

Análise quantitativa dos tecidos gengivais de ratos tratados com fenitoína e ciclosporina

Quantitative analysis of gingival tissues of rats treated with phenytoin and cyclosporine

Luís Carlos SPOLIDORIO*

Heron Fernando de Souza GONZAGA*

Denise M. P. SPOLIDORIO*

SPOLIDORIO, L. C.; GONZAGA, H. F. de S.; SPOLIDORIO, D. M. P. Análise quantitativa dos tecidos gengivais de ratos tratados com fenitoína e ciclosporina. *Pesqui Odontol Bras*, v. 14, n. 4, p. 327-333, out./dez. 2000.

Os aumentos gengivais podem ser decorrentes de reações teciduais a estímulos idiopáticos, patológicos e farmacológicos. O objetivo desse trabalho foi avaliar morfometricamente e estereologicamente a ação da fenitoína (Fen) e ciclosporina (CsA) sobre os tecidos gengivais de ratos. Dez ratos receberam, por via intraperitoneal, Fen na dose inicial de 2 mg/kg de peso corporal/dia, aumentando 2 mg a cada duas semanas, durante 60 dias. Em outros 10 ratos, administraram-se, por via subcutânea, 10mg/kg de peso corporal/dia de CsA, durante o mesmo período do grupo anterior. Os valores morfométricos e estereométricos dos tecidos gengivais dos ratos tratados com CsA foram significativamente maiores quando comparado com os valores dos tecidos gengivais do grupo tratado com Fen. Esses resultados sugerem que a CsA na dose utilizada é mais eficaz no desenvolvimento do aumento gengival em ratos, podendo estar atuando na proliferação de fibroblastos e no desequilíbrio fisiológico da síntese de fibras colágenas.

UNITERMOS: Fibromatose gengival; Fenitoína; Ciclosporina.

INTRODUÇÃO

A associação entre alterações gengivais e drogas foi primeiramente descrita por KIMBALL¹² em 1939. Inicialmente, o aumento gengival induzido por droga foi sinônimo de hiperplasia pela fenitoína (Fen)¹. Atualmente, outras drogas são também conhecidas como responsáveis pelo aumento gengival, como os bloqueadores do canal de cálcio e ciclosporina (CsA)¹⁵.

A Fen é usada principalmente no tratamento de convulsões¹⁶ e eventualmente no tratamento de arritmias cardíacas, particularmente nas arritmias ventriculares⁴. A CsA é um macrolídeo fúngico com propriedades imunossupressivas, cuja ação consiste na interferência na ativação dos genes que expressam algumas linfocinas, suprimindo principalmente a produção de IL-2 e reduzindo a expressão de receptores para essa interleucina, nos linfócitos em processo de ativação. Devido as suas propriedades imunossupressivas, a CsA é utilizada principalmente na profilaxia e tratamento da rejeição de transplantes alogênicos e eventual-

mente no tratamento de algumas doenças autoimunes²⁰.

A prevalência do aumento gengival induzido por drogas é variável e controverso, aventa-se a hipótese que tal variabilidade possa estar relacionada com a dosagem da droga⁸, concentração da droga tanto plasmática^{11,23}, como na saliva^{5,14} e presença de placa bacteriana e conseqüentemente inflamação^{13,18,23}.

O mecanismo do aumento gengival induzido por drogas ainda é incerto e as informações são conflitantes. Postula-se que ocorra estimulação na proliferação de algumas populações de fibroblastos, o que de certa forma justificaria a suscetibilidade individual por essas drogas^{1,9,22}. Por outro lado, atribuem o aumento gengival induzido por drogas ao acúmulo de proteínas na matriz extracelular, principalmente do colágeno²². Desequilíbrios entre a síntese e a degradação da matriz extracelular podem favorecer o acúmulo de colágeno e outras macromoléculas na matriz extracelular do tecido gengival^{10,26}.

O propósito deste trabalho foi avaliar morfome-

* Professores Assistentes Doutores da Disciplina de Patologia da Faculdade de Odontologia de Araraquara da UNESP.

tricamente e estereometricamente a ação da Fen e CsA sobre os tecidos gengivais de ratos.

