



**Universidade do Estado do Rio de Janeiro**

Centro Biomédico

Faculdade de Odontologia

Renata Castanheira Machado

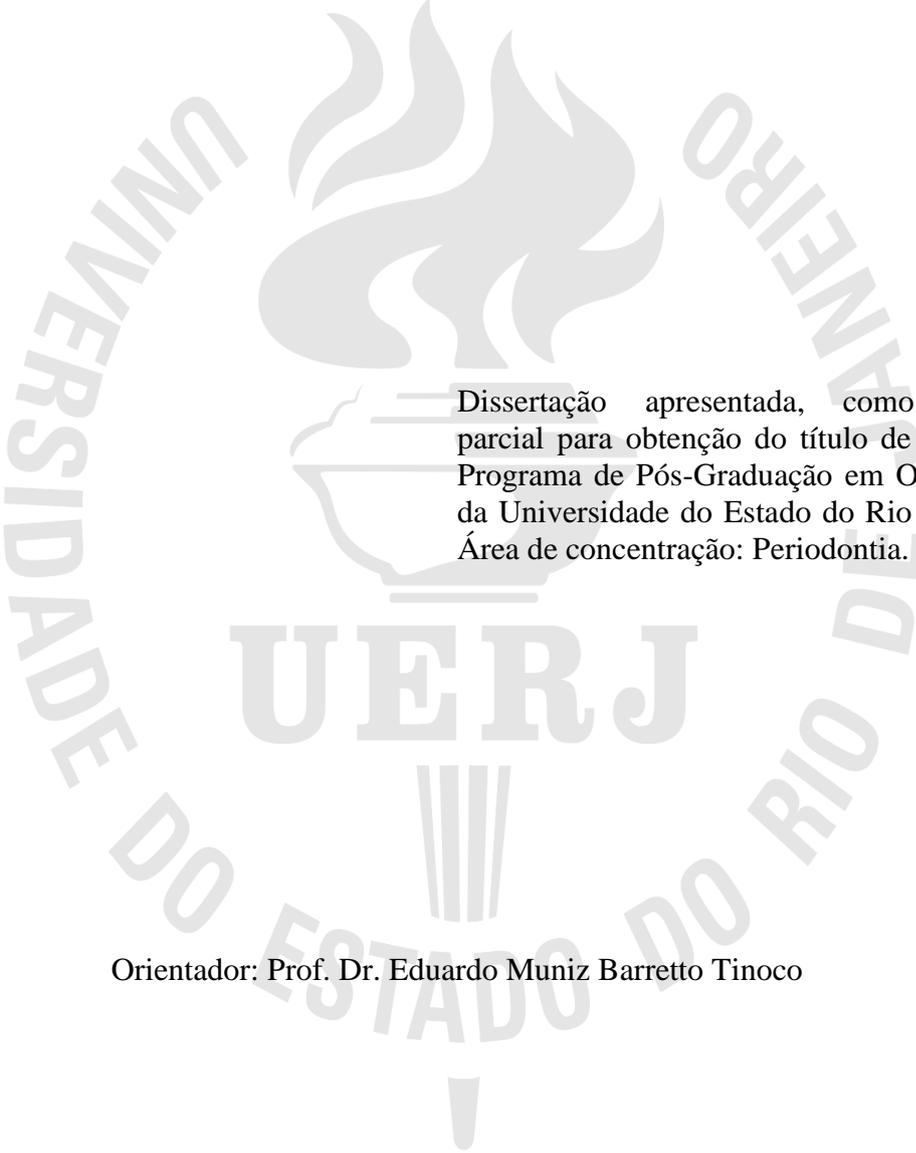
**Estudo sobre as fibras do sistema elástico na gengiva humana**

Rio de Janeiro

2004

Renata Castanheira Machado

**Estudo sobre as fibras do sistema elástico na gengiva humana**



Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Periodontia.

Orientador: Prof. Dr. Eduardo Muniz Barretto Tinoco

Rio de Janeiro

2004

CATALOGAÇÃO NA FONTE  
UERJ/REDE SIRIUS/BIBLIOTECA CB/B

M149 Machado, Renata Castanheira.  
Estudo sobre as fibras do sistema elástico na gengiva humana / Renata Castanheira Machado. – 2004.  
38 f.

Orientador: Eduardo Muniz Barretto Tinoco

Dissertação (mestrado) – Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia.

1. Gengiva - Anatomia e histologia. 2. Tecido elástico. 3. Membrana basal. I. Tinoco, Eduardo Muniz Barretto. II. Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Faculdade de Odontologia. III. Título.

CDU  
616.314

Bibliotecária: Adriana Caamaño CRB7/5235

Autorizo, apenas para fins acadêmicos e científicos, a reprodução total ou parcial desta Dissertação, desde que citada a fonte.

---

Assinatura

---

Data

Renata Castanheira Machado

**Estudo sobre as fibras do sistema elástico na gengiva humana**

Dissertação apresentada, como requisito parcial para obtenção do título de Mestre, ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, da Universidade do Estado do Rio de Janeiro. Área de concentração: Periodontia.

Aprovado em 30 de janeiro de 2004.

Orientador:

Prof. Dr. Eduardo Muniz Barretto Tinoco  
Faculdade de Odontologia – UERJ

Banca Examinadora:

---

Prof. Dr. Gerson Cotta Pereira  
Faculdade de Odontologia – UERJ

---

Prof. Dr. Sérgio Kahn  
Faculdade de Odontologia – UERJ

---

Prof. Dr. Walter Augusto Soares Machado  
Faculdade de Odontologia – UERJ

Rio de Janeiro

2004

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho à minha querida família em especial ao meu pai, meu mestre e minha eterna inspiração, e à minha mãe, um exemplo de mulher.

## **AGRADECIMENTOS**

À toda a minha família, especialmente à minha mãe, pelo incentivo constante e compreensão nos momentos ausentes.

Ao meu mestre e meu Pai, Professor Walter Augusto Soares Machado, pelo exemplo de pessoa e profissional.

Aos Professores Ricardo Guimarães Fischer, Carlos Marcelo Figueiredo e Eduardo M. B. Tinoco, pela oportunidade, confiança depositada e enriquecimento dos meus conhecimentos na Periodontia.

Ao Professor e amigo Gerson Cotta-Pereira, palavras são poucas para expressar o quanto sou grata por tudo que me ensinaste sem você este trabalho não seria realizado.

Aos meus colegas de mestrado, Fernanda, Flávia, João, Marília e Rafael, pela ótima convivência ao longo desses dois anos.

A todos os funcionários do Serviço de Imunohistoquímica da Santa Casa de Misericórdia do Rio de Janeiro pela colaboração e paciência.

Aos meus colegas de equipe da Universidade Veiga de Almeida, Professores Antônio Carlos Canabarro, Gilberto, Joel Alves Júnior, Sérgio Kahn pelo apoio e incentivo.

A todos os pacientes que colaboraram com este trabalho, sem os quais não seria possível.

## RESUMO

MACHADO, Renata Castanheira. **Estudo sobre as fibras do sistema elástico na gengiva humana**. 2004. 38 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade do estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

Fragmentos de gengiva humana foram avaliados pelos métodos de histoquímica e imunohistoquímica, retirados após cirurgia periodontal com finalidade protética, de 10 indivíduos entre 18 e 60 anos de idade, para avaliar a participação do sistema de fibras elásticas neste tecido. Os resultados demonstraram a presença dos três tipos de fibras do sistema elástico, ou seja, fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas, distribuídas da seguinte maneira: (1) as fibras oxitalânicas formam uma rede de fibras delgadas localizadas próximas à membrana basal ao nível das papilas do tecido conjuntivo; (2) as fibras elaunínicas encontram-se em íntimo contato com as fibras oxitalânicas, nas regiões papilar e subpapilar, seguindo os feixes de fibras colágenas; (3) as fibras elásticas foram observadas em pequena quantidade, dispersas pelo tecido conjuntivo mais profundo e ao redor dos vasos sanguíneos.

Palavras-chave: Sistema elástico. Gengiva. Membrana basal.

## **ABSTRACT**

MACHADO, Renata Castanheira. **Study about the elastic fibers system in human gingiva.** 2004. 38 f. Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Faculdade de Odontologia, Universidade do estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, 2004.

Specimen of human gingiva was evaluated through histochemistry and imuno histochemistry method, removed after periodontal surgery with prothetic purpose, from 10 individual among 18 and 60 years old, to assess the elastic fibers system in this tissue. It was demonstrate the presence of the three types of elastic fibers system, oxytalan, elaunin and elastic fibers, as follows: (1) the oxytalan fibers form a network of thin fibers next to basement membrane in the papilar area of the gingival connective tissue; (2) the elaunin fibers are in contact with the oxytalan fibers, in the papilar and subpapilar areas, following the bundle of collagen fibers; (3) the elastic fibers are observed in small amount, disperse through the deeper gingival connective tissue and around the blood vessel.

**Keywords:** Elastic fibers system. Gingiva. Basement membrane.

## SUMÁRIO

	<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>8</b>
1	<b>REVISÃO DA LITERATURA .....</b>	<b>10</b>
2	<b>PROPOSIÇÃO .....</b>	<b>17</b>
3	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>18</b>
4	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>21</b>
5	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>30</b>
	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>34</b>
	<b>REFERÊNCIAS .....</b>	<b>35</b>

## INTRODUÇÃO

Na cavidade oral encontramos três tipos distintos de mucosas: mastigatória, especializada, e de revestimento <sup>29</sup>. A mucosa mastigatória está presente no palato duro e na gengiva, e esta exposta às forças compressivas e a abrasão durante o processo de mastigação dos alimentos. O dorso da língua possui o mesmo papel funcional, porém devido a grande quantidade de corpúsculos sensitivos é considerada como mucosa especializada. A mucosa de revestimento e, por sua vez, encontrada na porção ventral da língua, na porção interna dos lábios, nas bochechas, no soalho da boca, no palato mole e em parte do processo alveolar. Ao contrário da mucosa mastigatória, a mucosa de revestimento possui maior flexibilidade <sup>42</sup>.

A gengiva e a parte da mucosa mastigatória que cobre parte do processo alveolar e circunda a porção cervical dos dentes. Este tecido também faz parte de um conjunto de estruturas denominado periodonto. O periodonto compreende os seguintes tecidos: gengiva, ligamento periodontal, cemento e osso alveolar <sup>26</sup>. Cada um destes componentes periodontais possui uma localização, arquitetura tecidual, composição bioquímica e celular distintas; todavia eles funcionam como uma unidade integrada <sup>3</sup>. As principais funções do periodonto são ancorar os dentes e responder as forças mastigatórias.

