вкупната дневна доза на примениот циклоспорин изнесуваше 100mg;
- **Втора група** од 30 пациенти каде вкупната дневна доза на примениот циклоспорин изнесуваше 125mg;

- **Трета група** од 30 пациенти каде вкупната дневна доза на примениот циклоспорин изнесуваше 150mg;
- **Четврта група** од 30 пациенти каде вкупната дневна доза на примениот циклоспорин изнесуваше 175mg.

По извршената анамнеза, кај сите пациенти, беше извршен темелен пародонтолошки клинички преглед, при што утврдивме постоење на гингивално зголемување. Клиничкиот преглед за анализа на гингивалниот статус, беше реализиран преку примена на следните индексни вредности:

- **индекс на дентален плак по Silness-Loe (1963)**, според кој присуството и количината на дентален плак е вреднувано од 0-3 (ИДП)

0- нема дентален плак во гингивалната третина на забната коронка;

1- плакот е дистрибуиран покрај маргиналната гингива, при што може да се детектира со сонда или пак по пат на боење, но не и со голо око;

2- присуство на умерена количина на плак која зафаќа повеќе од една третина од забната коронка, но е присутен и во гингивалниот сулкус или во пародонталниот џеп;

3- големо количество на дентален плак по целата забна површина, како и во гингивалниот сулкус, пародонталниот џеп, и во интерденталниот септум.

- **степен на губиток на атачмент (ниво на апикална миграција на припојниот епител)**, предложена од American Academy of Periodontology (1999) врз основа на која е одреден и клиничкиот стадиум на заболувањето:

- прв клинички стадиум ▪ слабо изразен губиток на атачмент до 2мм;

- втор клинички стадиум ▪ умерено изразен губиток на атачмент од 2-5мм;

- трет клинички стадиум ▪ силно изразен губиток на атачмент со над 5мм апикална миграција на припојниот епител.

▪ индекс на гингивална инфламација по Loe-Silnes (1964):

0-не постои воспаление на гингивата, таа е со бледо розева боја, цврста конзистенција и со ситнозрнеста структура;

1-блага до умерена инфламација која не ја зафаќа гингивата во целост, таа е со црвена боја, посилено изразен едем и присутно крварење при благо сондирање;

2-умерена инфламација која ја зафаќа гингивата во целост, таа е со црвена боја, посилено изразен едем и присутно крварење при благо сондирање;

3-јака инфламација на гингивата во целост, таа е со изразено црвена боја, многу зголемена со тенденција кон спонтани крварења.

▪ индекс на гингивално зголемување по McGaw и сор. (50)

0-не постои зголемување, сосема безначајно нагласена маргинална гингива;

1-затапена маргинална гингива; инволвирана е само интерденталната папила;

2-умерено зголемување на гингивата ($< 1/3$ од коронарната должина);

3-значајно зголемување на гингивата ($> 1/3$ од коронарната должина).

Од сите испитувани пациенти беше земен биоптичен материјал од зголемената интердентална папила под инфилтративна анестезија и фиксиран во 10% неутрален формалин, по што следувааше стандардна патохистолошка обработка на Институтот за патолошка анатомија при Медицинскиот факултет во Скопје. Понатаму ткивните примероци беа вкалапени во парафински блокчиња од кои беа направени ткивни пресеци со дебелина од 4-6 микрони. Така подготвените ткивни пресеци беа стандардно монтирани на предметни стакла и обоени со хемалаун еозин и хистохемиски со Van Gieson, Retikulin, PAS и Alcian blue, додека пресеците за имунохистохемиското бојење беа монтирани на силански предметни стакла и боени со Авидин-Биотинска техника (ABC-Avidin Biotin Complex), LSAB + варијанта.

МОРФОМЕТРИСКО МЕРЕЊЕ

По стандардната микроскопска патохистолошка анализа и семиквантитативна проценка на степенот на фиброза на гингивалната строма, беше направена и морфометриска анализа на ткивните пресеци со помош на специфичен софтвер „IMAGE ANALIZING SYSTEM-LUCIA M“. Морфометриската анализа опфати мерење на дебелината на гингивалниот епител на сите пресеци, со одредување на средна вредност за секој од испитуваните субјекти.

ХИСТОХЕМИСКИ МЕТОДИ

Методи за сврзно ткиво

VAN GIESON

Ова боење се користи за прикажување на колагените влакна во парафинските пресеци.

Метода:

1. депарафинизација низ ксилол, апсолутен алкохол, 95% алкохол, дестилирана вода;
2. Weigertov хематоксилин 5-10 минути;
3. испирање со дестилирана вода;
4. боење со Van Gieson 1-3 минути;
5. 95% алкохол;
6. апсолутен алкохол;
7. ксилол;
8. закиселен ксилол;
9. балзам.

Резултат: Јадрата се плави, колагените влакна се црвено-пурпурни, а цитоплазмата, мускулните влакна и орожнетиот епител се пребоени жолто. Според степенот на присуството на колаген се користеа +, ++, +++ (слика бр. 6, 7, 8).

ГОМОРИЕВА МЕТОДА ЗА РЕТИКУЛИНСКИ ВЛАКНА

Се користи за прикажување на ретикулинските влакна во ткивните пресеци.

Метода:

1. депарафинизација, преку алкохол до вода;
2. оксидирање со калиум перманганат 1-2 минути;
3. испирање со тековна вода;
4. диференцирање во калиум метабисулфат;
5. испирање со вода;
6. сензибилизирање во р-ор на фери амониум сулфат;
7. испирање со вода;
8. испирање со дестилирана вода;
9. импрегнација со сребро 1 минута на собна температура;
10. испирање во дестилат;
11. редуцирање во 20% формалин 3 минути;
12. испирање со тековна вода 3 минути;
13. ставање во златен хлорид;
15. ставање во калиум метабисулфат 1 минута;
16. фиксирање во 2% натриум тиосулфат 1 минута;
17. испирање со вода 2 минути;
18. дехидрирање, ксилол и монтирање во балзам.

Резултат: Ретикуларните влакна се обоени црно, а основата е зелена. Присуството на ретикулин беше одредено кај сите препарати и нотирано со +, ++, +++ (слика бр. 9, 10, 11).

PAS -Метода за мукополисахариди

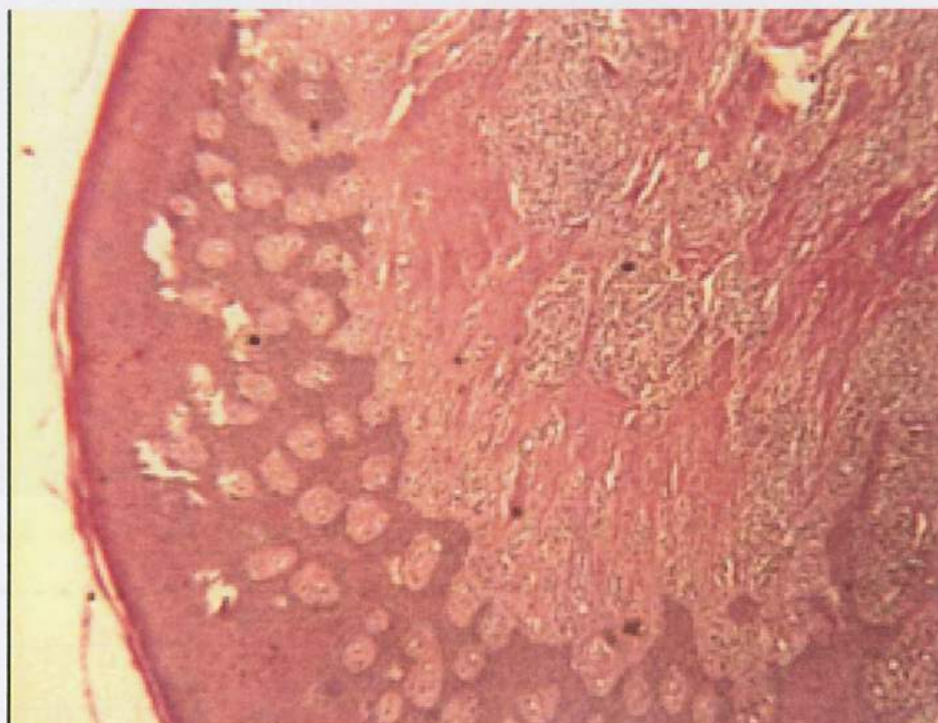
Оваа метода се користи за прикажување на неутрални мукополисахариди.

Метода:

1. депарафинизација;
2. р-ор Alcian blue pH 2, 5 или 1, 0 30 минути;
3. испирање со вода и сушење со филтер хартија;
4. оксидирање со перјодна киселина;

5. испирање со тековна вода;
6. Schiffov реагенс;
7. испирање со натриум бисулфат;
8. испирање со вода;
9. дехидрирање со 95% алкохол, апсолутен алкохол;
10. ксилол и монтирање во балзам.

Резултат: Растворот PAS со рН 2, 5 ги прикажува неутралните мукополисахариди (хијалуронска киселина, сиаломудини и повеќе кисели сулфатни мукополисахариди кои се бојат црвено), (слика бр. 1).



Слика бр. 1. PAS x 40 Папиломајозно-разраснајќи многуслоен епител

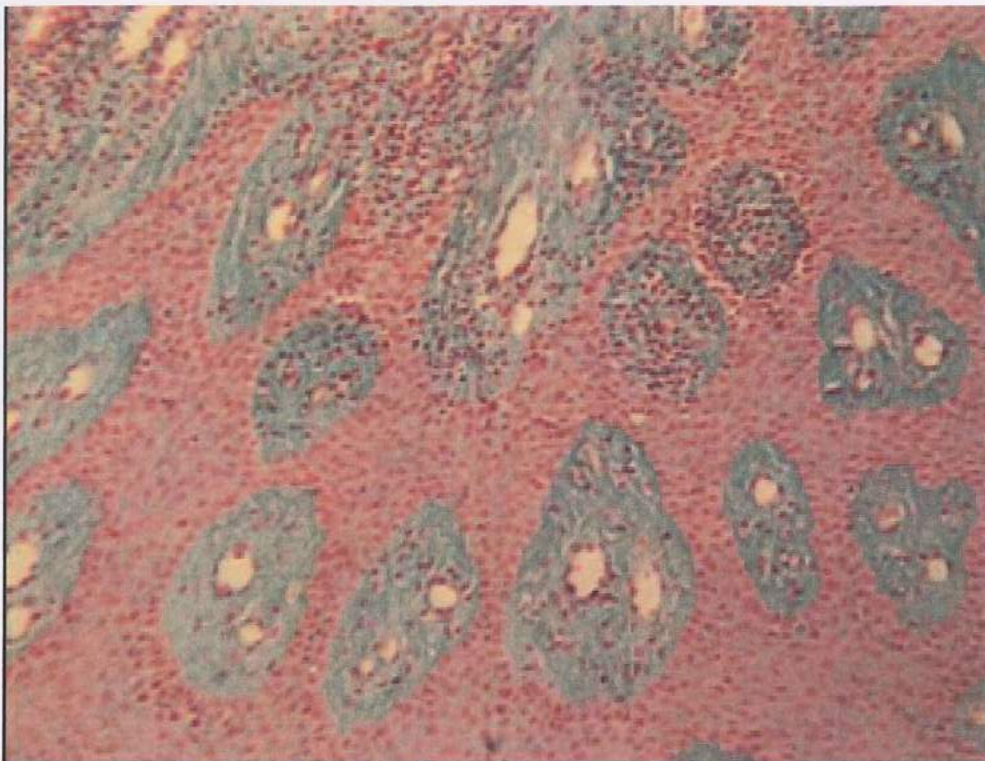
ALCIAN BLUE

Со ова бојење се прикажуваат киселите мукополисахариди кои се бојат плаво, јадрата се обоени црвено, а останатите ткивни компоненти розево (слика бр. 2).

Метода:

1. депарафинизирање;

2. бојење со р-ор alcian blue;
3. тековна вода;
4. р-ор nuklear fast red;
5. испирање со вода;
6. 96% алкохол, апсолутен алкохол, ксилол и балзам.



Слика бр. 2. Alcian blue x 100; Миксоматозна дегенерација на субеписиелнојо сврзно ткиво. Богат висцалиелно-клеточен инфилтраци претешно сосиавен од лимфоцитии и плазма клетки

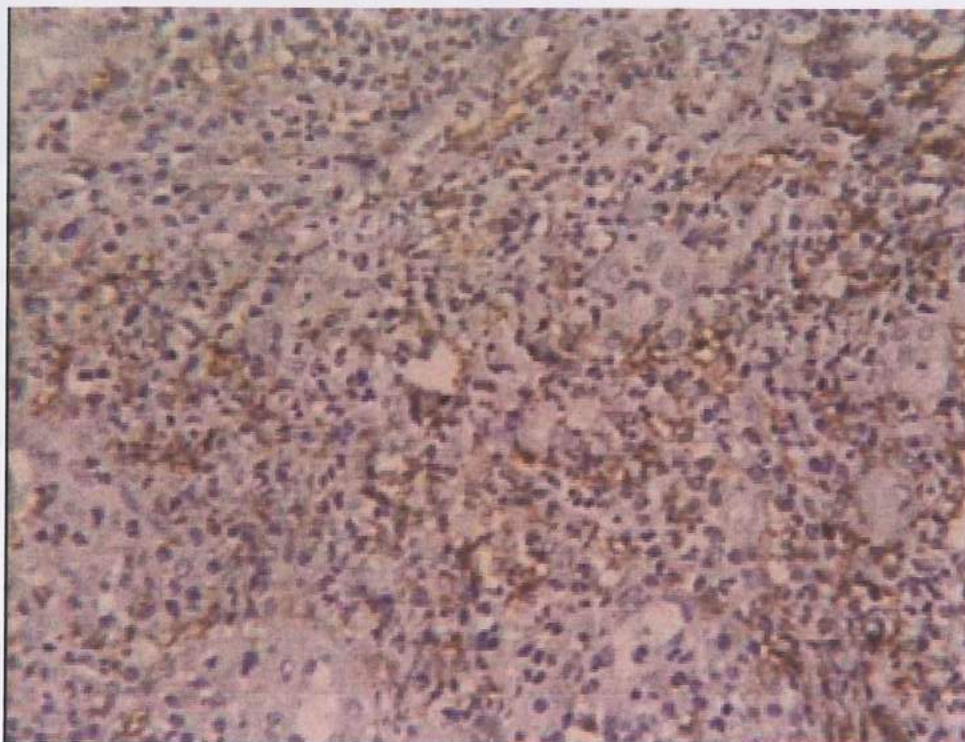
ИМУНОХИСТОХЕМИСКО БОЕЊЕ

Авидин-Биотинска техника

Имунохистохемиската анализа служи за детекција на одредени антигени во ткивата, со помош на соодветни антитела. Антителата се аплицираат на исечоците од ткивото и по нивното врзување се користи специфичен систем за детекција кој овозможува визуелизација на маркираните молекули. Употребените моноклонални антитела **Vimentin**, **S-100 протеин** и **HLA-DR**, беа од **DAKO** продукција.

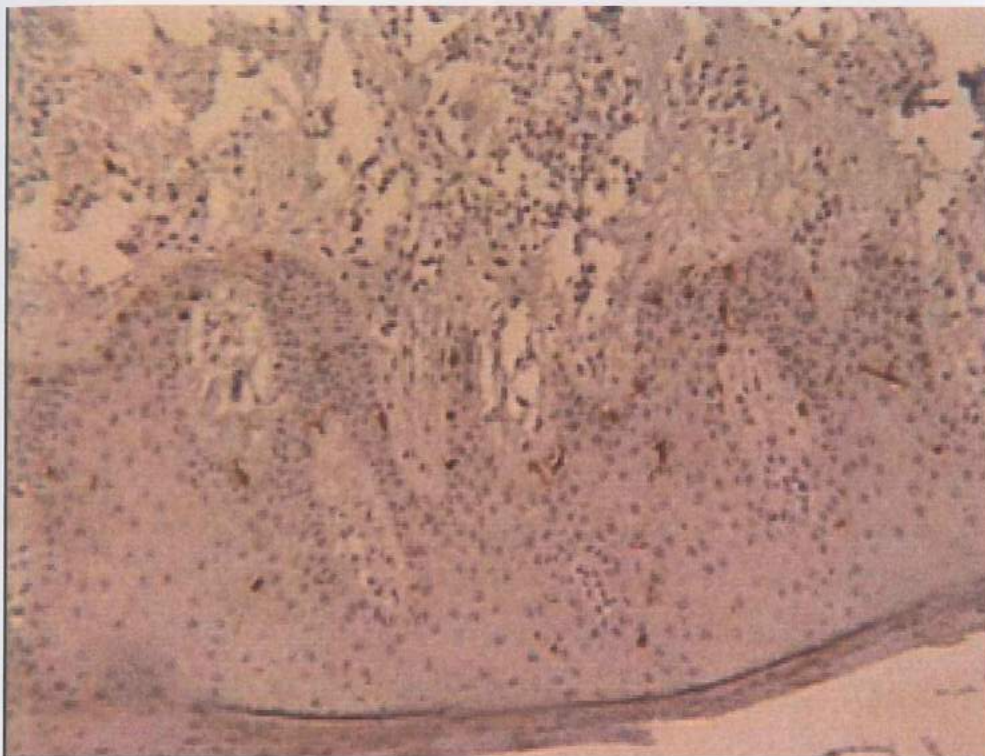
На ткивниот примерок со одредена антигенска детерминанта се додава примарното антителио и се инкубира на собна температура (30 мин.). Потоа следува плакнење со фосфатен пуфер и потопување на примероците во 10% нормален серум и повторно плакнење со фосфатен пуфер. Се додава секундарното антителио кое е комплексиранио со биотин. Авидин-Биотин комплексот содржи ензим HRP (Horse radish peroxidase), кој се врзува со биотинската молекула од секундарното антителио. Тоа се поврзува со детерминанти од примарното антителио. Следува инкубација на собна температура (30 мин.) и повторно плакнење со фосфатен пуфер. Се додава ABC реагенс и се плакне со фосфатен пуфер. Крајниот резултат како позитивна антиген-антитело реакција беше проследена со формирање на кафеав преципитат од полимеризираниот супстрат.

HLA-DR се молекули кои припаѓаат на МНС класа II, а анти-HLA-DR антителиата, ги маркираа интраепителните дендритични клетки и интраепителниот лимфоцитен како и лимфоцитно-макрофагниот воспалителен инфилтрат во стромата од гингивата (слика бр. 3).



