SÉRGIO NAKAZONE JÚNIOR

**AVALIAÇÃO COMPARATIVA DA ANATOMIA DO
DESENVOLVIMENTO DA ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR,
POR MEIO DO USO DE RESSONÂNCIA MAGNÉTICA,
RECONSTRUÇÃO DIGITAL E CORTES HISTOLÓGICOS**

São Paulo

2005

Sérgio Nakazone Júnior

**Avaliação comparativa da anatomia do desenvolvimento da
articulação temporomandibular, por meio do uso de ressonância
magnética, reconstrução digital e cortes histológicos**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia da
Universidade de São Paulo, para obter o título de
Doutor pelo Programa de Pós-Graduação em
Odontologia.

Área de Concentração: Prótese Dentária

Orientador: Prof. Dr. Tetsuo Saito

São Paulo

2005

FOLHA DE APROVAÇÃO

Nakazone Jr S. Avaliação comparativa da anatomia do desenvolvimento da articulação temporomandibular, por meio do uso de ressonância magnética, reconstrução digital e cortes histológicos [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

São Paulo, 07/03/2005

Banca Examinadora

1) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

2) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

3) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

4) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

5) Prof(a). Dr(a). _____

Titulação: _____

Julgamento: _____ Assinatura: _____

Dedico este trabalho à minha família, fonte de equilíbrio e inspiração para todas as realizações:

meus pais, Sérgio e Atsuko, com amor e admiração...

meus irmãos, Renato e Rogério, por todo carinho e força...

À Joelle-Marie, com amor, admiração e agradecimento por sua compreensão, carinho, presença e incansável apoio...

Agradecimento especial

Ao Prof. Dr. Tetsuo Saito, pelo incentivo e orientação na realização deste trabalho, como também, por todos seus ensinamentos e dedicação no compromisso do ensino.

Ao Prof. Dr. Matsuyoshi Mori, grande incentivador desta pesquisa, por seus sábios ensinamentos e incansável luta pelo saber.

Ao Prof. Dr. Edson Aparecido Liberti, exemplo profissional e de caráter humano, pela acolhida e incentivo.

Ao Prof. Dr. Said R. Rabbani, pela dedicação e contribuição para o desenvolvimento deste trabalho.

Ao Prof. Dr. Newton Maruyama, pelas horas de auxílio e contribuição neste trabalho.

À amiga e Profa. Dra. Wilma Alexandre Simões, pelo espírito vencedor e exemplo de dedicação em busca de ideais; extensivo à Lili e Ceci, pelo constante incentivo.

Aos mestres e amigos da Ortopedia, Dalton, Sakai, Marcos e Edinho, que sempre me inspiraram.

Ao Bambam, Dri, Murilo, Terçarollis, Fabinho, Flá, Paulinho, Sérgio, Duca, Déa, Aluísio, Fabi, Edu, Manolo, Ary, Cíntia, Carlão, Ivanna, Bruninho e Aline, amigos sinceros, que, direta ou indiretamente, estiveram sempre presentes contribuindo para evolução deste trabalho.

AGRADECIMENTOS

À Universidade de São Paulo e sua Faculdade de Odontologia, referência em ensino e pesquisa, pela minha formação acadêmica e profissional.

Ao Prof. Dr. João Humberto Antoniazzi, Presidente da Comissão de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo.

Ao Prof. Dr. Carlos Gil, Chefe do Departamento de Prótese da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo

Aos Professores do Departamento de Prótese da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pela amizade e convivência científica compartilhada, em especial Cláudio, Ivo, Fernando, Lupi, Tomie, Pedro, Yamada, Malu, Dalva e Cecília.

Ao Prof. Dr. Francisco de Moraes Macedo, amigo e grande incentivador deste trabalho.

Ao engenheiro Jean Louis Shinohara, pela importante contribuição e ensinamentos na parte experimental do estudo.

À Sra. Maria do Carmo Gomes do Nascimento, da Comissão de Ética em Pesquisas em Seres Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, pelo apoio a esta pesquisa.

Aos colegas e amigos do Serviço de Oclusão e ATM e da Disciplina de Prótese Parcial Fixa da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pelo suporte e apoio na execução deste trabalho; Tadashi, Toguedani, Sagara, Nakao, Hamilton, Maurício, Cláudio, Hélio, Rogério, Reinaldo, João, Carlos, Cássia, Carla, Yose, Lúcio, Lilian, Neda, Denise, Nelson, Lígia, Roxanne e Luciano.

Aos amigos, técnicos e funcionários do Departamento de Prótese da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, pela constante atenção e carinho; Coraci, Val, Sandra, Regina, Lena, Aninha, Luís, Zeza e Paula.

À Técnica em Laboratório de Histologia, Marta Maria da Silva Righetti, pela incansável ajuda na parte laboratorial do trabalho.

À Profa. Maria Heloiza Cerávolo Jung, pela eficiência na revisão de texto, meu sincero agradecimento.

Às bibliotecárias Vânia Martins Bueno de Oliveira Funaro e Maria Aparecida Pinto, pelo inestimável auxílio na finalização deste trabalho.

Às funcionárias do Serviço de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, Cátia e Nair, por me acompanharem por estes anos, sempre com muito carinho.

À minha secretária Sr^a Emília Rabelo, pela constante colaboração e carinho no decorrer destes anos.

“A mente que se abre para uma idéia jamais voltará ao seu tamanho original”

Albert Einstein

Nakazone Jr S. Avaliação comparativa da anatomia do desenvolvimento da articulação temporomandibular, por meio do uso de ressonância magnética, reconstrução digital e cortes histológicos [Tese de Doutorado]. São Paulo: Faculdade de Odontologia da USP; 2005.

RESUMO

No presente estudo realizou-se a avaliação da eficácia do exame de imagem por ressonância magnética (IRM) e de reconstruções digitais bi e tridimensionais da ATM, em diferentes estágios de desenvolvimento. Foi criado um protocolo próprio de exame de IRM, o qual foi aplicado em embriões e fetos humanos, entre 22 a 160mm de comprimento céfalo-caudal (CRL), correspondendo da 7ª a 18ª semana de vida intra-uterina (IU). Em cada amostra foram realizadas duas seqüências de imagens sagitais da cabeça inteira, com distância de 1,0mm entre os cortes. Em seguida, as imagens foram intercaladas digitalmente, gerando uma seqüência de cortes de 0,5mm distância. Estas imagens foram importadas para um programa específico que realizou a reconstrução digital, criando modelos bi e tridimensionais. Para avaliar a formação e desenvolvimento das estruturas articulares de cada uma das amostras, foram realizados cortes histológicos da ATM. O exame histológico determinou o grau de maturação da ATM e a qualidade da matriz colágena presente. Os resultados demonstraram que o protocolo desenvolvido foi capaz de capturar e processar as imagens de IRM, principalmente após a 13ª semana de vida IU, em seu estágio de maturação articular. Os cortes histológicos comprovaram que, a partir desta fase, pode-se identificar melhor as estruturas articulares no exame de IRM devido a uma maior diferenciação celular e da matriz colágena, que passa de uma composição predominante de fibras colágenas tipo III para fibras do tipo I. A criação de modelos bi e tridimensionais mostrou ser uma ferramenta eficiente no diagnóstico do desenvolvimento facial, além de facilitar sua compreensão e aprendizado, embora ainda sejam necessários maiores avanços tecnológicos para a sua aplicação na formação das estruturas da ATM.

Palavras-Chave: Articulação temporomandibular; Imagem tridimensional – ATM; Desenvolvimento – ATM; Embriologia - ATM; Ressonância Magnética - 3D; Ressonância Magnética - ATM; Ressonância Magnética – Fetos; Histologia – Fetos.

Nakazone Jr S. Comparative evaluation of the anatomical development of the temporomandibular joint, by means of magnetic resonance, digital reconstruction and histological sections. [Tese de Doutorado]. Sao Paulo: Dentistry College of the University of Sao Paulo; 2005.

ABSTRACT

The present study was carried out to evaluate the effectiveness of Magnetic Resonance Imaging (MRI) and bi and three-dimensional digital reconstructions of the TMJ in different stages of development, by the comparison with histological sections. A proper protocol of IRM examination was developed, which was applied in formalin-preserved human embryos and fetuses, ranging from 22 to 160mm of crown-rump length (CRL), between 7 and 18 weeks of intrauterine life (IU). Two sequences of sagittal images of the entire head of each specimen were performed, with interslice gap of 1,0mm. Consequently, images were digitally intercalated, creating a slice sequence of 0,5mm of interslice gap. These images were imported to the MRlcro® program for bi and three-dimensional digital reconstruction. In order to evaluate the development of the articular structures of each one of the specimens, histological sections of the TMJ were obtained. The maturation's degree and the quality of the collagen matrix of the TMJ were determined by the histological sections. The results showed that the developed protocol was capable of capture and process MR images, mainly in the articular maturation stage, after the 13th week of IU. Histological findings also showed that articular structures are better identified in this stage by RMI examination. This can be explained due to an increase of cellular and collagen matrix differentiation, which undergoes conversion from collagen type III to type I. Bi and three-dimensional models seem to be an efficient tool for the diagnosis of facial development, facilitating its understanding and learning. Further studies and technological advances may be necessary for its application in TMJ's structures in intrauterine period.

Key Word: Temporomandibular Joint; Three-dimensional image -TMJ; Development - TMJ; Embryology - TMJ; Magnetic resonance - 3D; Magnetic resonance -TMJ; Magnetic resonance - Fetuses; Histology -Fetus.

LISTA DE ABREVIATURA E SIGLAS

ATM	articulação temporomandibular
DTM	desordem temporomandibular
IU	intra-uterino
CRL	(<i>crown-rump length</i>) comprimento céfalo-caudal
GL	(<i>greatest length</i>) maior comprimento
CM	cartilagem mandibular ou de Meckel
OI	ossificação intramembranosa
OM	osso mandibular
OT	osso temporal
OC	osso condilar
CO	processo condilar
CCM	cortical da cabeça da mandíbula
MCM	medular da cabeça da mandíbula
COT	cortical do osso temporal
MOT	medular do osso temporal
DA	disco articular
EA	espaço articular
MU	músculo pterigoideo lateral
LI	língua
IRM	imagem por ressonância magnética
RMN	ressonância magnética nuclear
RF	rádio-freqüência
RSR	relação sinal/ruído

RCR	relação contraste/ruído
TC	tomografia computadorizada
T	tesla
TR	tempo de repetição
TE	tempo de eco
T1	tempo de relaxamento spin-rede
FOV	<i>(field of view)</i> campo de visão
NEX	número de excitações ou médias
PFC	plano frontal clássico
PFM	plano frontal modificado
μm	micrômetro
mm	milímetro
cm	centímetro
ms	milissegundo

SUMÁRIO

	p.
1 INTRODUÇÃO	15
2 REVISÃO DA LITERATURA.....	17
2.1 Articulação temporomandibular (ATM)	17
2.1.1 Importância e significado fisiológico	17
2.1.2 Desenvolvimento	18
2.1.2.1 Ossificação.....	22
2.1.2.2 Formação do disco e da cápsula articular	28
2.1.2.3 Desenvolvimento tardio pré-natal e pós-natal da ATM.....	30
2.1.3 Estudos histológicos.....	31
2.2 Imagem por ressonância magnética (IRM)	37
2.2.1 Conceito.....	37
2.2.2 Protocolo de exame	39
2.2.3 Comparação histológica da ATM	44
2.2.4 Reconstrução digital	46
2.2.5 Período intra-uterino	53
3 PROPOSIÇÃO	58
4 MATERIAL E MÉTODOS	59
5 RESULTADOS	74
6 DISCUSSÃO	98
7 CONCLUSÕES	119
REFERÊNCIAS	120
APÊNDICES	130
ANEXOS.....	142

1 INTRODUÇÃO

Durante as duas primeiras semanas da gestação humana, em uma acelerada seqüência de eventos após a fecundação, ocorre a clivagem do zigoto, a implantação e a formação do disco embrionário. Após as duas primeiras semanas, e até a 8ª semana de vida IU, essa massa celular toma a forma de embrião, caracterizando o período embrionário. Após a 8ª semana de gestação, o embrião assume uma aparência humana e a partir desse momento inicia-se a fase fetal, que se estende até o nascimento (BEVILACQUA; AFONSO, 2003; CARLSON, 1998; SADLER, 2000). É neste período intra-uterino, principalmente até a 22ª semana de vida IU, que se forma a estrutura articular de maior importância na odontologia, a Articulação Temporomandibular (ATM). O estudo da embriologia da ATM mostra que esta se difere consideravelmente de outras articulações, devido a sua complexa história evolutiva (MACEDO, 1998). Apesar de sua formação estar amplamente estudada na literatura (ASHWORTH, 1990; BAUME, 1970; VAN DER LINDEN; BURDI; JONGH, 1987; YOUDELIS, 1966), ainda observamos nela a existência de controvérsias no que diz respeito à cronologia e a anatomo-morfologia de seu desenvolvimento (PERRY; XU; FORBES, 1985; VELASCO et al., 1999). O exame de Imagem por Ressonância Magnética (IRM), por ser um método de diagnóstico não invasivo e de alta resolução, é o exame de eleição para este estudo, pois, além de não ser prejudicial ao paciente, é indicado para tecidos em formação que apresentam alta concentração de hidrogênio (STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994). Na área médica, a IRM é utilizada em período fetal para pesquisa de diferentes estruturas em formação, como o coração, cérebro, base craniana, fígado e sistema

vascular, dentre outros (GAREL et al., 1998; JEFFERY; SPOOR, 2004; LEVINE, SMITH, MCKENZIE, 2003; MCCARTHY, STARK, HIGGINS, 1984; MOORE; PERSAUD, 2004; SCHIERLITZ et al., 2001; SMITH; ADAM; PHILLIPS, 1983; WEINREB et al., 1985). A IRM também é considerada um método preciso para a visualização da ATM, por permitir uma resolução espacial de alta qualidade, com sinais ricos em informações, geradas pelas características dos tecidos articulares (CHEN et. al., 2000a, 2000b; CROWLEY et al., 1996; QUEMAR et al., 1989), podendo inclusive ser utilizada para gerar modelos tridimensionais (CHEN; GALLO; PALLA, 2002). Mas ainda não há estudo da aplicação da IRM na formação da ATM durante o período IU. Este trabalho tem como objetivo principal verificar a formação estrutural da ATM em diferentes fases de desenvolvimento intra-uterino e avaliar a fidelidade das imagens obtidas pela IRM, por meio da comparação destas imagens com cortes histológicos das amostras selecionadas; além de obter reconstruções bi e tridimensionais da ATM em período IU, possibilitando uma melhor compreensão e a visualização mais próxima à real dos diferentes estágios de formação das estruturas da ATM.

2 REVISÃO DA LITERATURA

Para uma melhor organização das informações obtidas na revisão da literatura, resolveu-se agrupá-las em subitens.

2.1 Articulação temporomandibular (ATM)

2.1.1 Importância e significado fisiológico da ATM

A ATM é única, desempenhando papéis importantes no crescimento, na eficiência mastigatória e na função vital da respiração, pois serve de apoio para que a mandíbula se coloque em posição favorável à passagem de ar e à fonação (ROSS; JOHNSTON, 1994). A ATM representa, na escala filogenética, uma evolução dos mamíferos frente aos répteis superiores (BAUME, 1962). Reflexos neuromusculares de proteção, tais como engolir, prender a respiração, espirrar, fungar, cuspir, tossir, náuseas, vômito, fechamento da glote têm ponto de partida nas ATMs; além do correto funcionamento de suas estruturas ser importantíssimo para a fisiologia oral (DUBNER; SESSLE; STOREY, 1978; HARRIS; OSBORN, 1985; ROSS; JOHNSTON, 1994; SIMÕES, 2003; STOREY, 1976). As ATMs desempenham importantes atividades sensoriais, pois nelas existem diferentes tipos de receptores sensoriais, pelos quais originam estímulos de sensibilidade à dor, de

posicionamento mandibular, de distância interdental e de distúrbios interdentais (KAWAMURA, 1972). No embrião humano, entre a 7ª e 8ª semana de vida IU inicia-se a condensação do tecido mesenquimal para formação da cabeça da mandíbula, do disco articular e da porção escamosa do osso temporal. Nesta fase, apesar da ausência de uma cavidade articular característica, já se pode observar pequenos movimentos bucais (VELASCO et al., 1999). No feto e no recém-nascido, na região da ATM, ocorre a permanência de tecido conjuntivo entre o osso escamosal e o timpânico, com grande significado morfofuncional para o disco articular, zona bilaminar, superfícies articulares, cápsula e ligamentos. O disco articular não é apenas um mediador dinâmico e funcional, mas também um importante intermediário no sistema de crescimento adaptativo à tensão temporomandibular (COULY, 1979; SIMÕES, 2003).

2.1.2 Desenvolvimento

No estudo da embriologia humana, sempre houve entre os pesquisadores a preocupação em se determinar a idade exata do embrião ou feto analisado. Vários métodos foram preconizados para calcular a idade, tomando como base a fecundação ou ainda, o ciclo menstrual. Baseando-se na idade de fecundação, alguns autores desenvolveram tabelas de crescimento e idade, tomando como base a medida *Crown-Rump Length* (CRL). A medida CRL representa a longitude máxima do embrião ou feto, ou distância vértex-caudal, sendo a tabela de comprimento e idade de Patten (1960) uma das mais utilizadas na literatura (ÖGÜTCEN-TOLLER;

JUNIPER, 1993), sendo aqui utilizada para embriões com mais de 28 dias (tabela 2.1). Segundo Sadler (2000), CRL é a medida da distância que vai do ápice do crânio ao ponto mediano entre os ápices das nádegas dos fetos.

Tabela 2.1 - Dados sobre CRL (mm) e idade respectiva dos embriões e fetos (Patten,1960)

Gestação	Idade em semanas	Idade em dias	A partir de CRL (mm)
1º Mes	4	28 a 34	4-5
	5	35-41	7-8
	6	42-48	12-13
	7	49-55	19-20
2º Mes	8	56-62	28-30
	9	63-69	39-41
	10	70-76	51-53
	11	77-83	64-66
3º Mes	12	84-90	77-79
	13	91-97	91-93
	14	98-104	105-107
	15	105-111	119-121
4º Mes	16	112-118	132-134
	17	119-125	± 147
	18	126-132	± 160
	19	133-139	± 173
5º Mes	20	140-146	± 185
	21	147-153	± 197
	22	154-160	± 208
	23	161-167	± 219
6º Mes	24	168-195	± 230
7º Mes	28	196-223	± 270
8º Mes	32	224-251	± 310
9º Mes	36	252-265	± 346
	38	266-272	± 362

Para embriões com menos de 28 dias, utiliza-se o termo *Greatest Length* (GL), que representa o maior comprimento longitudinal. A literatura considera como final do período embrionário a 8ª semana de vida IU, ou 56 dias, onde o embrião

mede aproximadamente 30 mm (CRL) e já mostra feições humanas, particularmente na face (KJAER; KEELING; HANSEN, 1999; O'RAHILLY; MÜLLER, 1994); é quando todos os primórdios das principais estruturas já estão presentes (MOORE; PERSAUD, 2004).

A articulação temporomandibular (ATM) representa o contato entre a mandíbula e os ossos temporais na base do crânio. Essa articulação do tipo sinovial é formada pela cabeça da mandíbula, osso temporal, disco e cápsula articulares. O desenvolvimento destas estruturas se inicia na 7ª semana de vida IU, passando por um período morfogenético crítico que perdura até a 12ª semana de vida IU (PERRY; XU; FORBES, 1985; VAN DER LINDEN; BURDI; JONGH, 1987; VELASCO et al., 1999; YOUDELIS, 1966). Baume (1962) e Morimoto, Hashimoto e Suetsugo (1987) relatam que o desenvolvimento articular se inicia aproximadamente na 8ª semana de vida IU, com o aparecimento do blastema condilar. Segundo Morimoto, Hashimoto e Suetsugo (1987), todos os componentes articulares já estariam evidentes e poderiam ser observados na 21ª semana de vida IU.

Segundo Velasco et al. (1999), três fases podem ser identificadas no desenvolvimento da ATM. A primeira é a de blastema (7ª-8ª semana de vida IU), que se corresponde à organização do côndilo, do disco articular e da cápsula. A segunda é a de cavitação (9ª-11ª semana de vida IU), que corresponde à fase de condrogênese condilar (9ª semana de vida IU) e diferenciação da parte superior da cavidade articular (11ª semana de vida IU). A terceira fase é a de maturação (depois da 12ª semana de vida IU). Avery (1994) relata o aparecimento da cavidade articular temporomandibular na 12ª semana de vida IU. Após a 14ª semana de vida IU, as estruturas que compõem a ATM assumem forma semelhante à encontrada em adultos (AVERY, 1994; GÓMES-FERRARIS; CAMPOS-MUNHOS, 1999;

ÖGÜTCEN-TOLLER; JUNIPER, 1993; VELASCO et al., 1999). Após este período, as alterações morfológicas observadas estão mais relacionadas ao crescimento e formações vasculares (VELASCO et al., 1999).

A literatura corrobora com a seqüência descrita acima, mas com algumas divergências na cronologia dos eventos (BAUME, 1962; BEVILACQUA; AFONSO, 2003; MORIMOTO; HASHIMOTO; SUETSUGO, 1987; PERRY; XU; FORBES, 1985; PROVENZA, 1988; YOUDELIS, 1966).

Segundo Perry, Xu e Forbes (1985), o aparecimento dos blastemas, inicialmente o condilar e posteriormente o temporal, ocorrem entre a 8ª e a 10ª semana de vida IU (38-45 mm CR). Entre a 9ª e 10ª semana de vida IU ocorre a formação do compartimento articular inferior (45 mm CR), com a existência de uma alta concentração de células mesenquimais no blastema condilar. Já se percebe algumas inserções do músculo Pterigóideo Lateral.

Para Morimoto, Hashimoto e Suetsugo (1987) o desenvolvimento da ATM se processa em três estágios. O primeiro é o de aparecimento (8ª-9ª semana de vida IU), que corresponde ao surgimento dos blastemas condilar e glenoideano e da ossificação intramembranosa nos processos condilar e temporal. O segundo é o estágio preliminar (10ª-17ª semana de vida IU), que corresponde à fase de formação do disco, das cavidades articulares e do aparecimento dos tecidos sinoviais, além do aparecimento da cartilagem secundária e da ossificação endocondral no processo condilar. O terceiro estágio é o de complementação (após a 21ª semana de vida IU), que corresponde ao desaparecimento da cartilagem de Meckel, aparecimento e extensão da hematopoese, crescimento do disco, da cobertura fibrosa da superfície articular, aumento da ossificação intramembranosa nos componentes temporais e da ossificação endocondral no processo condilar.

Segundo Provenza (1988), a histodiferenciação e organização dos componentes da ATM ocorrem entre a 10ª e 12ª semana de vida IU, tomando sua forma definitiva por volta da 16ª semana de vida IU. Ainda, segundo Bevilacqua e Afonso (2003), recebendo os contornos estruturais já na 22ª semana de vida IU. Ou ainda, segundo Perry, Xu e Forbes (1985), todos componentes estruturais da ATM apresentaram-se diferenciados no quarto mês, ou seja, próximo à 28ª semana de vida IU.

Como se observa, a formação da ATM ocorre precocemente na evolução intra-uterina. O correto conhecimento do desenvolvimento fisiológico pré-natal é um pré-requisito para a compreensão do desenvolvimento de patologias na região temporomandibular e auricular (BACH-PETERSEN; KJAER; FISCHER-HANSEN, 1994). A cronologia da morfogênese da região temporomandibular se mostra importantíssima na avaliação de anomalias crânio-faciais, como a microssomia hemifacial (VAN DER LINDEN; BURDI; JONGH, 1987). Autores ressaltam que a formação da ATM é complexa, originando controvérsias a respeito (PERRY; XU; FORBES, 1985).

