

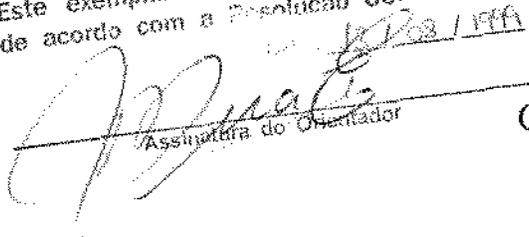
**SIMONE DE CÁSSIA PORTELA BARBOSA**

---

**FREQUÊNCIA DE FIBROBLASTOS  
CILIADOS EM DIFERENTES TECIDOS  
CONJUNTIVOS DO CAMUNDONGO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco - Dental ( Área de Histologia ) Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

Este exemplar foi devidamente corrigido,  
de acordo com a Resolução CCPG-036/83

  
Assinatura do Orientador

Orientador: Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes  
FOP - UNICAMP

---

**PIRACICABA - SP**

1999

UNIDADE	BC		
N.º CHAMADA:			
V.	Es.		
TOMBO BC/	38923		
PRDC.	229/99		
C	<input type="checkbox"/>	D	<input checked="" type="checkbox"/>
PREÇO	R\$ 11,00		
DATA	03/10/99		
N.º CPD			

CM-00126402-6

#### Ficha Catalográfica

B234f

Barbosa, Simone de Cássia Portela.  
Frequência de fibroblastos ciliados em diferentes tecidos conjuntivos do camundongo. / Simone de Cássia Portela Barbosa.  
– Piracicaba, SP : [s.n.], 1999.  
67p. : il.

Orientador : Prof. Dr. Pedro Duarte Novaes.  
Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual de Campinas, Faculdade de Odontologia de Piracicaba.

1. Periodontia. 2. Fibroblastos. 3. Ciliado. 4. Microscopia eletrônica. 5. Tecido conjuntivo. I. Novaes, Pedro Duarte. II. Universidade Estadual de Campinas. Faculdade de Odontologia de Piracicaba. III. Título.

Ficha catalográfica elaborada pela Bibliotecária Marilene Girello CRB / 8 – 6159, da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Piracicaba / UNICAMP.

**SIMONE DE CÁSSIA PORTELA BARBOSA**

---

**FREQUÊNCIA DE FIBROBLASTOS  
CILIADOS EM DIFERENTES TECIDOS  
CONJUNTIVOS DO CAMUNDONGO**

Tese apresentada ao Curso de Pós-Graduação em Biologia e Patologia Buco - Dental ( Área de Histologia ) Faculdade de Odontologia de Piracicaba, Universidade Estadual de Campinas, para a obtenção do Título de Mestre em Ciências.

---

**PIRACICABA – SP  
1999**

UNICAMP  
BIBLIOTECA CENTRAL



A Comissão Julgadora dos trabalhos de Defesa de Tese de MESTRADO, em sessão pública realizada em 24 de Junho de 1999, considerou a candidata SIMONE DE CÁSSIA PORTELA BARBOSA aprovada.

1. Prof. Dr. PEDRO DUARTE NOVAES

2. Profa. Dra. MARIA LUIZA OZORES POLACOW

3. Prof. Dr. JOSÉ MERZEL



**Dedico**

**Ofereço**

À Deus, o “tudo” de minha vida.

Aos meus pais Maria e Vlademir, pelo amor sem limites de sacrifício, e pelos seus exemplos de honestidade de vida e luta

Aos meus irmãos José Guilherme e Cristiane pelo carinho

Ao meu filho Bruno que tanta alegria e ensinamentos trouxe em minha vida, me fazendo mais forte para lutar a favor de meus objetivos

Ao José Francisco pelos momentos que juntos passamos, e pelo apoio nas horas de dificuldades

Ao Professor Doutor Pedro Duarte Novaes, do Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia de Piracicaba - UNICAMP que com atenção orientou este trabalho.



## **AGRADECIMENTOS**

## **AGRADECIMENTOS**

Ao Prof. Dr. Francisco Borba Ribeiro Neto, responsável pelo início da minha carreira, exemplo de honestidade profissionalismo, agradeço sinceramente pela confiança e amizade;

À Prof<sup>ª</sup>. Miralva Aparecida de Jesus Silva, pela amizade, pela ajuda na preparação da Qualificação e por tantas outras vezes;

À Prof<sup>ª</sup>. Dra . Luíza Ishikawa Ferreira, pela ajuda e pela força no início do curso;

Ao Prof. Luís Fernando Beraldo, pela ajuda indispensável no início do curso;

À Prof<sup>ª</sup>. Dra. Darcy Tosello e ao Prof. Dr. José Francisco Höfling, pela avaliação no Exame de Qualificação, e pelo estímulo profissional;

Às senhoras Maria Aparecida Santiago Varella e Ivani Odas Demétrio técnicas do Laboratório de Histologia, pelo auxílio e pelos ensinamentos iniciais deste trabalho;

À técnica Eliene Aparecida Orsini Narvaes Romani, agradecimento especial pelo auxílio no preparo do material utilizado nesse trabalho, bem como os cortes para a microscopia eletrônica;

À secretária Suzete Regina Tobias Neder pela ajuda na utilização do computador;

Ao funcionário Marcos do Departamento Gráfico pela preparação de figuras;

À Heloisa Maria Ceccoti, funcionária da Biblioteca da Faculdade de Odontologia

de Piracicaba – UNICAMP, pelo gentil atendimento e pela ajuda valiosa na execução desse trabalho;

Ao Engenheiro Agrônomo Marcelo Alves Corrêa - Centro de Informática de Agricultura - (CIAGRI) - ESALQ/ USP, pela análise estatística;

À Profª. Dra. Gláucia Bovi Ambrosano pela atenção e pelos trabalhos estatísticos;

Aos amigos de Curso, em especial Silvana Furlan, Roselaine Palhares Alves e todos aqueles que de alguma forma colaboraram para a realização desta Tese.

## SUMÁRIO

1. LISTAS-----	03
2. RESUMO-----	07
3. ABSTRACT-----	11
4. INTRODUÇÃO-----	15
5. MATERIAIS E MÉTODOS-----	23
6. RESULTADOS-----	29
7. DISCUSSÃO DOS RESULTADOS-----	41
8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS-----	61

**LISTAS**

---

## 1. LISTAS

### 1.1 ESQUEMAS, FIGURAS E TABELAS-----p

- Fig. 1 – Esquema do segmento transversal ao corpo da mandíbula-----23  
correspondente ao primeiro molar.  
A – ligamento periodontal de molar  
B – ligamento periodontal de incisivo
- Fig. 2 – Fibroblasto do ligamento periodontal de incisivo em secção-----29  
longitudinal apresentando invaginação da membrana plasmática  
em torno da emergência do cílio (→). 30.400x.
- Fig. 3 –Fibroblasto do ligamento periodontal de molar, em secção-----30  
longitudinal apresentando um par de corpúsculos basais (→) e  
vacúolo contendo colágeno (▶).30.400x.
- Fig. 4 –Fibroblasto do ligamento periodontal de incisivo apresentando-----31  
cílio, secção transversal (→). 26.600x. Detalhe no canto  
inferior esquerdo da foto. Observar que o arranjo de microtúbulos  
segue o padrão 9+0. 66.500x.
- Tabela 1. Número total, média e porcentagens de fibroblastos ciliados nos-----32  
diferentes tecidos conjuntivos do camundongo.
- Fig. 5 - Gráfico das porcentagens de fibroblastos ciliados em diferentes-----33  
tecidos conjuntivos do camundongo.
- Tabela 2. Porcentagens estimativas de fibroblastos ciliados nos diferentes-----36  
tecidos do camundongo.

Fig. 6 – Gráfico da estimativa de fibroblastos ciliados em diferentes-----37  
tecidos conjuntivos do camundongo, obtidos, através de  
medidas à microscopia de luz e microscopia eletrônica.

#### **ABREVIATURAS E PALAVRAS EM LATIM**

% = por cento

Fig. = figura

µm = micrometro

x = vezes

et al. = e outros ( abreviatura de “et alli”)

FOP = Faculdade de Odontologia de Piracicaba

UNICAMP = Universidade Estadual de Campinas

## **RESUMO**

---

## 2. RESUMO

A frequência de fibroblastos ciliados foi estudada em tecidos conjuntivos, que diferem entre si pela origem e pela atividade metabólica. Utilizou-se 7 camundongos machos, pesando em média 36g, e colhidas amostras dos seguintes tecidos: gengiva, ligamento periodontal de incisivo e de molar, todos de origem ectomesenquimal e derme de origem mesodérmica. Foram contados 600 fibroblastos por tecido de cada animal, no aumento de 16.000x ao microscópio eletrônico de transmissão. Todas as células com cílios foram fotografadas e não foi encontrada nenhuma particularidade em relação a sua localização, porém os cílios examinados apresentaram um padrão 9+0 de microtúbulos o que sugere que sua função não esteja relacionada com a motilidade.

Os resultados estatísticos não indicaram diferença entre a frequência de fibroblastos ciliados quando se comparou ligamento periodontal de incisivos e de molares (  $p < 0,05$  ) contudo esta frequência no ligamento se apresentou maior quando comparada com a gengiva e a derme. A diferença estatística foi detectada na comparação entre gengiva e derme, sendo significativamente maior na gengiva. (  $p < 0,05$  ).

