

ENILSON ANTONIO SALLUM

cirurgião-dentista

**ANALISE MORFOMÉTRICA DO TECIDO CONJUNTIVO DA FIBROMATOSE GENGIVAL
HEREDITARIA E DA GENGIVA CLINICAMENTE NORMAL - ESTUDO COMPARATIVO**

Tese apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba
- UNICAMP para a obtenção do
Título de Mestre, pelo Curso
de Pós-Graduação em Biologia
e Patologia Buco-Dental.

PIRACICABA

- 1993 -

Sa34a

17712/BC

BC

UNICAMP
BIBLIOTECA CENTRAL

Este exemplar foi devidamente
Corrigido conforme resolução CCPG/036/83

Piracicaba, 10/08/1993

 10/8/93

ENILSON ANTONIO SALLUM
cirurgião-dentista

**ANALISE MORFOMETRICA DO TECIDO CONJUNTIVO DA FIBROMATOSE GENGIVAL
HEREDITARIA E DA GENGIVA CLINICAMENTE NORMAL - ESTUDO COMPARATIVO**

ORIENTADOR: PROF. DR. LOURENÇO BOZZO *ok*

Tese apresentada à Faculdade
de Odontologia de Piracicaba
- UNICAMP para a obtenção do
Título de Mestre, pelo Curso
de Pós-Graduação em Biologia
e Patologia Buco-Dental.

PIRACICABA

- 1993 -

Aos meus pais,

ANTONIO WILSON e
ARLENE,

por todo o amor com o qual nortearam a construção do meu caráter e pelo exemplo perfeito de conduta frente a vida no qual procuro me espelhar.

Ao meu irmão,

EMERSON,

pelo carinho , amizade e incentivo nos momentos de maior dificuldade

A minha esposa,

MARCIA,

pelo amor, dedicação e compreensão, proporcionando-me a paz espiritual para o trabalho.

Ao PROF.DR. LOURENÇO BOZZO, TITULAR da Área de Patologia, da
Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela confiança
e dedicação na execução deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

A FACULDADE DE ODONTOLOGIA DE PIRACICABA, da UNIVERSIDADE ESTADUAL DE CAMPINAS, na pessoa de seu Diretor, Prof. Dr. RENATO ROBERTO BIRAL e seu Diretor associado, Prof.Dr. OSWALDO DI HIPOLITO JUNIOR.

Ao Prof.Dr. MATHIAS VITTI, coordenador geral dos cursos de Pós-graduação da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

Ao Prof.Dr. JOSÉ FRANCISCO HÖFLING, coordenador do curso de Pós-graduação em Biologia e Patologia Buco-Dental, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP.

Ao responsável pela área de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Prof.Dr. ANTONIO WILSON SALLUM pela segurança que transmite a todos que comanda.

Aos amigos da Area de Periodontia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba: Prof.Dr. APARECIDO DO NASCIMENTO , Prof.Dr. ANTONIO WILSON SALLUM, Prof.Dr. SÉRGIO DE TOLEDO, Prof. Dr. ANTONIO FERNANDO MARTORELLI DE LIMA e Prof. EDGARD GRANER pelo incentivo, apoio e amizade.

Aos Prof. Drs. JOSÉ MERZEL e OSLEI PAES DE ALMEIDA, pela amizade e valiosas sugestões dadas a este trabalho.

Ao Prof.Dr. RONALDO SEICHI WADA, da Faculdade de Odontologia de Piracicaba, e ao Dep. de Estatística da ESALQ-USP pela orientação nos estudos estatísticos.

A ADNELLE A. TEIXEIRA PARANHOS, MARIA HELENA V. PERON e ANA CRISTINA A. GODOY pelo auxílio no processamento histológico.

A SUELI DUARTE DE OLIVEIRA SOLIANI, bibliotecária da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP, pela revisão das referências bibliográficas.

Aos voluntários e pacientes, sem os quais nada seria possível.

A todos que direta ou indiretamente, colaboraram para a realização deste trabalho, meus sinceros agradecimentos.

SUMARIO

INTRODUÇÃO	01
REVISÃO DA LITERATURA	03
PROPOSIÇÃO	16
MATERIAL E MÉTODOS	17
RESULTADOS	24
DISCUSSÃO	27
CONCLUSÕES	35
RESUMO	37
SUMMARY	39
REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	40
APÊNDICE	50

INTRODUÇÃO

Fibromatose Gengival Hereditária (FGH) refere-se aos aumentos do volume gengival de aspecto fibroso, transmitidos geneticamente. O padrão de hereditariedade é autossômico dominante na maioria dos casos e recessivo em alguns (TAKAGI et al, 1991).

Clinicamente a gengiva apresenta cor rósea, ponteados superficial acentuado e consistência firme (FLETCHER, 1966). O grau de aumento de volume é variável sendo que porções significativas das coroas dentais podem ser recobertas pelo tecido gengival. Nos casos mais severos, pode haver dificuldades de fechamento dos lábios.

A FGH deve ser diferenciada de outros tipos de fibromatose, como as induzidas pelo uso de substâncias químicas (Dilantina, Ciclosporina e Nifedipina) e as fibromatoses idiopáticas (CUESTAS-CARNERO & BORNANCINI, 1989). A FGH pode apresentar-se isoladamente ou associada a síndromes como as de Murray-Puretic-Drescher, Zimmerman-Laband, Cross, Rutherford e Cowden. Hipertricose, epilepsia e oligofrenia são as alterações mais comumente associadas à FGH (CLARK, 1987).

A literatura sobre a FGH é composta em sua maioria por relatos de casos sendo o primeiro feito por GROSS em 1856. Os mecanismos moleculares responsáveis pelo desenvolvimento da FGH não são conhecidos, supondo-se que possa haver alterações na densidade dos componentes teciduais.

Na FOP-UNICAMP, está sendo estudada uma família constituída por aproximadamente 132 pessoas, das quais 49 apresentam um quadro clínico típico da FGH como manifestação gengival isolada e padrão de hereditariedade autossômico dominante (BOZZO et al, 1993).

O objetivo deste trabalho é quantificar, morfometricamente, fibroblastos e fibras colágenas no tecido conjuntivo da gengiva de pacientes portadores da FGH e de pacientes com gengiva clinicamente normal.

REVISÃO DA LITERATURA

I- DEFINIÇÃO E NOMENCLATURA

A Fibromatose Gengival Hereditária (FGH) é uma doença oral caracterizada pelo aumento de volume do tecido gengival de aspecto fibroso, transmitida geneticamente, que em certos casos pode envolver totalmente a coroa dental (CUESTAS-CARNERO & BORNANCINI, 1989).

O primeiro relato de FGH foi feito por GROSS em 1856 e a primeira árvore genealógica descrita por NASSE em 1895. Desde então a doença recebeu cerca de 25 denominações diferentes. Dentre elas pode-se citar: *Hipertrofia das gengivas* (GROSS, 1856), *Elefantíase gengival* (WESKI, 1920), *Gengivite hipertrófica* (FURTWÄENGLER, 1927), *Fibroma difuso das gengivas* (BUCHNER, 1937), *Gengivoma* (BALL, 1941), *Macrogengiva congênita* (BYARS et al, 1945), *Osteofibromatose Difusa* (ENGLERT & LEVIN, 1954), *Fibroma da gengiva* (ITO, 1922), *Gengivofibromatose hereditária* (WINSTOCK, 1964), *Hiperplasia gengival hereditária ou idiopática* (EMERSON, 1965) e *Fibromatose Gengival Hereditária* (ZACKIN & WEISBERGER, 1961). O termo *Fibromatose Gengival Hereditária* tem sido o preferido dos autores que recentemente abordaram o assunto e será também adotado neste trabalho.

II- CLASSIFICAÇÃO

Fibromatose, no sentido amplo do termo, pode ser definida como uma proliferação fibroplástica sem características inflamatórias ou neoplásicas (MACKENZIE, 1972). Pode ocorrer em vários órgãos ou estar localizada na gengiva, quando então é denominada de fibromatose gengival (ANAVI et al, 1989).

A classificação das fibromatoses gengivais é assunto controvertido e não claramente estabelecido na literatura. Diversas tentativas de classificação foram feitas levando em consideração a extensão, etiologia e associação da alteração gengival com outras doenças. Diversos distúrbios têm sido associados com a presença da Fibromatose Gengival: *hipertricrose* (KISS, 1990), *epilepsia* (RAMON et al, 1967), *retardo mental* (HENEFER & KAY, 1967), *hepatomegalia*, *anormalidades esqueléticas e de tecido mole* (ALVANDAR, 1965), *deficiência de hormônio de crescimento* (OIKARINEN et al, 1990), *perda de audição* (HARTSFIELD, 1985), *glomerulonefrite* (OKA, 1974) e outras síndromes menos comuns (CLARK, 1987).

Segundo ZEGARELLI et al (1963), as fibromatoses gengivais podem ser divididas quanto a etiologia nos seguintes tipos:

- *fibromatose anatômica*, que são aumentos bilaterais geralmente vistos em região de tuberosidade, sem significado patológico;
- *fibromatose irritativa*, resultante da ação crônica de irritantes locais sobre os tecidos gengivais, geralmente precedida por intensa reação inflamatória;

- *fibromatose química*, provocada por agentes químicos como: Diltantina, Ciclosporina-A e Nifedipina.
- *fibromatose idiopática*, de etiologia desconhecida.

Esta classificação não inclui as fibromatoses gengivais hereditárias e considera como "fibromatose irritativa" os aumentos inflamatórios provocados por estímulos crônicos que atualmente são denominados hiperplasias fibrosas inflamatórias.

Segundo WITKOP (1971) ,há três formas da doença:

- *fibromatose gengival generalizada associada com hipertricose*,
- *fibromatose gengival generalizada sem hipertricose*
- *fibromatose gengival focal ou isolada (fibromatose gengival simétrica)*.

Tal classificação não engloba as fibromatoses gengivais associadas à síndromes nem considera a etiologia .

A classificação de CUESTAS-CARNERO & BORNANCINI (1989) leva em conta a extensão da doença e seu caráter hereditário . Segundo estes autores há as variações:

- *fibromatose gengival generalizada ou localizada ambas subclasificadas em hereditária ou idiopática* .

Não foram incluídas nesta classificação as fibromatoses gengivais provocadas por substâncias químicas nem tampouco as associações com outras doenças.