2.1.2.1 Ossificação

O desenvolvimento ósseo ou osteogênese das estruturas orofaciais pode ocorrer em ambiente de mesênquima, chamado de intramembranoso, ou de cartilagem hialina, chamado de endocondral. A ossificação intramembranosa é rápida, consiste na formação de centros de ossificação por condensação do tecido mesenquimal, com aumento da atividade mitótica e vascular. As células

mesenquimais se diferenciam em osteoblastos, iniciando o processo de fibrinogênese e, posteriormente, da maturação da matriz óssea. Na maturação da matriz, ocorre a sedimentação de cristais de apatita junto às fibras colágenas, chamado de período de calcificação (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1971).

Segundo Provenza (1988), existem três tipos básicos de fibras protéicas intercelulares que formam a matriz do tecido conectivo extracelular: colágenas, reticulares e elásticas. Ainda segundo o autor, alguns histologistas sugerem um quarto tipo: oxitalânicas.

As fibras colágenas são acidófilas, corando-se de róseo pela técnica da hematoxilina–eosina (HE). O colágeno é a proteína mais abundante no corpo humano, representando 30% do total de proteínas do corpo (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1971). As fibras colágenas estão presentes em todos os tecidos conectivos, os quais requerem força e suporte, estando presentes em tendões, ligamentos, fascias, cápsulas e envolvendo músculos e nervos. Também são o principal componente das fibrocartilagens, derme, matrizes ósseas, cimento e dentina (PROVENZA, 1988). A do tipo I está presente na maioria dos tecidos conectivos que requerem suporte, força e resistência à tensão, e podem ser sintetizados por condroblastos, osteoblastos e fibroblastos, dentre outras células progenitoras. É o principal componente do tecido ósseo e tendões, dentre outros. A do tipo II aparece como fibrilas e está presente, dentre outras coisas, na matriz da cartilagem hialina e elástica, conferindo principalmente resistência estrutural à pressão intermitente, sendo sintetizada por condroblastos. A do tipo III normalmente é encontrada em associação com o tipo I e está presente, dentre outros, no tecido embrionário. São observadas ao microscópio de luz polarizada, através da coloração pelo método de picrosirius (JUNQUEIRA et al., 1983; JUNQUEIRA; BIGNOLAS;

BRENTANI, 1979; JUNQUEIRA; COSSERMELLI; BRENTANI, 1978; JUNQUEIRA; MONTES; KRISZTÁN, 1979; JUNQUEIRA; TOLEDO; MONTES, 1981; PROVENZA, 1988).

Junqueira, Cossermelli e Brentani (1978) verificaram que as fibras colágenas tipo I, quando observadas com coloração pelo método de picrosírius, se coram em amarelo, laranja ou vermelho. Sendo que no tecido ósseo predominantemente se coram em laranja escuro ou vermelho. Os do tipo II se coram em azul, com nuances em amarelo. As do tipo III, ao contrário das do tipo I e II que são predominantes em diferentes tecidos, são regularmente encontradas em conjunto com as fibras tipo I e apresentam coloração esverdeada.

As fibras reticulares são formadas principalmente pela proteína colágeno tipo III. Mas não são coradas pela técnica da hematoxilina-eosina, segundo Junqueira e Carneiro (1971) ou ainda em um tom quase imperceptível de rosa pálido, segundo Provenza (1988). A fibra reticular representa uma fibrila colágena que, após sua formação, recebeu uma camada de glícides e lípidos (carboidratos), a qual impede sua agregação para formar fibras complexas. Desse modo, a diferença entre a fibra reticular e a fibra pré-colágena é que esta última corresponde a uma fibrila colágena recém-formada, que continua sua polimerização para formar fibras e feixes colágenos (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 1971). No desenvolvimento, as fibras reticulares servem como sustentação para vários tecidos, sendo as primeiras a aparecer e são produzidas por células mesenquimais e fibroblastos, dentre outras. O tecido mesenquimal é o tecido conectivo progenitor, amplamente encontrado no embrião humano, possuindo o potencial de se diferenciar em outros tecidos, é rico em fibras reticulares (PROVENZA, 1988).

Junqueira, Bignolas e Brentani (1979) publicaram outro estudo sobre o método específico de coloração histológica para fibras colágenas em diferentes tecidos, inclusive em 15 diferentes animais. Descreveram a utilização do método Picrosirius, com visualização das fibras colágenas por meio de microscópio de luz polarizada, afirmando que as mesmas, em sua maioria, se coram em cor avermelhada. Por este método, as fibras colágenas tipo I, II e III são identificadas quantitativamente com maior sensibilidade e resolução. O colágeno tipo I cora-se em tons para o amarelo, laranja ou vermelho, enquanto os do tipo III mais para o esverdeado.

Na ATM pós-natal, a camada mais profunda da fibrocartilagem que recobre o processo condilar é rica em células condróides, enquanto há presença de cartilagem hialina de crescimento. Mas as fibras colágenas já se apresentam em menor número (SICHER, 1966).

A porção temporal e a mandíbula se desenvolvem por ossificação intramembranosa. A ossificação da parte escamosa do temporal, principalmente fossa e tubérculo articular, inicia-se na sétima semana de vida intra-uterina (BHASKAR, 1978). Segundo Perry, Xu e Forbes (1985), a ossificação da região temporal ocorre no período entre a 9ª e 10ª semana de vida IU. Já segundo Youdelis (1966), somente na 10ª semana de vida IU ocorre a observação de ossificação das estruturas na região temporomandibular, iniciando-se pelo blastema condilar. Baume (1962) descreve o início da formação do blastema condilar na 8ª semana de vida IU, com a rápida osteogênese da cabeça da mandíbula já na 10ª semana de vida IU, mas sem a presença de matriz cartilaginosa.

A primeira estrutura craniana a se ossificar é a mandíbula (KJAER; KEELING; HANSEN, 1999). Esta realiza seu aparecimento já na 6ª semana de vida IU, como

uma estrutura bilateral, através de uma camada delgada de osso lateral e a certa distância da cartilagem de Meckel, que representa um bastão cilíndrico de cartilagem do arco mandibular (BHASKAR, 1978). Ou senão, inicia sua formação por volta da 7ª semana de vida IU (19mm CRL), com aparecimento de sinais de condensação mesenquimal e ossificação intramembranosa da mandíbula, que ocorre bilateralmente e adjacente à região anterior da cartilagem de Meckel (BAUME, 1962). Ou ainda, iniciando a ossificação entre a 7ª e 8ª semana de vida IU, na região anterior à cartilagem de Meckel no local aonde futuramente irá se formar o germe do canino (KJAER; KEELING; HANSEN, 1999). Apesar da cartilagem de Meckel não participar diretamente do desenvolvimento do corpo da mandíbula, ela é responsável por direcionar sua ossificação (PROVENZA, 1988). Em suas porções mais distais da cartilagem mandibular, surge o esboço de dois ossículos do ouvido: o incus (bigorna) e o mallcus (martelo), que também representam a articulação temporomandibular primária e desempenham a função de articulação primitiva. Pelo menos até que a segunda articulação temporomandibular, a articulação da cabeça da mandíbula com a fossa temporal, se forme e entre em função (BHASKAR, 1978; PROVENZA, 1988; SPERBER, 1981).

Todas as regiões da mandíbula (ramo, corpo, processo condilar e processo coronóide) desenvolvem-se por ossificação intramembranosa. Apenas a superfície articular condilar e o topo do processo coronóide formam-se por ossificação endocondral. Por volta da 10ª semana de vida IU (+/-55mm), um segmento triangular de cartilagem, chamada cartilagem secundária ou acessória, desenvolve-se imediatamente posterior ao corpo da mandíbula. Esta cartilagem acessória tem ossificação endocondral e é responsável pelo desenvolvimento da superfície articular da cabeça da mandíbula e do topo do processo coronóide. Em duas

semanas a ossificação do corpo desta cartilagem e o crescimento do ramo da mandíbula encontram-se e fundem-se (PROVENZA, 1988). Entre a 10ª e 12ª semana de vida IU a cartilagem secundária surge como um importante centro de crescimento do processo condilar, produzindo grande aumento no tamanho e forma condilar (YOUDELIS, 1966). O processo condilar mandibular se forma independentemente da cartilagem de Meckel, na 12ª semana (KJAER; KEELING; HANSEN, 1999). Van der Linden, Burdil e Jongh (1987) descrevem o aparecimento de células cartilaginosas condilares entre a 9ª e 10ª semana de vida IU (40 a 50 mm CRL).

Entre a 11ª e 13ª semana, a calcificação intramembranosa do blastema condilar ocorre nas margens da cabeça da mandíbula, o processo ocorre somente na metade inferomedial. A metade superior permanece com células mesenquimais que, no centro da cabeça da mandíbula, se diferenciam em condrócitos. Nesta região de diferenciação de condrócitos é que se forma a cartilagem secundária condilar (PERRY; XU; FORBES, 1985).

Esta cartilagem condilar é o primórdio da futura cabeça da mandíbula. Células cartilaginosas diferenciam-se a partir de seu centro, e por crescimento aposicional e intersticial, a cartilagem condilar se desenvolve em tamanho. Durante a 14ª semana de vida IU, aparecem as primeiras evidências de ossificação endocondral na região condilar (SPERBER, 1981).

Na região condilar medial e superior, a cartilagem secundária forma mineralização endocondral. Abaixo temos uma zona de formação óssea aposicional, assim temos dois tipos e centros de ossificação na região condilar (PERRY; XU; FORBES, 1985).

2.1.2.2 *Formação do disco e cápsula articular*

A formação da cavidade temporomandibular entre a cartilagem condilar e o osso temporal ocorre ao redor da 12ª semana de vida IU, por meio da cavitação do tecido mesenquimal, que inicia sua diferenciação em disco articular cerca de duas semanas antes (GARTNER, 1989). Yudelis (1966) descreve evidências do início de condensação celular relacionado à formação do disco articular na 8ª semana de vida IU; enquanto Van der Linden, Burdi e Jongh (1987) descrevem a condensação mesenquimal correspondente à formação do disco articular já na 7ª semana de vida IU (21 mm CRL), com o aparecimento de evidências até a 8,5ª semana.

Segundo Bevilacqua e Afonso (2003), a partir da 11ª semana de vida IU, a extremidades anterior e posterior do disco articular expandem-se para constituir a cápsula, que é formada por um tecido conjuntivo pouco fibroso, com abundante substância fundamental amorfa, irrigação e inervação. De localização mediolateral, esta estrutura está ligada à cabeça da mandíbula e é revestida pela membrana sinovial que contém células semelhantes a fibroblastos e macrófagos. A fossa mandibular do osso temporal também inicia sua formação ao redor da 12ª semana de vida IU, quando a cavidade sinovial recobre a extremidade posterior do côndilo. Neste período, espículas do osso temporal em formação crescem em direção ao disco articular e por ossificação intramembranosa, gradualmente coalecem para formar a região medial e superior da fossa óssea de acomodamento condilar.

A formação da cavidade se inicia pelo compartimento mandibular ou inferior. A região de mesênquima adjacente à extremidade posterior da cabeça da mandíbula sofre um processo de clivagem, provavelmente provocada por morte celular programada, formando uma fenda que se estende sobre a extremidade condilar.

Poucos dias após, o compartimento temporal ou superior também se forma por um processo semelhante, levando ao aparecimento de um disco mesenquimal entre a cabeça da mandíbula e a fossa mandibular do osso temporal (VELASCO et al., 1999). A cavidade inferior inicia sua formação um pouco antes da superior, por volta da 13ª a 14ª semana de vida IU. Após isso, a mandíbula já realiza movimentos relacionados à deglutição e à sucção (KJAER; KEELING; HANSEN, 1999).

Por volta da 13ª-14ª semana de vida IU, completa-se a formação do disco articular, que consiste em uma camada pouco espessa de tecido ectomesenquimatoso, onde se observam células com características semelhantes às dos fibroblastos, incluídas em uma matriz rica em fibras colágenas e reticulares (VELASCO et al., 1999).

Os primeiros sinais de fibras colágenas no disco articular são observados entre a 10ª e 10,5ª semana de vida IU (55 mm CRL), tornando-se mais evidentes na 12ª semana de vida IU (75mm CRL). Wong, Weinberg e Symington (1985) relatam que o disco assume sua morfologia madura já na 14ª semana de vida IU, e sugerem que a anatomia do disco articular poderia estar determinada geneticamente. Na 15ª semana de vida IU o disco articular pode ser bem distinguido e é composto por finas fibras de tecido colágeno (MORIMOTO; HASHIMOTO; SUETSUGU, 1987). A partir da 19ª a 20ª semana de vida IU (178 mm CRL), o disco progressivamente alcança sua estrutura fibrosa plena (VAN DER LINDEN; BURDI; JONGH, 1987). A orientação estrutural das fibras colágenas no disco articular foi estudada por Minarelli, Del Santo Jr e Liberti (1997), os quais verificaram que no grupo de fetos de 16 a 39 semanas de vida IU a disposição das fibras colágenas já é semelhante à encontrada em recém-nascidos de até quatro meses.

2.1.2.3 *Desenvolvimento tardio pré-natal e pós-natal*

A ATM passa a desempenhar um papel funcional na fisiologia fetal a partir da 22ª semana de vida IU. Após este período, as principais alterações estruturais observadas são o aumento em dimensões e densidade do osso condilar e alterações na forma da mandíbula associadas à diferenciação dos músculos da mastigação. Ainda na vida pré-natal, aos 8 a 9 meses de vida IU, observa-se também o estreitamento da cartilagem presente na cabeça do côndilo, aparentemente decorrente de um processo de ossificação endocondral mais rápido do que o de diferenciação de novas células cartilaginosas na superfície condilar, a partir do pericôndrio. Esta faixa estreita de cartilagem condilar persiste até pelo menos os 25 anos de idade. Ao nascimento, a ATM normalmente apresenta um aspecto achatado e com dimensões reduzidas. As dimensões médias da cabeça da mandíbula são de aproximadamente 9mm no sentido mediolateral e 5mm no sentido antero-posterior (BEVILACQUA; AFONSO, 2003).

Outra característica que ocorre na vida pré-natal tardia é o crescimento de tecido conjuntivo condilar em direção ao centro desta estrutura, a partir do periósteo fibroso que o reveste. Estas estruturas carregam vasos sanguíneos para dentro da cartilagem em crescimento, tornando-a um exemplo único de cartilagem vascularizada (AVERY, 1994). Do nascimento até por volta de 25 anos de idade ocorrem alterações histomorfológicas, como a vascularização interna da ATM, que é muito acentuada ao nascimento, mas que diminui intensamente durante os primeiros seis meses de vida e, depois lentamente, até atingir sua maturidade estrutural.

O tubérculo articular e a fossa mandibular apenas começam a assumir sua forma característica após o nascimento. Durante os primeiros anos de vida a fossa

se aprofunda e o tubérculo articular se desenvolve, sendo o período de maior crescimento entre 10 e 11 anos de idade (PROVENZA, 1988). Sperber (1981) afirma que a ATM ao nascimento é uma articulação relativamente laxa cuja estabilidade depende quase exclusivamente da cápsula ligamentar e que a fossa mandibular é praticamente plana com ausência do tubérculo articular. O autor complementa que somente após a erupção da dentição decídua o tubérculo articular se torna mais proeminente, só completando seu desenvolvimento por volta dos 12 anos de idade.

2.1.3 Estudos histológicos

Existem na literatura trabalhos histológicos que mapearam a morfogênese do desenvolvimento da ATM por meio de cortes histológicos, trabalhando com amostras de embriões e fetos humanos.

Baume (1962) realizou estudo em 12 embriões e fetos, entre 15 a 72 mm de comprimento céfalo-caudal (CRL), com cortes histológicos de 5 a 8µm de espessura, corados com hematoxilina–eosina. Descreveu a aparição do blastema condilar em amostras de 24mm CRL (8ª semana de vida IU). Ressaltou que a ontogenia da mandíbula pode ser considerada mista, pois a mesma se origina como osso intramembranoso, depois incorpora elementos dos primórdios da cartilagem de Meckel e finalmente desenvolve locais de cartilagem secundária.

Youdelis (1966), em estudo clássico em 25 embriões e fetos, entre 13 e 374 mm de comprimento céfalo-caudal (CRL), utilizou cortes histológicos de 10 a 25µm de espessura com diversas colorações, dentre as quais tricromo de Masson e de

Mallory. Descreve os primeiros sinais de ossificação da mandíbula na região da sínfise, na 6ª semana de vida IU. E na região temporomandibular ao redor da 8ª semana de vida IU. Observa que as maiores alterações de desenvolvimento ocorrem entre a 10ª e 12ª semana de vida IU, quando ocorre a formação da cavidade articular inferior e, em seguida, a formação da cavidade articular superior. Ao mesmo tempo ocorre a aproximação dos processos condilar e temporal. Ressalta que teorias conflitantes sobre o desenvolvimento da ATM indicam a necessidade de maiores estudos sobre o assunto.

Baume e Holz (1970) estudaram em 11 embriões e fetos, de 24 a 72mm (CRL), corados pelas técnicas de hematoxilina-eosina, Mallory e Schiff (PAS), a formação dos componentes temporais da articulação temporomandibular. Evidenciam o aparecimento de centro de ossificação temporal em fetos de 32mm (CRL), equivalendo a 8ª semana de vida IU. Na 9,5ª semana de vida IU (50mm CRL), antes da diferenciação do côndilo, a fossa mandibular incluindo a cavidade articular inferior é observada. Descrevem a aproximação dos blastemas condilar e temporal, que irá formar a articulação tempormandibular propriamente dita, na 12ª semana de vida IU (72mm CRL). Relatam que o disco articular é derivado de ambos blastemas, a maior parte anterior origina-se do blastema condilar e a menor parte posterior do blastema temporal.

Perry, Xu e Forbes (1985) realizaram estudo de desenvolvimento embriológico da ATM, examinando 63 embriões e fetos humanos, entre 4,5 e 255 mm (CRL). Utilizaram cortes histológicos de 6µm de espessura, corados pela técnica de hematoxilina-eosina e tricromo de Milligan (para tecido conectivo). Observaram que o músculo Pterigóideo Lateral contribui diretamente para formação do disco articular, através de suas inserções no processo condilar, malleus e osso temporal.

Ainda que contribui indiretamente, por mecanismo de estimulação, para a diferenciação endocondral condilar e para a formação das cavidades articulares inferior e superior.

Wong, Weinberg e Symington (1985) realizaram estudo com 8 fetos, entre 100 e 105 mm (CRL), que correspondem de 13 a 17,5 semanas de vida IU. Utilizaram cortes histológicos de 6µm de espessura e corados pela técnica de hematoxilina-eosina e de Verhoeff. Relatam que na 13,5ª semana de vida IU se observa formação das cavidades articulares superior e inferior, e a definição do disco articular primordial. Relatam que o disco articular se aproxima da forma morfológica adulta na 14ª semana de vida IU. A partir da 14,5ª semana de vida IU, observaram um aumento do tecido conectivo colágeno e fibroso, além do aumento da densidade de células mesenquimais. Sugerem que a forma do disco articular pode ser determinada geneticamente.

Morimoto, Hashimoto e Suetsugo (1987), estudando 20 fetos com mais de 14 semanas de vida IU, medindo de 100 a 510 mm (CRL), realizaram estudo comparativo entre achados radiográficos e cortes histológicos. Utilizaram como método principal de coloração a técnica de hematoxilina-eosina. Citam que entre a 14ª e 15ª semana de vida IU não existem áreas visíveis à radiografia pela falta de calcificação. Somente aparecendo um leve contorno da ATM entre a 16ª e 19ª semana de vida IU. A partir da 21ª semana temos uma melhor visualização radiográfica das estruturas articulares.

Van der Linden, Burdi e Jongh (1987) estudaram 52 embriões e fetos, entre 32 dias e 22 semanas de vida IU, medindo entre 9 e 203 mm (CRL). Realizaram cortes de 10µm de espessura, corados com tricromo de Mallory. Realçam que as observações levam a sugerir que distúrbios de desenvolvimento podem gerar

anomalias na morfogênese das estruturas da região da ATM. Afirmaram a necessidade de identificar o período crítico da morfogênese articular, que, segundo os autores, está entre a 7ª e a 11ª semana de vida IU.

Ashworth (1990), em estudo sobre as inserções musculares no disco articular, realizou cortes histológicos de 5µm de espessura em uma coleção de fetos entre 13 e 21 semanas de vida IU. O autor, utilizando coloração pela técnica de hematoxilina-eosina e de tricromo de Gomory, demonstrou uma continuidade entre o feixe superior do músculo pterigóideo lateral, o disco articular e o ligamento anterior do maléolo.

Ögütçen-Toller e Juniper (1993) estudaram 16 embriões e fetos humanos entre 5 e 14 semanas de vida IU, medindo 6,5 a 107 mm (CRL), em cortes histológicos de 10 a 15µm corados com a técnica de hematoxilina-eosina e tricromo de Mallory. Relataram que o primeiro sinal claro de condensação celular (pré-condroblastos) da futura cartilagem mandibular (cartilagem de Meckel) ocorre na 6ª semana de vida IU (16 mm CRL). Verificaram a formação do mesênquima temporal e condilar na 7,5ª semana de vida IU (23 mm CRL). Observaram o primeiro indício de formação da cavidade articular inferior na 10ª semana de vida IU e relataram a formação de todas as estruturas articulares na 14ª semana de vida IU.

Velasco, Vasquez e Collado (1993) realizaram estudo sobre inserção muscular na cápsula articular em 20 fetos, com comprimento céfalo-caudal entre 82 e 150 mm (CRL), utilizando coloração de hematoxilina-eosina e de azocarmine. Discutiram sobre a aparente inserção do feixe posterior do temporal e do masseter diretamente no disco articular.

Bach-Petersen, Kjaer e Fischer-Hansen (1994) compararam achados radiográficos e cortes histológicos dentre uma amostra de 74 fetos entre 25 e 228

mm (CRL). Foram realizados cortes histológicos de 4µm de espessura em 5 fetos após o exame radiográfico, corados com a técnica de azul de toluidine para tecido ósseo. Os autores descreveram uma seqüência de oito fases de ossificação da região temporomandibular, iniciando a ossificação na região mandibular e maxilar em fetos de 38mm (CRL), e na região articular entre 38 e 78 mm (CRL). Afirmam que os achados radiográficos confirmam a seqüência da ossificação craniana encontrada na literatura. Ressaltaram que os achados radiográficos eram menos sensíveis do que o exame histológico, principalmente nas fases iniciais de ossificação.

Minarelli e Liberti (1996) estudaram a inserção do feixe superior do músculo pterigóideo lateral no disco articular por meio de cortes histológicos em 4 amostras de fetos entre 16 e 39 semanas de vida IU e 20 peças anatômicas de crianças e adultos. Realizaram cortes sagitais de 10µm de espessura corados pelo método de azocarmine e Masson. Verificaram que apenas nos fetos ocorria a inserção muscular antero-medialmente no disco articular, ressaltando a não diferenciação da cápsula articular nesta fase.

Velasco et al. (1999) estudaram cortes histológicos da ATM de 25 embriões e 45 fetos, com comprimento céfalo-caudal entre 21 e 150 mm (CRL), utilizando coloração de hematoxilina-eosina e de azocarmine. Verificaram que três fases podem ser identificadas no desenvolvimento da ATM. A primeira é a de blastema (7ª-8ª semana de vida IU), que corresponde à organização do côndilo, do disco articular e da cápsula. A segunda é a de cavitação (9ª-11ª semana de vida IU), que corresponde à fase de condrogênese condilar (9ª semana de vida IU) e diferenciação da parte superior da cavidade articular (11ª semana de vida IU). A terceira fase é a de maturação (depois da 12ª semana de vida IU). Após a 14ª

semana de vida IU, as estruturas que compõem a ATM assumem forma semelhante à encontrada em adultos. Identificaram que o período crítico de desenvolvimento das estruturas que compõem a ATM ocorre normalmente entre a 7ª e 11ª semana de vida IU.