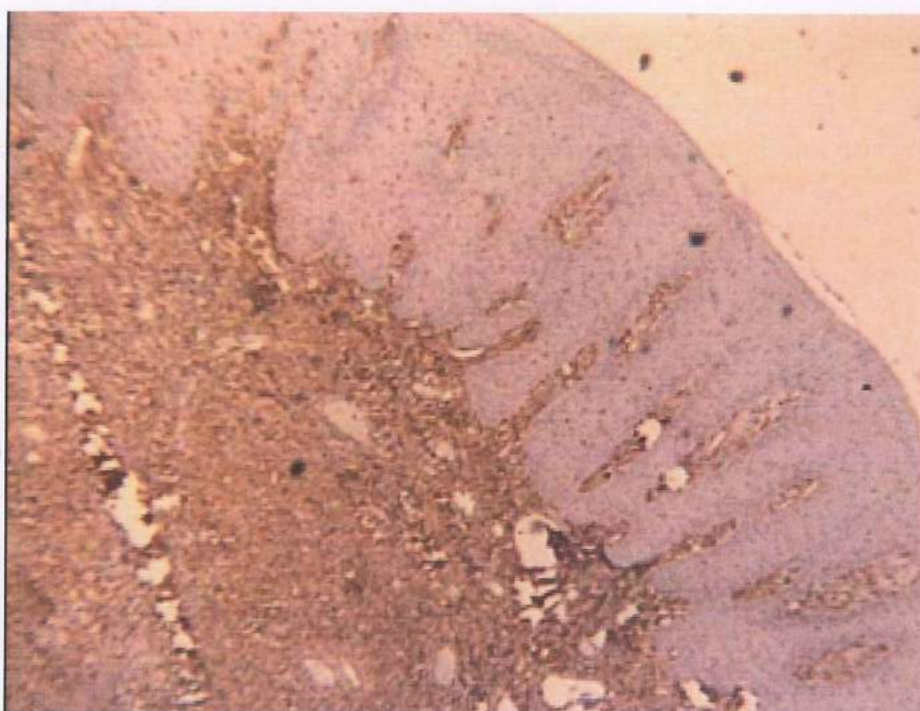
Слика бр. 3. HLA-DR x 200

S-100 претставува калциум врзувачки протеин, асоциран со метаболно активните клетки. Се среќава кај воспалителни клетки, клетки со зголемен метаболизам и туморски активирани клетки. S-100 протеинот ги маркира метаболно активните клетки (слика бр. 4).



Слика бр. 4. S-100 протеин x 40

Vimentin е антитело кое служи за подобра визуелизација на стромата, стромалните промени и мезенхималните ткивни компоненти и како маркер за квалитетот на претходното процесуирање на ткивото, се користи за одредување на квалитетот на имунохистохемиското бојење (слика бр. 5).



Слика бр. 5. Vimentin x 40; Епителелой йокажува негатиивийей, додека сїромайїа е йозиїивно йребоена

ПАРАКЛИНИЧКИ ИСПИТУВАЊА

ЦИКЛОСПОРИНЕМИЈА

Циклоспоринемията, беше одредувана на Институтот за фармакологија при Медицинскиот факултет во Скопје, како дел од периодичните медикаментозни испитувања на ренално-трансплантираните пациенти. Крвните примероци беа земени од v. cubitalis, 2 часа по примањето на утринската доза на циклоспоринот. Концентрацијата на циклоспоринот во крвта (C2) е одредуван со користење на флуоресцентно поларизациона имуно метода (FPIA) на TDx анализатор од фирмата ABBOT со комерцијални сетови.

Секој примерок од крвта (2ml крв + 0, 2ml EDTA) претходно е подложен на претретирање со цел минимизирање на интерференцијата на природната флуоресценција кај компонентите кои се врзани за протеините. Во претретманот, во крвниот примерок (150µl) е додаден солубилизирачки реагенс (50µl) и преципитирачки реагенс (300µl) со цел растварање на клетките и преципитирање на протеините. По вортексирањето и

центрифугирањето (9, 500 x 5min) добиен е бистар супернатант кој е користен за мерење на нивото на моноклоналниот циклоспорин А во крвта.

Според оваа метода нормална терапевска концентрација на циклоспорин А во крвта се движи од 600-800ng/ml.

Статистичка анализа:

Во статистичка анализа на добиените резултати од клиничката и патохистолошката студија беа користени методи на дескриптивна и аналитичка статистика.

За опис на добиените резултати ги користевме следните методи на дескриптивна статистика, параметриски и непараметриски:

1. Аритметичка средина (средна вредност-mean);
2. Стандардна девијација (SD);
3. Стандардна грешка (SE);
4. Минимум (Min.);
5. Максимум (Max.);
6. Медијана (Med.);
7. Вкрстување (Кростабулации-Crosstabs).

За тестирање на нултата хипотеза и донесување на валидни заклучоци ги користевме следните аналитички статистички методи (статистички тестови) параметриски и непараметриски во зависност од обележјата на набљудување кои беа анализирани (нумерички со нормална распределба, нумерички кои не се однесуваат по нормална распределба или атрибутивни обележја на набљудување):

1. Еднофакторска анализа на варијанса за нумерички обележја на набљудување (Oneway ANOVA);
2. За подетални меѓугрупни анализи по извршената ANOVA беше користен тестот на квадратот на најмалите разлики (LSD тест);
3. Еднофакторска непараметриска анализа на варијанса по Крускал Валис (Kruskal-Wallis Тест);
4. Ман-Витниев У тест на инверзија (Mann-Whitney U test of the inversion);
5. Непараметриска корелација на рангови по Спирман (Spearman ρ correlations).

Нивоата на веројатност на остварување на нултата хипотеза согласно меѓународните стандарди за био-медицински науки беа 0,05 и 0,01.

Севкупната статистичка анализа е направена со помош на персонален сметач IBM-pentium IV pro со адекватен статистички софтвер од Институтот за социјална медицина, статистика и истражување во здравството на Медицинскиот Факултет во Белград.

Добиените резултати од статистичката обработка се прикажани табеларно, графички и компјутерски.

Резултати

Резултати

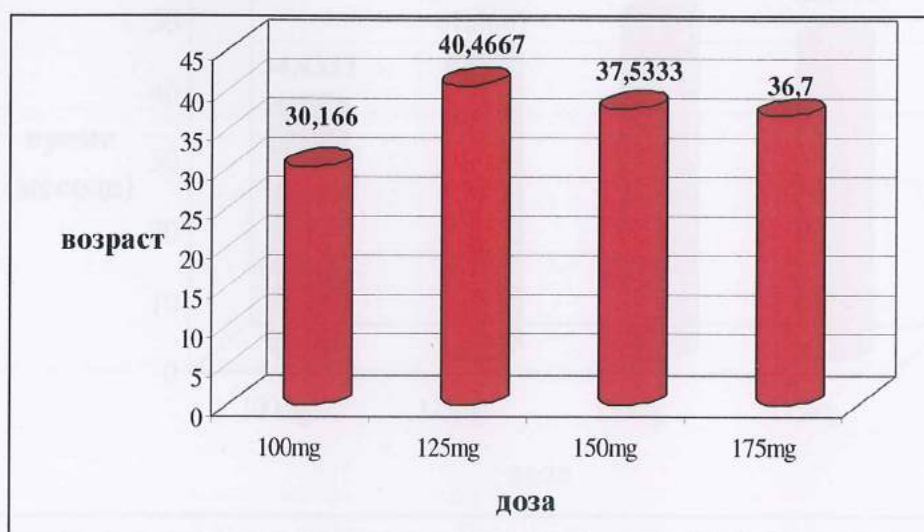
Просечната возраст на сите испитувани пациенти е $M=36,2$ години; $SD=9,5$ години, $SE=0,86$; $min=16$; $max=62$. Во табелата број 1 е дадена севкупната дескриптивна статистика во сите четири испитувани групи. Направената еднофакторска ANOVA покажа дека постои статистички високо-значајна разлика во просечната возраст на пациентите

($F=7,239$; $DF=3$; $p<0,01$), односно најстари се пациентите од втората група (третиран со 125mg. циклоспорин). Графичкиот приказ е даден на графикот бр. 1.

Табела бр. 1. Просечна возраст кај испитуваните

Вкупна доза на медикамент	Mean	SD	Min	Max	SE	Med
I група (100mg)	30,16667	8,9715	18,00	49,00	1,6380	30,0000
II група (125mg)	40,4667	9,1037	16,00	54,00	1,6621	42,0000
III група (150mg)	37,5333	7,8113	22,00	54,00	1,4261	40,0000
IV група (175mg)	36,7000	9,4107	21,00	62,00	1,7182	36,0000
вкупно	36,2167	9,5153	16,00	62,00	0,8686	38,0000

Графикон бр. 1. Просечна возраст кај испитуваните

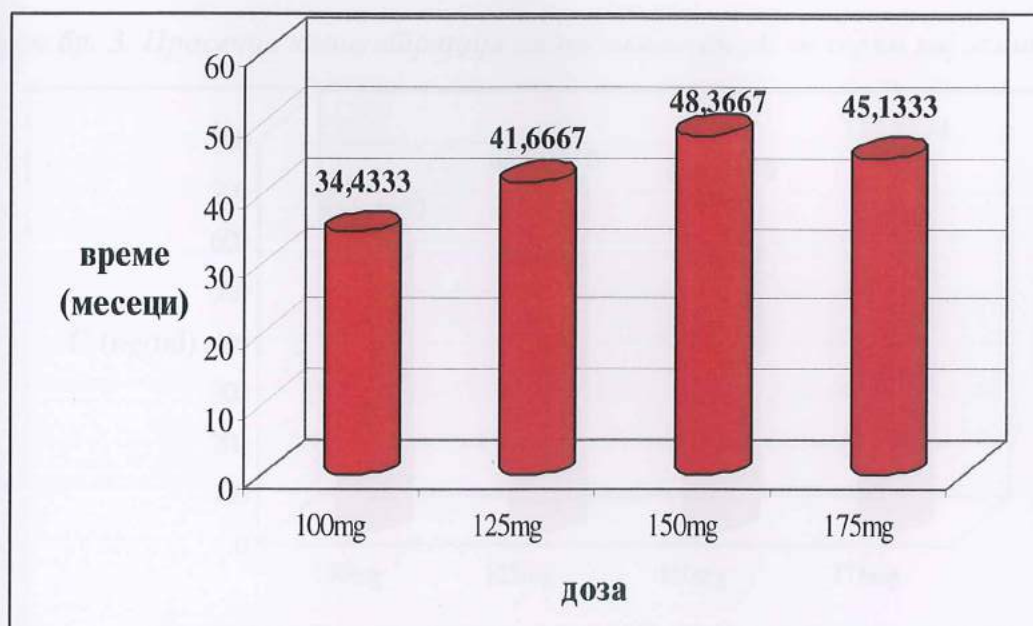


Просечното времетраење на терапијата за сите пациенти е $M=42,4$; $SD=36,23$ и $SE=3,3073$; $min=2$, а $max=180$ месеци. На табела број 2 дадена е севкупната дескриптивна статистика за сите четири испитувани групи по однос на параметарот времетраење. Направениот Крускал-Валисов тест, покажа ($\chi^2=4,969$; $DF=3$; $p>0,05$), односно не постои статистички значајна разлика во времетраењето на болеста помеѓу четирите испитувани групи. Графичкиот приказ е претставен на графикон број 2.

Табела бр. 2. Просечно времетраење кај испитуваните пациенти во различните групи

Дневна доза на циклоспорин	Mean	SD	Min	Max	SE	Med
100mg	34,4333	20,4614	9,00	67,00	3,7357	34,0000
125mg	41,6667	48,3289	2,00	132,00	8,8236	12,5000
150mg	48,3667	34,0198	5,00	120,00	6,2111	48,0000
175mg	45,1333	36,9293	9,00	180,00	6,7423	36,0000
тотал	42,4000	36,2300	2,00	180,00	3,3073	34,0000

Графикон бр. 2. Просечно времетраење кај испитуваните пациенти во различните групи



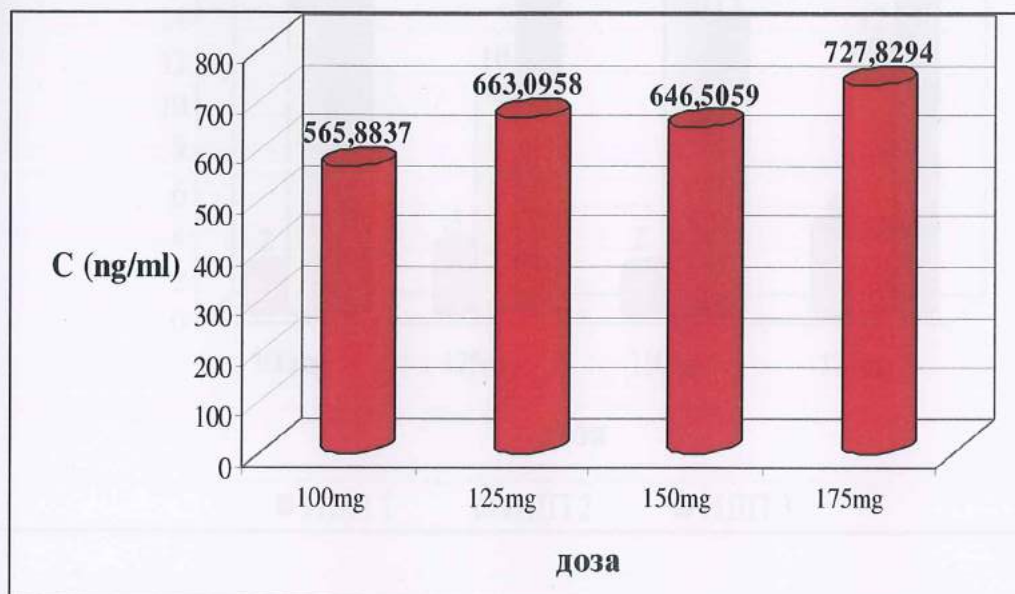
На табела бр. 3 е дадена дескриптивната статистика за вредностите на концентрацијата на медикаментот во серум, а на график бр. 3 е даден графичкиот приказ на средните вредности на концентрацијата на медикаментот кај четирите испитувани групи.

Направената еднофакторска ANOVA покажа: $F=11,162$; $DF=3$; $p<0,01$, односно очекувано се добива повисока концентрација на лекот во серум кај болните третирани со повисоки дози на циклоспорин, а највисока концентрација очекувано е кај четвртата група (со доза од 175mg) односно со највисоката доза на медикаментот.

Табела бр. 3. Просечна концентрација на медикаментот во серум кај испитуваните

Вкупна доза на медикамент	Mean	SD	Min	Max	SE	Med
I група (100mg)	565,8837	87,1826	452,58	742,00	15,9173	558,4000
II група (125mg)	663,0958	98,7856	538,33	855,00	22,6630	644,5000
III група (150mg)	646,5059	88,7672	507,40	896,00	17,0833	644,500
IV група (175mg)	727,8294	111,0274	590,00	968,54	27,7568	705,2800
вкупно	637,7854	109,1879	452,58	968,54	11,3836	624,4500

Графикон бр. 3. Просечна концентрација на медикаментот во серум кај испитуваните

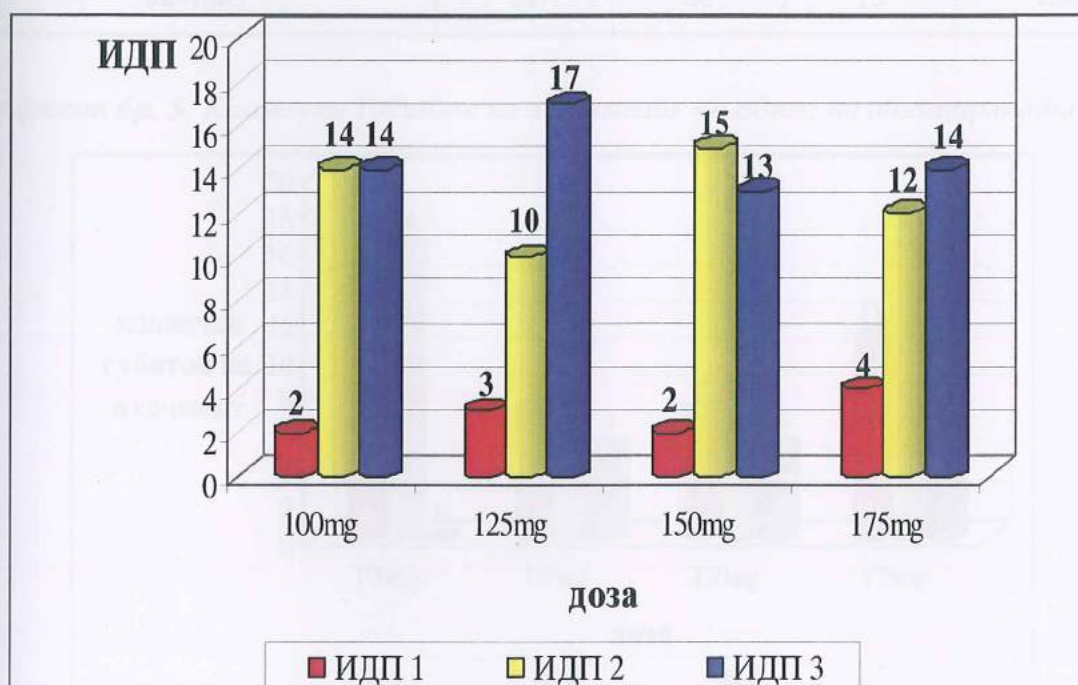


Дескриптивната статистика за дистрибуцијата на фреквенците на плак индексот (1, 2, 3) кај сите четири испитувани групи, прикажани се на табела и графикон бр. 4. Анализата на добиените резултати користејќи го Крускал-Валис тестот, покажа: Хи-квадрат=0,827; DF=3; $p>0,05$, односно не постои статистички значајна разлика во дистрибуцијата на фреквенците на плак индексот кај различните испитувани групи.

