



UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA

RITA SANTANA DOS REIS

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO CONDILAR DE
MANDÍBULAS HUMANAS**

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2016

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
CENTRO ACADÊMICO DE VITÓRIA
LICENCIATURA EM CIÊNCIAS BIOLÓGICAS

RITA SANTANA DOS REIS

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO CONDILAR DE
MANDÍBULAS HUMANAS**

TCC apresentado ao Curso de Graduação em Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para incremento da Disciplina Eletiva do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Orientador: Francisco Carlos
Amanajás de Aguiar Júnior
Coorientadora: Carolina Peixoto
Magalhães

VITÓRIA DE SANTO ANTÃO

2016

Catálogo na fonte
Sistema de Bibliotecas da UFPE - Biblioteca Setorial do CAV
Bibliotecária Ana Lígia Feliciano dos Santos - CRB-4/2005

R375a Reis, Rita Santana dos.

Análise histomorfométrica do tecido ósseo condilar de mandíbulas humanas. / Rita Santana dos Reis. - Vitória de Santo Antão, 2016.

40 folhas: il.; grã., tab., fig.

Orientador: Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior.

Coorientadora: Carolina Peixoto Magalhães

TCC (Graduação)- Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, Licenciatura em Ciências Biológicas, 2016.

Inclui referências e anexo.

1. Osso e ossos. 2. Anatomia - Mandíbula. 3. Côndilo Mandibular. I. Aguiar Júnior, Francisco Carlos Amanajás de (Orientador). II. Magalhães, Carolina Peixoto (Coorientador). III. Título.

611 CDD (23.ed.)

BIBCAV/UFPE-136/2016

RITA SANTANA DOS REIS

**ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO CONDILAR DE
MANDÍBULAS HUMANAS**

TCC apresentado ao Curso de Graduação de Licenciatura em Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco, Centro Acadêmico de Vitória, como requisito para incremento da Disciplina Eletiva do Curso de Licenciatura em Ciências Biológicas.

Aprovado em: 15/ 12/ 2016.

BANCA EXAMINADORA

Profº. Drº Francisco Carlos Amanajás de Aguiar Júnior
Universidade Federal de Pernambuco

Profª Drª Renata Cristinny de Farias Campina
Universidade Federal de Pernambuco

Msc. Ewerton Fylype de Araújo Silva
Universidade Federal de Pernambuco

Aos meus pais, Lindalva e Joaquim.

AGRADECIMENTOS

À Deus por ser minha maior fonte de força e coragem para seguir em frente.

A meu orientador Francisco Amanajás, por todo apoio, orientação, disponibilidade e crença nessa pesquisa, bem como, acreditar na minha capacidade de desenvolvê-la. A minha co-orientadora Carolina Peixoto, por toda orientação, disponibilidade de material que foi usado na pesquisa e positividade. Aos dois por serem uma grande fonte de inspiração profissional.

A todos que me apoiaram durante esse trajeto. Em especial à Maria Rosana, Fernanda Alda, Jeanderson Silva e o técnico André Pukey, que se envolveram diretamente com a pesquisa, me acompanhando durante todo seu desenvolvimento, além de serem grandes amigos.

A Universidade Federal de Pernambuco (UFPE) – Centro Acadêmico de Vitória (CAV) por conceder os meios e ambientes necessários para o desenvolvimento desta pesquisa.

Aos demais técnicos do Laboratório de Anatomia Humana, Rosane Galvão e Ewerton Felipe, por sempre se disponibilizarem a ajudar no que fosse possível. A Rose Kelly, José Iago e Weverton Souza, que me ajudaram durante a fase inicial da pesquisa. A meus amigos Sílvio Francisco, Rafaela Alves, melhores agregados que poderiam existir, Fernanda Alda e Maria Rosana, sem vocês não existiriam as três espiãs do Laboratório de Anatomia, Jeanderson Silva, Lucas Alcântara, Pedro Thiago, Carla Ximenes, e demais não citados por fazerem parte da minha vida e me proporcionarem excelentes momentos de descontração, bem como me apoiar em fases difíceis. Com cada um de vocês vivi um momento especial e único que não tem como ser citado aqui, mas que levarei comigo eternamente.

A minha família, meu maior exemplo de vida, por sempre me apoiarem em tudo o que faço. Sem vocês eu nada seria.

A todos que direta ou indiretamente possibilitaram que esta pesquisa, bem como toda minha formação profissional e pessoal fosse possível.

RESUMO

A mandíbula é um osso localizado na região inferior da face, constituído por um corpo e dois ramos, onde se localizam os processos condilares parte integrante da articulação temporo-mandibular. O tecido ósseo é um tecido extremamente resistente, constituído por uma matriz extracelular mineralizada e células especializadas, como osteoblastos, osteócitos e células osteoprogenitoras. Apesar de apresentar similaridades entre as diversas regiões do corpo, generalizações à cerca da organização microscópica do tecido ósseo condilar da mandíbula não são óbvias necessitando, portanto, de melhor elucidação. Nosso trabalho objetivou avaliar, através de histomorfometria, características microscópicas do tecido ósseo condilar de mandíbulas humanas. Para tal, foram utilizadas 40 mandíbulas, 20 de cada gênero, pertencentes ao acervo de ossadas do laboratório de Anatomia Humana da Universidade Federal de Pernambuco – Centro Acadêmico de Vitória. De cada mandíbula foi extraída uma amostra do tecido ósseo de cada côndilo mandibular para obtenção do preparado histológico através da técnica de desgaste. 20 fotomicrografias (10 no aumento final de 100X e 10 no aumento final de 400X) foram obtidas de cada preparado e posteriormente avaliadas através do software ImageJ, onde quantificou-se os canais centrais e lacunas ósseas e mensurou-se suas respectivas áreas. Os dados coletados foram submetidos ao teste t de Student, sendo considerado significativo o valor de $p < 0,05$. Na comparação entre os côndilos direito e esquerdo dentro de cada grupo, o grupo masculino apresentou diferenças estatisticamente significativas para no número de lacunas (NL), número de canais (NC) e na área dos canais (AC), enquanto que no grupo feminino observou-se diferença significativa apenas nas áreas das lacunas (AL). Na comparação entre os grupos observaram-se diferenças estatisticamente significantes no NL, AL e AC no côndilo direito e no NL, NC e a AL no côndilo esquerdo. Uma grande assimetria entre os côndilos do grupo masculino e uma simetria entre os côndilos femininos pode ser evidenciada, muito possivelmente devido às tensões geradas sobre estas estruturas, sendo nos homens distribuídas de forma desigual, enquanto que nas mulheres distribuídas mais harmonicamente. Entre os dois gêneros, evidenciou-se o contraste das estruturas morfológicas observadas, levando-nos a crer que podem servir como caracteres de diferenciação na espécie humana.

Palavras-chave: Tecido Ósseo. Histomorfometria. Côndilo Mandibular.

ABSTRACT

The mandible is a bone located in the inferior region of the face, constituted by a body and two branches, where the condylar processes are located an integral part of the temporomandibular joint. Bone tissue is extremely resistant, consisting of a mineralized extracellular matrix and specialized cells, such as osteoblasts, osteocytes and osteoprogenitor cells. Although there are similarities between the various regions of the body, generalizations about the microscopic organization of the condylar bone tissue of mandible are not obvious and therefore require better elucidation. Our work aimed to evaluate, through histomorphometry, microscopic features the condylar bone tissue of human mandibles. For that, 40 mandibles were used, 20 of each genus, belonging to the collection of bones of the laboratory of Human Anatomy of Federal University of Pernambuco - Academic Center of Vitória. From each mandible, a sample of the bone tissue of each mandibular condyle was extracted to obtain the histological preparation through of wear technique. 20 photomicrographs (10 in the final magnification of 100X and 10 in the final magnification of 400X) were obtained from each prepared and later evaluated through ImageJ software, where the central canals and bone gaps were quantified and their respective areas were measured. The collected data were submitted to Student's t-test, being considered significant the value of $p < 0.05$. In the comparison between the right and left condyles within each group, the male group showed statistically significant differences in the number lacunal (NL), number of channels (NC) and in the area of the channels (CA), while in the female group, there were significant differences only in the areas lacunal (AL). In the comparison between the groups, there were statistically significant differences in NL, AL and AC in the right condyle and NL, NC and AL in the left condyle. A great asymmetry between the condyles of male group and a symmetry between the female condyles can be evidenced, quite possibly due to the tensions generated on these structures, being in the men distributed in an unequal way, whereas in the women distributed more harmonically. Between the two genera, the contrast of observed morphological structures was evidenced, leading us to believe that they can serve as characters of differentiation in human species.

Key words: Bone tissue. Histomorphometry. Condyle.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	9
2 REVISÃO DE LITERATURA	11
2.1 Composição do Tecido ósseo	11
2.2 Classificação do Tecido Ósseo e Remodelagem	13
2.3 Articulação Têmporo-Mandibular (ATM)	15
3 OBJETIVOS	17
4 REFERÊNCIAS	18
5 ARTIGO	20
6 CONCLUSÃO	32
ANEXO A – Normas para Submissão de Artigos	33

1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo é considerado como a mais importante aquisição na evolução dos tecidos de suporte em vertebrados. Está presente na maioria de suas classes e de suas linhagens, apresentando características estáveis.