Radlanski, Lieck e Bontschev (1999) realizaram uma tentativa de reconstrução tridimensional do desenvolvimento da ATM por meio de cortes histológicos da ATM de 12 fetos de 25 a 250 mm CRL. A espessura dos cortes histológicos foi de 10µm e os mesmos foram corados pela técnica de hematoxilina-eosina. Em seguida, desenharam os contornos das estruturas por meio de ampliações das imagens, para depois serem escaneados e levados ao programa Histol (List Eletronics, Darmstadt, Germany), que possibilitou a reconstrução digital tridimensional das estruturas. Ressaltaram que a visualização tridimensional dos cortes histológicos possibilitou uma melhor compreensão da morfogênese da ATM, possibilitando a observação de alterações de tamanho, proporção e forma. Apesar disto, os autores não determinaram os eventos de formação das estruturas articulares com precisão. Verificaram a formação do processo condilar em fetos entre o período de 25 a 37 mm CRL (7ª a 9ª semana de vida IU).

Segundo a literatura, os trabalhos histológicos com amostras de embriões e fetos humanos representam a melhor maneira de se estudar a morfogênese da ATM, seus estágios de desenvolvimento e maturação, servindo como referência para estudos *in vivo*.

2.2 Imagem por ressonância magnética (IRM)

2.2.1 Conceito

A Ressonância Magnética Nuclear (RMN) é uma técnica que ocorre quando núcleos atômicos (spins) com propriedades magnéticas específicas interagem com campos magnéticos externos. Um campo magnético estático, de homogeneidade e intensidade elevadas, é aplicado sobre a amostra com a função de alinhamento dos spins desta amostra, gerando uma magnetização resultante na direção deste campo. Com a aplicação de campos de rádio-freqüência em uma determinada freqüência, os spins são excitados ocasionando uma mudança de estado de energia (nível de energia). O sinal desejado é então obtido a partir da liberação de uma quantidade de energia devido ao retorno dos spins para seus estados de equilíbrio (FUKUSHIMA; ROEDER, 1981).

O conceito básico da técnica foi primeiramente descoberto por Bloch e Purcell¹ (1946, apud THOMSON et al., 1993). Por esta descoberta, Félix Block e Edward Purcell receberam o Prêmio Nobel de Física de 1952. De 1946 até o início da década de 60, a técnica desenvolveu-se com vistas à pesquisa industrial. Durante os anos 60, o médico Raymond Damadian iniciou investigações sobre o uso da RMN para geração de imagens na medicina. Damadian e seus colaboradores Larry Minkoff e Mike Goldsmith descobriram que o sinal de RMN gerado pelo tumor maligno apresentava tempo de relaxamento diferente do tecido sadio

---

¹ Block F, Purcell E.

correspondente, e, em 1974, realizaram a primeira Imagem por Ressonância Magnética (IRM) *in vivo* em um tumor de rato (NÓBREGA, 2000). Finalmente em 03 de julho de 1977, Raymond Damadian realizou a primeira ressonância magnética transaxial de um ser humano, o próprio Larry Minkoff, com o tempo de 4 horas e 45 minutos (OLIVEIRA et al., 2002). A partir de década de 80 surgiram vários estudos na área médica (ALFIDI et al., 1982; CROOKS et al., 1983). Em meados desta década foram realizadas as primeiras imagens satisfatórias de ressonância magnética para ATM (HARMS et al., 1985; HELMS et al., 1984; KATZBERG et al., 1986; PRICE; FACHE, 1986; WESTESSON et al., 1987), principalmente com o início da utilização de bobinas de superfície (HARMS et al., 1985; KATZBERG et al., 1986; PRICE; FACHE, 1986). E, mais posteriormente, com a diminuição na espessura dos cortes do exame (WESTESSON et al., 1992).

A técnica de Imagem por Ressonância Magnética (IRM) combina o princípio da RMN com a aplicação de gradientes de campos magnéticos, os quais são responsáveis pelas informações espaciais dos sinais necessários para a construção das imagens (HOROWITZ, 1994). Esta técnica tem sido intensivamente estudada e aplicada na medicina humana em diversos casos, devido às diversas características como sua natureza não invasiva e isenção de propriedades deletérias (AMARAL; RABBANI; CATICHA, 2004; CHU et al., 1995; CROOKS et al., 1983; CROWLEY et al., 1996; HAITER-NETO et al., 2002; HUDSON et al., 1995; NÓBREGA, 2000). Associado à superior resolução das imagens, particularmente dos tecidos moles, é o método de seleção por diversos autores para a pesquisa da anatomia da ATM em humanos, gerando um grande desenvolvimento nesta área nas últimas duas décadas (CHEN et al., 2000a, 2000b; CHEN; GALLO; PALLA, 2002; CHIRANI et al., 2004; CHRISTIANSEN, 1987; CHU et al., 1995; CROWLEY et al., 1996; JAHN;

SCHELLHAS, 1991; KURITA et al., 2001; LARHEIM et al., 2001; NAKAGAWA et al., 2002; NEBBE et al., 1998; ÖGÜTCEN-TOLLER, TASKAYA-YILMAZ, YILMAZ, 2002; TASKAYA-YILMAZ; ÖGÜTCEN-TOLLER, 2002; RAZMUS; WILLIAMSON, 1996; SANTLER; KÄRCHER; SIMBRUNNER, 1993; STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994; STYLES; WHYTE; 2002; TASAKI; WESTESSON, 1993; WATTED; WITT; KENN, 2001; WESTESSON et al., 1987, 1992).

2.2.2 Protocolo de exame

Inúmeros protocolos de exame em IRM são descritos na literatura e sua variabilidade depende diretamente da aparelhagem, do tecido a ser pesquisado, da finalidade do exame e da experiência do operador (CHIRANI et al., 2004; WESTBROOK, 2002).

Para uma melhor compreensão dos termos empregados, algumas considerações sobre a terminologia aplicada nos exames de IRM fazem-se necessárias (WESTBROOK, 2002):

Spin-echo: consiste em uma seqüência pré-determinada de pulsos de radiofrequência (RF), composta basicamente por um pulso de 90°, seguido por outro de 180°, repetidos a cada tempo de repetição (TR).

T1: forma de devolução da energia ou tempo de relaxamento para a leitura dos sinais de RF. Método utilizado para definição anatômica, relacionada à propriedade do tecido e do núcleo atômico.

Bobina de superfície: recebe os pulsos de radiofrequência (RF). É utilizada para exame de estrutura próxima a superfície cutânea, como a ATM.

Tempo de repetição (TR): intervalo de tempo entre cada seqüência de pulso.

Tempo de eco (TE): intervalo de tempo entre os pulsos de 90° e 180°.

Campo de visão (FOV): região do espaço que forma a imagem.

Matriz: corresponde ao número de *pixels* que compõem a imagem, normalmente se utiliza matriz de 256x256 para região de ATM.

Técnica de aquisição de imagens volumétricas (3D): as imagens volumétricas e a aquisição em 3D colecionam dados de um volume de imagem e, em seguida, aplicam uma fase extra de codificação a um eixo selecionado do corte. Dessa forma, são obtidos cortes muito finos e sem espaçamento.

Número de média (NEX): consiste no número de vezes em que a leitura do sinal é realizada para cada exame. Quanto maior o NEX, melhor a relação sinal/ruído. Também chamada de número de excitações de um mesmo exame.

Relação sinal/ruído (RSR): é definida como a relação entre a amplitude do sinal recebido pela bobina e a amplitude do ruído térmico presente no equipamento. Quanto maior esta relação, melhor é a qualidade da imagem. A RSR pode ser aumentada com o aumento de NEX.

Relação contraste/ruído (RCR): é definida como a diferença da relação sinal/ruído, entre regiões adjacentes.

Crowley et al (1996) compararam as imagens do exame de IRM com peças anatômicas em 10 cadáveres adultos. Utilizaram o aparelho Gyroscan S5 (Philips, Best, Netherlands) de 1,0T, bobina circular de 10 cm de diâmetro e um protocolo de seqüência de pulso pesado em T1, TR de 400 ms, TE de 30 ms, FOV de 23 cm, 4

excitações (NEX), matriz de 256x256 e espessura de corte de 3 mm. Concluem que a IRM tem boa acuidade para as estruturas da ATM, principalmente porque a seqüência em T1 possibilitou a identificação de diferentes tecidos articulares: sinal alto da medula óssea, processo zigomático, condilar e eminência articular; sinal médio-baixo para o tecido colágeno denso do disco; sinal baixo para as corticais ósseas; as anomalias ósseas, como os osteófitos, também são bem visualizadas, principalmente quando estão adjacentes a tecidos com sinal médio-alto.

Nebbe et al. (1998) pesquisaram a variação interobservador na avaliação do posicionamento do disco articular em 70 exames por IRM. Utilizaram o aparelho Shimadzu 1,0T (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan), bobina circular de 10 cm de diâmetro e um protocolo de seqüência de pulso em T1 pesado, TR de 500 ms, TE de 20 ms, FOV de 14 cm, 2 excitações (NEX), matriz de 204x204 e espessura de corte de 3 mm. Os resultados mostraram quase total concordância entre o diagnóstico de 4 operadores diferentes.

Chen et al. (2000b) realizaram estudo sobre a visualização sobre o deslocamento do disco articular. Utilizou o aparelho Gyroscan 1,5T (Philips, Best, Netherlands) e uma bobina circular de 8 cm de diâmetro. Iniciaram o exame com uma seqüência localizadora axial, para determinar a angulação do longo eixo condilar. Utilizaram o protocolo de seqüência de pulso *fast-field echo* (FFE), TR de 500 ms, TE de 17 ms, FOV de 13 cm, 4 excitações (NEX), matriz de 256x256 e espessura de corte de 2 mm. O tempo de aquisição foi de 3 minutos e 50 segundos. Os autores salientam que a seqüência de pulso FFE nos aparelhos da Phillips equivale ao *gradient recalled acquisition in the steady state* (GRASS) da General Electric e ao *fast imaging with steady state* (FISP) da Siemens.

Emshoff et al. (2001) estudaram pacientes com deslocamento do disco articular sem redução, dor articular e osteoartrose. Utilizaram o aparelho Vision 1,5T (Siemens AG, Erlangen, Germany) e o protocolo de sequência de pulso TSE-SD, TR de 2800 ms, TE de 15 ms, FOV de 145 cm, matriz de 256x256 e espessura de corte de 3 mm. Concluíram que a IRM é um eficiente método para avaliar alterações articulares.

Gökalp, Türkkahraman e Bzeizi (2001), em estudo sobre anatomia da eminência articular e a movimentação do disco articular, utilizaram o aparelho GE 1,5T (General Electric Medical System, Milwaukee, USA), bobina circular de 8 cm de diâmetro, com protocolo de sequência de *spin-echo*, TR de 500 ms e TE de 21 ms. Os autores não mencionaram mais dados do protocolo e reiteraram a eficiência da IRM para o detalhamento da anatomia articular.

Kurita et al. (2001) pesquisaram a relação entre a posição condilar e o deslocamento do disco articular em 231 ATMs. Utilizaram o aparelho Signa Advantage (General Electric, Milwaukee, USA) de 1,5T, TR de 500 ms, TE de 15 ms, FOV de 16 cm, matriz de 256x192 e espessura de corte de 3 mm. Não definiram a sequência de pulso. Ressaltaram a melhor qualidade dos exames por IRM, principalmente para tecidos moles, quando comparados com exames por radiografias convencionais, planigrafias, tomografias, TC e artrografia. Concluíram que o deslocamento do disco tem influência na posição da cabeça da mandíbula dentro da fossa temporal. Mas, sugeriram novos estudos com imagens tridimensionais.

Watted, Witt e Kenn (2001) estudaram a relação côndilo-disco em tratamentos com aparelhos ortopédicos funcionais, utilizaram o aparelho Magnetom Vision 1,5T (Siemens AG, Erlangen, Germany) e bobinas de superfície circulares. Aplicaram o

protocolo *proton-weighted* (TSE), TR de 1600 ms, TE de 15 ms, FOV de 17 cm, matriz de 512x512 e espessura de corte de 3 mm. Foram 3 médias, totalizando um tempo de 2 minutos e 8 segundos de exame. Os autores comprovaram a posição normal do conjunto côndilo-disco em pacientes que sofreram tratamento funcional.

Emshoff et al. (2002) pesquisaram por meio da IRM as alterações articulares em pacientes com DTM. Utilizaram o aparelho Magnetom Vision 1,5T (Siemens AG, Erlangen, Germany), bobinas de superfície circulares, seqüência *spin-echo* em densidade de próton, TR de 2800 ms, TE de 15 ms, FOV de 17 cm, matriz de 256x256 e espessura de corte de 3 mm. Concluíram que os dados obtidos confirmaram a IRM como instrumento preciso no diagnóstico clínico dos desarranjos internos da ATM.

Major et al. (2002) compararam achados de IRM e tomografia computadorizada (TC) do contorno ósseo e posição do disco articular em 335 ATMs, em pacientes adultos. Utilizaram o aparelho Shimadzu 1,0T (Shimadzu Corporation, Tokyo, Japan) e o protocolo para IRM de seqüência de pulso em T1 pesado, TR de 500 ms, TE de 20 ms, FOV de 140 cm, 2 excitações (NEX), matriz de 204x204 e espessura de corte de 3 mm. Os autores associaram os achados de adaptações funcionais do tecido ósseo aos desarranjos internos da ATM.

Nakagawa et al. (2002) realizaram estudo da posição do disco articular em 54 mulheres com DTM. Utilizaram o aparelho MRT-200 (Toshiba Medical, Tokyo, Japan) de 1,5T, bobina circular de 10 cm de diâmetro, TR de 1500ms, TE de 30 ms, FOV de 15 cm, NEX de 1, matriz de 256x256 e espessura de corte de 4 mm. Os autores não mencionaram a seqüência de pulso utilizada.

Ögütçen-Toller, Taskaya-Yilmaz e Yilmaz (2002) e Taskaya-Yilmaz e Ögütçen-Toller (2002) avaliaram, em dois estudos diferentes, a posição do disco

articular por meio da IRM. Utilizaram o aparelho Signa (General Electric Medical System, Milwaukee, USA) de 0,5T, bobina de superfície de 6x8 cm, FOV de 15 cm, matriz de 256x192 e espessura de corte de 3 mm. Para seqüência de pulso em T2 pesado utilizaram-se TR de 1500ms e TE de 20 e 80 ms. E para seqüência em T1, utilizaram-se TR de 200 ms e TE de 17 ms. Confirmaram a eficiência da IRM, relatando grande semelhança entre os achados da IRM e os exames clínicos.

Como é possível observar não existe um protocolo único para os exames de IRM para ATM (CHIRANI et al., 2004; WESTBROOK, 2002). Outros autores sugerem diferentes protocolos que estão descritos no decorrer desta revisão.

2.2.3 Comparação histológica

A literatura apresenta diversos trabalhos comparando o exame de IRM com a histologia da ATM, mas apenas em adultos. E confirma a confiabilidade do exame de IRM para diagnóstico das estruturas componentes da ATM.

Quemar et al. (1989) estudaram a utilização da IRM para identificação das estruturas anatômicas da ATM em 6 peças anatômicas de adultos. Verificaram a eficácia da IRM para as pequenas estruturas articulares, principalmente com o desenvolvimento das bobinas de recepção de superfícies. Neste estudo foram utilizadas bobinas de superfície circulares planas. Utilizaram o aparelho Magniscan, de 0,35 T, bobina de superfície circular de 13 cm de diâmetro, seqüência de pulso *spin-echo*: TR de 500ms, TE de 26 ms, 4 excitações, FOV de 16 cm, matriz de 256x256 e 5mm de espessura de corte. Os autores também utilizaram o Magnetom

Vision 1,5 T (Siemens AG, Erlanger, Germany), bobina de superfície circular de 6 cm, seqüência de pulso *spin-echo*: TR de 500ms, TE de 22 ms, 4 excitações, campo de visão de 23 cm, matriz de 256x256 e 2mm de espessura de corte. Os autores indicaram aparelhos de 1,5 T, pois possibilita cortes com espessuras menores, o que favorece o estudo de pequenas estruturas. E sugeriram uso da técnica de aquisição de imagens em 3D-FT, com seqüências rápidas, para diminuir o tempo de aquisição das imagens. Concluíram que a técnica de IRM identifica claramente as estruturas que compõem a ATM, incluindo a posição do disco articular.

Steenks, Bleys e Witkamp (1994) compararam as características anatômicas de 2 ATMs por meio da utilização de cortes de criosecção, cortes histológicos e imagens obtidas pela IRM. Demonstraram que a IRM das estruturas intra-articulares representa com acuidade as propriedades do disco articular. Foram utilizados dois aparelhos de IRM com campo magnético diferentes. Os autores utilizaram o aparelho Philips T5 (Philips, Best, Netherlands) de 0,5T e o Gyroscan S15 (Philips, Best, Netherlands) de 1,5T, ambos com bobina de superfície circular de 8 cm de diâmetro. O protocolo para 0,5T foi T1 padrão, TR de 400 ms, TE de 20 ms, 4 médias, FOV de 150 mm, matriz de 256x256, espessura de corte de 3 mm e espaçamento de 0,5 mm. E o protocolo para 1,5T foi T1 padrão, TR de 600 ms, TE de 30 ms, 2 médias, FOV de 110 mm, matriz de 256x256, espessura de corte de 3mm e espaçamento de 0,6 mm. Os cortes histológicos foram realizados com 25µm de espessura e corados pela técnica de Mallory-Cason. Verificaram que as imagens com o aparelho de 1,5T permitiram uma melhor visualização das estruturas, pois possibilitou um maior contraste, principalmente entre o disco articular e as estruturas adjacentes. Verificaram também que um aumento no tempo de eco (TE) de 30 para

50ms melhorou a definição na imagem. Concluíram que o exame da ATM por IRM demonstra com acuidade as estruturas articulares, em especial o disco articular.

Takaku et al. (1998), em estudo comparativo entre IRM e achados patológicos em articulações com deslocamento de disco de indivíduos adultos, utilizaram 12 amostras de disco e de tecido retrodiscal de cadáveres frescos. Os autores, avaliando alterações histopatológicas, observaram que o tecido retrodiscal e o disco articular das articulações afetadas apresentavam um sinal mais intenso na IRM, que seria indicativo de degeneração, fibrose (remodelação), aumento da vascularização ou calcificação. Segundo os autores, o exame de IRM é um instrumento confiável para determinar as alterações anatômicas da ATM, oferecendo dados importantes para o diagnóstico e a terapia pré-operatória. As amostras de tecido estavam fixadas em formol a 10% e seguiram a técnica de preparação histológica para coloração por hematoxilina-eosina. Foi utilizado o aparelho Magnetom H 15 (Siemens, Erlangen, Germany) de 1,5 T, bobina de superfície de 20 cm de diâmetro, TR de 30 ms, TE de 12 ms, 5 médias, matriz de 256x256 e espessura de corte de 2mm. Os autores indicaram uma seqüência de aquisição volumétrica (FISP-3D) associado ao *spin-echo*, por conseguir espessura menor de corte e tempo de repetição menor.

2.2.4 Reconstrução digital

Existem poucos estudos com ressonância magnética em fetos associada à reconstrução de imagens. Na área médica, segundo Schierlitz et al. (2001), a IRM pode ser utilizada de forma complementar aos exames de ultra-som para

visualização de anomalias fetais e avaliações volumétricas. Os autores realizaram 10 ressonâncias magnéticas pré-natais em fetos intra-uterinos com anomalias cerebrais para verificar a possibilidade de reconstruir tridimensionalmente estas alterações. As imagens foram comparadas a imagens bidimensionais, e verificaram que a modelagem tridimensional do cérebro do feto intra-uterino é possível e pode ser de grande utilidade no plano de tratamento. Ressaltaram a necessidade de maiores estudos e desenvolvimento tecnológico, confiantes no rápido avanço das tecnologias de IRM e da computação. Utilizaram o aparelho Signa (General Electric Medical System, Milwaukee, USA) de 1,5 T, *fast-spin-echo* em T2, TR de 6000 ms, TE 99 ms, FOV de 20 cm, 1-0,5 excitações, matriz de 256x256, espessura de corte de 4 mm e com imagens multiplanares (sagital, axial e coronal).

Na odontologia, um dos primeiros estudos com a utilização de IRM e reconstrução tridimensional para ATM foi realizado por Price et al. (1992). Os autores realizaram exames de IRM na ATM de um crânio seco submerso em água, com uma réplica do disco articular em resina. Utilizaram o aparelho GE 1,5T (General Electric Medical System, Milwaukee, USA), TR de 600ms, TE de 25 ms, FOV de 8 cm, matriz de 256x256 e espessura de corte de 3 mm. Depois as imagens eram ampliadas e seus contornos desenhados em uma folha de acetato, para, em seguida, serem digitalizadas para um programa de engenharia chamado I-DEAS (Integrated Design Engineering Analysis Software, Structural Dynamics Research Corporation, Milford, USA). O processamento da imagem gerou imagens tridimensionais do disco, processo condilar e fossa mandibular com relativa precisão, quando comparados com a peça anatômica original. Os autores relataram que uma grande fonte de erro foi causada pela espessura de corte. Na época, os autores

concluíram que o método parecia ser aplicável em situações clínicas, sendo necessários maiores estudos.

Chu et al. (1995) realizaram um modelo piloto de exame de IRM em crânios secos de adultos com discos articulares sintéticos resinosos. Depois de aplicarem o método em 5 pacientes, as imagens obtidas por meio da IRM eram desenhadas a mão para reproduzir a anatomia das estruturas articulares. Os desenhos eram passados para o computador em uma mesa digitalizadora e montados tridimensionalmente em um programa próprio. Os autores ressaltaram que apesar das reconstruções obtidas mostrarem pouca qualidade estética, elas apontaram uma relativa posição anatômica do disco articular, cabeça da mandíbula e osso temporal. Apesar de que em 2 dos 5 casos não foi possível a visualização do disco. Utilizaram o aparelho MRI Resistive Magnet (Fonar Corp., Melville, NY) de 0,3T, TR de 600 ms, TE de 30 ms, 3 médias, FOV de 150 mm, matriz de 256x256, espessura de corte de 4 mm e espaçamento de 0,5 mm. Concluíram que apesar das imagens tridimensionais da ATM contribuírem amplamente para compreensão das alterações articulares, ainda serão necessários novos estudos, com desenvolvimento da aparelhagem e de cortes mais finos, para a sua aplicação efetiva. Acreditaram que as imagens tridimensionais da ATM também terão grande aplicação no aprendizado, na comunicação com o paciente e no monitoramento do tratamento.

Motoyoshi et al. (1999) relatam um novo método para reconstrução tridimensional da ATM em estudo com 2 pacientes. Utilizaram o aparelho Siemens Impact (Siemens, Erlangen, Germany) de 1T, seqüência de pulso em T1 pesado, TR de 500 ms, TE de 15 ms, FOV de 150 mm, matriz de 256x256 e espessura de corte de 3 mm. As imagens eram então escaneadas em 300 dpi de resolução e, em seguida, as estruturas articulares eram demarcadas na tela pelo mouse em um

programa próprio. Depois as imagens eram interpoladas com auxílio do programa MORPH (Gryphon Software Corp., San Diego, USA) e montadas tridimensionalmente. Concluíram que as reconstruções tridimensionais podem ser obtidas a partir de imagens bidimensionais, com resolução aceitável. Ressaltaram que um método que eliminasse a manipulação e interpretação humana na marcação dos limites das estruturas articulares reduziria a margem de erro.

Em estudo com 85 ATMs de 50 indivíduos adultos vivos, Chen, Gallo e Palla (2002) conseguiram reconstruir tridimensionalmente a posição do disco articular em articulações adultas com deslocamento de disco, além de verificar sua alteração de forma em diferentes posições mandibulares. Utilizaram o aparelho Gyroscan 1,5T (Philips, Nederland), com bobinas circulares de 8 cm de diâmetro, TR de 500 ms, TE de 17 ms, FOV de 13 cm, matriz de 256x256, espessura de corte de 2 mm e 4 médias de sinal. Desenvolveram um programa específico e um sistema próprio de captação de movimentos extra-orais. Ressaltaram as dificuldades da técnica de IRM em determinar o contorno preciso do disco e em diferenciar as estruturas entre as nuances de tons cinza da imagem.