Табела бр. 4. Индекс на денџален ѓлак (ИДП) во однос на айлицираната доза

Вкупна доза на медикамент	Индекс на денџален ѓлак (ИДП)			вкупно
	1	2	3	
I група (100mg)	2	14	14	30
II група (125mg)	3	10	17	30
III група (150mg)	2	15	13	30
IV група (175mg)	4	12	14	30
вкупно	11	51	58	120

Графикон бр. 4. Индекс на денџален ѓлак (ИДП) во однос на айлицираната доза



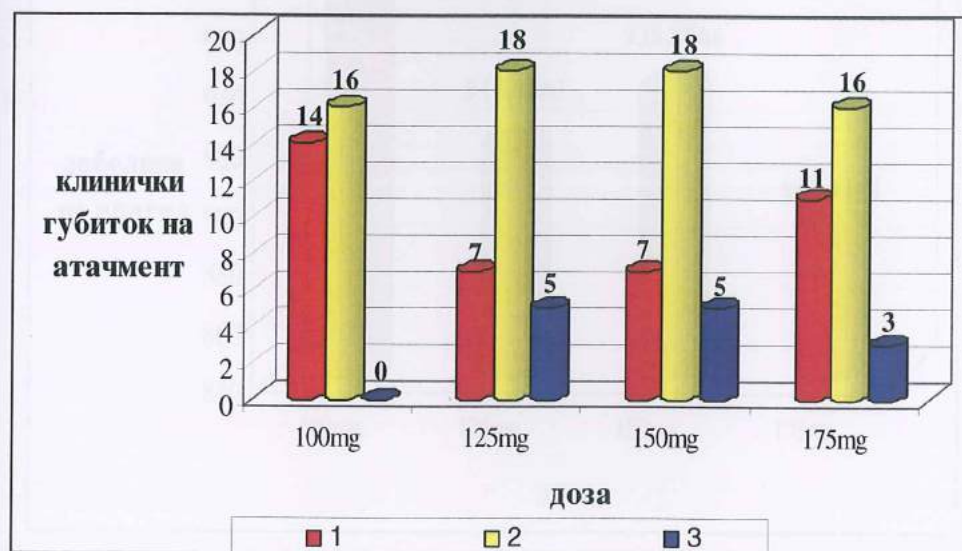
Дистрибуцијата на фреквенците на клиничкиот губиток на атачмент (1, 2, 3) кај испитуваните групи на пациенти се прикажани на табела и графикон бр. 5. Направениот Крускал-Валисов тест покажа: Хи-квадрат=8,092; DF=3; $p < 0,05$, односно постои статистички-значајна разлика во дистрибуцијата на фреквенците на клиничкиот губиток на атачмент во различните испитувани групи.

За подетална статистичка анализа направена е серија од Ман-Витниев У тестови на инверзија за меѓусебна споредба на две групи и е добиено, дека постои сигнификантна статистичка разлика помеѓу првата и втората група и помеѓу втората и третата група.

Табела бр. 5. Клинички губиток на атачмент во однос на аплицираната доза

Вкупна доза на медикамент	клинички губиток на атачмент			Вкупно
	I	II	III	
I група (100mg)	14	16	0	30
II група (125 mg)	7	18	5	30
III група (150mg)	7	18	5	30
IV група (175mg)	11	16	3	30
вкупно	39	68	13	120

Графикон бр. 5. Клинички губиток на атачмент во однос на аплицираната доза

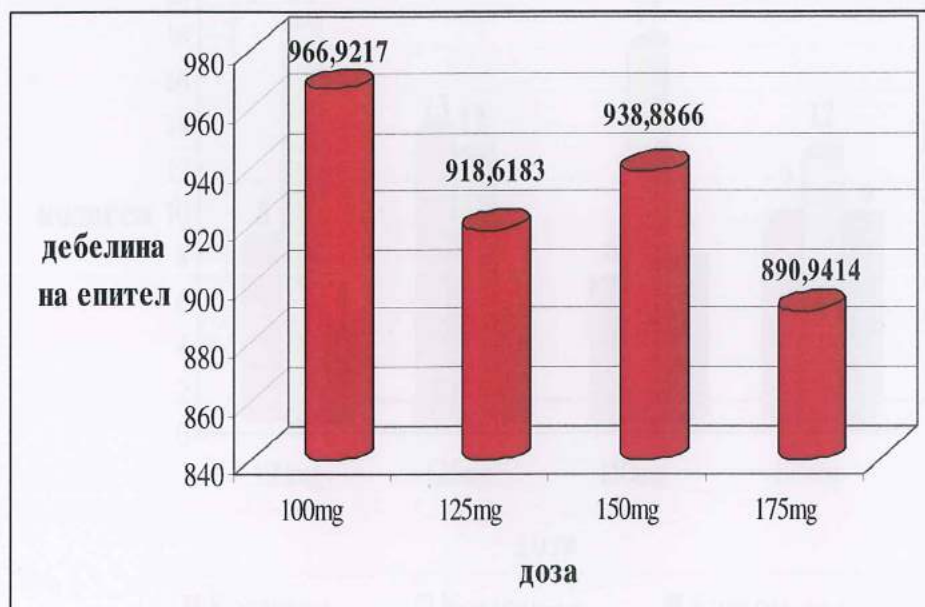


За сите испитувани пациенти, просечната дебелина на епителот е $M=928,842$, со $SD=128,0767$; $SE=23,3835$; минималната дебелина на епителот е 593, 34, а максималната дебелина на епителот е 1406,71. По групи дескриптивната статистика е дадена во табелата бр. 6, а графичкиот приказ е даден на графиконот бр. 6. Статистичката анализа со еднофакторска ANOVA покажа: $F=1,064$; $DF=3$, $p>0,05$, односно не постои статистички значајна разлика во дебелината на епителот кај четирите испитувани групи.

Табела бр. 6. Просечна дебелина (μm) на епител кај испитуваните пациенти

Вкупна доза на медикамент	Mean	SD	Min.	Max.	SE	Med
I група (100mg)	966, 9217	148, 4128	778, 44	1277, 45	27, 0964	915, 5700
II група (125mg)	918, 6183	173, 5222	635, 06	1282, 51	31, 6807	843, 0855
III група (150mg)	938, 8866	218, 4681	593, 34	1406, 71	39, 8866	953, 0415
IV група (175mg)	890, 9414	128, 0767	678, 29	1236, 61	23, 3835	873, 0300
Вкупно	928, 8420	170, 6276	593, 34	1406, 71	15, 5761	897, 0010

Графикон бр. 6. Просечна дебелина (μm) на епител кај испитуваните пациенти

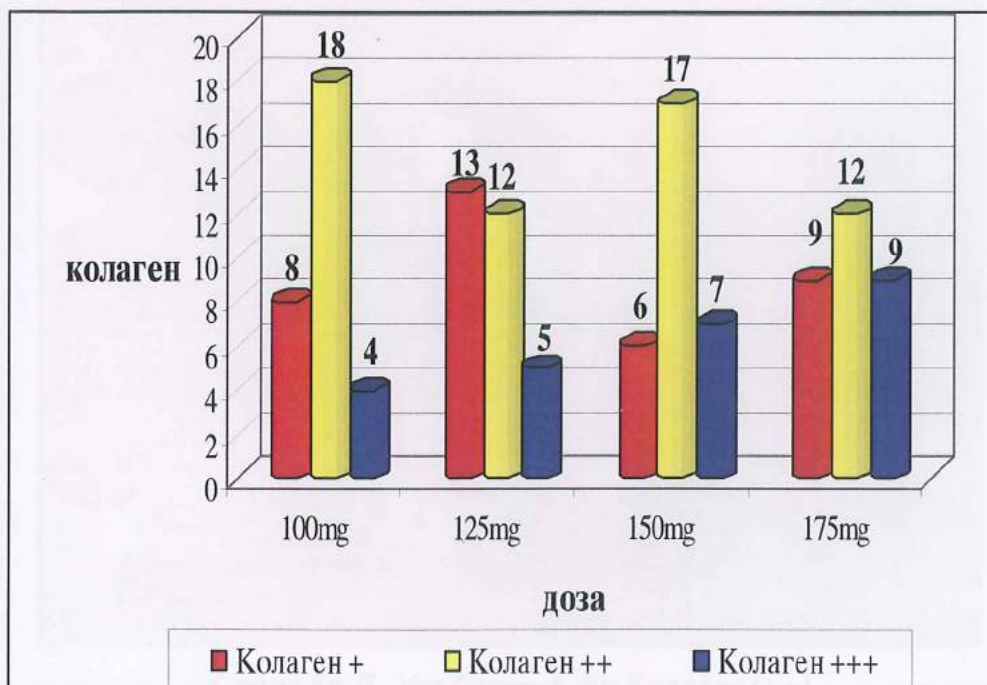


Дистрибуцијата на фреквенците на различните вредности на колагенот (1, 2, 3) кај различните испитувани групи и збирно е дадена на табела (бр. 7), а графичкиот приказ на графиконот бр.7. Направениот Крускал-Валисов тест покажа дека не постои статистички значајна разлика во дистрибуција на фреквенците на колагенот кај различните испитувани групи. (Хи-квадрат=3, 41; DF=3; $p>0,05$).

Табела бр. 7. Колаген кај испитуваните пациенти

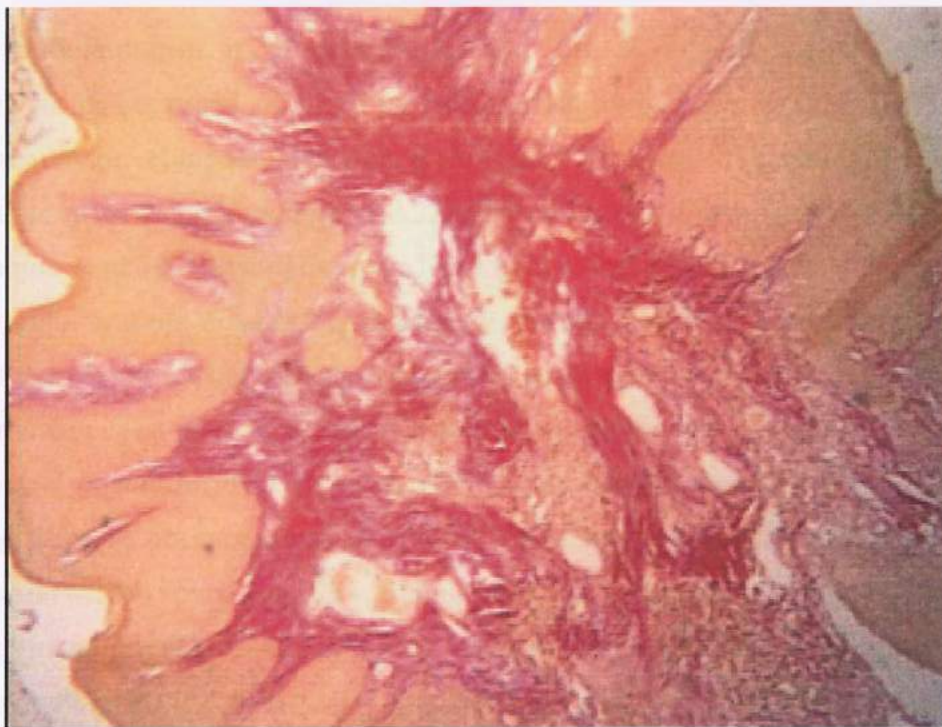
Вкупна доза на медикамент	колаген			Вкупно
	1	2	3	
I група (100mg)	8	18	4	30
II група (125mg)	13	12	5	30
III група (150mg)	6	17	7	30
IV група (175mg)	9	12	9	30
вкупно	36	59	25	120

Графикон бр. 7. Колаген кај испитуваните пациенти

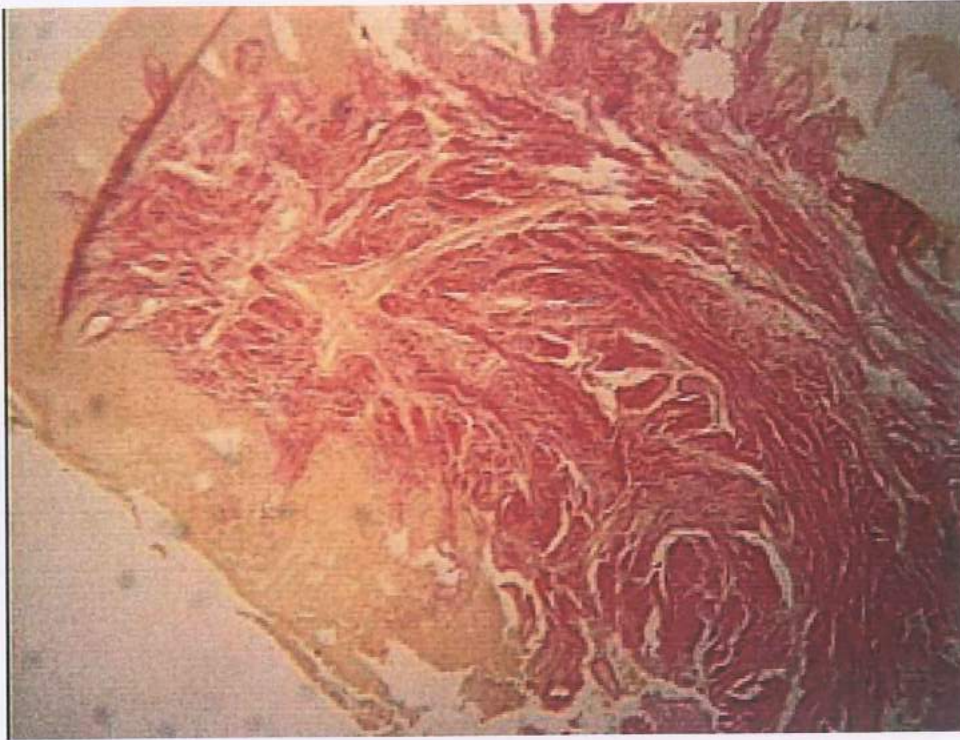




Слика бр. 6. Van Gieson x 40; Колаген (+)



Слика бр. 7. Van Gieson x 40; Колаген (++)



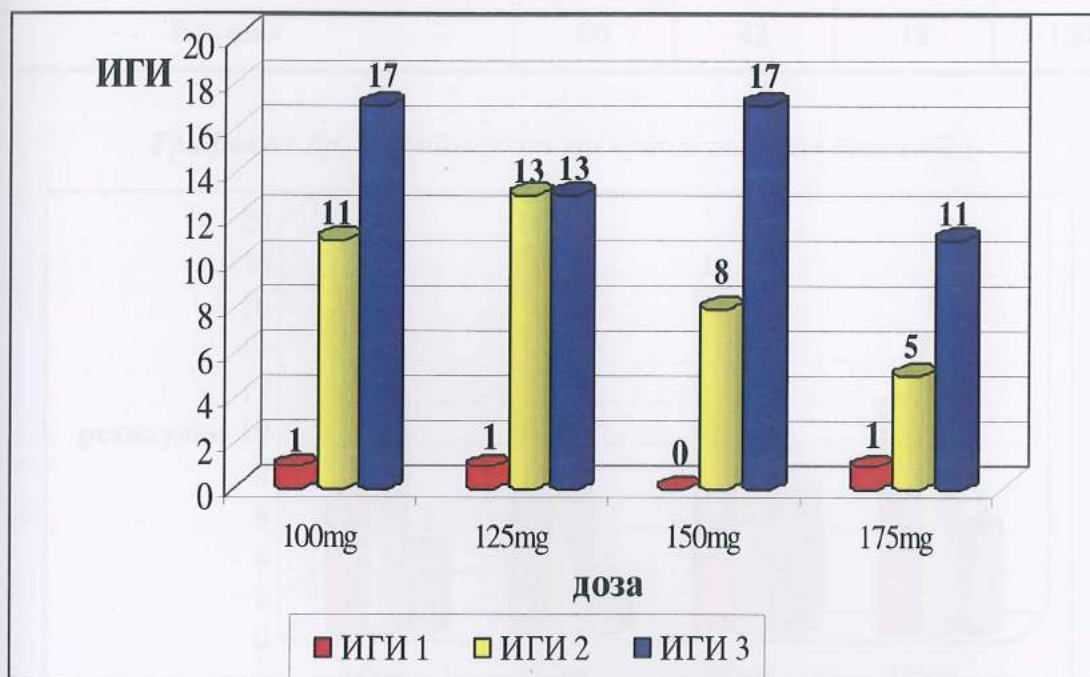
Слика бр. 8. *Van Gieson x 40; Колаџен (++++)*

На табеларниот и графички приказ бр. 8 дадени се дистрибуцијата на фреквенците на различните степени на гингивална инфламација (0, 1, 2, 3) во однос на испитуваните групи. Направената еднофакторска анализа на варијанса на рангови по Крускал-Валис покажа: Хи-квадрат=13,222; DF=3 ; $p < 0,01$, односно постои статистички високо-значајна (високо-сигнификантна) разлика во дистрибуцијата на фреквенците на гингивална инфламација помеѓу испитуваните групи. Подеталната анализа со меѓусебна споредба на секоја со секоја иследувана група со помош на Ман-Витниевит У тест на инверзија, покажа дека постои високо-статистички значајна разлика во дистрибуциите на фреквенците на различните степени на гингивална инфламација помеѓу 1 и 4 група (со 100 и 175mg доза на циклоспоринот). Исто така, постои високо-статистички значајна разлика и помеѓу 2 и 4 група (со 125 и 175mg доза на циклоспорин). Додека помеѓу 1 и 2, 1 и 3 и 3 и 4 група не постои статистички значајна разлика, односно воочената разлика не е статистички значајна.