Embora a função desses cílios permaneça desconhecida, nosso estudo indicou que a frequência de fibroblastos ciliados poderia estar relacionada à atividade metabólica do tecido que é maior no ligamento periodontal de incisivos e de molares e menor na derme, ficando a gengiva em posição intermediária.

## **ABSTRACT**

---

### 3. ABSTRACT

The frequency of ciliated fibroblasts was determined in connective tissues of different embryological origin and metabolic activity. Seven male mice, weighting 36g, were used. Samples of gingiva, molar and incisor periodontal ligament and skin were fixed in glutaraldehyde, and embedded in araldite. Six hundred fibroblasts per tissue from each animal were counted at a magnification of 16.000x of the transmission electron microscope and every ciliated cell was photographed. The cilia showed a 9+0 microtubule pattern which indicates that they are not related to cell motility. There was no statistical difference in the frequency of ciliated fibroblasts of periodontal ligament when incisors and molars, were compared. However this frequency was higher ( $p.<0,05$ ) in comparison with the one of dermis and gingiva. Statistical difference was detected when gingiva and dermis were compared, being significantly higher in the gingiva ( $p.<0,05$ ). Although a sensorial function has been suggested the role of this organelle in fibroblasts is unknown. Their frequency, however, could be related to the metabolic activity of the tissues, which is higher in periodontal ligament fibroblasts, lower in dermal ones, and with the gingival fibroblasts at an intermediate position.

## **INTRODUÇÃO**

---

#### 4. INTRODUÇÃO

O naturalista e fabricante de microscópio dinamarquês, Antonie van Leeuwenhoek no século XVII, ao observar micróbios com seus instrumentos descreveu o animálculo com “sua barriga achatada, e dotada de diversos pés incrivelmente finos ou pequenas pernas que se movem com muita agilidade”.

As pernas ágeis que Leeuwenhoek observou eram cílios. Depois que eles os descreveu foram descobertos em grande variedade de células vivas desde protozoários até células da traquéia humana.

Cílios são processos filiformes que se projetam em feixes paralelos a partir do ápice de algumas células epiteliais. Esses cílios medem cerca de 7 - 10 $\mu$ m de comprimento e 0,2  $\mu$ m de diâmetro, envolvidos por uma invaginação da membrana plasmática, agem como remos para mover uma corrente líquida paralela a superfície de uma célula estacionária. Por exemplo, o batimento coordenado de células que revestem as vias respiratórias servem para expulsar partículas estranhas; Células como espermatozóides, são propelidos por flagelos que constituem a sua cauda. De uma forma geral a função de motilidade é desempenhada através do batimentos de cílios e flagelos e dependem da interação de um par de diferentes proteínas, dineína e tubulina.

Cílios com estas características, constituem-se por 20 microtúbulos, formados por subunidades proteicas conhecidas como  $\alpha$  e  $\beta$ - tubulinas, dispostos em 1 par central envolto por nove pares periféricos.

De cada par periférico estendem-se um par de braços compostos por proteína dineína com atividade ATPase, e entre os pares existem pontes de nexina. Como são organelas essencialmente móveis acredita-se que a ação ciliar resulta do movimento longitudinal das duplas, sendo esse movimento pode ter uma rapidez de 600 a 1300 batimentos por minuto.

Os microtúbulos formam o fuso mitótico, que organiza os movimentos de cromossomos da divisão celular, servem de trilhos para o movimento de vesículas e organelas dentro das células como no transporte de vesículas secretórias ao longo dos axônios de neurônios, acredita-se também que os microtúbulos citoplasmáticos facilitam o transporte intercelular de organelas, partículas e macromoléculas.

O transporte de vesículas é mais notável nos neurônios onde ocorre rapidamente e por longas distâncias. As vesículas movem-se do corpo celular para as terminações nervosas com velocidades de até  $5\mu\text{m/s}$  permitindo que atravessem uma distância de 1 metro em cerca de 1 dia ( JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1990 ). A cinesina é uma das várias proteínas que participam do movimento de vesículas de microtúbulos, esta é uma grande proteína hidrossolúvel, que liga-se a um receptor específico na membrana da vesícula

ligam-se a um microtúbulo sugerindo que elas "andam sob trilhos" de microtúbulos.

Cílios em células que normalmente não os apresentam, foram descritos por ZIMMERMAN ( 1898 ) no túbulo renal de coelho e vesícula seminal humana; MUNGER ( 1958 ), nas células  $\beta$  das ilhotas de Langerhans; em células da adenohipófise por DINGERMANS, 1969; DAHL, 1967 , nas células epiteliais do túbulo proximal e distal do néfron normal por WEBBER & LEE, 1975 em carcinoma renal LATTA ET AL, 1961, fibroblastos ciliados em tumor do cérebro humano por SCHUSTER, 1964 e fibroblastos da polpa KUBOTA, 1977 e fibroblastos do ligamento periodontal dos incisivos por BERTSEEN ET AL, 1975.

STUBBLEFIELD & BRINKEY ( 1966 ), interpretaram que a capacidade de formação de cílio é comum a todas as células. Estes cílios, embora apresentem algumas características semelhantes aos de padrão 9+2 geralmente não se encontram morfológicamente normais em relação aos microtúbulos que os compõem, além de mostrarem-se na maioria das vezes de uma forma solitária. KUBOTA ( 1977 ) descreveu um padrão 9+0 de microtúbulos em fibroblastos da polpa do canino de cães e terceiro molar humano. Este padrão foi descrito também por outros autores, que demonstraram essa ocorrência numa larga variedade de células, constantemente argumentando a sua improvável função de motilidade. KUBOTA ( 1977 ) ainda relata que a quantidade de microtúbulos

pode estar relacionada a sua origem celular, tomando-se como base suas observações em células de origem ectodérmica que apresentam um padrão 9+2, e células mesodérmicas que apresentam um padrão variando em: 7+2, 9+0, 8+1, etc.

Pouco é conhecido a respeito do seu desenvolvimento e sua significância funcional, assim, a função destes cílios permanece desconhecida, embora tenha sido considerado a hipótese de terem função sensorial ( BARNES, 1961; SOROKIN, 1962 ), quimiorreceptora ( MUNGER, 1958 ), resto evolutivo ( LATTA ET AL, 1961 ) ou uma organela rudimentar sem qualquer finalidade ( BARI & SORENSEN, 1965; OVERTON, 1965; DAHL, 1967).

ZEIGEL ( 1962 ) sugere que o desenvolvimento de um cílio pode ocorrer a partir da união acidental do centríolo com a membrana plasmática. A incidência de cílio em cultura de fibroblastos é alta segundo ARCHER & WHEATLY ( 1971 ), que também relaciona a frequência do cílio com a divisão celular, lembrando que a formação de corpúsculo basal de um cílio depende do centríolo, assim como a formação do fuso mitótico.

A presença dessas organelas em fibroblastos foi relatada por SOROKIN, ( 1962 ); SCHUSTER, ( 1964 ); STUBBLEFIELD & BRINKLEY, ( 1966 ); WHEATLY, ( 1969 ); ARCHER & WHEATLY, ( 1971 ); BROOKER ET AL, ( 1971 ); MARASPIN & BOCCABELLA, ( 1971 ).

BEERTSEN ET AL ( 1975 ) através da probabilidade de observar estruturas com dimensões distintas como corpúsculo basal e núcleo calcularam que uma média de 70% dos fibroblastos do ligamento periodontal do incisivo de camundongo apresentam cílios.

Não encontramos na literatura nenhum estudo que procurasse correlacionar a presença ou frequência de tais cílios nos tecidos em que foram descritos.

A ocorrência de fibroblastos ciliados permite que se correlacione sua frequência em tecidos conjuntivos de origens, taxas de proliferação e de metabolismo proteico diferentes. Este é o objetivo deste estudo e escolhemos para analisar os fibroblastos da derme ( mesoderma ), ligamento periodontal e gengiva ( ectomesenquima ) que também apresentam diferenças proliferativas e metabólicas.

## **MATERIAIS E MÉTODOS**

---

## 5. MATERIAS E MÉTODOS

Sete camundongos machos pesando em média 36g foram anestesiados com hidrato de cloral ( 400mg/Kg ) via intraperitoneal e perfundidos através do ventrículo esquerdo com fixador Karnovsky ( KARNOVSKY, 1965 ), durante 15 min. As mandíbulas foram removidas, para coletar o ligamento periodontal do incisivo, do molar e a gengiva na região de molares. Da região dorsal do animal foram coletados também fragmentos de derme. Todos os tecidos ficaram imersos no fixador por 3 horas, e de cada tecido em estudo foram retirados 3 amostras de cada animal. As mandíbulas foram separadas em hemimandíbulas e descalcificadas em EDTA 5% em tampão fosfato pH 7,3 a temperatura ambiente por um período de 45 dias, com trocas a cada 2 dias. Após a desmineralização, cada hemimandíbula foi dividida em 3 fragmentos iguais na região de 1º molar, em seguida, cada fatia foi separada em porções contendo ligamento periodontal do molar e incisivo, separadamente como mostra a Figura 1.