Kitai et al. (2002b) apresentaram um novo método de visualização da ATM, por meio de imagens tridimensionais obtidas através de IRM. Os autores utilizaram o aparelho Magnetom Vision 1,5T (Siemens, Erlangen, Germany), TR de 456 ms, TE de 20 ms, FOV de 25 cm, matriz de 256x256, espessura de corte de 2,0 mm e 0,2 mm de intervalo. Em 4 posições de abertura bucal, foram realizadas 12 imagens de cada ATM de um paciente com artrite crônica juvenil e outras 12 de cada ATM de um paciente controle. Em seguida, foram obtidos registros volumétricos com o programa Analyse (AnalyseDirect.com, Kansas, USA) e, por meio do programa Mvox (Anamedic, www.anamedic.com), a ATM e suas estruturas foram reconstruídas

tridimensionalmente. Os autores relataram que, pela primeira vez, características tridimensionais da morfologia e da posição da ATM em pacientes com artrite crônica juvenil puderam ser demonstrados. Concluíram que as características observadas com as imagens tridimensionais estão de acordo com as observadas em estudos bidimensionais, o que validaria a utilização de métodos de visualização tridimensional no diagnóstico e estudo de alterações morfológicas e posicionais da ATM.

Kitai et al. (2002a) publicaram um relato clínico de um paciente com artrite juvenil crônica submetido ao tratamento com aparelho de Herbst. Foram realizados exames tridimensionais com IRM da mandíbula e músculos mastigatórios, antes e após o tratamento. Os autores sugerem que a análise tridimensional por IRM seja mais útil no acompanhamento deste tipo de doença do que os exames radiográficos tradicionais. Foram realizados exames de IRM no aparelho Magnetom Vision 1,5T (Siemens, Erlangen, Germany), TR de 9,7 ms, TE de 4 ms, FOV de 25 cm, matriz de 256x256 e espessura de corte de 1,0 mm. As imagens obtidas foram transferidas para uma estação de trabalho (Silicon Graphics, Mountainview, Califórnia), utilizando o programa Magic View (Siemens, Erlangen, Germany). Utilizando o programa Mvox (Anamedic, www.anamedic.com), a mandíbula e os músculos masseter, pterigóideo lateral e medial foram segmentados bilateralmente e reconstruídos tridimensionalmente. Segundo os autores, as imagens obtidas e a sua sobreposição possibilitaram a visualização tridimensional da mandíbula e tecidos moles adjacentes de uma maneira ainda não apresentada na literatura. Relatam que, no futuro, a IRM tridimensional será um método muito útil no diagnóstico e no acompanhamento terapêutico de pacientes com problemas na ATM.

Enciso et al. (2003), em estudo de modelagem e animação tridimensional da mandíbula, compararam as técnicas de IRM e tomografia computadorizada (TC) para obtenção das imagens. Ressaltaram que na IRM a segmentação da mandíbula apresenta alguns problemas comuns, como as áreas de contato ou interface de diferentes tecidos, com delimitações não muito nítidas, o que dificulta a determinação precisa dos mesmos. Desenvolveram um sistema baseado em imagens obtidas por TC, mas alertam sobre as propriedades deletérias da radiação nos tecidos vivos.

Palla (2003) descreveu o método de se obter tridimensionalmente a movimentação da ATM, por meio de um sistema de registro com arco facial e imagens de IRM, além do uso de um programa específico de reconstrução digital. Foi possível reconstruir tridimensionalmente a posição do disco articular em articulações adultas com deslocamento de disco, em diferentes estágios de abertura bucal. Para tanto utilizou um programa interativo de marcação manual na segmentação das estruturas articulares. Ressaltou que o método abre interessante possibilidade didática, além de permitir uma análise quantitativa da biomecânica articular. Salientou, ainda, que o maior desenvolvimento deste tipo de técnica pode permitir um estudo mais profundo e não invasivo da biomecânica articular, impossível hoje com os métodos tradicionais.

Chirani et al. (2004), em estudo em 1 paciente adulto, desenvolveram um método de reconstrução tridimensional em ATM de adultos. Utilizaram o aparelho Magnetom Expert Scanner (Siemens Medical System, Erlangen, Germany), de 1,0T com diferentes modos de aquisição e espessuras de corte. Determinaram para o estudo a sequência de *Spin-echo*, TR de 3450 ms, TE de 15 ms, bobinas circulares de 4 cm de diâmetro, matriz de 168x150mm, FOV de 100x150 mm, 2 médias de

sinal e espessura de corte de 2 mm. Foram realizadas tomadas no plano sagital com movimentos de translação e rotacionais, sem a utilização de sistemas extra-orais. A reconstrução foi realizada em três etapas: filtragem dos dados, delineamento e registro em 3D da região com o programa Amira (Indeed Visual Concepts, Berlim, Germany), e medições dos registros. A filtragem e medição foram realizadas por uma plataforma de pesquisa desenvolvida no próprio laboratório do French National Institute of Medical Research. Ressaltaram que a IRM, apesar de ser a técnica não-invasiva de eleição para avaliação de anormalidades na ATM desde 1985, e de sua grande evolução nestes últimos 10 anos, ainda é de difícil interpretação para o clínico devido ao baixo contraste entre os tecidos moles e duros. Segundo os autores, este estudo permite a visualização tridimensional da ATM, de forma aproximada à realidade clínica. Entretanto, segundo os autores, ainda se faz necessário maior desenvolvimento no protocolo para melhorar a aquisição das imagens e a reconstrução tridimensional.

Kitai et al. (2004), em um relato clínico, apresentaram imagens tridimensionais da ATM de um paciente adulto que sofreu condilectomia. Os autores utilizaram o aparelho Magnetom Vision 1,5T (Siemens, Erlangen, Germany) e o mesmo protocolo de trabalho anterior: seqüência de pulso em spin-echo (T1), TR de 456 ms, TE de 20 ms, FOV de 25 cm, matriz de 256x256, espessura de corte de 2,0 mm e 0,2 mm de intervalo. Em posição de boca fechada e em 4 posições de abertura bucal, foram realizadas 12 imagens da ATM, antes e depois da intervenção cirúrgica. Em seguida, foram obtidos registros volumétricos com o programa Analyse (AnalyseDirect.com, Kansas, USA) e por meio do programa Mvox (Anamedic, www.anamedic.com) a ATM e suas estruturas foram reconstruídas tridimensionalmente. Relataram que a técnica tridimensional facilitou a compreensão

da relação entre os componentes articulares em casos de deslocamento do disco, assim como a visualização da forma do disco e seu exato posicionamento, inclusive por diferentes ângulos de vista. Descreveram o método como uma ferramenta útil para documentar qualitativa e quantitativamente a eficiência de diferentes métodos de tratamento de pacientes com deslocamentos de disco.

2.4.5 Período intra-uterino (IU)

Os estudos com IRM em fetos intra-uterinos têm chamado a atenção da área médica pelas características não-invasivas, segurança e qualidade de imagem. Mas, verifica-se na literatura, que o desenvolvimento tecnológico ainda se faz necessário para suprir a ampla gama de possibilidades de utilização da IRM fetal.

O primeiro relato de imagens em fetos intra-uterinos foi elaborado por Smith, Adam e Phillips (1983). Foram examinadas 6 pacientes no primeiro trimestre de gravidez, que tinham a indicação de interrupção da gestação por problemas diversos, e que deram seu consentimento para a realização de exames por IRM e ultra-som. Na 10ª semana de vida IU foi possível verificar os produtos da concepção, sua localização na placenta e as medidas parietais, com resultados comparáveis aos do ultra-som. Da 16ª a 18ª semana de vida IU, a cabeça e o corpo do feto eram facilmente visualizados. Na 20ª semana de vida IU, o feto inteiro foi claramente visualizado. Os autores salientaram que, naquele momento, só foi possível realizar cortes axiais. Entretanto, afirmam que, devido às características do exame,

acreditam no potencial do mesmo e na evolução tecnológica para uma maior aplicabilidade clínica.

McCarthy, Stark e Higgins (1984) em relato clínico do uso da IRM no sistema cardiovascular de 9 fetos (34 a 36 semanas de gestação), ressaltaram que a IRM é um instrumento potencial para exames não-invasivos das estruturas fetais, oferecendo dados importantes da anatomia e fisiologia fetal. Utilizaram o aparelho Dasonics MR (Milpitas, Califórnia, USA) de 0,35T e bobina de 55 cm de diâmetro. Os autores relataram que, pelos resultados obtidos e por seu rápido avanço tecnológico, a IRM poderá ser empregada para o estudo pré-natal, com finalidade de diagnóstico e terapêutica. Salientam que a IRM em fetos não está associada a nenhum efeito deletério.

Weinreb et al. (1985) realizaram estudo em 24 mulheres grávidas, portando 26 fetos entre a 11ª e 39ª semana de gestação. Utilizaram o aparelho Dasonics MT/S (Milpitas, Califórnia, USA) de 0,35T, e empregaram diferentes protocolos de exame: TR de 500, 1000, 1500 e 2000 ms; TE de 28 e 54 ms; matriz de 128x256 e 256x256; 2 ou 4 médias; espessura de corte de 7 mm e intervalo de 3 mm. Após a obtenção das imagens de IRM foram realizados exames de ultra-som. Neste estudo foram analisadas 33 estruturas fetais, dentre elas: crânio, ventrículos, olhos, coluna vertebral, coração, artéria aorta, pulmões, fígado, veias hepáticas, músculos abdominais e gordura subcutânea. Os problemas da técnica de IRM para fetos foram o longo período do exame em que a paciente tem que permanecer imóvel (1 a 2 horas) e os movimentos fetais, que contribuíram para a degradação da qualidade do exame. Os autores concluíram que, no estado de evolução do exame de IRM na época, a qualidade das imagens das estruturas fetais ainda é insatisfatória. Principalmente pela pobreza de informações relativas ao primeiro e segundo

trimestre de vida IU. Ressaltaram que, nestas idades, várias estruturas fetais são extremamente pequenas e não atingem o tamanho necessário para os limites de resolução espacial do equipamento de IRM utilizado. Os autores enfatizaram a necessidade de um maior desenvolvimento da tecnologia de IRM para fetos.

Segundo Garel et al. (1998), houve um grande interesse e desenvolvimento em relação a IRM fetal nos anos 80 e 90, especialmente nas aplicações intracranianas e pela presumida segurança do exame. Quando comparados aos exames por ultra-som, a IRM apresenta maior definição e contraste dos tecidos. Isto se deve principalmente ao alto contraste encontrado nos tecidos moles. Os autores ressaltaram que a técnica é considerada uma envolvente modalidade de pesquisa clínica e deve ser aplicada em uma abordagem multidisciplinar das patologias pré-natais. Para exames intracranianos, os autores sugeriram a aplicação do exame entre a 24ª e 40ª semana de vida IU. Salientaram que até o momento, a utilização da IRM fetal se limita a exames de patologias cerebrais, existindo um vasto campo para novas aplicações. Os autores afirmaram que o desenvolvimento tecnológico certamente irá ampliar a aplicação da IRM fetal, pois possibilitará menor tempo na obtenção da imagem e um melhor processamento das mesmas.

Levine, Smith e McKenzie (2003) descreveram suas experiências na realização de mais de 400 exames de IRM em fetos intra-uterinos durante 6 anos nas mais diversas áreas médicas, no Beth Israel Deaconess Medical Center (Boston, MA, USA). Confirmaram a qualidade superior de imagem e resolução da IRM para determinação de anormalidades fetais, principalmente quando comparados com os exames por ultra-som. Mas também afirmaram que a IRM só deve ser indicada quando os exames tradicionais de ultra-som não apresentarem resultados adequados. A IRM fetal possibilita estudos mais detalhados da anatomia fetal e se

difere dos exames de rotina por IRM. O tempo de aquisição da imagem tem que ser diminuído (400 ms) para evitar interferências de movimentos na aquisição da imagem, principalmente pela movimentação do feto e materna (respiração, pulsação arterial e movimentos peristálticos). O tamanho dos fetos também interfere no exame, pois sua localização, planos e espessura de corte são fatores que dificultam a aquisição de imagens. Afirmam também que, por ser uma nova tecnologia para exame em fetos, ainda existem precauções em relação à indicação de exames no primeiro trimestre de gestação. Os autores utilizaram um protocolo de TE de 60 ms, TR de 4,2 ms, FOV de 26x30 cm, matriz de 156x256 e espessura de corte de 4 mm. Para melhorar a qualidade da imagem em período curto de aquisição da imagem, os autores sugeriram um aumento na espessura dos cortes, o que, por outro lado, dificulta a definição de estruturas anatômicas menores de forma mais detalhada.

Jeffery e Spoor (2004) realizaram estudo com 54 fetos do Museu de Anatomia da University College London, entre 10 e 29 semanas de vida IU. Realizaram IRM e obtiveram coordenadas tridimensionais para estudo da ossificação e alterações de forma na base de crânio dos fetos. Realizaram tomadas em matriz de 256x256, e espessura de corte de 0,24-0,90 mm, FOV variando conforme a amostra. Realizaram cortes sagitais e por meio de um programa específico (Morphologika, version 1.1, University College London) obtiveram as medidas cefalométricas geométricas do desenvolvimento da base do crânio. Apesar das limitações da técnica, os autores ressaltaram a importância de maiores estudos, inclusive tridimensionais, pois acreditam que com o avanço tecnológico da IRM será possível a utilização da mesma para estudos longitudinais em fetos intra-uterinos.

Moore e Persaud (2004) relatam que se pode utilizar a IRM em período intra-uterino para obter maiores informações sobre uma anormalidade detectada na ultra-

sonografia. Mas ressaltam que ainda as desvantagens da IRM seriam o alto custo, planos fixos de corte e resolução fetal relativamente limitada, salientando ainda que existe um amplo campo de desenvolvimento para os exames de IRM em período intra-uterino, em diferentes especialidades.

3 PROPOSIÇÃO

Considerando-se as informações obtidas na revisão da literatura e dada a importância da ATM, o presente estudo se propõe a:

- Verificar a eficiência do uso da IRM como exame precoce para ATM, em período de formação e desenvolvimento da ATM, por meio de estudo em peças anatômicas;
- Verificar e comparar a cronologia dos eventos de formação e de desenvolvimento da ATM, por meio de cortes histológicos e do exame de IRM;
- Verificar o tipo de fibra colágena presente no desenvolvimento da ATM, por meio de cortes histológicos;
- Criar modelos digitais bi e tridimensionais do desenvolvimento da ATM a partir do exame de IRM.

4 MATERIAL E MÉTODOS

Este trabalho foi desenvolvido nas instalações laboratoriais do Departamento de Física Geral do Instituto de Física, no Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas, no Departamento de Engenharia Mecatrônica da Faculdade de Engenharia e no Departamento de Prótese Dentária da Faculdade de Odontologia, todos da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil. O projeto de pesquisa foi aprovado pela Comissão de Ética em Pesquisa com Seres Humanos do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo, segundo parecer 561/CEP (ANEXO A).

4.1 Material

4.1.1 Amostragem

Dentre uma coleção de amostras de embriões e fetos, neste trabalho foram utilizadas 7 peças anatômicas, sem distinção de sexo e raça, aparentemente normais. Selecionou-se 1 embrião e 6 fetos humanos nas diferentes fases de desenvolvimento, fixados em formol a 10%, que se encontravam em bom estado de conservação anatômica. Os mesmos estavam previamente catalogados e foram cedidos pelo Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da

Universidade de São Paulo (ANEXO B); as amostras foram coletadas de acordo com as normas da Convenção de Helsinque, para pesquisas em seres humanos (Resolução nº 196, 1996)

Foram selecionadas amostras representativas dos diferentes estágios de desenvolvimento e formação da Articulação Temporomandibular, seguindo a classificação proposta por Velasco et al. (1999):

1. Período Embrionário: *Estágio de Blastema*: de 21 a 30 mm de comprimento céfalo-caudal (CRL).
2. Período Fetal: *Estágio de Cavitação*: de 31 a 65 mm CRL.
3. Período Fetal: *Estágio de Maturação*: maior do que 66 mm CRL.

O Estágio de Maturação foi dividido em dois grupos, pois até aproximadamente 100mm CRL ainda observa-se processos de formação estrutural da ATM.

Assim, as amostras foram agrupadas em 4 grupos, determinados pelo comprimento céfalo-caudal (CRL). As medidas foram realizadas por um único operador, o Prof. Dr. Francisco José de Moraes Macedo, seguindo os parâmetros preconizados por Liberti e Adamo (1985): sistema de régua rígida, medindo a distância entre as perpendiculares tangentes ao vértex e o cóccix da amostra.

A amostragem deste trabalho foi agrupada da seguinte forma:

- **Grupo I** – Período Embrionário: 1 embrião de comprimento céfalo-caudal de 22 mm (CRL), representando a 7ª semana de vida IU (embrião 4).
- **Grupo II** – Período Fetal: 1 feto de comprimento céfalo-caudal de 35 mm (CRL), representando entre a 8ª semana de vida IU (feto C).

- **Grupo III** – Período Fetal: 2 fetos de comprimento céfalo-caudal de 92 e 101 mm (CRL), representando a 13ª semana de vida IU (feto 3 e feto A).
- **Grupo IV** – Período Fetal: 3 fetos de comprimento céfalo-caudal de 148, 156 e 160 mm (CRL), representando a 17ª (feto 2, feto D) e 18ª semana de vida IU (feto B).

4.1.2 Aparelho de Imagem por Ressonância Magnética (IRM)

Gyrosan S15/HP (Philips, Best, Netherlands): Intensidade de campo magnético estático de 1,5 Tesla, pertencente ao Laboratório de Ressonância Magnética do Departamento de Física Geral do Instituto de Física da Universidade de São Paulo. Responsável: Prof. Dr. Said R. Rabbani. Operador: engenheiro Jean Louis Shinohara (figura 4.1).

Figura 4.1 – Gyrosan S15/HP (Philips, Best, Netherlands)

4.1.3 Programa de reconstrução digital

Programa MRlcro (www.icn.ucl.ac.uk/groups/jd/micro/micro.html), utilizado nos computadores do Departamento de Engenharia Mecatrônica da Faculdade de Engenharia da Universidade de São Paulo. Responsável: Prof. Dr. Newton Maruyama (figura 4.2).

Figura 4.2 – Programa de reconstrução digital, bi e tridimensional MRlcro (www.mricro.com)

4.1.4 Micrótomos semi-automáticos

Micrótomos semi-automáticos Leica RM 22145 (Germany), pertencente ao Laboratório de Histologia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo. Responsável. Operadora: técnica de laboratório Marta Maria da Silva Righetti (figura 4.3).

Figura 4.3 – Micrótomo semi-automático Leica RM 22145 (Germany)

4.1.5 Foto-microscópio óptico

Foto-microscópio óptico Carl Zeiss (West Germany), com lentes de aumentos de 10x, 25x, 64x, 99x e 167x, permite análise por leitura sob luz polarizada, pertencente ao Laboratório de Sistema Nervoso Autônomo do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (figura 4.4).

Figura 4.4 – Foto-microscópio Carl Zeiss (West Germany)

4.2 Métodos

Em seguida, descrever-se-á como foram realizadas as imagens por Ressonância Magnética, a reconstrução digital e os cortes histológicos de cada uma das amostras.

4.2.1 Imagem por Ressonância Magnética

Realizaram-se exames de Imagem por Ressonância Magnética (IRM) com o aparelho Gyroscan S15/HP (Philips, Best, Netherlands), com intensidade de campo magnético estático de 1,5 Tesla, do Laboratório de Ressonância Magnética do Departamento de Física Geral do Instituto de Física da Universidade de São Paulo, sob a responsabilidade do Prof. Dr. Said R. Rabbani e com orientação do engenheiro Jean Louis Shinohara. Na estação de trabalho do aparelho de IRM foram inseridos os parâmetros do protocolo de exame, por nós mesmos desenvolvidos. Em ambiente controlado, utilizou-se a bobina de superfície circular C3, colocada o mais próximo possível da região do exame, com seqüências de pulsos *spin-echo* em T1.

As amostras foram posicionadas sobre a mesa do aparelho de IRM com seu maior longo eixo corporal paralelo à mesa do aparelho, situou-se a cabeça com seu plano sagital mediano o mais paralelo possível ao solo. Os feixes de luz direcionadores transversal e longitudinal auxiliaram no posicionamento da cabeça, devendo a sua intersecção estar sobre a região da ATM. Estabeleceu-se que o feixe de luz transversal deveria estar paralelo ao Plano de Camper (plano anatômico

representado por uma linha imaginária paralela ao solo, que une a asa do nariz ao trágus) e o feixe de luz longitudinal o mais paralelo possível ao plano frontal da cabeça da amostra. A bobina de superfície foi cuidadosamente fixada para que seu campo de ação se concentrasse na região da ATM e para que permanecesse imóvel durante o período do exame. Como aparelho de IRM Gyroscan S15/HP vem regulado de fábrica para iniciar o protocolo de exame somente em amostras com um determinado volume corpóreo, e as amostras deste estudo não atingiam este volume, foi necessário acrescentar um recipiente com cerca de 2 litros de água abaixo da amostra para poder realizar o exame, pois o mesmo aumentava o volume total da amostra para o exigido pelo aparelho, permitindo assim a realização do exame.

O tempo de repetição (TR) utilizado foi de 200ms e o tempo de eco (TE) 20ms. O campo de visão (FOV) foi determinado conforme o tamanho da amostra, variando de 80 a 120mm. Utilizou-se um número de média (NEX) de 8, para melhorar a relação sinal/ruído e aumentar a definição da imagem. As imagens foram obtidas em matriz de 256x256 e arquivadas no formato digital ANI, extensão de arquivo do próprio aparelho de ressonância magnética da Philips (figura 4.5).

Figura 4.5 – A. Estação de trabalho do aparelho de IRM Gyroscan S15/HP (Philips, Best, Netherlands). B. Imagem, corte sagital mediano, obtida no desenvolvimento do protocolo de pesquisa (feto B, 160 mm CRL, 18ª semana de vida IU)

Uma vez determinado o protocolo de exame, realizou-se uma série de exame localizadora axial para determinar os limites e direções dos cortes desejados para cada série de exames. Em seguida, realizaram-se cortes sagitais por meio da técnica de aquisição volumétrica, que possibilita a obtenção de fatias com menor espaçamento (1mm), além de possibilitar a intercalação entre as imagens, a qual será justificada abaixo, permitindo assim melhor detalhamento do exame (figura 4.6).

Figura 4.6 – A. Imagem axial localizadora. B. Imagem, corte sagital (feto 2, 148mm CRL, 17ª semana de vida IU)

A distância entre as fatias foi selecionada em 1mm, com espaçamento de 0mm. Programou-se 2 secções para cada amostra, com deslocamento de 0,5 mm, que posteriormente foram intercaladas, resultando em imagens digitais mais próximas, de 0,5 em 0,5 mm de espessura por amostra. Isso só foi possível pelo uso da técnica de aquisição volumétrica, pois nela os cortes desejados são realizados após a aquisição dos sinais dentro de todo o volume selecionado, resultando em imagens com melhor relação sinal/ruído (RSR) quando comparadas com a aquisição em 2D e, assim, possibilitando fatias com espessura de 1 mm. Em todas as amostras foram realizados cortes de toda a cabeça, de um lado ao outro, incluindo as ATMs de ambos os lados.

Algumas imagens foram impressas em papel radiográfico específico e a confirmação da qualidade das imagens foi atestada por dois especialistas em radiologia, um da área médica e o outro da odontológica, além do Prof. Dr. Said R. Rabbani, responsável pelo Laboratório de Ressonância Magnética do Instituto de Física da Universidade de São Paulo.

4.2.2 Reconstrução digital bi e tridimensional

As imagens obtidas na IRM foram encaminhadas aos computadores do Departamento de Engenharia Mecatrônica da Faculdade de Engenharia da Universidade de São Paulo, aos cuidados do Prof. Dr. Newton Maruyama, onde foram convertidas do sistema ANI da aparelhagem Philips para o sistema DICOM, compatível com o programa de reconstrução digital utilizado. O programa MRlcro (www.icn.ucl.ac.uk/groups/jd/mricro/mricro.html) é específico para imagens obtidas por exames de ressonância magnética.