Табела бр. 8. Индекс на гингивална инфламација (ИГИ) кај испитуваниите пациенти

Вкупна доза на медикаментот	индекс на гингивална инфламација (ИГИ)				вкупно
	0	1	2	3	
I група (100mg)	1	11	17	1	30
II група (125mg)	1	13	13	3	30
III група (150mg)	0	8	17	5	30
IV група (175mg)	1	5	11	13	30
вкупно	3	37	58	22	120

Графикон бр. 8. Индекс на гингивална инфламација (ИГИ) кај испитуваниите пациенти

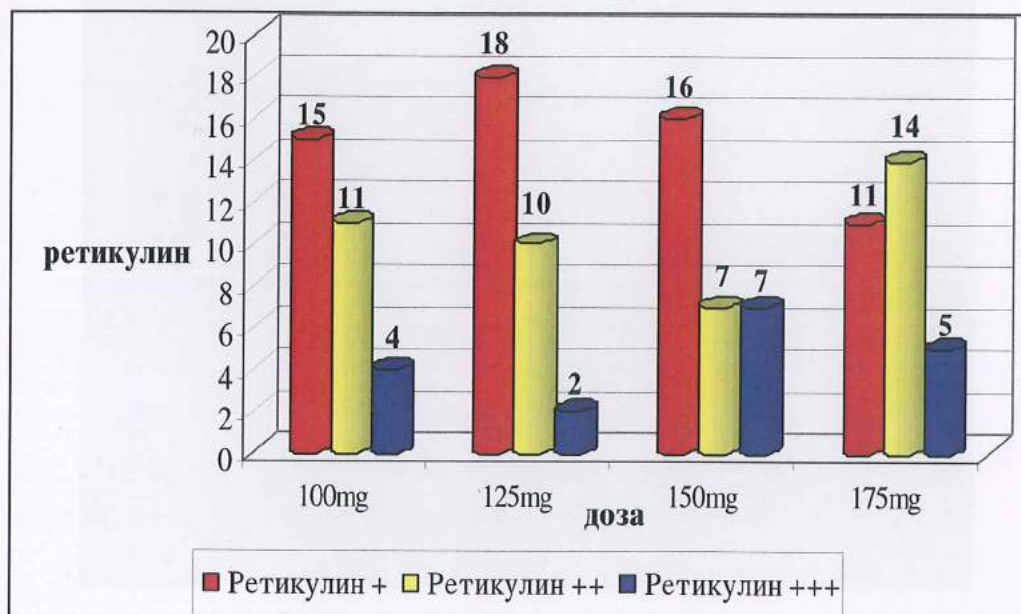


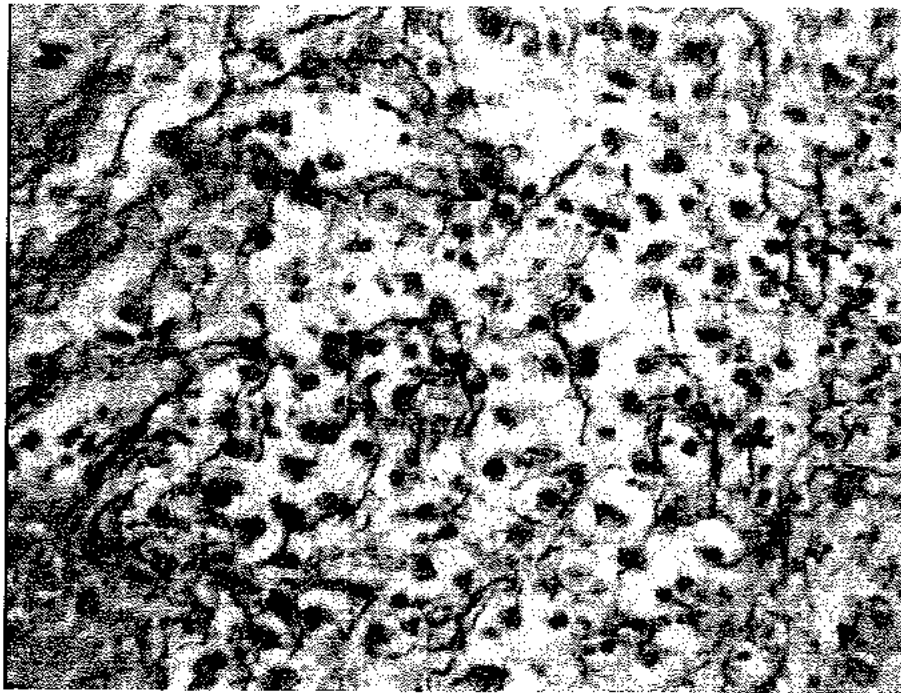
Дистрибуција на фреквенците на различните степени на ретикулин кај испитуваните четири групи на пациенти третирани со различни дози на циклоспоринот (100, 125, 150 и 175mg) прикажана е на табела и графикон бр. 9. Направената статистичка анализа со Крускал-Валисовиот тест, покажа: Хи-квадрат=3,349; DF=3; $p>0,05$, односно не постои статистички значајна разлика во дистрибуцијата на фреквенците кај различните иследувани групи.

Табела бр. 9. Ретикулин кај испитуваните пациенти

Вкупна доза на медикаментот	ретикулин			вкупно
	1	2	3	
I група (100mg)	15	11	4	30
II група (125mg)	18	10	2	30
III група (150mg)	16	7	7	30
IV група (175mg)	11	14	5	30
Вкупно	60	42	18	120

Графикон бр. 9. Ретикулин кај испитуваните пациенти



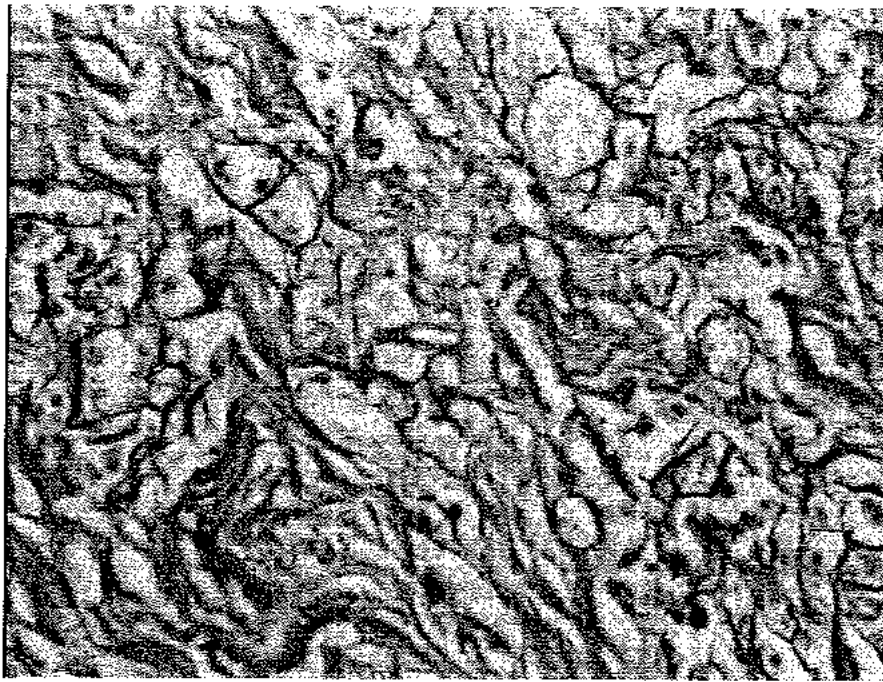


Слика бр. 9. Ретикулин x 400-Се визуелизира богајна ретикуларна мрежа во субепителној слој, која е особено изразена кај случаи со интнзивна фиброза.

Ретикулин (+)



Слика бр. 10. Ретикулин (++) x 400



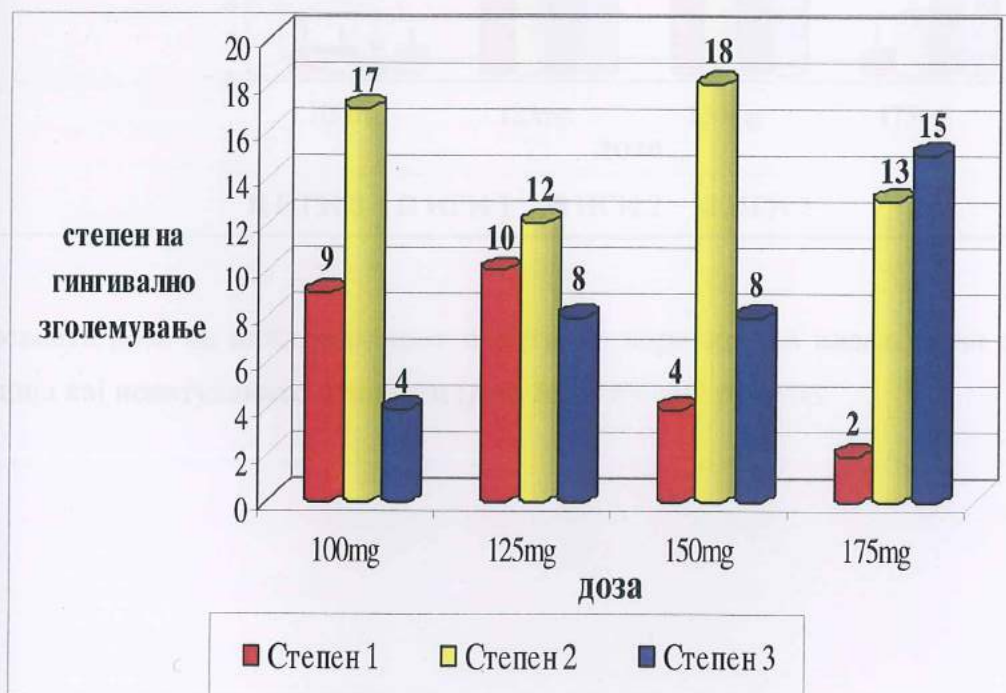
Слика бр. 11. Рејскулин (+++) x 400

На табелата и графикот бр. 10 е дадена дескриптивната статистика за параметарот Степен на гингивална зголемување (1, 2, 3) кај четирите иследувани групи. Направената статистичка анализа со помош на Крускал-Валисовиот тест покажа: Хи-квадрат=12,672; DF=3; $p < 0,01$; односно постои високо-статистички значајна разлика во дистрибуцијата на фреквенците на степенот на гингивално зголемување помеѓу испитуваните групи. Деталната анализа со помош на Ман-Витниевиот У тест на инверзија покажа високо-статистички значајна разлика помеѓу 1 и 4 група и помеѓу 2 и 4 група. Останатите меѓугрупни разлики не беа статистички значајни.

Табела бр. 10. Степен на гингивално зголемување кај испитуваните пациенти

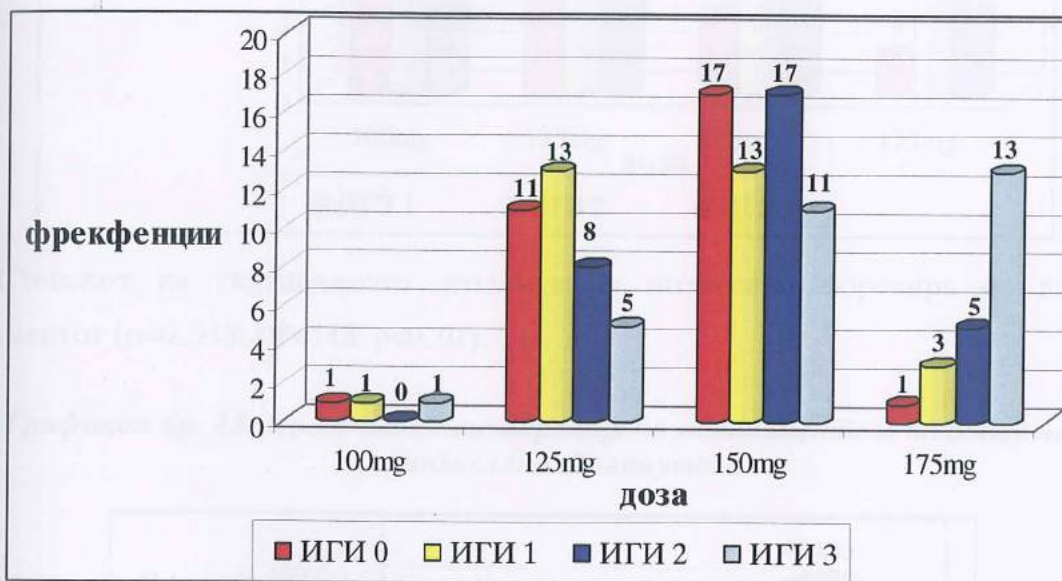
Вкупна доза на медикаментот	Степен на гингивално зголемување			вкупно
	1	2	3	
I група (100mg)	9	17	4	30
II група (125mg)	10	12	8	30
III група (150mg)	4	18	8	30
IV група (175mg)	2	13	15	30
вкупно	25	60	35	120

Графикон бр. 10. Степен на гингивално зголемување кај испитуваните пациенти



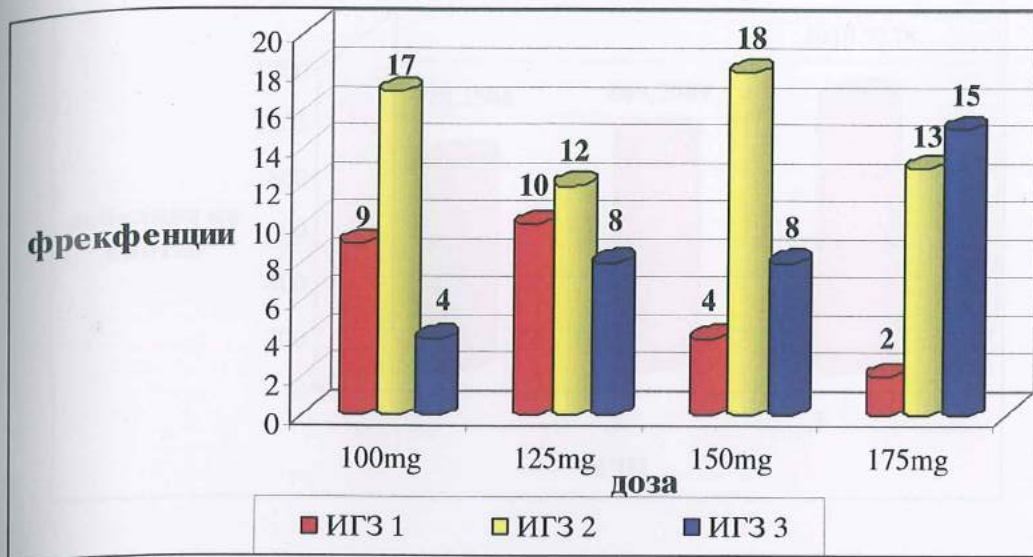
Корелации за сите испитувани пациенти помеѓу испитуваните параметри со Spearman-ov коефициент на корелација на рангови: Spearman-овиот коефициент на корелација покажува дека постои позитивна корелација помеѓу дозата на циклоспоринот и концентрацијата на медикаментот во серум кај сите испитувани групи ($\rho=0,474$; $DF=118$; $p<0,01$), прикажано на графикон број 3.

Графикон бр. 11. Ситејен на гингивална инфламација во однос на дозата на медикаментот



Дневната доза на циклоспоринот позитивно корелира со индексот на гингивална инфламација кај испитуваните пациенти ($\rho=0,312$; $DF=118$; $p<0,01$).

Графикон бр. 12. Степен на гингивално зголемување во однос на дозата на медикаментот



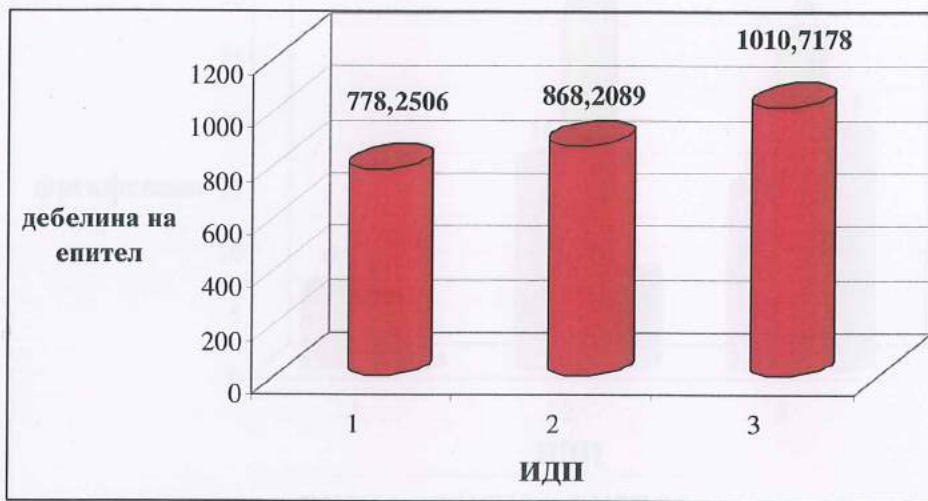
Степенот на гингивалното зголемување позитивно корелира со дозата на медикаментот ($\rho=0,318$; $DF=118$; $p<0,01$).

Графикон бр. 13. Просечна концентрација на медикаментот во однос на степен на гингивално зголемување



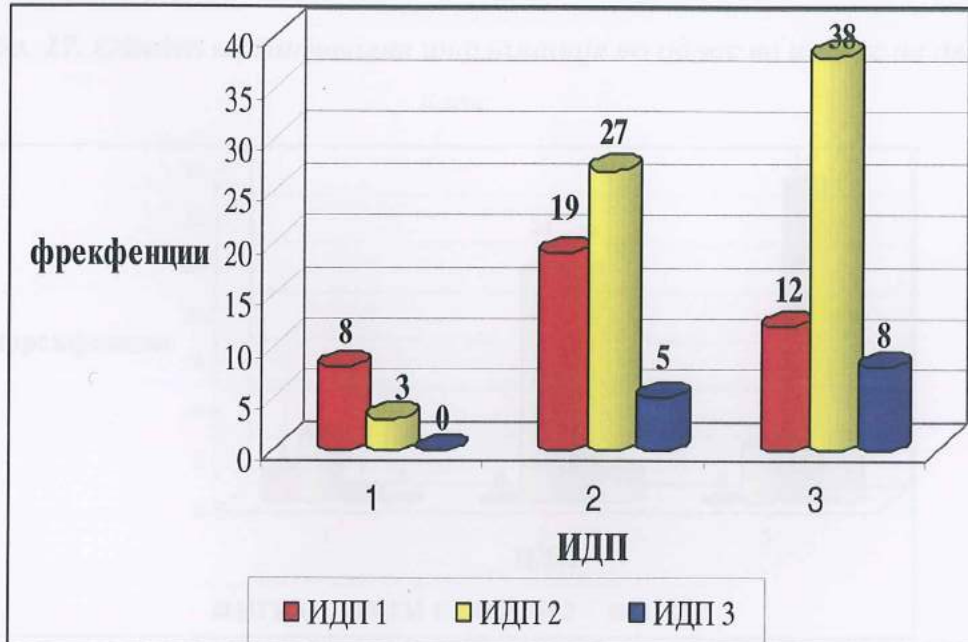
Концентрацијата на медикаментот позитивно корелира со гингивалното зголемување ($\rho=0,249$; $DF=118$; $p<0,05$)

Графикон бр. 14. Просечна дебелина на епителот во однос на индексот на денитален ѓлак (ИДП)



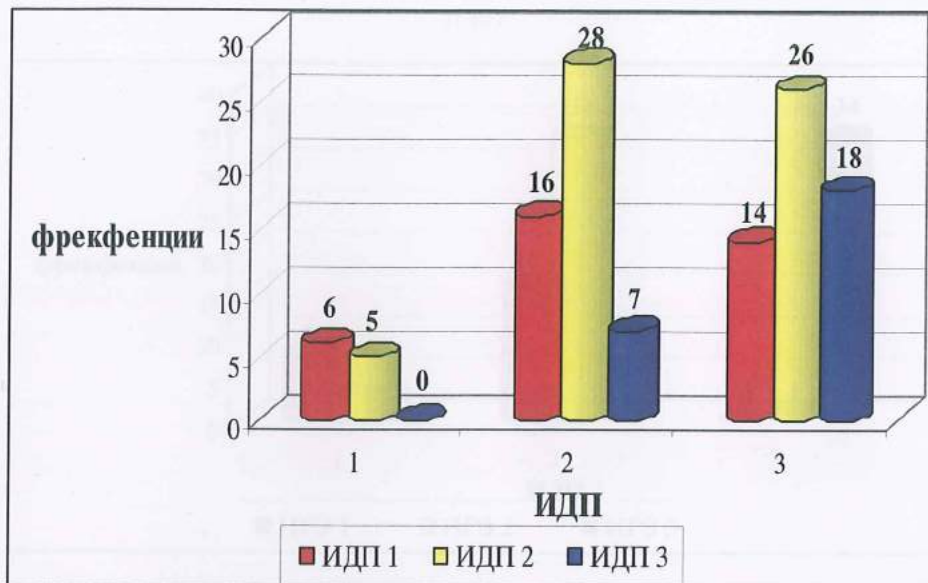
Индексот на денитален плак позитивно корелира со дебелината на епителот ($\rho=0,498$; $DF=118$; $p<0,01$).