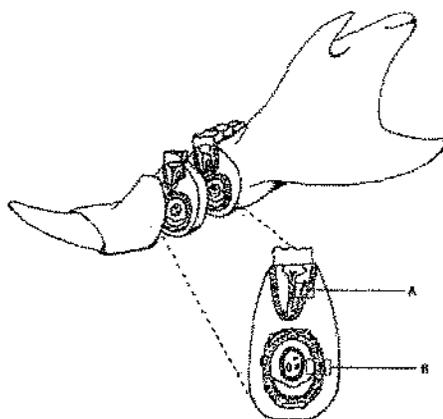


Fig. 1- Esquema do segmento transversal ao corpo da mandíbula correspondente ao primeiro molar.  
A- ligamento periodontal do molar      B - ligamento periodontal do incisivo

As amostras de ligamento periodontal de incisivo e molar, gengiva e derme foram pós-fixadas em tetróxido de ósmio 1% em tampão fosfato 0,1M pH 7,3 por 3 horas, lavadas com tampão 0,1M, desidratadas com acetona e incluídas em araldite. Foram feitos cortes ultrafinos no ultramicrotomo MT 2C e coletado em grade de furo único ( single slot, 2 X 0,5mm ), cobertas com Formvar.

Cada grade recebeu três cortes coletados com um distanciamento de 10 $\mu$ m entre um e outro e que foram contrastadas com acetato de uranila e citrato de chumbo.

No aumento de 16.000x no ecran do microscópio eletrônico de transmissão EM 10 Zeiss foram contados 200 fibroblastos por amostra somando um total de 600 fibroblastos por tecido/ animal. Totalizando 4200 células por tecido. Todos os fibroblastos ciliados foram fotografados.

A porcentagem de fibroblastos ciliados foi calculada nos diferentes tecidos, e os resultados obtidos foram submetidos a análise de variância, teste comparação de multiplas médias e intervalos de confiança através do SAS/LAB.

Além da frequência foi feito também um cálculo estimativo do número real de fibroblastos ciliados em cada tecido, segundo DINGEMANS ( 1969 )

O cálculo basea-se na probabilidade de se encontrar um cílio e um núcleo em um corte com espessura padronizada, e será explicitado no capítulo dos resultados.

## **RESULTADOS**

---

## 6. RESULTADOS

As características ultraestruturais dos fibroblastos ciliados e particularmente dos cílios não diferem nos tecidos analisados. Foram observados cílios seccionados tanto no sentido longitudinal como no sentido transversal ao longo do seu eixo, e na maioria das vezes, estavam localizados nas proximidades do núcleo, e com bastante frequência, a célula apresentava uma invaginação da membrana plasmática no local do cílio ( Fig. 2 ).

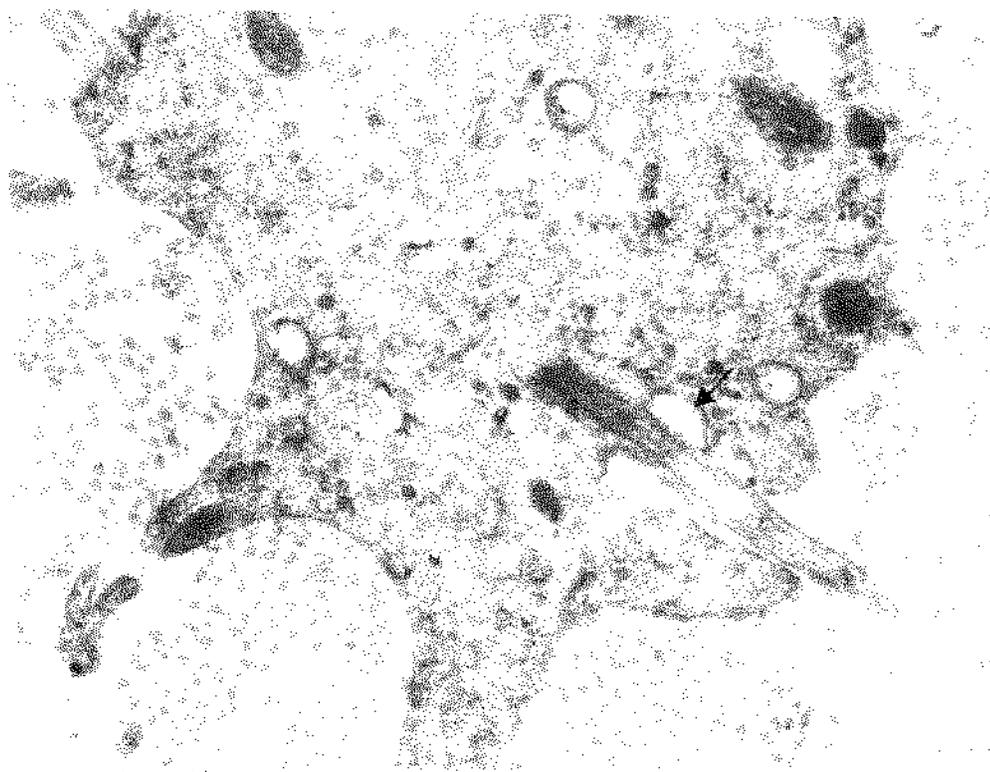


Fig. 2 - Fibroblasto do ligamento periodontal do incisivo em secção longitudinal apresentando invaginação da membrana plasmática em torno da emergência do cílio( → ). 30.400x.

Alguns cílios observados no sentido longitudinal apresentaram um par de corpúsculos basais que mediam em  $\varnothing$  médio 0,205  $\mu\text{m}$  de diâmetro (Fig. 3).

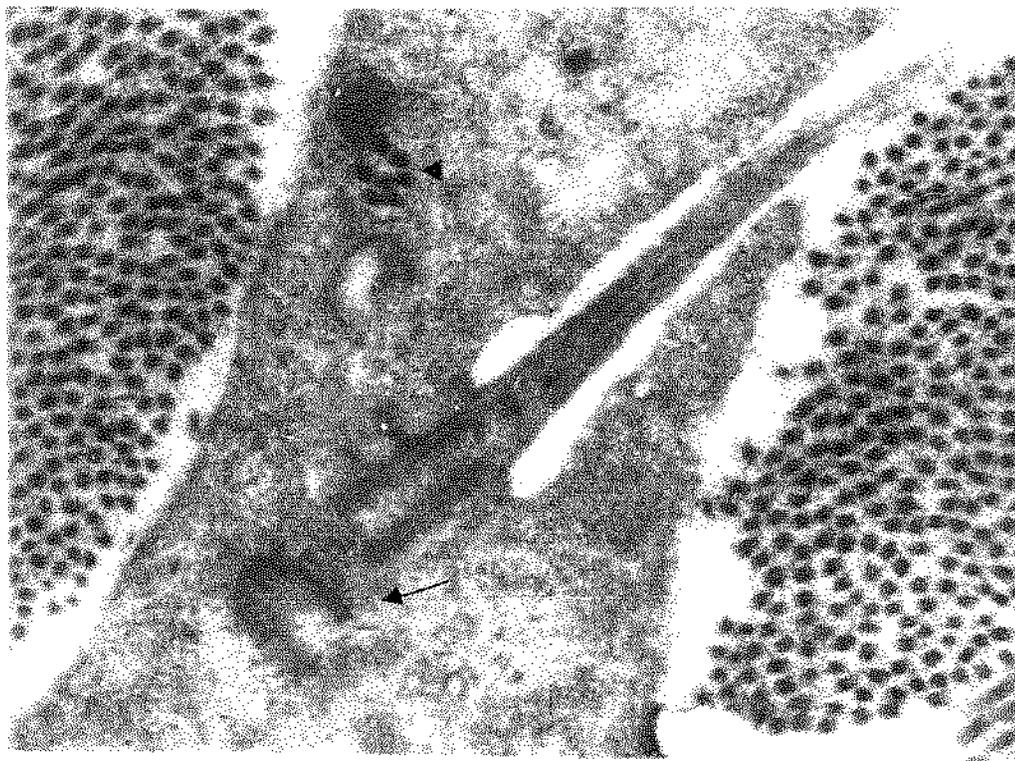


Fig. 3 - Fibroblasto do ligamento periodontal do molar, em secção longitudinal, apresentando um par de corpúsculo basal (  $\rightarrow$  ) e vacúolo contendo colágeno (  $\blacktriangleright$  )  
30.400x.

No sentido transversal os cílios apresentaram microtúbulos no padrão 9+0 ( Fig. 4 ).

