

Estudo sobre as fibras do sistema elástico na gengiva humana

Study of elastic system fibers in human gingiva

Renata Castanheira MACHADO¹
 Eduardo Muniz Barreto TINOCO²
 Walter Augusto Soares MACHADO¹
 Gerson COTTA-PEREIRA³

RESUMO

Objetivo: Realizar um mapeamento da participação das fibras do sistema elástico na gengiva humana.

Métodos: Para a realização desse estudo, fragmentos de gengiva humana foram analisados pelos métodos de histoquímica e imuno-histoquímica, retirados após cirurgia periodontal, com finalidade protética, de dez indivíduos entre 18 e 60 anos de idade, para avaliar a participação do sistema de fibras elásticas neste tecido.

Resultados: Os resultados demonstraram a presença dos três tipos de fibras do sistema elástico, ou seja, fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas, distribuídas da seguinte maneira: a) as fibras oxitalânicas formam uma rede de fibras delgadas, localizadas próximas à membrana basal, ao nível das papilas do tecido conjuntivo; b) as fibras elaunínicas encontram-se em íntimo contato com as fibras oxitalânicas, nas regiões papilar e subpapilar, seguindo os feixes de fibras colágenas; c) as fibras elásticas foram observadas em pequena quantidade, dispersas pelo tecido conjuntivo mais profundo e ao redor dos vasos sanguíneos.

Conclusão: 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.

Termos de indexação: gengiva; membrana basal; tecido conjuntivo.

ABSTRACT

Objective: To map the participation of the elastic system fibers of human gingiva.

Methods: To conduct this study, fragments of human gingiva from ten individuals aged between 18 and 60 years, removed after periodontal surgery for prosthetic purposes, were analyzed by the histochemical and immuno-histochemical methods, to evaluate the participation of the elastic system fibers in this tissue.

Results: The results demonstrated the presence of three type of elastic system fibers, that is to say, oxitalan, elaunin and elastic fibers, distributed as follows: 1) the oxitalan fibers form a network of thin fibers, located close to the basal membrane, at the level of the conjunctive tissue papillae; 2) elaunin fibers are found in close contact with the oxitalan fibers in the papillary and submaxillary regions, following the collagen fiber bundles; 3) a small quantity of elastic fibers were observed, dispersed throughout the deeper conjunctive tissue and around the blood vessels.

Conclusion: The three types of elastic system fibers, that is, oxitalan, elaunin and elastic fibers are normal constituents of the extracellular matrix of human gingiva conjunctive tissue.

Indexing terms: gingival; basement membrane; connective tissue.

INTRODUÇÃO

As fibras do tecido conjuntivo gengival compreendem, não somente as colágenas, mas também as reticulares, as elásticas, as oxitalânicas e as elaunínicas. As fibras elásticas maduras são compostas de um manto externo de microfibrilas e um centro de material amorfo, a elastina. Como o nome indica, estas fibras têm propriedades elásticas e apenas estão presentes no tecido conjuntivo

gengival, em associação com os vasos sanguíneos. As fibras oxitalânicas são compostas por microfibrilas idênticas às das fibras elásticas sem, no entanto, possuírem material amorfo central que contenha elastina. Estas estão presentes na gengiva e no ligamento periodontal¹. Outro tipo de fibra é a elaunínica, que também é formada por microfibrilas e uma quantidade de elastina menor do que a encontrada nas fibras elásticas maduras. Por possuírem propriedades morfológicas e morfoquímicas semelhantes, foi sugerido que as fibras oxitalânicas, elaunínicas e elásticas poderiam ser parte de

¹ Universidade Veiga de Almeida, Faculdade de Odontologia. Rua Afonso Pena, 97, sala 204, Tijuca, 20270-244, Rio de Janeiro, RJ, Brasil. Correspondência para / Correspondence to: RC MACHADO (recastanheira@yahoo.com.br).

² Universidade Estadual do Rio de Janeiro, Faculdade de Odontologia. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

³ Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro, Departamento de Imunoquímica e Histoquímica. Rio de Janeiro, RJ, Brasil.

uma seqüência durante o processo elastogênico². Este conjunto de fibras foi denominado de sistema elástico, no qual as pequenas diferenças nas propriedades de cada um dos elementos resultariam de sua adaptação a diferentes fatores ambientais, bem como diferentes funções a desempenhar.