Графикон бр. 15. Индекс на денитален ѓлак во однос на губитокот на атачментот



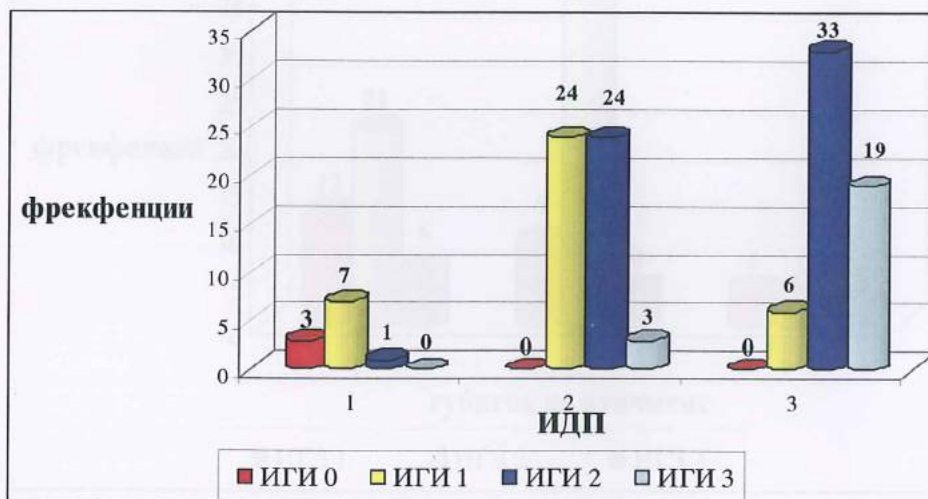
Индексот на денитален плак позитивно корелира со губитокот на атачментот ($\rho=0,284$; $DF=118$; $p<0,05$).

Графикон бр. 16. Нивојно на колаген во однос на индексот на денџален ѓлак



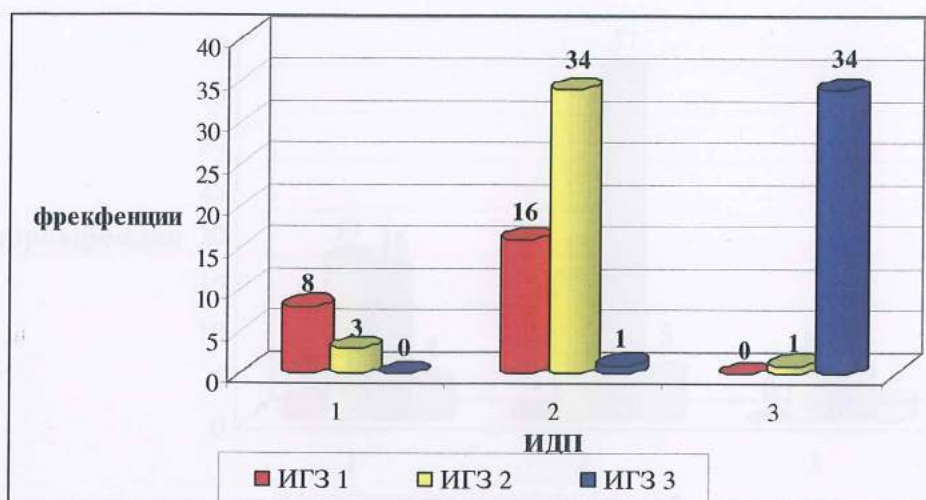
Индексот на денџален плак позитивно корелира со степенот на колаген ($\rho=0,246$; $DF=118$; $p<0,01$).

Графикон бр. 17. Сџејен на гингивална инфламација во однос на индекс на денџален ѓлак



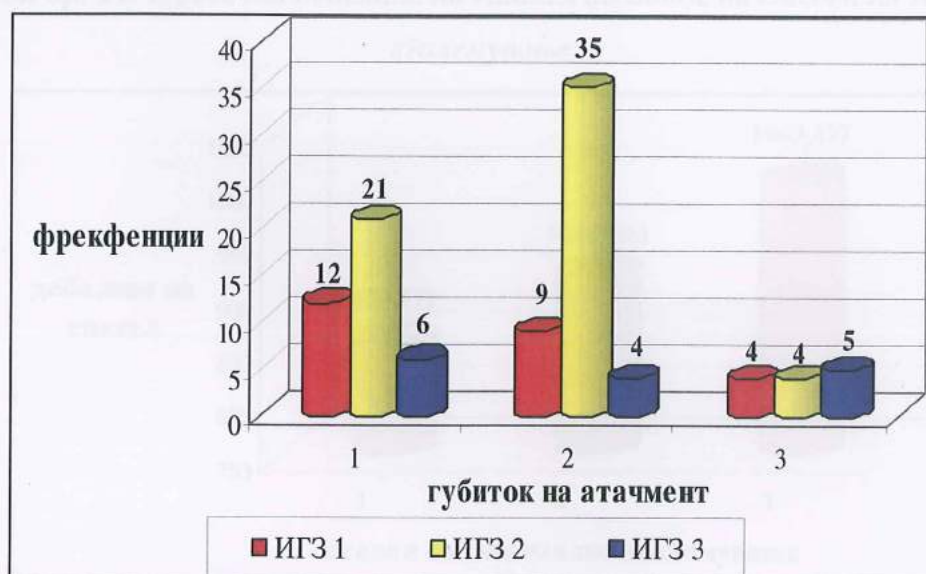
Индексот на денџален плак позитивно корелира со индексот на гингивална инфламација ($\rho=0,567$; $DF=118$; $p<0,01$).

Графикон бр. 18. Спјејен на гингивално зголемување во однос на индекс на денџален ѓлак



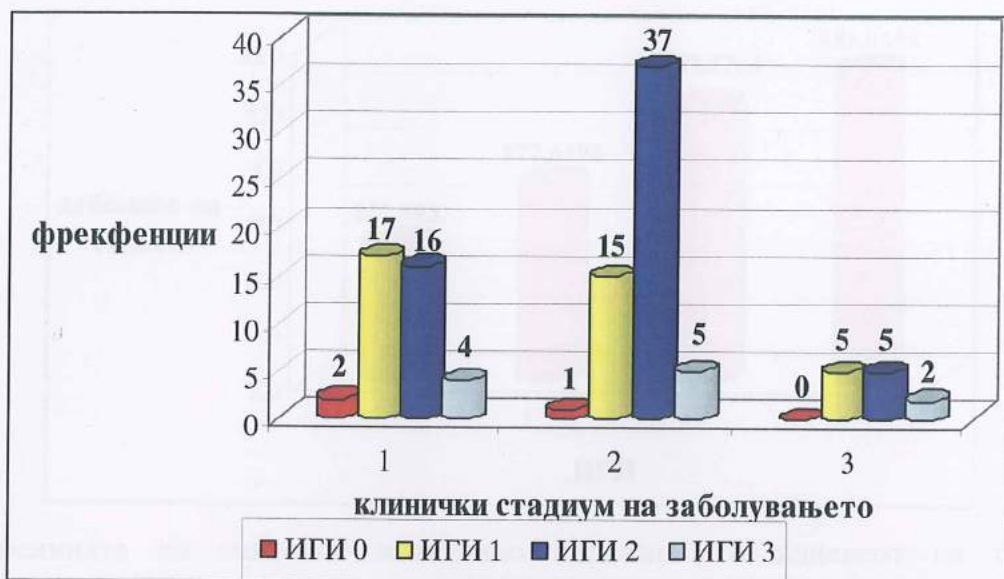
Степенот на гингивалното зголемување позитивно корелира со индексот на денџален плак ($\rho=0,691$; $DF=118$; $p<0,01$).

Графикон бр. 19. Спјејен на гингивално зголемување кај различни клинички сџадиуми на заболувањето



Губитокот на атачмент позитивно корелира со степенот на гингивалното зголемување ($\rho=0,193$; $DF=118$; $p<0,05$).

Графикон бр. 20. Спјеен на индексот на гингивална инфламација во однос на губийокоит на аичменит



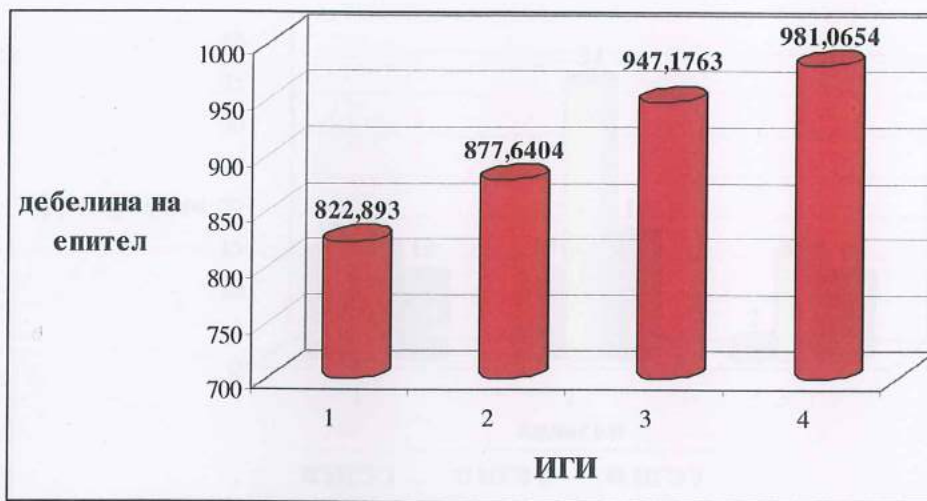
Клиничкиот стадиум на заболувањето позитивно корелира со индексот на гингивалната инфламација ($\rho=0,196$; $DF=118$; $p<0,05$).

Графикон бр. 21. Просечна дебелина на епител во однос на спјеен на гингивално зголемување



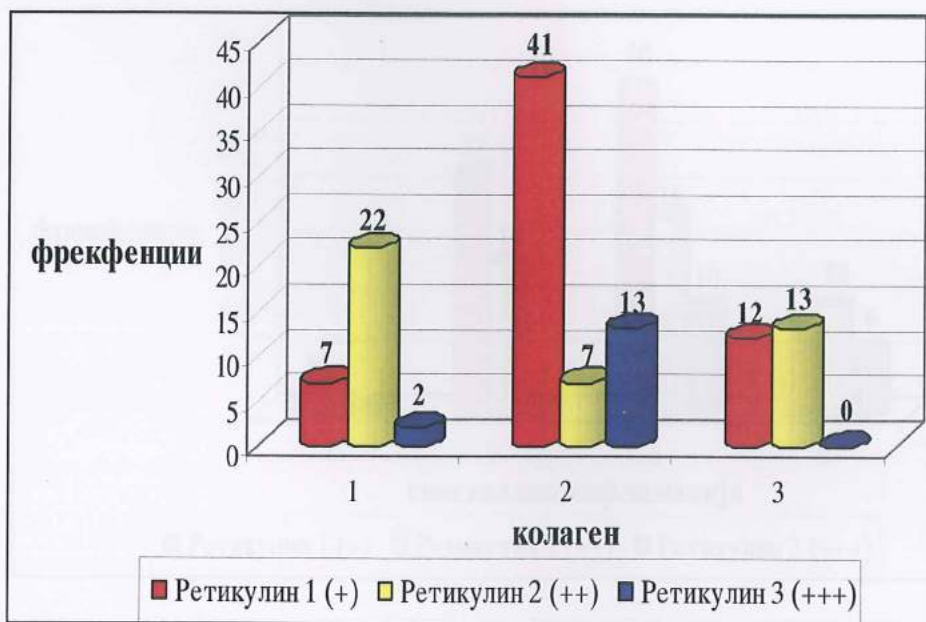
Дебелината на епителот позитивно корелира со степенот на гингивално зголемување ($\rho=0,327$; $DF=118$; $p<0,01$).

Графикон бр. 22. Просечна дебелина на епител во однос на индексот на гингивална инфламација (ИГИ)



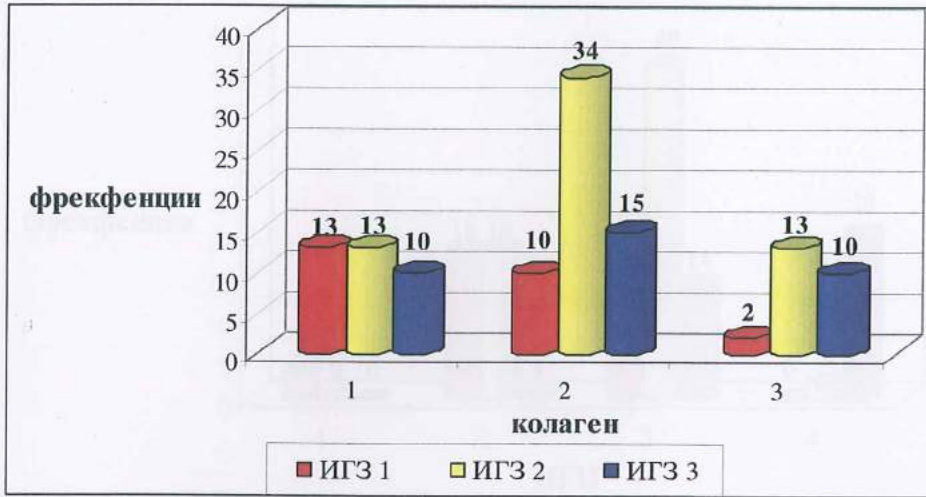
Дебелината на епителот позитивно корелира со индексот на гингивална инфламација ($\rho=0,230$; $DF=118$; $p<0,05$).

Графикон бр. 23. Спееен на заспаеност на колаген во однос на спеееност на заспаеност на ретикулин



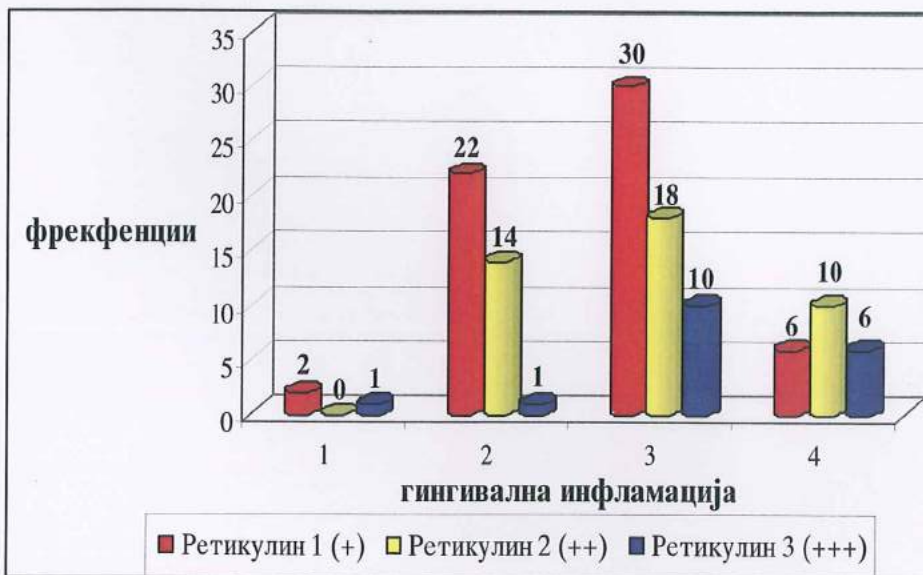
Колагенот негативно корелира со ретикулинот ($\rho=-0,270$; $DF=118$; $p<0,01$).

Графикон бр. 24. Спјеиен на заспјайеноспј на колаген во однос на спјеиеноспј на гингивално зголемување



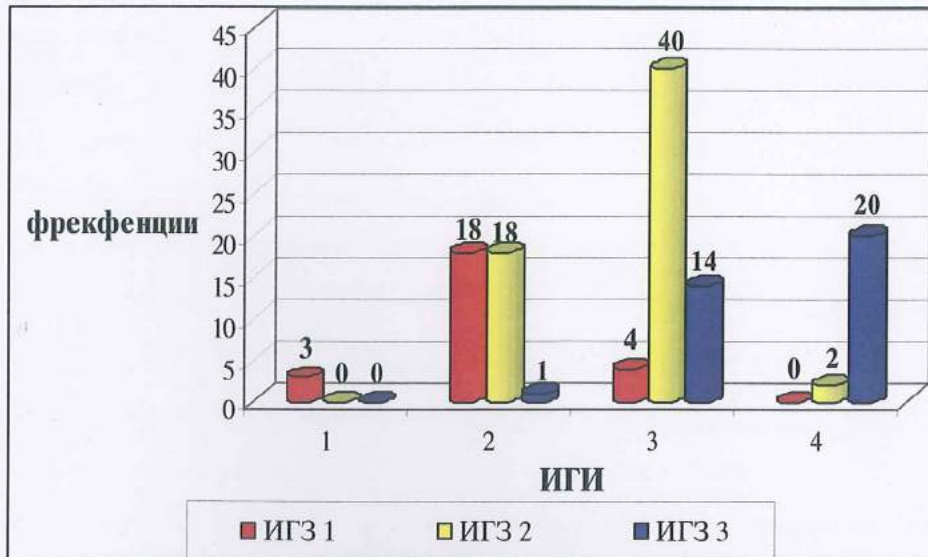
Колагенот позитивно корелира со индексот на гингивално зголемување ($\rho=0,192$; $DF=118$; $p<0,05$).

Графикон бр. 25. Спјеиен на индекс на гингивална инфламација во однос на спјеиеноспј на ретикулин



Ретикулинот позитивно корелира со индексот на гингивална инфламација ($\rho=0,240$; $DF=118$; $p<0,01$).