Anatomicamente, a gengiva esta subdividia em marginal, interdental e inserida <sup>38</sup>. Histologicamente, e constituída de dois componentes, o revestimento epitelial e o tecido conjuntivo subjacente. Enquanto o epitélio e predominantemente celular, o tecido conjuntivo possui celular e rica matriz extracelular, sendo esta composta de uma rede integrada de proteínas fibrosas e não fibrosas, fatores de crescimento, minerais, lipídeos e água <sup>3</sup>.

O tecido epitelial gengival é classificado como pavimentoso estratificado, geralmente para queratinizado <sup>35</sup>, e recebe o nome de epitélio oral, ao entrar em contato com o dente este epitélio, não mais queratinizado, denomina-se epitélio do sulco, sem estar aderido a superfície do dente. Em seguida, o epitélio passa a ser chamado de juncional, pois promove a união da gengiva com o dente. Este último epitélio difere morfológicamente dos epitélios do sulco e oral, que são estruturalmente semelhantes <sup>26</sup>. Subjacente ao epitélio, e separado deste por uma membrana basal, encontra-se o tecido conjuntivo, cuja interface entre este tecido e os epitélios orais e sulcular segue um curso ondulado, enquanto ao nível do epitélio juncional esta característica esta ausente. Tal ondulação anteriormente citada proporciona uma melhor inserção, fazendo com que forças aplicadas ao epitélio se dispersem sobre uma maior área de

tecido conjuntivo; além disso, a interface ondulada proporciona uma maior área para trocas metabólicas entre estes dois tecidos <sup>42</sup>.

O tecido conjuntivo é o componente tecidual predominante da gengiva e do ligamento periodontal, sendo constituído principalmente de fibras colágenas (60%), fibroblastos (5%), vasos, nervos e matriz não colagênica (35%)<sup>26</sup>. Possui a função primária de proteger a superfície radicular e o osso alveolar do ambiente externo, bem como promover a fixação dos dentes dentro do seu alvéolo e proporcionar um suporte adequado para o tecido epitelial <sup>3</sup>.

As fibras conhecidas como gengivais constituem-se essencialmente de colágeno, e são organizadas em vários feixes com características e arquitetura distintas, classificado dentro de grupos baseados na sua localização, origem e inserção. Denominam-se fibras dentogengivais, dentoperiósteas, alveologengivais, circulares, semicirculares, transgengivas, intergengivais e transeptais <sup>3</sup>. A principal função das fibras colágenas é prover resistência tensional e suporte mecânico para os tecidos periodontais.

As fibras do tecido conjuntivo, produzidas pelos fibroblastos, compreendem, não somente as colágenas, mas também as reticulares, as elásticas, as oxitalânicas e as elaunínicas. As fibras reticulares têm íntima relação com as fibras colágenas, pois ambas são constituídas de fibrilas de colágeno. São encontradas no tecido adjacente a membrana basal e também no tecido conjuntivo frouxo que circunda os vasos sanguíneos <sup>26</sup>.

A formação das fibras elásticas envolve a deposição de tropoelastina, um precursor solúvel da elastina madura, em uma base de microfibrila com tendo fibrilina. Assim, as fibras elásticas maduras são compostas de um manto externo de microfibrila e um centro de material amorfo, a elastina <sup>24</sup>. Como o nome indica, estas fibras têm propriedades elásticas e apenas estão presentes, no tecido conjuntivo gengival, em associação com os vasos sanguíneos <sup>42</sup>. As fibras oxitalânicas são compostas por microfibrila idênticas as das fibras elásticas sem, no entanto, possuem material amorfo central contendo elastina <sup>8</sup>. Estão presentes na gengiva e no ligamento periodontal <sup>19</sup>, desempenhando de um modo geral, funções de resistência as forças mecânicas. Outro tipo de fibra é elaunínica, que também, desempenha a atividade de resistência mecânica. Por possuírem propriedades morfológicas e morfoquímicas semelhante, foi sugerido que as fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas poderiam ser parte de uma sequência durante o processo elastofenético <sup>20</sup>. Este conjunto de fibras foi denominado de sistema elástico, onde as pequenas diferenças nas propriedades de cada um dos elementos resultariam de sua adaptação a diferentes fatores ambientais, bem como diferentes funções a desempenhar.

## 1 REVISÃO DA LITERATURA

As fibras elásticas foram as primeiras fibras do sistema elástico a serem estudadas. Segundo Hass <sup>22</sup>, foi Fleming quem reconheceu pela primeira vez a elasticidade do sistema vascular e comparou-a com a que se observa na borracha.

Fullmer e Lillie<sup>18</sup> evidenciaram um novo tipo de fibra do tecido conjuntivo, denominada oxitalândia, devido a sua alta resistência ao tratamento com soluções ácidas. Esta fibra foi identificada no ligamento periodontal, tendões, ligamentos, adventícia dos vasos sanguíneos, bainha de tecido conjuntivo ao redor dos folículos capilares, epineuro e perineuro.

Observações feitas a partir de 135 autopsias de mandíbulas permitiu que Fulmer<sup>16, 17, 18</sup> sugerisse que o tamanho e o número de fibras oxitalânicas tendem a aumentar em relação ao número de dentes que estão em perfeita oclusão. As fibras de tamanho maior e em grande quantidade foram observadas na região cervical dos dentes que funcionava como pilares de ponte fixa ou em dentes onde havia ausência do elemento dentário adjacente. Além disso, foi constatado que o sistema de fibras oxitalânicas é pobremente desenvolvido no ligamento periodontal de dentes que não estão em função. Estas observações concluíram que as células do periodonto são capazes de produzir fibras oxitalânicas em maior número e tamanho, em resposta ao aumento do estresse funcional.

As fibras elaunínicas, descritas pela primeira vez por Gawlik <sup>20</sup> em tendões, foram também por ele mostradas no periósteo, pele, mucosa e fibrocartilagem, desempenhando atividade de resistência a forças mecânicas. Este autor observou que, nos primórdios do desenvolvimento embrionário, as fibras elásticas imaturas da aorta humana possuem características tintoriais de fibras oxitalânicas. Posteriormente, elas adquirem propriedades tintoriais de fibras elaunínicas e em seguida apresentam afinidade pela hematoxilina férrica, características das fibras elásticas. Assim este grupo de fibras do tecido conjuntivo foi classificado como sistema elástico.

Carmichael e Fullmer <sup>6</sup> estudaram as fibras oxitalânicas do ligamento periodontal humano ao microscópio eletrônico, onde observaram que estas consistiam em feixes de microfibrilas de aproximadamente 15 a 16 nm em diâmetro, e sem material amorfo ao redor.

Edwards <sup>13</sup> rotacionou dentes anteriores de 6 cães, e após ao exame histológico o autor observou um aumento do tamanho e do número de fibras oxitalânicas no ligamento

periodontal e gengiva livre de tais dentes. Foi sugerido que as fibras oxitalânicas atuam na prevenção da extensão dos tecidos na região.

Ross e Bornstein <sup>34</sup> descreveram a fibra elástica como sendo constituída por dois componentes distintos, a “microfibrila da fibra elástica” e o “material amorfo”. Foi atribuída a microfibrila uma natureza proteica, possuindo 10 a 12 nm em diâmetro e com uma aparência tubular, enquanto a porção amorfa apresentava características químicas da elastina.

Sims <sup>39</sup> estudou a rede de fibras oxitalânicas em molares de ratos. Após a ao exame histológico de 600 cortes foi observado que o sistema de fibras oxitalânicas, assim denominado pelo autor, estende-se da junção cimento-esmalte para os vasos sanguíneos do ligamento periodontal, presente em toda a sua extensão, no sentido longitudinal. Desta forma o autor sugeriu que sob carga oclusal, a orientação ocluso-apical das fibras oxitalânicas tende a relaxar quando os feixes de fibras colágenas são colocados sob tensão, e quando as forças oclusais diminuem, os feixes colágenos relaxam e o sistema de fibras oxitalânicas tornam-se sob tensão. Também foi originada a hipótese de que, sob diferentes estímulos funcionais, o sistema de fibras oxitalânicas pode participar de um mecanismo sensorial ou, por outro lado, contribuir para a regulação do fluxo vascular.

Soames e Davies <sup>40</sup> analisaram as fibras elásticas e oxitalânicas em gengivas normais e inflamadas de cães, onde descreveram a presença das fibras oxitalânicas abaixo do epitélio oral, próximas a junção do tecido epitelial com o conjuntivo, formando um plexo fino que se estende em direção a papila e se comunica com fibras mais finas na região mais profunda do tecido conjuntivo. Algumas fibras estavam diretamente relacionadas ou inseridas em regiões da membrana basal do epitélio oral. Na região mais central do tecido conjuntivo gengival, poucas fibras elásticas puderam ser demonstradas. As fibras elásticas estavam ausentes abaixo do epitélio juncional, porém após oxidação observou-se a persistência das fibras oxitalânicas entre as células inflamatórias, tornando-se mais evidentes com a destruição das fibras colágenas. Assim, os autores sugeriram que o plexo de fibras localizado abaixo do epitélio juncional pode auxiliar a estabilização e manutenção da integridade da inserção epitelial contra forças distorcivas.

Ao estudar 15 amostras de gengiva, ao microscópio eletrônico, obtidas após cirurgia periodontal de pacientes com periodontite crônica, Takara e colaboradores <sup>41</sup> constataram a presença de três tipos de fibras: Tipo A – somente feixes de microfibrilas; Tipo B – feixes de microfibrilas com pequena quantidade de material amorfo na porção central dos feixes; Tipo C – feixes de microfibrilas circundados por maior quantidade de material amorfo; sugerindo que seriam estágios diferentes de maturação da fibra elástica. Tais fibras foram encontradas

predominantemente próximas a lâmina basal e também no tecido conjuntivo mais profundo, porém eram escassas nas regiões de infiltrado inflamatório. Em todos os espécimes, uma comunicação direta entre as microfibrilas e a lâmina basal foi encontrada, onde estas penetravam na lâmina densa, sem nenhum dispositivo de inserção. Tal observação sugeriu um papel importante destas fibras de estabilizador físico e integrador entre os tecidos epitelial e conjuntivo.