Soames & Davies³ analisaram as fibras elásticas e oxitalânicas, em gengivas normais e inflamadas de cães, e descreveram a presença das fibras oxitalânicas abaixo do epitélio oral, próximo à junção do tecido epitelial com o conjuntivo, formando um plexo fino, que se estende em direção à 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. Nas áreas de infiltrado inflamatório as fibras elásticas estavam ausentes, 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 este plexo de fibras 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, Takarada et al.⁴ 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, próximo à lamina 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 como estabilizador físico e integrador entre os tecidos epitelial e conjuntivo.

Cotta-Pereira et al.⁵ analisaram o sistema elástico em pele humana ao microscópio óptico e eletrônico, observando a presença de três tipos diferentes de fibras. As fibras superficiais, com características de oxitalânicas, prendiam-se à lâmina basal por uma de suas extremidades, possuíam uma trajetória perpendicular à junção dermoepidérmica e, na outra extremidade, misturavam-se às fibras de um plexo, com características tintoriais de fibras elásticas. Deste 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.

Machado⁶ 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, foram observadas 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.

Chavier et al.⁷ estudaram a distribuição e organização do sistema de fibras elásticas em gengivas humanas saudáveis. Para tal, foi utilizado um anticorpo antielastina humano, 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 elásticas. 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 et al.⁸ utilizaram diversas técnicas histoquímicas. As fibras elásticas foram localizadas nas paredes dos vasos 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 elásticas 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, paralelo ao eixo longitudinal das papilas do tecido conjuntivo. As fibras oxitalânicas formavam um sistema contínuo de fibras finas ramificadas, entremeadas em uma delicada malha, dispondo-se junto às fibras elásticas, ao acompanhar os feixes de fibras colágenas. Ao se aproximarem da membrana basal, estão dispostas de diferentes maneiras: abrindo-se em leques, em pequenos feixes de fibras paralelas, ou em forma ondulada.

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 e definir a hierarquia temporal e o repertório de interações moleculares na sua composição. Este conjunto de fibras tem sido estudado em diversas regiões do corpo humano, como nos vasos sanguíneos, pulmão, ligamentos e pele. Entretanto, pouco se sabe sobre a sua distribuição e composição no periodonto.

Portanto, o objetivo desse estudo é 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.

MÉTODOS

Fragmentos de gengiva humana, clinicamente normal, foram obtidos de dez voluntários, com idade entre 18 e 60 anos, que necessitavam de cirurgia periodontal pré-protética. Tais pacientes foram submetidos a um criterioso processo de seleção, constituído por uma anamnese inicial, na qual 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 ≤ 3 mm, realizada em seis 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. Antes do início do estudo, foi concedida a aprovação do Comitê de Ética da Universidade do Estado do Rio de Janeiro (733-CEP/HUPE). Tais fragmentos, considerados material de descarte durante o procedimento cirúrgico e, portanto, sem utilidade para os pacientes, foram colhidos, com consentimento livre e esclarecido dos mesmos.

A cirurgia periodontal somente foi realizada após seguir o protocolo descrito acima. A gengiva deveria apresentar características clínicas de normalidade tecidual, caracterizada pelo índice gengival e de placa de Ainamo & Bay⁹. A área selecionada para o estudo foi a região de gengiva livre vestibular. Com o auxílio de um cabo de bisturi e lâmina n° 15c, 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 três a cinco dias.

Após a fixação, os fragmentos de gengiva foram lavados em solução salina por cinco minutos, desidratados em concentrações crescentes de etanol, 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. Os blocos de parafina assim obtidos foram seccionados em micrótomo de parafina da American Optical, modelo Spencer 820 (American Optical, Minnesota, EUA), obtendo-se cortes de 5 μ m de espessura.

Para estudo morfológico, um conjunto desses cortes foi corado pela técnica da hematoxilina-eosina. 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 prévia pela oxona. Para os estudos imuno-histoquímicos foi utilizado um anticorpo monoclonal anti-fibrilina-1 de rato 1:100 (Neomarkers[®], Califórnia, EUA).

As preparações foram examinadas por dois examinadores calibrados, em microscópio óptico modelo Optiphot (Nikon Inc., Tóquio, Japão) e as fotomicrografias foram obtidas com o auxílio de câmera Digital Hyper HAD (Sony, Tóquio, Japão) acoplada a Fotoscan da Spectrolab.