Графикон бр. 26. Спееен на гингивална инфламација во однос на спеееноти на гингивално зголемување



Индексот на гингивална инфламација позитивно корелира со степенот на гингивално зголемување ($p=0,706$; $DF=118$; $p<0,01$).

Дискусија

Дискусија

Дискусија

Циклоспорин -индуцираната гингивална хиперплазија претставува комбинација од целуларни влијанија. Генерално дефицитот на growth control, асоциран со фибробластната хиперплазија и акумулација на матрикс компоненти, резултира во хиперплазирано ткиво со релативно нормална архитектоника. Хиперплазијата на гингивата може да биде резултат на зголемена клеточна пролиферација, зголемена синтетска активност, намалена деградација или заедничка комбинација на овие фактори (49).

Целуларната хомеостаза во ткивата претставува резултат од балансот меѓу интеракцијата на антагонистичките молекули, во кои цитокините и факторите на раст играат огромна улога (19). Зголеменото ниво на одредени фактори на раст и/или нивните рецептори се забележуваат во состојби каде постои зголемен ткивен волумен, како што претставува циклоспорин-индуцираната гингивална хиперплазија. Дури и здрава гингива се наоѓа во состојба на континуирана репарација поради константното влијание на микроорганизмите од денталниот плак. Boltchi и сор.(7) сметаат дека медикаментите кои како несакан ефект индуцираат гингивално зголемување, предизвикуваат егзацербација на нормалниот ткивен turnover и процесот на репарација на рана.

Добиените резултати за серумска концентрација од еднофакторската ANOVA покажа $F=11,162$; $p<0,01$, односно очекувано се доби повисока концентрација на медикаментот во серум кај пациентите кои беа третирани со повисоки дози на циклоспорин. Највисока концентрација на циклоспоринот беше забележана во четвртата група (групата со највисока доза на циклоспорин-175mg).

Spearman-овиот коефициент на корелација покажа позитивна корелација меѓу дозата на циклоспоринот и неговата концентрација во серум $r=0,474$; $DF=118$; $p<0,01$.

Нашите резултати се во согласност со Thomas (91), Somacarera (85), Hefti (35), Wondimu (106), Thomason (93), Tongezan (95) кои укажуваат на позитивна корелација меѓу степенот на гингивалното зголемување и дозата или концентрацијата во серум и притоа истакнуваат дека последната регистрирана доза е најпрецизен предвесник за гингивалното зголемување. Piateli (67) по спроведениот пародонтолошки третман, кај циклоспорински третирани пациенти, регистрирал тотална регресија на гингивалното зголемување во 50% од случаите, додека само во 36,4% парцијално намалување на

гингивалното зголемување, кое се должело и на редукција во дневната доза на нормализираниот циклоспорин.

Во прилог на нашите резултати се и испитувањата на Yamasaki и sor. (109) кои сметаат дека инхибицијата на Т-лимфоцитната функција резултира во намалена фибробластна цитотоксичност, а таа доведува до активна протеинска синтеза и пролиферација.

Спротивно на нашите резултати, истражувањата на Daley (18), Thomason (92), Seymour (84), MacGaw (49), Margiotta (48) не ја потврдуваат тезата за постоење на позитивна корелација меѓу циклоспоринската доза и степенот на гингивалното зголемување. Daley и sor. (18) не ја подржале теоријата дека е потребна минимум критична концентрација на циклоспоринот или некој негов метаболит во серум за да се предизвика гингивално зголемување и дека зголемена концентрација на медикаментот над терапевтискиот лимит не доведува до зголемување на гингивалното ткиво. Во своите клинички истражувања Seymour (77) известува дека гингивалното зголемување се јавува во првите 6 месеци од трансплантацијата, достигнувајќи највисок обем во 9 и 12 месец. Концентрацијата во серум е највисока во првите недели, а потоа постепено се намалува доближувајќи се до терапевтските дози на одржување. Дозата на медикаментот сама по себе Seymour (77) смета дека е несигурен предвесник на серумската концентрација бидејќи таа е зависна и од тежината на пациентот, од различната апсорпција, алтерираниот метаболизам и екскрециониот период. Понатаму, авторите сметаат дека доколку вредноста на циклоспоринот во плазма е поголема од 400ng/ml, веројатноста за развој на гингивално зголемување е многу поголема, иако постојат несогласувања во однос на овие параметри на постојат информации за критична вредност над 300ng/ml (53), а според други автори за вредност над 500ng/ml (62).

Конфликтните резултати најверојатно се должат на постоење на различна индивидуална биоискористливост, степен на протеинско врзување, волумен на дистрибуција, како и различни методи на одредување на медикаментозната концентрација и нејзината релација со фактор време. Во нашето истражување сите пациенти примаа циклоспорин во капсуларна форма, додека во другите истражувања покрај капсуларната, користена е и солуција, а знаејќи дека кај овие различни форми на циклоспоринска терапија се постигнува различна искористливост и различно време на

достигнување максимална концентрација во серум, разбирлив е различниот ефект на овие два циклоспорински препарати во гингивалниот одговор.

Позитивна корелација постоеше и меѓу дозата и индексот на гингивална инфламација (ИГИ) $p=0,312$; $DF=118$; $p<0,01$.

Spearman-овиот коефициент на корелација покажа позитивна корелација меѓу дозата на циклоспоринот и степенот на гингивалното зголемување $p=0,318$; $DF=118$; $p<0,01$. Поголема доза на медикаментот предизвикува поголема имunosупресија која веројатно ја менува отпорноста на ткивото и неговиот реактивен потенцијал, кој создава предуслови за етиопатогенетскиот придонес на локалните иритирачки фактори.

Овие резултати се должат на стимулаторниот ефект на циклоспоринот на фибробластите во синтеза на колаген и останати матрикс компоненти како и синергистичкиот ефект од локалното присуство на циклоспоринот во денталниот плак и плунката (24, 68). MacGaw и Niimi(50,57) во своите студии го потврдуваат неговото локално присуство во концентрација која е поголема од соодветната вредност во серум. Циклоспоринот е липофилен агенс кој со пасивна дифузија поминува од слободната плазмина фракција во плунката. Депото на циклоспоринот во денталниот плак и плунката, авторите сметаат дека синергистички учествува со циклоспоринот во серум во формирањето на гингивалните лезии. Споредено со фенитоин, циклоспоринот има повисок волумен на дистрибуција како и подолг полуживот, кој условува и до 200 пати поголеми вредности на циклоспоринот во гингивалниот флуид компариран со вредноста во серум (88). Оваа зголемена концентрација се должи на зголемената маса на гингивата.

Ellis и сор. (24) тврдат, дека локалната концентрација на индуцирачките медикаменти во гингивалниот флуид, плак или во зголемените ткива можат да обезбедат информации за експресијата и патогенезата на гингивалното зголемување.

Дискутирајќи го односот фармакокинетички варијабилност-степен на гингивално зголемување, секако дека треба да се земе во предвид и основниот пародонтален статус (особено инфламаторната компонента), медицинскиот статус како и генетската предиспозиција. Одредени нивоа на медикаментот можат да бидат рефлексивна и на реналната функција која последователно влијае на фармакокинетиката на циклоспоринот. Овие фармакокинетски промени можат да влијаат на интеракцијата

меѓу медикаментот и гингивалните фибробласти, на начин кој води кон гингивално зголемување (64).

Karpiņa и сор. (40) спровеле истражување кај млади пациенти (средна возраст 12,5 години) каде циклоспоринската доза/ден не била сигнификантно различна меѓу субјектите со гингивално зголемување и без промени на гингивата, циклоспоринската доза/kg телесна тежина и во крвта мерена преку нивото на циклоспоринот, била сигнификантно повисока кај субјектите кои не покажале гингивално зголемување. Но, средното времетраење на циклоспоринската терапија кај пациентите без гингивално зголемување изнесувало 1,3 месеци, додека кај пациентите со гингивално зголемување 3,5 години. Нивните резултати покажале дека времетраењето на циклоспоринската терапија е најкритичен фактор поврзан со развојот на гингивалното зголемување, спротивно од нашите резултати кои не покажаа постоење на корелација меѓу степенот на гингивалното зголемување и долготрајноста на терапијата ($p=0,03$). Резултатите од нашето истражување одат во прилог на тезата дека со зголемување на долготрајноста на терапијата, стимулаторниот ефект на циклоспоринот ослабува веројатно поради временски редуцирана сензибилност на фибробластите кон медикаментот.

Концепт кој најмногу преовладува во теориите за гингивално зголемување е индивидуалната преосетливост кон циклоспоринот или кон неговите метаболити. Ова можеби се должи на разлики во субпопулациите на фибробластите или различна предиспозиција на гингивата кон инвазија на микроорганизмите од денталниот плак, како резултат на интерференцијата на циклоспоринот со Т-клеточниот имунитет (110).

Бројни епидемиолошки и експериментални студии настојуваат да ја расветлат патогенезата на овој несакан ефект, но сепак не е јасно дали оваа компликација се манифестира кога вредноста на циклоспоринот во серум ќе достигне критично ниво или се јавува како дозно-зависна реакција (59).

Во однос на добиените разлики во дозите на циклоспоринот, сметаме дека дозите до 175mg се безначајни за ИГИ и за степенот на гингивално зголемување, додека дозите над оваа вредност алармираат за последователна висока вредност на серумската концентрација, висока гингивална инфламација и висок индекс на гингивално зголемување. Затоа, пациентите кои примаат високи дози на циклоспорин (над 175mg), сметаме дека треба да бидат следени и од пародонтолог како високо ризична група кај

која ќе бидат спроведени соодветни терапевтски мерки за минимизирање на овој несакан ефект.

Тргувајќи од добиените резултати за постоење на статистички значајна разлика во дистрибуцијата на фреквенциите на плак индексот кај сите испитуваните групи, евидентиравме постоење на високи плак вредности кај сите 4 групи на испитаници. Независно од аплицираната доза на циклоспоринот (100, 125, 150 или 175mg) постоеше низок степен на орална хигиена. Тргувајќи од фактот дека пациентите со бубрежна трансплантација имаат сериозно примарно заболување кое ги обврзува на континуирана циклоспоринска терапија, а и поради ставот за нелекување на овој несакан ефект, забележавме нивна немотивираност во одржувањето на оралната хигиена и соодветно висок плак индекс.

Позитивната корелација меѓу индексот на дентален плак (ИДП) и клиничкиот губиток на атачментот ($\rho=0,284$; $p<0,01$) сметаме дека се јавува поради постоење на високи вредности на дентален плак и негово пролонгирано делување кое се манифестира како хронична воспалителна реакција. Хроничната инфламација е предизвикана од дејството на микроорганизмите (токсини, ензими, алергија) како и од механички иритации (забен камен). Во сврзното ткиво непосредно до епителната инсерција се јавува инфилтрат воглавно составен од плазма клетки и лимфоцити, како и промена во крвните садови. Поради тоа доаѓа до пропаѓање на колагените влакна во близина на припојниот епител и соседната слободна гингива, па епителот со тенденција да го пополни настанатиот дефект, пролиферира во апикален правец и се формира пародонтален џеп. Понатаму со пренесување на инфламаторниот процес во периодонталниот простор или во интерденталниот септум, доаѓа до деструкција на овие ткива и до последователна остеолиза (89).

Денес е прифатен ставот дека мала група на Gram⁻ анаероби или микроаерофилни бактерии од денталниот плак (*Porphyromonas gingivalis*, *Actinobacillus actinomycetemcomitans* и *Bacillus forsythus*), се асоцирани со иницијацијата и прогресијата на пародонталното заболување. Микробниот плак кој се состои од антигени, липополисахариди и др. вирулентни фактори, го стимулираат организмот да даде одговор кој резултира во заболување на гингивата (гингивит) или иницијација на пародонтална деструкција (89).

Протективните аспекти претставени од неутрофилите, синтезата на антителата, ослободувањето на анти-инфламаторни цитокини (TGF- β) и интерлеукини (IL-4, IL-10, IL-12) водат кон пореметување на хомеостазата и вклучување на механизми кои резултираат во ослободување на медијатори како проинфламаторни цитокини (IL-1, IL-6, TNF- α , протеази, простагландини) кои промовираат деструкција на матриксот во гингивата и стимулираат коскена ресорпција. Цитокините се медијатори кои можат да ја модулираат инфламаторната остеолiza заедно со полипептидните хормони кои го регулираат однесувањето на клетките во инфламација.

Макрофагните субсетови можеби се најодговорни за недостатокот на пародонталната деструкција во услови на зголемена експресија на факторите за раст во гингивалните ткива. Бидејќи макрофагите се главни извори за синтеза на проинфламаторни цитокини и полипептидни фактори на раст, тие се критични во регулацијата на многу патолошки процеси, како пародонтопатија, која инволвира хронична инфламација и ткивна самодеструкција. Можеби кај инфламаторните заболувања како пародонтопатија, основниот баланс меѓу продукцијата на проинфламаторни цитокини и есенцијални фактори на раст е круцијална во детерминирање на степенот на инфламаторните ткивни оштетувања.

Покрај макрофагите, фибробластите заедно со епителните клетки можат да учествуваат во продукција на фактори на раст на местото каде се одвива зараснувањето. Иако тоа е минорно во однос на макрофагите, сепак постои можност овие клетки локално да дадат свој допринос во гингивалното зголемување (19).

Хипотезата за патогенеза на пародонталната автодеструкција при која постои директна или индиректна стимулација од компонентите на денталниот плак да секретираат матриксметалопротеинази (ММР) се асоцирани со сврзно-ткивното ремоделирање и коскената ресорпција. ММР спаѓаат во фамилија на цинк и калциум зависни ендолептидази кои се секретираат од различни инфламаторни клетки (неутрофили, макрофаги), фибробласти и епителни клетки кои се наоѓаат во пародонтот (90).

Бројни настани како ремоделирање на ткивото или патолошки состојби (пародонтопатија) се карактеризираат со зголемена активност на ММР. Некои патогени од денталниот плак познато е дека продуцираат матриксметалопротеинази (ММР) и

протеинази (колагенази), кои можат да се сметаат за еден од механизмите во патогенезата на пародонтопатијата, иако овие протеинази не претставуваат главни деструктивни ензими асоцирани со пародонталната деструкција.

Seymour и сор.(82) кај циклоспорински третирани пациенти по 3 и 6 месечен посттрансплантациски период забележале сигнификантно зголемување на гингивата со длабочина на пародонталните џепови $>3\text{mm}$. Иако овие ткива покажуваат назначена инфламаторна компонента, пародонталната деструкција Seymour и сор.(82) сметаат дека не е вообичаена карактеристика на пролиферативната сосотојба. Нивните истражувања потврдуваат дека ткивно-деструктивната компонента на инфламаторниот одговор е маскирана од ткивно-регенеративната компонента.

Дали пародонталната деструкција примарно настанува заради ткивниот одговор како резултат на бактерискиот плак останува предмет за понатамошни истражувања. Индексот на дентален плак (ИДП) е во позитивна корелација со индексот на гингивална инфламација (ИГИ) $\rho=0,567$; $DF=118$; $p<0,01$, и со степенот на гингивалното зголемување; Spearman-овиот коефициент на корелација изнесуваше $\rho=0,691$; $p<0,01$. Pernu (65), Somacarrera (85), Nefti (35) го подржуваат концептот за плак-индуцираното гингивално зголемување и сметаат дека денталниот плак и гингивалната инфламација претставуваат фундаментален концепт за ова зголемување. Rateitschak-Plüss и сор. (70) добиле резултати за сигнификантно намалување на гингивалното зголемување по иницијалниот дебридмент и сметаат дека контролата на плакот претставува еден од најважните фактори во превенирање на неговата рекурентност.

Но, постојат и студии кои известуваат за слаба корелација меѓу денталниот плак, гингивалната инфламација и степенот на гингивалното зголемување. Daley (18) демонстрира само слаба корелација, додека Schulz (74) смета дека присуството на денталниот плак и гингивалната инфламација не корелирале со инциденцата на гингивалното зголемување, испитувано кај 80 пациенти со бубрежна трансплантација.

И, покрај присутните разлики, а поткрепено и со резултатите кои ги добивме кај 30 испитаници со бубрежна трансплантација кои примаа циклоспоринска терапија, каде ги нотиравме пародонталните индекси пред и по терапија (вклучуваше и инструкции за подржување на орална хигиена), забележавме сигнификантно намалување на ИДП, ИГИ и степенот на гингивално зголемување потврдувајќи дека минимизирање на овој несакан

ефект може да се постигне со отстранување на локалните иританси и редукција на гингивалната инфламација (117).

Нашите резултати одат во прилог на позитивна корелација на клиничкиот губиток на атачмент со индексот на гингивална инфламација $p < 0,05$, и со степенот на гингивалното зголемување $p < 0,05$. Најверојатно присуството на лажни гингивални цепови ја афектираат способноста за одржување на орална хигиена и секундарно доведуваат до плак акумулација која предизвикува повторно зголемување на гингивалниот обем (заради присутната инфламација) и прогресивно настанува губење на пародонталниот атачмент. Нашите резултати се во согласност и со истражувањата на Bartold (4), кој во своите истражувања го демонстрира ефектот на циклоспоринска супресија на бактериските липополисахариди од денталниот плак. Познато е дека липополисахаридите во нормални услови се цитотоксични за фибробластите, додека во присуство на циклоспорин, доаѓа до супресија на овој ефект, а со тоа и до нивна пролиферација.

Иако денталниот плак е потребен и претставува предиспонирачки фактор за развој на гингивалното зголемување, MacGaw и сор. (49) сметаат дека не е непходен, бидејќи регистрирале високи индекси на дентален плак и гингивална инфламација и високи вредности на циклоспоринската концентрација во серум кај пациенти кои не манифестирале гингивални промени.

Semour и Smith (81) иако сметаат дека контролата на плакот не го превенира развојот на гингивалното зголемување кај осетливи пациенти, сепак со елиминирање на инфламаторната компонента, доаѓа до редукција на гингивалното зголемување. Тие сметаат дека контролата на плакот и отстранувањето на плак ретенционите фактори го подобруваат гингивалното здравје кај пациентите со бубрежна-трансплантација, но овие мерки сами по себе не го спречиле развојот на гингивалното зголемување или рекурентноста по извршената хируршката интервенција.

In vitro студиите покажаа дека циклоспоринот предизвикува сигнификантен пораст на колагената синтеза во култури на гингивални фибробласти, но не и на ДНК синтезата со специфично покачување на тип I проколаген (47). Zebrowski и сор. (110) сметаат дека зголемениот сврзно-ткивен матрикс кај пациентите кои биле третирани со циклоспорин се јавува поради зголеменото ниво на не-сулфатни глюкозаминоглюкани.