MATERIAL E MÉTODOS

Foram utilizados 30 ratos (*Ratus norvegicus albinus*, variedade Wistar) machos, jovens, com peso inicial de aproximadamente 50 g, tratados com água e ração *ad libitum*. Os ratos foram distribuídos aleatoriamente em 4 grupos, sendo 2 grupos de 5 e 2 grupos de 10, e submetidos aos tratamentos como ilustra a Tabela 1.

Tratamento com CsA e Fen

A CsA*, concentração de 50 mg/ml, foi diluída com solução de NaCl a 0,9% obtendo-se uma concentração final de 10 mg/ml. Foram administrados 10 mg/kg de peso corporal/dia, por via subcutânea durante 60 dias²⁷. A Fen** foi injetada diariamente por via intraperitoneal, durante 60 dias. Durante as primeiras duas semanas foram administrados 2 mg/kg de peso corporal/dia aumentando 2 mg a cada 2 semanas. Nas duas últimas semanas, os ratos receberam diariamente 10 mg/kg de peso corporal/dia¹⁸. Dez ratos controle receberam procedimentos de forma similar com solução de NaCl a 0,9%.

Processamento histológico

Os ratos foram sacrificados por deslocamento cervical e as mandíbulas removidas e dissecadas. A descalcificação foi realizada em solução de citrato de sódio a 20% e ácido fórmico a 50% em partes iguais e incluídas em parafina rotineiramente. Secções transversais seriadas com 6 µm de espessura foram coradas com H. E.

Morfometria

As medidas morfométricas foram feitas na gengiva livre, na região de primeiro molar inferior, tan-

TABELA 1 - Distribuição dos grupos de ratos submetidos (+) ou não (-) aos tratamentos com CsA ou Fen. Os grupos I e II foram considerados controle.

Grupo	CsA	Fen
I (n = 5)	-	-
II (n = 5)	-	-
III (n = 10)	+	-
IV (n = 10)	-	+

* Novartis.

** Cristalia.

to na face vestibular como na face lingual, nas hemimandíbulas direita e esquerda dos ratos de todos os grupos. Utilizou-se um programa analisador de imagens (Mocha, Jandel Scientific San Rafael, CA, EUA), acoplado a um microscópio de luz Diastar (Cambridge Instruments, Buffalo, NY, EUA), com objetiva de 10 X. Foram mensurados aproximadamente 20 cortes, distantes um corte do outro aproximadamente 60 µm (10 cortes). Os resultados foram expressos em pixels e transformados em µm. De acordo com BERGLUNG *et al.*³ (1991), foram estabelecidos pontos morfológicos na gengiva marginal livre. As mensurações foram feitas a partir desses pontos, como ilustrado na Figura 1.

Estereologia

A determinação da densidade volumétrica de fibroblastos (identificados como células fusiformes, núcleo alongado), fibras colágenas, e outras estruturas, que correspondiam a outros tipos celulares, vasos sanguíneos e espaços vazios foram feitas com o auxílio de uma objetiva de 100 X, onde uma moldura quadriculada com área por ponto definida era sobreposta às áreas das imagens capturadas do microscópio e projetadas no monitor. A quantificação foi feita com auxílio de um programa analisador de imagens (Mocha, Jandel Scientific San Rafael, CA, EUA), acoplado a um microscópio de luz Diastar (Cambridge Instruments, Buffalo, NY, EUA). Foram contados 25 pontos coincidentes sobre as estruturas histológicas em 16 cortes da

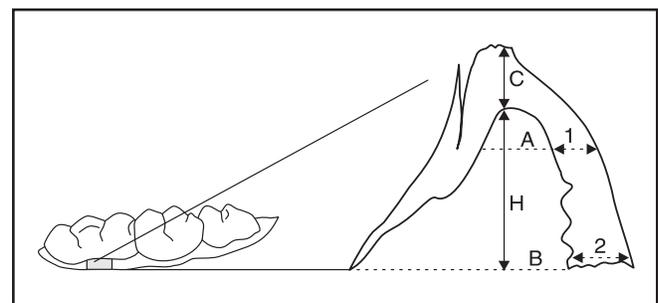


FIGURA 1 - Esquema da gengiva marginal livre de rato, mostrando os pontos de referência usados para as medidas morfométricas do epitélio bucal e tecido conjuntivo. C = altura do epitélio da crista gengival; 1, 2 = epitélio bucal nas porções coronária e basal; H = altura do tecido conjuntivo da região média; A = largura do tecido conjuntivo na região média; B = largura do tecido conjuntivo na região basal.