Cotta-Pereira e colaboradores <sup>9</sup> analisaram o sistema elástico em pele humana ao microscópio óptico e eletrônico, observando a presença de três tipos diferentes de fibras. As superficiais com características de oxitalânicas prendiam-se à lâmina basal por uma de suas extremidades, possuíam uma trajetória perpendicular à junção dermo-epidérmica e, na outra extremidade, se misturavam as fibras de um plexo, com características tintoriais de fibras elauninicas. Desse plexo, não somente partiam as fibras oxitalânicas, como também chegavam fibras que se coravam seletivamente para fibras elásticas e que eram provenientes das regiões mais profundas da derme.

As implicações funcionais da distribuição arquitetural das fibras do sistema elástico em derme humana foram descritas por Cotta-Pereira e colaboradores <sup>10</sup> da seguinte maneira: as fibras elásticas seriam pela absorção dos efeitos causados por forças de tração ou compressão impostas a pele; as fibras oxitalânicas realizariam um papel coadjuvante na ancoragem da epiderme na derme; e o plexo elaunínico seria um elemento resistente mecanicamente e de ligação entre fibras oxitalânicas elásticas.

Lopez e colaboradores <sup>27</sup> e Porter e colaboradores <sup>32</sup> examinaram 57 espécimes de gengiva humana, com o objetivo de determinar a presença ou ausência de fibras elásticas na gengiva inserida. Tais fibras foram observadas na parede dos capilares na camada papilar, bem como na parede dos vasos sanguíneos e entremeadas as fibras colágenas, na camada reticular da lamina própria.

Em 1986, Machado <sup>28</sup> estudou o sistema elástico da gengiva humana e da mucosa alveolar. Na gengiva marginal e inserida somente foram evidenciadas fibras oxitalânicas, nas regiões de papila de tecido conjuntivo, dirigindo-se para a membrana basal do epitélio. Entretanto, na mucosa alveolar observou-se poucas papilas de tecido conjuntivo, apresentando uma maior quantidade de fibras elásticas na região mais profunda do tecido conjuntivo. Ao microscópio eletrônico, os resultados foram semelhantes aos encontrados em microscopia óptica, mostrando as fibras oxitalânicas, formadas por microfibrilas, dirigindo-se para a lâmina basal.

Sakai e colaboradores <sup>36, 37</sup> isolaram a partir de um meio de cultura de fibroblastos humanos uma nova glicoproteína do tecido conjuntivo, resistente a colagenase, com 350-kD de massa molecular, a qual chamaram de fibrilina. Os autores demonstraram uma ampla distribuição desta proteína na matriz do tecido conjuntivo da pele, pulmão, fígado, sistema vascular, cartilagem, tendão, músculo, córnea e zônula ciliar. Ao microscópio eletrônico a sua localização foi relacionada tanto as microfibrilas associadas à elastina quanto em feixes de microfibrilas sem material amorfo visível.

Chavrier e colaboradores <sup>7</sup> estudaram a distribuição e organização do sistema de fibras elásticas em gengivas humanas saudáveis. Para tal foi utilizado um anticorpo anti-elastina humana, o qual reagiu fortemente tanto com o componente microfibrilar quanto com o material amorfo. Este achado foi interpretado indicando que as microfibrilas estão associadas com pequena quantidade de elastina em sua superfície. Na camada subepitelial do tecido conjuntivo gengival, foram observados feixes paralelos de microfibrilas características de fibras oxitalânicas. Na camada média, microfibrilas estavam entremeadas com placas de material amorfo denso constituindo assim as fibras elaunínicas. Na camada mais profunda, o material amorfo denso tornou-se mais abundante e relativamente homogêneo, enquanto as microfibrilas eram raras.

Com o propósito de determinar a presença, distribuição e relação dos componentes do sistema elástico em gengivas sadias e inflamadas, Caimi e colaboradores <sup>5</sup> utilizaram diversas técnicas histoquímicas. As fibras elásticas foram localizadas nas paredes dos vãos sanguíneos, em algumas áreas do tecido conjuntivo frouxo e entre os feixes de fibras colágenas. Nas gengivas inflamadas de dentes com sobrecarga, observou-se um ligeiro aumento destas fibras. As fibras elaunínicas foram observadas em diferentes áreas do tecido conjuntivo. Nas regiões mais profundas tais fibras acompanhavam o percurso das fibras colágenas, na zona subpapilar dirigiam-se para as papilas, sempre acompanhando as fibras colágenas e na zona papilar seguiam um curso ondulado, paralela ao eixo longitudinal das papilas do tecido conjuntivo. As fibras oxitalânicas formavam um sistema contínuo de fibras finas ramificadas, entremeadas em uma delicada malha, dispendo-se junto às fibras elaunínicas ao acompanhar os feixes de fibras colágenas. Ao aproximarem-se da membrana basal, estão dispostas em diferentes maneiras: abrindo-se em leques, em pequenos feixes de fibras paralelas, ou em forma ondulada.

Zhang e colaboradores <sup>45, 46</sup> descreveram um novo componente das microfibrilas, a fibrilina-2 que é expressa geralmente em primeiro lugar durante o estágio de desenvolvimento, antes da fibrilina-1, e pode ser particularmente importante na formação da

fibra elástica. Os autores concluíram que a fibrilina-1 e a fibrilina-2 possuem padrões de expressão distintos, porém sobrepostos.

Montes <sup>31</sup> através de uma revisão da biologia estrutural das fibras colágenas e do sistema elástico descreveu as fibras elásticas como sendo compostas por um centro de material amorfo homogêneo e abundante (identificado como elastina), circundado por microfibrilas de 10-12 nm em diâmetro. Em relação ao desenvolvimento da fibra elástica, o autor relatou o surgimento inicial de um feixe de microfibrila, seguido pelo componente amorfo, o qual é gradualmente depositado entre as microfibrilas até as fibras elásticas atingirem a maturidade. No entanto ele observou que, em certos locais anatômicos, somente feixes de microfibrilas, sem material amorfo, estão presentes, mesmo em tecidos e estágios de maturação total. Portanto, o autor concluiu que nem todos os feixes de microfibrilas são destinados para servir como base para a deposição de elastinas e desta forma, serem convertidos em fibras elásticas.

Gogly e colaboradores <sup>21</sup> realizaram uma análise morfométrica das fibras colágenas e elásticas na pele e gengiva em relação a idade. Foi observado que em gengiva de pacientes jovens as fibras oxitalânicas foram bem individualizadas, orientadas perpendicularmente ao epitélio e conectadas as fibras elaunínicas. Nas porções média e profunda da gengiva, fibras elásticas longas e bem definidas estavam presentes. Com o aumento da idade, as fibras oxitalânicas tornaram-se irregulares e curtas, enquanto as fibras elaunínicas pareciam fragmentadas. As fibras elásticas estavam dispersas, fragmentadas e mais espessas.

Tendo em vista uma ampla variedade de proteínas que são relacionadas às microfibrilas, Everts e colaboradores <sup>14</sup> estudaram a associação do colágeno tipo VI com as microfibrilas na matriz extracelular do periodonto. As observações dos autores demonstraram a presença do colágeno tipo VI em duas modalidades diferentes: como finas fibrilas entre as fibrilas de colágeno e como feixes de microfibrilas (associadas ou não a elastina), constatando que este tipo de colágeno está de fato associado ao sistema microfibrilar. Desta maneira, o colágeno tipo VI segundo os autores, realiza funções diferentes, uma seria a de ancoragem quando associado as fibrilas de colágeno, e a outra pode estar relacionada com propriedades elásticas dos tecidos, visto que este colágeno também está presente nas microfibrilas.

Bourke e colaboradores <sup>4</sup> analisaram a distribuição e síntese de elastina na gengiva e mucosa alveolar de porcos, na tentativa de explicar a diferença na quantidade de fibras elásticas presentes nestas duas regiões. Os autores levantaram a hipótese de que as diferenças na distribuição de elastina entre a mucosa alveolar e a gengiva inserida pode estar relacionada tanto com as diferenças fenotípicas nos fibroblastos residentes, com relação a expressão

genética de elastina, quanto relacionada a uma adaptação das células associadas com a especialização estrutural dos tecidos, ocorrendo como um resultado da influencia de diferentes demandas funcionais. Como resultado do estudo, foi verificado que os níveis médios de RNAm para tropoelastina em células da mucosa foram maiores do que nos fibroblastos gengivais, porem sem atingir significância estatística.

A partir das observações de que os feixes de microfibrilas contendo fibrilina são encontrados em associação com as membranas basais, onde tais microfibrilas parecem estar inseridas diretamente na lamina densa Dzamba e colaboradores <sup>12</sup> desenvolveram um estudo a fim de responder se a fibrilina está presente em toda a lâmina densa ou restrita aos sítios de inserção dos feixes de microfibrilas. Além disso, foi investigada também a produção de fibrilina pelas células epiteliais em cultura. A fibrilina foi detectada continuamente ao longo da lâmina densa e não estava limitada aos sítios de inserção dos feixes de microfibrilas. Em cultura de fibroblastos da pele, a fibrilina foi identificada formando uma rede fibrilar extensa, ao contrário da cultura de células epiteliais, onde foi verificado um padrão puntiforme abaixo das células. Assim, os autores puderam concluir que a função da fibrilina, sintetizada pelas células epiteliais, na lâmina densa da membrana basal, pode ser de ancoragem das microfibrilas contendo fibrilina.

Tsuruga e colaboradores <sup>43,44</sup> desenvolveram a hipótese de que as diferenças na distribuição das fibras do sistema elástico na gengiva e no ligamento periodontal, podem ser devido às características bioquímicas dos fibroblastos. Portanto, os autores realizaram a avaliação bioquímica dos fibroblastos destes tecidos obtidos do mesmo individuo, e a comparação dos níveis de fibrilina e tropoelastina. Foi constado que os fibroblastos gengivais expressam fibrilina e tropoelastina, enquanto os fibroblastos do ligamento periodontal somente fibrilina e em pequena quantidade.

Segundo Kielty e colaboradores <sup>24</sup>, as fibras elásticas são os componentes da matéria extracelular que fornecem ao tecido conjuntivo resiliência, permitindo um grande poder de extensão e contração, sem o consumo de energia. Estas propriedades são cruciais ara a função das artérias, pulmões, pele e todos os outros tecidos dinâmicos. Esta função elástica complementa as fibrilas de colágeno, concedendo por tênsil.

Machado e colaboradores <sup>30</sup> realizaram um estudo em ratos, onde os dentes incisivos inferiores foram comprimidos, com o auxílio de um fio de aço, com uma força excessiva, suficiente para destruir o ligamento periodontal dos animais. Depois da remoção do aparelho, três animais foram sacrificados e os quatro animais restantes foram sacrificados após 7, 14, 28 e 52 dias. Foi observado que a aplicação de forças excessivas e contínuas provocou uma

degeneração no ligamento periodontal, e durante o processo de reparação deste tecido, as fibras oxitalânicas aumentaram em quantidade. Desta forma os autores sugeriram que tal fibra é de grande importância no processo de reparação tecidual, principalmente após um trauma excessivo.