É constituído de células e matriz extracelular calcificada. As células constituintes do tecido ósseo são: osteoblastos, osteócitos e osteoclastos. Os osteoblastos são células responsáveis pela síntese da parte orgânica (colágeno tipo I, proteoglicanas e glicoproteínas) da matriz óssea. São capazes de concentrar fosfato de cálcio, participando da mineralização da matriz. Dispõem-se sempre nas superfícies ósseas, lado a lado, num arranjo que lembra um epitélio simples. Possuem prolongamentos unindo-se entre si, estes prolongamentos são evidentes quando a célula é envolvida pela matriz, pois são responsáveis pela formação dos canálculos que se irradiam das lacunas. A matriz óssea, recém formada, adjacente aos osteoblastos ativos, ainda não calcificada recebe o nome de osteóide (STEVENS; LOWE, 2002; GARTNER; HIATT, 2008; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Uma vez aprisionados pela matriz recém sintetizada, o osteoblasto passa a ser chamado de osteócito. Estas células são situadas em lacunas no interior da matriz (osteoplastos), os osteócitos se comunicam por prolongamentos, estabelecendo contatos que permitem o fluxo intercelular que servirá para nutrição, crescimento e desenvolvimento dos ossos. Morfologicamente, se caracterizam por serem células achatadas, exibindo pouca quantidade de retículo endoplasmático granular, aparelho de golgi pequeno e núcleo com cromatina condensada. São células essenciais para a manutenção da matriz óssea. Os osteoclastos são células móveis, gigantes, extensamente ramificada e multinucleadas. Estas células provocam a reabsorção óssea (GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; STEVENS; LOWE, 2002).

A matriz extracelular do tecido ósseo consiste de cerca de 65% de material inorgânico e de 35% de material orgânico. O material inorgânico é constituído quase exclusivamente por cálcio e ortofosfato inorgânico na forma de cristais de hidroxiapatita. O material orgânico é, primariamente, colágeno do tipo I, numa substância amorfa constituída por glicoproteínas e proteoglicanas. Os cristais de hidroxiapatita se depositam sobre, e por entre, as moléculas de colágeno (que

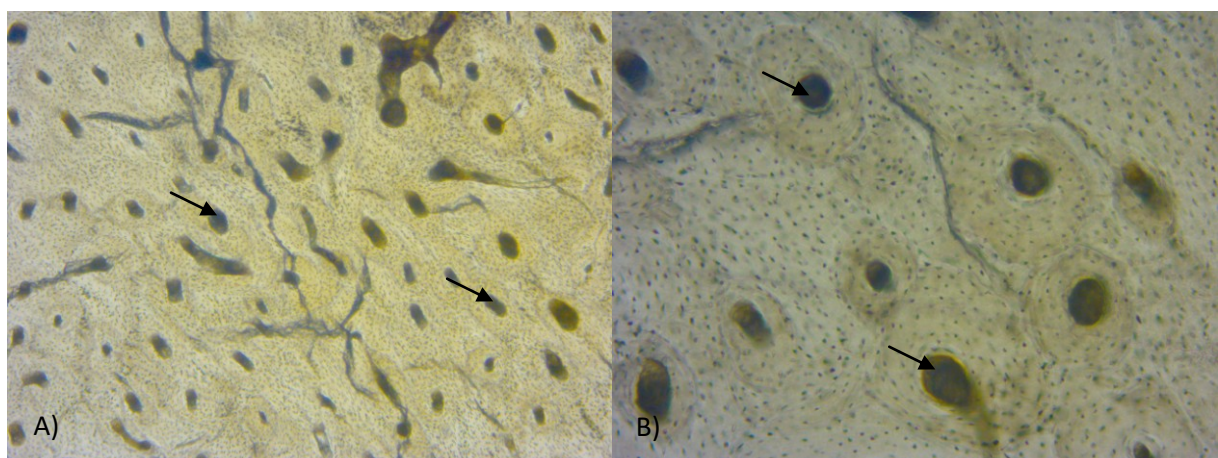
formam as fibrilas colágenas), tanto como no material orgânico não-colágeno que constitui a substância amorfa. A estrutura interna do osso está adaptada para suportar esforços mecânicos, modificando-se continuamente durante o crescimento e alteração dos esforços mecânicos funcionais (GARTNER; HIATT, 2008; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Composição do Tecido ósseo

Os ossos são órgãos pertencentes ao sistema esquelético, que tem como componente básico de formação o tecido ósseo (**FIGURA 1**), esse é um tipo de tecido conjuntivo especializado constituído por células, os osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, e uma matriz extracelular mineralizada (característica que a diferencia dos demais tipos de tecido conjuntivo), que garante capacidade de realizar funções de suporte e proteção mecânica dos órgãos e além destas, também realizam reservas de minerais e hematopoiese. É um importante reservatório para o corpo, mantendo estoques adequados de cálcio e fósforo, que podem ser liberados para a corrente sanguínea, quando necessário para sua utilização, garantindo a manutenção dos níveis corpóreos adequados (ROSS; PAWLINA, 2014). Na organização individualizada do osso existem duas regiões distintas, um córtex, de alta densidade e baixa área de superfície que reveste a cavidade medular, a maior quantidade de tecido do córtex corresponde a matriz extracelular, e trabéculas ósseas de baixa densidade e grande área de superfície, que se interligam e preenchem a região mais interna do osso (FREEMONT, 1998; RALSTON, 2005).

Figura 1 - Fotomicrografias do tecido ósseo feitas a partir da técnica de desgaste, evidenciando sua matriz extracelular mineralizada e os canais centrais ➤. A) Aumento de 40X. B) Aumento de 100X.



Fonte: REIS, R.S, 2016.

Os osteoblastos são células mesenquimais especializada, que se originaram do estroma medular precursor, responsáveis pela formação de novo tecido ósseo com posterior mineralização da matriz (LI *et al.*, 2016), possuindo receptores para hormônios e vitaminas (LITTLE; ROGERS; FLANNERY, 2011). Quando os osteoblastos diminuem sua atividade metabólica, tornam-se quiescentes e ficam aprisionados na matriz recém secretada, passam a serem chamados de osteócitos, que são células maduras com longos prolongamentos citoplasmáticos, os quais se utilizam para se comunicar com as demais células do tecido ósseo, através de canalículos de comunicação. Essas células são responsáveis por manter o osso, controlar os níveis de cálcio e fósforo no meio extracelular, mecanotransdução de sinais e são os primeiros reguladores da remodelagem óssea (HORNER, 2004; LITTLE; ROGERS; FLANNERY, 2011; CANALIS; SCHILLING; ZANOTTI, 2016).

Os osteoclastos são células multinucleadas, derivadas de monócitos, com importante função de degradação óssea. Sua função e formação são reguladas por células de linhagem osteoblástica, essas células induzem a diferenciação em osteoclasto e ativam a reabsorção óssea através da expressão do ativador do receptor de RANKL (osteoprogneritina). Durante sua atividade, os osteoclastos se ligam a superfície óssea, liberam enzimas lisossômicas e íons de hidrogênio que degradam a matriz extracelular, e quando terminam sua função sofrem apoptose (morte celular programada) (HORNER, 2004; EL-JAWHARI; JONES; GIANNOUDIS, 2016).

A matriz extracelular garante cerca de 90% da composição do tecido ósseo, sendo apenas os outros 10% composto por células. Sua composição consiste principalmente em fibras colágenas do tipo I, proteínas não colágenas (constituintes da substância fundamental amorfa), que são de fundamental importância para o desenvolvimento, crescimento, reparo e remodelagem óssea, lipídios e glicosaminoglicanos, como componentes orgânicos (cerca de 30% da matriz). As proteínas do tecido ósseo regulam o processo de mineralização da matriz, umas funcionam como nucleadores de cristais, enquanto que as outras regulam a taxa de mineralização e o tamanho dos cristais a serem formados (FREEMONT, 1998; HORNER, 2004; BAYLISS; MAHONEY; MONK, 2012; ROSS; PAWLINA, 2014).

O fosfato de cálcio sob a forma de cristais de hidroxiapatita, formados por íons de cálcio, fósforo e potássio, são os componentes inorgânicos e correspondem a cerca de 60% da matriz. A participação do cálcio na composição da matriz auxilia

na sua mineralização e quando este se encontra em baixa quantidade pode levar a falhas mecânicas, como a osteomalácia. A mineralização ainda pode ser chamada de primária, quando acontece logo após a formação óssea pelos osteoblastos ou secundária, quando acontece após a conclusão do ciclo mineral. É essa composição variada da matriz extracelular que lhe confere resistência a tração e compressão (FREEMONT, 1998; HORNER, 2004; BAYLISS; MAHONEY; MONK, 2012; ROSS; PAWLINA, 2014; FERNANDES; GOMES, 2016).

O tecido ósseo é ricamente valscularizado, principalmente, em locais de nova formação óssea, de forma que possa suprir a necessidade durante a síntese óssea, produção de colágeno e transporte de minerais. Nesses locais há uma intensa atividade dos osteoblastos (BLAIR *et al.*, 2016; LI *et al.*, 2016). Portanto, para que haja homeostase óssea é necessária uma completa sintonia entre as atividades dos osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, bem como, uma resposta adequada aos fatores que estimulam o funcionamento do tecido, como, fatores nutricionais, locais, sistêmicos e mecânicos (FERNANDES; GOMES, 2016). Então, por possuir grande capacidade de resposta ao meio ambiente e conseguir alterar sua estrutura durante a vida adulta esse tecido é considerado como incomum (FREEMONT, 1998).