O exame de IRM foi realizado com cortes com espaçamento de 1mm entre eles. Em seguida, deslocou-se 0,5mm e realizou-se nova seqüência com o mesmo espaçamento, desta forma obtivemos 2 seqüências de cortes. Em seguida, nos computadores do Departamento de Engenharia Mecatrônica da Faculdade de Engenharia da Universidade de São Paulo as seqüências foram intercaladas digitalmente. As imagens intercaladas representam imagens com intervalos de 0,5mm. A seguir, as imagens dos cortes foram inseridas no programa MRlcro que realiza a leitura bidimensional das imagens e processa uma montagem tridimensional das imagens (figura 4.6).

Figura 4.6 – Processo de reconstrução digital das imagens do programa MRicro (www.mricro.com)

Estas imagens ainda foram trabalhadas pelo programa MRicro para gerar imagens bidimensionais e tridimensionais com maior grau de definição possível das estruturas anatômicas a serem estudadas. As imagens arquivadas podem ser trabalhadas por ferramentas específicas do programa, que permitem várias possibilidades em sua manipulação, além dos ajustes de contraste, brilho e nitidez. As imagens também podem ser trabalhadas para apresentarem transparência, diferentes formas de coloração, textura, além de diferentes espessuras e profundidades de corte. O programa permite ainda a visualização das imagens bi ou tridimensionais em diferentes cortes espaciais e por diferentes ângulos (figura 4.7).

Figura 4.7– Diferentes recursos de reconstrução digital do programa MRicro (www.mricro.com)

4.2.3 Cortes histológicos

Após os exames de IRM, as amostras das ATMs, todas do lado direito, foram dissecadas por um único operador no Laboratório do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo (figura 4.8).

Figura 4.8— dissecção das amostras de ATMs do lado direito

Devido ao tamanho reduzido das peças anatômicas dos Grupos I e II, foi separada a cabeça do corpo. Em seguida, a cabeça foi seccionada na linha sagital mediana, gerando um bloco anatômico de cada hemisfério.

Nas peças dos Grupos III e IV foram realizados cortes específicos para remoção da ATM e estruturas adjacentes. Como a cabeça no feto não se encontra alinhada em relação ao corpo, os planos de orientação espacial sagital, frontal e horizontal foram determinados pelo posicionamento da cabeça do feto e não do corpo, como encontramos na literatura clássica (MACEDO, 1998). Os cortes foram realizados seguindo os seguintes parâmetros (figura 4.9):

- limite posterior: reta paralela ao plano frontal da cabeça, passando pelo meato acústico externo;

- limite anterior: reta paralela ao plano frontal, passando aproximadamente a 10 mm à frente do futuro trágus;
- limite superior: reta perpendicular ao limite posterior, passando pela inserção superior da orelha;
- limite inferior: reta perpendicular ao limite posterior, passando pela inserção inferior da orelha;
- profundidade: plano paralelo ao plano sagital mediano, aproximadamente a 10 mm da superfície cutânea.

Figura 4.9 – A. Plano frontal clássico (*PFC*), plano frontal modificado (*PFM*), limite do corte anatômico em vermelho (figura modificada de Kjaer et al., 1999). B. Peça anatômica (feto 2, 148mm CRL, 17ª semana de vida IU)

Posteriormente, as peças anatômicas foram encaminhadas ao Laboratório de Histologia do Departamento de Anatomia do Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo para desidratação, diafanização, impregnação por parafina, confecção de lâminas histológicas e análise ao microscópio óptico, como descreveremos a seguir (JUNQUEIRA; JUNQUEIRA, 1983):

Iniciou-se o processo de preparo histológico separando e identificando as amostras em pacotes de gaze. Em seguida, os mesmos foram lavados em água

corrente durante 12 horas, para, então serem descalcificadas em solução de EDTA a 10%, com trocas da solução a cada 48 horas, durante 3 semanas. Após este período, as amostras foram novamente lavadas em água corrente por mais 12 horas. Iniciou-se então a desidratação com álcool 70% até álcool absoluto (100%) da seguinte forma: 70% por 4 horas, duas vezes álcool 95% por 1 hora e duas vezes álcool absoluto por 2 horas. A seguir, realizou-se a diafanização em xilol puro, através de 3 banhos de 1 hora cada até clarificar as amostras. Em seguida, as amostras foram impregnadas com parafina histológica, em 3 banhos de 30 minutos cada. E, logo após, incluídas em blocos retangulares de parafina, procurando posicionar a peça anatômica com o plano sagital mediano paralelo à face do bloco.

Para cada amostra foram realizadas séries de cortes histológicos de 6µm de espessura da área de maior interesse, utilizando-se o micrótomo semi-automático Leica RM 22145. Os cortes histológicos foram realizados paralelos à linha sagital mediana colocando-se a respectiva face do bloco de parafina paralela à lâmina de corte do micrótomo. Em seguida, iniciou-se o processo de montagem das lâminas histológicas. As fitas de corte histológico foram levadas ao aparelho de banho-maria (Fanem modelo 102, São Paulo, Brasil), à temperatura de 43° Celsius. A seguir, foram pescadas por lâminas histológicas de vidro e transferidas para estufa a 60° Celsius, permanecendo ali por 24 horas. Na fase de preparo para coloração, as lâminas foram desparafinizadas com 3 banhos de xilol de 30 minutos cada. Logo após, as lâminas foram hidratadas em álcool 100%, 95% e 70%, por 3 minutos cada, para então poder iniciar o processo de coloração. Foram utilizados os métodos de coloração da hematoxilina–eosina (HE) para visualização de células e fibras, o método de Picrosirius para fibras colágenas (JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979) e o método de resorcina-fucsina de Weigert (WEIGERT, 1898) para fibras

elásticas. Ainda utilizou-se o método de Azan para fibras colágenas em algumas lâminas (ROMEIS, 1968). Intercalaram-se as lâminas segundo o tipo de coloração, para uma melhor visualização das estruturas pesquisadas em diferentes níveis de corte (figura 4.10).

Figura 4.10 – A. Realizando os cortes de 6 μ m de espessura. B. Lâminas histológicas na estufa. C. Processo de coloração histológica. D. Lâminas coradas, separadas por técnica de coloração e amostra

Uma vez prontas, as lâminas foram examinadas no foto-microscópio Carl Zeiss (West Germany), sendo fotografadas as imagens de maior interesse. Para tanto, utilizaram-se filmes ASA 400, segundo recomendação do fabricante. Para visualização da matriz colágena, utilizou-se a técnica da imagem sob luz polarizada

para os cortes corados com a técnica de Picrosirius, acrescentando que a revelação fotográfica foi realizada com fundo fotográfico preto.

4.2.4 Avaliação dos resultados

As imagens obtidas através da IRM e da reconstrução digital bi e tridimensional foram comparadas com cortes seccionais microscópicos, corados com a finalidade de identificação das estruturas e descrição da disposição topográfica.

Em cada grupo de amostras a área de interesse da ATM foi avaliada nos seguintes tópicos:

- qualidade da imagem por Ressonância Magnética, por meio da identificação das estruturas articulares;
- qualidade da reconstrução bi e tridimensional da ATM, por meio da identificação das estruturas articulares e da definição dos modelos;
- identificação e avaliação do nível de diferenciação das estruturas articulares nos cortes histológicos;
- identificação do tipo de matriz colágena das estruturas articulares nos cortes histológicos.

5 RESULTADOS

Para uma melhor visualização dos exames realizados em cada grupo de amostras, os dados individuais da medida CRL, idade em semanas (Patten, 1960), número de imagens obtidas em IRM, realização de reconstrução digital tridimensional e número de total de cortes histológicos estão apresentados na tabela 5.1.

Tabela 5.1 – Exames realizados em cada grupo de amostras: medida CRL, idade em semanas, número de imagens obtidas em IRM, reconstrução digital tridimensional e cortes histológicos

Grupos	Amostras	CRL (mm)	Idade em semanas	IRM Nº de imagens	Reconst. Digital	Histologia Nº lâminas
I	Embrião 4	22	7	24		~ 30
II	Feto C	35	8	50		~ 40
III	Feto 3	92	13	60	✓	~ 60
	Feto A	101	13	66		~ 70
IV	Feto 2	148	17	80	✓	~ 90
	Feto D	156	17	100		~ 90
	Feto B	160	18	110		~ 90
Total	7			490		~ 470

Em seguida, apresentaremos os resultados obtidos em cada tipo de análise realizada: IRM, reconstrução digital e cortes histológicos.

5.1 Análise das imagens por ressonância magnética (IRM)

As imagens apresentando as secções por IRM mais representativas de todas as amostras dos grupos I, II, III e IV estão dispostas no apêndice.

Para se obter a localização exata da ATM dentro dos vários cortes de IRM, utilizou-se o seguinte protocolo: nos cortes sagitais mais medianos de cada amostra, procurou-se identificar o osso mandibular próximo à região da sínfise. Dentre as imagens realizadas, esta foi a estrutura de mais fácil identificação por possuir um sinal baixo de IRM, com contorno bem característico e definido. Uma vez identificado o osso mandibular no corte sagital mediano, à medida que deslocávamos os cortes mais para lateral, ou seja, mais para próximo da região da ATM, foi possível visualizar a imagem da secção mandibular se deslocando até se aproximar da região da ATM. Nestes cortes mais laterais, realizou-se uma análise mais detalhada em procura das estruturas articulares. Outras referências utilizadas foram os olhos e o meato auditivo externo, pois os cortes da ATM aparecem lateralmente aos cortes dos olhos e a sua imagem sempre está próxima ao meato acústico externo (figura 5.1).

O exame de IRM em fetos impressionou-nos pela riqueza de detalhes e definição das estruturas fetais em formação, como o cérebro, cerebelo, olhos, língua, coluna vertebral, pulmões, dentre outros. Além da avaliação do Prof. Dr. Said R. Rabbani, responsável pelo Laboratório de Ressonância Magnética do Instituto de Física da USP, as imagens foram levadas e analisadas por dois especialistas em radiologia, um da área médica e o outro da odontológica, e ambos avaliaram como ótima a qualidade do exame e o detalhamento das estruturas.

Figura 5.1 – Seqüência de cortes de IRM, a partir da linha sagital mediana, de uma amostra do grupo IV (feto 2, 148mm CRL, 17ª semana de vida IU). É possível observar diferentes estruturas anatômicas, conforme profundidade do corte

Procurou-se verificar a eficiência do uso da IRM como exame precoce para ATM em período de formação e desenvolvimento, em peças anatômicas, por meio da identificação das estruturas articulares. Realizou-se a análise da variação de sinais de IRM dos diferentes tecidos que compõem a ATM, caracterizado nas imagens pelos diferentes tons cinza. Os tecidos com maior sinal, ou seja, com maior número de prótons de hidrogênio, apresentam tons mais claros. Os tecidos com menor sinal, ou seja, com menor número de prótons de hidrogênio, apresentam tonalidade mais escura. Seguindo estes parâmetros, optou-se por analisar as seguintes estruturas nas imagens por IRM (figura 5.2):

- Cortical da cabeça da mandíbula (CCM): sinal de baixa intensidade.
- Medular da cabeça da mandíbula(MCM): sinal de média intensidade.
- Disco articular (DA): sinal de média-alta intensidade.
- Cortical do osso temporal (COT): sinal de baixa intensidade.

Analizadas as imagens de todas as amostras, pôde-se observar a presença de estruturas que compõem a ATM a partir das amostras do grupo III, que representam as amostras a partir da 13ª semana de vida IU. Não foi possível detectar as estruturas articulares até este período, talvez por estarem ainda em processo de formação, diferentemente da maioria das articulações sinoviais que, entre a 7ª e 8ª semana de vida IU, já apresentam o desenvolvimento inicial da cavidade articular.

A visualização e identificação destas estruturas pelo tipo de sinal nos exames por IRM, divididos pelos grupos estudados, estão representados na tabela 5.2.

Tabela 5.2 – Identificação pelo tipo de sinal: cortical da cabeça da mandíbula, medular da cabeça da mandíbula, disco articular e cortical do osso temporal

Grupos	Amostras	CCM	MCM	DA	COT
I	Embrião 4	-	-	-	-
II	Feto C	-	-	-	-
III	Feto 3	baixo	médio	médio-alto	baixo
	Feto A	baixo	médio	médio-alto	baixo
IV	Feto 2	baixo	médio	médio-alto	baixo
	Feto D	baixo	médio-alto	alto	baixo
	Feto B	baixo	médio	médio-alto	baixo

Verificou-se que as amostras do grupo I e II, dentre 22 e 35mm CRL, representando entre a 7ª e 8ª semana de vida IU, não apresentavam sinal de IRM representativo que permitisse a identificação das estruturas pesquisadas. As imagens obtidas apresentavam diferentes intensidades de sinal, com diferentes tons cinza, mas sem a possibilidade de visualização das estruturas (figura 5.2).

Figura 5.2 - A . IRM de uma amostra do grupo I (embrião 4, 22mm CRL, 7ª semana de vida IU), pouca distinção de estruturas anatômicas pela pequena variação dos tons cinza. B. IRM de uma amostra do grupo II (feto C, 35mm CRL, 8ª semana de vida IU), melhor diferenciação das estruturas e mais tons cinza

Na amostra do grupo I, apesar do exame de IRM ter sido realizado no corpo todo, poucas estruturas puderam ser diferenciadas. Os sinais dos diferentes tecidos confundem-se em nuances cinza, sem uma delimitação precisa de contornos. O mesmo pôde ser verificado, mas em menor grau, em relação aos exames da amostra do grupo II. É possível observar graus cinza em diferentes tecidos, mas sem uma resolução que permita um exame e interpretação mais detalhada. Verificou-se que, nas primeiras semanas de vida IU, o nível de diferenciação dos tecidos não possibilita uma maior riqueza de detalhes nos sinais do exame por IRM, pelo menos dentro do protocolo utilizado nesta pesquisa.

Observou-se nas amostras do grupo III, dentre 92 e 101mm CRL, representando a 13ª semana de vida IU, uma maior riqueza de detalhes no exame de IRM. Já é possível identificar com boa definição estruturas anatômicas como pulmão, coluna vertebral e diversos órgãos internos. Este grupo apresenta sinais distintos, em diferentes tonalidades, pelos quais é possível caracterizar as diferentes estruturas da ATM. Desta forma, nas amostras do grupo III foi possível identificar a cortical da cabeça da mandíbula (CCM) e do osso temporal (COT), ambos com um sinal baixo de IRM, sendo visualizadas em um tom mais escuro. A medular da cabeça da mandíbula (MCM) apresentou sinais médios, em um tom médio cinza. E a região correspondente ao disco articular (DA) apresentou-se com um sinal médio-alto, com uma representação cinza mais clara. Não foi possível identificar em nenhuma amostra deste grupo a presença de espaços articulares (figura 5.3).

Figura 5.3 – A. IRM de amostra do grupo III (feto 3, 92mm CRL, 13ª semana de vida IU), estruturas anatômicas mais definidas, região da ATM em destaque. B. Aumento digital de 5x da região da ATM, visualiza-se: cortical do osso temporal (COT), disco articular (DA), cortical da cabeça da mandíbula (CCM) e medular da cabeça da mandíbula (MCM)

No grupo IV, dentre 148 e 168mm CRL, representando entre a 17ª e 18ª semana de vida IU, observou-se a melhor qualidade de imagens, com melhor visualização das estruturas estudadas, assim como as estruturas anatômicas em geral. Os sinais dos diferentes tecidos foram bem caracterizados, seguindo o mesmo padrão encontrado nas amostras do grupo III, mas com uma delimitação mais precisa das estruturas articulares. Também as corticais ósseas (COT e CCM) apresentaram baixo sinal, a medular óssea (MCM) sinal médio e a região do disco articular (DA) o sinal mais intenso. Neste grupo, uma das amostras (feto D) apresentou um maior contraste entre os tecidos, com sinal médio-alto para a medular óssea (MCM), alto para região do disco articular (DA) e o mesmo sinal baixo para as corticais ósseas (CCM e COT). Apesar da melhor definição das estruturas, também não foi possível identificar em nenhuma amostra deste grupo a presença de espaços articulares, pelo menos dentro dos padrões de exame em articulações adultas (figura 5.4).

Figura 5.4 – A. IRM de amostra do grupo IV (feto 2, 148mm CRL, 17ª semana de vida IU), estruturas anatômicas melhor definidas, região da ATM em destaque. B. Aumento digital de 5x da região da ATM, visualiza-se: cortical do osso temporal (*COT*), disco articular (*DA*), cortical da cabeça da mandíbula (*CCM*) e medular da cabeça da mandíbula (*MCM*)

5.2 Análise da reconstrução bidimensional e tridimensional

Escolheu-se para a reconstrução bi e tridimensional um exame de cada grupo onde foi possível identificar as estruturas articulares. Deste modo, selecionou-se o exame do feto 3 para o grupo III e do feto 2 para o grupo IV, por apresentarem uma seqüência de imagens com boa qualidade em toda a seqüência.

As imagens seqüenciais, inicialmente no padrão ANI (sistema de imagens do equipamento Phillips), foram seqüenciadas no padrão DICOM, e, em seguida, importadas ao programa MRlcro (www.icn.ucl.ac.uk/groups/jd/mricro/mricro.html). Assim, foi possível trabalhar com reconstruções obtidas por meio de 61 cortes, com intervalo de 0,5mm, da amostra do grupo III (feto 3) e de 94 cortes, com o mesmo intervalo, da amostra do grupo IV (feto 2).

A reconstrução pelo programa gerou modelos tridimensionais com as seguintes proporções (figura 5.5):

- amostra do grupo III: 256x256x61(matriz x matriz x cortes).
- amostra do grupo IV: 256x256x94 (matriz x matriz x cortes).

Figura 5.5 – Representação da reconstrução digital da amostra do grupo IV, 256x256x94 (feto 2, 148mm CRL, 17ª semana de vida IU)

Com a reconstrução digital processada no MRlcro, foi possível a visualização de imagens bidimensionais em qualquer um dos 3 planos espaciais: axial, coronal e sagital. Sendo possível, por meio da movimentação da ferramenta de cursores (em vermelho), a escolha da profundidade de corte da área de interesse, em qualquer um dos planos espaciais (figura 5.6).

Figura 5.6 - Reconstrução bidimensional: cortes axial, coronal e sagital (em sentido horário) da amostra do grupo IV (feto 2, 148mm CRL, 17^a semana de vida IU). A intersecção das linhas vermelhas indica a ATM

A qualidade do sinal das estruturas articulares obtida pela reconstrução bidimensional foi compatível com o obtido no corte sagital original, mostrado na tabela 5.2. Como ocorreu na análise das imagens sagitais, a amostra do grupo IV apresentou imagens mais detalhadas e as estruturas articulares apresentaram melhor definição. A reconstrução bidimensional dos planos axial e coronal, a partir de cortes sagitais, também possibilitou a identificação das estruturas articulares, inclusive em diferentes profundidades de corte (figura 5.7).

Como a movimentação do cursor vermelho do programa permite alterar a profundidade do corte em qualquer um dos 3 planos espaciais, na vista axial pôde-se, dentre outros, determinar com precisão em que altura corte se inicia a visualização da cortical da cabeça da mandíbula. Na amostra do grupo IV, em um corte axial na metade da cabeça da mandíbula, pôde-se observar sua forma

característica de elipse da cabeça da mandíbula, delimitado pelo baixo sinal dos tecidos ósseos, e, à sua volta, um alo de sinal mais intenso (figura 5.7).

Figura 5.7 - Cortes axiais em sequência da amostra do grupo IV (feto 2, 148mm CRL, 17ª semana de vida IU). A. Secção transversal da cabeça da mandíbula, corte nº 105/256 (elipse em branco). B. Secção transversal da cabeça da mandíbula, um corte acima, nº 106/256 (elipse em branco)

As reconstruções tridimensionais das amostras dos grupos III e IV também foram possíveis. O programa MRlcro mostrou-se uma ferramenta útil também neste sentido, conforme podemos observar nas figuras 5.8 e 5.9.

Figura 5.8 - Reconstrução tridimensional da amostra do grupo IV (feto 2, 148mm CRL, 17ª semana de vida IU). Vista superior, inferior e lateral (em sentido horário)

Na reconstrução podemos escolher entre uma visualização da amostra com os contornos externos (figura 5.8), ou ainda com transparência da camada externa da amostra, possibilitando a visualização das estruturas que compõem a ATM nesta fase de desenvolvimento (figura 5.9).

A visualização tridimensional conseguida neste trabalho possibilita a análise do desenvolvimento das estruturas do crânio e da face, conferindo um caráter de análise volumétrica ao exame de IRM. As características externas do desenvolvimento facial puderam ser bem avaliadas, uma vez que o programa possibilita a rotação da imagem tridimensional, facilitando a visualização da amostra por qualquer ângulo espacial (figura 5.10). Associado ao recurso de transparência, pôde-se identificar com clareza, de forma volumétrica, estruturas como o corpo mandibular.

Figura 5.9 - Reconstrução tridimensional com transparência de superfície da amostra do grupo IV (feto 2, 148mm CRL, 17^a semana de vida IU). Vista superior, inferior e lateral (em sentido horário)

Figura 5.10 - Reconstrução tridimensional com transparência de superfície da amostra do grupo IV (feto 2, 148mm CRL, 17 semana de vida IU). Vista ínfero-superior, observa-se o corpo da mandíbula (flecha)

5.3 Análise dos cortes histológicos

Para confrontar os achados do exame por IRM com um parâmetro real, avaliou-se, por meio de cortes histológicos, todas as amostras deste estudo. Os resultados dos cortes histológicos sagitais estão expostos a seguir.

Observou-se nos cortes histológicos do grupo I a condensação do tecido mesenquimal indiferenciado nas regiões que futuramente formarão os processos condilar e temporal, agora representados pelos blastemas condilar e temporal. As células formam diferentes camadas de condensação, dando início à diferenciação das estruturas articulares (figura 5.11.C). A cartilagem mandibular ou de Meckel (CM) já se mostra presente com suas células cartilaginosas (figura 5.11.A e 5.11.B). Na lâmina com coloração Picrosirius, específica para fibras colágenas, pôde-se verificar a presença da rede colágena, delineando o arcabouço estrutural da CM. Notou-se a coloração predominantemente esverdeada, representativa de fibras colágenas do tipo III, associadas a um pequeno número de fibras tipo I, de coloração mais avermelhada (figura 5.11.D).

Verificou-se que nos cortes histológicos do grupo I as estruturas que compõem a ATM estão em um estágio inicial de maturação, com pouca diferenciação de estruturas, diferentemente do que ocorre com outras articulações sinoviais, que já apresentam a cavidade articular formada nesta fase de vida IU, conforme já exposto anteriormente.

Figura 5.11 – Corte histológico do grupo I (embrião 4, 22mm CRL, 7ª semana de vida IU). A. Região da Cartilagem de Meckel (CM). B. Região da Cartilagem de Meckel (CM). C. Células mesenquimais em diferenciação. D. Predominância de fibras colágenas tipo III, coloração mais esverdeada. (A, B, C - HE; D - Picrosirius / B - 25x; A, C, D - 64x)

Figura 5.12 - Corte histológico do grupo II (Feto C, 35mm CRL, 8ª semana de vida IU). A. Corte sagital da língua (LI). B. Região próxima à sínfise: cartilagem de Meckel (CM) e ossificação intramembranosa (OI). C. Região próxima à sínfise: rede de fibras colágenas e ossificação intramembranosa (OI). D. Cartilagem de Meckel (CM) e ossificação intramembranosa (OI). (A, B, D - HE; C - Picrosirius / A, D - 25x; B, C - 64x)

Nos cortes histológicos do grupo II pôde-se observar um corte sagital mediano da amostra, onde se visualizou bem a língua, com suas fibras musculares já formadas (figura 5.12.A). Na região lateral à sínfise mentoniana observou-se o processo de ossificação intramembranosa (OI), ocorrendo ao lado da cartilagem de Meckel (CM) e visualizou-se as células cartilaginosas da CM (figura 5.12.B). Por meio da coloração de Picrosirius para o colágeno, na região próxima à ossificação mandibular, pôde-se verificar uma alta concentração de matriz colágenas do tipo III, associado a também a fibras do tipo I (figura 5.12.C). Em um corte mais lateral, observou-se a CM servindo como referência e direcionando a ossificação mandibular, que ocorre lateralmente à sua estrutura. A região de ossificação corresponde à região do futuro corpo mandibular (figura 5.12.D).