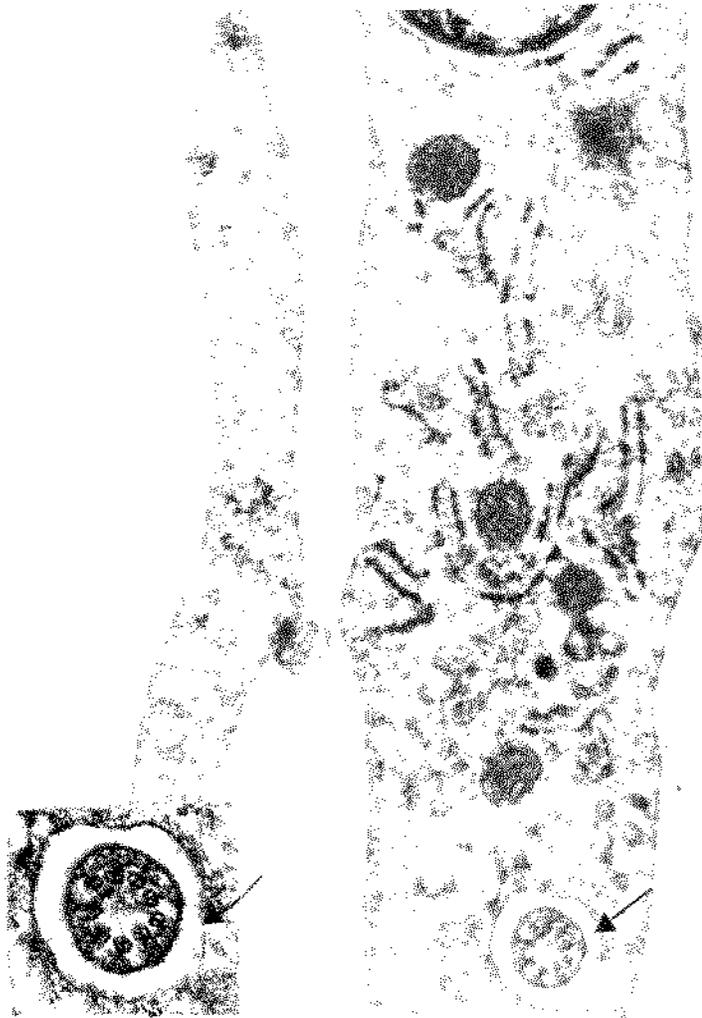


Fig. 4 – Fibroblasto do ligamento periodontal de incisivo apresentando cílio, secção transversal ( → ). 26.600x. Detalhe no canto inferior esquerdo da foto. Observar que o arranjo de microtúbulos segue um padrão 9+0. 66.500x.

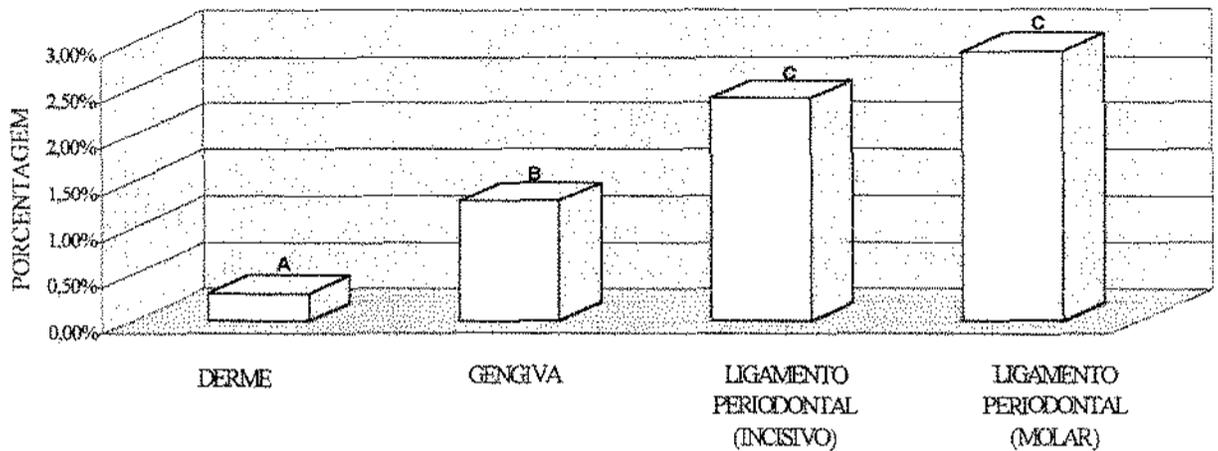
Após contagem e cálculo da frequência de fibroblastos ciliados ( Tabela 1 ) em cada tecido, a análise estatística demonstrou que a frequência de

células ciliadas do ligamento periodontal de incisivo e de molar não diferem entre si, porém esses dois tecidos apresentaram uma frequência de fibroblastos ciliados, estatisticamente maior que os da gengiva e derme, e ainda, que a frequência de fibroblastos ciliados é estatisticamente maior na gengiva do que na derme. ( Fig. 5 ).

Tabela 1. Número total, média e porcentagem de fibroblastos ciliados nos diferentes tecidos conjuntivos do camundongo.

FIBROBLASTOS CILIADOS			
TECIDO	TOTAL	MÉDIA	%
DERME	12 ( 0- 4 )	1,71( $\pm$ 1,25 )	0,29
GENGIVA	54 ( 2-15 )	7,71 ( $\pm$ 4,06 )	1,29
L.P. INCISIVO	100 ( 8-20 )	14,28( $\pm$ 4,34 )	2,38
L.P. MOLAR	119 ( 8-23 )	17,00( $\pm$ 5,41 )	2,83

Os números entre parenteses apresentam o valor menor e maior de fibroblastos ciliados contados em sete animais para cada tecido, num total de 4200 células por tecido.



Letras diferentes indicam diferença estatística significante entre si. ( $p < 0,05$ )

Fig. 5- Gráfico das porcentagens dos fibroblastos ciliados em diferentes tecidos conjuntivos do camundongo.

A estimativa do número provável de células ciliadas em cada tecido foram obtidos, segundo os cálculos de DINGEMANS ( 1969 ).

O autor estimou as probabilidades de se observar num corte o corpúsculo basal do cílio e o núcleo da célula. O corpúsculo tem morfologia uniforme e dimensões praticamente constantes nas células em que foi medido. O núcleo tem morfologia e dimensões variáveis que podem ser determinadas. Considerando-se os cortes ultrafinos de espessura uniforme calcula-se o número

de cortes necessários para cobrir a extensão de um núcleo e de um corpúsculo basal, o que resulta numa proporção. Determinando-se nos cortes o número de células que contém o núcleo e as que apresentam o corpúsculo basal, se encontrarmos a mesma proporção, a probabilidade é de 100% das células são ciliadas. Caso contrário, podemos facilmente calcular a porcentagem estimada de células ciliadas numa população.

Nas eletromicrografias em que o corpúsculo basal podia ser indubitavelmente identificado; determinamos o valor de  $0,205 \mu\text{m}$  como sendo o diâmetro médio dessa organela. Assumimos que os nossos cortes, que pela cor de interferência estavam na faixa de 60 a 90 nm, teriam na média 75 nm de espessura, resultando que seriam necessários 2,73 cortes para abranger por inteiro um corpúsculo basal.

A determinação do diâmetro médio do núcleo dos fibroblastos tem um complicador. O núcleo é fusiforme e nos cortes conforme a orientação ele pode assumir formas diversas. Presumimos que o tamanho do núcleo não varia entre os tecidos estudados e fizemos a determinação do diâmetro médio onde praticamente todas as células tem a mesma orientação: a região junto ao dente do ligamento periodontal do incisivo, usando para tanto 50 eletromicrografias no aumento de 22.000x de onde medimos o diâmetro médio de 50 núcleos e encontramos o diâmetro médio de  $2,76 \mu\text{m}$  que foi bem menor do que é referido na literatura:

6  $\mu\text{m}$ . Procedemos então a uma outra determinação . Do mesmo material em cortes semifinos, de 1  $\mu\text{m}$  de espessura corados com azul de toluidina e à microscopia de luz determinamos o diâmetro médio do núcleo do fibroblasto: 5,62 $\mu\text{m}$ , valor mais próximo do citado na literatura ( JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1990 ).

Para o valor de 2,76  $\mu\text{m}$  seriam então necessários 36,8 cortes e para 5,62  $\mu\text{m}$ , 74,9 cortes de 75 nm de espessura para abranger um núcleo do fibroblasto. Assim as proporções do número de corte para cobrir um corpúsculo / número de cortes para cobrir um núcleo do fibroblasto 2,73 / 36,8 ou 1: 13,47 na microscopia eletrônica e 5,62 / 74,9 ou 1: 27,4 na microscopia de luz.

Por exemplo, no caso da gengiva contamos 41 corpúsculos basais e 1813 núcleos. Se toda célula nucleada possuísse um corpúsculo teríamos para 1813 núcleos:

$$\frac{1813}{13,47} = 134,59$$

corpúsculos basais. Como só foram observados 41 corpúsculos teremos:

$$\frac{41}{134,59} \times 100 = 30,46\%$$

fibroblastos ciliados. Se usarmos a proporção como as medidas à microscopia de luz teremos o valor de 62,13%.