Продукцијата на колаген од страна на гингивалните фибрбласти и нивната пролиферација може да се јави и како резултат на зголеменото ниво на тромбоцитниот фактор на раст (PDGF) кој е детектиран во гингива третирана со циклоспорин (8).

Од добиените резултати за фреквенциите на индексот на гингивалната инфламација (ИГИ) во однос на испитуваните групи (групирани според дневната доза на циклоспоринот), добивме статистички високо значајна (високо сигнификантна) разлика за гингивалната инфламација помеѓу испитуваните групи, а со меѓусебната споредба на групите, добивме високо статистички значајна разлика само меѓу првата и четвртата група (100 и 175mg) и меѓу втората и четвртата група (125 и 175mg). Меѓу останатите групи не постоеше статистички значајна разлика. Сметаме дека добиените резултати најверојатно се должат на тоа што во првата и во втората група дозите на ординираниот медикамент се помали и на таков начин е предизвикана помала имуносупресија која условила да на антигените од бактерискиот плак (со сите свои добро познати механизми на делување), организмот развие одбрамбена реакција која се манифестира со формирање на воспалителна реакција, изразена преку хемодинамските промени (промени во пермеабилноста на крвните садови и формирање на леукоцитен инфилтрат). Додека кај четвртата група на пациенти кои примаат висока доза на циклоспорин (175mg) постои поголема имуносупресија и последователно се јавува помала реакција на гингивата, а со тоа и помал индекс на гингивална инфламација (ИГИ). Со анализа на локалниот имун одговор на гингивата би можело да се дадат попрецизни толкувања.

Контролирањето на гингивалната инфламација сметаме дека е од посебна важност за овие пациенти кои се под имуносупресивна терапија, бидејќи на таков начин се превенира рекурентноста на бактериските инфекции, посебно кај пациентите кои примаат високи дози на циклоспорин (над 175mg).

Buduneli и сор. (9) известуваат за асоцираност меѓу претходно присутниот плак и гингивална инфламација која корелира со циклоспоринското зголемување на гингивата. Инфламацијата води кон ткивно оштетување преку различни медијатори кои се ослободени од активираниите инфламаторни клетки. Во инфламирано ткиво постои високо ниво на ремоделирање, ефектот на циклоспоринот притоа делува синергистички со ендогените сигнали, резултирајќи во зголемена репарација или разраснување. Инфламаторните медијатори притоа учествуваат како кофактори во индуцирање на

гингивалното зголемување. ИГИ позитивно корелира со индексот на гингивално зголемување ($p=0,706$) каде се забележува статистички значајна разлика меѓу првата и втората група (100mg и 125mg) во однос на четвртата група (175mg), заради тоа што кај ниските дози на циклоспоринот се јавува локална релативно брза реакција (заради селективното дејство на циклоспоринот кој ги афектира помошните Т-клетки), додека кај високите дози на циклоспоринот имуниот одговор е намален и заради неелиминирање на агенсите од плакот се јавува состојба на пролонгирано присуство на истите со последователна хронична иритација на гингивата со нејзино зголемување. Гледано од наш аспект дозите до 175mg, не допринесуваат за силно изразено зголемување на гингивата, односно не постојат разлики во клиничката слика меѓу дозите од 100mg, 125mg или 150mg додека над оваа доза можеме да очекуваме повисоки вредности на индексот на гингивално зголемување. Клиничката презентација на инфламацијата и медикаментозно-условеното гингивално-зголемување не се хомогени, туку се различни во својата фреквенција и интензитет. Повеќе фактори на раст и цитокини се зависни од степенот на локалната инфламација.

Резултатите добиени од хистохемиското истражување одат во прилог на позитивна корелација помеѓу колагенот и индексот на дентален плак (ИДП), ($p=0,246$; $p<0,01$) и помеѓу колагенот и степенот на гингивално зголемување кај сите четири испитувани групи ($p=0,192$; $p<0,01$). Ретикулинот е во позитивна корелација со индексот на гингивална инфламација (ИГИ) ($p=0,240$; $p<0,01$) кај сите испитувани групи.

Иницијално како резултат на хроничната инфламација доаѓа до депонирање на богат мононуклеарен клеточен инфилтрат и ретикулин во гингивалната строма каде последователно по подолг временски период со развојот на инфламаторниот одговор, настанува замена на ретикулинот со колаген како неспецифичен механизам на организмот за одбрана (за справување со хронични инфекции). Заради фиброзата на ретикуларната мрежа, колагенот негативно корелира со ретикулинот ($p=-0,270$).

Во патологијата е познато дека долготрајни хронични воспаленија предизвикуваат склерозациски стромални промени претставени со депонирање на колаген, а во многу напреднати случаи и со создавање на калцификати се со цел да се ограничи штетната оксидација. Сето ова резултира во зголемување на волуменот на гингивата, која клинички се детектира како гингивално зголемување (100).

Циклоспоринот (цитостатик) делува на клетки кои поседуваат високо ниво на *turn-over*, а бидејќи имуните клетки поседуваат многу повисок *turn-over* од фибробластите, најверојатно, циклоспоринот делува многу повеќе на имуните клетки отколку на фибробластите и затоа тие се во дискрепанца со имунитетот. Затоа веројатно деналниот плак со инфламаторната компонента делува на фибробластите во продукција на колаген.

Гингивалното зголемување се должи на задебелување на епителот и зголемување на стромата, што оди во прилог и на нашите добиени резултати за позитивна корелација меѓу просечната дебелина на епителот во однос на степенот на гингивалното зголемување ($r=0,327$; $p<0,01$).

Дебелината на епителот позитивно корелира со индексот на денален плак (ИДП) $p<0,01$; и со индексот на гингивална инфламација (ИГИ) $p<0,05$. Сметаме дека овие ефекти се должат на пролонгираното дејство на микроорганизмите од деналниот плак на гингивалниот епител. Поради инфламаторни промени и пропаѓање на колагените влакна, епителот пролиферира и доаѓа до зголемување на неговата дебелина (89).

Buduneli и сор. (9) го испитувале ефектот на циклоспоринот на рецепторот на епидермалниот фактор на раст (EGF-r), и притоа забележале зголемена имунохистохемиска реактивност во базалните слоеви, која прогресивно се намалува кон површината. Тие евидентирале зголемена експресија на EGF-r во гингивалните кератиноцити резултирајќи во зголемен број на мембрански рецептори, кои евентуално можат да уграат улога во патогенезата на гингивалната алтерација. Хроничната инфламација во дентогингивалната врска, би можела да се разгледува како хронична репарација на рана, бидејќи инфламацијата ја иницира експресијата на EGF-r.

И покрај нашите резултати за позитивна корелација меѓу гингивалното зголемување и деналниот плак и податоците кои ни беа достапни во литературата, сметаме дека постоењето на различните хетерогени клинички одговори на гингивата, можат да се разберат единствено преку лабораториски студии за проследување на индивидуалните варијации во циклоспоринскиот метаболизам како и варијации во одговорот на гингивалните фибробласти. Присуството на деналниот плак и развојот на инфламаторниот одговор создава медиум за интеракција меѓу фибробластите и циклоспоринот. Инфламацијата води кон ткивни промени преку ослободување на

различни медијатори кои се ослободуваат од активираните инфламаторни клетки. Во инфламира на гингива, ткивото покажува високо ниво на ремоделирање, ефектот на циклоспоринот синергистички учествува со ендогените сигнали (инфламаторни медијатори), резултирајќи во зголемена репарација. Инфламаторните медијатори учествуваат како кофактори во индуцирање на гингивалното зголемување. Локалната продукција на повеќе фактори на раст/цитокини директно е одредена од степенот на инфламација, затоа регистрирањето на повеќе клинички одговори зависи од нивото на инфламаторниот стадиум во моментот на обсервирањето. Ваквите релации сеуште го намстнуваат прашањето дали гингивалното зголемување е причина или последица од зголемениот депозит на дентален плак и гингивална инфламација.

Циклоспоринот не предизвикува гингивално зголемување преку едноставен механизам. Гингивалното зголемување претставува комплексна состојба која вклучува целуларни, херeditарни и локални фактори, кои го отежнуваат разјаснувањето на патогенезата во обидот да се креира едноставен модел на разбирање.

Заклучоци

Заклучоци

Врз основа на добиените податоци од клиничките и патохистолошките наоди, извршената статистичка обработка и анализа на добиените резултати, можеме да ги изнесеме следните заклучоци:

1. Независно од аплицираната доза на циклоспоринот (100, 125, 150 или 175mg), не постоеше статистички значајна разлика во дистрибуцијата на фреквенциите на плак индексот кај испитуваните пациенти, постоева високи вредност на дентален плак, што укажува на низок степен на орална хигиена кај оваа група на пациенти. Сметаме дека долготрајната терапевска процедура која бара континуирана медикаментозна терапија овие пациенти, прави немотивирани во процесот на одржување на оралната хигиена.

2. Постоеше високо статистички значајна разлика за индексот на гингивална инфламација (ИГИ) меѓу најниската и највисоката доза (меѓу првата и четвртата група), и помеѓу втората (125mg) и четвртата група (175mg). Помеѓу останатите групи не постоеше статистички значајна разлика за ИГИ, што не наведува на заклучок дека дозите на медикаментот до 175mg, не резултираат во изразена гингивална инфламација за разлика од дозите над 175mg кои се критични за овој индекс. Поради позитивната корелација на дозата на медикаментот и индексот на гингивалната инфламација (ИГИ), и позитивната корелација на ИГИ со степенот на гингивалното зголемување, кај пациентите со доза над 175mg, се наметнува потреба од превенција и санирање на гингивалната инфламација како неоспорен стимул во процесот на формирање на гингивалното зголемување. Секако дека минимизирање на гингивалната инфламација ќе доведе и до спречување на рекурентни инфекции, а со тоа подобрување на општото здравје. Од нашите резултати не беше можно да утврдима дали постоењето на денталниот плак и гингивалната инфламација се причина за алтерација на гингивата или таа претставува последица од гингивалното зголемување. Потребни се понатамошни донгитудинални проспективни студии кои ќе ја утврдат активната или пасивната улога на гингивалната инфламација во развојот на гингивалното зголемување.

3. Сигнификантна статистичка разлика за губиток на атачмент, постоеше помеѓу првата и втората група (100 и 125mg), и помеѓу втората и третата група (125 и 150mg) додека помеѓу останатите групи не постоеше статистички значајна разлика. Разликата помеѓу 100mg и 150mg беше најкритична за губитокот на атачментот. Имуносупресијата доведува до инхибирана резистентност на пародонтално-ткивниот комплекс кон активноста на плак-либерираните продукти што се реперкуира врз пародонталниот статус. Губитокот на атачментот позитивно корелираше со степенот на гингивалното зголемување, што ја наметнува неопходноста од вклучување на пародонтолог во третманот на пациентите со бубрежна трансплантација како би се минимизирал овој несакан ефект, кој прогресивно доведува до губиток на атачмент и до развој на пародонтално заболување.

4. Не постоеше корелација меѓу времетраењето на циклоспоринската терапија и степенот на гингивалното зголемување, што значи дека импулсот за зголемен раст на гингивалното ткиво се должи на други фактори кои ја условуваат оваа реакција. Непостоењето на корелација меѓу овие фактори веројатно се должи на временски редуцирана сензитивност на пародонтот и фибробластите кон медикаментот.

5. Од патохистолошкиот наод, можеме да ја потврдиме хроничната инфламаторна реакција, составена од лимфоцити и плазма клетки, што говори за долготрајно делување на агенсите од денталниот плак и неможност за нивно елиминирање поради имуносупресијата. Формирањето на ретикуларна мрежа, а потоа и продукцијата на колаген од страна на фибробластите е зависна од аплицираната доза: поголема доза на медикаментот-поголема имуносупресија-поголема продукција на колаген-поголем степен на гингивално зголемување.

6. Иако не можеме да прецизираме дали гингивалното зголемување се јавува заради инфламаторната компонента или првично се јавува заради стимулаторниот ефект на циклоспоринот во продукција на колаген, сепак сакаме да потенцираме дека зголеменото гингивално ткиво последователно ја отежнува плак елиминацијата, ја

зголемува гингивалната инфламација, гингивалното крварење и губитокот на атачментот.

7. ИДП позитивно корелира со дебелината на епителот и со степенот на колаген. Истовремено, постоеше позитивна корелација и помеѓу ИДП и степенот на гингивалното зголемување со што се потврдува хипотезата за учеството на локалните фактори како битни етиолошки причинители, покрај медикаментозните варијабли, во развојот на гингивалното зголемување. Денталниот плак стимулативно делува на формирање на задебелен епител и продукција на колаген во стромата на сврзното ткиво, која клинички се манифестира во зголемена гингива.

8. Концентрацијата на медикаментот позитивно корелираше со дозата и со степенот на гингивалното зголемување, што значи дека силно развиените форми на гингивално зголемување се сретнуваат кај пациентите кои имаа вредност над 700ng/ml во серум и кои примаа доза од 175mg. Оптимална терапевска концентрација на медикаментот во однос на минимизирање на гингивалното зголемување изнесува 590ng/ml. Иако со нашите резултати ги потврдивме позитивните стимулаторни ефекти на медикаментот во формирање на гингивалните лезии, сепак останува отворено прашањето за одредување на улогата на локалниот депозит на циклоспоринот во гингивалните ткива кој сметаме дека допринесува за настанување на оваа состојба.

9. Испитувањето на локалниот имунитет во гингивалниот епител може да претставува цел за понатамошни лонгитудинални проспективни студии, како и знаоѓање на смерници за имуномодулација на истиот.

Генерално, можеме да резимираме дека во ризична група на пациенти спаѓаат пациентите со доза од 175mg и концентрација над 700ng/ml кои треба да бидат подложни на чести контролни прегледи и спроведување на пародонтолошки третман како релативно-едноставна терапевска постапка.

Циклоспорин-индуцираното гингивално зголемување не претставува само плак или медикаментозно асоциран проблем. Концептот за интеракција меѓу денталниот плакот, циклоспоринот и гингивалното зголемување претставува премногу едноставен модел.

Литература

Литература

1. **Adams D, Davies G.** Gingival hyperplasia associated with cyclosporine A. *Br Dent J* 1984; 157:89-90.
2. **Allison MC Pounder RE.** Cyclosporine for Crohn's disease. *Lancet* 1984; 7:902-903.
3. **Ayanoglou C. M. , Lesty C.** Cyclosporin A -induced gingival overgrowth in the rat : a histological ultrastructural and histomorphometric evaluation. *J Periodontal Res* 1999; 34: 7-15.
4. **Bartold PM.** Regulation of human gingival fibroblast growth and syntetic activity by cyclosporin-A in vitro. *Journal of Periodont Research* ;1989;24:31.
5. **Bartold PM.** Regulation of human gingival fibroblast growth and syntetic activity by cyclosporine A in vitro. *J Periodontal Res* 1989 ; 24: 314-321.
6. **Bennet J. A. and Christian J. M.** Cyclosporin-induced gingival hyperplasia. *J Am Dent Assoc* 1985; 111: 272-273.
7. **Boltchi F, Rees T, Iacopino A.** Cyclosporine A -induced gingival overgrowth: A comprehensive review. *Quintessence Internationa* 1999; 30(11); 775-783.
8. **Brunet L, Miranda J, Farre M, Berini L and Mendieta C.** Gingival enlargement induced by drugs. *Drug safety* 1996; 15(3):219-231.
9. **Buduneli N, Sağol Ö, Atilla G, Durman S, and Holmstrup P.** Immunohistochemical analysis of epidermal growth factor receptor in cyclosporin A-induced gingival overgrowth. *Acta Odontol Scand* 2001;59:367-371.
10. **Bulut Ö. E. , Sökmensüer L. K. , Bulut Ş. , Tasman F. , and Müftüoğlu.** Immunohistochemical Study of Cyclosporin -Induced Gingival Overgrowth in Renal Transplant Recipient. *J Periodontol* 2004; 75(12): 1655-1662.
11. **Cebeci I, Kantarci A, Firatli E, Carin M, Tuncer O.** The effect of verapamil on the prevalence and severity of cyclosporine -induced gingival overgrowth in renal allograft recipients. *J Periodontol* 1996; 67: 1201-1205.
12. **Chabria D. , Weintraub R. G. & Kilpatrick N. M.** Mechanism and management of gongival overgrowth in paediatric transplant recipients : a review. *International Journal of Paediatric Dentistry* 2003; 13: 220-229.
13. **Chabria D. , Weintraub R. G. , & Kilpatrick N. M.** Mechanism and managment of gingival overgrowth in paediatric transplant recipients : a review. *International Journal of Paediatric Dentistry* 2003; 13: 220-229.
14. **Church LF, Brandt SK.** Phenitoin-induced gingival overgrowth resulting in delayed eruption of the primary dentition:. A case report. *J Periodontol* 1984; 55: 19-21.
15. **Clark R.** The molecular and cellular biology of wound repair. New York : Plenum Press , 1998 .

16. **Coley C, Jarvis K, Hassell T.** Effect of cyclosporine A on human gingival fibroblasts in vitro. *J Dent Res* 1986; 65:353.
17. **Coley C.** Cyclosporin A-induced gingival overgrowth is unrelated to allograft function in renal transplant recipients. *J Clin Periodontol* 2001 Jul;28(7):706-9.
18. **Daley TD, Wysocki GP, May C.** Clinical and pharmacological correlations in cyclosporine-induced gingival hyperplasia. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1986;62: 417-421.
19. **Daley TD, Wysocki GP.** Cyclosporine therapy: its significance to the periodontist. *J Periodontol* 1984; 55:708-12.
20. **Desai PB, Silver J. G.** Drug -induced gingival enlargements. *Canadian Dental Association* 1998; 64(4): 263-268.
21. **Dongari A, McDonnell H, Langlais R.** Drug induced gingival overgrowth. *Oral surgery Oral medicine Oral Pathology* 1993 : 76(4):543-548.
22. **Echelard S, Hoyaux D, Hermans M, Daelemans P, Roth J, Philippart P. , et al.** S100A8 and S100A9 calcium - binding proteins : localization within normal and Cyclosporin A-induced overgrowth gingiva. *Connect Tissue Res* 2002; 43:419-424.
23. **Echelard S. Hoyaux D, Hermans M, Daelemans P, Roth J.** S100A8 and S100 A9 Calcium -binding proteins: localization within normal and Connective Tissue Research 2002 ; 43: 419-424. CyclosporinA induced overgrowth gingiva.
24. **Ellis J. S. , Seymour R. A. , Thomason J. M. et al.** Gingival sequestration of amlodipine and amlodipine -induced gingival overgrowth. *Lancet* 1993; 341: 1102-1103.
25. **Ellis JS, Seymour RA, Thomason JM, Butler T. M. & Idle J.** Periodontal factors affecting nifedipine sequestration in gingival crevicular fluid. *J Periodontal Research* 1995 ;30:272.
26. **Friskopp J, Klintmalm G.** Gingival enlargement : a comparison between cyclosporine and azathioprine treated renal allograft recipients. *Swed Dent J* 1986: 10 :85-92.
27. **Fu E. , Hsieh YD. , Nieh S. , Wikesjo UM. , Liu D.** Effects of cyclosporin A on alveolar bone: an experimental study in the rat *J Periodontol* 1999 70(2) :189-94.
28. **Fuiano G, Pachianno G, Lotito MA, Vaia E, Matarasso S, Andreucci VE.** Relation of gingival hypertrophy and blood vessels of cyclosporine A in patients with renal transplants. *Ann Ital Med Int* 1989;4:161-166.
29. **Furue M, Katz SI .** Cyclosporine A inhibits accessory cell and antigen-presenting cell functions of epidermal Langerhans cells. *Transpl Proc* 1988;20:87-98.
30. **Granelli-Piperno A, Keane M.** Effects of cyclosporin A on T lymphocytes and accessory cells from human blood. *Transpl Proc* 1988;20:136-42.