Apesar de ser possível identificar uma maior diferenciação de estruturas, as mesmas ainda se apresentavam em processo de amadurecimento, como podemos observar pelo tipo de matriz colágena encontrada na CM, com grande concentração de fibras do tipo III e poucas do tipo I (figura 5.13.A e 5.13.B).

Figura 5.13- Corte histológico do grupo II (Feto C, 35mm CRL, 8ª semana de vida IU). A. Cartilagem de Meckel (CM). B. Cartilagem de Meckel (CM): rede colágena tipo III, em coloração esverdeada. (A - HE; B - Picrosirius / A, B - 64x)

Nos cortes histológicos do grupo III, observou-se a CM e lateralmente a sua estrutura, a ossificação intramembranosa na região de corpo mandibular (figura 5.14.A). Verificou-se também a cartilagem condilar (CA), que formará a futura superfície articular. Ao seu redor temos a ossificação do processo condilar (figura 5.14.B). Pôde-se ainda visualizar a inserção muscular do músculo pterigóideo lateral sobre a superfície articular (figura 5.14.C).

Figura 5.14–Cortes histológicos do grupo III (Feto A, 101mm CRL, 13ª semana de vida IU). A. Região de sínfise: cartilagem de Meckel (CM) e ossificação intramembranosa (OI). B. Região condilar: cartilagem condilar (CA) e ossificação mandibular (OI). C. Fibras musculares (MU) e inserção do músculo Pterigóideo Lateral (PT) na região condilar (CO) (flecha). (A – Azan; B, C – HE / A – 25x; B – 10x; C – 64x)

Observaram-se estruturas diferenciadas da ATM nos cortes histológicos do grupo III, como a superfície articular do osso temporal, o disco articular em sua região anterior, o processo condilar e a diferenciação da membrana sinovial anterior, inclusive com a presença de lacunas vasculares (figura 5.15.A). Em maior aumento, verificou-se a maior diferenciação e maturação tecidual das superfícies articulares do processo temporal e do disco articular (figura 5.15.B). Em um corte do processo condilar, com aumento de 25x, verificaram-se a zona de cartilagem hialina fibrosa e as células da condrogênese (figura 5.15.C). Na coloração por Picrosirius, observou-se a matriz colágena da superfície condilar, verificou-se um tom mais avermelhado das fibras do tipo I, correspondente a maior maturação das fibras colágenas (figura 5.15.D).

Pôde-se observar, em aumento de 64x, as células de formação endocondral do processo condilar e sua rede colágena com coloração mais avermelhada, representando o colágeno tipo I (figura 5.16.A e 5.16.B). Observou-se que na região retro-discal encontram-se as lacunas vasculares que serão preenchidas por tecido sanguíneo, e observou-se sua matriz colágena em processo de maturação (figura 5.16.C e 5.16.D). Nesta fase também foi possível verificar o tecido fibroso da parte posterior do disco articular e sua matriz colágena mais madura (figura 5.16.E e 5.16.F).

Neste grupo III observaram-se amostras com tecidos articulares diferenciados, com o processo de maturação tecidual já bem desenvolvido. Nos cortes em maior aumento pudemos visualizar a maior organização tecidual, com a ATM praticamente atingindo sua forma anatômica definitiva; apenas dependendo de uma maior maturação de seus tecidos.

Figura 5.15 – Cortes histológicos do grupo III (Feto 3, 92mm CRL, 13^a semana de vida IU). A. Articulação Temporomandibular, região anterior: Região condilar (CO), disco articular (DA) e superfície articular do osso temporal (TP). B. Espaço articular superior, entre o disco articular (DA) e osso temporal (TP). C. Região condilar, cartilagem hialina (CO): a - zona fibrosa, b - zona de proliferação, c - zona de maturação, d - zona de hipertrofia. D. Disco articular (DA), em processo de maturação colágena. (A, B, C - HE; D - Picosirius / A, C - 25x; B, D - 64x)

Figura 5.16 – Cortes histológicos do grupo III (Feto 3, 92mm CRL, 13^a semana de vida IU). A. Células da condrogênese da região condilar (CO): *b* - zona de proliferação, *c* - zona de maturação, *d* - zona de hipertrofia. B. Região condilar (CO), rede colágena tipo I, avermelhada. C. Região retro-discal, com as lacunas vasculares (LV). D. Região retro-discal, matriz colágena tipo III e tipo I, lacunas vasculares (LV). E. Região posterior do disco (DA). F. Região posterior do disco (DA), fibras colágenas tipo I. (A, C, E - HE; B, D, F - Picrosirius / A, B, C, D, E, F - 64x)

Nas imagens dos cortes histológicos do grupo IV observaram-se claramente as diferentes estruturas que compõem a ATM, como o disco articular, os espaços sinoviais superior e inferior, o processo condilar e o temporal (figura 5.17.A). Em maior aumento (99x), em coloração por Picrosirius, visualizou-se a rede colágena bem avermelhada, rica em fibras do tipo I, nas estruturas do disco articular e superfícies articulares; e quase não se observa a coloração esverdeada das fibras do tipo III (figura 5.17.B, 5.17.D e 5.17.E). O disco articular apresentou-se mais organizado, com o tecido fibroso disposto de uma forma mais paralela entre as fibras (figura 5.17.C).

Nos cortes histológicos do grupo IV, visualizaram-se as células de formação endocondral do processo condilar, em fase avançada de diferenciação e maturação celular, e sua rede colágena apresentou-se com coloração mais avermelhada, confirmando maior número de fibras tipo I (figura 5.18.A e 5.18.C). A mesma maturação observou-se no disco articular (figura 5.18.B). Verificou-se também a presença de fibras elásticas na superfície articular condilar e na parte posterior do disco (figura 5.18.D e 5.18.F). Um corte interessante possibilitou a visualização da inserção do músculo pterigóideo lateral na superfície condilar (figura 5.18.E).

Nesta fase de vida IU, onde as estruturas articulares já formadas estão em processo de maturação, pôde-se identificar claramente todas as estruturas articulares. O contorno da ATM nesta fase se assemelha muito ao de uma articulação madura.

Figura 5.17 – Cortes histológicos do grupo IV (Feto 2, 148mm CRL, 17^a semana de vida IU. A. Articulação Temporomandibular: superfície articular do côndilo (CO), disco articular (DA) e superfície articular do osso temporal (TP). B. Disco articular (DA), matriz colágenas. C. Região anterior do disco (DA). D. Disco articular (DA), matriz colágena. E. Superfície articular do côndilo (CO), matriz colágena. (A, C - HE; B, D, E - Picrosirius / A - 10x; B, D, E - 99x; C - 25x)

Figura 5.18 – Corte histológico do grupo IV (Feto 2, 148 mm CRL, 17ª semana de vida IU). A. Superfície do côndilo (CO): *a* - zona fibrosa, *b* - zona de proliferação, *c* - zona de maturação, *d* - zona de hipertrofia. B. Superfície Articular do disco (DA), rede colágena. C. Superfície do côndilo (CO), rede colágena mais madura. D. Fibras elásticas superfície articular do côndilo (CO). E. Inserção muscular (flecha): Pterigoideo lateral (PT) / côndilo (CO). F. Fibra elástica, parte posterior do disco (DA). (A, E - HE; B, C- Picrosirius; D, F - Weigert / A - 25x; B, C,D, E - 64x; F - 167x)

6 DISCUSSÃO

No presente estudo procurou-se selecionar amostras no período embrionário e fetal, de maior importância para a formação da Articulação Temporomandibular (ATM) e estruturas associadas. Seguindo dados da literatura, pode-se observar que o desenvolvimento destas estruturas inicia-se na 7ª semana de vida IU, passando por um período morfogenético crítico que perdura até a 12ª semana (PERRY; XU; FORBES, 1985; VELASCO et al., 1999; YOUDELIS, 1966). Após a 14ª semana de vida IU, as estruturas que compõem a ATM assumem forma semelhante à encontrada em adultos (AVERY, 1994; GÓMES-FERRARIS; CAMPOS-MUNHOS, 1999; ÖGÜTCEN-TOLLER; JUNIPER, 1993; VELASCO et al., 1999). Portanto, as amostras deste trabalho variavam de 22 a 160mm CRL, ou seja, da 7ª a 18ª semana de vida IU e investigou-se, por meio de imagens em ressonância magnética, a formação das estruturas articulares: cabeça da mandíbula, superfície temporal e disco articular. Os dados obtidos foram confrontados com cortes histológicos das mesmas amostras, segundo a literatura, trabalho este somente conseguido com eficiência em adultos (STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994; SAKUMA et al., 2003; TAKAKU et al., 1998).

Observou-se ainda na literatura que novas tecnologias se desenvolveram para o exame da ATM. O exame de Imagem por Ressonância Magnética (IRM) utilizado neste trabalho está dentre as técnicas de melhor aceitação no meio acadêmico e clínico, pois possibilita uma forma direta de visualização do disco articular em relação às superfícies ósseas, proporcionando uma excelente resolução espacial e de contraste de todos os componentes da ATM (NEBBE et al., 1998).

Price e Fache (1986) já relatavam que a IRM era um método confiável e promissor para visualizar a morfologia articular. Desde então, a tecnologia de IRM vem sendo cada vez mais desenvolvida e utilizada como meio de diagnóstico eficiente para as alterações anatômicas e funcionais da ATM, mas principalmente em adultos (CHEN et al., 2000a, 2000b; CHEN; GALLO; PALLA, 2002; CHRISTIANSEN, 1987; CHU et al., 1995; CROWLEY et al., 1996; HAITER-NETO et al., 2002; NAKAGAWA et al., 2002; NEBBE et al., 1998; ÖGÜTCEN-TOLLER; TASKAYA-YILMAZ; YILMAZ, 2002; QUEMAR et al., 1989; RAZMUS; WILLIAMSON, 1996; SANTLER; KÄRCHER; SIMBRUNNER, 1993; STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994; STYLES; WHYTE, 2002; TASAKI; WESTESSON, 1993; TASKAYA-YILMAZ; ÖGÜTCEN-TOLLER, 2002; WATTED; WITT; KENN, 2001; WESTESSON et al., 1987, 1992). Poucos são os autores que contestam sua eficiência e, os que o fazem, apenas relatam um erro menor do que 15% na classificação do deslocamento do disco articular (PULLINGER et al., 2002a, 2002b).

Um fato que chamou atenção na literatura foi a existência de escassos relatos em relação à utilização, protocolo de exame e eficiência da IRM no período de formação da ATM (STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994; TAKAKU et al., 1998), apesar dos primeiros estudos com a utilização da IRM em fetos datarem de meados da década de 80 (MCCARTHY; STARK; HIGGINS, 1984; SMITH; ADAM; PHILLIPS, 1983; WEINREB et al., 1985). Atualmente na área médica, a IRM vem sendo utilizada, com eficiência, no período fetal para pesquisa da formação de diferentes estruturas, como o coração, cérebro, base craniana, fígado e sistema vascular, dentre outros (GAREL et al., 1998; JEFFERY; SPOOR, 2004; LEVINE; SMITH; MCKENZIE, 2003; MOORE; PERSAUD, 2004; SCHIERLITZ et al., 2001). Faz-se importante citar Bach-Petersen, Kjaer e Fischer-Hansen (1994) que já afirmavam

que o correto conhecimento e análise do desenvolvimento fisiológico pré-natal é um pré-requisito para a compreensão do desenvolvimento de patologias na região temporomandibular e auricular.

Nosso principal objetivo foi estudar a eficiência da utilização do exame de IRM nas estruturas em formação que compõem a ATM, seguindo as observações dos cortes histológicos.

6.1 Estabelecendo um protocolo de exame de IRM

Devido ao tamanho reduzido das estruturas anatômicas estudadas e para uma melhor definição das mesmas, procurou-se desenvolver um protocolo próprio de exame de IRM que privilegiasse a qualidade na aquisição da imagem. Protocolo este, sem similares na literatura pesquisada (CHEN et al., 2000a, 2000b; CHIRANI et al., 2004; CHRISTIANSEN, 1987; CHU et al., 1995; CROWLEY et al., 1996; KURITA et al., 2001; NAKAGAWA et al., 2002; NEBBE et al., 1998; ÖGÜTCEN-TOLLER; TASKAYA-YILMAZ; YILMAZ, 2002; RAZMUS; WILLIAMSON, 1996; SANTLER; KÄRCHER; SIMBRUNNER, 1993; STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994; STYLES; WHYTE, 2002; TASAKI; WESTESSON, 1993; WESTESSON et al., 1987, 1992). O desenvolvimento de um protocolo específico para fetos proporcionou, inclusive, a procura na literatura veterinária, referências para a realização em amostras de pequeno volume (HUDSON et al., 1995; THOMSON et al., 1993), mas sem sucesso. Inclusive Price e Fache (1986), em uma das primeiras

pesquisas em ATM de humanos, testaram uma bobina de superfície utilizada em pequenos animais.

É sabido que maiores intensidades de campo potencializam a qualidade do exame (CHIRANI et al., 2004; STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994). Nos primeiros estudos citados na literatura os aparelhos tinham uma baixa potência de campo magnético, de 0,15T (ALFIDI et al., 1982; PRICE; FACHE, 1986), o que tornava os exames mais limitados quanto à relação entre o tempo de aquisição e a qualidade da imagem. No presente estudo, a aparelhagem utilizada possui campo magnético de 1,5T, sendo inclusive um dos campos mais utilizados atualmente nos equipamentos de IRM, mesmo na área médica (CHEN; GALLO; PALLA, 2002; KITAI et al., 2002a, 2002b, 2004; KURITA et al., 2001; SAKUMA et al., 2003; SCHIERLITZ et al., 2001; WATTED; WITT; KENN, 2001). Quemar et al. (1989) indicam a utilização de aparelhos de 1,5T para o exame de ATM, pois possibilita cortes com espessuras menores, o que favorece o estudo de pequenas estruturas. Além de permitir uma melhor visualização das estruturas devido ao maior contraste, principalmente entre o disco articular e as estruturas adjacentes (STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994).

Neste estudo, selecionou-se uma bobina circular de superfície para a captação dos sinais, pois sabe-se, desde a década de 80, que a mesma melhora a recepção dos sinais de pequenas estruturas como a ATM (HARMS et al., 1985; KATZBERG et al., 1986; PRICE; FACHE, 1986; QUEMAR et al., 1989). Um fator importante é o posicionamento da bobina para que seu campo de ação se concentrasse na região da ATM e para que permanecesse imóvel durante o período do exame. Segundo Westbrook (2002), a escolha da bobina em qualquer exame de IRM é um dos determinantes mais importantes da relação sinal-ruído (RSR) e da

qualidade da imagem. Complementa que a bobina de superfície aumenta a relação sinal-ruído (RSR) comparativamente às de volume, melhorando a qualidade da imagem.

Foram escolhidos cortes sagitais para uma melhor referência no seqüenciamento dos cortes (CHIRANI et al., 2004), programaram-se 2 seqüências para cada amostra, com deslocamento de 1 mm, que posteriormente foram intercaladas, resultando em imagens digitais mais próximas, de 0,5 em 0,5 mm de espaçamento por amostra. Isso só foi possível pela escolha da técnica de aquisição volumétrica (3D); Jahn e Schellhas (1991) e Westbrook (2002) confirmam que as seqüências volumétricas proporcionam melhores informações para se definir a anatomia das estruturas. Desta forma, a aquisição volumétrica coleciona dados de um volume de imagem e, em seguida, aplica uma fase extra de codificação, o que possibilita cortes muito finos, sem espessura e com pequeno espaçamento entre eles. Assim, os cortes desejados são realizados após a aquisição dos sinais dentro de todo volume selecionado, resultando em cortes reais da amostra, sem sobreposições (WESTBROOK, 2002). Quanto maior a espessura de corte, maior sobreposição de diferentes tecidos, diminuindo assim a qualidade da imagem. Conseqüentemente, cortes mais finos geram imagens com melhor qualidade na definição de pequenos detalhes anatômicos, apesar de aumentarem o tempo de aquisição das imagens (WESTESSON et al., 1992). Outra informação importante é a definição de *voxel*: são pequenos cubos de informações representativas dos eixos z, x e y; é a representação tridimensional do *pixel*, assim o volume de cada *voxel* está relacionado à espessura do corte da secção. Em termos gerais, quanto maior a espessura de corte, mais volumoso é o *voxel*, pois resulta em sobreposição de sinais

referentes a todos os tecidos presentes a esta espessura de corte, tendendo a uma menor definição (CHEN et al., 2000b; CHEN; GALLO; PALLA, 2002).

Por isso, escolheu-se um protocolo de aquisição de imagens em *spin-echo* em 3D com a menor espessura de corte permitida pelo equipamento, o que possibilitou cortes com sinais sem sobreposições de tecidos (TAKAKU et al., 1998). O *spin-echo* é seqüência mais comumente aplicada na análise clínica, pois tende a produzir melhor relação sinal/ruído e relação contraste/ruído. O exame em T1 é o mais indicado para observações anatômicas, pois possibilita a fácil diferenciação dos tecidos articulares.

Por meio dos dados obtidos na literatura, da experiência do engenheiro Jean Louis Shinohara e do Prof. Dr. Said Rabbani, e após a realização de vários exames-piloto com diferentes protocolos, chegou-se à aquisição das imagens utilizado nesta pesquisa. Assim sendo, utilizou-se a seqüência de pulso *spin-echo* em T1, aquisição de imagem volumétrica (3D), TR de 200 ms, TE de 20ms e NEX de 8. O TR diminuído possibilita uma boa caracterização dos tecidos (QUEMAR et al., 1989). O TE foi aumentado de 15 para 20ms nos exames-piloto, pois auxilia na melhora de contraste entre o disco articular e as estruturas adjacentes, melhorando a nitidez da imagem. O NEX foi de 8, para melhorar a relação sinal/ruído e também colaborar com a melhor definição da imagem, apesar de aumentar o tempo do exame (WESTBROOK, 2002). Em nosso estudo utilizou-se o menor FOV possível para cada amostra. Procurou-se possibilitar a redução do FOV para otimizar a resolução espacial, pois também se sabe que quanto menor o FOV, melhor a resolução obtida no exame (CHIRANI et al., 2004; STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994). Assim, a resolução espacial foi melhorada buscando uma combinação de parâmetros:

espessura de corte fino, matrizes finas (256x256) e um FOV pequeno, menor de 18 cm (WESTBROOK, 2002).

Uma desvantagem do protocolo escolhido foi o longo tempo de realização dos exames, que, dependendo da amostra, chegou a 6 horas. Embora a variável tempo do exame não fosse um fator limitante devido ao fato de que se trabalhou com peças anatômicas, que podiam permanecer imóveis durante longo período de tempo, a utilização da técnica de aquisição volumétrica (3D) de imagens auxiliou a diminuir o tempo de aquisição das imagens (CHIRANI et al., 2004; QUEMAR et al., 1989; TAKAKU et al., 1998). A imobilidade da amostra foi um fator importantíssimo na determinação do protocolo de pesquisa, pois Alfidi et al. (1982) já salientavam a necessidade de imobilidade para a obtenção de imagens com riqueza de detalhes. Ao se estabelecer um protocolo na prática clínica, muitas vezes é diminuída a qualidade do exame em razão da escolha de um tempo menor de aquisição para que não incomode o paciente ou para possibilitar que o mesmo permaneça imóvel (WESTBROOK, 2002).

Outra dificuldade encontrada nos exames-piloto foi o tamanho reduzido das amostras, pois o aparelho de IRM Gyroscan S15/HP (Philips, Best, Netherlands) vem regulado de fábrica, para iniciar o protocolo de exame somente em amostras com um determinado volume corpóreo, e as amostras dos fetos deste estudo não atingiam este volume. Este bloqueio serve como uma medida de segurança do próprio fabricante. Para poder realizar o exame, acrescentou-se um recipiente com cerca de 2 litros de solução de sulfato de cobre penta hidratado ($\text{CuSO}_4 + 5\text{H}_2\text{O}$) abaixo da amostra, que aumentou o volume total da amostra para o exigido pelo aparelho. Inclusive, verificou-se na literatura que Price et al. (1992), conseguiram realizar exames de IRM na ATM de um crânio seco submergindo o mesmo em água.

6.2 Verificando os cortes histológicos

Na literatura, observou-se que diversos autores realizaram completas investigações sobre a formação e desenvolvimento das estruturas que compõem a ATM (ASHWORTH, 1990; AVERY, 1994; BACH-PETERSEN; KJAER; FISCHER-HANSEN, 1994; BHASKAR, 1978; BAUME, 1962; BAUME; HOLZ, 1970; BEVILACQUA; AFONSO, 2003; GARTNER, 1989; GÓMES-FERRARIS; CAMPOS-MUNHOS, 1999; MINARELLI; LIBERTI, 1996; MORIMOTO; HASHIMOTO; SUETSUGO, 1987; ÖGÜTCEN-TOLLER; JUNIPER, 1993; PERRY; XU; FORBES, 1985; PROVENZA, 1988; RADLANSKI; LIECK; BONTSCHEV, 1999; SPERBER, 1981; VAN DER LINDEN; BURDI; JONGH, 1987; VELASCO et al., 1999; VELASCO; VASQUEZ; COLLADO, 1993; WONG; WEINBERG; SYMINGTON, 1985; YODELIS, 1966); sendo este um assunto bem explorado na literatura, apesar de pequenas divergências quanto à cronologia dos eventos.

Sabe-se que a partir da 7ª semana de vida IU, a ATM passa por um período morfogenético crítico que perdura até a 12ª semana de vida IU (PERRY; XU; FORBES, 1985; VAN DER LINDEN; BURDI; JONGH, 1987; VELASCO et al., 1999; YODELIS, 1966). Neste estudo, procurou-se identificar a formação das estruturas de interesse, dentro da cronologia estabelecida na literatura. É importante salientar que a finalidade principal deste trabalho não foi a determinação histológica do desenvolvimento da ATM, mesmo porque a amostragem utilizada não permitiria observações mais conclusivas. Dentro das limitações deste estudo, realizaram-se as observações a seguir.

Ao se trabalhar com cortes histológicos, poder-se-ia obter informações pela visualização dos tecidos presentes nas diferentes lâminas. Entretanto, se somente

se trabalhasse com a coloração de hematoxilina-eosina (HE) e Weigert, ficar-se-ia limitado à análise tecidual celular e do tecido elástico, respectivamente, nem sempre sendo possível a determinação da composição do arcabouço colágeno do mesmo. Acredita-se na alteração da composição do tipo de fibra colágena, com a diferenciação e maturação dos tecidos articulares. Assim, optou-se em realizar também a coloração de Picrosirius, que possibilitou a visualização da matriz colágena e sua composição, conforme foi demonstrado nos resultados (JUNQUEIRA et al., 1983; JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979; JUNQUEIRA; COSSERMELLI; BRENTANI, 1978; JUNQUEIRA; MONTES; KRISZTÁN, 1979; JUNQUEIRA; TOLEDO; MONTES, 1981; PROVENZA, 1988).

Assim, a coloração por Picrosirius auxiliou na verificação da predominância de fibra colágena tipo III, mais esverdeada, nas estruturas observadas dos grupos I e II; este tipo de fibra foi descrito na literatura em predominância no tecido uterino e fetal. Também se verificou que nos grupos III e, com maior intensidade, no grupo IV ocorria a predominância de fibras colágenas do tipo I, de coloração mais avermelhada; descrito como presente em estruturas como o osso de adultos (JUNQUEIRA, COSSERMELLI; BRENTANI, 1978; JUNQUEIRA; MONTES; KRISZTÁN, 1979). Pelos resultados observados, parece existir uma relação entre a predominância de fibras do tipo III para a do tipo I, e a diferenciação e maturação dos tecidos articulares.