A classificação mais completa parece ser a de TAKAGI et al (1991), que consideram a ocorrência da doença de forma isolada ou associada a outros distúrbios, sua extensão e natureza hereditária. Portanto compreende os tipos:

- 1- *Fibromatose gengival isolada: hereditária ou idiopática. Subclassificadas em localizada ou generalizada*
- 2- *Fibromatose gengival com hipertricose*
- 3- *Fibromatose gengival com hipertricose e retardo mental e/ou epilepsia*
- 4- *Fibromatose gengival com retardo mental e/ou epilepsia*
- 5- *Fibromatose gengival associada com outras síndromes.*

Considerando as classificações citadas anteriormente e levando em consideração a etiologia, extensão e associação com outras alterações, as fibromatoses gengivais podem ser classificadas adequadamente da seguinte forma:

I- ETIOLOGIA:

- ANATÔMICA: variações da normalidade, aumentos fibrosos na região de tuberosidade.
- QUÍMICA: provocada pelo uso de substâncias químicas como a dilantina, nifedipina, valproato de sódio, fenobarbital e ciclosporina-A.
- HEREDITÁRIA: determinada geneticamente. O padrão de hereditariedade é autossômico dominante ou menos frequentemente recessivo.
- IDIOPÁTICA: quando a etiologia é desconhecida, não se enquadrando nos casos anteriores.

II- EXTENSÃO

- LOCALIZADA : quando confinada a uma área determinada na mandíbula ou maxila.
- GENERALIZADA: quando atinge praticamente todo o arco superior e

inferior. Segundo TAKAGI et al (1991), na fibromatose gengival hereditária, a taxa de ocorrência da forma generalizada para a localizada é de 15,2:1 e na fibromatose gengival idiopática esta taxa é de 1,6:1. Comparando-se a forma hereditária isolada com a idiopática, o tipo hereditário tem uma tendência de ocorrer com mais frequência na forma generalizada, mesmo que haja alguns casos na forma localizada.

III- POSSÍVEIS ASSOCIAÇÕES COM OUTRAS ALTERAÇÕES

- NÃO ASSOCIADA: a fibromatose gengival apresenta-se como entidade isolada.
- ASSOCIADA COM HIPERTRICOSE, RETARDO MENTAL E EPILEPSIA: simultaneamente, ou com combinações entre as três alterações. A hipertricose é a alteração mais comumente associada à fibromatose gengival (GORLIN et al, 1976). O aumento da quantidade e distribuição de pelos geralmente envolve as sobrancelhas, extremidades, área sacral e genital (EMERSON, 1965).
- ASSOCIADA COM A SÍNDROME DE ZIMMERMAN-LABAND: onde ocorrem anomalias ósseas, digitais, do nariz e orelhas, unhas e hepatoesplenomegalia. Esta doença parece ser transmitida por um padrão autossômico dominante (LABAND et al, 1954).
- ASSOCIADA A SÍNDROME DE MURRAY-PURETIC-DRESCHER: é uma doença transmitida num padrão autossômico recessivo. Também denominada de fibromatose hialina juvenil, tem como principais características: lesões de pele, contraturas flexurais das juntas e defeitos osteolíticos (MURRAY, 1873). O exame histopatológico reve-

la a presença de um material hialino eosinofílico contendo muitos capilares dilatados, células ovais ou redondas de citoplasma claro lembrando condrócitos, isoladas ou agrupadas, que constituem o quadro histológico típico desta alteração (ALDRED & CRAWFORD, 1987).

- ASSOCIADA A SINDROME DE RUTHERFORD: segue o padrão de transmissão genético autossômico dominante. Juntamente com o aumento gengival, ocorrem falhas na erupção dos dentes (com ou sem reabsorção radicular) e distrofia córnea (RUTHERFORD, 1931).

- ASSOCIADA A SINDROME DE CROSS: considera-se ser transmitida pelo padrão de hereditariedade autossômico recessivo. As principais características são hipopigmentação, micro-oftalmia, oligofrenia e atetose (CROSS et al, 1967).

- ASSOCIADA A SINDROME DE COWDEN: transmitida por padrão autossômico dominante. As principais características são hipertricose e fibroadenomas localizados na região peitoral (LLOYD & DENNIS, 1963).

- ASSOCIADA A SURDEZ PROGRESSIVA: ocorrendo com padrão de transmissão autossômico dominante. JONES et al (1977), descreveram uma família com fibromatose gengival associada à perda de audição progressiva em cinco gerações. HARTSFIELD et al (1985), descreveram o segundo caso conhecido da manifestação desta síndrome em uma família.

- ASSOCIADA A MUCOLIPIDOSE II : transmitida por padrão autossômico recessivo. As principais características são baixa estatura, características faciais grosseiras (semelhantes as da síndro-

me de Hurler), retardo psicomotor juntamente com o aumento gengival (SHAPIRO & JORGENSEN, 1983)

- ASSOCIADA A ABERRAÇÃO EM CROMOSSOMO: foi relatada a associação da fibromatose gengival com uma translocação cromossômica em um paciente de quatro anos de idade. (SALINAS, 1982)

- ASSOCIADA A DEFICIÊNCIA DE HORMÔNIO DO CRESCIMENTO: relacionada com uma diminuição do fator liberador do hormônio do crescimento com consequente retardo do crescimento esquelético e falta de características sexuais secundárias em indivíduos do sexo feminino (OIKARINEN et al, 1990).

III- PADRÃO GENÉTICO

A maioria dos autores defende a idéia da FGH ser transmitida por um gen autossômico dominante (ZACKIN & WEISBERGER, 1961; ALVANDAR, 1965; FLETCHER, 1966; SKRINJARIC & BACIC, 1989; TAKAGI et al, 1991), enquanto outros determinaram, em alguns casos, a transmissão através de gen autossômico recessivo (NEVIN et al, 1971; GORLIN et al, 1976). Nos casos recessivos, pessoas não afetadas podem transmitir a alteração a seus descendentes (CERNEA et al, 1955; EMERSON, 1965; RAESTE et al, 1978). TAKAGI et al (1991), em estudo de 49 casos e mais 218 casos da literatura, num total de 267 casos, concluíram que o padrão de hereditariedade da FGH é heterogêneo. Um trato é considerado geneticamente heterogêneo se "mutações em diferentes loci podem independentemente produzir o mesmo trato ou tratos que são difíceis de distinguir cli-

nicamente" (THOMPSON & THOMPSON, 1980).

BOZZO et al (1993), mostraram que a penetrância da FGH na mesma família deste estudo, parece ser completa, desde que em nenhuma ocasião, indivíduos de risco, não afetados, tiveram filhos afetados. Além disso, não há evidências de expressão variável, desde que todos os indivíduos afetados, tinham aumento gengival generalizado. É possível que a penetrância e expressão da FGH possam variar entre famílias diferentes.

IV- CARACTERÍSTICAS CLÍNICAS

Na FGH, o tecido gengival está grandemente aumentado, com consistência firme, coloração normal e acentuado ponteadado superficial. Embora geralmente os dentes estejam completamente erupcionados em relação ao osso alveolar, as coroas anatômicas dos dentes podem estar parcialmente ou totalmente recobertas (ZACKIN & WEISBERGER, 1961), podendo causar dificuldades para o fechamento labial (JAMES et al, 1971), deformar o contorno palatino e interferir na fonação e mastigação (CLARK, 1987). Em casos críticos, o contato oclusal pode ocorrer por superfícies gengivais hiperplásicas que se tornam planas devido a pressão (EMERSON, 1965).

O papel dos dentes (seu desenvolvimento e erupção) na patogênese da FGH não está claro, mesmo que alguns autores tenham postulado que a alteração é caracterizada por uma resposta tecidual anormal, geneticamente induzida, a um estímulo dental particular (SAVARA et al, 1954).

Radiograficamente, os dentes parecem atingir uma posição normal de erupção em relação ao osso alveolar (CLARK, 1987). Um caso raro de envolvimento ósseo, designado de osteofibromatose difusa foi relatado por ENGLERT & LEVIN (1954)

V- IDADE EM QUE SE MANIFESTA

Segundo TAKAGI et al (1991), a FGH ocorre com mais frequência depois da idade de 12 anos e antes dos 20 anos, durante ou depois da erupção da dentição permanente (EMERSON, 1965), sendo que não há diferença significativa na idade de início entre as formas generalizada e localizada, e a fibromatose gengival hereditária com hipertricrose e retardo mental e/ou epilepsia ocorre mais frequentemente antes dos 12 anos. A FGH também foi descrita durante a dentição decídua (HINE, 1952; ENGLERT & LEVIN, 1954; MCINDOE & SMITH, 1958). Alguns autores relataram a presença da FGH desde o nascimento ou nos primeiros meses de vida (HENEFER & KAY, 1967; RAESTE et al, 1978; KRATZ & MORIN, 1987; BOZZO et al, 1993).

VI- HISTOPATOLOGIA

Via - MICROSCOPIA DE LUZ

Na microscopia óptica, a FGH caracteriza-se, com frequência, por um epitélio acantótico, com papilas epiteliais alongadas. O conjuntivo é fibroso denso, com fibras colágenas espessas, aparen

temente poucos fibroblastos e infiltrado inflamatório discreto quando presente.

Dentro das grandes variações de manifestação clínica relatadas na literatura, as principais características histológicas descritas são:

No epitélio:

- ACANTOSE (GILES & AGNEW, 1960; ZACKIN & WEISBERGER, 1961; YOKOYA, 1962; ZEGARELLI et al, 1963; LABAND et al, 1964; EMERSON, 1965; JORGENSEN & COCKER, 1974; REDMAN et al, 1984; JOHNSON et al, 1986; GENOVESE et al, 1987; KRATZ & MORIN, 1987; OIKARINEN et al, 1990)
- PAPILAS EPITELIAIS ALONGADAS (GILES & AGNEW, 1960; ZACKIN & WEISBERGER, 1961; LABAND et al, 1964; EMERSON, 1965; RAESTE et al, 1978; HORNING et al, 1984; TAKAGI et al, 1991)
- CAMADA DE QUERATINA BEM FORMADA OU HIPERQUERATOSE (GILES & AGNEW, 1960; ZACKIN & WEISBERGER, 1961; EMERSON, 1965; KRATZ & MORIN, 1987; GIAMMINOLA et al, 1990)
- PARAQUERATOSE (GILES & AGNEW, 1960; JORGENSEN & COCKER, 1974)
- DISPLASIA EPITELIAL (REDMAN et al, 1984)

No tecido conjuntivo:

- BANDAS GROSSEIRAS DE COLAGENO (GILES & AGNEW, 1960; ZACKIN & WEISBERGER, 1961; EMERSON, 1965; JORGENSEN & COCKER, 1974; REDMAN et al, 1984; KRATZ & MORIN, 1987; GIAMMINOLA et al, 1990; TAKAGI et al, 1991)
- AUMENTO DO COLAGENO (ZACKIN & WEISBERGER, 1961; REDMAN et al, 1985; KRATZ & MORIN, 1987, TAKAGI et al, 1991)