2.2 Classificação do Tecido Ósseo e Remodelagem

Histologicamente, o tecido ósseo pode ser classificado em primário (imaturo) e secundário (maduro). O tecido ósseo imaturo é o primeiro a ser formado na peça óssea, sendo gradativamente substituído por tecido secundário. Possui grande quantidade de osteócitos e suas fibras colágenas são organizadas irregularmente. O tecido ósseo secundário é mais encontrado em adultos. Sua principal característica é possuir fibras colágenas organizadas em lamelas de 3 à 7mm de espessura que ficam paralelas umas às outras ou se dispõem em camadas concêntricas em torno de canais com vasos formando os sistemas de Havers (ósteons). Cada ósteon é constituído por um cilindro longo, paralelo à diáfise, e formado por 4 a 20 lamelas ósseas concêntricas. No centro desse cilindro existe um canal revestido pelo endóstio, o Canal de Havers, estes comunicam entre si, com a cavidade medular e com a superfície externa do osso por meio de canais transversais, os canais de Volkmann. Estes não apresentam lamelas ósseas concêntricas. Os sistemas circunferenciais interno e externo são constituídos por

lamelas ósseas paralelas entre si, formando duas faixas interna do osso (em volta do canal medular) e outra próxima ao periósteo. Este último é mais desenvolvido. Os sistemas intermediários separam os vários sistemas de Havers (GEORGE; ALVES; CASTRO, 1998; STEVENS; LOWE, 2002; GARTNER; HIATT, 2008; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

Ao longo da vida, o tecido ósseo é continuamente renovado em um processo finamente regulado, chamado de remodelamento ósseo. Esse processo envolve o acoplamento da atividade dos osteoblastos e dos osteoclastos. Esse acoplamento é determinado por uma constante troca de sinais entre estas células (GOULD, 1993; HARRISON, 1996). O remodelamento ósseo ocorre em pequenas unidades de células chamadas de unidades de remodelamento ósseo (BRUs, *bone remodeling units*), que são observadas em vários sítios das superfícies ósseas. A seqüência de eventos em um sítio de remodelamento, ou seja, em uma BRU, é a ativação-reabsorção-formação (ARF). As superfícies ósseas quiescentes são recobertas por células de superfície ou de revestimento (*flat bone-lining cells*). Em resposta a um estímulo de reabsorção, as células de superfície se retraem e expõem a superfície celular; ao mesmo tempo, ocorre a diferenciação, ativação e migração dos osteoclastos aos sítios de reabsorção (superfície exposta). Os osteoclastos reabsorvem o osso velho e formam uma lacuna, chamada de lacuna óssea (lacuna de Howship). Finalmente, os osteoblastos ocupam o sítio de reabsorção e sintetizam a matriz extracelular (osteóide) que, após um período de amadurecimento (aproximadamente 10 dias), será mineralizada (CANALIS, 2003; CAMPOS *et al.*, 2003; MUNDY GRAC; OYAJOB, 2003).

Ao final de cada ciclo de remodelamento, a quiescência é restaurada. O produto final do remodelamento óssea é a manutenção da integridade óssea. O remodelamento ósseo é regulado por uma variedade de hormônios sistêmicos e fatores locais que atuam nas linhagens de células osteoblásticas e/ou osteoclásticas, exercendo os seus efeitos na proliferação de células indiferenciadas e no recrutamento, diferenciação celular e/ou ativação celular (STEVENS; LOWE, 2002; CANALIS, 2003; CAMPOS, *et al.*, 2003; DRAGOO, *et al.*, 2003; MUNDY GRAC; OYAJOB, 2003; GARTNER; HIATT, 2008; JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2008).

2.3 Articulação Têmporo-Mandibular (ATM)

A articulação temporo-mandibular (ATM) é uma complexa juntura sinovial bicondilar entre o osso temporal e a mandíbula. É considerada uma articulação diartroidal, uma vez que pode realizar movimentos de rotação e de translação. Apresenta características próprias como: funciona como uma unidade apesar de ser bilateral visto que a articulação direita não pode se movimentar sem que haja movimento no lado esquerdo e apresenta a superfície oclusal dos dentes como ponto rígido de fechamento terminal (NUNES *et al.*, 2005; MADEIRA; RIZOLLO, 2012). Essa articulação apresenta o uso mais frequente do corpo humano, exercendo funções de abertura e fechamento da boca, mastigação, fala, deglutição, bocejo e ronco (ANGELO *et al.*, 2016).

As partes ósseas da ATM são a cabeça da mandíbula, eminência articular e fossa mandibular do temporal. O côndilo (**FIGURA 2**) é a parte posterior convexa da mandíbula. Este apresenta uma formação cilíndrica irregular devido à ligeira inclinação do colo da mandíbula. No adulto, os côndilos mandibulares são cerca de duas vezes mais largos no plano frontal que no plano sagital, proporcionando uma grande área articular. É composto por fina camada de osso compacto sobre osso esponjoso que são revestidos por camada de tecido fibrocartilaginoso, formado principalmente por fibras colágenas e delicadas fibras elásticas. Esse revestimento é mais espesso em áreas de maior demanda funcional, fornecendo condições biológicas adequadas para receber carga durante a mastigação (NUNES *et al.*, 2005; MADEIRA; RIZOLLO, 2012).

Figura 2 – Fotografia de uma mandíbula humana, com ênfase no côndilo mandibular.



O côndilo é formado pelas bordas posterior e superior do ramo da mandíbula que estende-se superiormente. O mesmo é constituído pela cabeça da mandíbula, que possui uma expansão medial e apresenta um formato cilíndrico, e pelo colo da mandíbula, que apresenta depressões para a fixação do músculo pterigóideo. É o côndilo somado a outras estruturas que permite a abertura e fechamento da boca, bem como os movimentos de mastigação e locomoção da mandíbula de um lado para o outro, sendo a cabeça da mandíbula (devido seu formato cilíndrico) responsável pelo aumento de mobilidade da ATM (Madeira; Rizollo, 2012).

O tamanho do côndilo e o tempo gasto para que haja o crescimento condilar é influenciado pela extensão da ação mastigatória, variando de indivíduo para indivíduo. Possuem diferenças morfológicas entre indivíduos, assim como, bilateralmente. Sua constituição de grande quantidade de tecido esponjoso, revestida por uma densa camada de tecido compacto garante maior segurança as suas estruturas, durante o exercimento máximo de suas atividades. Um mal posicionamento do côndilo mandibular gera modificações no remodelamento ósseo. Geralmente está mais associado a mulheres que possuem ângulos mandibulares planos mais elevados. Quando há desvio mandibular o côndilo tende a mudar sua morfologia em consequência do desvio, se apresentando menor no lado de maior compressão mandibular (CUTIBIRTH; SICKELS; TBRASH, 1998; GOTO *et al.*, 2005; NUNES *et al.*, 2005; PIRTTINIEMI, *et al.*, 2009).

A ATM apresenta grande propensão ao desenvolvimento de disfunção, devido a atribuição de cargas mecânicas anormais e desproporcionais sobre a mesma. Geralmente as condições biomecânicas da ATM se relacionam com a oclusão dentária, uso intenso da mandíbula ou boca, e tensão constante da cabeça e pescoço. Durante um funcionamento normal a relação da ATM com a base do crânio distribui as tensões normais de funções e parafunções. Mesmo assim, o movimento mastigatório faz com que a mandíbula realize um deslocamento lateralizado que geralmente está associado ao surgimento de patologias (ARYAEI *et al.*, 2016; JANG *et al.*, 2016; JIAO *et al.*, 2016; YANG *et al.*, 2016).

3 OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Avaliar através de histomorfometria, características microscópicas do tecido ósseo condilar de mandíbulas humanas.

Objetivos Específicos:

- Analisar as estruturas presentes na matriz óssea mineralizada como: canais transversais, ósteons e lacunas.
- Mensurar, através de histomorfometria, as estruturas citadas.
- Comparar os resultados obtidos dos côndilos direito e esquerdo e de acordo com as variáveis: idade, gênero e dentição dos indivíduos da amostra.

4 REFERÊNCIAS

- ANGELO, D. F. *et al.* Choosing sheep (*Ovis aries*) as animal model for temporomandibular joint research: Morphological, histological and biomechanical characterization of the joint disc. **Morphologie**, Portugal, v. 100, n, 331, p. 223-233, dezembro 2016.
- ARYAEI, A. *et al.* Recent Tissue Engineering Advances for the Treatment of Temporomandibular Joint Disorders. **Curr Osteoporos Rep**, USA, v. 14, n. 6, p. 269-279, dezembro 2016.
- BAYLISS, L.; MAHONEY, D. J.; MONK, P. Normal bone physiology, remodelling and its hormonal regulation. **Elsevier LTD**, UK, v. 30, n. 2, p. 47-53, fevereiro 2011.
- CAMPOS, L. M. A. *et al.* Osteoporosis in childhood and adolescence. **Jornal de Pediatria**, São Paulo, v. 79, n.6, p.74-68, março 2003.
- CANALIS, E. Osteogenic Growth Factors. In: FAVUS, M. J. **Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism**. 5. ed. Washington: DC: American Society for Bone and Mineral Research, 2003.
- CUTIBIRTH, M.; SICKELS, J. E.; TBRASH, J. Condylar Resorption After Bicortical Screw Fixation of Mandibular Advancement. **J Oral Maxillafac Surg**, Texas, v. 56, n.2, p. 178-182, fevereiro 1998.
- DRAGOO, L. *et al.* Tissue – engineered cartilage and bone using stem cells from infrapatellar fat pads. **J. Bone Joint Surg**, Los Angeles, v. 85B, n. 5, p. 740-747, julho 2003.
- EL-JAWHARI, J. J.; JONES, E.; GIANNOUDIS, P. V. The roles of immune cells healing; what we know, do not know and future perspectives. **Injury, Int. J. Care Injured**, Leeds, v. 47, n. 11, p. 2399-2406, novembro 2016.
- FREEMONT, A. J. Bone. **Current Orthopaedics**, Manchester, v.12, n. 1, p. 181-192, 1998.
- GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Tratado de histologia**. 3. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.
- GEORGE, L. L.; ALVES, C. E. R.; CASTRO, R. R. L. **Histologia Comparada**. 2. ed. São Paulo: Roca, 1998.
- GOTO, T. K. *et al.* Correlation of mandibular deviation with temporomandibular joint MR dimensions, MR disk position, and clinical symptoms. **Oral Surg Med Oral Pathol Oral Radiol Emdod**, Fukuoka, v. 100, n. 6, p. 743-749, dezembro 2005.
- GOULD, J. A. **Fisioterapia em Ortopedia e Medicina do Esporte**, 2. ed. São Paulo: Manole, 1993.
- HARRISON, T. R. **Medicina interna**. 13. ed. Rio de Janeiro: Ed. MacGraw-Hill, Interamericana, 1996.