## 2 PROPOSIÇÃO

O sistema de fibras elásticas é bastante amplo e complexo, porém permanece pobremente conhecido. O maior desafio está em estabelecer como as células regulam a formação das microfibrilas e das fibras elásticas, definir a hierarquia temporal e o repertório de interações moleculares na sua composição <sup>24</sup>. Este conjunto de fibras tem sido estudado em diversas regiões do corpo humano, com o nos vasos sanguíneos, pulmão, ligamentos e pelo. Entretanto pouco se sabe sobre a sua distribuição e composição no periodonto.

Portanto, o objetivo do presente estudo é o de realizar um mapeamento da participação das fibras do sistema elástico na inserção epitelial de fibras gengivais humanas. Será verificada também a relação entre os elementos do sistema elástico e a membrana basal, ao nível de papilas e cristas interpapilares do tecido conjuntivo subjacente ao epitélio oral.

### 3 MATERIAIS E MÉTODOS

Para o presente estudo, fragmentos de gengiva humana clinicamente normal, foram obtidos de 10 voluntários, com idade entre 18 e 60 anos, os quais necessitavam de cirurgia periodontal pré-protética. Tais pacientes foram submetidos a um criterioso processo de seleção, constituído por uma anamnese inicial, onde seriam descartados os indivíduos que apresentassem doenças sistêmicas ou estivessem em uso de medicamentos capazes de provocar alterações gengivais, exame clínico periodontal e exame radiográfico periapical completo. Após o exame periodontal, somente foram incluídos neste estudo os indivíduos que apresentavam profundidade de sondagem  $\leq 3$  mm, realizada em 6 sítios por dente, e ausência de perda óssea constatada no exame radiográfico. Em seguida, foi instituído um rigoroso controle de placa, com o auxílio de solução evidenciadora de placa e instrução de higiene oral. Também foram solicitados os seguintes exames complementares: hemograma completo, coagulograma e glicemia em jejum. Antes do início do estudo, foi concedida a aprovação do Comitê de Ética da Universidade do Estado do Rio de Janeiro, em anexo. Tais fragmentos, considerados material de descarte durante o procedimento cirúrgico e, portanto, sem utilidade para os pacientes, foram colhidos com consentimento livre e esclarecidos (apêndice) dos mesmos.

A cirurgia periodontal somente foi realizada após seguir o protocolo descrito acima. A gengiva deveria apresentar características clínicas de normalidade tecidual caracterizadas pelo índice gengival e de placa de Ainamo & Bay <sup>1</sup>. A área selecionada para o estudo foi a região de gengiva livre vestibular. Com o auxílio de um cabo de bisturi e lâmina nº 15 c, os fragmentos de gengiva livre foram removidos cuidadosamente para preservar a integridade tecidual. O material ao ser retirado, foi imediatamente lavado em solução salina fisiológica e a seguir colocado em solução fixadora contendo formaldeído a 4%, em tampão PBS (pH 7,2), permanecendo a 4°C, por um período de 3<sup>a</sup> a 5 dias.

Após a fixação, os fragmentos de gengiva foram lavados em solução salina por 5 minutos, desidratados em concentrações crescentes de etano l, diafanizados em três mudas de xilol e impregnados em parafina a 58° C, para finalmente serem incluídos em mistura de parafina, cera de abelha e cera de carnaúba. American Optical, modelo Spencer 820, obtendo-se cortes de 5  $\mu$ m de espessura.

Para estudo morfológico, um conjunto desses cortes foi corado pela técnica da hematoxilina-eosina como se segue: 1) Desparafinação em mudas de xilol, 1 minuto cada uma; 2) Hidratação com concentrações decrescentes de etanol, 1 minuto cada uma; 3) Água destilada; 4) coloração pela hematoxilina de Mayer por 5 minutos; 5) Lavagem para oxidação em água corrente, por 5 minutos; 6) Tratamento com etanol a 70% por 2 minutos; 7) Coloração pela eosina-floxina, por 2 minutos; 8) Desidratação e soluções de concentrações crescentes de etanol, por 1 minuto cada; 9) Clarificação em três mudas de xilol, por 1 minuto cada; 10) Montagem da lamínula com balsamo do Canadá.

Outros cortes foram corados por técnicas que revelam os componentes fibrosos do tecido conjuntivo, nomeadamente as fibras do sistema colágeno e as do sistema elástico.

O estudo das fibras do sistema colágeno (fibras colágenas e reticulares) foi realizado utilizando-se as seguintes técnicas<sup>2</sup>: tricrômico de Gomori, tricrômico de Mallory e vermelho de picrosírius. O procedimento foi semelhante ao que foi descrito para a técnica da Hematoxilina-Eosina, excetuando-se nos itens de 4 a 7, onde foi utilizada a coloração pertinente a cada técnica.

O sistema elástico (fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas) foi analisado efetuando-se, nos cortes, a técnica do orcinol-neofucsina e da resorcina-fucsina de Weigert com e sem oxidação previa pela oxona<sup>25</sup>. Igualmente, o procedimento foi semelhante ao descrito para a técnica da hematoxilina-eosina, excetuando-se nos itens de 4 a 7, onde foi utilizada a coloração pertinente a cada técnica.

Para os estudos imuno-histoquímicos, os cortes em parafina foram tratados como se segue: 1) Desparafinação em mudas de xilol, 1 minuto cada uma; 2) Hidratação em concentrações decrescentes de etanol, 1 minuto cada uma; 3) Água destilada. A seguir os cortes foram colocados e banho-maria numa solução de tampão citrato (pH entre 5 e 6), a uma temperatura de 96° C, durante 30 minutos, para que ocorresse a recuperação antigênica. Após o resfriamento, os cortes foram transferidos para o tampão tris-hidroximetil-amino-metano, para em seguida serem submetidos ao tratamento com peróxido de hidrogênio de 3 a 6%, durante 15 minutos, com a finalidade inibir a peroxidase endógena. Em sequência, após lavagem em tris, os cortes foram incubados e soro bovino (BSA) para o bloqueio de ligações inespecíficas. Na etapa seguinte, os cortes foram incubados com o anticorpo primário monoclonal anti-fibrilina-1 de rato 1:100 (Neomarkers®), diluído em BSA Tris, em uma câmara úmida a temperatura ambiente, durante 1 hora. Após a lavagem com a solução tampão, foi realizada a incubação com o anticorpo secundário biotilado (DAKO®) por 3 minutos, e câmara úmida a temperatura ambiente, seguido pelo complexo de ampliação

estreptavidina-biotina LSAB plus (DAKO®), durante 30 minutos. Por fim, foi utilizada a diaminobenzidina DAB (DAKO®) associada ao peróxido de hidrogênio para a revelação da peroxidase acoplada ao complexo antígeno – anticorpo primário – anticorpo secundário, por um período de 2 a 5 minutos, usando-se como corante nuclear, a hematoxilina de Mayer. Desta forma, as lâminas foram montadas em DAKO (1-4, diazabicyclo- [2.2.2] octane) (Sigma®) com glicerol – PBS e analisadas em microscópio Óptico.

As preparações foram examinadas por dois examinadores calibrados, em microscópio óptico Nikon, modelo Optiphot, com luz comum ou polarizada (no caso da coloração pelo vermelho de picosírius) e as fotomicrografias obtidas com o auxílio de câmara Sony Digital Hyper HAD acoplada a Fotoscã da Spectrolab.

## 4 RESULTADOS

Antes de realizar as técnicas específicas para cada tipo de fibra conjuntiva, os cortes foram corados com hematoxilina-eosina, para o estudo morfológico, e para verificar as condições de preservação e de normalidade tecidual, ou seja, ausência de um infiltrado inflamatório intenso (figura 1).

As fibras colágenas foram evidenciadas com os métodos de tricrômico de Gomori (figura 2), tricrômico de Mallory (figura 3) e vermelho de picrossirius (figura 4), a fim de diferenciá-las das fibras do sistema elástico. Foi observada uma grande quantidade destas fibras organizadas em feixes, orientadas em diversos sentidos, dispersas por todo o corte. Na região das papilas do tecido conjuntivo, tais fibras caminham em direção ao tecido epitelial, porém terminam antes de atingirem a membrana basal. As fibras reticulares foram reveladas em tonalidade esverdeada (figura 4), pelo corante vermelho de picrossirius, com auxílio de polarização, localizadas próximas a membrana basal.

Para uma análise mais detalhada da distribuição das fibras do sistema elástico, o tecido conjuntivo gengival foi dividido em três zonas: papilar, subpapilar e profunda (figura 1).

Os métodos de coloração utilizados para a observação das fibras elásticas foram resorcina-fucsina de Weigert com e sem oxidação previa e orcinol-nefucsina. Tais fibras foram encontradas principalmente nas paredes dos vasos sanguíneos (figura 5), e algumas áreas do tecido conjuntivo entre os feixes de fibras colágenas (figura 6), principalmente nas regiões mais profundas e subpapilares, podendo chegar a base de algumas papilas, mas raramente formando parte delas (figura 7). No tecido conjuntivo gengival, as fibras elásticas estão presentes em menor quantidade do que as fibras elásticas e oxitalânicas.

As fibras elásticas são postas em evidência através do método da resorcina-fucsina de Weigert com e sem oxidação previa e diferenciadas das elásticas por não se revelarem com o método de orcinol-neofucsina. Estão localizadas em pequenas quantidades nas regiões profunda e subpapilar do tecido conjuntivo, acompanhando o curso dos feixes de fibras colágenas, e em maior número nas papilas sempre entremeadas com os feixes de fibras colágenas, formando o centro das papilas conjuntivas (figura 8).

As fibras oxitalânicas foram reveladas utilizando o método da resorcina-fucsina de Weigert, sendo oxidadas previamente com a oxona. Desta maneira, foi possível observar a distribuição das fibras oxitalânicas por todo o tecido conjuntivo gengival, principalmente na região papilar, constituindo um sistema de fibras ramificadas, aparentemente contínuo,

formando uma verdadeira trama de fibras (figura 9). Na região próxima a membrana basal as fibras oxitalânicas estão dispostas perpendicularmente ou ligeiramente inclinadas, dando a impressão de penetrarem em tal estrutura (figura 10). Ao se distanciar da região papilar, as fibras oxitalânicas se unem as fibras elaunínicas, na porção subpapilar do tecido conjuntivo.