- ÁREAS DE PROLIFERAÇÃO DE VASOS ASSOCIADAS A INFILTRADO HISTIO-LINFOPLASMOCITARIO (GENOVESE et al, 1987, GIAMMINOLA et al, 1990)
- POUCO OU NENHUM INFILTRADO INFLAMATÓRIO, SENDO QUE QUANDO PRESENTE PERIVASCULAR OU LOCALIZADO NA BASE DO SULCO GENGIVAL (ZACKIN & WEISBERGER, 1961; EMERSON, 1965; HORNING et al, 1984; CUESTAS-CARNERO & BORNANCINI, 1988; OIKARINEN et al, 1990; TAKAGI et al, 1991)
- RELATIVAMENTE AVASCULAR (GILES & AGNEW, 1960; YOKOYA, 1962; JORGENSEN & COCKER, 1974)
- POUCOS FIBROBLASTOS, SENDO PORTANTO RELATIVAMENTE ACELULAR (GILES & AGNEW, 1960; ZACKIN & WEISBERGER, 1961; ZEGARELLI et al, 1963; EMERSON, 1965; JORGENSEN & COCKER, 1974; HORNING et al, 1984; KRATZ & MORIN, 1987; SHIRASUNA et al, 1989; TAKAGI et al, 1991)
- VARIANTE MAIS CELULARIZADA COM MUITOS FIBROBLASTOS (ZEGARELLI et al, 1963; GENOVESE et al, 1987; CUESTAS-CARNERO & BORNANCINI, 1988; TAKAGI et al, 1991),
- PEQUENAS PARTÍCULAS CALCIFICADAS SEMELHANTES A TECIDO ÓSSEO (SAVARA et al, 1954; GILES & AGNEW, 1960; CUESTAS-CARNERO & BORNANCINI, 1988; TAKAGI et al, 1991)
- GRANDE QUANTIDADE DE SUBSTANCIA AMORFA NA MATRIZ EXTRACELULAR (RAESTE et al, 1978; TAKAGI et al, 1991)
- DEGENERAÇÃO MUCÓIDE NAS MASSAS FIBROSAS E CELULAS GIGANTES MULTINUCLEADAS (RUSHTON, 1957).

Vib- MICROSCOPIA ELETRÔNICA

Segundo COLLAN et al (1982), a microscopia eletrônica mostrou dois tipos principais de fibroblastos no tecido conjuntivo subepitelial na FGH. Em áreas com densos feixes de fibras colágenas os fibroblastos parecem ser inativos, contendo pouco citoplasma. Pequenos grupos de polissomos são vistos no citoplasma bem como escassa quantidade de retículo endoplasmático liso e mitocôndrias. Fibroblastos de áreas com amplo material intercelular são grandes, geralmente arredondados, e com amplas cisternas de retículo endoplasmático liso e rugoso. Estes fibroblastos contem um aparelho de Golgi bem desenvolvido, numerosas mitocôndrias, centríolos ocasionais e numerosos microfilamentos finos no citoplasma. Fibroblastos com morfologia intermediária entre estes dois tipos principais também são vistos.

SHIRASUNA et al (1988), através do método de cultura de células, estudaram fibroblastos provenientes de gengivas de portadores da FGH congênita observando-os em microscopia eletrônica. A população celular identificada era quase que totalmente composta por fibroblastos que exibiam núcleo elíptico com um ou dois nucléolos e cromatina esparsa, retículo endoplasmático granular mais proeminente e dilatado que os das células controle provenientes de gengiva sadia, bem como grande quantidade de substância finamente filamentosa nos espaços intercelulares. Os fibroblastos cultivados da FGH tiveram uma taxa de crescimento menor e atividade de síntese maior do que os cultivados da gengiva sadia.

BARROS (1991), em observações em microscopia eletrônica concluiu que fibras colágenas exibiam um "padrão de dissociação" e variação de diâmetro na FGH. Havia quantidades relativamente maiores de fibras oxitalânicas na FGH em comparação com a gengiva normal. Fibras elásticas não foram identificadas no conjuntivo da FGH. Foram observados restos celulares dispersos em meio a matriz sugerindo degeneração de fibroblastos.

PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho é quantificar morfometricamente fibroblastos e fibras colágenas no tecido conjuntivo da gengiva de pacientes portadores da FGH e de pacientes com gengiva clinicamente normal. Estas informações poderão fornecer subsídios mais concretos para a compreensão dos mecanismos patogénéticos desta alteração.

MATERIAL E MÉTODOS

I- PREPARAÇÃO DOS PACIENTES

Foram selecionados 10 pacientes portadores da fibromatose gengival hereditária (fig.1) e 10 voluntários com gengiva clinicamente normal (fig.2). A faixa etária do grupo da FGH (16 a 28 anos - média de 22 anos) foi correspondente à do grupo de gengiva clinicamente normal (15 a 25 anos - média de 20 anos).

Antes da obtenção das biópsias de tecido gengival, foi realizado o preparo básico dos indivíduos selecionados, incluindo instruções para a execução da técnica de escovação preconizada por BASS (1954), para higiene do sulco gengival. Estes procedimentos foram adotados com o objetivo de minimizar o acúmulo de placa e consequentemente reduzir a inflamação no tecido conjuntivo subjacente ao epitélio sulcular e juncional.

II- OBTENÇÃO DO TECIDO GENGIVAL

Após anestesia infiltrativa (XYLOCAINA 2% sem vasoconstritor), o tecido gengival foi removido da área de gengiva inserida, da região vestibular situada entre canino e pré-molar superior, sendo que tal área apresentava-se sem qualquer sinal clínico de inflamação, ou seja, valor "0" no índice gengival de LÖE (1967), utilizando-se de um bisturi de lâmina circular ("punch") com 8mm de diâmetro (fig.3).

Com um segundo bisturi convencional, de lâmina no.15, a área delimitada foi removida através de delicados movimentos de descolamento.

III- PROCESSAMENTO HISTOLÓGICO

Os espécimes obtidos foram seccionados em duas metades iguais, fixados em formol a 10% por 24 horas. Os dois fragmentos foram incluídos em parafina de forma a proporcionar a sequência de corte partindo do maior diâmetro (transversal). Os cortes de 5 micrômetros foram corados pela hematoxilina e eosina (fig.4 e 5).

IV - MORFOMETRIA

Na execução do procedimento morfométrico, utilizou-se da lente ocular integradora ZEISS (Kpl-W 10x) de 25 pontos (fig.6) com objetiva de 100x (imersão) em microscópio ZEISS. A sobreposição de um ponto à estrutura desejada foi considerada como "impacto". A determinação do número de impactos (densidade numérica) sobre núcleos de fibroblastos e fibras colágenas e a determinação da densidade em volume (Vvi) dos mesmos baseou-se no princípio fundamental da estereologia estabelecido por DELESSE (1847) e aplicados a histologia por CHALKEY (1943), seguindo-se as indicações de WEIBEL & ELIAS (1967).

As contagens foram feitas nos 10 espécimes obtidos do grupo da FGH e nos 10 espécimes do grupo de gengiva clinicamente sadia. Foram examinadas 3 (três) lâminas de cada espécime distanciadas por 15 (quinze) micrômetros no seriamento de corte. Em cada lâmina foram observados 5 (cinco) campos situados na região de tecido conjuntivo papilar e reticular (fig.7), em uma área livre de infiltrado inflamatório (SCHROEDER & MUNZEL-PEDRAZOLLI, 1973).

Foram registrados os impactos sobre núcleos de células identificadas morfológicamente como fibroblastos (células fusiformes ou estreladas com núcleo ovóide alongado, finos grânulos de cromatina) e sobre feixes de fibras colágenas, sendo que os impactos restantes (sobre áreas não coradas entre os feixes de fibras, outros tipos celulares, estruturas vasculares e nervosas e estruturas não identificadas) foram computados como tecido residual.

Foram somados os impactos de cada estrutura nas 5 (cinco) contagens realizadas por lâmina, dividindo-se o valor obtido por 5 (cinco) para a obtenção da média de impactos da estrutura por campo em cada lâmina. A média final de impactos da estrutura para o espécime foi a soma dos valores obtidos em cada lâmina dividido por 3 (as contagens realizadas podem ser observadas no Apêndice).

A determinação da proporção em volume de cada estrutura foi determinada dividindo-se a média final de impactos por campo sobre esta estrutura pelo número total de impactos por campo (25).



FIG.1: Aspectos clínicos da FIBROMATOSE GENGIVAL HEREDITÁRIA.



FIG.2: Aspectos clínicos da GENGIVA CLINICAMENTE NORMAL.



FIG.3: Bisturi de lâmina circular (*punch*) com 8 mm de diâmetro da marca Stiefel, utilizado na execução das biópsias gengivais.

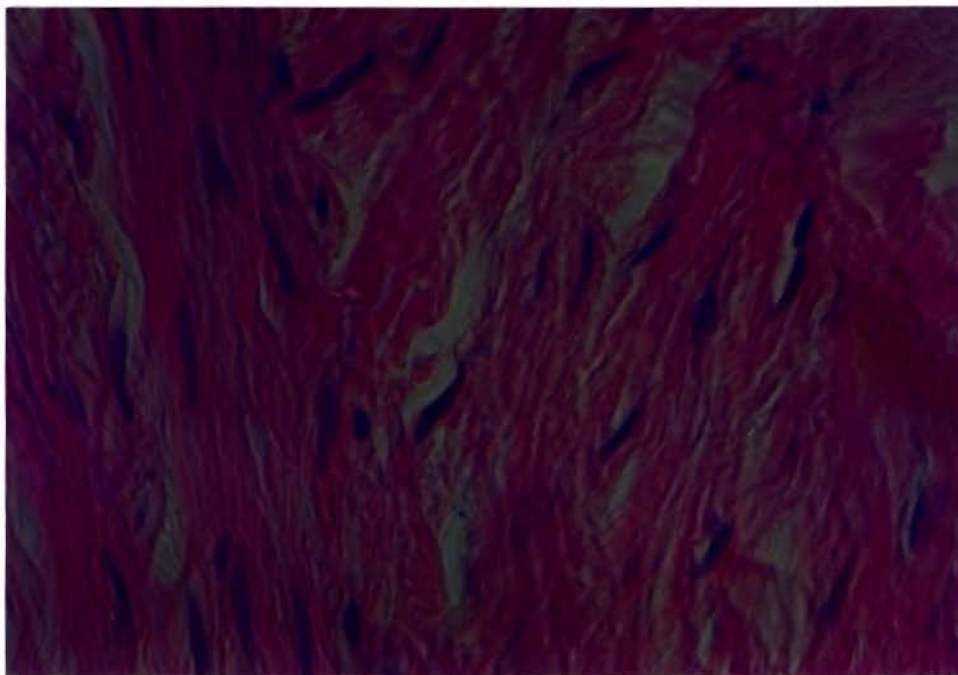


FIG.4: FIBROMATOSE GENGIVAL HEREDITÁRIA - Tecido conjuntivo denso contendo inúmeros fibroblastos, alta densidade de fibras colágenas e poucos espaços não corados entre as mesmas. Aumento de 570x - H.E.