Quanto à cronologia dos eventos, no grupo I (7ª semana de vida IU) observou-se o início da condensação mesenquimal e a diferenciação celular, característica da fase de blastema (BAUME, 1962; BAUME; HOLZ, 1970; RADLANSKI; LIECK; BONTSCHEV, 1999; VAN DER LINDEN; BURDI; JONGH, 1987; VELASCO et al., 1999; YOUDELIS, 1966). Pôde-se observar nas amostras do

grupo I e II (7ª e 8ª semana de vida IU) a primeira estrutura craniana a se ossificar: a mandíbula (KJAER; KEELING; HANSEN, 1999). A ossificação intramembranosa da mandíbula, lateralmente à cartilagem de Meckel, pôde ser bem observada nos cortes histológicos, em concordância com a literatura (BHASKAR, 1978; BAUME, 1962; KJAER; KEELING; HANSEN, 1999; PROVENZA, 1988). Também foi possível observar o esboço dos dois ossículos do ouvido, o incus (bigorna) e o mallcus (martelo), que desempenham a função de articulação primitiva (BHASKAR, 1978; PROVENZA, 1988; SPERBER, 1981).

Apesar de Bhaskar (1978) considerar que a ossificação da parte escamosa do temporal, principalmente fossa e tubérculo articular, inicia-se na 7ª semana de vida intra-uterina, neste estudo, não foi possível verificar a ossificação nas amostras dos grupos I e II (7ª e 8ª semana de vida IU). A explicação pode estar baseada no relato de Perry, Xu e Forbes (1985), segundo o qual, a ossificação da região temporal só ocorreria no período entre a 9ª e 10ª semana de vida IU. Já segundo Youdelis (1966), somente na 10ª semana de vida IU ocorreria a observação de ossificação das estruturas na região temporomandibular, iniciando-se pelo blastema condilar. Neste estudo, observou-se a presença de ossificação nas amostras do grupo III (13ª semana de vida IU), portanto a mesma se iniciaria antes desta fase.

Na região condilar, em amostra do grupo III (feto A, 101mm CRL, 13ª semana de vida IU), pôde-se observar o segmento triangular de tecido cartilaginoso que se forma entre a ossificação intramembranosa da cabeça da mandíbula, chamada cartilagem secundária; e que, conforme o autor e havendo pequenas divergências, pode ocorrer entre a 10ª e 13ª semana de vida IU (KJAER; KEELING; HANSEN, 1999; PERRY; XU; FORBES, 1985; PROVENZA, 1988; SPERBER, 1981; VAN DER LINDEN; BURDI; JONGH, 1987; YOUDELIS, 1966). A ossificação endocondral na

região condilar também pôde ser observada na 13ª semana de vida IU, em concordância com Sperber (1981). .

6.3 Comparação entre imagens de IRM e cortes histológicos

O exame de IRM em fetos, principalmente os do grupo III e IV, mostrou-se impressionável pela riqueza de detalhes e definição das estruturas fetais em formação, como o cérebro, cerebelo, olhos, língua, coluna vertebral, pulmões, dentre outros. Em todos os exames, a análise da variação de sinais de IRM permitiu a identificação de diferentes tecidos, caracterizada nas imagens pelos diferentes tons cinza. Os tecidos com maior sinal, ou seja, com maior número de prótons de hidrogênio, apresentam tons mais claros. Os tecidos com menor sinal, ou seja, com menor número de prótons de hidrogênio, apresentam tonalidade mais escura.

As imagens de IRM das amostras de menores dimensões (grupo I e II) não apresentaram uma definição precisa de estruturas anatômicas em geral, possivelmente pelo baixo grau de diferenciação dos tecidos. Assim, conseqüentemente, em uma análise do ponto de vista da IRM, pode-se dizer que as estruturas, por estarem com sua composição tecidual pouco diferenciada, ou seja, com pouca variação de concentração de prótons de hidrogênio, possuíam uma baixa relação contraste/ruído (RCR) entre as estruturas adjacentes. Isto significa, um pequeno grau de delimitação das estruturas e uma variação pequena nos tons cinza que compõem a imagem. Ainda, a variabilidade interobservador da capacidade em se determinar o contorno das estruturas é maior do que a intra-observador,

consequência das limitações inerentes ao exame por IRM, existentes na dificuldade da definição precisa por meio da variação de tons cinza (CHEN; GALLO; PALLA, 2002). Se observados estudos na literatura com radiação ionizante em fetos, é algo que já poderia ser esperado. Em estudo radiológico e histológico da ATM em fetos, Bach-Petersen, Kjaer e Fischer-Hansen (1994) ressaltavam que os exames complementares nas fases iniciais de ossificação da ATM eram menos sensíveis, devido a pouca diferenciação tecidual. Morimoto, Hashimoto e Suetsugu (1987) observaram que até a 14ª a 15ª semana de vida IU não era possível visualizar áreas radiopacas na ATM devido à quase inexistente ossificação.

Os cortes histológicos realizados em fetos do grupo I e II demonstraram que existe pouca ou quase nenhuma diferenciação de tecidos de forma suficiente para promover uma diferenciação nos sinais do exame de IRM. Verificou-se a presença em maior proporção do colágeno tipo III, lembrando que as mesmas estão presentes, dentre outros, no tecido embrionário, pouco maduro e diferenciado; podendo ser encontradas também em associação com as do tipo I em diferentes proporções (JUNQUEIRA et al., 1983; JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979; JUNQUEIRA; COSSERMELLI; BRENTANI, 1978; JUNQUEIRA; MONTES; KRISZTÁN, 1979; JUNQUEIRA; TOLEDO; MONTES, 1981; PROVENZA, 1988). Apesar da amostra do grupo II apresentar a rede colágena um pouco mais estruturada, principalmente na cartilagem de Meckel, isto não foi o suficiente para determinar um melhor sinal no exame de IRM. Nos cortes histológicos, verificou-se uma predominância de fibras do tipo III, associado a uma pequena presença de fibras do tipo I, o que não ocorria nos cortes histológicos do grupo I. Conforme esperado, os resultados indicaram que as estruturas fetais são melhores delineadas com o aumento do tempo de gestação (WEINREB et al., 1985).

Outro fator, que interfere na qualidade das imagens, é a segmentação das estruturas orais, como as áreas de contato ou interface de diferentes tecidos, com delimitações não muito nítidas (ENCISO et al., 2003; STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994). Nas idades fetais mais precoces, com os tecidos menos diferenciados e desenvolvidos, há uma dificuldade ainda maior na definição das estruturas articulares por meio da IRM. Outra dificuldade do exame de IRM para ATM é a quantidade e qualidade dos fluídos articulares, que muitas vezes alteram a qualidade do sinal e geram imagens de diferentes padrões (LARHEIM et al., 2001). Faz-se necessário lembrar que várias estruturas fetais são extremamente pequenas, e não chegam a ter o tamanho mínimo necessário para atingir o limite da resolução espacial do exame e, mesmo que o faça, não gerarão imagens ricas em detalhes (WEINREB et al., 1985).

Ao analisar-se as amostras do grupo III e, principalmente do grupo IV, tem-se uma visualização bem mais precisa de quase todas as estruturas anatômicas, inclusive dos componentes da ATM. Observaram-se nas amostras do grupo III, dentre 92 e 101mm CRL, representando entre 13^a e 14^a semana de vida IU, uma maior riqueza de detalhes no exame de IRM, tanto que já foi possível identificar com boa definição diferentes estruturas anatômicas como pulmão, coluna vertebral e diversos órgãos internos.

A ATM neste grupo apresentou sinais distintos, em diferentes tonalidades, e foi possível identificar a cortical da cabeça da mandíbula (CCM) e do osso temporal (COT), ambos com um sinal baixo de IRM, sendo visualizadas em um tom mais escuro. Identificou-se também a medular da cabeça da mandíbula (MCM), que apresentou sinais médios, em um tom médio de cinza; e a região correspondente ao disco articular (DA) apresentou-se com um sinal médio-alto, com uma representação

cinza mais clara. É bom lembrar que, após a 12ª semana de vida IU, a ATM já entra em processo de maturação (VELASCO et al., 1999) e, após a 14ª semana de vida IU, as estruturas que compõem a ATM assumem forma semelhante à encontrada em adultos (AVERY, 1994; GÓMES-FERRARIS; CAMPOS-MUNHOS, 1999; ÖGÜTCEN-TOLLER; JUNIPER, 1993; VELASCO et al., 1999). Isto representa que, a partir da 13ª semana de vida IU, já é possível identificar na IRM as estruturas da ATM em desenvolvimento; confirmando Crooks et al. (1983) que já demonstravam entusiasmo com a IRM pela sua excelente capacidade de determinação de tecidos.

Um dado interessante, é que, na literatura, a visualização da imagem do disco articular em adultos faz-se pela baixa intensidade de sinal, quando comparado com o alto sinal das estruturas vizinhas, como a zona bilaminar (STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994). Mas, em neste trabalho, a região do disco articular apresenta-se nitidamente com um sinal mais intenso, em tom de cinza mais claro. Um fator que pode contribuir para o baixo sinal do disco articular em adultos é a maturação do mesmo, com a presença de densa rede de fibras colágenas, inclusive com diferentes direções entre a porção intermediária e a porção da banda posterior (MINARELLI; DEL SANTO JR; LIBERTI, 1997; STEENKS; BLEYS; WITKAMP, 1994; TAKAKU et al., 1998). Verificando a literatura, observou-se que os primeiros sinais de fibras colágenas no disco articular são observados entre a 10ª e 10,5ª semana de vida IU (55 mm CRL), tornando-se mais evidentes na 12ª semana de vida IU (75mm CRL). Wong, Weinberg e Symington (1985) relatam que o disco assume sua morfologia madura já na 14ª semana de vida IU. Na 15ª semana de vida IU o disco articular pôde ser bem distinguido e observam-se as fibras de tecido colágeno (MORIMOTO; HASHIMOTO; SUETSUGU, 1987). A partir da 19ª a 20ª semana de vida IU (178 mm

CRL), o disco, progressivamente, alcança sua estrutura fibrosa plena (VAN DER LINDEN; BURDI; JONGH, 1987). Assim a imagem com alto sinal pode ser indicativo da pequena maturação tecidual desta região até a idade de estudo nesta pesquisa (18ª semana de vida IU). Mas, segundo parâmetros preconizados por Chen, Gallo e Palla (2002), o disco articular é identificado em adultos como uma área de contínuo grau de cinza claro, localizado entre a imagem mais escura da fossa e da estrutura condilar, nos mesmos parâmetros que se encontra nas imagens deste estudo. Segundo os próprios autores, mesmo em pacientes adultos, muitas vezes o contorno do disco articular não se apresentava de forma contínua.

Nos cortes histológicos do grupo IV, a diferenciação tecidual fica bem evidente na coloração por HE. As características teciduais de cada estrutura articular conferem um colorido próprio à lâmina histológica. Verificou-se inclusive, com a coloração de Weigert, a presença bem delimitada de fibras elásticas em pontos distintos da ATM, como a porção retro-discal. Na coloração por Picrosirius, observaram-se as estruturas com tramas mais densas de matriz colágena, já apresentando uma coloração bem avermelhada, características das fibras tipo I, quase não há presença de fibras do tipo III. Lembrando que as fibras colágenas do tipo I estão presentes na maioria dos tecidos conectivos que requerem suporte, força e resistência à tensão; sendo o principal componente do tecido ósseo maduro e tendões (JUNQUEIRA et al., 1983; JUNQUEIRA; BIGNOLAS; BRENTANI, 1979; JUNQUEIRA; COSSERMELLI; BRENTANI, 1978; JUNQUEIRA; MONTES; KRISZTÁN, 1979; JUNQUEIRA; TOLEDO; MONTES, 1981; PROVENZA, 1988). Essa diferenciação celular e tecidual reflete na qualidade e facilidade de identificação e delimitação das estruturas no exame por IRM. Neste grupo tem-se as melhores imagens da ATM, pois nesta fase ocorre basicamente o crescimento das

estruturas já diferenciadas e as formações vasculares da ATM (VELASCO et al., 1999).

Conforme exposto na discussão e na revisão da literatura, a IRM é um procedimento não invasivo, que possibilita imagens de alta qualidade em vários planos espaciais, com excelente resolução de tecidos moles e duros, sem expor o paciente à radiação ionizante. Assim, o contraste entre os tecidos na IRM não depende de sua densidade, mas sim da variação da estrutura molecular e suas características teciduais, permitindo aos examinadores a distinção entre tecido ósseo, fibroso, adiposo e vascular; além de possibilitar a avaliação de estados patológicos dos mesmos (CROWLEY et al., 1996).

Neste estudo, pôde-se observar seqüências de cortes sagitais de fetos em IRM, com ótima resolução, mostrando diferentes níveis de evolução tecidual das amostras, conforme demonstrado nos resultados. Mas, concorda-se com outros autores, em relação à necessidade de maior evolução tecnológica para uma visualização mais detalhada das estruturas fetais, inclusive em idades mais precoces (SCHIERTLITZ et al., 2001). Observam-se ainda dificuldades para a visualização detalhada e precisa de estruturas da ATM, principalmente em períodos críticos de desenvolvimento intra-uterino, onde se inicia a diferenciação e formação tecidual dos diferentes componentes da ATM. Deve-se lembrar Levine, Smith e McKenzie (2003), que confirmaram a qualidade superior de imagem e resolução da IRM para determinação de anormalidades fetais, principalmente quando comparados com os exames por ultra-som; os autores afirmaram que a IRM fetal possibilita estudos muito mais detalhados da anatomia fetal.

6.4 Segurança da IRM fetal

É importante tecer comentários sobre a segurança dos exames por IRM em fetos em períodos gestacionais. Segundo Garel et al. (1998), apesar de considerarem a IRM como presumidamente segura, ressaltam que talvez a segurança seja ainda o maior problema em relação ao emprego da IRM em fetos. Pode existir uma relação entre uma exposição prolongada ou muito intensa de radiação eletromagnética e efeito deletério na embriogênese, estrutura do cromossomo ou desenvolvimento fetal, embora não haja nenhuma evidência comprovada. Mas por precaução, os autores recomendam, devido aos efeitos desconhecidos, a não utilização dos exames por IRM no primeiro trimestre gestacional. A mesma recomendação pode ser observada no trabalho de Levine, Smith e McKenzie (2003).

Na prática, o final do primeiro trimestre equivale ao final da 12ª semana de vida IU, que segundo o este trabalho, é justamente o período em que a IRM torna-se eficiente para análise das estruturas articulares e, conseqüentemente, teria maior aplicação clínica. Já autores Smith, Adam e Phillips (1983), relataram que, em acompanhamento por dois anos, não houve evidência de mutações; acrescentaram que a IRM fetal se mostraria segura com o passar dos anos e com maiores estudos. Parece que, em nosso ponto de vista, os exames intra-uterinos com IRM seriam mais seguros e eficientes a partir do primeiro trimestre de gestação, pelo menos dentro dos protocolos relatados nesta pesquisa.

6.5 Reconstrução digital bi e tridimensional

Verificou-se na literatura a tentativa de diversos autores em trabalhar com modelos digitalizados da ATM por IRM, tanto bidimensionais, como tridimensionais da ATM, conforme relato de autores que pesquisaram em amostras adultas (CHEN; GALLO; PALLA, 2002; CHIRANI et al., 2004; CHU et al., 2001; KITAI et al., 2002a, 2002b; MOTOYOSHI et al., 1999). Verificou-se ainda que as imagens obtidas foram convertidas em arquivos compatíveis com o programa de reconstrução digital, inclusive alguns autores desenvolveram programas específicos para isto (CHEN, GALLO, PALLA, 2002; CHIRANI et al., 2004). As pesquisas mais atuais já observam a ATM de forma tridimensional, próxima ao que seria clinicamente, mas ainda somente em adultos (CHIRANI et al., 2004). Sabe-se que a IRM possibilita imagens mais detalhadas e de melhor qualidade do que o exame por ultra-som, assim a sua aplicação em período gestacional parece ser uma questão de tempo (GAREL et al. 1998).

Nesta pesquisa, foi escolhida uma amostra de cada grupo que apresentou as melhores imagens por IRM para que se realizasse a reconstrução tridimensional. Assim se efetuaram 2 reconstruções, uma do feto 3 (grupo III) e a outra do feto 2 (grupo IV). Nesta pesquisa utilizamos o programa comercial MRicro (www.mricro.com), que permitiu uma série de recursos na visualização da imagem, tanto bidimensionais, quanto tridimensionais. Ambas reconstruções obtidas geraram imagens com boa qualidade de definição, compatíveis com as imagens sagitais obtidas diretamente do aparelho de IRM. Isto se obteve por meio do protocolo de aquisição de imagens desenvolvido para esta pesquisa. Sabe-se que a aquisição

volumétrica possibilita uma melhor definição de pequenas estruturas articulares (JAHN; SCHELLHAS, 1991). As imagens bidimensionais obtidas são muito didáticas, pois possibilitam a visualização das imagens em 3 planos de corte, simultaneamente, o plano axial, coronal e sagital, além de possibilitar, por meio de um cursor, a visualização de diferentes profundidades de cortes, que auxiliam em determinar o posicionamento espacial da estrutura estudada. Os modelos tridimensionais oferecem a possibilidade de rotação da amostra em qualquer um dos três eixos cartesianos. Assim se pode estudar a anatomia externa da amostra, ou, se utilizar o recurso de transparência, ter uma visão tridimensional de estruturas orais, como a mandíbula.

O programa ainda abre um leque grande de possibilidades, inclusive de separar as estruturas articulares, que talvez não foram bem exploradas, pois houve uma grande dificuldade em se determinar a diferenciação dos tons de cinza característicos para cada tecido em cada exame.

Segundo estudo de Chen, Gallo e Palla (2002), descrevendo as limitações de seu trabalho, sugeriram que para se conseguir a melhor reconstrução tridimensional possível respeitando-se a limitação de cada aparelho de ressonância, o ideal seria a combinação de cortes sagitais e coronais na aquisição da imagem. Ainda seria necessário um sistema de registro de imagens muito preciso para possibilitar uma perfeita sobreposição de imagens e dados, o que possibilitaria a reconstrução digital com maior precisão em programas específicos. Neste trabalho não se observou uma limitação muito grande na reconstrução tridimensional, mas aquisição de imagens ocorreu em somente em um plano, o sagital; mesmo porque não tínhamos a disposição um programa que realizasse esta montagem tridimensional com duas fontes de dados. Futuras pesquisas devem ser realizadas, com o desenvolvimento

de novos programas e tecnologias, utilizando imagens sagitais e coronais, talvez permitido assim, imagens tridimensionais mais detalhadas da ATM.

Garel et al. (1998) salientaram que até o momento, basicamente a utilização da IRM fetal limita-se a exames de patologias cerebrais, mas existindo um vasto campo para novas pesquisas. Segundo Chirani et al. (2004) ressaltaram-se a necessidade de maior desenvolvimento, principalmente no protocolo, para melhorar a aquisição e reconstrução tridimensional das imagens da ATM. Jeffery e Spoor (2004) relembram a importância de maiores estudos, inclusive tridimensionais, pois acreditam que com o avanço tecnológico da IRM será possível a utilização da mesma para estudos longitudinais em fetos intra-uterinos. Deve-se ouvir Chu et al. (1995), que já profetizavam que as imagens tridimensionais da ATM também terão grande aplicação no aprendizado, na comunicação com o paciente e no monitoramento do tratamento. Salienta-se, inclusive, que o desenvolvimento tecnológico já permite a localização *in vivo* de diferentes aspectos da atividade cerebral por meio de exames funcionais de IRM (AMARAL; RABANNI; CATICHA, 2004).

Este trabalho procurou prestar uma pequena contribuição ao estudo da formação e desenvolvimento da ATM, por meio de uma tecnologia cada vez mais aceita e difundida no meio científico; e com grande aplicabilidade clínica. Apesar de não permitir estabelecer métodos definitivos de visualização digital da ATM por meio da IRM, pôde-se verificar a necessidade de maiores estudos nesta área muito promissora de investigação da ATM, inclusive com a utilização de novas tecnologias. O leque de pesquisas é muito grande, ainda mais se levarmos em consideração que o exame de IRM possibilita evidenciar estruturas sem a destruição de peças

anatômicas. Em um futuro próximo, poderemos, quem sabe, realizar exames funcionais de IRM na ATM dos pacientes, podendo-se determinar o local exato de resposta frente a um estímulo, como a mastigação. Ou ainda, a utilização da micro-IRM, com bobinas específicas, para possibilitar o estudo e avaliação, em uma dimensão microscópica, da anatomia e função das estruturas articulares.

Para encerrar este capítulo da Discussão é bom lembrar Bhaskar (1978), que relata que a histologia oral é uma ciência básica, levando o profissional a um contato íntimo com os tecidos da fisiologia oral; através de seu conhecimento, pode-se compreender melhor uma doença para preveni-la e, sobretudo, para planejar a correta terapia. É importante também citar Moore e Persaud (2004), que ressaltam que o conhecimento do desenvolvimento da estrutura e da função como um todo é essencial para o entendimento das mudanças fisiológicas, que ocorrem durante o período neonatal; e, que os progressos no campo cirúrgico, especialmente nos grupos de idade pediátrica neonatal e fetal, tornaram o conhecimento do desenvolvimento humano ainda mais significativo do ponto de vista clínico; concluem que: "... a compreensão e a correção da maioria das anomalias congênitas dependem, sobretudo, do conhecimento do desenvolvimento normal e dos desvios que podem ocorrer, capacitando médicos, dentistas e outros profissionais a explicar as bases do desenvolvimento das anormalidades...".

7 CONCLUSÕES

Por meio da metodologia aplicada neste trabalho, pôde-se concluir que:

- O exame de IRM para ATM, dentro do protocolo utilizado, se mostrou eficiente em amostras a partir da 13ª semana de vida IU, aproximadamente quando se inicia o período de maturação articular;
- A seqüência de eventos de formação e de desenvolvimento da ATM observados nos cortes histológicos, e comparados ao exame de IRM, está em concordância com a cronologia apresentada na literatura;
- Foi observada a presença de fibras colágenas do tipo I e III, ocorrendo alteração na predominância de fibras do tipo III para as do tipo I, entre a 7ª e a 18ª semana de vida IU;
- Modelos digitais bi e tridimensionais do desenvolvimento da ATM podem ser obtidos a partir do exame de IRM, entretanto, ainda são necessários maiores estudos e avanços tecnológicos para sua melhor aplicabilidade.

REFERÊNCIAS¹

Amaral SR, Rabbani SR, Caticha N. Multigrid priors for a Bayesian approach to fMRI. *Neuroimage* 2004;23(2):654-62.

Alfidi RJ, Haaga JR, Yousef SJ, Bryan PJ, Fletcher BD, LiPuma JP et al. Preliminary experimental results in human and animals with a superconducting, whole-body, nuclear magnetic resonance scanner. *Radiology* 1982;143(2):175-81.

Ashworth, GJ. The attachments of the temporomandibular joint meniscus in the human fetus. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1990;28(4): 246-50.

Avery JK. Development and maturation of the craniofacial area. *Oral development and histology*. New York: Thieme Medical; 1994. cap.1 , p. 2-58.

Bach-Petersen S, Kjaer I, Fischer-Hansen B. Prenatal development of the human osseous temporomandibular region. *J Craniofac Genet Dev Biol* 1994;14(3):135-43.

Baume JB. Ontogenesis of the human temporomandibular joint: 1. Development of the condyle. *J Dent Res* 1962;41(6):327-39.

Baume JB, Holz J. Ontogenesis of the human temporomandibular joint: 2. Development of the temporal components. *J Dent Res* 1970;49(4):864-75.

Bevilacqua E, Afonso A. Desenvolvimento embrionário da ATM. In: Maciel RN. *ATM e Dores Craniofaciais. Fisiopatologia Básica*. São Paulo: Santos; 2003. cap.1, p. 5-18.