Além dos métodos histoquímicos usados para análise das fibras do sistema elástico, também foi realizada a técnica de imunohistoquímica utilizando anticorpo anti-fibrilina, onde foi possível observar a presença desta glicoproteína associada as fibras do sistema elástico, dispersas por todo o tecido conjuntivo, principalmente próxima a membrana basal, na região papilar (figuras 11 e 12).

A partir dos resultados obtidos com as técnicas de histoquímica e imunohistoquímica, foi feito um desenho para esquematizar o padrão de distribuição das fibras do sistema elástico em gengivas humanas (figura 13).

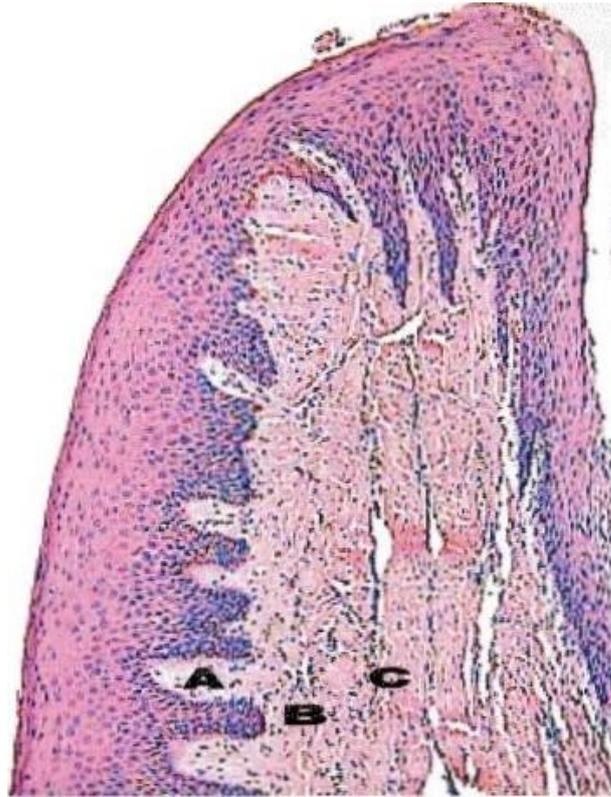


Figura 1: Fotomicrografia de gengiva humana corada com hematoxilina-eosina para verificar as condições de preservação e normalidade tecidual. (Aumento: x 40). Visão topográfica mostrando as diferentes zonas do tecido conjuntivo gengival. A) zona papilar, B) zona Subpapilar e C) zona profunda.

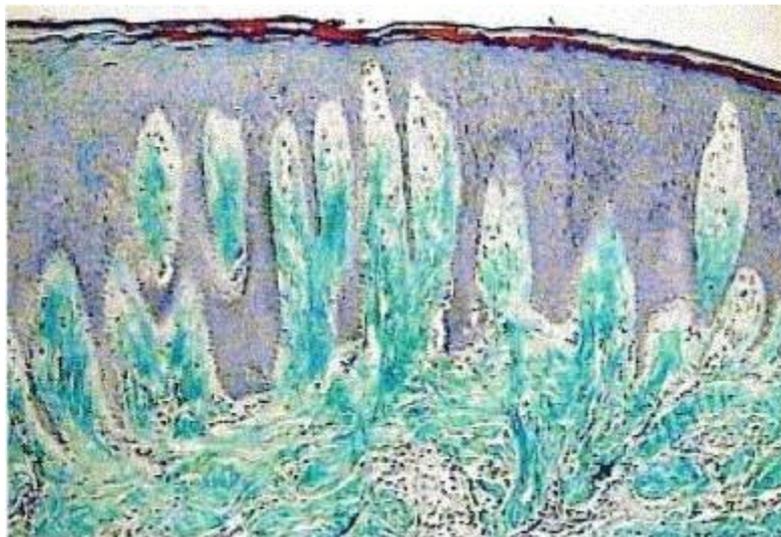


Figura 2: Fotomicrografia de gengiva humana corada por tricrômico de Gomori. Notar os feixes colágenos em verde, direcionando-se para as papilas do tecido conjuntivo, porém sem atingir a membrana basal. (Aumento: x 100)

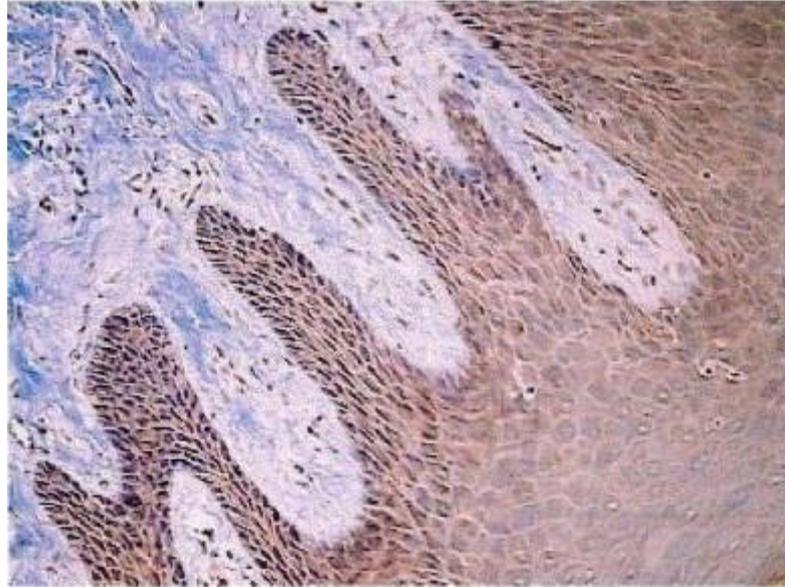


Figura 3: Fotomicrografia de gengiva humana corada por tricrômico de Mallory. os mesmos feixes de fibras colágenas, porém evidenciados em azul. (Aumento: x 200).

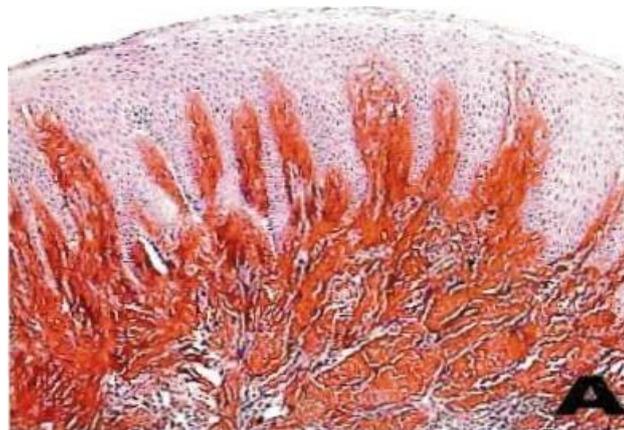


Figura 4: Fotomicrografias de gengiva humana coradas por vermelho de picrosirius. Observar fibras colágenas em Vermelho vivo (A) e, após polarização (B), colágeno tipo I em amarelo ou vermelho e tipo III em verde, próximo à membrana basal (amarelado). (Aumento: x 100)

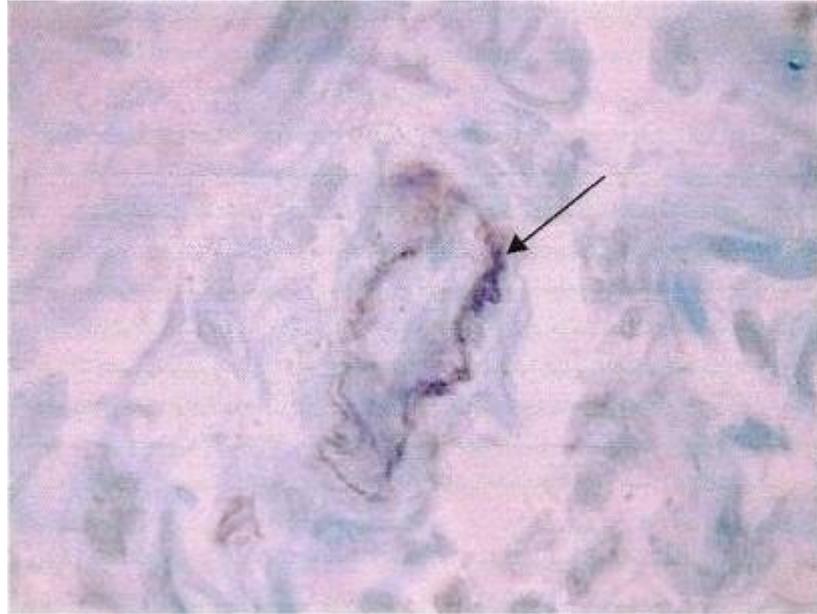


Figura 5: Fotomicrografia de gengiva humana corada com orcinol-neofucsina. Notar um vaso sanguíneo, com fibras elásticas ao seu redor, evidenciadas em roxo (seta), na região profunda do tecido conjuntivo gengival. (Aumento: x 1000)



Figura 6: Fotomicrografia de gengiva humana corada com orcinol-neofucsina. A seta indica uma fibra elástica acompanhando um feixe de fibra colágena, na região profunda do tecido conjuntivo gengival. (Aumento: x 100).



Figure 7: Fotomicrografia de gengiva humana corada com orcinol-neofucsina, notar a ausência de fibras elásticas na papila do tecido conjuntivo. (Aumento: x 400).

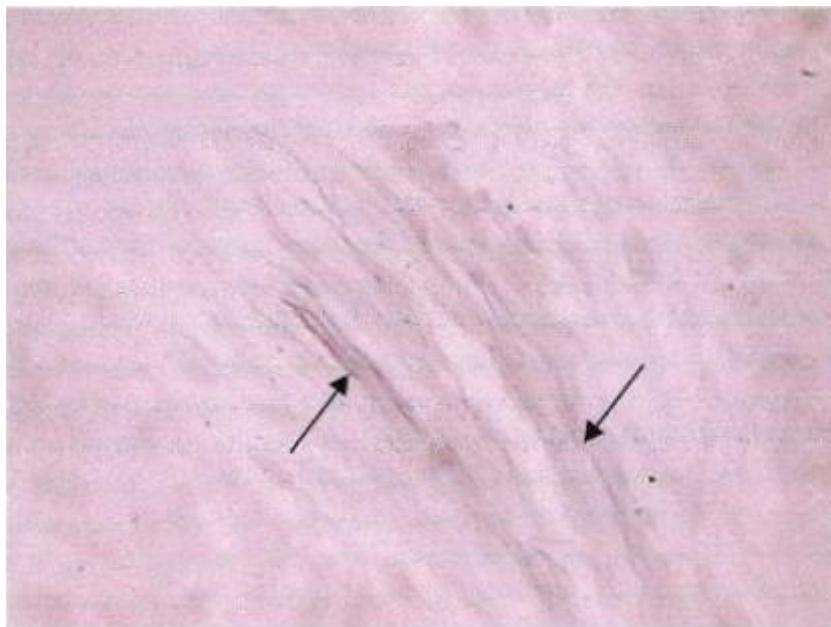


Figura 8: Fotomicrografia de gengiva humana corada com resorsina- fucsina de Weigert sem oxidação prévia. As setas demonstram a presença de fibras elaunínicas formando o centro da papila do tecido conjuntivo gengival. (Aumento: x 400).