TABELA 2 - Médias das medidas morfométricas ($\mu\text{m} \pm$ desvio-padrão) de estruturas da gengiva da face vestibular dos primeiros molares inferiores, em relação aos vários tratamentos.

Tratamentos	Crista epitelial	Epitélio bucal	Altura	Largura A	Largura B
Controle	50,32 \pm 0,12	41,89 \pm 0,87	410,23 \pm 1,11	172,62 \pm 0,83	151,33 \pm 0,65
Fen	50,50 \pm 0,28	42,91 \pm 0,66	412,67 \pm 0,98	175,96 \pm 0,78	150,10 \pm 0,82
CsA	136,45* \pm 1,54	99,90* \pm 0,77	998,76* \pm 1,05	348,98* \pm 1,34	302,45 \pm 1,05

*Estatisticamente significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

TABELA 3 - Médias das medidas morfométricas ($\mu\text{m} \pm$ desvio-padrão), de estruturas da gengiva da face lingual dos primeiros molares inferiores, em relação aos vários tratamentos.

Tratamentos	Crista epitelial	Epitélio bucal	Altura	Largura A	Largura B
Controle	47,47 \pm 0,75	40,45 \pm 0,55	268,25 \pm 1,20	156,33 \pm 0,67	138,45 \pm 1,02
Fen	47,23 \pm 0,89	41,03 \pm 1,09	266,87 \pm 0,64	158,23 \pm 0,88	140,11 \pm 0,54
CsA	98,66* \pm 1,30	92,30* \pm 0,85	521,70* \pm 1,15	271,95* \pm 0,95	258,02* \pm 0,77

*Estatisticamente significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

gengiva da face vestibular e 16 cortes da gengiva da face lingual (cada corte correspondia a um campo), numa distância de 10 cortes entre uma contagem e outra, perfazendo um total de 400 pontos na gengiva da face vestibular e 400 pontos na gengiva da face lingual em ambas hemimandíbulas por animal. A determinação da densidade de volume das estruturas em análise, baseou-se nos princípios de WEIBEL²⁸ (1969), cujo volume relativo (%) das estruturas em análise foi calculado através da fórmula: $P_{pi} = P_i/P$ (P_{pi} = densidade de volume das estruturas das áreas, P_i = soma do número de pontos coincidentes sobre cada estrutura e P = número total de pontos do retículo, multiplicando-se o número de pontos do retículo pelo número de campos examinados).

Análise estatística

Para a análise dos dados, foi aplicado o teste de variância ANOVA. Quando acusou diferença significativa, essa análise foi complementada pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

RESULTADOS

Morfometria do epitélio e tecido conjuntivo da gengiva da face vestibular e lingual

As médias das medidas morfométricas da crista epitelial, epitélio bucal, altura e larguras A e B do tecido conjuntivo foram semelhantes nos grupos controle e nos tratados com Fen. O tratamento com CsA aumentou significativamente as dimensões lineares do epitélio e tecido conjuntivo da gen-

giva vestibular e lingual de todos os ratos (Tabelas 2 e 3).

Quantificação das áreas do epitélio bucal, tecido conjuntivo das gengivas das faces vestibular e lingual

Sessenta dias após o tratamento com CsA, as áreas do epitélio e tecido conjuntivo da gengiva da face vestibular e lingual aumentaram em relação às áreas do epitélio e tecido conjuntivo das gengivas dos ratos tratados com Fen e controle. Nos aumentos gengivais induzidos pela CsA, as áreas do epitélio e o tecido conjuntivo da face vestibular eram maiores que as áreas da face lingual, como ilustrado nas Tabelas 4 e 5.

Estereologia

As Tabelas 6 e 7 expressam os resultados obtidos da análise estereológica para a avaliação da densidade volumétrica (%) de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas da gengiva vestibular e lingual dos primeiros molares inferiores, dos ratos submetidos aos vários tipos de tratamento. As densidades volumétricas de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas foram semelhantes entre os grupos controle e o tratado com Fen, nas gengivas da face vestibular e lingual. As densidades volumétricas de fibroblastos e fibras colágenas foram significativamente maiores nas gengivas dos ratos tratados com CsA, enquanto a densidade volumétrica de outras estruturas foi menor.