Bhaskar SN. *Histologia e embriologia oral de Orban*. 8ª ed. Trad. de Eleonora Diefenbach Müller. São Paulo: Artes Médicas; 1978. cap.8, p. 239-58.

Bloch F, Hansen W, Packard M. Nuclear induction (1946) *apud* Thomson CE, Kornegay J Burn RA, Drayer BP, Hadley DM, Levesque DC, Gainsburg LA, Lane SB, Sharp NJH, Wheeler SJ. *Veterinary Radiology & Ultrasound* 1993;34(1):2-17.

---

¹ De acordo com Estilo Vancouver. Abreviatura de periódicos segundo base de dados MEDLINE.

Carlson BM. Establishment of the basic embryonic body plan. Human embryology & development biology. St.Louis: Mosby, 1998. cap. 2, p.75-105.

Chen YJ, Gallo LM, Meier D, Palla S. Dynamic magnetic resonance imaging technique for the study of the temporomandibular joint. J Orofac Pain 2000a;14(1):65-73.

Chen YJ, Gallo LM, Meier D, Palla S. Individualized oblique-axial magnetic resonance imaging for improved visualization of mediolateral TMJ disc displacement. J Orofac Pain 2000b;14(2):128-39.

Chen YJ, Gallo LM, Palla S. The mediolateral temporomandibular joint position: An in vivo quantitative study. J Orofac Pain 2002;16(1):29-38.

Chirani RA, Jacq JJ, Meriot P, Roux C. Temporomandibular joint: a methodology of magnetic resonance imaging 3-D reconstruction. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 2004;97(6):756-61.

Christiansen EI. The challenge of TMJ radiography. Dentistry 1987;7(4):31-3.

Chu SA, Suvinen TI, Clement JG, Reade PC. The effect of interocclusal appliances on temporomandibular joints as assessed by 3D reconstruction of MRI scans. Aust Dent J 2001;46(1):18-23.

Chu SA, Skultety KJ, Suvinen TI, Clement JG, Price C. Computerized three-dimensional magnetic resonance imaging reconstruction of temporomandibular joints for both a model and patients with temporomandibular pain dysfunction. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1995;8(5):604-11.

Couly G. Morphogenèse temporo-mandibulaire. Réflexions, invariants et applications. Actualités Odonto Stomat 1979;128(7):793-809.

Crooks LE, Ortendahl DA, Kaufman L, Hoenninger J, Arakawa M, Watts J et al. Clinical efficiency of nuclear magnetic resonance imaging. Radiology 1983;146(1):123-8.

Crowley C, Wilkinson T, Piehslingher E, Wilson D, Czerny C. Correlations between anatomic and MRI sections of human cadaver temporomandibular joints in the coronal and sagittal planes. J Orofac Pain 1996;10(3):199-216.

Dubner R, Sessle BJ, Storey AT. The neural basis of oral and facial function. New York: Plenum Press, 1978. p. 147-74, 276-310, 338-47, 364-76.

Emshoff R, Rudisch A, Innerhofer K, Bösch R, Bertram S. Temporomandibular joint internal derangement type III: relationship to magnetic resonance imaging findings of internal derangement and osteoarthritis. *Int J Maxillofac Surg* 2001;30(5):390-6.

Emshoff R, Rudisch A, Innerhofer K, Brandlmaier I, Moschen I, Bertram S. Magnetic resonance imaging findings of internal derangement temporomandibular joints without a clinical diagnosis of temporomandibular disorder. *J Oral Rehabil* 2002;29(6):516-22.

Enciso R, Memon A, Fidaleo DA, Neumann U, Mah J. The virtual craniofacial patient: 3D jaw modeling and animation. *Stud Health Technol Inform* 2003;94(1):65-71.

Fukushima E, Roeder SBW. Experimental pulse NMR - a nuts and bolts approach. Massachusetts: Addison-Wesley; 1981. cap.1, p.1-44.

Garel C, Brisse H, Sebag G, Elmalch M, Oury JF, Hassan M. Magnetic resonance imaging of the fetus. *Pediatr Radiol* 1998;28(4):201-11.

Gartner LP. Oral histology and embryology. Maryland: Jean House; 1989. cap. 11, p. 180-7.

Gökalp H, Türkkahraman H, Bzeizi N. Correlation between eminence steepness and condyle disc movements in temporomandibular joints with internal derangements on magnetic resonance imaging. *Eur J Orthod* 2001;23(5):579-84.

Gómes-Ferraris ME, Campos-Munoz A. Articulación temporomandibular (ATM). *Histología y Embriología Bucodental*. Madrid: Médica Panamericana; 1999. p. 159-172.

Haiter-Neto Fb, Hollender L, Barclay p, Maravilla KR. Disk position and the bilaminar zone of the temporomandibular joint in asymptomatic young individuals by magnetic resonante imaging. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral & Maxillofac Radiol* 2002;94(3): 3721-8.

Harms SE, Wilk RM, Wolford LM, Chiles DE, Milam SB. The temporomandibular joint: magnetic resonance imaging using surface coils. *Radiology* 1985;157(1):133-6.

Helms CA, Richardson ML, Moon KL, Ware WH. Nuclear magnetic resonance imaging of the temporomandibular joint: preliminary observations. *J Craniomandib Pract* 1984;2(3):220-4.

Horowitz AL. MRI Physics for radiologists. A visual approach. 3^{dr} ed. New York: Springer; 1994. cap.7, p.53-6.

Hudson LC, Cauzinille L, Kornegay JN, Tompkins MB. Magnetic resonance imaging of the normal feline brain. *Veterinary Radiol & Ultrasound* 1995;36(4):267-75.

Jahn J, Schellhas KP. Magnetic resonance imaging of the temporomandibular joint: preliminary evaluation of partial flip angle three-dimensional volume single and multiecho pulses sequences. *Cranio* 1991;9(2):145-51.

Jeffery N, Spoor F. Ossification and midline shape changes of the human fetal cranial base. *Am J Physical Anthropol* 2004;123(1):78-90.

Junqueira LCU, Bignolas G, Brentani RR. Picrosirius staining polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. *Histochem J* 1979;11(4):447-55.

Junqueira LCU, Carneiro J. *Histologia básica*. 2^a ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 1971. cap. 5, p. 73-102.

Junqueira LCU, Cossermelli W, Brentani RR. Differential staining of collagens type I, II and III by sirius red and polarization microscopy. *Arch Histol Jap* 1978;41(3):267-74.

Junqueira LCU, Junqueira LMMS. *Técnicas Básicas de Citologia e Histologia*. São Paulo: Santos; 1983.

Junqueira LCU, Montes GS, Krisztán RM. The collagen of the vertebrate peripheral nervous system. *Cell Tissue Res* 1979;202(3):453-60.

Junqueira LCU, Montes GS, Toledo OMS, Bexiga SRR, Gordilho MA, Brentani RR. Evidence for collagen molecular orientation in basement membranes. *Histochem J* 1983;15(8):785-94.

Junqueira LCU, Toledo OMS, Montes GS. Correlation of specific sulfated glycosaminoglycans with collagen types I, II and III. *Cell Tissue Res* 1981;217(2):171-5.

Katzberg RW, Bessette RW, Tallents RH, Plewes DB, Manzione JV, Schenck JF et al. Normal and abnormal temporomandibular joint: MR imaging with surface coil. *Radiology* 1986;158(2):183-9.

Kawamura Y. Recent advances in physiology of mastication. In: Emmelin N, Zottermann Y. *Oral Physiology*. New York: Pergamon Press; 1972. p. 163-204.

Kitai N, Eriksson L, Kreiborg S, Wagner A, Takada K. Three-dimensional reconstruction of TMJ MR images: a technical note and case report. *Cranio* 2004;27(1):77-81.

Kitai N, Kreiborg S, Bakke M, Paulsen HU, Moller E, Darvann TA et al. Three-dimensional magnetic resonance image of the mandible and masticatory muscles in a case of juvenile chronic arthritis treated with the Herbst appliance. *Angle Orthod* 2002a;72(1): 81-7.

Kitai N, Kreiborg S, Murakami S, Bakke M, Paulsen HU, Moller E et al. A three-dimensional method of visualizing the temporomandibular joint based on magnetic resonance imaging in a case of juvenile chronic arthritis. *Int J Pediatr Dent* 2002;12(2):109-15.

Kjaer I, Keeling JW, Hansen BF. *The prenatal human cranium*. Copenhagen: Munksgaard; 1999.

Kurita H, Ohtsuka A, Kobayashi H, Kurashina K. A study of the relationship between the position of the condylar head and displacement of the temporomandibular joint disc. *Dentomaxillofac Radiol* 2001;30(3):162-5.

Larheim TA, Katzberg RW, Westesson PL, Tallents R, Moss ME. MR evidence of temporomandibular joint fluid and condyle marrow alterations: occurrence in asymptomatic volunteers and symptomatic patients. *Int J Oral Maxillofac Surg* 2001;30(2):113-7.

Levine D, Smith AS, McKenzie C. Tips and tricks of fetal MR imaging. *Radiol Clin North Am* 2003;41(4):729-45.

Liberti EA, Adamo J. Contribuição para a obtenção da medida vértex-cóccix (V/C) de fetos humanos. *Arq Anat Antropol* 1985;39:105-11.

Macedo FJM. Contribuição ao estudo do desenvolvimento do tubérculo articular da articulação temporomandibular em embriões humanos [Tese Doutorado]. São Paulo: Instituto de Ciências Biomédicas da Universidade de São Paulo; 1998.

Major PW, Kinniburgh RD, Nebbe B, Prasad NG, Glover K. Tomographic assessment of temporomandibular joint osseous articular surface contour and spatial relationships associated with disc displacement and disc length. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2002;121(2):152-61.

McCarthy S, Stark D, Higgins. Demonstration of the fetal cardiovascular system by MR imaging. *J Comput Assist Tomogr* 1984;8(6):1168-9.

Minarelli AM, Del Santo Jr M, Liberti EA. The structure of the temporomandibular joint disc: a scanning electron microscopy study. *J Orofac Pain* 1997;11(12):95-100.

Minarelli AM, Liberti EA. Relação entre o feixe superior do músculo pterigoideo lateral e o disco da ATM humana: estudo ao microscópio de luz. *Rev Odontol Univ São Paulo* 1996;10(3):175-9.

Moore KL, Persaud TVN. Embriologia clínica. 7ª ed. Trad. de Maria das Graças Fernandes Salles. Rio de Janeiro: Elsevier; 2004. cap.1, p.1-16.

Morimoto K, Hashimoto N, Suetsugu T. Prenatal development process of human temporomandibular joint. *J Prosthet Dent* 1987;57(6):723-30.

Motoyoshi M, Sadowsky PL, Bernreuter W, Fukui M, Namura S. Three-dimensional reconstruction system for imaging of the temporomandibular joint using magnetic resonance imaging. *J Oral Sci* 1999;41(1):5-8.

Nakagawa S, Sakabe J, Nakajima I, Akasaka M. Relationship between functional disc position and mandibular displacement in adolescent females: posteroanterior cephalograms and magnetic resonance imaging retrospective study. *J Oral Rehabil* 2002;29(5):417-22.

Nebbe B, Brooks SL, Hatcher D, Hollender LG, Prasad NGN, Major PW. Interobserver reliability in quantitative MRI assessment of temporomandibular joint disk status. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998;86(6):746-50.

Nóbrega C. A ressonância magnética das ATMs – recurso diagnóstico de última geração. J Bras Odontol 2000;5(26):63-76.

Ögütçen-Toller M, Juniper RP. The embryologic development of the human lateral pterygoid muscle and its relationships with the temporomandibular joint disc and Meckel's cartilage. Int. J Oral Maxillofac Surg 1993;51(7):772-9.

Ögütçen-Toller M, Taskaya-Yilmaz N, Yilmaz F. The evaluation of the temporomandibular joint disc position in TMJ disorders using MRI. Int J Oral Maxillofac Surg 2002;31(6):603-7.

Oliveira RB, Cardoso ES, Costa NP, Oliveira HW, Oliveira MG. Entendendo a ressonância magnética. Rev Odonto Ciência 2002;15(30):17-25.

O'Rahilly R, Müller F. Human embryology & teratology. 2nd ed. New York: Wiley-Liss; 1994. chap. 8, p.55-68.

Osborn JW. The disc of human temporomandibular joint: design, function and failure. J Oral Rehabil 1985;12(4):279-93.

Palla S. Mioartropatías del sistema mastigatorio y dolores orofaciales. Trad. de Alejandro Berlangieri Bocchi. Milano: RC Libri; 2003. cap.6, p.141-158.

Patten BM. Embriología humana. 3^a ed. Trad. de Manuel Enrique Varela. Buenos Aires: El Ateneo; 1960. cap.7, p.196-217.

Perry HT, Xu Y, Forbes, DP. The embryology of the temporomandibular joint. J Craniomand Practice 1985;3(2):125-32.

Price C, Connell DG, MacKay A, Tobias DI. Three-dimensional reconstruction of magnetic resonance images of the temporomandibular joint by IDEAS. Dentomaxillofac Radiol 1992;24(3):148-53.

Price C, Fache JS. Magnetic resonance imaging of the temporomandibular joint: normal appearances. Dentomaxillofac Radiol 1986;15(2):79-85.

Provenza V. Fundamentals of oral histology and embryology. 2nd ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1988. cap. 2, p.20-84.

Pullinger AG, Seligman DA, John MT, Harkins S. Multifactorial comparison of disc displacement with and without reduction to normal according to temporomandibular joint hard tissue anatomic relationships. *J Prosthet Dent* 2002a;87(3):298-330.

Pullinger AG, Seligman DA, John MT, Harkins S. Multifactorial modeling of temporomandibular anatomic and orthopedic relationships in normal versus undifferentiated disk displacement joints. *J Prosthet Dent* 2002b;87(3):289-97.

Quemar JC, Bernard AM, Akoka S, Romdane H, Simon J, Certaine JD. Magnetic Resonance imaging of the TMJ: Identification of anatomic elements by controlled movement and application to normal and pathologic clinical situations. *J Craniomand Disord* 1989;3(1):20-4.

Radlanski RJ, Lieck S, Bontschev NE. Development of the human temporomandibular joint. Computed-aided 3D-reconstructions. *Eur J Oral Sci* 1999;107(1):25-34.

Razmus TF, Williamson GF. Current oral and maxillofacial imaging. Philadelphia: Saunders; 1996. cap. 3, p. 50-78.

Ross RB, Johnston MC. Developmental anomalies and dysfunction. In: Zarb GA; Carlsson GE; Sessle BJ; Mohl ND. Temporomandibular joint and masticatory muscles disorders. 2^a ed. Copenhagen: Munksgaard; 1994. chap.10, p. 221-55.

Sadler TW. Third to eighth week: The embryonic period. In: Longman's medical embryology. Baltimore: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. cap.5, p. 83-111.

Sakuma K, Sano T, Yamamoto M, Tachikawa T, Okano T. Does decreased T1 signal intensity in the retrodiscal tissue of the temporomandibular joint reflect increased density of collagen fibres? *Dent Maxillofac Radiol* 2003;32(4):222-8.

Santler G, Kärcher H, Simbrunner J. MR diagnosis and intraoperative findings. *J Craniomaxillofac Surg* 1993;21(7):284-8.

Schierlitz L, Dumanli H, Robinson JN, Burrows PE, Schreyer AG, Kikinis R et al. Three-dimensional magnetic resonance of fetal brains. *Lancet* 2001;357(9263):1177-8.

Sicher H. Oral histology and embryology. 6th ed. London: Mosby; 1966. cap.13, p. 335-43.

Simões WA. Ortopedia funcional dos maxilares. 3^a ed. São Paulo: Artes Médicas; 2003. cap.2, 55-90.

Smith FW, Adam AH, Phillips WPD. NMR imaging in pregnancy. Lancet 1983; 1(8):61-2.

Sperber GH. Craniofacial embryology. 3rd ed. London: Wright – PSG; 1981. cap.12, p. 127-39.

Steenks MH, Bleys RLAW, Witkamp TD. Temporomandibular joint structures: a comparison between anatomic and magnetic resonance findings in a sagittal and an angulated plane. J Orofac Pain 1994;8(2):120-35.

Storey AT. Interactions of alimentary and upper respiratory tract reflexes. Em *Masticatory and Swallowing*. Sessle BJ, Hannam A. Toronto: Univer. Toronto Press; 1976. p. 22-36.

Storey AT. What mechanisms contributed to the coordination of tongue movements during mastication and swallowing. In: Sessle BJ, Hannam A. *Masticatory and Swallowing*. Toronto: Univer. Toronto Press; 1976. p. 181-90.

Styles C, Whyte A. MRI in the assessment of internal derangement and pain within the temporomandibular joint: a pictorial essay. Br J Oral Maxillofac Surg 2002;40(3):220-8.

Takaku S, Sano T, Yoshida M, Toyoda T. A comparison between magnetic resonance imaging and pathologic findings in patients with disc displacement. J Oral Maxillof Surg 1998;56(2):171-6.

Tasaki MM, Westesson PL. Temporomandibular joint: diagnostic accuracy with sagittal and coronal MR imaging. Radiology 1993;186(3):723-9.

Taskaya-Yilmaz N, Ögütçen-Toller.M. Clinical correlation of MRI findings of internal derangements of the temporomandibular joints. Br J Oral Maxillof Surg 2002;40(4):317-21.

Thomson CE, Kornegay J, Burn RA, Drayer BP, Hadley DM, Levesque DC et al. Magnetic resonance imaging – a general overview of principles and examples in veterinary neurodiagnosis. Veterinary Radiol & Ultrasound 1993;34(1):2-17.

Van der Linden EJ, Burdi AR, Jongh HJ. Critical periods in the prenatal morphogenesis of the human lateral pterygoid muscle, the mandibular condyle, the articular disc, and medial articular capsule. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1987; 91(1):22-8.

Velasco JRM, Vasquez JFR, Collado, JJ. The relationships between the temporomandibular joint disc and related masticatory muscles in humans. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51(4):390-396.

Velasco JRM, Vasquez JFR, Velasco JAM, Montesinos IS, Ferra JE. Development of the human temporomandibular joint. *Anat. Rec* 1999;255(1):20-33.

Watted N, Witt E, Kenn W. The mandibular joint and the disc-condyle relationship after functional orthopaedic treatment: a magnetic resonance imaging study. *Eur J Orthod* 2001;23(6):683-93.

Weinreb JC, Lowe T, Cohen JM, Kutler M. Human fetal anatomy. *Radiology* 1985;157(3):715-20.

Westbrook C. Manual de técnicas de ressonância magnética. 2ª ed. Trad. de Maria Ângelica Borges dos Santos. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan; 2002. cap. 1, p.3-38.

Westesson PL, Katzberg RW, Tallents RH, Sanches-Woodworth RE, Svensson SA, Espeland MA. Temporomandibular joint. Comparison of MR images with cryosectional anatomy. *Radiology* 1987;164(1):59-64.

Westesson PL, Kwok E, Barsotti JB, Hatala M, Paesani D. Temporomandibular joint: improved MR image quality with decreased section thickness. *Radiology* 1992;182(1):280-2.

Weigert C. Über eine method zur färbung elastischer fasen. *Zbl All Path Pathol Anat* 1898;9:289-92.

Wong GB, Weinberg S, Symington JM. Morphology of the developing disc of the human temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 1985;43(8):565-9.

Youdelis, RA. The morphogenesis of the human temporomandibular joint and its associated structures. *J Dent Res* 1966;45(1):182-91.

APÊNDICE A – IRM do Embrião 4 (22 mm CRL, 7 semanas IU)

APÊNDICE B – IRM do Feto C (35 mm CRL, 8 semanas IU)

APÊNDICE C – IRM do Feto 3 (92 mm CRL, 13 semanas IU)

APÊNDICE C – IRM do Feto 3 (92 mm CRL, 13 semanas IU)

Conclusão

APÊNDICE D – IRM do Feto A (101 mm CRL, 14 semanas IU)

APÊNDICE D – IRM do Feto A (101 mm CRL, 14 semanas IU)

Conclusão

APÊNDICE E – IRM do Feto 2 (148 mm CRL, 17 semanas IU)

APÊNDICE E – IRM do Feto 2 (148 mm CRL, 17 semanas IU)

Conclusão

APÊNDICE F – IRM do Feto D (156 mm CRL, 17 semanas IU)

APÊNDICE F – IRM do Feto D (156 mm CRL, 17 semanas IU)

Conclusão

APÊNDICE G – IRM do Feto B (160 mm CRL, 18 semanas IU)

APÊNDICE H – Tabela de protocolo dos exames de IRM, por amostra

Amostra	Aquisição	Número de cortes	Protocolo tempo	Número de média (NEX)	Tempo de eco (TE)	Tempo repetição (TR)	Distância entre cortes	Field of view (FOV)
Feto 2	3D	2x60=120	2x240 min	8	30	200	1mm	100
Feto 3	3D	2x40=80	2x170 min	8	35	200	1mm	80
Embrião 4	3D	2x8= 16	2x 70 min	8	35	200	1mm	80
Feto A	3D	33x2=66	2x140min	8	35	200	1mm	80
Feto B	3D	57x2=104	2x230min	8	30	200	1mm	120
Feto C	3D	4x13=52	2x80 min	8	32	200	1mm	80
Feto D	3D	2x50=100	2x240 min	8	30	200	1mm	110

ANEXOS

ANEXO A - Parecer do Comitê de Ética em Pesquisa

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOMÉDICAS

Cidade Universitária "Armando de Salles Oliveira"
Av. Prof. Lineu Prestes, 2415 - cep. 05508-000 São Paulo, SP - Brasil
Telefone : (55) (11) 3091.7733 - telefax : (55) (11) 3091-7438
e-mail: cep@icb.usp.br

São Paulo, 07 de abril de 2004

PARECER 561/CEP

Prezado Senhor

Atendendo sua solicitação, a *Comissão de Ética em Pesquisas com Seres Humanos do ICB*, em sua quadragésima quarta reunião realizada em 06-abril-04, analisou o projeto de sua responsabilidade intitulado: "Avaliação anatômica do desenvolvimento da articulação temporo-mandibular, através do uso de ressonância magnética, reconstrução digital e cortes histológicos".

Informo a V.Sa. que, após análise e discussão, o referido projeto foi **aprovado por esta Comissão.**

Esclareço a V.Sa. que dentro de 12 meses, relatório do referido projeto deverá ser encaminhado à Secretaria deste CEP.

Cordialmente,

Prof. Dr. LUIZ VICENTE RIZZO
Coordenador da Comissão de Ética em
Pesquisas com Seres Humanos - ICB/USP

Ilmo. Sr.
SERGIO NAKAZONE JÚNIOR
Departamento de Anatomia
Instituto de Ciências Biomédicas - USP

ANEXO B – Declaração de Cessão das Amostras

UNIVERSIDADE DE SÃO PAULO
Instituto de Ciências Biomédicas
Chefia do Departamento de Anatomia
Edson Aparecido Liberti
e-mail: calibert@icb.usp.br

Av. Prof. Lineu Prestes, 2415
05508-900 - Cidade Universitária
São Paulo - São Paulo - Brasil
Fone: 818-7226 / 818-7258
Fax: 55-11-3091-7300

DECLARAÇÃO

Declaro, para os devidos fins, que as amostras de articulações temporomandibulares de fetos (ATMs) por mim fornecidas ao Dr. Sérgio Nakazone Júnior, Doutorando em Prótese Dentária da Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo, estão sob minha guarda e responsabilidade. As amostras foram coletadas de acordo com as normas da convenção de Helsinque para pesquisas em seres humanos. Informo ainda que as referidas amostras fazem parte do acervo didático do Laboratório de Aulas Práticas do Departamento de Anatomia desde a década de 1970 e que me responsabilizo pela manutenção e guarda das mesmas por pelo menos cinco anos após o término desta atividade de pesquisa para a qual as amostras estão sendo usadas.

NADA MAIS.

São Paulo, 25 de fevereiro de 2004

Edson Ap. Liberti

*(MS-6 do do Departamento de
Anatomia do ICB/USP)*