RESULTADO

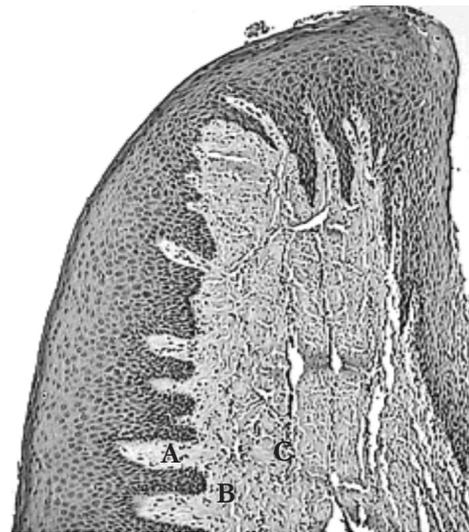


Figura 1. Fotomicrografia de gengiva humana corada com hematoxilina-eosina para verificar as condições de preservação e normalidade tecidual. (Aumento: x 40). Visão topográfica, mostrando as diferentes zonas do tecido conjuntivo gengival. A) zona papilar, B) zona subpapilar e C) zona profunda.

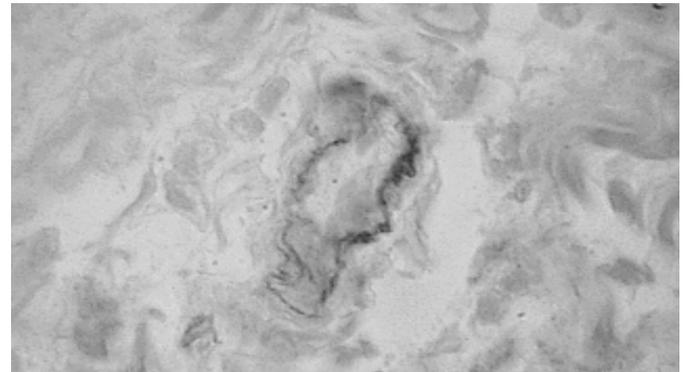


Figura 2. Fotomicrografia de gengiva humana corada com orcinol-neofucsina. Notar um vaso sanguíneo, com fibras elásticas ao seu redor, evidenciadas em uma tonalidade mais escura, na região profunda do tecido conjuntivo gengival. (Aumento: x1000)

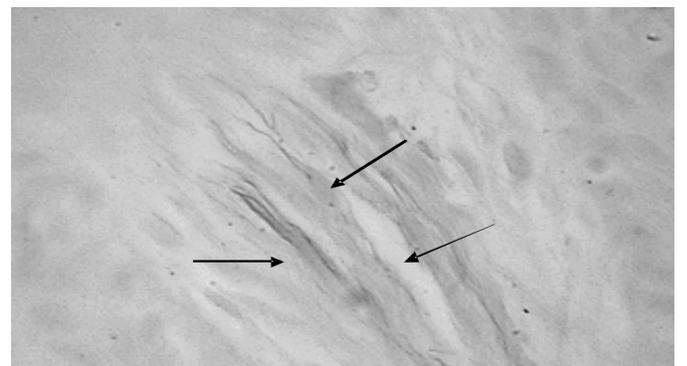


Figura 3. Fotomicrografia de gengiva humana corada com resorcina-fucsina de Weigert, sem oxidação prévia. As setas demonstram a presença de fibras elaunínicas formando o centro da papila do tecido conjuntivo gengival (Aumento: x 400).

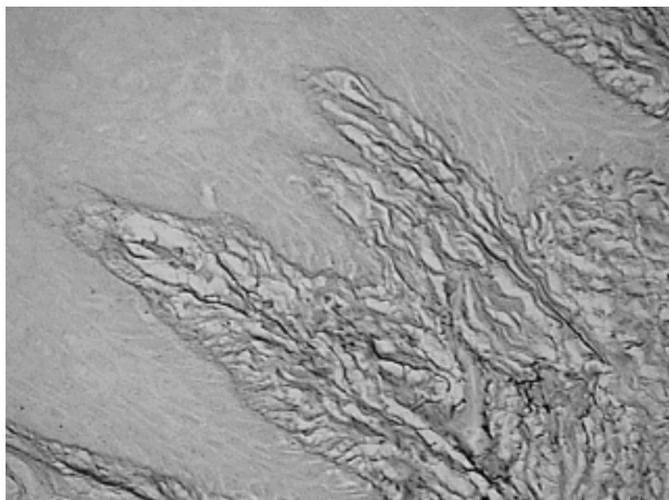


Figura 4. Fotomicrografia de gengiva humana corada com resorsina-fucsina de Weigert, com oxidação prévia pela oxona. Notar o aumento na quantidade de fibras do sistema elástico, após oxidação, e a trama que estas fibras formam nas papilas do tecido conjuntivo gengival. (Aumento: x200)