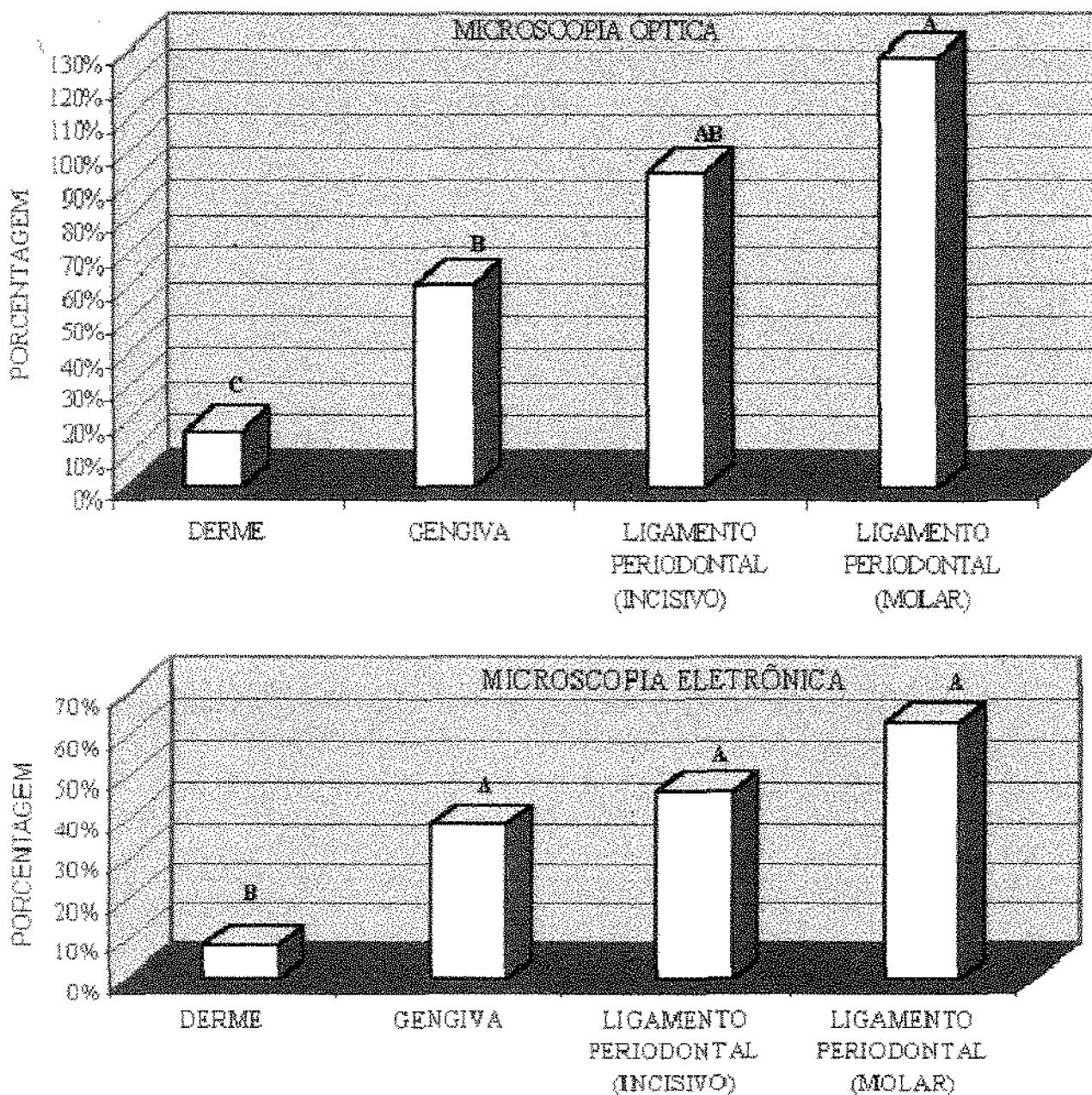
Os valores encontrados para os tecidos estudados estão na tabela 2 e Fig. 6.

Tabela 2. Porcentagens estimativas de fibroblastos ciliados nos diferentes tecidos do camundongo.

---

FIBROBLASTOS CILIADOS				
TECIDO	CORPUS.	NÚCLEO	% M. ELETR.	% M. ÓPTICA
DERME	7	1112	8,48( ± 7,26)	17,29( ±14,79)
GENGIVA	41	1813	30,46( ±32,72)	62,13(±41,55)
L.P. INCISIVO	60	1762	45,87( ±11,48)	94,04(±23,49)
L.P. MOLAR	84	1816	62,31( ±14,65)	127,06(±31,05)

---



Letras diferentes indicam diferença estatística significativa entre si ( $p < 0.05$ )

Fig. 6- Gráfico da estimativa de fibroblastos ciliados em diferentes tecidos conjuntivos do camundongo, obtido, através de medidas à microscopia de luz e microscopia eletrônica

## **DISCUSSÃO**

---

## 7. DISCUSSÃO

Os cílios normalmente encontrados em algumas células epiteliais como as encontradas no intestino, trompa, epidídimo e traquéia e brônquios são organelas tubulares, que se projetam em feixes paralelos no ápice celular, são envolvidos pela invaginação da membrana plasmática, e apresentam um padrão 9+2, assim cada axonema é acompanhado de corpúsculo basal, e acredita-se que esse é o elemento fundamental para a motilidade.

Na traquéia e brônquios exercem a função de propelar muco ou líquido em uma direção determinada, no intestino e no epidídimo desempenham a função de absorção e nas trompas uterinas onde desempenham a função de conduzir o ovócito dos ovários á tuba uterina á tuba uterina ( BRETSCHER, 1983; GIBBONS, 1981; JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1990 ).

Cílios com essas características também podem apresentar imotilidade, caracterizada por defeitos geneticamente determinados. Esses defeitos ciliares específicos incluem a falta de dineína, prejudicando assim a drenagem mucociliar, por ex. nas vias respiratórias, levando a doenças respiratórias crônicas ( LAZARIDES & REVEL, 1979 ).

Os espermatozoides possuem também em sua cauda a estrutura semelhante àquela do axonema ciliar, e graças a essa estrutura desempenham também sua função de motilidade, porém algumas vezes essa função também é interrompida por defeitos que incluem a falta dos braços de dineína, o que acarreta na sua imotilidade levando a infertilidade masculina.

O cílio singular 'ou flagelo' como eles foram primordialmente chamados, e descritos por ZIMMERMAN ( 1898 ), em observações feitas no túbulo renal de coelho e vesícula seminal humana, seria de ocorrência restrita por somente poucos tipos de células.

MUNGER ( 1958 ), descreveu a presença de cílios solitários nas ilhotas de Langerhans, em específico nas células  $\beta$ , e previa que essa organela poderia ser encontrada em todos os tipos celulares com exceção ao tecido sangüíneo, cartilaginoso e ósseo, e acreditava que apenas os tecidos produtores de hormônios desenvolveriam cílio, o que atribuiria a presença dessa organela a função de quimiorrecepção. Por outro lado, SCHERFT & DAEMS ( 1967 ), relataram que essas organelas poderiam ser encontradas também na cartilagem e nos ossos, quando analisou a cultura da cartilagem epifisial embrionária de ratos submetidos ao tratamento com hormônio paratireóideo. Em suas observações descreveu que a maioria dos cílios apresentaram o padrão 9+0, o que em seu trabalho não deu muita importância a esse padrão, uma vez que

segundo ele não seriam tão raros assim, por serem presentes em alguns neurônios e células da glia.

Em nossos estudos os cílios encontrados não se apresentaram morfológicamente normais em relação aos microtúbulos que os compõem, ou seja, demonstraram um padrão diplossomal 9+0 e singulares na maioria das vezes, como relata BARNES ( 1961 ) em células da hipófise de camundongo e SCHERFT & DAEMS ( 1967 ) em condrócitos de camundongo. Alguns autores relatam ainda que embora sejam raros, podem ser encontrados duplos em uma única célula, ( BARI & SORENSON, 1965 ), em células da hipófise de rato; ( STUBBLEFIELD & BRINKEY, 1966 e WHEATLEY , 1969 ) em cultura de fibroblastos e ( WEBBER & LEE, 1975 ) em células epiteliais da cápsula de Bowman e também no túbulo proximal e distal do rim em ratos.

KUBOTA ( 1977 ) fazendo um estudo comparativo entre o cílio solitário da polpa dental, relaciona o padrão ciliar com a origem do tecido, segundo seus achados, as células ectodérmicas teriam o padrão característico 9+2 ( BRETSCHER 1983; GIBBONS, 1981; JUNQUEIRA & CARNEIRO ) enquanto as células mesodérmicas apresentariam um padrão variável 7+2, 9+0, 8+1, 8+0, 7+0, 7+1.

SATIR ( 1965 ) estudando brânquias de mexilhões que obedecem ao padrão 9+2, descreveu que o modelo irregular poderia ocorrer próximo a ponta

dos cílios, admitindo também que em algumas espécies os filamentos centrais parecem terminar antes dos filamentos periféricos. PARK & MANABE ( 1988 ) citaram ainda que esses cílios são destituídos de braços de dineína, sugerindo que seriam organelas rudimentares, não dotadas de movimento.

BEERTSEN ET AL ( 1974 ) relataram que fibroblastos do ligamento periodontal relacionado ao dente em incisivos de ratos, migram durante o movimento eruptivo, enquanto, no ligamento relacionado ao osso alveolar, essas mesmas células permanecem estacionárias. A incidência de cílios em fibroblastos do ligamento relacionado ao dente não difere da incidência de cílios em fibroblastos do ligamento relacionado ao osso, segundo BEERTSEN ET AL ( 1975 ), demonstrando que a presença de cílio, poderia não estar relacionada a locomoção celular.

As diferenças na quantidade de fibroblastos ciliados nos nossos tecidos estudados podem estar relacionados a fatores como a origem embrionária, a capacidade de renovação celular e a atividade metabólica.

## **Origem embrionária do tecido**

O ligamento periodontal dos dentes incisivo e do molar e gengiva possuem origem ectomesenquimal, e a derme possui origem mesodérmica, o que poderia influenciar na frequência de fibroblastos ciliados.