TABELA 4 - Médias das áreas (μm^2) do epitélio bucal, do tecido conjuntivo e área total da gengiva da face vestibular, em relação aos diversos tratamentos.

Tratamentos	Epitélio bucal	Tecido conjuntivo	Total
Controle	28.470	40.420	68.890
Fen	29.180	40.966	68.100
CsA	86.603*	143.950*	230.553*

*Estatisticamente significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

TABELA 5 - Médias das áreas (μm^2) do epitélio bucal, do tecido conjuntivo e área total da gengiva da face lingual, em relação aos diversos tratamentos.

Tratamentos	Epitélio Bucal	Tecido conjuntivo	Total
Controle	13.590	18.537	32.127
Fen	13.990	19.131	33.121
CsA	50.276*	58.707*	108.983*

*Estatisticamente significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

DISCUSSÃO E CONCLUSÕES

O presente trabalho avaliou o aumento gengival por meio da administração sistêmica de Fen e CsA por 60 dias.

Primeiramente, analisou-se quantitativamente, por meio de medidas morfométricas, o epitélio e o tecido conjuntivo, assim como as áreas das gengivas vestibular e lingual, da região de primeiro molar inferior dos ratos. É importante que os pontos morfológicos para tais mensurações sejam precisos e invariáveis; neste trabalho, esse fator foi estabelecido com cautela, com todas as leituras seguindo orientações dos pontos prestabelecidos, em todos os cortes medidos, permitindo avaliações comparativas entre os grupos.

Houve significativo aumento das dimensões do epitélio, da altura e largura A e B do tecido conjuntivo e das áreas das gengivas dos ratos tratados com CsA, o mesmo não acontecendo com os ratos tratados com Fen. Os resultados também mostraram que as dimensões dos tecidos gengivais da face vestibular são maiores que as da lingual nos ratos tratados com CsA. Técnicas semelhantes foram utilizadas por FISCHER; KLINGE⁷ (1994), para mensurar cortes histológicos corados com H. E., do aumento gengival induzido pela CsA em

TABELA 6 - Médias das medidas estereométricas ($\mu\text{m} \pm$ desvio-padrão), de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas da face vestibular dos primeiros molares inferiores, em relação aos vários tratamentos.

Tratamentos	% de fibroblastos	% de fibras colágenas	% de outras estruturas
Controle	11,82 \pm 0,55	66,57 \pm 0,80	21,60 \pm 0,67
Fen	12,01 \pm 0,76	67,08 \pm 0,54	20,91 \pm 0,25
CsA	13,65* \pm 0,90	71,67* \pm 0,39	14,67* \pm 1,01

*Estatisticamente significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

TABELA 7 - Médias das medidas estereométricas ($\mu\text{m} \pm$ desvio-padrão), de fibroblastos, fibras colágenas e outras estruturas da face lingual dos primeiros molares inferiores, em relação aos vários tratamentos.

Tratamentos	% de fibroblastos	% de fibras colágenas	% de outras estruturas
Controle	11,90 \pm 0,90	67,60 \pm 0,90	20,50 \pm 1,10
Fen	12,22 \pm 0,69	66,04 \pm 1,11	21,74 \pm 0,99
CsA	13,12* \pm 1,10	71,75* \pm 1,21	15,12* \pm 1,51

*Estatisticamente significativo pelo teste de Tukey ao nível de 5%.

furão, cujos valores das medidas morfométricas do epitélio bucal e epitélio juncional indicaram aumento em suas dimensões.

Vários relatos estabelecem a associação do aumento gengival induzido por drogas a fatores coadjuvantes para seu desenvolvimento como dosagem⁸ e conseqüente concentração da droga tanto plasmática^{11,23}, como salivar^{5,14}, e placa bacteriana com conseqüente inflamação^{13,18,23}. As doses de Fen usadas nesse experimento foram as mesmas estipuladas por NASCIMENTO *et al.*¹⁸ (1985), e a dose de CsA foi estabelecida por WASSEF *et al.*²⁷ (1985), cujos resultados mostraram que a dosagem de 10 mg/kg de peso corporal/dia em ratos induzem concentração plasmática constante e não induzem toxicidade.