31. **Grass FR, Pappalardo S, Bacqlio OA, Frateiaci A, Scortchini A, Papa F, De Benedittis M, Petruzzi M.** Gingival overgrowth in renal transplant recipients induced by pharmacological treatment. *Minerva Stomatol* 2006; 55(1-2):59-65.
32. **Gupta S, Keshavarzian A, Hodgson HJE.** Cyclosporine in ulcerative colitis. *Lancet* 1984. 7:1277-1278.
33. **Hassell T. M. , & Stanek III E. J.** Fluorescence activated vital cell sorting of human fibroblast subpopulations that bind cyclosporin A. *J Dent Res* 1988 ;67:273.
34. **Hassell TM , Hefti AF.** Drug induced gingival overgrowth: old problem , new problem. *Crit Rev Oral Bio Med* 1991; 2:103-37.
35. **Hefti AF, Eshenaur AE, Hassell TM, Stone C.** Gingival overgrowth in cyclosporin A treated multiple sclerosis patients. *J Periodontol* 1994;65:744-749.
36. **Iacopino AM, Doxey D, Cutler C, Nares S, Stoeber K, et al.** Phenytoin and Cyclosporine A specifically regulate macrophage phenotype and expression of platelet-derived growth factor and interleukin-1 in vitro and in vivo: possible molecular mechanism of drug-induced gingival hyperplasia. *J Periodontol* 1997; 68:73-83.
37. **Ishida H, Kondoh T, Kataoka M, Nishikawa S, Nakagawa T, Morisaki I, Kido J, Oka T, Nagata T.** Factors influencing nifedipine-induced gingival overgrowth in rats. *J. Periodontol.* 1995; 66:345-350.
38. **Jacobs D, Buchanan J, Cuchens M, Hassell TM.** The effect of cyclosporine metabolite OL-17 on gingival fibroblast subpopulations. *J Dent Res* 1990 ; 69:221.
39. **James J. A. , Irwin C. R. , Linden G. J.** Gingival fibroblast response to cyclosporin A and transforming growth factor- β 1. *Transplantation* 1998; 65:724. *J. Periodontol.* 1995; 66:339-344.
40. **Karpinia KA, Matt M, Fennel RS III, Hefti AF.** Factors affecting cyclosporine-induced gingival overgrowth in pediatric renal transplant recipients. *Pediatric Dentistry* 1996;18(7):450-455.
41. **Kataoka M, Shimizu Y, Kunikiyo K, Asahara Y, Yamashita K, Ninomiya M, Morisaki I, Ohsaki Y, Kido J, Nagata T.** Cyclosporin A decreases the degradation of type I collagen in rat gingival overgrowth. *J Cell. Physiol* 2000; 182: 351-358.
42. **Khanna A, Kapur S, Sharma V, Li B, Suthanthiran M.** In vivo hyperexpression of transforming growth factor -beta 1 in mice: stimulation by cyclosporine. *Transplantation* (1997); 63: 1037-1039.
43. **Khoori A, Einollahi B, Ansari G, Moozeh M.** The effect of cyclosporine with and without nifedipine on gingival overgrowth in renal transplant patients. *J Can Dent Assoc* 2003; 69(4) : 236-41.
44. **Kimball O. P.** The treatment of epilepsy with sodium diphenyl-hydantoinate. *JAMA*, 112, 1244-1245(1939).
45. **King G. N. Fullinaw R. , Higgins T. J. , Walker R. G. , Francis D. M. & Wiesenfeld D.** Gingival hyperplasia in renal allograft recipients receiving cyclosporin-A and calcium antagonists. *Journal of Clinical Periodontology* 1993; 20: 286-293.

46. **Lucas R. M. , Howell L. P. , Wall B. A.** Nifedipine -induced gingival hyperplasia. A histochemical and ultrastructural study. *J. Periodontol.* 1985; 56: 211-215 .
47. **MacGaw T. ,Porter H.** Cyclosporine -induced gingival overgrowth: An ultrastructural stereologic study. *Oral Surg* 1988; (65);2: 186-190.
48. **Margiotta V, Pizzo I, Pizzo G, Barbaro A.** Cyclosporine and nifedipine -induced gingival overgrowth in renal transplant recipients correlates with periodontal and pharmacological parameters and HLA-antigens. *J Oral Pathol Med* 1996; 25:128.
49. **McGaw T, Lam S, Coates J.** Cyclosporine-induced gingival overgrowth: correlation with dental plaque scores, gingivitis scores and cyclosporine levels in serum and saliva. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1987;64:293-297.
50. **McGaw T. , Lam S. , Coates J.** Cyclosporine -induced gingival overgrowth : correlation with dental plaque scores, gingivitis scores and cyclosporine levels in serum and saliva. *Oral Surg Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1987 : 64 : 293-297.
51. **McGaw W. T. , Porter H Edmonton B.** Cyclosporine -induced gingival overgrowth: An ultrastructural stereologic study. *Oral Surger. Oral Med. Oral Pathol.* 1988; 65:186-190 .
52. **Mitic K.** Periodontal therapy and CsA-induced gingival overgrowth. *Proceedings of the 11 Congress of Balkan Stomatological Society (Abstract),Sarajevo :2006; 81.*
53. **Muller W, Herrmann B.** Cyclosporine A for psoriasis. *N Engl J Med* 1979: 301:355.
54. **Myrillas T. T. , Linden G. J. , Marley J. J. , Irwin C. R.** Cyclosporin A regulates interleukin -1 beta and interleukin-6 expression in gingiva : implicationfor gingival overgrowth. *J Periodontol* 1999; 70(3) : 294-300.
55. **Nell A , Matejka M , Solar P , Ulm C , Sinzinger H .** Evidence that cyclosporine inhibits periodontal prostaglandin I2 synthesis. *J Periodont Res* 1996 ; 31: 131-134.
56. **Nell A. , Matejka M. , Solar P. , Ulm C. , Sinzinger H.** Evidence that cyclosporine inhibits periodontal prostaglandin I2 syntehesis. *J Periodont Res* 1996; 31: 131-134.
57. **Niimi A, Tohnai I , Kaneda T, Takeuchi M, Nagura H.** Immunohistochemical analysis of effects of cyclosporin A on gingival epithelium. *J Oral Pathol Med* 1990; 19: 397-403.
58. **Noble P. W. Henson P. M. Carre P. C.** Transforming growth factor beta primes macrofages to express gene products in response to stimuli by an autocrine / paracrine mechanism. *J Immunol* 1993; 151 : 979-989.
59. **Nurmenniemi P. K. , Pernu H. E. , Knuuttila L. E.** Mitotic activity of keratinocytes in nifedipine -and immunosuppressive medication -inducedgingival overgrowth. *J Periodontol* 2001; 72: 167-173.
60. **Nurmenniemi PK , Pernu HE , Knuuttila ML.** Mitotic activity of keratinocytes in nifedipine -and immunosuppressive medication-induced gingival overgrowth. *J Periodontol* 2001 ;72: 167-173.

61. **O' Valle F. , Mesa FL. , Gomez -Morales M. , Aguilar D. , et al.** Immunochemical study of 30 cases of cyclosporin A -induced gingival overgrowth. *J Periodontol* 1994; 65: 724-730.
62. **Offenbacher S.** Periodontal disease : Pathogenesis . *Ann Periodontol* 1996 ; 1 : 879-925.
63. **Oringer RJ, Rees TD, Blieden T, Damoulis P, Florellini J, Giannobele W et. al.** Modulation of the host response in periodontal therapy . *J Periodontol* 2002; 73 : 460 -470.
64. **Pernu HE, Knuutila MLE, Huttenen KRH, Tiilikainen ASK.** Drug-induced gingival overgrowth and class II major histocompatibility antigens. *Transplantation* 1994 : 57: 1811-1813.
65. **Pernu HE, Pernu LMH, Huttenen KRH, Nieminen PA, Knuutila MLE.** Gingival overgrowth among renal transplant patients related to immunosuppressive medication and possible local background factors. *J Periodontol* 1992 :63:548-553.
66. **Pernu HE, Pernu LMH, Knuutila MLE.** Effect of periodontal treatment on gingival overgrowth among cyclosporinaA treated renal transplant recipients. *J Periodontol* 1993: 64: 1098-1100.
67. **Piattelli A, Petrelli I, Fanci P.** Regression following reduction of daily drug dosage in cyclosporin A-induced gingival overgrowth in bone marrow transplant recipients. *Acta Stomatol Belg* 1993;90:171-6.
68. **Radwan-Oczko M, Boratynska M, Klinger M, Zietek M.** Risk factors of gingival overgrowth in kidney transplant recipients treated with cyclosporine A . *Ann Transplant* 2003;8(4):57-62.
69. **Rateitchak-Pluss EM, Hefti A, Loertscher R, Thiel G.** Initial observation that cyclosporine A-induces gingival enlargement in man. *J Clin Periodontol* 1983; 10:237-246.
70. **Rateitschak-Pluss EM, Hefti A, Lortscher R, Thiel G.** Initial observation that cyclosporine A induced gingival enlargement in man. *J Clin Periodontol* 1983;10:237-246.
71. **Robbins SL, Cotran RS, Kumar V.** *Pathologic Basis of Disease* VII edition; Elsevier Saunders, 2005 ; 39-76.
72. **Ross PJ, Nazif MM, Zullo T, Zitelli B, Guevara P.** Effects of cyclosporin A on gingival status following liver transplantation. *Journal of Dentistry for Children* 1989;56:56-59.
73. **Rostock MH, Fry HR, Turner JE.** Severe gingival overgrowth associated with cyclosporine therapy. *J Periodontol* 1986;57: 294-299.
74. **Schulz A, Lange DE, Hassell TM, Stone CE, Lison AE.** Cyclosporine-induced gingival hyperplasia in renal transplant patients. *Dtsch Zahnarztl Z* 1990 :45: 414-416.
75. **Scincaglia G. P. , Forniti F. , Cavallini R, Piva R, Calura G, del Senno L.** Cyclosporine A increased type procollagen production and mRNA level in human gingival fibroblasts *in vitro*. *J. Oral Pathol. Med.* 1992; 21:181-185.
76. **Ségueier S. , Godeau G. , Brousse N.** Immunohistological and morphometric analysis of intraepithelial lymphocytes and Langerhans cells in healthy and diseased human gingival tissues. *Archives of Oral Biology* 2000; 45: 441-452.

77. **Semour RA, Smith DG, Rogers SR.** The comparative effects of azathioprine and cyclosporin on some gingival health parameters of renal transplant patients. *Journal of Clinical Periodontology* 1987; 14:61-613.
78. **Seymour R. A. , Ellis J. S. , Thomason J. M.** Risk factors for drug -induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 2000; 27 : 217-233.
79. **Seymour R. A. , Jacobs D. J.** Cyclosporin and the gingival tissues. *J. Clin Periodontol* 1992; 19: 1-11.
80. **Seymour RA and Heasman PA.** Drugs and the periodontium. *J Clin Periodontol* 1988; 15: 1-16.
81. **Seymour RA, Smith DG, Roger SR.** The comparative effects of azathioprine and cyclosporine on some gingival parameters of renal transplant patients. *J Clin Parodontol* 1987; 14: 610-613.
82. **Seymour RA, Smith DG, Rogers SR.** The comparative effects of azathioprinre and cyclosporine on some gingival health parameters of renal transplant patients. A longitudinal study. *J Clin Periodontol* 1987; 14:610-613.
83. **Seymour RA, Thomason JM, Ellis JS.** The pathogenesis of drug-induced gingival overgrowth. *J Clin Periodontol* 1996; 23: 165-175.
84. **Seumour RA,Thomason JM,Ellis JS.** Risk factors for gingival overgrowth in patients medicated with cyclosporine in the absence of calcium channel blockers. *J Clin Periodontol* 2005;32:273-279.
85. **Sommacarera ML, Hernandez G, Acero J, Moskow BS.** Factors related to the incidence and severity of cyclosporin-induced gingival overgrowth in transplant patients. A longitudinal study. *Journal of Periodontology* 1994 ; 65:671-675.
86. **Sorg C.** Macrophages in acute and chronic inflammation. *Chest* 1991;100 : 173-175.
87. **Stabellini G. , Carnici F. , Bedani P. L. , Calastrini C. , Mattei M. , Scapoli L. , Caruso A. , Calvitti M. and Locci P.** Cyclosporin A and Transforming Growth factor β modify the pattern of exstracellular glucosaminoglycans without causing cytoskeletal changes in human gingival fibroblasts. *Transplantation* 2002; 73;10: 1676-1679.
88. **Starzl TE, Well R , Iwatsuki S, et al.** The use of cyclosporine in cadaver kidney transplantation. *Surg Gyn Obst* 1980; 151: 17-26.
89. **Teodosijević M.** Oroparodontologija Patogeneza (imunologiska osnova),Naučna knjiga Beograd 1990 ; 134-138.
90. **Teunissen M. B. , De Jager M. H. , Kapsenberg M. L. , Bos J. D.** Inhibitory effect of cyclosporin A on antigen and alloantigen presenting capacity of human epidermal Langerhans cells. *Br J Dermatol.* 1991; 125: 309-16.
91. **Thomas DW, Baboolal K, Subramanian N, Newcombe RG.** Cyclosporin A -induced gingival overgrowth is unrelated to allograft function in renal transplant recipient. *J Periodontol* 2003 Jan;74(1):51-56.
92. **Thomason AL, Herman WW, Konzelman J, Collins MA.** Treating patients with drug -induced gingival overgrowth. *J Dent Hyg.* 2004;78(4):12.

93. **Thomason J. M. , Seymour R. A. , Ellis J. S. , Kelly P. J. Parry G. , Dark J. et al.** Determinants of gingival overgrowth severity in organ transplant patients. An examination of the role of HLA phenotype. *J Clin Periodontol* 1996; 23 : 628-634.
94. **Thomason J. M. , Sloan P. , Seymour R. A.** Immunolocalization of collagenase (MMP-1) and stromelysin (MMP-3) in the gingival tissues of organ transplant patients medicated with cyclosporin. *J Clin Periodontol* 1998; 25: 554-560.
95. **Torrezan PR, Andrade Sobrino J, Denardin OV, Rapoport A.** Cyclosporine induced gingival hyperplasia in kidney transplants. *Rev Assoc Med Bras* 2005;51(4):200-5.
96. **Trackman PC, Kantarci A.** Connective tissue metabolism and gingival overgrowth. *Crit Rev Oral Biol Med* 2004 ; 15(3): 165-175.
98. **Tripton DA, Stricklin GP, Dabbous MK.** Fibroblast heterogeneity of collagenolytic response to cyclosporine. *J Cell Biochem* 1991 : 46: 152-165.
99. **Turkmen A. , Ak G. , Furuncuogly Y. , Akar U. , Seyhun Y. , Turk S. , Carin M. , Sever M. S.** Relationship between gingival hyperplasia and class II histocompatibility antigens in renal transplant recipients. *Nephron* 2000 Jan; 84(1): 29-31.
100. **Tyldesley WR, Rotter E.** Gingival hyperplasia induced by cyclosporine A. *Br Dent J* 1984; 157: 305-309.
101. **Urabe A , Haftek M. Kanitakis J et al.** Cyclosporin A does not modify Langerhans' cell number and distribution in normal human skin. *Acta Derm Venereol* 1989;(69):249-52.
102. **Uzel MI, Kantarci A, Hong HH, Uygur C, Sheff MC, Firatli E, et al.** Connective tissue growth factor in phenitoin-induced gingival overgrowth. *J Periodontol* 2001; 72:921-931.
103. **William W, Hallmon & Jeffrey A. Rossmann.** The role of drugs in the pathogenesis of gingival overgrowth. A collective review of current concepts. *Periodontology* 2000; 21: 176-196.
104. **Willershausen-Zönnchen B. , Lemmen C. and Schumacher U.** Influence of Cyclosporine A on Growth and Extracellular Matrix Synthesis of Human Fibroblasts. *Journal of Cellular Physiology* 1992; 152: 397-402.
105. **William W Hallomon & Jeffrey A. Rossmann.** The role of drugs in the pathogenesis of gingival overgrowth. *Periodontology* 2000; 21:176-196.
106. **Wondimu B. , Modeer T.** Cyclosporin A upregulates prostaglandin E2 production in human gingival fibroblasts challenged with tumor necrosis factor alpha in vitro. *J Oral Pathol Med* 1997; 26 : 11-6.
107. **Wysocki G. P. Gretzinger H. A. and Laupacis A.** Fibrous hyperplasia of the gingiva : a side effect of cyclosporin A therapy. *Oral Surg. Oral Med Oral Pathol.* 1982; 55 : 274-278.

108. Yamada H. , Nishimura F. , Naruishi K. , Chou H. H. , Takashiba S. , Albright G. M. et al. Phentoin and cyclosporin A suppress the expression of MMP-1, TIMP-1, and cathepsin L, but not cathepsin B in cultured gingival fibroblasts. J Periodontol 2000; 71: 955-960.
109. Yamasaki A, Rose G. G. , Pinero G. J. , Mahan C. J. Ultrastructure of fibroblasts in cyclosporin A induced gingival hyperplasia. J. Oral Pathol. 1987; 16: 129-134.
110. Zebrowski EJ, Pylpas SP, Odlum O, Johnson RB. Comparative metabolism of H³-glucosamine by fibroblast populations exposed to cyclosporine. J Periodontol 1994;65:565-567.