Os resultados estatísticos mostraram que o ligamento do incisivo e ligamento do molar, que possuem a mesma origem embrionária, não foram estatisticamente diferentes entre si em relação ao número de fibroblastos ciliados que possuíam, embora, comparando esses tecidos com a gengiva, que tem a mesma origem, os resultados demonstraram que houve uma diferença estatisticamente significativa.

WHEATLEY ( 1971 ) já descreveu a possibilidade de algumas linhagens de cultura de fibroblastos se comportarem diferentemente, mostrando que tipos iguais de células, poderiam variar na frequência ciliar.

Portanto, nossos resultados e a literatura mostram que aparentemente não existe uma relação entre a frequência de cílios com a origem do tecido, embora, tivéssemos observado nesse estudo que tecidos de origem ectomesenquimal ( gengiva e ligamentos ) quando comparados com o tecido de origem mesodérmica ( derme ) possam demonstrar alguma significância.

## Capacidade de renovação celular

Por outro lado, em relação a capacidade de renovação celular, estruturas como microtúbulos são participativos no processo de segregação dos cromossomos filhos na mitose. SOROKIN ( 1962 ), relata ainda que os corpúsculos basais seriam de origem centriolar. ARCHER ( 1971 ), relacionou a freqüência do cílio com a divisão celular ou índice mitótico do tecido e descreveu um envolvimento centriolar na formação, ora do fuso mitótico que é uma estrutura temporária, ora com a formação de corpúsculo basal associado ao cílio que ele produz e permanece por um período maior de tempo. Vários autores tentaram associar essa freqüência ao estado funcional da célula, ( RASH ET AL, 1969; WHEATLEY, 1971 ) e mostraram que os cílios são exclusivos de células não mitóticas. Esse fato levou ainda WHEATLEY ( 1971 ), a dizer que o cílio está ausente somente por um período de mitose visível, e presente estritamente na interfase, a freqüência ciliar é portanto, inversamente proporcional a atividade mitótica, em contrapartida o cílio foi encontrado em células embriogênicas do miocárdio e isso se deve ao fato da atividade cardíaca ser iniciada em poucos dias de vida, o que caracteriza um processo de diferenciação celular. LATTA ET AL ( 1961 ) estudando segmentos do néfron, observou grupos de cílios em carcinoma renal, fazendo-os acreditar que o cílio pode estar associado a essa neoplasia.

PARK & MANABE ( 1988 ) estudando cílios em tumores periféricos benignos e malignos, citam que houve uma formação ciliar ativa nos tecidos de proliferação, sustentando a hipótese de que o cílio está distribuído em todos os tecidos ( MUNGER, 1958 ).

DINGEMANS ( 1969 ) relata que 70% das células da adenohipófise são ciliadas e associa essa porcentagem à mitose, pois em situação normal raramente a mitose é manifestada nessas células, em seus experimentos graças aos diferentes tratamentos por ele realizados conseguiu-se estimular a multiplicação. Nesse trabalho o autor realizou experimentos com feto de camundongo na qual observou uma alta atividade mitótica e pequena frequência ciliar. Concluiu que na adenohipófise o período de duração no qual o cílio está ausente é aparentemente muito maior do que na fase visível da mitose citando inclusive que a multiplicação de células pode ser detectada pela determinação da frequência ciliar nos diferentes tipos de células. O autor considera que os centríolos não podem estar simultaneamente envolvidos com a mitose e constituir parte da estrutura basal do cílio.

STRUGELL ET AL ( 1996 ) estudando cultura de células da epiderme normal e anormal, citaram que não necessariamente há uma relação entre atividade proliferativa, e a frequência ciliar, uma vez que as células tumorais já são conhecidas por possuírem cílios, e por outro lado existem células que mesmo

conhecidas pela alta atividade proliferativa nunca expressam cílio primário, como, hepatócitos e linfócitos.

O tempo de renovação dos fibroblastos através do índice de timidina da derme abdominal de camundongo é de aproximadamente 120 a 160 dias ( RUCHTI ET AL, 1983 ), na derme de rato variou de 100 a 500h ( MESSIER & LEBLOND, 1960 ) na gengiva de macaco ( Macaca fascicularis ) é de 94,3 a 122h dependendo da área analisada, que provavelmente apresenta populações diferentes de fibroblastos ( NEMETH ET AL, 1993 ) e de ligamento periodontal do molar de camundongo é de 14-30 dias ( DAVIDSON & McCULLOCH, 1986 ). WEISS ET AL ( 1968 ) encontraram uma variação muito grande na taxa de renovação celular em diferentes áreas do ligamento periodontal do molar de rato que foi de 15 a 263h, e HWANG & TONNA ( 1965 ) uma taxa de renovação celular no ligamento periodontal do incisivo que variou 18 a 111h.

Um tecido com alta taxa de renovação celular poderia apresentar menor número de cílios porque a atividade mitótica é maior, e portanto os centríolos estariam participando na formação do fuso mitótico, mas por outro lado, outros autores não encontraram essa relação, mais sim o inverso, isto é, quanto maior a proliferação celular, maior a frequência de cílios. E nosso estudo também mostrou que os dois tecidos que apresentavam taxa de renovação celular mais

intensa como ligamento e a gengiva, apresentaram maior frequência de fibroblastos ciliados, comparando com a derme que tem baixa renovação celular. Com estes resultados e estudos anteriores não podemos afirmar uma relação na quantidade de células ciliadas com a atividade proliferativa dos fibroblastos nestes tecidos, principalmente devido a variação na taxa de renovação celular em diferentes regiões de um mesmo tecido. PARK & MANABE ( 1988 ) sugeriram ainda que embora esse tipo de cílio não seja frequentemente encontrado em tecidos com alto índice de divisão celular, em seu trabalho, foi observado grandes quantidades de células ciliadas no tecido nervoso que apresentavam tumores malignos onde a proliferação celular e conseqüentemente a atividade mitótica seria alta, e em pequenas quantidades no tecido nervoso normal, que apresentam menor atividade mitótica, segundo suas conclusões esse fato pode indicar uma correlação reversa entre a formação ciliar e a mitose. Para explicar esse fato cita que provavelmente essas células tenham alcançado um certo grau de diferenciação o que estaria favorecendo ao desenvolvimento ciliar, levando-nos a acreditar que não só o índice mitótico é relevante para determinar a frequência ciliar, mas, também o grau de diferenciação alcançada pelo tecido. RASH ( 1969 ), considera que nessas condições o cílio pode ser formado pelo bloqueio da divisão mitótica, o que usualmente estaria associado a citodiferenciação e pode estar relacionada à formação ciliar, já que os centríolos se transformariam em corpúsculos basais ciliares, assim, o cílio pode ser considerado um fator

ultraestrutural comumente observado em alguns tecidos proliferativos do tipo embriológico, tumorais e podem estar associados a alguma forma de regulação e equilíbrio do tecido.

Podemos, ainda, acrescentar que nos tecidos tumorais, onde a proliferação celular é grande, a atividade metabólica também é, portanto, a frequência de células ciliadas poderia estar relacionada a esse fator e não a proliferação, ou renovação celular.

### **Atividade metabólica**

Compreendemos que o fator metabolismo também poderia explicar esse tipo de ocorrência ciliar e sua variação, uma vez que as diferenças no metabolismo de colágeno entre os fibroblastos destes tecidos, foram descritas por CARNEIRO E FAVA DE MORAES, ( 1965 ) e SODEK, ( 1979 ), e mostraram que este é maior no ligamento periodontal do incisivo e dos molares e menor na derme ficando a gengiva em posição intermediária. SODEK ( 1977 ) relatou que a meia vida de colágeno no ligamento periodontal é de 1 dia, na gengiva é de 5 dias e na pele é de 15 dias. Nossos resultados demonstraram que os tecidos de maior metabolismo foram os que apresentaram o maior número de

fibroblastos ciliados, enquanto a gengiva ocupou posição intermediária e a derme, que apresenta a menor atividade metabólica, foi a que apresentou menor quantidade de fibroblastos ciliados. SODEK ( 1979 ) mostrou que a renovação de colágeno no ligamento periodontal do incisivo de rato é menor que a do molar que não é um dente de erupção contínua. Uma possível explicação por não encontrarmos diferenças na frequência de fibroblastos ciliados entre incisivo e molar, é a diferença nos locais de remodelação entre esses dentes, interpretado também por KANOZA ET AL ( 1980 ). O local de renovação mais intensa do ligamento periodontal do incisivo em erupção parece restrita a uma zona intermediária ( MELCHER, 1967; BEERTSEN & EVERTS, 1974 ). Em nosso estudo analisamos o ligamento periodontal como um todo na face mesial dos dentes. BEERTSEN ET AL ( 1975 ), também estudando o ligamento periodontal do incisivo do camundongo estimaram que 70% dos fibroblastos são ciliados. Assim, nosso estudo parece mostrar uma relação entre a frequência de fibroblastos ciliados e a atividade metabólica nos diferentes tecidos conjuntivos.