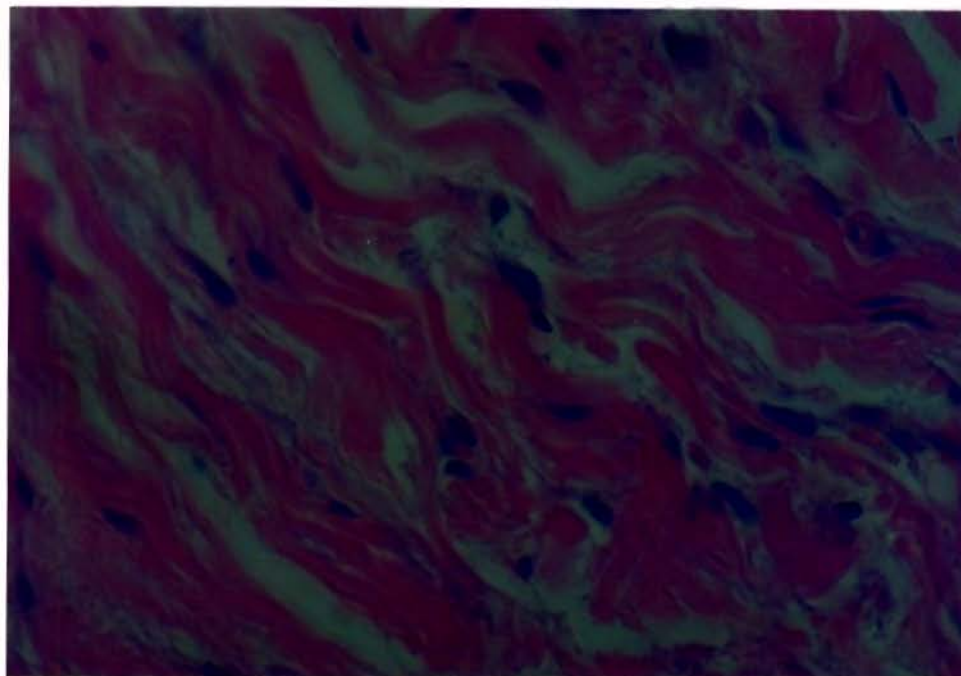


FIG.5: GENGIVA CLINICAMENTE NORMAL - Área do tecido conjuntivo mostrando feixes de fibras colágenas entremeadas de fibroblastos e de áreas contendo material amorfo não corado. Aumento de 570x - H.E.

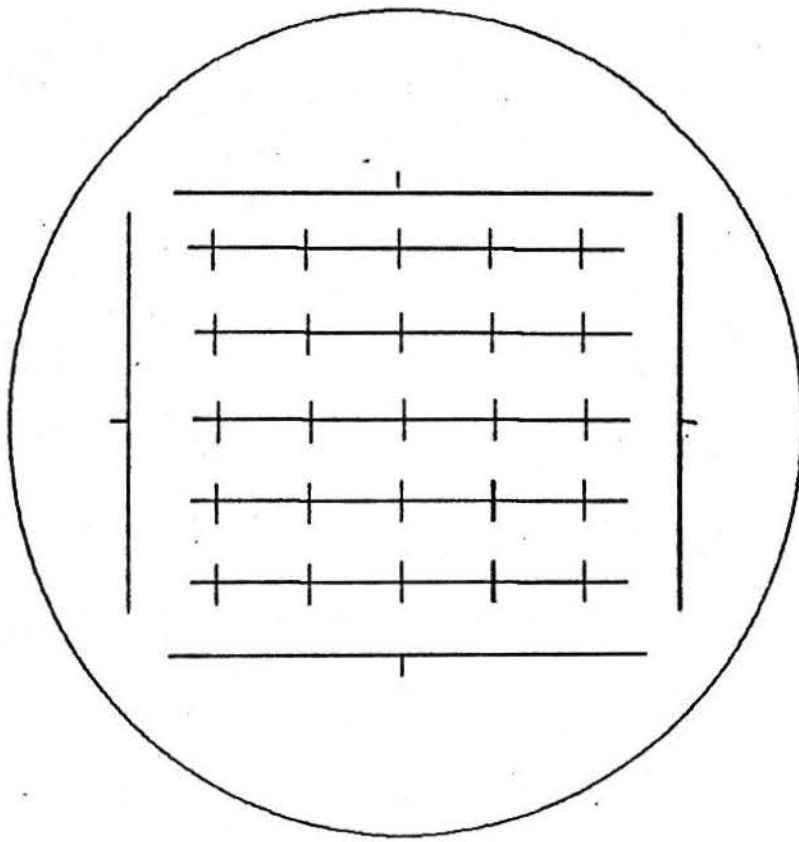


FIG.6: Representação esquemática da distribuição dos pontos na ocular integradora Zeiss Kpl-w 10x.

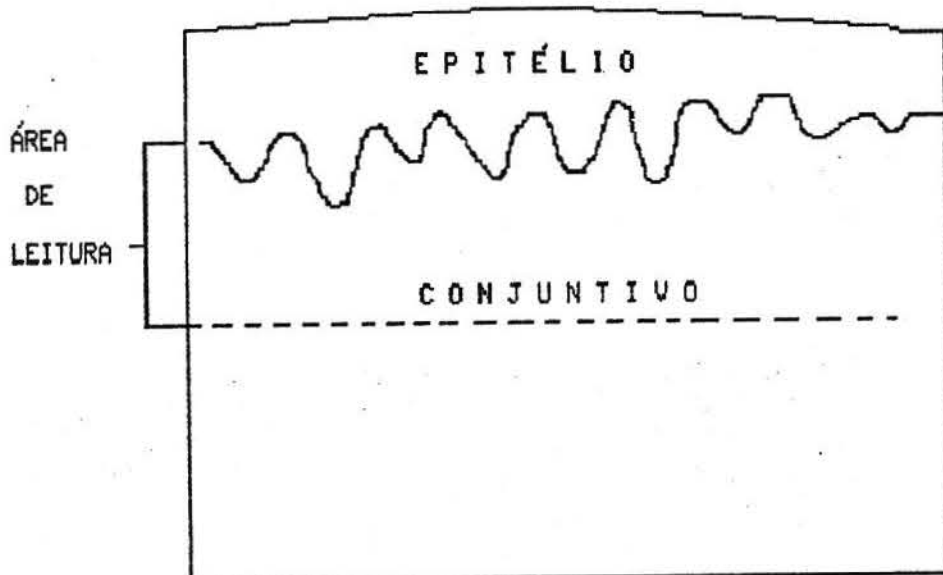


FIG.7: Representação esquemática da localização dos campos selecionados para as contagens.

RESULTADOS

Os resultados obtidos com o método morfométrico de contagem de pontos através da lente ocular integradora Kpl-W-10x, com aumento de 1000x (imersão), em cortes de 5 (cinco) micrômetros corados pela hematoxilina e eosina, do tecido conjuntivo da gengiva clinicamente normal e da FGH podem ser vistos nas tabelas 1 e 2.

GRUPO NORMAL				GRUPO DA F.G.H.			
ESP	FIBROBLS	F. COLAG	OUTROS	ESP	FIBROBLS	F. COLAG	OUTROS
N1	2,13	17,33	5,53	F1	2,46	21,07	1,46
N2	1,86	19,33	3,80	F2	2,13	21,00	1,86
N3	1,53	19,13	4,33	F3	2,40	19,46	3,13
N4	2,06	18,53	4,40	F4	2,46	20,73	1,80
N5	2,20	18,93	3,86	F5	2,20	21,20	1,60
N6	2,06	19,13	3,80	F6	2,86	19,67	2,46
N7	1,53	19,93	3,53	F7	2,46	21,07	1,46
N8	2,60	19,86	2,53	F8	2,00	20,46	2,53
N9	2,40	19,26	3,33	F9	2,53	19,33	3,13
N10	2,26	18,40	4,33	F10	2,20	21,13	1,66

TAB.1: Médias de impactos por campo sobre fibroblastos, colágeno e outros componentes obtidos através de 5 (cinco) leituras por lâmina, em 3 (três) lâminas por espécime totalizando 7.500 pontos registrados nos grupos de gengiva clinicamente normal e FGH.

Dividindo-se os valores da Tab.1 pelo número total de impactos por campo, que para a lente utilizada é 25 (vinte e cinco) obteve-se a Tab.2, que contem os valores das proporções médias em volume dos componentes teciduais avaliados.

GRUPO NORMAL				GRUPO DA F.G.H.			
ESP	FIBROBLS	F. COLAG	OUTROS	ESP	FIBROBLS	F. COLAG	OUTROS
N1	8,52 %	69,32%	22,12 %	F1	9,84 %	84,28 %	5,84 %
N2	7,44 %	77,32%	15,20 %	F2	8,52 %	84,00 %	7,44 %
N3	6,12 %	76,52%	17,32 %	F3	9,60 %	77,84 %	12,52 %
N4	8,24 %	74,12%	17,60 %	F4	9,84 %	82,92 %	7,20 %
N5	8,80 %	75,72%	15,44 %	F5	8,80 %	84,80 %	6,40 %
N6	8,24 %	76,52%	15,20 %	F6	11,44 %	78,68 %	9,84 %
N7	6,12 %	79,72%	14,12 %	F7	9,84 %	84,28 %	5,84 %
N8	10,40%	79,44%	10,12 %	F8	8,00 %	81,84 %	10,12 %
N9	9,60 %	77,04%	13,32 %	F9	10,12%	77,32 %	12,52 %
N10	9,04 %	73,60%	17,32 %	F10	8,80%	84,52 %	6,64 %

TAB. 2: Proporções em volume (porcentagem) de fibroblastos, colágeno e outros componentes obtidas através de 5 (cinco) leituras por lâmina, em 3 (três) lâminas por espécime, totalizando 7500 pontos registrados nos grupos de gengiva clinicamente normal e FGH.