HORNER, J. H. Bone Structure and Calcium Metabolism. **The Medicine Publishing Company**, Oxford, v. 24, n. 1, p. 24a-24d, janeiro 2004.

JANG, J. Y. *et al.* Clinical Signs and Subjective Symptoms of Temporomandibular Disorders in Instrumentalists. **Yonsel Medical Journal**, Seoul, Korea, v.57, n. 6, p. 1500-1507, novembro 2016.

JIAO, K. *et al.* Activation of α 2A-adrenergic signal transduction in chondrocytes promotes degenerative remodelling of temporomandibular joint. **Scientific Reports**. China, v. 25, n. 6, p. 1-13, julho 2016.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia Básica**, 11. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2008.

LI, Z. *et al.* Glucose Transporter-4 Facilitates Insulin-stimulated Glucose Uptake in Osteoblasts. **Endocrinology**. Baltimore, v. 157, n. 11, p. 4094-4103, setembro 2016.

LITTLE, N.; ROGERS, B.; FLANNERY, M. Bone formation, remodelling, and healing. **Elsevier**, Guildford, v. 29, n. 4, p. 141-145, março 2011.

MADEIRA, M. C.; RIZOLLO, R. J. C. **Anatomia da Face: Bases Anatomofuncionais para a prática odontológica**. 8. Ed. São Paulo: Sarvier, 2012.

MUNDY, D. G., OYAJOB, B. O. Bone remodeling. In: FAVUS, M. J. (Ed.) **Primer on the metabolic bone diseases and disorders of mineral metabolism**. 5. ed. Washington, DC: American Society for Bone and Mineral Research, 2003.

NUNES, *et al.* Propriedades anatômicas e funcionais da ATM com aplicabilidade no tratamento fisioterapêutico. **Fisioterapia Brasil**. Niterói RJ, v. 6, n. 5, p. 381-387, setembro 2005.

PIRTTINIEMI, P. *et al.* Abnormal mandibular growth and the condylar cartilage. **European Journal of Orthodontic**. Finland, v. 31, n. 1, p. 1-11, fevereiro 2009.

RALSTON S.H. Structure and metabolismo of bone. **The Medicine Publishing Company**, Aberdeen, v. 33, n. 12, p. 58-60, julho 2005.

ROSS, M.H.; PAWLINA, W. **Histologia: Texto e Atlas**. 6. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2014.

STEVENS, A.; LOWE, J. **Histologia Humana**. 2. ed. São Paulo: Manole, 2002.

YANG, H. M. *et al.* Three-dimensional finite element analysis of unilateral mastication in malocclusion cases using cone-beam computed tomography and a motion capture system. **Journal of Periodontal & Implant Science**, Cheonan, v. 46, n. 2, p. 96-106, abril, 2016.

5 ARTIGO

O PRESENTE TRABALHO ESTÁ APRESENTADO NO FORMATO DE ARTIGO REQUERIDO PELA REVISTA **ANATOMIA, HISTOLOGIA E EMBRYOLOGIA**, CUJAS NORMAS PARA SUBMISSÃO DE ARTIGOS SE ENCONTRAM EM ANEXO.

CARACTERIZAÇÃO HISTOMORFOMÉTRICA DO TECIDO ÓSSEO CONDILAR DE MANDÍBULAS HUMANAS

Resumo

O tecido ósseo é um tipo de tecido conjuntivo especializado, formado por matriz extracelular calcificada e células, as quais são responsáveis por sua homeostase. A articulação têmporo-mandibular (ATM) é uma complexa junta existente entre a cabeça da mandíbula, eminência articular e a fossa mandibular do osso temporal. O Côndilo corresponde a parte posterior convexa da mandíbula. O presente estudo visa analisar histomorfometricamente as características microscópicas do tecido ósseo condilar de mandíbulas humanas. Para tal, foram utilizadas 40 mandíbulas humanas, 20 de cada gênero, pertencentes ao acervo do Laboratório de Anatomia do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco (CAV/UFPE) preservando os dados de idade, presença e ausência de dentição mandibular. As amostras foram obtidas da região medial da cabeça da mandíbula de cada côndilo mandibular. Realizou-se desgaste dos cortes obtidos através de lixas d'água com granulações diversas, sempre sob irrigação e polimento final com a utilização de branco de Espanha. Em seguida foram lavados, diafanizados com xilol por 30 min e montada as lâminas histológicas. De cada lâmina realizou-se 20 fotomicrografias (nos aumentos de 100X e 400X) de campos aleatórios, com mensuração feita através do software ImageJ, os resultados foram submetidos ao teste estatístico test t de Student. O valor de p considerado como significativo foi aquele $< 0,05$. Na comparação entre os côndilos, em cada grupo, o grupo masculino mostrou diferenças significativas no número de lacunas (NL), número de canais (NC) e área dos canais (AC), enquanto que no grupo feminino observou-se diferença significativa apenas nas áreas das lacunas (AL). Na comparação entre os grupos observaram-se diferenças estatisticamente significantes no NL, AL e AC no côndilo direito e no NL, NC e a AL no côndilo esquerdo. O grupo masculino possui uma grande diferença na microestrutura tecidual entre um côndilo e outro, entretanto, o grupo feminino não demonstrou grande diferença, mostrando maiores similaridades na microestrutura óssea de seus côndilos. Entre os dois gêneros, evidenciou-se diferenças nas estruturas morfológicas observadas, levando-nos a compreendê-las como possíveis caracteres de diferenciação na espécie humana.

Introdução

O tecido ósseo é um tipo de tecido conjuntivo especializado, formado por cerca de 90% de matriz extracelular calcificada, que se deve a grande presença de fosfato de cálcio, sob a forma de cristais de hidroxiapatita, e 10% de células (Blair et al, 2016). É responsável pela proteção mecânica de alguns órgãos, hematopoiese e armazenamento de minerais (Ishikawa and Yamada, 2016). A homeostase do tecido ósseo está diretamente ligada a fatores mecânicos, nutricionais, locais e sistêmicos, sendo essa controlada pelas células que o compõe, os osteoblastos, osteócitos e osteoclastos (Fernandes and Gomes, 2016; Hedayati et al, 2016).

Os osteoblastos são células derivadas de células osteoprogenitoras indiferenciadas, são responsáveis pela formação, deposição e mineralização de novo tecido ósseo e por isso encontrados em locais de intensa atividade sintética (El-Jawhari et al., 2016; Fernandes and Gomes, 2016; Ishikawa and Yamada, 2016; Twine et al., 2016). Produzem algumas moléculas, como, fatores de crescimento, fosfatase alcalina e osteocalcina, que são necessárias para garantir a qualidade do novo tecido (Ottewell, 2016). Os osteócitos são células com longos prolongamentos citoplasmáticos que mantem contato com as demais células da matriz óssea através de canalículos, formando uma rede de comunicação. Essas células realizam a importante função de mecanotransdução e são consideradas os sensores da matriz óssea, por serem os primeiros a enviar os sinais que regulam a remodelagem óssea, processo pelo qual há a reabsorção do tecido ósseo velho e substituição por novo tecido ósseo, garantindo sua integridade (Blair et al., 2016; Canalis et al., 2016; Fernandes and Gomes, 2016). Os osteoclastos são células grande, multinucleadas, que sofreram diferenciação a partir de monócitos, possuem importante papel na degradação óssea (El-Jawhari et al., 2016; Jeong et al., 2016; Teitelbaum, 2016; Xiang et al., 2016). Sua atividade acontece conjunta a dos osteoblastos e um desequilíbrio entre essas duas células pode resultar em doenças da reabsorção óssea, como, distúrbios metabólicos e osteoporose (Hay et al., 2016; Ogata et al., 2015; Panagopoulos et al., 2016).

A articulação têmporo-mandibular (ATM) é uma complexa articulação sinovial, bicondilar existente entre a mandíbula e o osso temporal, que permite os movimentos de abertura e fechamento da boca durante a fala, mastigação e deglutição. Dependendo das cargas funcionais que lhes forem impostas, a morfologia da ATM irá variar de indivíduo para indivíduo, necessitando de grande harmonia em seu funcionamento para manter um sistema mastigatório normal (Merigue et al., 2016). As partes ósseas que a compõe a ATM são a

cabeça da mandíbula, eminência articular e a fossa mandibular do osso temporal. O côndilo corresponde a parte anterior convexa da mandíbula, se apresenta cilíndrico e irregular, por existir uma inclinação no colo da mandíbula. Nos adultos, os côndilos são aproximadamente duas vezes mais largos no plano frontal que no plano sagital, aumentando sua área articular (Nunes et al., 2005). Apesar de compartilharem similaridades, generalizações à cerca da organização microscópica do tecido ósseo condilar da mandíbula não são óbvias necessitando, portanto, de melhor elucidação. Assim, esse estudo objetiva analisar histomorfometricamente as características microscópicas do tecido ósseo condilar de mandíbulas humanas.