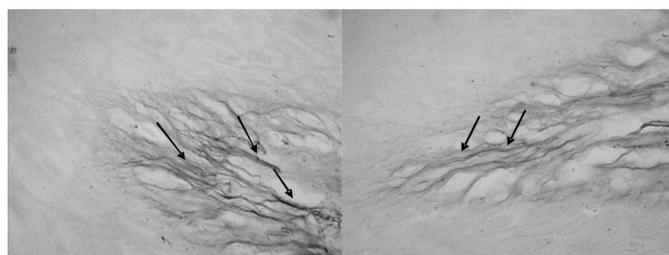


Figura 5. Fotomicrografias de gengiva humana corada com resorsina-fucsina de Weigert, com oxidação prévia pela oxona. As setas indicam as fibras oxitalânicas ramificando-se em direção à membrana basal (Aumento: x 400).

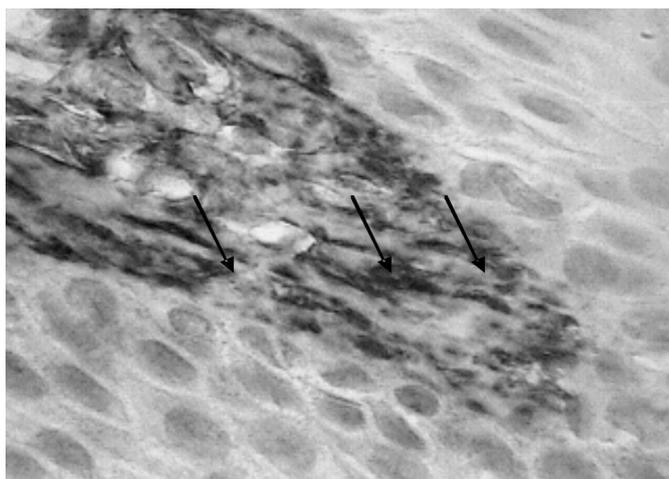


Figura 6. Fotomicrografia de gengiva humana utilizando a técnica de imuno-histoquímica, com anticorpo anti-fibrilina, em maior aumento (aumento: x1000). As setas indicam as fibras que reagiram positivamente ao anticorpo anti-fibrilina, direcionando-se para a membrana basal, na região papilar do tecido conjuntivo gengival.

DISCUSSÃO

Os resultados desse 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, têm sido investigadas por Takarada et al.⁴, Caimi et al.⁸ e Chavrier et al.⁷, entretanto, este assunto ainda permanecia controverso e obscuro. Daí o objetivo fundamental desse 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^{6,10}, 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. As fibras elásticas puderam ser observadas nesse estudo utilizando o método de coloração de Weigert, com e sem oxidação prévia 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^{8,10-11}.

As fibras elásticas e elaunínicas são coradas de modo semelhante, pelo método da resorcin-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 vasos sanguíneos mais calibrosos, em parte de sua lâmina elástica interna ou fibras elásticas da média. As fibras elaunínicas, por sua vez, puderam ser observadas acompanhando os feixes colagênicos, inclusive no interior das papilas, o que corrobora os achados de Takarada et al.⁴, Chavrier et al.⁷, Caimi et al.⁸, Lopez et al.¹⁰ e Gogly et al.¹¹.

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. Este padrão de distribuição está de acordo com alguns estudos em humanos^{4,7,8,10-11} e em animais³.

A partir do estudo de Sakai et al.¹² foi demonstrada, ao microscópio eletrônico, a presença de uma 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, no entanto, nenhum estudo foi realizado até o momento para descrever o padrão de distribuição da fibrilina em gengivas humanas. Nesse estudo, pôde-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 às membranas basais. Tal rede constitui-se de fibras oxitalânicas e elaunínicas.