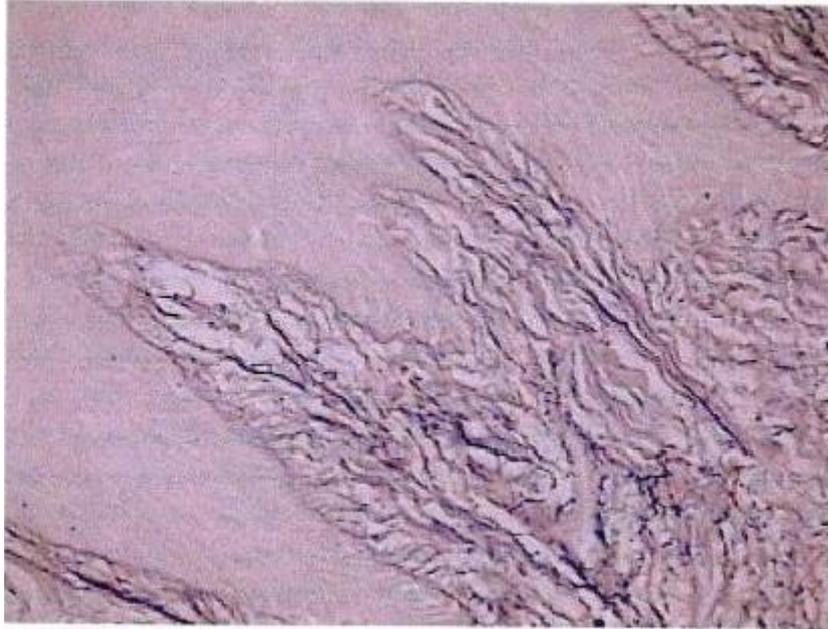


Figura 9: Fotomicrografia de gengiva humana corada com resorsina-fucsina de Weigert com oxidação prévia pela Oxona. Notar o aumento na quantidade de fibras do sistema elástico, evidenciadas em roxo, após oxidação, e a trama que estas fibras formam nas papilas do tecido conjuntivo gengival. (Aumento: x 200).

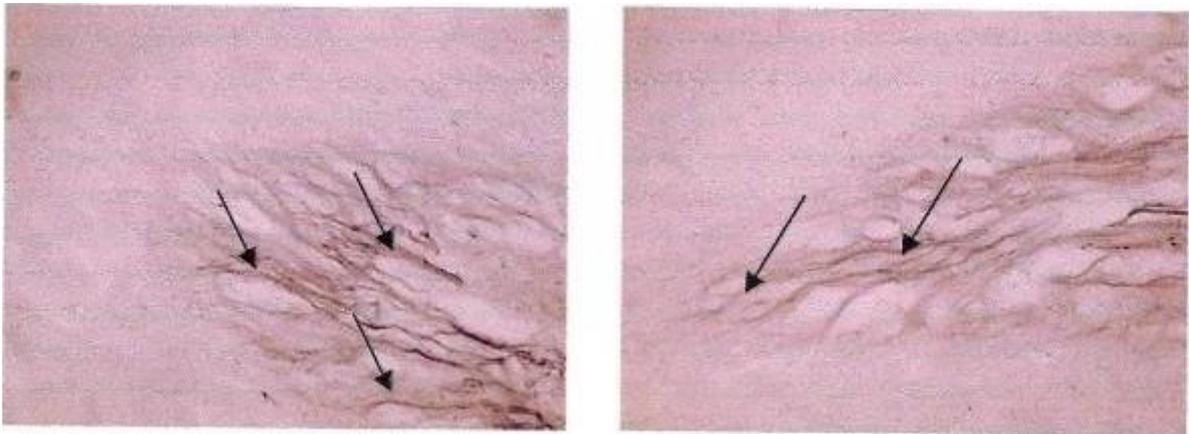


Figura 10: Fotomicrografias de gengiva humana coradas com resorsina-fucsina de Weigert com oxidação prévia pela oxona. As setas indicam as fibras oxitalânicas ramificando-se em direção a membrana basal. (Aumento: x 400).

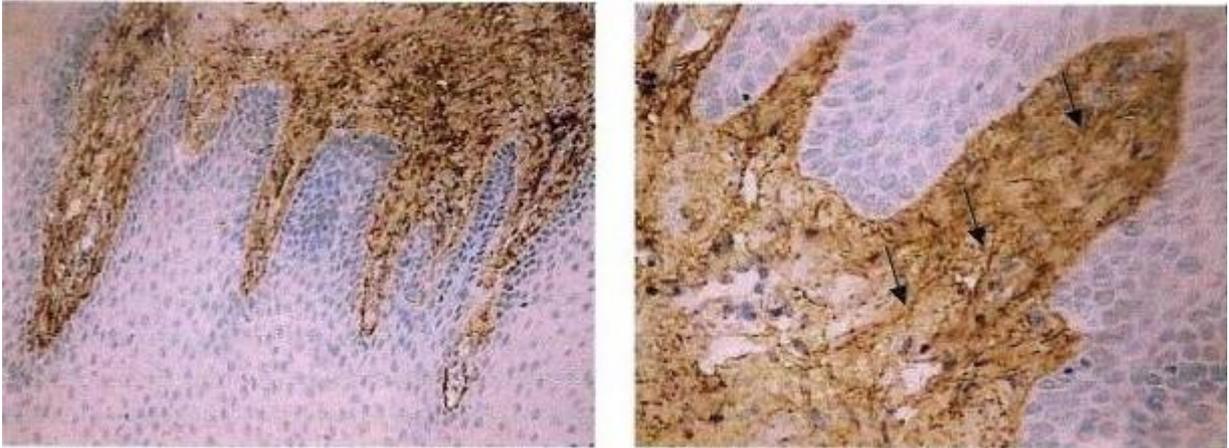


Figura 11: Fotomicrografias de gengiva humana utilizando a técnica de imunohistoquímica, com anticorpo anti-fibrilina. Observar a rede de fibras evidenciadas em marrom escuro (setas), que reagiram positivamente para fibrilina. (Aumento: x 100 e x 200).



Figural 12: Fotomicrografia de gengiva humana utilizando a técnica de imunohistoquímica, com anticorpo anti-fibrilina, em maior aumento (aumento: xl 000). As setas indicam as fibras que reagiram positivamente ao anticorpo anti-fibrilina, direcionando-se para a membrana basal, na região papilar do tecido conjuntivo gengival.

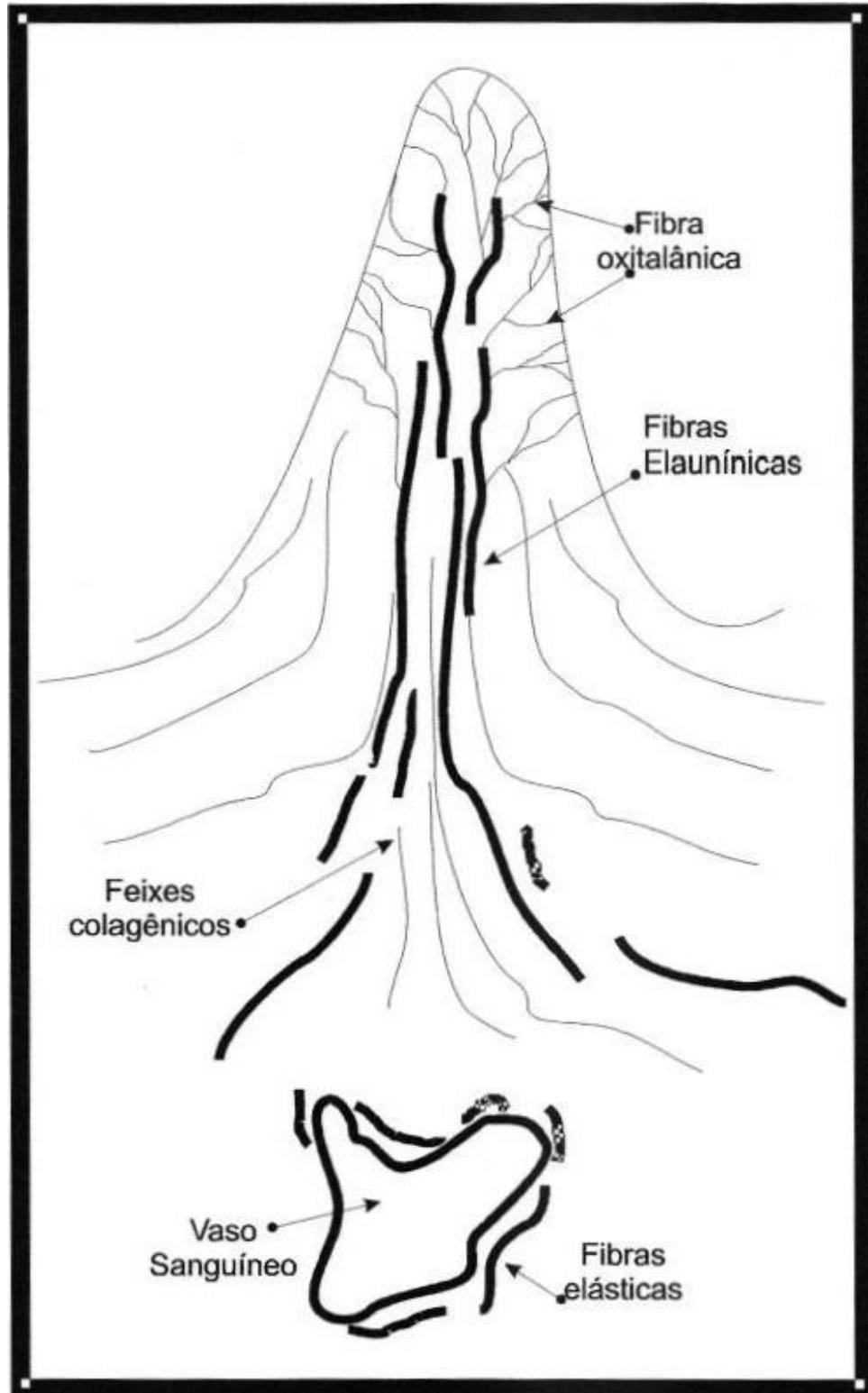


Figura 13: Esquema demonstrando a distribuição das fibras do sistema elástico na gengiva humana.