Materiais e Métodos

Obtenção das Amostras

Foram utilizadas 40 mandíbulas humanas, 20 de cada gênero, pertencentes ao acervo do Laboratório de Anatomia do Centro Acadêmico de Vitória da Universidade Federal de Pernambuco (CAV/UFPE). A utilização das mandíbulas humanas possui autorização do comitê de ética humana do Centro de Ciências da Saúde/Universidade Federal de Pernambuco CCAE: 43228015.0.0000.5208. Dados como idade, presença ou não de dentição (mandibular) e elementos dentais ausentes foram anotados em ficha apropriada. Foram utilizados como critérios de inclusão e exclusão, integridade das mandíbulas e pertencerem a indivíduos acima de 10 anos de idade. As amostras foram obtidas da região medial da cabeça da mandíbula de cada côndilo mandibular.

Obtenção das lâminas histológicas

Os ossos foram lavados em água corrente e imersos em solução de hipoclorito de sódio 0,5%. Em seguida foram retirados desta solução e novamente lavados em água corrente. O tecido ósseo foi cortado com um disco de carborundum, previamente montado em madril específico, acionado por motor odontológico em baixa rotação e com irrigação por água abundante. A região do osso mandibular para obtenção de cada corte foi o côndilo. A espessura de cada fragmento obtido foi de aproximadamente 1mm na região mediana condilar direita e esquerda. Foi realizado o desgaste dos cortes obtidos através de lixas d'água com granulações diversas, sempre lixando os dois lados para tornar as fatias uniformes. O processo de desgaste ocorreu sempre sob irrigação e o processo final de polimento das fatias ocorreu com a utilização de branco de Espanha. Os cortes histológicos obtidos foram então lavados com água, desidratados em soluções com concentrações sucessivas de álcool e por fim

diafanizadas através de xilol por 30 min. Cada fatia óssea foi montada, utilizando neste procedimento bálsamo do Canadá, lâmina histológica e lamínula. Em seguida, as lâminas ficaram em estufa à 37°. por 24h.

Análise histomorfométrica

Para a leitura dos resultados foi utilizado um microscópio óptico (NIKON E-200) acoplado a um sistema computadorizado de análise de imagens (MOTICOM 3000 e ImageJ versão 1.44). Foram escolhidos aleatoriamente, 20 campos (10 no aumento final de 100X e 10 no aumento final de 400X) em cada lâmina para que haja a mensuração (em μm) dos diâmetros: dos canais transversais, e obtenção da densidade das lacunas ósseas, e da área (em μm^2) dos ósteons. Após a obtenção da média das mensurações dos côndilos de cada indivíduo, estas foram comparadas.

Análise estatística

Os dados obtidos nas leituras, acerca das variáveis: número de lacunas (NL), número de canais centrais (NC), área das lacunas (AL) e a área dos canais centrais (AC), foram digitados em planilha eletrônica (EXCEL) e exportados para o programa SPSS versão 15.0. De acordo com o tipo de cada variável e com o estudo de suposições, os resultados foram submetidos ao teste estatístico test t de Student. O valor de p considerado como significativo foi aquele $< 0,05$.

Resultados e Discussão

A idade dos indivíduos estudados foi subdividida em 6 grandes grupos etários, levando-se em consideração um espaçamento temporal de 20 anos entre cada grupo (**FIGURA 1**). Com isso, notou-se que no gênero feminino houve uma maior quantidade de indivíduos classificados no grupo de idosos que no gênero masculino.

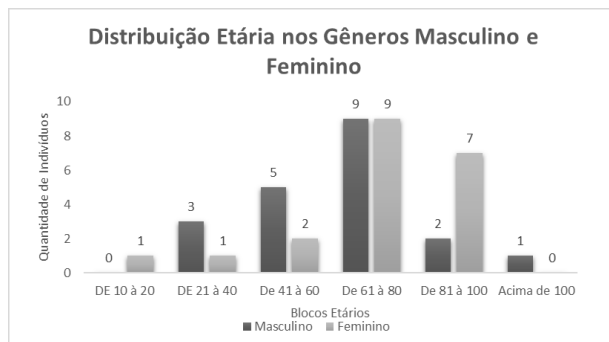


Figura 1 - Distribuição dos indivíduos dos gêneros masculino e feminino a partir de blocos etários, demonstrando maior frequência dos indivíduos masculinos entre 41 e 80 anos de idade e femininos de entre 61 e 100 anos de idade.

Os côndilos no grupo masculino (tabela1) possuem diferenças (**FIGURA 2**) estatisticamente significantes em 3 das 4 variáveis observadas. Destas, a maior diferença foi encontrada entre AC, enquanto que, NL e NC, apresentaram um valor de discrepância menor.

Tabela 1- Comparação entre os côndilos dos indivíduos do gênero Masculino.

	Côndilo Direito (Média ± Desvio-Padrão)	Côndilo Esquerdo (Média ± Desvio-Padrão)	Valor de p
Número de Lacunas (n)	24,63 ± 7,85	22,88±7,95	0,027*
Número de Canais (n)	2,25 ± 2,18	2,76 ± 2,41	0,029*
Área de Lacunas (µm ²)	49,71 ± 31,05	48,89 ± 31,55	0,567
Área de Canais (µm ²)	5632,61 ± 10210,15	3795,96 ± 4706,66	0,008*

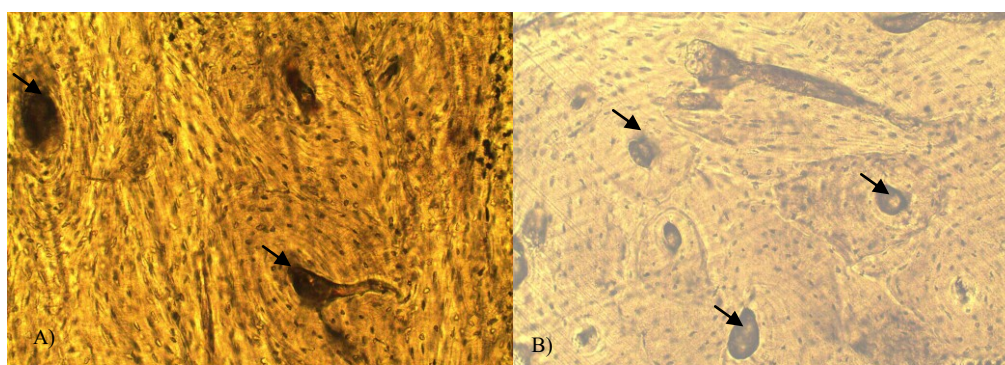


Figura 2 – Diferença de quantidade e área dos canais centrais entre os dois côndilos do gênero masculino, aumento de 100X. A) Côndilo direito. B) Côndilo Esquerdo.

No grupo feminino, a mesma comparação entre as regiões (tabela 2), demonstrou similaridades entre os dois côndilos, já que, das 4 variáveis observadas apenas na AL notou-se diferença significativa.

Tabela 2- Comparação entre os côndilos dos indivíduos do gênero Feminino.

	Côndilo Direito (Média ± Desvio-Padrão)	Côndilo Esquerdo (Média ± Desvio-Padrão)	Valor de p
Número de Lacunas (n)	19,76 ± 5,01	19,23 ± 4,94	0,265
Número de Canais (n)	2,17 ± 1,53	2,09 ± 1,49	0,621
Área de Lacunas (µm ²)	34,19 ± 22,86	38,04 ± 25,95	<0,001*
Área de Canais (µm ²)	3259,61 ± 6515,87	3661,39 ± 6790,97	0,549

Quando comparado os dois côndilos direitos entre os grupos masculino e feminino (tabela 3), percebeu-se uma grande diferença entre os dois grupos (**FIGURA 3**), tendo as variáveis NL, AL e AC diferenças bastante significantes entre os dois grupos.

Tabela 3- Comparação entre os côndilos direitos entre os indivíduos do gênero Masculino e Feminino.

	Masculino (Média ± Desvio-Padrão)	Feminino (Média ± Desvio-Padrão)	Valor de p
Número de Lacunas (n)	24,63 ± 7,85	19,76 ± 5,01	<0,001*
Número de Canais (n)	2,25 ± 2,18	2,17 ± 1,53	0,65
Área de Lacunas (μm^2)	49,71 ± 31,05	34,19 ± 22,86	<0,001*
Área de Canais (μm^2)	5632,61 ± 10.210,15	3259,61 ± 6.515,87	0,003*

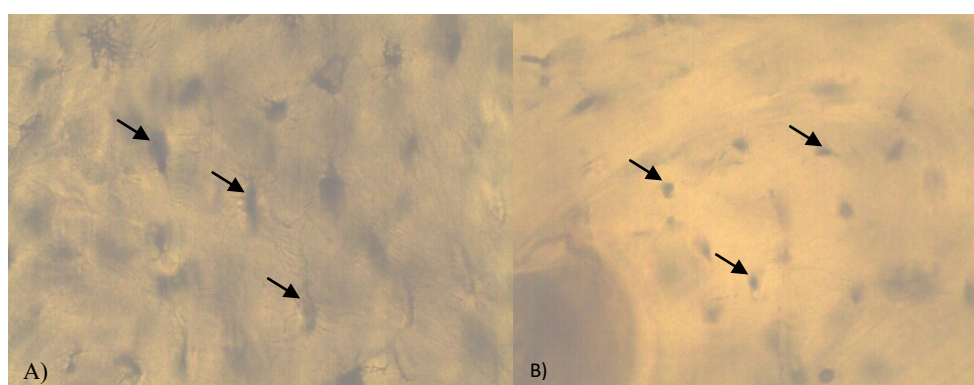


Figura 3 – Fotomicrografias das lacunas ósseas em aumento de 400X. A) Côndilo masculino direito. B) Côndilo feminino direito.

Os côndilos esquerdos (tabela 4) dos dois grupos também apresentaram valores bastante significantes para três variáveis, NI, NC e AL, evidenciando as diferenças histomorfológicas existentes entre os dois grupos. Além disso, é notável que a única estabilidade encontrada para as duas comparações é com relação aos canais centrais, sendo nos côndilos direitos o NC e nos côndilos a área dos mesmos.