Como já foi sugerido, as fibras oxitalânicas e as fibras elásticas podem representar duas fases no desenvolvimento das fibras elásticas. O processo elastogénico teria origem nas fibras oxitalânicas e o seu final na fibra elástica. Contudo, assim como na pele humana, os dois tipos de fibras estão presentes no tecido conjuntivo gengival, 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 não adquiram elastina e permaneçam como fibras oxitalânicas.

Apesar de as funções das fibras oxitalânicas não serem conhecidas, foi sugerido por Fullmer et al.¹ que sua distribuição está restrita às áreas de estresse mecânico. Soames et al.³ e Sims¹³ citaram que estas fibras proporcionariam resistência adicional, poderiam prevenir a obliteração vascular, ou até contribuir para a recidiva após tratamento ortodôntico. Nesse trabalho, a presença de tais fibras foi observada, principalmente na junção epitélio-conjuntivo, próximo à membrana basal, o que também pode ajudar a estabilizar e manter a integridade da inserção epitelial, funcionando como um mecanismo de encaixe entre estes dois tecidos. A grande concentração das fibras oxitalânicas próximas à 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, acredita-se que as fibras oxitalânicas são realmente responsáveis pela resistência tecidual ao estresse mecânico.

CONCLUSÃO

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. As fibras oxitalânicas são encontradas principalmente nas papilas do tecido conjuntivo gengival, formando uma trama em direção à membrana basal, enquanto 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. Já as fibras elásticas foram observadas em associação com os vasos sanguíneos e dispersas na região profunda do tecido conjuntivo gengival.

Colaboradores

RC MACHADO foi a responsável pela ideia central da pesquisa. EMB TINOCO e WAS MACHADO foram responsáveis pela orientação da pesquisa. G COTTA-PEREIRA contribuiu para a confecção do estudo morfológico, cedendo a estrutura do serviço de Imunoquímica e Histoquímica da Santa Casa da Misericórdia do Rio de Janeiro.

REFERÊNCIAS

1. Fullmer HM, Sheetz JH, Narkates AJ. Oxytalan connective tissue fibers: a review. *J Oral Pathol.* 1974; 3(6):291-316.
2. Gawlik Z. Morphological and morphochemical properties of the elastic system in the motor organ of man. *Folia Histochem Cytochem (Krakow).* 1965; 3(3): 233-51.
3. Soames JV, Davies RM. Elastic and oxytalan fibres in normal and inflamed dog gingivae. *J Periodontal Res.* 1975; 10(6): 309-14.
4. Takarada H, Cattoni M, Rose GG. Ultrastructural studies of human gingiva V. microfibrils of elastic nature and their direct penetration of the basal lamina in chronic periodontitis. *J Periodontol.* 1975; 46(5):294-301.
5. Cotta-Pereira G, Rodrigo FG, David-Ferreira JF. The elastic system fibers. *Adv Exp Med Biol.* 1977; 79: 19-29.
6. Machado WAS. Estudo histoquímico e ultra-estrutural do sistema elástico da gengiva humana [dissertação]. Rio de Janeiro: Universidade do Estado do Rio de Janeiro; 1986.
7. Chavrier C, Hartmann DJ, Couble ML, Herbage D. Distribution and organization of the elastic system fibres in healthy human gingiva. *Histochemistry.* 1988; 89(1): 47-52.

8. Caimi M, Duarte G, Vicente I, Pedemonte R. Sistema elastico en encias humanas com salud y enfermedad paradencial. *An Fac Odont.* 1989; 25: 21-48.
9. Ainamo J, Bay I. Problems and proposals for recording gingivitis and plaque. *Int Dent J.* 1975; 25(4): 229-35.
10. Lopez A, Dooner JJ, Porter K. Histologic study of elastin-like fibers in the attached gingiva. *J Periodontol.* 1976; 47(8): 444-9.
11. Gogly B, Godeau G, Gilbert S, Legrand JM, Kut C, Pellat B, et al. Morphometric analysis of collagen and elastic fibers in normal skin and gingiva in relation to age. *Clin Oral Investig.* 1997; 1(3): 147-52.
12. Sakai LY, Keene DR, Glanville RW, Bachinger HP. Purification and partial characterization of fibrillin, a cysteine-rich structural component of connective microfibrils. *J Biol Chem.* 1991; 266(22): 14763-770.
13. Sims MR. Oxytalan fiber system of molars in the mouse mandible. *J Dent Res.* 1973; 52(4): 797-802.

Recebido em: 7/12/2008
Aprovado em: 10/2/2009