

*Universidade Federal do Triângulo Mineiro*

*ALTERAÇÕES DA MATRIZ  
CARTILAGINOSA DA JUNÇÃO  
OSTEOCONDRAE EM FETOS  
AUTOPSIADOS*

*Renata Pereira Paes Santos*

*Uberaba, MG*

*2007*

*Renata Pereira Paes Santos*

*ALTERAÇÕES DA MATRIZ  
CARTILAGINOSA DA JUNÇÃO  
OSTEOCONDRALE EM FETOS  
AUTOPSIADOS*

*Tese apresentada ao Curso de Pós-graduação em Patologia,  
área de concentração "Patologia Geral", da Universidade  
Federal do Triângulo Mineiro, como requisito parcial para  
obtenção do Título de Mestre.*

*Orientadora: Eumenia Costa da Cunha Castro*

*Co-orientador: Vicente de Paula Antunes Teixeira*

*Uberaba, MG*

*Abril, 2007*

Catálogo na fonte: Biblioteca da UFTM

S233a Santos, Renata Pereira Paes.

Alterações da matriz cartilaginosa da junção osteocondral de fetos autopsiados / Renata Pereira Paes Santos. - - 2007.

65 p. ; fig. ; tab.

Tese (Mestrado em Patologia Geral) – Universidade Federal do Triângulo Mineiro, Uberaba, MG. Orientador: Prof<sup>a</sup>. Dr<sup>a</sup>. Eumenia Costa da Cunha Castro.

1. JUNÇÃO OSTEOCONDAL. 2. MATRIZ CARTILAGINOSA. 3. MORFOMETRIA. I. TÍTULO. II. CASTRO, EUMÊNIA COSTA DA CUNHA.

CDU-616.71-O183

## *A Deus*

---

---

*Nessa minha caminhada, muralhas de dificuldades e curvas de insegurança  
apareciam para impedir os meus objetivos.*

*Parecia que meus planos caíam por terra, me faltava força, dúvidas me invadiam,  
o cansaço e temor apoderavam-se do meu ser; percebi que através de meu próprio  
esforço, não iria conseguir.*

*Em todos esses momentos consegui avistar a luz no fim do túnel que me deu a  
direção para continuar a caminhar, sei que não cheguei ao fim, mas ao início de  
uma longa caminhada.*

*Somente alguém muito especial conseguiria preparar-me para saltar os obstáculos  
que tentavam me parar.*

*Agradeço Senhor Deus por não me desamparar.*

## *Aos meus pais, Nicanor e Maria Aparecida*

---

---

*Nunca sabemos o que nos espera, mas desde pequeninos aprendemos os caminhos que devemos seguir para sermos dignos, honestos e felizes. Agradeço a vocês que me ensinaram esses caminhos. E também pelo apoio incondicional e o imenso amor que dedicaram a mim. Vocês são meu porto seguro...*

*Ao meu esposo, Júnior*

---

---

*Você é o sol e a lua da minha vida...*

*Por você consegui superar os obstáculos e chegar até aqui.*

*Obrigada por entender minha ausência, por aliviar meus medos e minha angústia*

*nos momentos em que mais precisei ...*

*Ao irmão, Joaquim e cunhada Rita*

---

---

*“Obrigada pela constante presença em minha vida, incentivando-me sempre e fazendo-me acreditar que seria possível terminar mais esta jornada.*

*Aos meus sobrinhos Ana Marcella e Pedro Lucas*

---

---

*Pela alegria que me proporcionam, vocês são extremamente importantes na minha vida. Amo vocês.*

## *À minha Orientadora, Eumenia*

---

---

*Agradeço pela confiança em mim depositada, por ter me acolhido em um momento tão importante da minha vida e ter, então, guiado meus passos com segurança e sabedoria, o meu eterno muito obrigada.*



*Ao meu Co-orientador, Prof. Vicente*

---

---

*Por ser uma pessoa grandiosa e um mestre exemplar, agraciado por imensa  
experiência e sabedoria.*

*Agradeço a todas as pessoas que fizeram parte desta caminhada,  
especialmente*

---

---

- ❖ *Aos funcionários da Disciplina de Patologia Geral, pelo convívio saudável e pelas inúmeras contribuições na realização deste trabalho.*
- ❖ *Aos colegas da Pós-graduação, Ana Carolina, Ana Karina, Cláudia Renata, Camila, Janaína, Lia, Mara, Renata Rossi, Rosana, Sílvia, pelo carinho e companheirismo.*
- ❖ *Ao Professor Luiz César Peres que contribuiu na realização de nosso trabalho.*
- ❖ *Às secretárias da Pós-graduação da FMTM, Denise e Nelma.*
- ❖ *À Professora Marlene, pela presença marcante que tanto me enriqueceu.*

*Este trabalho foi realizado com o apoio financeiro da Fundação de Ensino e Pesquisa de Uberaba (FUNEPU), do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior (CAPES) e da Fundação de Amparo à Pesquisa do Estado de Minas Gerais (FAPEMIG).*