## 5 DISCUSSÃO

Os resultados do presente estudo confirmaram que os componentes fibrosos do sistema elástico são constituintes normais do tecido conjuntivo das gengivas humanas. A presença e distribuição das fibras do sistema elástico em gengivas humanas tem sido investigada por diferentes autores <sup>5, 7, 27, 41</sup>, entretanto, este assunto ainda permanecia controverso e obscuro. Dai o objetivo fundamental do presente estudo ter sido realizar diferentes recursos para a revelação das fibras do sistema elástico na gengiva humana.

Quando coradas as fibras elásticas podem ser vistas na maioria das regiões da mucosa oral, mas elas são encontradas em maior quantidade na mucosa de revestimento flexível <sup>27, 28, 32, 42</sup>, onde elas possuem a função de restaurar a forma tecidual após compressão ou extensão. Ao contrário das fibras colágenas, as fibras elásticas ramificam-se e se anastomosam, correndo separadamente e não em feixes <sup>42</sup>. As fibras elásticas puderam ser observadas no presente estudo utilizando o método de coloração de Weigert com e sem oxidação previa e orcinol-neofucsina. Tais fibras foram localizadas nas paredes dos vasos sanguíneos e em pequenas quantidades, com ocorrência irregular, por todo o tecido conjuntivo gengival, concordando, desta maneira, com alguns trabalhos <sup>5, 21, 27</sup>.

As fibras elásticas e elaunínicas são coradas de modo semelhante pelo método da resorcina-fucsina de Weigert, no entanto, para diferenciá-las, foi empregado o método de coloração orcinol-neofucsina, o qual somente revela as fibras elásticas. Desta maneira, foi possível observar que também as fibras elaunínicas como as fibras elásticas são escassas na lâmina própria gengival. Na verdade, fibras elásticas são encontradas ao redor dos vãos sanguíneos mais calibrosos, em parte de sua lâmina elástica interna ou fibras elásticas da media. As fibras elaunínicas, por sua vez, puderam ser observadas acompanhando os feixes colagênicos, inclusive no interior das papilas, o que corrobora os achados de diversos autores <sup>5, 7, 21, 27, 32, 41</sup>. Alguns autores exageraram quando afirmaram ser a quantidade de fibras elaunínicas gengivais semelhantes as da derme papilar <sup>12, 34</sup>, visto que na verdade elas são escassas nas papilas gengivais e no restante da lâmina própria.

Ao contrário das fibras elásticas, as fibras oxitalânicas foram encontradas em maiores quantidades, principalmente próximas à membrana basal, nas papilas do tecido conjuntivo, formando uma delicada malha. Estas fibras foram evidenciadas através do método de Weigert com oxidação previa, bem como com o uso de técnica imunohistoquímica, utilizando anticorpos anti-fibrilina. Este padrão de distribuição está de acordo com alguns estudos em

humanos <sup>5, 7, 21, 27, 32, 41</sup> e animais <sup>40</sup>, porém discorda de Tem Cate <sup>42</sup>, que afirma que as fibras oxitalânicas não são encontradas na mucosa oral.

Embora a gengiva possua uma matriz extracelular com componentes equivalentes aos da pele, poucas tentativas foram feitas para descrever a sua distribuição das fibras do sistema elástico, como foi feita na pele <sup>8,9,10,11</sup>. Os estudos realizados em pele humana revelaram a presença das três fibras do sistema elástico, distribuídas da seguinte maneira: as fibras oxitalânicas estão dispostas abundantemente, em formato de pincel, e perpendicular à junção dermo-epidérmica, na região papilar; as fibras elaunínicas formam um plexo, abaixo das fibras oxitalânicas, paralelo a junção dermo-epidérmica; e as fibras elásticas estão presentes na porção mais superficial da derme reticular em direção longitudinal. Apesar de alguns autores <sup>12, 34</sup> relatarem a mesma organização estrutural e distribuição das fibras do sistema elástico entre estes dois tecidos, este estudo demonstrou um padrão distinto de distribuição destas fibras na gengiva humana, concordando com o trabalho de Caimi e colaboradores <sup>5</sup>.

A distribuição das fibras em relação a idade foi estudada por Gogly e cols. <sup>21</sup>, tanto na pele como na gengiva, onde observaram que a espessura das fibras elásticas aumentou em ambos tecidos, enquanto o diâmetro das fibras oxitalânicas permaneceu constante. Já o comprimento das fibras elásticas e oxitalânicas diminuiu significativamente com o aumento da idade. Como o objetivo do presente estudo é somente realizar um mapeamento da participação das fibras do sistema elástico na inserção epitelial de fibras gengivais humanas, a diferença de idade dos doadores não iria influenciar os resultados desta pesquisa.

Com relação às condições teciduais, estudos comparativos entre gengivas saudáveis e com doença periodontal <sup>5, 40, 41</sup> demonstraram que as fibras elásticas estavam ausentes nos tecidos com intenso infiltrado inflamatório, porém após oxidação observou-se a persistência das fibras oxitalânicas entre as células inflamatórias. Desta forma, optou-se por realizar um estudo sobre a participação do sistema elástico em gengivas humanas saudáveis, para analisar uma condição de normalidade deste tecido.

As fibras elásticas são compostas de um manto externo de microfibrilas e um centro de material amorfo, a elastina. As microfibrilas são estruturas longas e delgadas com diâmetro variando de 10 a 15 nm, dependendo do tipo de tecido e idade do organismo. A partir do estudo de Sakai e cols. <sup>36</sup>, foi demonstrada ao microscópio eletrônico a presença de um glicoproteína, denominada fibrilina, nos elementos estruturais fibrosos descritos como microfibrilas. As microfibrilas contendo fibrilina são amplamente distribuídas por todo o corpo, tanto em associação com a elastina, como em feixes livres desta proteína <sup>37, 46</sup>, no entanto, nenhum estudo foi realizado até o momento para descrever o padrão de distribuição

da fibrilina em gengivas humanas. No presente estudo, pode-se constatar a presença de redes de fibras que apresentaram uma reação de positividade para fibrilina no tecido conjuntivo gengival, localizadas em maior concentração nas papilas próximas as membranas basais. Tal rede constitui-se de fibras oxitalânicas e elaunínicas.

Em relação à produção de fibrilina por fibroblastos gengivais, dois trabalhos <sup>43, 44</sup> demonstraram que estas células são capazes de expressar fibrilina e tropoelastina, enquanto os fibroblastos do ligamento periodontal somente expressam fibrilina, e em pequena quantidade. Desta maneira, os autores tentaram explicar a presença dos três tipos de fibras do sistema elástico nas gengivas e somente a presença de fibras oxitalânicas no ligamento periodontal. No entanto, a produção de fibrilina pelos queratinócitos do tecido epitelial gengival ainda não foi estudada, como em outros tecidos <sup>12</sup>. Tal observação poderia explicar a inserção das microfibrilas na membrana basal observada em alguns trabalhos <sup>5, 40, 41</sup>, onde a fibrilina produzida pelos queratinócitos funcionaria como um agente de união entre as microfibrilas e a membrana basal.

Como já foi sugerido <sup>8</sup>, as fibras oxitalânicas e as fibras elásticas podem representar duas fases no desenvolvimento das fibras elásticas, onde o processo elastogénico teria origem nas fibras oxitalânicas e o seu final na fibras elástica. Contudo, assim como na pele humana <sup>11</sup>, os dois tipos de fibras estão presentes no tecido conjuntivo gengival, e em locais distintos. Portanto é possível que haja também na gengiva algum fator limitante do desenvolvimento das fibras elásticas, provavelmente ao nível da membrana basal, determinando que feixes de microfibrilas são adquiram elastina e permaneçam como fibras oxitalânicas.

A elastogênese ocorre a partir da deposição de tropoelastina em uma base de microfibrilas de fibrilina <sup>24</sup>. Já que as microfibrilas surgem antes da deposição de tropoelastina, acredita-se que a fibrilina possa guiar o processo elastogénico <sup>46</sup>. Dois tipos de fibrilinas são conhecidos como principais componentes das microfibrilas em diversos tecidos conjuntivos <sup>36, 43, 44, 45, 46</sup>. As fibrilinas 1 e 2 possuem padrões de expressão distintos, porem sobrepostos <sup>46</sup>. Foi observado que a fibrilina-2 é primeiramente produzida durante elastogênese e pode ser particularmente importante na formação inicial da fibra elástica <sup>24</sup>. No entanto, diversas proteínas associadas às microfibrilas, incluindo a fibronectina, colágenos tipos VI e VIII, trombospondina, emilina e glicoproteínas associadas às microfibrilas (MAGP) <sup>14</sup>, tem sido identificadas imunohistoquimicamente, mas pouco é conhecido sobre se elas são componentes essenciais das microfibrilas e como podem influenciar a função e

formação das fibras elásticas <sup>24</sup>. Mais estudos são necessários para esclarecer as funções específicas de certas proteínas na regulação do processo elastogênico.

A arquitetura da fibra elástica madura é intrigante e altamente específica para cada tipo de tecido, refletindo funções específicas em diferentes tecidos. As propriedades elásticas das fibras elásticas são baseadas na proteína elastina <sup>34</sup>, portanto as fibras oxitalânicas, que são desprovidas desta proteína, são presumivelmente destinadas a fornecer sustentação mecânica <sup>11</sup>. Apesar das funções das fibras oxitalânicas não serem conhecidas, foi sugerido por Fullmer e cols. <sup>19</sup> que sua distribuição está restrita às áreas de estresse mecânico. Outros autores <sup>39, 40</sup> citaram que estas fibras proporcionariam resistência adicional, poderiam prevenir a obliteração vascular, ou até contribuir para a recidiva após tratamento ortodôntico. No presente trabalho, a presença de tais fibras foi observada principalmente na junção epitélio-conjuntivo, próximo a membrana basal, o que também pode ajudar a estabilizar e manter a integridade da inserção epitelial <sup>40,41</sup>, funcionando como um mecanismo de encaixe entre estes dois tecidos.