ESTATISTICA

Os dados foram submetidos a aplicação do Teste-T para a comparação de duas amostras independentes. Obteve-se a média geral com o respectivo erro padrão da média para as variáveis estudadas, sendo que os resultados obtidos estão contidos na tabela 3.

-x-x-x-x-x-x-	G. NORMAL		G. FGH	
	Impactos	Vvi	Impactos	Vvi
Fibroblastos	2,063 $\pm$ 0,109	8,25 %	2,370 $\pm$ 0,077	9,48 % *
Colágeno	18,983 $\pm$ 0,240	75,93%	20,512 $\pm$ 0,235	82,04% **
Outros	3,944 $\pm$ 0,249	15,77%	2,109 $\pm$ 0,206	8,43 % **

Tab. 3: Média Geral de Impactos por campo e Proporção em Volume (Vvi) de fibroblastos, colágeno e outras estruturas.

* significante a nível de 5%

** significante a nível de 1%

DISCUSSÃO

As afirmações quanto à densidade dos componentes teciduais na FGH, existentes na literatura até o momento, basearam-se em observações subjetivas dos aspectos histopatológicos descritos em relatos de casos clínicos, não em critérios objetivos de quantificação. Sendo assim, TAKAGI et al (1991), dentre outros, relataram que o tecido conjuntivo da FGH é rico em bandas grosseiras de colágeno, possuindo poucos fibroblastos. Porém, admitiu a existência de uma variante da doença, rica em fibroblastos ativos, considerando inicialmente tratar-se de uma etapa inicial do desenvolvimento da lesão, com características de hiper celularidade, que poderia ser substituída, com a maturação, por um estágio final hipocelular. Biópsias consecutivas dos pacientes portadores deste tipo de fibromatose foram avaliadas, sem a identificação de mudanças no quadro que pudessem indicar a existência de um estágio intermediário. O padrão histológico hiper celular para a FGH também foi relatado por FARRER-BROWN et al (1972), sem no entanto basearem-se em critério objetivo.

Utilizando metodologia semelhante a deste trabalho, HASSEL et al (1978) realizaram a quantificação dos fibroblastos e colágeno do tecido conjuntivo do aumento gengival provocado pelo uso da Dilantina em comparação com o da gengiva clinicamente normal. Não encontrando diferenças significativas, concluíram que o tecido conjuntivo do aumento provocado pela Dilantina continha uma composição semelhante a do tecido normal porém, com um cresci-

mento descontrolado . Situação diversa da que foi identificada para a FGH neste trabalho, indicando que estes aumentos gengivais, a despeito das semelhanças clínicas, podem ter mecanismos diferentes de desenvolvimento, já que possuem uma etiologia distinta.

Este estudo fundamenta-se na *estereologia*, que pode ser definida como o estudo quantitativo das propriedades tridimensionais de objetos, através de planos bidimensionais (ANDERSON & LOWE, 1990). A base da estereologia é o teorema do geologista DELESSE (1847), segundo o qual, a proporção de área ocupada por um componente em corte obtido de uma rocha aleatoriamente, é igual a proporção em volume do mesmo na rocha. ($A_{ai}=V_{vi}$). A prova matemática do princípio de DELESSE foi dada por WEIBEL & ELIAS (1967). A contagem de pontos foi aplicada à histologia por CHALKEY (1943), sendo considerada como a forma mais eficiente para determinações morfométricas em cortes (WEIBEL, 1963; ANDERSON & DUNNILL, 1965). Consiste na utilização de retículos dotados de pontos, em quantidade e disposição variáveis, contidos em lentes oculares, ou em superfícies de proporções determinadas, sobre as quais projeta-se a imagem do tecido a ser quantificado (ANDERSON & LOWE, 1990). Há também a possibilidade de se utilizar métodos eletrônicos (FISHER, 1971). A coincidência dos pontos do retículo sobre as estruturas são denominadas de "impactos", sendo que a soma destes é equivalente a área ocupada pela estrutura no corte. A proporção em volume desta estrutura é determinada pela divisão do número de impactos da estrutura pelo número total de impactos ($A_{ai}=V_{vi}$). A ocular integradora utilizada foi a ZEISS (kpl-W-10X) de 25 pontos, que permite que apenas 1 (um) impacto seja registrado para cada célula (WEIBEL, 1979).

Na execução de métodos morfométricos deve-se levar em consideração o denominado efeito *HOLMES* (*HOLMES*, 1927), um erro sistemático devido à espessura do corte examinado e do diâmetro do componente estudado. Estimando-se a área ocupada por um componente em corte aleatório, assume-se que este corte é infinitamente fino, porém o mesmo possui uma espessura considerável. Realizando-se medições de área de estruturas opacas nestas preparações, há uma tendência para que sejam maiores que as reais, devido a sobreposição de estruturas em diferentes planos. O tamanho do erro depende da razão entre o diâmetro da estrutura examinada e a espessura do corte, ou seja, quanto menor o diâmetro do componente, mais fino o corte deverá ser para minimizá-lo. O efeito *HOLMES* pode ser desprezado em estudos comparativos do mesmo componente tecidual sob condições diferentes, desde que a espessura dos cortes seja constante e a dimensão dos componentes seja equivalente (*ANDERSON & LOWE*, 1990). Este fato dispensa a utilização de cortes semi-finos ou ultra-finos neste estudo justificando a utilização de cortes de rotina.

Considerando a heterogeneidade apresentada pelo tecido conjuntivo, *SCHROEDER & MUNZEL-PEDRAZZOLI* (1973) realizaram um trabalho viabilizando a aplicação de técnicas estereológicas no tecido conjuntivo gengival através de sua subdivisão em duas porções mais homogêneas: uma localizada próxima ao sulco gengival, denominada de tecido conjuntivo infiltrado (TCI), devido a predominância de células que compõe o infiltrado inflamatório, e na qual a quantidade de fibras colágenas é mais escassa; e outra porção onde há a ausência quase total das células do infiltrado, com predominância de fibras colágenas e fibroblastos, denominada

de tecido conjuntivo não infiltrado (TCN). Para execução do presente trabalho, o TCN de ambos os grupos foram comparados.

Os resultados obtidos com a metodologia utilizada revelaram um tecido conjuntivo significativamente mais celularizado, quanto aos fibroblastos, na FGH ($\bar{x} = 2,37 \pm 0,0776$ ou 9,48%), quando comparado ao tecido conjuntivo da gengiva clinicamente normal ($\bar{x} = 2,063 \pm 0,109$ ou 8,25%), ao nível de 5% de significância. Estes resultados indicam que o fenômeno patológico subjacente ao aumento de volume gengival da FGH é, de fato, uma *hiperplasia*, ou seja, o aumento de volume gengival constitui a manifestação clínica de uma alteração transmitida geneticamente, através de gen autossômico dominante, que histologicamente se expressa como uma hiperplasia. O termo significa um aumento de volume de um tecido ou órgão pelo aumento absoluto do número de células (ROBINS, 1986), portanto a afirmação de que a FGH resulta de uma hiperplasia dos fibroblastos gengivais fica substantiada pela verificação de que existem, em média (com a ocular utilizada), 2,370 impactos sobre fibroblastos, por campo no tecido conjuntivo da FGH contra 2,063 da gengiva clinicamente normal, com diferença significativa a nível de 5%. Estes achados certamente contribuirão para as futuras publicações sobre o assunto, reduzindo as inconsistências quanto as denominações das descrições clínicas e histológicas e das hipóteses de patogênese apresentadas.

O componente colagênico também é maior na FGH ($\bar{x} = 20,512 \pm 0,235$ ou 82,04%) quando comparado com o da gengiva clinicamente normal ($18,983 \pm 0,24$ ou 75,93%) ao nível de 1% de significância.

SHIRASUNA et al (1989), utilizando técnica de cultura de tecido, avaliaram a velocidade de crescimento de fibroblastos cultivados da fibromatose gengival (que denominaram de "congénita") e a quantidade de substância intercelular, incluindo colágeno e glicosaminoglicanos, sintetizados por estas células. Concluíram que as células da fibromatose gengival possuíam uma taxa de crescimento mais lenta, em cultura, quando comparadas com as células do tecido gengival normal, e a quantidade de colágeno produzidas por estas células foi muito maior do que a produzida por células controle. Fica porém a dúvida quanto ao caráter hereditário da alteração, já que o tecido gengival avaliado como FGH, foi obtido de dois irmãos cujos pais e outros membros da família (por três gerações) não possuíam qualquer alteração gengival semelhante. Os autores consideraram muito pequena a probabilidade de ocorrência de uma mutação genética em ambos, acreditando que o aumento gengival foi consequência da transmissão de um gen autossômico recessivo. Porém a falta de outros membros afetados, principalmente nas gerações familiares precedentes, leva a crer que o aumento gengival visto neste trabalho pode não ter caráter hereditário. A mesma dúvida pode ocorrer no trabalho de JOHNSON et al (1986), no qual foram cultivados fibroblastos gengivais obtidos de uma criança, de 13 anos de idade, portadora de aumento gengival severo, sem que qualquer outro membro da família apresentasse a anormalidade. Estas células, em cultura, apresentaram taxa de crescimento menor que as células obtidas de um adulto jovem normal, porém comparável a de um paciente da mesma idade e sexo. A quantidade de proteína total sintetizada pelas células do aumento gengival foi igual a das células controle, porém a quantidade de

colágeno foi metade da produzida pelas células controle.

KILPINEN et al (1978), descreveram uma família com portadores da FGH associada a um retardo na erupção da dentição permanente e no crescimento esquelético. O aumento gengival esteve presente nas gerações precedentes do lado materno. Membros desta mesma família foram avaliados por COLLAN et al (1982) e OIKARINEN et al (1990). COLLAN et al (1982), sugeriram que o retardo do crescimento poderia não ter relação direta com o aumento gengival, sendo posteriormente diagnosticado uma deficiência de hormônio do crescimento nos membros afetados.

OIKARINEN et al (1990), relataram que fibroblastos do tecido conjuntivo da FGH associada à deficiência de hormônio do crescimento, possuem taxa de crescimento menor, em cultura, quando comparados com fibroblastos do tecido conjuntivo da gengiva clinicamente normal. A FGH associada à deficiência do hormônio do crescimento pode constituir-se em uma alteração diferente da FGH não associada, portanto, células obtidas do tecido conjuntivo destas alterações, podem não possuir o mesmo padrão de crescimento em cultura.

Seria viável considerar que células, quando em cultura, não estariam sujeitas aos fatores modificadores do crescimento, ou seja, um sistema de inibição do crescimento poderia atuar no tecido gengival normal e ser menos ativo na FGH, ou então, um fator estimulador do crescimento dos fibroblastos, geneticamente transmitido, poderia ocorrer nos portadores da FGH.