Em nosso estudo, fizemos o cálculo das porcentagens através da contagem de células que apresentavam cílios e células que não os apresentavam, e encontramos diferenças estatísticas entre os tecidos estudados. Mas, apenas para comparação e discussão realizamos também o cálculo estimativo do número real de fibroblastos ciliados, como fizeram BEERTSEN ET AL ( 1975 ) no ligamento periodontal do incisivo do camundongo e DINGEMANS ( 1969 ) em células da

adenohipófise também em camundongo, apesar de algumas diferenças na metodologia utilizada, tais como:

A região escolhida do ligamento periodontal para nosso estudo foi a mesial, enquanto BEERTSEN ET AL ( 1975 ) realizou seu estudo na região lingual. A nossa escolha pela região mesial, foi pelo fato dessa região ser mais homogênea, além de apresentar menor quantidade de vasos sanguíneos, quando comparada a região lingual. BEERTSEN ET AL ( 1975 ) considerou também o ligamento em duas porções a que ele chamou de, ligamento junto ao dente, por apresentar maior densidade de células, fibras colágenas e isento de vasos e nervos e a outra porção ligado ao osso alveolar, que caracteriza-se por ter menor quantidade de células e fibras e onde localizam-se os vasos e nervos. Mais tarde, observou que não havia diferenças significativas nessas regiões em relação ao número de fibroblastos ciliados. Nós consideramos o ligamento periodontal como um todo, na porção mesial escolhida.

BEERTSEN ET AL ( 1975 ) baseou-se na observação de secções longitudinais e transversais enquanto o nosso trabalho limitou-se a análise de secções transversais, o autor também comparou as secções por ele observadas mostrando que existe uma diferença significante entre o número dos corpúsculos basais nas secções transversais e longitudinais, ou seja estas estruturas são mais frequentemente encontradas nas secções longitudinais, e isso se deve ao seu

posicionamento que, de acordo com seus achados, indicam uma maior chance de serem cortados longitudinalmente. Assim, poderíamos ter encontrado maior frequência de cílios se tivéssemos observado cortes longitudinais. Além disso, a contagem realizada por BEERTSEN ET AL ( 1975 ) considerava células na interfase e o número de centríolos e corpúsculos basais que apresentavam. Em nosso trabalho foram considerados apenas cílios e corpúsculos basais, de células que também estavam na interfase. O tecido utilizado por esse autor foi apenas o ligamento periodontal o qual apresenta seus fibroblastos em uma orientação bem definida, isto é, perpendicular ao dente. Nós comparamos tecidos que não apresentavam esta orientação como a derme e a gengiva. DINGEMANS ( 1969 ) utilizou células da adenohipófise as quais apresentavam um núcleo bem mais arredondado do que o núcleo do fibroblasto, portanto, com dimensões mais homogêneas e mais fáceis de medir, e também não compara com diferentes tecidos.

BEERTSEN ET AL ( 1975 ) que trabalhou com fibroblastos do ligamento periodontal e DINGEMANS ( 1969 ) que trabalhou com células da adenohipófise, apresentaram cálculos estimativos da quantidade real de células ciliadas, e através desses cálculos estimaram que há aproximadamente 70% de células ciliadas nos tecidos estudados. Estes autores acreditavam que os cortes

observados não eram suficientes para afirmar se uma célula era efetivamente ciliada ou não, uma vez que não se pode observar plenamente suas dimensões.

Assim, seguindo os achados de DINGEMANS ( 1969 ), calculamos proporcionalmente a quantidade de fibroblastos ciliados, medindo-se o diâmetro das bases ciliares e diâmetro do núcleo em microscopia óptica e microscopia eletrônica .

Os resultados obtidos através da microscopia óptica, mostraram que o ligamento periodontal do molar e incisivo não foram estatisticamente diferentes entre si, que o ligamento periodontal de molar foi estatisticamente diferente entre a gengiva e a derme e que o ligamento periodontal de incisivo e gengiva também não foram diferentes entre si, porém os dois tecidos foram diferentes entre a derme.

Na microscopia óptica o que nos chamou atenção é o fato do ligamento periodontal do molar apresentar mais de 100%, que poderia ser explicado pela existência de células com mais de um cílio, como as descritas em células do baço de rato por BARI & SORENSON, ( 1965 ) em fibroblastos de hamster STUBBLEFIELD & BRINKEY, ( 1966 ) em células epiteliais do túbulo renal proximal e distal por WEBBER & LEE, ( 1975 ).

Os dados obtidos através da microscopia eletrônica, mostraram que o ligamento periodontal do incisivo, ligamento periodontal do molar e gengiva não

diferem entre si, porém, todos esses tecidos foram diferentes estatisticamente quando comparados com a derme.

Entre as medidas de microscopia eletrônica e óptica observou-se uma grande variabilidade entre o tamanho do núcleo das células dos diferentes tecidos estudados. Fibroblastos são células que apresentam um aspecto fusiforme, por ser uma célula alongada, em sua extremidade aparecem prolongamentos em números e tamanhos variados, o núcleo central acompanha a forma da célula dispondo-se de uma grande variabilidade de forma e tamanho. Quanto mais fino o corte, maior a variabilidade das medidas.

A incidência do cílio nos diferentes tecidos, tem trazido muita discussão em relação a função que estes estariam desempenhando. DAHL ( 1967 ), cita algumas possibilidades, onde provavelmente o aspecto funcional não seria requerido, levando à crer que essas são apenas organelas rudimentares, embora o modelo 8+1 pode ser resultado de alguma nova função requerida, e comparando o cílio com a grande diversidade celular, esse fenômeno pode vir acompanhado de caráter funcional, ou pode ser puro incidente, que poderia ocorrer acidentalmente através da adesão do centríolo na membrana plasmática, vindo a se transformar em um cílio em muito dos inesperados locais em que foram presenciados.

Uma função sensorial tem sido mais amplamente pensada, ( BARNES, 1961; SOROKIN, 1962). Outros autores ainda tem considerado sua função quimiorreceptora. ( MUNGER, 1958; PARK & MANABE, 1988 ). Alguns autores ainda arriscam a evidenciar esse cílio como sendo uma sobra, ou resto embriológico ( OVERTON, 1965; BARI & SORENSEN, 1965 ), ou ainda aqueles que dizem ser muito difícil sugerir a função desses cílios, embora acham que eventualmente possam criar turbulência do fluxo laminar, facilitando a absorção de solutos.

Além disso existem hipóteses a respeito dos corpúsculos basais que poderiam reter alguma função detectora de sinais, inclusive aqueles situados nos órgãos de sensibilidade especial, onde são total ou parcialmente derivados de cílios modificados. Em primeiro lugar entre esses receptores, estão os fotorreceptores do olho e das células pilosas do ouvido, os cílios modificados também constituem a parte receptora de estímulos dos receptores olfativos presentes nas cavidades nasais.

GORONOVA & CHALDAKOV, ( 1989 ) estudando fibroblastos ciliados do útero de rato acreditam que sua função seja sensorial no tecido endócrino onde foi localizado permitindo provavelmente uma resposta mecano química às mudanças osmóticas. O autor também explica que parece ser possível que as

células ciliadas uterinas possam criar uma “ciliary network” atuando como aparelho sensorial.

Considerando as variações na ocorrência e na frequência ciliar, e suas prováveis causas, as indefinições da sua função, podemos dizer que essas organelas continuam sendo enigmáticas, e que ainda estamos apenas abrindo caminho a discussões e questionamentos a seu respeito.

Como esse estudo mostrou que aparentemente exista uma relação entre a frequência de fibroblastos ciliados e o metabolismo do tecido conjuntivo, novos estudos poderão ser realizados, alterando a atividade metabólica de um tecido através de droga como a ciclosporina que provoca a hiperplasia gengival ou mesmo um tecido de granulação ou tumores onde provavelmente seu metabolismo também esteja aumentado.

## **REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

## 8. REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS\*

- ALLEN, R. A. Isolated cilia in inner retinal neurons and in retinal pigment epithelium. **J. Ultrastruct. Res.**, **12**: 730-47, 1965.
- ARCHER, F. L. & WHEATLEY, D. N. Cilia in cell-cultured suredfibroblasts. Incidence in mitotic and post-mitotic BHK 21 – C13 fibroblast. **J. Anat.**, **109**: 277-92, 1971.
- BARI, W. A. & SORENSEN, G. D. Ciliated cells the spleen of adult rats. **Anat.Rec.**, **152**: 481-6, 1965.
- BARNES, B. G. Ciliated secretoy cells in the pars distalis of the mouse hypofisis. **J. Ultrastruct. Res.**, 453-67, 1961.
- BEERTSEN, W.; EVERTS, V.; VAN DEN HOOFF, A. Fine struture of fibroblasts in the periodontal ligament of the rat incisor and their possible role in the eruption. **Archs oral Biol.**, **19**: 87- 1098, 1974.
- BEERTSEN, W.; EVERTS, V.; HOUTKOOPE, J. M. Frequency of occurrence and position of cilia in fibroblasts of the periodontal ligament of the mouse incisor. **Cell tissue Res.**, **163**: 415-31, 1975.

---

\* De acordo com a NB-66, de 1978, Associação Brasileira de Normas técnicas (ABNT). Abreviatura dos periodos de conformidade com o "Word List os Scientific Periodicals".