A grande concentração das fibras oxitalânicas próximas a membrana basal foi principalmente observada nas papilas do tecido conjuntivo, que são estruturas encontradas somente no epitélio oral e sulcular. Tendo em vista que este tecido está sujeito a uma variedade de estímulos físicos externos, como por exemplo, as forças mastigatórias e o trauma durante a escovação, nos faz crer que as fibras oxitalânicas são realmente responsáveis pela resistência tecidual ao estresse mecânico.

## CONCLUSÃO

Pela metodologia aplicada e pelos resultados obtidos, torna-se possível apresentar as seguintes conclusões:

1. Os três tipos de fibras do sistema elástico, ou seja, oxitalânica, elaunínica e elástica, são constituintes normais da matriz extracelular do tecido conjuntivo da gengiva humana.
2. As fibras oxitalanicas são encontradas principalmente nas papilas do tecido conjuntivo gengival, formando uma trama em direção à membrana basal.
3. As fibras elaunínicas acompanham o percurso dos feixes de fibras colágenas, nas regiões papilar e subpapilar, constituindo o centro da papila do tecido conjuntivo gengival.
4. As fibras elásticas foram observadas em associação com os vasos sanguíneos e dispersas na região profunda do tecido conjuntivo gengival.

## REFERÊNCIAS

1. AINAMO, J.; BAY, I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. **Int Dent J**, v. 25, p. 229-35, 1975.
2. BANCROFT, J. D.; STEVENS, A. **Theory and Practice of Histological Techniques**. 43 ed. New York: Churchill Livingstone, 1996.
3. BARTOLD, P. M.; WALSH, L. J.; NARAYANAN, A. S. Molecular and cell biology of the gingiva. **Periodontology 2000**, v. 24, p. 28-55, 2000.
4. BOURKE, K. A.; HAASE, H.; LI, H.; DALEY, T.; BARTOLD, P. M. Distribution and synthesis of elastin in porcine gingiva and alveolar mucosa. **J Periodont Res**, v. 35, p. 3618, 2000.
5. CAIMI, M.; DUARTE, G.; VICENTE, I.; PEDEMONTE, R. Sistema elastico en encias humanas com Salud y enfermedad paradencial. **An Fac Odont**, v. 25, p. 21-48, 1989.
6. CARMICHAEL, G. G.; FULLMER, M. The fine structure of the oxytalan fiber. **J Cell Biol** v. 28, p.33-6, 1966.
7. CHAVRIER, C.; HARTMANN, D. J.; COUBLE, M. L.; HERBAGE, D. Distribution and organization of the elastic system fibres in healthy human gingiva. **Histochem**, v. 89, p. 47-52, 1988.
8. COTTA-PEREIRA, G.; GUERRA-RODRIGO, F.; BITTENCOURT-SAMPAIO, S. Oxytalan, elastin, and elastic fibers in the human skin. **J Invest Dermatol**, v. 66, p. 1438, 1976.
9. COTTA-PEREIRA, G.; GUERRA-RODRIGO, F.; DAVID-FERREIRA, J. F. The elastic system fibers. **Arch Exp Méd Biol**, V. 79, p. 19-29, 1977.
10. COTTA-PEREIRA, G. GUERRA-RODRIGO, F.; DAVID-FERREIRA, J. F. Comparative study between the elastic system fibers in human thin and thick skin. **Biol Cell**, v. 31, p. 297-302, 1978.
11. COTTA-PEREIRA, G. **Contribuição ao estudo das fibras do sistema elástico**. 1984. 415 p. Tese (Professor titular do Departamento de Histologia e Embriologia) — Instituto de Ciências Biomédicas, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro.
12. DZAMBA, B. J.; KEENE, D. R.; ISOGAI, Z.; CHARBONNEAU, N. L.; KARAMANJURUKOVSKA, N.; SIMON, M.; SAKAI, L. Y. Assembly of epithelial cell fibrillins. **J Invest Dermatol**, 117, 1612-24, 2001.
13. EDWARDS, J. G. A study of the periodontium during orthodontic rotation of teeth. **Am J Orthodon**, v. 54, p.441-61, 1968.

14. EVERTS, V.; NIEHOF, A; JANSEN, D.; BEERTSEN, W. VI collagen is associated with microfibrils and oxytalan fibers in the extracellular matrix of periodontium, mesenterium and periosteum. **J Periodont Res**, v. 33, p.118-25, 1998.
15. FULLMER, H. M. Observations on the development of oxytalan fibers in the periodontium of man. **J Dent Res**, v. 38, p. 510-18, 1959.
16. FULLMER, H. M. A histochemical study of periodontal disease in the maxillary alveolar processes of 135 autopsies. **J Periodontol**, v. 32, p. 206-18, 1961.
17. FULLMER, H. M. A critique of normal connective tissue of the periodontium and Some alterations with periodontal disease. **J Dent Res**, v. 41, p. 223-9, 1962.
18. FULLMER, H. M.; LILLIE, R. D. The oxytalan fiber: A previously underscribed connective tissue fiber. **J Histochem Cytochem**, v. 6, p. 425-30, 1958.
19. FULLMER, H. M.; SHEETZ, J. H.; NARKATES, A. J. Oxytalan connective tissue fibers: a review. **J Oral Pathol**, v. 3, p. 291-316, 1974.
20. GAWLIK, Z. Morphological and morphochemical properties of the elastic system in the motor organ of man. **Folia Histochem Cytochem**, v. 3, p.233-51, 1965.
21. GOGLY, B.; GODEAU, G.; GILBERT, S.; LEGRAND, J. M.; KUT, C.; PELLAT, B.; GOLDBERG, M. Morphometric analysis of collagen and elastic fibers in normal skin and gingiva in relation to age. **Clin Oral Invest**, v. 1, p. 147-52, 1997.
22. HASS, G. M. Elastic tissue. **Arch Pathol**, v. 27, p. 334, 1939.
23. INOUÉ, S.; LEBLOND, C. P. The microfibrils of connective tissue: I. ultrastructure. **Am J Anat**, v. 176, p. 121-38, 1986.
24. KIELTY, C. M.; SHERRATT, M. J.; SHUTTLEWORTH, C. A, Elastic fibres. **J cell Science**, v. 115, p. 2817-28, 2002.
25. LILLIE, R. D; FULLMER, H. M. **Histopathologic technic and practical histochemistry**. 4 a ed. New York: MC Graw-Hill Book, 1976.
26. LINDHE, J. **Tratado de Periodontia clínica e Implantologia Oral**. Y ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 1999.
27. LOPEZ, A; DOONER, J. J.; PORTER, K. Histologic study of elastin-like fibers in the attached gingiva. **J Periodontol**, 47, 444-9, 1976.
28. MACHADO, W. A. S. **Estudo histoquímico e ultra-estrutural do sistema elástico da gengiva humana**. 1986.40 p. Dissertação (Mestrado em Periodontia) — Faculdade de Odontologia, Universidade do Estado do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro. Orientador: Prof. Dr. Gerson Cotta-Perira.
29. MACHADO, W. A. S. **Periodontia Clínica**. Rio de Janeiro: Medsi, 2003.

30. MACHADO, W. A. S.; CANABARRO, A. C.; MACHADO, R. C.; COTTA-PEREIRA, G. **Estudo histoquímico de fibras oxitalânicas no ligamento periodontal de ratos normais e submetidos a forças mecânicas excessivas.** Rev. Bras. Odontol., v. 60, p. 11214, 2003.
31. MONTES, G. S. Structural biology of the fibres of the collagenous and elastic systems. **Cell Biol Int**, v. 20, p. 15-27, 1996.
32. PORTER, K; DOONER, J. 1; LOPEZ, A. Further study of elastic fibers in human attached gingiva. **J Periodontol**, v.48, p.711-4, 1977.
33. RAMFJORD, S. P.; ASH, M. M. Jr. **Periodontologia e Periodontia, Teoria e prática Moderna.** São Paulo: Livraria Santos Editora, 1991
34. ROSS, R.; BORNSTEIN, p. The elastic fiber. I. The separation and partial characterization of its macromolecular component. **J Cell Biol**, v. 40, p. 366-81, 1969.
35. ROSS, M. H.; ROWELL, L.J. **Histologia: Texto e Atlas.** 2a ed. São Paulo: Panamericana, 1993.
36. SAKAI, L Y.; KEENE, D. R.; ENGVALL, E. Fibrillin, a new 350 kD glycoprotein, is a component of extracellular microfibrils. **J Cell Biol**, v. 103, p. 2499-2509, 1986.
37. SAKAI, L. Y.; KEENE, D. R.; GLANVILLE, R. W.; BACHINGER, H. P. Purification and partial characterization of fibrillin, a cysteine-rich structural component of connective microfibrils. **J Biol Chem**, v. 266, p. 14763-770, 1991.
38. SCHLUGER, S.; YUODELIS, R. A. **Periodontal Diseases.** 3a ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1990.
39. SIMS, M. R. Oxytalan fiber system of molars in the Inouse mandible. **J. Dent Res**, v. 52, p.797-802, 1973.
40. SOAMES, J. V.; DAVIES, R. M. Elastic and oxytalan fibres in normal and inflamed dog gingivae. **J Periodontal Res**, v, IO, p. 309-14, 1975.
41. TAKARADA, H.; CATTONI, M.; ROSE, G. G. Ultrastructural studies of human gingiva V. microfibrils of elastic nature and their direct penetration of the basal lamina in chronic periodontitis. **J Periodontal**, 46, 294-301, 1975.
42. TEN CATE, A. R. **Oral Development, Structure, and Function.** 4 ed. St. Louis: Mosby, 1994.
43. TSURUGA, E.; IRIE, YAJIMA, T. Gene expression and accumulation of fibrillin-1, fibrillin-2, and tropoelastin in cultured periodontal fibroblasts. **J Dent Res**, v. 81, p. 771-5, 2002.
44. TSURUGA, E.; IRIE, K.; SAKAKURA, Y.; YAJIMA, T. Expression of fibrillins and tropoelastin by human gingival and periodontal ligament fibroblast in vitro. **J Periodontal Res**, v. 37, p. 23-8, 2002.

45. ZHANG, H.; APFELROTH, S. D; W, W.; DAVIS, E. C.; SANGUINETI, C.; BONADIO, J.; MECHAM, R. P.; RAMIREZ, F. Structure and expression of fibrillin-2, a novel microfibrillar component preferentially located in elastic matrices. **J Cell Biol**, v.124, p. 855-63, 1994.
46. ZHANG, H.; HU, W.; RAMIREZ, F. Developmental expression of fibrillin genes suggests heterogeneity of extracellular microfibrils. **J Cell Biol**, v. 129, p. 1165-76, 1995.