COLLAN et al (1982), observaram na FGH, dois tipos de fibroblastos: células "ativas" em áreas ricas em substância intercelular amorfa e pobre em colágeno, e células "pouco ativas" em áreas

ricas em fibras colágenas. Isto não correspondeu às observações de BARROS (1991), em microscopia eletrônica, do tecido obtido dos integrantes da mesma família utilizada no presente estudo, onde não foram identificados fibroblastos com aspectos morfológicos sugestivos de baixa atividade, e nem áreas onde o colágeno fosse escasso.

Os impactos sobre as demais estruturas como vasos sanguíneos (incluindo sua luz), células inflamatórias, estruturas nervosas, estruturas ou células não identificadas e porções do tecido não preenchidas (provavelmente contendo substância fundamental) foram registrados sob a designação "outros". Estes componentes foram menos frequentes na FGH ($2,109 \pm 0,206$ ou 8,43%) do que na gengiva normal ($3,944 \pm 0,249$ ou 15,77%). Este fato está de acordo com as observações de que na FGH existe pouco ou nenhum infiltrado inflamatório (ZACKIN & WEISBERGER, 1961; EMERSON, 1965; TAKAGI et al, 1991) e pouca vascularização (YOKOYA, 1962; JORGENSON & COCKER, 1974) e contrário as observações de proliferação vascular associadas a infiltrado histiolinfoplasmocitário (GENOVESE, et al, 1987; GIAMMINOLA et al, 1990).

Como continuidade deste trabalho, poderia ser aplicada à FGH, a metodologia proposta por DAHLLOF et al (1984), que consiste na utilização de cortes semi-finos (0,9 micrômetros) incluídos em resina epoxi que aumentam a resolução e confiabilidade da análise estereológica (WEIBEL, 1979), já que em tecidos embebidos em parafina, pode haver uma contração linear de 25% (WEIBEL, 1963), não desejável, principalmente quando se pretende determinar as proporções em volume em valores absolutos. Os cortes embebidos em epoxi possuem uma resolução ideal para microscopia de luz,

minimizando o efeito de sobreposição ou efeito HOLMES que ocorre em cortes de maior espessura, que necessita ser compensado para determinações não comparativas (WEIBEL, 1979).

Sabe-se que a quantidade de colágeno tipo V geralmente fica aumentada em condições patológicas inflamatórias e fibroproliferativas, cicatrizes e carcinomas (OOSHIMA, 1981; MORTON & BARNES, 1982). Seria portanto interessante a investigação desta característica para a FGH nos moldes realizados por NARAYANAN & PAGE (1985) no aumento gengival provocado pela Dilantina.

Estudos histoquímicos são necessários para se avaliar em profundidade o significado do aumento do componente colagênico.

Portanto, segundo os resultados obtidos neste estudo, a FGH parece possuir um aumento na população de fibroblastos e da substância intercelular (colágeno) em detrimento dos demais componentes (vasos, outras células, nervos, espaços entre os feixes de fibras). Considerando o aumento da densidade celular e sua importância quanto ao conceito fundamental de "hiperplasia", podemos classificar a FGH como uma hiperplasia dos fibroblastos do tecido conjuntivo gengival.

CONCLUSÕES

Os dados obtidos pela aplicação do método morfométrico de contagem de pontos, através da lente ocular integradora KPL-W-10X (25 pontos), em microscopia de luz, com aumento de 1000X (imersão), aos cortes de 5 (cinco) micrômetros de tecido conjuntivo gengival obtido de pacientes portadores da FGH e de pacientes com gengiva clinicamente normal permitem concluir:

1-) O tecido conjuntivo da FGH apresenta uma população de fibroblastos maior (média de $2,37 \pm 0,776$ impactos por campo ou 9,48% em volume) quando comparado com o tecido conjuntivo da gengiva clinicamente normal (média de $2,063 \pm 0,109$ impactos por campo ou 8,25% em volume) ao nível de significância de 5%.

2-) O componente colagênico do tecido conjuntivo da FGH é maior (média de $20,512 \pm 0,235$ impactos por campo ou 82,04% em volume) do que o da gengiva clinicamente normal (média de $18,983 \pm 0,24$ impactos por campo ou 75,93% em volume) ao nível de 1% de significância.

3-) As estruturas vasculares, células inflamatórias, estruturas nervosas, estruturas ou células não identificadas e porções do tecido conjuntivo não coradas (provavelmente contendo substância fundamental) foram menos frequentes no tecido conjuntivo da FGH (média de $2,109 \pm 0,206$ impactos por campo ou 8,43% em volume) quando comparadas ao tecido conjuntivo da gengiva clinicamente normal (média de $3,944 \pm 0,249$ impactos por campo ou 15,77% em volume) ao nível de 1% de significância.

4-) O aumento de volume gengival na FGH é consequência de uma população maior de fibroblastos e maior quantidade de colágeno em comparação ao tecido conjuntivo da gengiva clinicamente normal de indivíduos não portadores de FGH.

5-) Considerando-se a maior densidade celular da FGH podemos classificá-la como um fenômeno hiperplásico.

RESUMO

A *Fibromatose Gengival Hereditária* (FGH) refere-se a aumentos do volume gengival de aspecto fibroso, transmitidos geneticamente. O padrão de hereditariedade é autossômico dominante na maioria das vezes, e recessivo em alguns casos.

A literatura sobre a FGH é composta em sua maioria, por relatos de casos, sendo que as afirmações quanto à alterações na densidade dos componentes teciduais foram feitas, até o momento, sem um critério objetivo de quantificação. O objetivo do presente trabalho é verificar possíveis alterações no componente fibroblástico e colagênico do tecido conjuntivo da FGH, em comparação ao tecido gengival clinicamente normal. Foram então comparados morfometricamente, através da técnica de contagem de pontos, com o auxílio de uma lente ocular integradora Zeiss (kpl-w 10x) de 25 pontos e objetiva de imersão, o tecido conjuntivo obtido de 10 pacientes portadores da FGH e 10 voluntários com gengiva clinicamente normal (GCN).

Os dados obtidos mostraram que o tecido conjuntivo da FGH apresentou uma população de fibroblastos maior, por campo, ($2,37 \pm 0,776$ ou 9,48% em volume), que o tecido conjuntivo da GCN ($2,063 \pm 0,109$ ou 8,25%), com grau de significância de 5%. Da mesma forma, o componente colagênico apresentou-se aumentado na FGH ($20,512 \pm 0,235$ ou 82,04%) quando comparado aos valores da GCN ($18,983 \pm 0,240$ ou 75,93%) com significância ao nível de 1%. Estruturas vasculares, células do infiltrado inflamatório, estruturas nervosas, estruturas ou células não

identificadas e porções do tecido não coradas (preenchidas provavelmente por substância fundamental) obtiveram valores de densidade inferiores para a FGH ($2,109 \pm 0,206$ ou 8,43%) do que para na GCN ($3,944 \pm 0,249$ ou 15,77%) ao nível de significância de 1%.

Conclui-se portanto que o aumento de volume gengival visto na FGH é resultado de uma hiperplasia dos fibroblastos do tecido conjuntivo gengival associada a um componente intercelular maior (colágeno) do que ocorre no tecido conjuntivo da GCN.

SUMMARY

Hereditary gingival fibromatosis (HGF) is a benign oral disease characterized by a slowly progressive enlargement of the gingiva usually transmitted by a dominant autosomal gene. It is not known the pathogenetic mechanism associated with this gingival enlargement, or the proportion between fibroblasts and collagen fibers. Therefore in this work the density of fibroblasts and collagen content in HGF was estimate morphometrically using the direct point counting technique. Biopsies were obtained from 10 volunteers with clinically healthy gingiva (CHG) and 10 patients with HGF. The specimens were fixed in 10% formalin and 5 μ m parafin sections were stained with H.E. The density of fibroblasts and collagen were estimate using a x100 objective and x10 Zeiss integration ocular of 25 test points. The average of fibroblasts per field in HGF was 2.370 ± 0.77 corresponding to 9.48% in volume and in CHG was 2.063 ± 0.109 and 8.25%, significant at 5% level. The values for collagen content in HGF were 20.512 ± 0.235 or 82.04% and for CHG were 18.983 ± 0.240 or 75.93%, significant at 1% level. Other estructures in HGF had the densities of 2.109 ± 0.206 or 8.43% and in CHG the densities of 3.944 ± 0.249 or 15.77%, significant at 1% level.

These results indicate that HGF can be considered a gingival hyperplasia.

REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS *

- 1- ALDRED, M.J. & CRAWFORD, P.J.M. Juvenile hyaline fibromatosis. *Oral Surg*, 63: 71-7, 1987.
- 2- ALVANDAR, G. Elephantiasis gingivae: report of an affected family with associated hepatomegaly, soft-tissue skeletal abnormalities. *J. all-India dent. Ass.*, 37: 349-53, 1965.
- 3- ANAVI, Y., et al. Idiopathic familial gingival fibromatosis associated with mental retardation, epilepsy and hypertrichosis. *Devl Med. Child Neurol.*, 31: 538-42, 1989.
- 4- ANDERSON, J.M. & DUNNILL, M.S. Observations on the estimation of the quantity of emphysema in the lungs by the point-sampling method. *Thorax*, 20: 462, 1965.
- 5- ————. & LOWE, J. Histometry and image analysis. In: BANCROFT, J.D. & STEVENS, A., ed. *Theory and practice of histological techniques*. 3.ed. London, C. Livingstone, 1990. cap. 30, p. 597-618.
- 6- BALL, E.L. Case of gengivoma or elephantiasis of the gingiva. *J. Periodont.*, 12: 96-103, 1941.

De acordo com NB-66 da ABNT de 1978. Abreviaturas de acordo com o World List Scientific Periodicals.

- 7- BARROS, S.P. Fibromatose gengival hereditária - aspectos morfológicos e ultraestruturais. Piracicaba, 1991. [Tese (mestrado) - FOP-UNICAMP] .
- 8- BASS, C.G. An effective method of personal oral hygiene. J. La med. Soc., 106: 100-12, 1954.
- 9- BOZZO, L., et al. Hereditary gingival fibromatosis: report of an extensive four-generation pedigree. 1993 [no prel.].
- 10 BUCHNER, H.J. Diffuse fibroma of the gums: report of two cases. J. Am. dent. Ass., 24: 2003, 1937.
- 11- BYARS, L.T., et al. Congenital macrogingivae (fibromatosis gingivae) and hypertrichosis. Am. J. Orthod. oral Surg., 31: 48-51, 1945.
- 12- CERNEA, P., et al. Les hyperplasies gingivales familiares. Revue Stomat., 56: 620-6, 1955.
- 13- CHALKEY, H.W. Method for the quantitative morphologic analysis of tissues. Natn. Cancer Inst., 4: 47, 1943.
- 14- CLARK, D. Gingival fibromatosis and its related syndrome: a review. J. Can. dent. Ass., 53: 137-40, 1987.
- 15- COLLAN, Y.; RANTA, H; VARTIO, T. Histochemical and biochemical study of hereditary fibrous hyperplasia of the gingiva. Scand. J. dent. Res., 90: 20-8, 1982.