Os resultados do presente trabalho mostraram que o tratamento com Fen, na dose utilizada, foi pouco eficaz na indução do aumento gengival em ratos; resultados semelhantes foram observados por NASCIMENTO *et al.*¹⁸ (1985). Esses autores só observaram aumento gengival quando associaram a Fen com acúmulo experimental de placa bacteriana e conseqüente inflamação gengival. Por outro

lado, 100% dos ratos tratados com CsA desenvolveram aumento gengival confirmando os achados de KITAMURA *et al.*¹³ (1990). SOMACARRERA *et al.*²⁴ (1994) sugeriram que o fator básico que influencia a severidade do aumento gengival são a concentração de CsA no sangue e os níveis de placa dental e gengivite.

O mecanismo de ação do aumento gengival induzido por drogas ainda é enigmático, mas postula-se que seja devido à estimulação direta ou indireta na proliferação de algumas populações de fibroblastos^{2,17,21}, aumento da síntese protéica da matriz^{19,29} extracelular ou ainda inibição da atividade das metaloproteinases²⁵. Eventualmente, esses fatores podem atuar simultaneamente, em maior ou menor grau, dependendo do caso²⁵. Os vários estudos existentes até o momento explorando os mecanismos de ação dessas drogas sobre o índice de proliferação de fibroblastos, síntese protéica e atividade colagenolítica têm apresentado resultados controversos; portanto, a quantificação da população de fibroblastos e matriz extracelular do aumento gengival permanece obscuro, existindo poucos estudos e com resultados conflitantes¹⁵.

Os dados obtidos neste trabalho revelam que o tecido conjuntivo da gengiva marginal dos ratos tratados com CsA apresenta maior densidade volumétrica de fibroblastos e de fibras colágenas, quando comparado com o grupo controle e o grupo tratado com Fen. Alguns estudos *in vitro* têm demonstrado a influência da CsA e Fen estimulando a proliferação de subpopulações de fibroblastos^{6,22,26}. Outros autores sugeriram que *in vivo* a CsA e a Fen não influenciam diretamente o metabolismo dos fibroblastos, atuando através de vias indiretas, associadas a liberação de mediadores da inflamação ou produtos bacterianos, enfatizando que o aumento gengival induzido pela CsA ocorre, com maior frequência, em regiões onde há maior índice de placa bacteriana e conseqüentemente maior grau de inflamação^{9,11}. WILLERHAUSEN-ZÖNNCHEN *et al.*²⁹ (1992) realizaram estudo incubando fibroblastos gengivais com CsA na concentração de 1.000 ng/ml por 72 h e por 6 semanas.

Verificaram que no período de 72 horas não houve alteração significativa no número de células, entretanto, no período experimental de 6 semanas, a CsA estimulou a proliferação celular, considerando esses resultados evidência da estimulação direta da CsA sobre a proliferação de fibroblastos gengivais sensíveis. Neste trabalho, todos os ratos responderam ao tratamento com CsA podendo-se aventar a hipótese de que fibroblastos das gengivas de ratos de variedade Wistar são geneticamente sensíveis à ação da CsA, e não são sensíveis à Fen, dentro das condições deste experimento.

Os resultados apresentados no presente trabalho indicam aumento da densidade volumétrica de fibras colágenas nas gengivas de ratos tratados com CsA, mas não com Fen. O acúmulo de colágeno pode resultar de um estímulo na sua síntese e/ou diminuição da sua degradação. De acordo com TIPTON *et al.*²⁶ (1991), o aumento da síntese de colágeno, a baixa produção de colagenase ou ainda o aumento da produção de TIMPs podem levar a uma deposição exagerada de colágeno no tecido gengival. Os mesmos autores relatam ainda que o efeito da CsA sobre a atividade colagenolítica aparentemente depende do doador da amostra, da presença de subpopulações celulares suscetíveis e também da concentração plasmática da droga. Em 1982, HASSEL⁹ demonstrou, através de radioimunoensaios, que fibroblastos de indivíduos com aumento gengival causado por Fen produziram grandes quantidades de colagenase, no entanto, essa enzima era pouco eficiente para a degradação de colágeno *in vitro*.