- BRETSCHER, A. Microfilament organization in the cytoskeleton of the intestinal brushborder. In Cell and muscle motility, vol 4: Dowben R.M. Shay J.W. ( editors ) Plenum, 1983.
- BROOKER, B. E.; GOOWIN, L. G.; GUY, M. W. Ciliated fibroblasts in rabbit ear chambers. *J. Anat.*, **110**: 363-5, 1971.
- CHIBA, M. Cellular proliferation in the tooth germ of the rat incisor. *Arch. oral. Biol.*, **10**: 707-18, 1965.
- DAHL, H. A. On the cilium cell relationship in the adenohypophysis of the mouse. *Z. zellforchs.*, **83**: 169-77, 1967.
- DAVIDSON, D.; McCULLOCH, C.A.G. Proliferative behavior of periodontal ligament cell populations *J. Periodont. Res.*, **21**: 414-28, 1986.
- DINGEMANS, K. P. The relation between cilia and mitoses in the mouse adenohypophysis. *J. Cell. Biol.*, **43**: 361-7, 1969.
- GIBBONS, I. R: Cilia and Flagella of eukaryotes. *J. Cell. Biol.*, **88**: 107-113, 1981.
- GILULA, N. B.; SATIR, P. The ciliary necklace. A ciliary membrane specialization. *J. Cell. Biol.* **53**: 494-509, 1972.
- GORANOVA, V. & CHALDAKOV G.N. Ciliated fibroblasts and smooth muscle cells in the rat uterus. *Experientia* **46**: 488-9, 1989.
- HWANG, W.S.S.& TONNA E.A. Autoradiographic analysis of labeling indices and migration rates of cellular component of mouse incisors using tritiated

- thymidine (  $H_3TDR$ ) **J. Dental Res.** **44:** 42-53, 1965.
- JUNQUEIRA, L. C. *Histologia Básica*, Editora Guanabara Koogan, 7ª Edição, Rio de Janeiro, R.J., 1990.
- KANOZA, R. J.J.; KELLEHER, L.; SODEK, J.; MELCHER, A.H. A biochemical analysis of the effect of hypofunction on collagen metabolism in the rat molar periodontal ligament. **Archs. Oral Biol.**, **25:** 663-8, 1980.
- KARNOVSKY, M. J. A formadehyde - glutaraldehyde fixative of high osmolarity use in electron microscopy. **J. Cell. Biol.**, **27:** 137-8, 1965.
- KUBOTA, K.; MALLOY, J. J.; LOW, F. N. An Anusual type of cilium. **Am. J. Anat.**, **144:** 119-24, 1975.
- KUBOTA, K. Comparative study of the single cilium of dental pulp cells. **J. Nihon Univ. Sch. Dent.**, **11:** 11-5, 1977.
- LATTA, H.; MAUNSBACH, A. B.; MADDEN, S. C. Cilia in different of the rat nephron. **J. Biophy. Biochem. Cytol.**, **11:** 248-52, 1961.
- LAZZARIDES, E.; REVEL J.P. He molecular basis of cell movement. **Sci. Am.** **240:** 100-30, 1979.
- MARASPIN, L. E. & BOCCABELLA, A. V. Solitary cilia in endometrial fibroblasts. **J. Reprod. Fert.**, **25:** 343-7, 1971.
- MASUDA, M.; YAMAZAKI, K. J.; HOSODA, Y. Ultrastructure of melanocytes in the dark cell area human vestibular organs: functional implications of gap junctions, isolated cilia and anulate lamellae. **Anat.**

- Rec., 240:** 481-91, 1994.
- MEISSER, B. & LEBLOND, C. P. Cell proliferation and migration as revealed by radioutography after injection of thymidine – H<sub>3</sub> into male rats and mice. **The Amer. J. Anat., 106:** 247-65, 1960.
- MELCHER, A. H. Remodilling of the periodontal ligament during eruption of the rat incisor. **Archs. oral. Biol., 12:** 1649-52, 1967.
- MUNGER, B. L. A light and electron microscopic study of celular differentiation in the islets of mouse. **Amer. J. Anat. 103:** 275-311, 1958.
- NEMETH, E. ; KUIKARNI, G. V.; McCULLOCH, G. A. G. Distrurbances of gingival fibroblast population homeostasis due to experimentally induced inflammation in the Cynomolgus monkey (Macaca fascicularis) potential mechanism of disease progression. **J. Periodont. Res., 28:** 180-90, 1993.
- OLIVER, J. M.; OSBORNE, W. R. A.; PFEIFFER, J. R.; CHILD, F. M.; BERLIN, R. D. Purine nucleoside phosphorylase is associated with centrioles and basal bodies. **J. Cell. Biol., 91:** 837-47, 1981.
- OVERTON, J. Changes in cell fine structure during lens regeneration in *Xenopus Laevis*. **J. Cell. Biol., 24:** 211-222, 1965.
- PARK, P.; MANABE, S.; OHNO, T. Incidence and ultrastructure of rudimentary cilia in benign and malignant peripheral nerve tumores. **Ultrastruct. Path., 407-18,** 1988.

- RASH, J. E.; SHAY, J. W.; BIESELE, J. J. Cilia in cardiac differentiation. **J. Ultrastruct. Res.**, **29**: 470-84, 1969.
- ROBINS, M. W. The proliferation of pulp cells in rat incisors. **Archs. Oral Biol.**, **12**: 487-501, 1967.
- RUCHTI, C.; HALLER, D.; NUBER, M.; COTTIER, H. Regional differences in renewal rates of fibroblasts in young adult female mice. **Tissue Res.**, **232**: 625-636, 1983.
- SATIR, P. Studies on cilia. II. Examination of the distal region of the ciliary shaft and role of the filaments in Motility. **J. Cell. Biol.**, **26**: 805-34, 1965.
- SCHERFT, J. P. & DAEMS, W. T. Single cilia in chondrocytes. **J. Ultrastruct. Res.**, **19**: 546-55, 1967.
- SCHUSTER, F. L. Ciliated fibroblasts from a human brain tumor. **Anat. Rec.**, **150**: 417-22, 1964.
- SMITH, J. W.; CHRISTIE, K. N.; FRAME, J. Desmosomes, cilia and acanthosomes associated with Keratocytes. **J. Anat.**, **105**: 383-92, 1969.
- SODEK, J. A comparison of the rates of synthesis and turnover of collagen and non-collagen proteins in adult rat periodontal tissues and skin using a microassay. **Arch. oral Biol.**, **22**: 655-65, 1977.
- SODEK, J. & LIMEBACK, H. F. Comparison of the rates of synthesis conversion

- of type I and type III collagens in rat periodontal tissues. **J. Biol. Chem.**, **254**: 10496-502, 1979.
- SOROKIN, S. Centrioles and the formation of rudimentary cilia by fibroblasts and smooth muscle cell. **J. Cell. Biol.**, **15**: 363-77, 1962.
- SOROKIN, S. Reconstructions of centriole formation and ciliogenesis in mamalian lungs. **J. Cell. Sci.**, 207-30, 1968.
- STRUGNELL, G. E.; WANG, A.; WHEATLEY, D. N. Primary cilium expression in cells from normal and aberrant skin. **J. Submicrosc. Cytol. Pathol.**, **28**: 215-25, 1996.
- STUBBLEFIELD, E. & BRINKLEY, B. R. Cilia formation in chinese hamster fibroblasts in vitro as a response to colcemid treatment. **J. Cell. Biol.**, **30**: 647-52, 1966.
- WEBBER, W. A. & LEE, J. Fine structure of mammalian renal cilia. **Anat. Rec.**, **182**: 339-44, 1975.
- WEISS, R.; STAHL, S. S.; TONNA, E. A. Functional demands on the cells proliferative activity of the rat periodontium studied autoradiographically, **J. Dent. Res.**, **47**: 1153-7, 1968.
- WHEATLEY, D. N. Cilia in cell-cultured fibroblasts. I. On their ocorrence and relative frequencies in primary cultures and established cell lines lines. **J. Anat.**, **105**: 351-62, 1969.
- WHEATLEY, D. N. Cilia in cell-cultured fibroblasts. II. Relationship between

- mitotic activity and cilium frequency in mouse 3T6 fibroblasts. **J. Anat.**, **110**: 367-82, 1971.
- WHEATLEY, D. N. Cilia in cell-cultured fibroblasts. IV. Variation within the mouse 3T6 fibroblastic cell line. **J. Anat.**, **113**: 83-93, 1972.
- WHEATLEY, D. N.; FEILEN, Z. Y.; WHEATLEY, S. P. Primary cilia in cultured mammalian cells: detection with an antibody against deacylated  $\alpha$ -tubulin ( ID5 ) and by electron microscopy. **J. Submicrosc. Cytol Pathol.**, **26**: 91-102, 1994.
- WILSON, R.B. & Mc WHORTER, C. A. Isolated flagella in human skin. **Lab. Invest.**, **12**: 242-49, 1963.
- YAMAZAKI, K.; EYDEN, B. P. Ultrastructural and immunohistochemical observations on the CD34 antigen. **J. Submicrosc. Cytol Pathol.**, **27**: 309-23, 1995.
- ZAJICEK, G. Fibroblast Cell Kinetics in the Periodontal Ligament of the mouse. **Cell Tissue kinet.**, **7**: 479-92, 1974.
- ZAJICEK, G. The rodent incisor tooth proliferon. **Cell Tissue Kinet.**, **9**: 207-14, 1976.
- ZEIGEL, R. F. On the occurrence of cilia in several cell types of the chick pancreas. **J. Ultrastuct. Res.**, **7**: 286-92, 1962.
- ZIMMERMAN, K. W. Beiträge zur Kenntnis einiger Drüsen und Epithelien. **Arch. Mikrosk. Anat.** **52**: 552-706, 1898.