- 16- CROSS, H.E.; MCKUSICK, V.A.; BREEN, W. A new oculo-cerebral syndrome with hipopigmentation. *J. Pediat.*, 70: 398-406, 1967.
- 17- CUESTAS-CARNERO, R. & BORNANCINI, C.A. Hereditary generalized gingival fibromatosis associated with hypertrichosis: report of five cases in one family. *J. oral maxillofac. Surg.*, 46: 415-20, 1989.
- 18- DAHLLOF, G., et al. A quantitative analysis of connective tissue components in phenytoin-induced gingival overgrowth in children - a estereological study. *J. Periodont. Res.*, 19: 401-7, 1984.
- 19- DELESSE, M.A. Procédé mécanique pour déterminer la composition des roches. *C. r. Acad. Sci.*, 25: 544, 1847.
- 20- EMERSON, T.G. Hereditary gingival hyperplasia: a family pedigree of four generations. *Oral Surg.*, 19(1): 1-9, 1965.
- 21- ENGLERT, R.J. & LEVIN, I.S. Diffuse osteofibromatosis: a symptom complex. *Oral Surg.*, 7: 837-41, 1954.
- 22- FARRER-BROWN, G.; LUCAS, P.B.; WINSTOCK, D. Familial gingival fibromatosis: an unusual pathology. *J. oral Path. Med.*, 1: 76-83, 1972.
- 23- FISHER, C. The new Quantimet 720. *Microscope*, 19: 1, 1971.

- 24- FLETCHER, J.P. Gingival abnormalities of genetic origin: a preliminary communication with special reference to hereditary generalized gingival fibromatosis. *J. dent. Res.*, 45(suppl.3): 597-612, 1966.
- 25- FURTWÄENGLER, A. Zur frage der aetiologie der gingivitis hypertrophicans. *Dtsch Mschr Zahnheilk*, 45: 999-1004, 1927. Apud TAKAGI, M, et al., op. cit. ref. 71.
- 26- GENOVESE, W.J., et al. Fibromatose gengival idiopática: relato de um caso. *Revta Odont. Univ. S. Paulo*, 1(4): 58-60, 1987.
- 27- GIAMMINOLA, E; MAZZA, M; BASSETTI, E. Iperplasia fibrosa idiopatica. *Dent. Cadmos*, 20: 72-5, 1990.
- 28- GILES, W.S. & AGNEW, R.G. Idiopathic fibrous hyperplasia of the edentulous maxillary ridges. *J. Periodont.*, 31(3): 210-6, 1960.
- 29- GORLIN, R.J.; PINDBORG, J.; COHEN, M. Syndrome of the head and neck. 2.ed. New York, McGraw-Hill, 1976.
- 30- GROSS, S.D. Case of hypertrophy of the gums. *Louisville Rev.* Apud TAKAGI, M, et al., op. cit. ref. 71.
- 31- HARTSFIELD, J.K.; BIXLER, D.; RAZEN, R. Gingival fibromatosis with sensorineural hearing loss: an autosomal dominant trait. *Am. J. med. Genet.*, 22: 623-7, 1985.

- 32- HASSEL, T.M.; PAGE, R.C.; LINDHE, J. Histologic evidence for impaired growth control in diphenylhydantoin gingival overgrowth in man. *Archs oral Biol.*, 23: 381-4, 1978.
- 33- HENEFER, E.P. & KAY, L.A. Congenital idiopathic gingival fibromatosis in the deciduous dentition: report of a case. *Oral Surg.*, 24(1): 65-70, 1967.
- 34- HINE, M.K. Fibrous hyperplasia of gingiva. *J. Am. dent. Ass.*, 44: 681-91, 1952.
- 35- HOLMES, A.H. Petrographic methods and calculation. London, Murby, 1927.
- 36- HORNING, G.M., et al. Gingival fibromatosis with hypertrichosis: a case report. *J. Periodont.*, 56: 344-7, 1985.
- 37- ITO, J. Fibroma of the gingiva: report of a case. *Nihon Shika Kokukagakukaishi*, 4: 1-6, 1922. Apud TAKAGI, M. et al., op. cit. ref. 71.
- 38- JAMES, P.L., et al. Gingival fibromatosis: report of a case. *J. oral Surg.*, 29: 55-9, 1971.
- 39- JOHNSON, B.D., et al. A defect in fibroblasts from an unidentified syndrome with gingival hyperplasia as the predominant feature. *J. Periodont. Res.*, 21: 403-13, 1986.

- 40- JONES, G.; WILROY, R.S.; MC HANEY, V. Familial gingival fibromatosis associated with progressive deafness in five generations of a family. *Birth defects*, 13(3b): 195-201, 1977.
- 41- JORGENSON, R.J. & COCKER, M.E. Variation in the inheritance and expression of gingival fibromatosis. *J. Periodont.*, 45(7): 472-7, 1974.
- 42- KATZ, J., et al. Familial gingival fibromatosis: No correlation with HLA-antigen: a family study. *J. clin. Periodont.*, 16: 660-1, 1989.
- 43- KILPINEN, E., et al. Hereditary gingival hyperplasia and physical maturation. *Scand. J. dent. Res.*, 86: 118, 1978.
- 44- KISS, P. Gingival fibromatosis, mental retardation, epilepsy and hypertrichosis. *Devl Med. Child Neurol.*, 32: 459-60, 1990.
- 45- KRATZ, C.L. & MORIN, C.K. Hereditary gingival fibromatosis: a child affected with concurrent abnormalities. *J. Periodont.*, 11: 187-92, 1987.
- 46- LABAND, P.F., et al. Hereditary gingival fibromatosis: report of an affected family with associated splenomegaly and skeletal and soft-tissue abnormalities. *Oral Surg.*, 17(3): 339-51, 1964.
- 47- LLOYD, K.M. & DENNIS, M. Cowden's disease: a possible new symptom complex with multiple system involvement. *Ann. intern. Med.*, 58: 136-42, 1963.

- 48- LÖE, H. The gingival index, the plaque index and the retention index system. *J. Periodont.*, 38: 610-6, 1967.
- 49- MCINDOE, A. & SMITH, B.O. Congenital familial fibromatosis of the gums with the teeth as a probable aetiological factor: report of an affected family. *Br. J. plast. Surg.*, 11: 62-71, 1958.
- 50- MCKENZIE, D.H. The Fibromatoses: a clinico-pathological concept. *Br. med. J.*, 4: 277-81, 1972.
- 51- MORTON, L.F. & BARNES, M.J. Collagen polymorphism in the normal and diseased blood vessel wall. Investigation of collagen types I, III and V. *Atherosclerosis*, 42: 41-51, 1982.
- 52- MURRAY, J. On three peculiar cases of molluscum fibrosum in children. *Med. Chir Trans.*, 56: 235-53, 1873. Apud TAKAGI, M., et al., op. cit. ref. 71.
- 53- NASSE, B.K. *Wschr*, 32: 574, 1895. Apud JAMES, P.L., et al., op. cit. ref. 38.
- 54- NARAYANAN, A.S. & PAGE, R.C. Synthesis of type V collagen by fibroblasts derived from normal, inflamed and hyperplastic human connective tissues. *Collagen Rel. Res.*, 5: 297-304, 1985.
- 55- NEVIN, N.G., et al. Hereditary gingival fibromatosis. *J. ment. Defic. Res.*, 15: 130-5, 1971.
- 56- OIKARINEN, T., et al. Hereditary gingival fibromatosis associated with growth hormone deficiency. *Br. J. oral maxillofac. Surg.* 28: 335-9, 1990.

- 57- OKA, M., et al. Congenital familial fibromatosis of the gums associated with glomerulonephritis: report of a case of sudden death. Jap. J. oral maxillofac. Surg., 20: 237-68, 1974.
- 58- OOSHIMA, A. Collagen α B chains: increased proportion in human atherosclerosis. Science, 213: 666-8, 1981.
- 59- RAESTE, A.M.; COLLAN, Y.; KILPINEN, E. Hereditary fibrous hiperplasia of the gingiva with varying penetrance and expressivity. Scand. J. dent. Res., 86: 357-65, 1978.
- 60- RAMON, Y.; BERMAN, W.; BUBIS, J.J. Gingival fibromatosis combined with cherubism. Oral Surg., 24(4): 435-48, 1967.
- 61- REDMAN, R.S.; WARD, C.C.; PATTERSON, R.H. Focus of epithelial dysplasia arising in hereditary gingival fibromatosis. J. Periodont., 56: 158-62, 1985.
- 62- ROBBINS, S.L.; ANGEL, M.; KUMAR, V. Patologia básica. 3.ed. São Paulo, Atheneu, 1986.
- 63- RUSHTON, M.A. Hereditary or idiopathic hyperplasia of the gums. Dent. Pract., 7(5): 136-46, 1957.
- 64- RUTHERFORD, M.E. Three generations of inherited dental defect. Br. med. J., 2: 9-11, 1931.
- 65- SALINAS, C.F. Oro dental findings and genetic disorders. Birth defects, 18(1): 79-120, 1982.
- 66- SAVARA, B.S., et al. Hereditary gingival fibrosis study of a family. J. Periodont., 25(1): 12-21, 1954.

- 67- SCHROEDER, H.E. & MUNZEL-PEDRAZZOLI, S. Correlated morphometric and biochemical analysis of gingival tissue. *J. Microsc.*, 99: 301-29, 1973
- 68- SHAPIRO, S.D. & JORGENSEN, R.J. Heterogeneity in genetic disorders that affect the orofacies. *Birth defects.*, 19(1): 155-65, 1983.
- 69- SHIRASUNA, K., et al. Abnormal cellular property of fibroblasts from congenital gingival fibromatosis. *J. oral Path. Med.*, 7: 381-5, 1989.
- 70- ————, et al. A sibling case of congenital gingival fibromatosis: treatment and post-operative evaluation. *J. Osaka Univ. dent. Soc.*, 28: 1-8, 1988.
- 71- SKRINJARIC, I. & BACIC, M. Hereditary gingival fibromatosis: report on three families and dermatoglyphic analysis. *J. Periodont. Res.*, 24: 306-9; 1989.
- 72- TAKAGI, M., et al. Heterogeneity in the gingival fibromatosis. *Cancer*, 68: 2202-12, 1991.
- 73- THOMPSON, J.S. & THOMPSON, M.W. *Genetics in medicine*. 3.ed. Philadelphia, Saunders, 1980.