Portanto o mecanismo do aumento gengival induzido por drogas é intensamente discutido, merecendo estudos subseqüentes; contudo podemos concluir através dos nossos resultados que os aumentos gengivais são dose-dependentes e que a CsA na dose utilizada é um modelo de estudo viável para subseqüentes estudos do aumento gengival induzido por drogas. Os resultados sugerem também atuação da CsA sobre a proliferação de fibroblastos e provavelmente desequilíbrio fisiológico da síntese ou degradação de fibras colágenas.

SPOLIDORIO, L. C.; GONZAGA, H. F. de S.; SPOLIDORIO, D. M. P. Quantitative analysis of gingival tissues of rats treated with phenytoin and cyclosporine. **Pesqui Odontol Bras**, v. 14, n. 4, p. 327-333, oct./dez. 2000.

Reactions to a number of idiopathic, pathological and pharmacological stimuli may result in overgrowth of gingiva, whose mechanisms have not been established yet. The aim of the present work was to evaluate morphometrically and stereologically the effect of phenytoin (PHT) and cyclosporine (Cs) on the gingival tissues of rats. Ten rats received daily IP injection of PHT, 2 mg/kg of body weight/day, which was increased in 2 mg at each two weeks, during 60 days. Ten rats received 10 mg/kg of body weight/day of Cs, subcutaneously, during the same period of the previous group. All rats treated with Cs developed gingival overgrowth, with increased thickness of the epithelium, height and wideness of connective tissues, as well as, increased density of fibroblasts and collagen fibers, when compared with the rats treated with PHT and with the control. These results suggest that Cs, in the used dose, is more efficient in the development of gingival overgrowth in rats. Cs-induced gingival overgrowth is a tissue with an altered composition, characterized by increasing of the density of fibroblasts and by physiologic unbalance of collagen synthesis.