Tabela 4- Comparação entre os côndilos esquerdo entre os indivíduos do gênero Masculino e Feminino.

	Masculino (Média ± Desvio-Padrão)	Feminino (Média ± Desvio-Padrão)	Valor de p
Número de Lacunas (n)	22,88±7,95	19,23 ± 4,94	<0,001*
Número de Canais (n)	2,76 ± 2,41	2,09 ± 1,49	0,001*
Área de Lacunas (μm^2)	48,89 ± 31,55	38,04 ± 25,95	<0,001*
Área de Canais (μm^2)	3795,96 ± 4706,66	3661,39 ± 6790,97	0,811

Na avaliação da presença de dentes e alvéolos dentários das mandíbulas (**FIGURAS 4 e 5**), em cada gênero, percebeu-se que o grupo masculino apresentou uma maior presença dentária que o grupo feminino e estes estavam distribuídos de forma mais equivalente entre os grupos dentários, enquanto que, o grupo feminino mostrou uma distribuição mais lateralizada dos dentes.

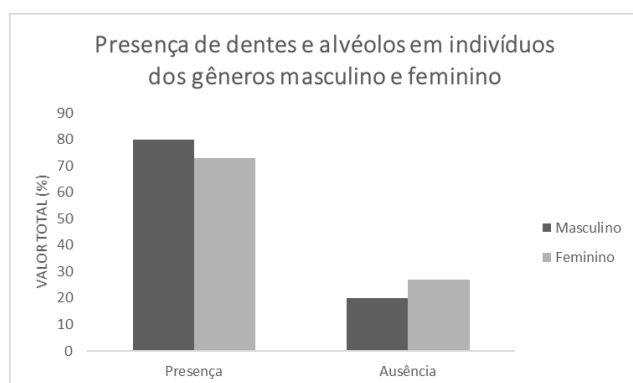


Figura 4 – presença de dentes e alvéolos nas mandíbulas dos indivíduos dos gêneros masculino e feminino.

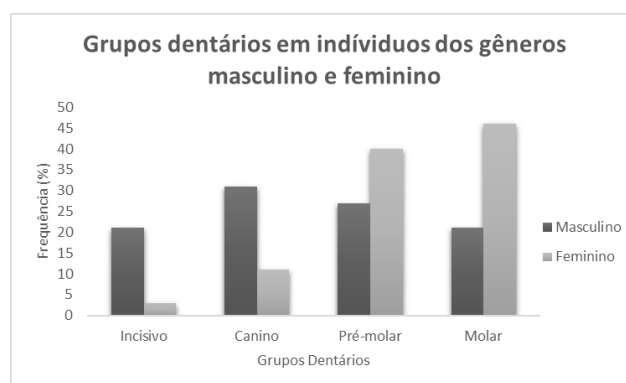


Figura 5 - Distribuição da frequência de dentes a partir dos grupos dentários nos gêneros masculino e feminino.

Das variáveis observadas nos dois gêneros, masculino e feminino, as variáveis histológicas mensuradas diferiam significativamente entre os côndilos avaliados. Enquanto que no grupo feminino estas diferenças estatísticas não foram tão acentuadas. As diferenças podem estar associadas com a tensão gerada pela ATM, sendo nos homens uma tensão mais desigual, gerando as diferenças histomorfométricas entre um côndilo e outro.

Em um estudo realizado com 30 indivíduos de ambos os sexos e idades variando entre 8 e 17 anos, fez-se uma comparação nas mandíbulas, com auxílio de paquímetro para medir os pontos gnático e gônio e o lado de predominância mastigatória dos indivíduos. Neste trabalho eles notaram que o lado de prevalência mastigatória sempre ia de acordo com a

hemimândibula menor, devido à grande força gerada pela mastigação unilateral (Rodrigues et al., 2003). Esses dados vão de acordo com o que observamos entre os côndilos masculinos, que possuem uma grande assimetria, o que indica que estes indivíduos poderiam ter uma mastigação unilateral predominante. Um desequilíbrio no funcionamento da mandíbula gera cargas excessivas e desiguais, o que proporciona reabsorção óssea, e consequentemente, diferenciação morfológica. Este ainda cita que as forças exercidas na mandíbula variam muito, dependendo de que etapa a mastigação esteja (Cruz, 2001).

Para nós humanos, as características morfológicas e funcionais da mandíbula só estarão definidas em torno de 7 a 10 anos de idade. Até chegar a idade em que as características morfológicas estejam definidas demora e tendo a interferência de um hábito de mastigação inadequado, haverá mudanças na conformação do tecido que está em formação (Fernandes, 2001). Além disso, a constituição da ATM implica no tipo de movimentação que os côndilos irão realizar. Por isso, há vários tipos destas articulações, e estas irão se modificar compativelmente a sua funcionalidade.

Em um estudo com ratos expostos a cargas mecânicas cíclicas, distribuindo as análises a um grupo controle comparado a outro grupo, que sofreu cargas excessivas na sexta vértebra caudal durante 10 semanas, notou-se diferenças nas taxas de reabsorção óssea, formação de novo tecido e rigidez do próprio osso, indicando que o osso adaptado a cargas mecânicas elevadas diminui sua reabsorção óssea, mantendo o volume e a rigidez do mesmo. Considerando essa informação para a mandíbula, entende-se a necessidade de equilibrar a força exercida pela ATM bilateralmente, sob os dois côndilos mandibulares, de forma que se mantenha as taxas de desenvolvimento de novo tecido e reabsorção do mesmo equivalentes (Lambers et al., 2013).

Na maioria das variáveis analisadas entre os grupos, as diferenças encontradas estavam principalmente associadas as lacunas ósseas. Em uma análise do tecido ósseo de 27 cadáveres para observação da densidade de ósteons e a área dos mesmos, observou-se que não há diferenças entre os sexos para as variáveis observadas (Goliath et al., 2016).

As diferenças encontradas entre os grupos para o NL, NC, AL e a AC, nos traz a possibilidade desses parâmetros ósseos serem utilizados para a diferenciação dos grupos sexuais, não se limitando apenas a distinção de espécies diferentes. Isso basea-se numa pesquisa realizada com Macacos Assam ($n = 5$) e humanos ($n = 5$), onde verificou-se amostras do tecido ósseo dos ossos: úmero, ulna, rádio, fêmur, tíbia e fíbula diferenças entre vários parâmetros observados, dentre eles, os canais centrais das duas espécies. E para todas as variáveis relacionadas aos canais percebeu-se diferenças significativas, concluindo que

estes poderiam favorecer na identificação e diferenciação das duas espécies. (Nganvongpanit et al., 2015).

Em estudo realizado com 80 amostras de tecido ósseo da quarta costela esquerda, afim de fazer a estimativa da idade para pesquisas forenses foram analisadas diversas variáveis, dentre elas, os ósteons, a área e número de canais centrais. Percebeu-se que a densidade de ósteons era um forte caráter para separar as amostras dos indivíduos em 3 grandes grupos etários: de 20-39 anos (idade adulta), 40-59 anos (idade média) e acima de 60 anos, sendo o aumento da quantidade de ósteons linear ao aumento da idade (Cannet et al., 2010). No presente estudo a maior quantidade de indivíduos na categoria acima de 60 anos de idade encontra-se no grupo feminino, o que pode ter contribuído para as diferenças encontradas entre os grupos, devido ao fato de muitas das mudanças do tecido ósseo se relacionarem a idade avançada. Um dos fatores para a escolha da costela como objeto de estudo foi a baixa tensão exercida nessa região. No caso dos côndilos, que possuem forte tensão sobre si, a densidade e área dos canais centrais relacionam-se mais as tensões mecânicas que a idade do indivíduo. Um outro estudo sobre a estimativa de idade a partir da histomorfometria óssea da superfície anterior do eixo médio do fêmur também mostrou correlação entre muitas das variáveis observadas e a idade, mas os autores ainda relatam que esses dados são inconstantes, visto que outros fatores influenciam e modificam de forma imprevisível a morfologia do tecido (Keough et al., 2009).

Em nossa pesquisa o grupo masculino demonstrou possuir uma menor quantidade de dentes molares e pré-molares em relação ao grupo feminino. Foi relatado em um estudo odontológico realizado com 801 pacientes, afim de investigar as diferenças geradas pela retenção ou extração do terceiro molar, tendo uma parcela destes indivíduos passado pela extração, chegou-se à conclusão que este grupo aumentou consideravelmente as taxas de parestesia e disfunção da ATM (Huang et al., 2014). Outra análise realizada com 83 pacientes, divididos em 3 grupos: Indivíduos com dentição normal (30), pacientes com dentes posteriores em falta unilateralmente (30) e pacientes com dentes posteriores em falta posteriormente bilateralmente (23), acerca de observar a influência que a falta de dentes causa sobre a função mastigatória, mostrou que os indivíduos desdentados não diminuíram o desempenho mastigatório, mas aumentaram o grau de predominância mastigatória, e o grupo de mastigação bilateral teve uma diminuição do desempenho mastigatório, além de aumentar a predominância mastigatória (Iwashita et al., 2014). Além disso, foi visto por alguns pesquisadores a partir da análise da mastigação de 60 indivíduos, 30 de cada gênero, que os homens apresentam diferenças de tempo e espaçamento da mordida, o que também influencia

nas mudanças morfológicas. Com o aumento da disfunção da ATM há variação da tensão exercida sob os côndilos, gerando modificações na microestrutura do tecido ósseo. (Tamura and Beng, 2014).