- 74- WEIBEL, E.R. Morphometry of the human lung. New York, Academic Press, 1963.
- 75- ———. Stereological Methods. New York, Academic Press, 1979.
- 76- ———. & ELIAS, H. Introduction to stereological principles. In: ———. & ———., ed. Quantitative methods in morphometry. Berlin, Springer, 1967.
- 77- WESKI, H. Elephantiasis gingivae hereditaria. Dtsch Mschr Zahnheilk, 38: 557-84, 1920. Apud TAKAGI, M., et al., op. cit. ref. 71.
- 78- WINSTOCK, D. Hereditary gingivofibromatosis. Br. J. oral maxillofac. Surg., 2: 59-64, 1964.
- 79- WITKOP, C.J. Heterogeneity in mental traits, gingival fibromatosis and amelogenesis imperfecta. South Med., 64(suppl.1): 16-25, 1971.
- 80- YOKOYA, M.M. Fibromatous gingival hypertrophy: report of two cases. Oral Surg., 15(8): 904-10, 1962.
- 81- ZACKIN, S.J. & WEISBERGER, D. Hereditary gingival fibromatosis: report of a family. Oral Surg., 14(7): 828-36, 1961.
- 82- ZEGARELLI, E.V., et al. Idiopathic gingival fibromatosis. Am. J. dig. Dis. 8: 782-8, 1963.

APÊNDICE

Dados obtidos através da utilização da técnica morfométrica de contagem de pontos; com o uso de uma lente ocular integradora ZEISS Kpl-W-10x, com aumento de 1000x, em cortes de 5 (cinco) micrômetros, corados pela hematoxilina e eosina. Registro dos impactos por campo sobre fibroblastos, colágeno e outros componentes obtidos através de 5 (cinco) leituras por lâmina, em 3 (três) lâminas por espécime, em 10 (dez) espécimes por grupo, totalizando 7500 pontos registrados nos grupos de gengiva clinicamente normal e FGH são apresentados nas tabelas a seguir :

GRUPO NORMAL:

ESPECIME : N 1								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
3	17	5	2	20	3	2	17	6
2	15	8	3	17	5	1	16	8
3	16	6	2	17	6	2	15	8
2	20	3	1	21	3	2	20	3
3	15	7	1	18	6	3	16	6
Σ 13	83	29	9	93	23	10	84	31
$\bar{x}$ 2,6	16,6	5,8	1,8	18,6	4,6	2,0	16,8	6,2

ESPECIME : N 2								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
1	20	4	2	16	7	2	20	3
2	21	2	1	17	7	1	17	7
1	21	3	1	19	5	2	19	4
3	20	2	1	21	3	3	19	3
2	20	3	2	22	1	4	18	3
9	102	14	7	95	23	12	93	20
1,8	20,4	2,8	1,4	19,0	4,6	2,4	18,6	4,0

ESPECIME : N 3								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
3	15	7	1	16	8	2	23	0
1	18	6	2	21	2	2	19	4
1	20	4	1	20	4	2	20	3
3	17	5	1	20	4	0	21	4
1	21	3	2	17	6	1	19	5
9	91	25	7	94	24	7	102	16
1,8	18,2	5,0	1,4	18,8	4,8	1,4	20,4	3,2

ESPECIME : N 4								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
1	20	4	2	18	5	1	22	2
2	19	4	1	20	4	2	21	2
1	17	7	1	19	5	2	18	5
2	17	6	4	20	1	4	16	5
4	14	7	3	17	5	1	20	4
10	87	28	11	94	20	10	97	18
2,0	17,4	5,6	2,2	18,8	4,0	2,0	19,4	3,6

ESPECIME : N 5

LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
2	15	8	1	24	0	1	19	5
2	21	2	3	18	4	2	17	6
3	20	2	2	22	1	3	18	4
2	20	3	3	17	5	3	18	4
1	20	4	1	19	5	4	16	5
10	96	19	10	100	15	13	88	24
2,0	19,2	3,8	2,0	20,0	3,0	2,6	17,6	4,8

ESPECIME : N 6

LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
2	21	2	3	21	1	2	16	7
2	19	4	2	20	3	1	19	5
2	19	4	2	18	5	2	19	4
1	19	5	3	16	6	3	20	2
2	21	2	3	17	5	1	22	2
9	99	17	13	92	20	9	96	20
1,8	19,8	3,4	2,6	18,4	4,0	1,8	19,2	4,0

ESPECIME : N 7

LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
1	20	4	1	19	5	2	17	6
1	21	3	3	22	0	2	22	1
1	22	2	2	16	7	1	21	3
1	19	5	1	21	3	1	21	3
2	18	5	3	18	4	1	22	2
6	100	19	10	96	19	7	103	15
1,2	20	3,8	2,0	19,2	3,8	1,4	20,6	3,0

ESPECIME : N 8

LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
4	17	4	1	22	2	1	21	3
3	18	4	2	21	2	5	19	1
4	20	1	1	23	1	2	21	2
2	20	3	3	20	2	3	18	4
2	22	1	4	16	5	2	20	3
15	97	13	11	102	12	13	99	13
3,0	19,4	2,6	2,2	20,4	2,4	2,6	19,8	2,6

ESPECIME : N 9

LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
2	19	4	2	21	2	3	19	3
1	19	5	5	16	4	2	20	3
3	16	6	2	20	3	2	17	6
4	18	3	2	22	1	2	19	4
3	20	2	1	22	2	2	21	2
13	92	20	12	101	12	11	96	18
2,6	18,4	4,0	2,4	20,2	2,4	2,2	19,2	3,6

ESPECIME : N 10

LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
5	15	5	2	19	4	1	20	4
3	20	2	3	19	3	1	18	6
2	18	5	2	19	4	3	19	3
2	19	4	4	18	3	2	15	8
2	16	7	1	21	3	1	20	4
14	88	23	12	96	17	8	92	25
2,8	17,6	4,6	2,4	19,2	3,4	1,6	18,4	5,0

GRUPO DA FGH:

ESPECIME : F 1								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
1	20	4	4	20	1	2	22	1
2	22	1	2	22	1	2	21	2
2	22	1	2	23	0	3	21	1
2	19	4	5	20	0	2	20	3
3	20	2	2	23	0	3	21	1
Σ 10	103	12	15	108	2	12	105	8
$\bar{x}$ 2,0	20,6	2,4	3,0	21,6	0,4	2,4	21,0	1,6

ESPECIME : F 2								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
1	23	1	3	19	3	2	23	0
3	19	3	4	20	1	1	22	2
2	21	2	2	22	1	2	22	1
2	21	2	1	23	1	2	19	4
3	20	2	2	21	2	2	20	3
Σ 11	104	10	12	105	8	9	106	10
$\bar{x}$ 2,2	20,8	2,0	2,4	21,0	1,6	1,8	21,2	2,0

ESPECIME : F 3

LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
1	21	3	2	20	3	1	20	4
4	18	3	3	19	3	2	19	4
2	20	3	2	19	4	4	17	4
1	20	4	3	20	2	2	21	2
3	18	4	5	18	2	1	22	2
11	97	17	15	96	14	10	99	16
2,2	19,4	3,4	3,0	19,2	2,8	2,0	19,8	3,2

ESPECIME : F 4

LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
2	22	1	1	23	1	3	21	1
3	21	1	2	22	1	2	20	3
2	19	4	2	23	0	2	20	3
3	21	1	3	19	3	2	21	2
3	20	2	4	20	1	3	19	3
13	103	9	12	107	6	12	101	12
2,6	20,6	1,8	2,4	21,4	1,2	2,4	20,2	2,4

ESPECIME : F 5

LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
3	22	0	2	21	2	3	21	1
2	22	1	1	18	6	1	24	0
2	21	2	3	21	1	1	23	1
1	23	1	3	22	0	2	19	4
4	19	2	4	20	1	1	22	2
12	107	6	13	102	10	8	109	8
2,4	21,4	1,2	2,6	20,4	2,0	1,6	21,8	1,6

ESPECIME : F 6								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
6	16	3	4	17	4	3	21	1
3	22	0	2	17	6	1	20	4
3	18	4	1	22	2	2	21	2
5	17	3	4	19	2	2	21	2
2	22	1	2	22	1	3	20	2
19	95	11	13	97	15	11	103	11
3,8	19,0	2,2	2,6	19,4	3,0	2,2	20,6	2,2

Σ
 $\bar{x}$

ESPECIME : F 7								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
3	22	0	2	22	1	4	18	3
4	19	2	3	22	0	3	21	1
1	22	2	3	21	1	1	22	2
3	20	2	3	21	1	2	21	2
1	23	1	2	23	0	2	19	4
12	106	7	13	109	3	12	101	12
2,4	21,2	1,4	2,6	21,8	0,6	2,4	20,2	2,4

Σ
 $\bar{x}$

ESPECIME : F 8								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
3	18	4	2	19	4	2	21	2
2	21	2	3	20	2	2	23	0
2	18	5	3	19	3	2	22	1
1	20	4	2	22	1	2	20	3
1	19	5	2	23	0	1	22	2
9	96	20	12	103	10	9	108	8
1,8	19,2	4,0	2,4	20,6	2,0	1,8	21,6	1,6

Σ
 $\bar{x}$

ESPECIME : F 9								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
2	16	7	4	20	1	2	21	2
3	18	4	5	18	2	3	19	3
2	21	2	3	19	3	2	21	2
3	18	4	1	18	6	3	21	1
2	20	3	2	18	5	1	22	2
Σ 12	93	20	15	93	17	11	104	10
$\bar{x}$ 2,4	18,6	4,0	3,0	18,6	3,4	2,2	20,8	2,0

ESPECIME : F 10								
LAMINA 1			LAMINA 2			LAMINA 3		
fibl	f col	outs	fibl	f col	outs	fibl	f col	outs
3	22	0	2	20	3	1	23	1
3	21	1	1	23	1	1	24	0
3	20	2	2	22	1	2	17	6
5	17	3	3	21	1	3	21	1
1	23	1	2	22	1	1	21	3
Σ 15	103	7	10	108	7	8	106	11
$\bar{x}$ 3,0	20,6	1,4	2,0	21,6	1,4	1,6	21,2	2,2