UNITERMS: Fibromatosis, gingival; Phenytoin; Cyclosporine.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. ADDY, V.; McELNAY, J.; EYRE, D. Risk factors in phenytoin-induced gingival hyperplasia. **J Periodontol**, v. 54, n. 2, p. 373-377, May 1983.
2. BARTOLD, P. Regulation of human gingival fibroblasts growth and synthetic activity by cyclosporin-A *in vitro*. **J Periodontol Res**, v. 24, n. 5, p. 314-321, Oct. 1989.
3. BERGLUNCH, T.; LINDHE, J.; STERRET, J. D. Clinical and structural characteristics of tissues in young and old dogs. **J Clin Periodontol**, v. 18, n. 6, p. 616-623, Sept. 1991.
4. BREDFELDT, G. W. Phenytoin-induced hyperplasia found in edentulous patients. **J Am Dent Assoc**, v. 123, n. 8, p. 61-64, Feb. 1992.
5. COLEY, C.; JARVIS, K.; HASSEL, T. Effect of cyclosporin-A on human gingival fibroblasts *in vitro*. **J Dent Res**, v. 65, p. 228-377, Feb. 1983.
6. CONARD, G. J.; JEFFERY, H.; BOSSES, L. *et al.* Levels of 5,5-diphenylhydantoin and its major metabolite in human serum, saliva and hyperplastic gingiva. **J Dent Res**, v. 53, n. 4 p. 1323-1329, Aug. 1974.
7. FISCHER, R. G.; KLINGE, B. Clinical and histological evaluation of ligature-induced periodontal breakdown in domestic ferrets immunosuppressed by cyclosporin-A. **J Clin Periodontol**, v. 21, p. 240-249, Feb. 1994
8. FU, E.; NIEH, S.; CHANG, H. Dose-dependent gingival overgrowth induced by cyclosporin in rats. **J Periodontol**, v. 66, p. 594-598, Jun. 1995.
9. HASSEL, T. M. Evidence for production of an inactive collagenase by fibroblasts from phenytoin-enlarged human gingiva. **J Oral Pathol**, v. 11, p. 310-317, Aug. 1982.
10. HASSEL, T.; GILBERT, G. Phenytoin sensitivity of fibroblasts as the basis for susceptibility to gingival enlargement. **Am J Pathol**, v. 112, p. 218-223, Sept. 1983.
11. JAMES, J. A.; IRWIN, C. R.; LINDEN, G. J. The effects of culture environment on the response of human gingival fibroblasts to cyclosporin-A. **J Periodontol**, v. 66, p. 339-344, Mar. 1995.
12. KIMBALL, O. The treatment of epilepsy with sodium diphenylhydantoinate. **J Am Med Assoc**, v. 112, p. 1244-1245, Mar. 1939
13. KITAMURA, K.; KATO, K.; YOSHIDA, M. *et al.* Cyclosporin-A-induced gingival overgrowth - strain differences in the rats. **Arch Oral Biol**, v. 35, p. 483-486, Mar. 1990.
14. McGAW, W. T.; PORTER, H.; EDMONTON, B. S. Cyclosporine-induced gingival overgrowth: an ultrastructural stereologic study. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol**, v. 65, p. 186-190, Apr. 1988.
15. MARSHALL, R. I.; BARTOLD, P. M. Medication-induced gingival overgrowth. **Oral Dis**, v. 4, p. 130-151, July 1998.
16. MERRITT, H.; PUTMAN, T. Sodium diphenyl-hydantoinate in the treatment of convulsive disorders. **J Am Med Assoc**, v. 111, p. 1068-1073, Oct. 1938.
17. MORISAKI, J.; KATO, K.; LOYOLA RODRIGUES, J. Nifedipine-induced gingival overgrowth in the presence or absence of gingival inflammation in the rats. **J Periodontol Res**, v. 28, p. 396-403, July 1993.
18. NASCIMENTO, A.; ALMEIDA, R. C. B.; BOZZO, L. *et al.* Interaction of phenytoin and inflammation induces gingival overgrowth in rats. **J Periodontol Res**, v. 20, p. 386-391, Sept. 1985.
19. RATEITSCHACK-PLÜS, E. M.; HEFTI, A.; LORTSCHER, R. *et al.* Initial observation that cyclosporin-A induces gingival enlargement in man. **J Clin Periodontol**, v. 10, p. 237-246, 1983.
20. ROITT, I.; BROSTOFF, J.; MALE, D. **Imunologia**. 5. ed. Manole, 1999, 423 p.
21. SCHINCAGLIA, G. P.; FORNITI, F.; CAVVALINI, R. Cyclosporin-A increases type I procollagen production in human gingival fibroblasts *in vitro*. **J Oral Pathol Med**, v. 21, p. 181-185, May 1992.
22. SEYMOUR, R.; SMITH, D. The effect of a plaque-control programme on the incidence and severity of cyclosporin-induced gingival changes. **J Clin Periodontol**, v. 18, p. 107-110, Nov. 1991.
23. SEYMOUR, R. Drug induced gingival overgrowth. **Adverse Drug React Toxicol Rev**, v. 12, p. 215-232, Aug. 1993.
24. SOMACARRERA, M.; HERNÁNDEZ, G.; ACERO, J. Localization of gingival overgrowth in heart transplant patients undergoing cyclosporin therapy. **J Periodontol**, v. 65, p. 666-667, Nov. 1994.
25. SUGANO, N.; ITO, K.; MURAI, S. Cyclosporin-A inhibits

- collagenase gene expression via AP-1 and JNK suppression in human gingival fibroblasts. **J Periodontal Res**, v. 33, p. 448-452, Nov. 1998.
26. TIPTON, D. A.; STRICKLIN, G. P.; DABLOUS, M. K. Fibroblast heterogeneity in collagenolytic response to cyclosporine. **J Cell Biochem**, v. 46, p. 152-165, Mar. 1991.
27. WASSEF, R.; COHEN, Z.; LANGE, B. Pharmacokinetic profiles of cyclosporine in rats. Influence of route administration and dosage. **Transplantation**, v. 40, p. 489-493, Feb. 1985.
28. WEIBEL, E. R. **Stereological methods**. New York : Academy Press, 1969.
29. WILLERHAUSEN-ZÖNNCHEN, B.; LEMMEN, C.; SCHUMACHER, U. Influence of cyclosporine-A on growth and extracellular matrix synthesis of human fibroblasts. **J Cell Physiol**, v. 152, p. 397-402, Oct. 1992.

Recebido para publicação em 03/05/00
Enviado para reformulação em 09/08/00
Aceito para publicação em 29/09/00