Conclusões

O grupo masculino possui uma grande diferença na microestrutura tecidual entre um côndilo e outro, entretanto, o grupo feminino não demonstrou grande diferença, mostrando maiores similaridades na microestrutura óssea de seus côndilos. Entre os dois gêneros, evidenciou-se diferenças nas estruturas morfológicas observadas, levando-nos a compreendê-las como possíveis caracteres de diferenciação sexual na espécie humana.

O presente estudo traz informações importantes a cerca da microestrutura óssea da região condilar de mandíbulas humanas. Porém faz-se necessário estudos mais aprofundados sobre os fatores que interferem diretamente na formação óssea dessa região.

Referências

- Blair, H.C., Q.C. Larrouture, Y. Li, H. Lin, D. Beer-Stoltz, L. Liu, R.S. Tuan, L.J. Robison, P.H. Schlesinger, and D.J. Nelson, 2016: Osteoblast Differentiation and Bone Matrix Formation In Vivo and In Vitro, *Tissue Engineering Part B Reviews*, **16**, 1-29.
- Canalis, E., L. Schilling, and S. Zanotti, 2016: Effects of Sex and Notch Signaling on the Osteocyte Cell Pool, *Journal of Cellular Physiology*, **232**, 363-370.
- Cannet, C., J.P. Baraybar, M. Kolopp, P. Meyer, and B. Ludes, 2011: Histomorphometric estimation of age in paraffin-embedded ribs: a feasibility study, *Int J Legal Med*, **125**, 493-502.
- Cruz, M.C.A., 2001: Análise tridimensional de tensões em torno do implante cuneiforme pelo método dos elementos finitos. Universidade Camilo Castelo Branco, Campinas.
- Drake, R.L., 2010: Gray's, Anatomia para Estudantes. Elsevier, Rio de Janeiro.
- El-Jawhari, J., E. Jones, and P.V. Giannoudis, 2016: Theroles of imune cells in bone healing; what wek now, do not know and future perspectives, *Injury, Int. J. Care Injured*, **47**, 2399–240.
- Fernandes, M.L. and Gomes, P.S, 2016: Bone Cells Dynamics during Peri-Implantitis: a Theoretical Analysis, *Journal of Oral & Maxillofacial Research*, **7**, 1-19.

- Fernandes, R.C., 2001: Oclusão dentária e mastigação: A relação entre forma e função. Centro de Especialização em Fonoaudiologia Clínica, Itajaí.
- Goliath, J.R., M.C. Stewart, and S.D. Stout, 2016: Variation in osteon histomorphometrics and their impact on age-of-death estimation in older individuals, *Forensic Science International*, **262**, 282.e1-282.e6.
- Hay, E., W Bouaziz, T. Funck-Bretano, and M. Cohen-Solal, 2016: Sclerostin and Bone Aging: A Mini-Review, *Experimental Section / Mini-Review*, **62**, 618-623.
- Hedayati, R., S. Jambaz, M. Sadighi, M. Mohammadi-Aghdam, and A.A. Zadpoor, 2016: How does tissue regeneration influence the mechanical behavior of additively manufactured porous biomaterials?, *Journal of the Mechanical Behavior of Biomedical Materials*, **65**, 831-841.
- Huang, G.J., J. Cunha-Cruz, M. Rothen, C. Spiekerman, M. Drangsholt, L. Anderson, and G.A. Roset, 2014: A prospective study of clinical outcomes related to third molar removal or retention, *American Journal of Public Health*, **104**, 728-734.
- Ishikawa, M., and Yamada, Y., 2016: The Role of Pannexin 3 in Bone Biology, *Journal of Dental Research*, **11**, 1-8.
- Iwashita, H., Y. Tsukiyama, H. Kori, R. Kuwatsuru, Y. Yamasaki, and K. Koyano, 2014: Comparativer cross-sectional study of masticatory performance and mastication predominance of patients with missing posterior teeth, *Journal of Prosthodontic Research*, **58**, 223-229.
- Jeong, B-C., J.H. Kim, K. Kim, I. Kim, S. Seong, and N. Kim, 2016: ATF3 modulates calcium signaling in osteoclast differentiation and activity by associating with c-Fos and NFATc1 proteins, *Bone*, **95**, 33-40.
- Lambers, F.M., K. Koch, G. Kuhn, D. Ruffoni, C. Weigt, F.A. Schulte, and R. Muller, 2013: Trabecular bone adapts to long-term cyclic loading by increasing stiffness and normalization of dynamic morphometric rates, *Bone*, **55**, 325-334.
- Keough, N., E.N, L'abbé, and M. Steyn, 2009: The evolution of age-related histomorphometric variables in a cadaver sample of lower socioeconomic status: implications for estimating age at death, *Forensic Science Intenational*, **191**, 114.e1-114.

- Merigue, A.F., A.C.C.F. Conti, P.V.P. Oltramari-Navarro, R.L. Navarro, and M.R. Almeida, 2016: Tomographic evaluation of the temporomandibular joint in malocclusion subjects: condylar morphology and position, *Braz Oral Res* [online], **30**, 1-7.
- Nganvongpanit, K., M. Phatsara, J. Settakorn, and P. Mahakkanukrauh, 2015: Differences in compact bone tissue microscopic structure between adult humans (*Homo Sapiens*) and Assan macaques (*Macaca assamensis*), *Forensic Science International*, **254**, 243.e1-243.e5.
- Nunes, P.C., R.L.R. Maciel, and M.A. Babinski, 2005: Propriedades anatômicas e funcionais da ATM com aplicabilidade no tratamento fisioterapêutico, *Fisioterapia Brasil*, **6**, 381-387.
- Ogata, K., W. Katagiri, and H. Hibi, 2016: Secretomes from mesenchymal stem cells participate in the regulation of osteoclastogenesis in vitro, *Clin Oral Invest.*
- Ottewell, P.D., 2016: The role of osteoblasts in bone metastasis, *Journal of Bone Oncology*, **5**, 124-127.
- Panagopoulos, V., V. Liapis, I. Zinonos, S. Hay, D.A. Leach, W. Ingman, M.O. DeNichilo, G.J. Atkins, D.M. Findlay, A.C.W. Zannettino, and A. Evdokiou, 2017: Peroxidase enzymes inhibit osteoclast differentiation and bone resorption, *Molecular and Cellular Endocrinology*, **440**, 8-15.
- Rodrigues, K.A., A.P. Lefèvre, L.B. Mott, D. Tugumia, and P.L. Peña, 2003: Análise comparativa entre o lado de predominância e medidas da mandíbula por meio de paquímetro, *Revista CEFAC*, **5**, 347-351.
- Tamura, K. and Beng, H.S., 2014: Gender differences in masticatory movement path and rhythm in dentate adults, *Journal of Prosthodontic Research*, **58**, 237-242.
- Teitelbaum, S.L., 2016: Therapeutic implications of suppressing osteoclast formation versus function, *Rheumatology*, **55**, 61-63.
- Twine, N.A., L. Harkness, M. Kassem, and M.R. Wilkins, 2016: Transcription factor ZNF25 is associated with osteoblast differentiation of human skeletal stem cells, *BMC Genomics*, **17**, 872-887.
- Xiang, B., Y Liu, L. Xie, Q. Zhao, L. Zhang, X. Gan, and H. Yu, 2016: The osteoclasts attach to the bone surface where the extracellular calcium concentration decreases, *Cell Biochem Biophys* **74**, 553–558.

6 CONCLUSÃO

O grupo masculino possui uma grande diferença na microestrutura tecidual óssea entre o côndilo direito e o côndilo esquerdo, o que não é observado no grupo feminino que demonstrou maiores similaridades entre a microestrutura dos dois côndilos. Entre os dois gêneros, evidenciou-se o contraste das estruturas morfológicas observadas, levando-nos a entender que podem servir como caracteres de diferenciação sexual para a espécie humana.

O presente estudo traz informações importantes a cerca da microestrutura óssea da região condilar de mandíbulas humanas. Porém faz-se necessário estudos mais aprofundados sobre os fatores que interferem diretamente na formação óssea dessa região.

ANEXO A – Normas para Submissão de Artigos.

Anatomia, Histologia, Embryologia

Author Guidelines

Anatomia, Histologia, Embryologia will be published in online-only format effective with the 2017 volume. This is a proactive move towards reducing the environmental impact caused by the production and distribution of printed journal copies and will allow the journal to invest in further digital development. Published articles will continue to be disseminated quickly through the journal's broad network of indexing services, including MEDLINE/PubMed and Web of Science. Articles will also continue to be discoverable through popular search engines such as Google. All colour images published in 2017 will now be reproduced digitally and published free of charge.

Content of Author Guidelines: 1. General, 2. Submission of Manuscripts, 3. Ethical Guidelines, 4. Manuscript Types Accepted, 5. Manuscript Format and Structure, 6. After Acceptance.

Useful Websites: Articles published in *Anatomia, Histologia, Embryologia*, Author Services, Blackwell Publishing's Ethical Guidelines, Guidelines for Figures.

1. GENERAL

Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Anatomia, Histologia, Embryologia*. Authors are encouraged to visit Wiley-Blackwell Author Services for further information on the preparation and submission of articles and figures.

2. SUBMISSION OF MANUSCRIPTS

All papers must be submitted electronically to <http://mc.manuscriptcentral.com/ahe>

The use of an online submission and peer review site speeds up the decision-making process, enables immediate distribution and allows authors to track the status of their own manuscripts. If assistance is needed (or if for some reason online submission is not possible), the Editorial Office can be contacted and will readily provide any help users need to upload their manuscripts.

Editorial Office:

Carlo Guison

E-mail: AHEoffice@wiley.com

2.1. Online Submission

To submit a manuscript, please follow the instructions below.

Getting Started

1. Launch your web browser (Internet Explorer 6 or higher, Netscape 7 or higher, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4 or higher) and go to the journal's ScholarOne Manuscripts homepage (<http://mc.manuscriptcentral.com/ahe>).

2. Log-in or click the "Create Account" option if you are a first-time user of Manuscript Central.
3. If you are creating a new account.
 - After clicking on "Create Account", enter your name and e-mail information and click "Next". Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click "Next."
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click "Finish".
4. If you have an account, but have forgotten your log in details, go to Password Help on the journals online submission system (<http://mc.manuscriptcentral.com/ahe>) and enter your e-mail address. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
5. Log-in and select "Author Center."

Submitting Your Manuscript

5. After you have logged in, click the "Submit a Manuscript" link in the menu bar.
6. Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
7. Click the "Next" button on each screen to save your work and advance to the next screen.
8. You are required to upload your files.
 - Click on the "Browse" button and locate the file on your computer.
 - Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button.
 - When you have selected all files you wish to upload, click the "Upload Files" button.
9. Review your submission (in PDF format) before sending to the Journal. Click the "Submit" button when you are finished reviewing.

You may suspend a submission at any phase before clicking the "Submit" button and save it to submit later. After submission, you will receive a confirmation e-mail. You can also access Manuscript Central any time to check the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc, docx) or Rich Text Format (.rtf) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to a PDF document on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, text, references, tables, and figure legends, but *no* embedded figures. Figure tags should be included in the file. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below.

Revised manuscripts must be uploaded within 2 months of authors being notified of conditional acceptance pending satisfactory revision.

3. ETHICAL GUIDELINES

Anatomia, Histologia, Embryologia adheres to the ethical guidelines below for publication and research.

3.1. Authorship and Acknowledgements

Authorship: Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript has been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal. ALL named authors must have made an active contribution to the conception and design and/or analysis and interpretation of the data and/or the drafting of the paper and ALL must have critically reviewed its content and have approved the

final version submitted for publication. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship and, except in the case of complex large-scale or multi-centre research, the number of authors should not exceed six.

Anatomia, Histologia, Embryologia adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

Acknowledgements: Under Acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Please also include specifications of the source of funding for the study and any potential conflict of interests if appropriate. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included.

3.2. Ethical Approvals

Experimental Subjects: In experiments where animals were used, authors are requested to give full details about the animals (source, breeding, pathogen-free, conventional conditions, etc.) and their maintenance (standard diet, environment, etc.). When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used.

3.3 Conflict of Interest and Source of Funding

Conflict of Interest: Authors are required to disclose any possible conflict of interest.

These include financial (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee). Author's conflict of interest (or information specifying the absence of conflicts of interest) will be published under a separate heading entitled 'Conflict of interest'.

Anatomia, Histologia, Embryologia requires that sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential conflicts of interest noted. As of 1st March 2007, this information will be a requirement for all manuscripts submitted to the Journal and will be published in a highlighted box on the title page of the article. Please include this information under the separate headings of 'Source of Funding' and 'Conflict of Interest' at the end of your manuscript.

If the author does not include a conflict of interest statement in the manuscript then the following statement will be included by default: "No conflicts of interest have been declared".

Source of Funding: Authors are required to specify the source of funding for their research when submitting a paper. Suppliers of materials should be named and their location (town, state/county, country) included. The information will be disclosed in the published article.

3.4 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

3.5 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

3.6 Copyright

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs below:

CTA Terms and Conditions: http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp

For authors choosing OnlineOpen

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services:

http://authorservices.wiley.com/bauthor/faqs_copyright.asp and

visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) or the Austrian Science Fund (FWF) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with your Funder requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit:

<http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

4. OnlineOpen

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley InterScience, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see <http://olabout.wiley.com/WileyCDA/Section/id-406241.html>.

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at: https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen_order.asp. Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

5. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Original Articles: Original papers should not exceed 30 DIN A4 typewritten pages including figures, tables and references. Summaries of original papers should not exceed 1200 characters.

Short Communications: Short communications should not exceed 5 DIN A4 typewritten pages including figures, tables and references. Summaries of short communications should not exceed 600 characters. Short communications may be given priority for publication.

Reviews: Due to their nature, reviews are not limited in length per se, however editors reserve the right to have them shortened for brevity during review.

6. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

6.1. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language must have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. It is preferred that manuscripts are professionally edited. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: All measurement specifications must follow the S.I. system. Solution concentrations are to be given in mol/l. All other concentrations are to be given in % (volume or weight). Abbreviations of biological, chemical or other terms should only be employed when it is certain they are internationally known. The full name must be stated in brackets when an abbreviation is used for the first time in a paper.

Scientific Names: All biological, chemical, medical or other names are to be given according to the most recent international nomenclature. In the case of substances or reagents obtained commercially, the name and address of the manufacturer or supplier (as a footnote) should be given the first time the product is mentioned. Products with a trademark should be marked with ©. Names of bacteria should be in accordance with the latest edition of Bergey's Manual of Determinative Bacteriology (The Williams and Wilkins Co., Baltimore). Viruses should be classified and named as recommended by the International Committee on the Nomenclature of Viruses.

Font: Names of micro-organisms and zoological or botanical names should be given in italics.

6.2. Structure

All manuscripts submitted to *Anatomia*, *Histologia*, *Embryologia* should include: Summary, Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion, and References.

Title Page: The following information should be given on page one of the manuscript: the name of the institution where the work was carried out, the title of the manuscript, the name(s) of the author(s), the address(es) of the author(s), the e-mail address of the corresponding author, and the number of figures and tables accompanying the manuscript.

Summary: Summaries of original articles should not exceed 1200 characters, and those of short communications should not exceed 600 characters.

Optimizing Your Summary for Search Engines

Many students and researchers looking for information online will use search engines such as Google, Yahoo or similar. By optimizing your article for search engines, you will increase the chance of someone finding it. This in turn will make it more likely to be viewed and/or cited in another work. We have compiled these guidelines to enable you to maximize the web-friendliness of the most public part of your article.

6.3. References

Each original paper should have a list of references which should be restricted to a minimum. The references should be listed alphabetically according to the name of the first author.

Every reference should be structured as follows: author or author's surname and initials of the given name; year of publication (without brackets); title of paper; name of the journal; volume number (bold); page numbers, e.g.:

Gothé, R., Y. Gold and A. Kraiss, 1986: On the subspecific validity of *Rhipicephalus evertsi mimeticus* DÖnitz, 1910. J. Vet. Med. B 33, 47-59.

Books or separate publications should be quoted as follows:

Boch, J. and R. Supperer, 1977: Veterinary Medical Parasitology. Paul Parey Scientific Publishers, Berlin.

Reference to the quoted literature in the text should be given by putting the name(s) of the author(s) in brackets, with the year of publication, e.g.: (Thein and Härtl, 1986).

The editor and publisher recommend that citation of online published papers and other material should be done via a DOI (digital object identifier), which all reputable online published material should have - see www.doi.org/ for more information. If an author cites anything which does not have a DOI they run the risk of the cited material not being traceable.

We recommend the use of a tool such as Reference Manager for reference management and formatting.

Reference Manager reference styles can be searched for here: www.refman.com/support/rmstyles.asp

6.4. Tables, Figures and Figure Legends

The number and size of illustrations and tables should be kept to the minimum necessary.

Tables: Tables should be created using the table function.

Figures: Please note that figures will generally be reduced to fit within the column-width or the print area. This means that numbering and lettering must still be readable when reduced (e.g. maps) and that the scale might not correspond with the original (microscopic pictures), thereby invalidating references to scale in the text. These figures should include a bar the size of which is defined in the caption of the photograph concerned. If a figure is to be cropped, please mark the lines on a photocopy or tracing paper. Printouts should be made with a laserprinter at the highest resolution (> 600 dpi). If artwork is to be scanned, line drawings should only be contour drawings without halftones (shades of grey). Please do not use patterns; rough hatching is possible.

Graphs with an x and y axis should not be enclosed in frames; only 2-dimensional representations. Do not forget the labels and units.

Preparation of Electronic Figures for Publication

Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (line art) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of at least 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: line art: >600 dpi; halftones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Wiley-Blackwell's guidelines for figures: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

Check your electronic artwork before submitting it: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachchecklist.asp>

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publisher.

Figure Legends: Legends for the figures should give a precise description of the content and should not be repeated within the figure.

Colour Charges: Effective from the 2017 volume, *Anatomia*, *Histologia*, *Embryologia* will be published in online-only format. All colour images published in 2017 will now be reproduced digitally and published free of charge. For those manuscripts accepted and due for publication in 2016, it is the policy of the journal for authors to pay the full cost for the reproduction of their colour artwork. In the event that an author is not able to cover the costs of reproducing colour figures in the printed version of the journal, authors are offered the opportunity to reproduce colour figures in colour for free in the online version of the article but in black and white in the print version. Questions regarding colour figures should be directed to the Editorial Office, Carlo Guison AHEoffice@wiley.com. The Colour Work Agreement form can be downloaded [here](#).

Note to NIH Grantees: Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate

7. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

7.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an e-mail alert containing a link to a website. A working e-mail address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site.

Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following website: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html.

This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs.

Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in their work, including changes made by the copy editor.

7.2 Early View (Publication Prior to Print)

Anatomia, Histologia, Embryologia is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

7.3 Author Services

Online production tracking is available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.

7.4 Author Material Archive Policy

Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible.

7.5 Offprints and Extra Copies

Free access to the final PDF offprint or your article will be available via author services only. Please therefore sign up for author services if you would like to access your article PDF offprint and enjoy the many other benefits the service offers.

Additional paper offprints may be ordered online. Please click on this link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields. If you have queries about offprints please e-mail offprint@cosprinters.com

Last update: July 2016