## *Sumário*

*Lista de Abreviaturas*

*Lista de Tabelas*

*Lista de Figuras*

*Resumo*

*Abstract*

*Introdução .....23*

*Hipótese .....30*

*Objetivos .....32*

*Material e Métodos.....34*

*Resultados.....40*

*Discussão .....50*

*Conclusão .....55*

*Referências Bibliográficas.....58*

*Anexos*

## *Lista de Abreviaturas*

<i>AMC</i> .....	<i>Aumento de matriz cartilaginosa</i>
<i>ANOVA</i> .....	<i>Análise da variância</i>
<i>BZ</i> .....	<i>Conformação bizarra</i>
<i>Fig</i> .....	<i>Figura</i>
<i>FMRP</i> .....	<i>Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto</i>
<i>GOP</i> .....	<i>Grupos de óbitos perinatais</i>
<i>H</i> .....	<i>Teste de Kruskal-Wallis</i>
<i>HC</i> .....	<i>Hospital das Clínicas</i>
<i>H&amp;E</i> .....	<i>Hematoxilina-eosina</i>
<i>IAO</i> .....	<i>Idade ao óbito</i>
<i>IG</i> .....	<i>Idade gestacional</i>
<i>JOC</i> .....	<i>Junção osteocondral</i>
<i>MCO</i> .....	<i>Aumento de matriz cartilaginosa com formação de osso</i>
<i>Med</i> .....	<i>Mediana</i>
<i>n</i> .....	<i>Número de casos</i>
<i>OMS</i> .....	<i>Organização Mundial da Saúde</i>
<i>RCIU</i> .....	<i>Restrição do crescimento intra-uterino</i>
<i>SIDS</i> .....	<i>Síndrome da morte súbita infantil</i>
<i>T</i> .....	<i>Teste de Mann-Whitney</i>
<i>“t”</i> .....	<i>Teste “t” de Student</i>
<i>TMA</i> .....	<i>Tricômico de Masson Azul</i>
<i>UFIM</i> .....	<i>Universidade Federal do Triângulo Mineiro</i>
<i>µm</i> .....	<i>micrômetros</i>
<i>p</i> .....	<i>índice de significância</i>

$X \pm DP$  ..... *Média  $\pm$  Desvio padrão*

$\chi^2$  ..... *Qui-quadrado*



## *Lista de Tabelas*

- Tabela 1:** Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de achados morfológicos das junções osteocondrais coletadas das autópsias perinatais realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.....41
- Tabela 2:** Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de achados morfológicos das junções osteocondrais nos diferentes grupos de óbitos perinatais das autópsias realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.....43
- Tabela 3:** . Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de óbitos perinatais das autópsias realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999 2005.....44
- Tabela 4:** Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de causas de óbito das autópsias perinatais realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.....45
- Tabela 5:** Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nas JOC com o crescimento intra-uterino das crianças autopsiadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999 2005.....46



**Tabela 6:** Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de doenças de base coletados dos laudos das autópsias perinatais realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.....47

**Tabela 7:** Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de malformações congênitas diagnosticadas nas autópsias perinatais realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.....48

**Resumo**



## Resumo

**Introdução:** As descrições das lesões da JOC são frequentes na literatura. Mas o mecanismo, os fatores etiológicos e qual o papel da produção de matriz cartilaginosa na gênese destas lesões ainda não foi esclarecido. **Objetivo:** Identificar as possíveis alterações quantitativas da matriz cartilaginosa localizada na junção osteocondral de fetos autopsiados e relacioná-las com doenças fetais. **Métodos:** Foram utilizadas 254 lâminas de junções osteocondrais de autópsias perinatais. Para a análise morfométrica utilizamos o método Tricômico de Masson Azul. **Resultados:** A quantidade de matriz cartilaginosa foi maior nas lesões AMC e MCO ( $p < 0,05$ ). Não encontramos diferença estatística entre a quantidade de matriz cartilaginosa entre as lesões da JOC diagnosticadas nos três grupos de mortes perinatais. Nos nativos com a lesão bizarra na JOC houve uma diminuição da quantidade de matriz cartilaginosa ( $p < 0,05$ ). As autópsias perinatais com lesões na JOC apresentam maior idade. As com lesão com padrão bizarro apresentam menor idade gestacional ao nascimento ( $p < 0,05$ ). Não houve relação entre as causas de óbito e a quantidade de matriz cartilaginosa na junção osteocondral. As autópsias perinatais que apresentaram restrição do crescimento intra-uterino apresentaram menor quantidade de matriz cartilaginosa na junção osteocondral. ( $p < 0,05$ ) Não houve relação entre a quantidade de matriz cartilaginosa na junção osteocondral e as doenças de base. Nas malformações congênitas, as cardiopatias congênitas apresentaram quantidade significativamente maior de matriz cartilaginosa na junção osteocondral ( $p < 0,05$ ). **Conclusão:** as lesões da junção osteocondral em autópsias perinatais estão associadas com alteração da quantidade de matriz cartilaginosa depositada entre as células da cartilagem. Como a produção da matriz cartilaginosa depende da associação de estímulos gênicos com fatores ambientais o estudo da produção e degradação da matriz deve ser a chave para o entendimento dos mecanismos envolvidos nestas lesões.

**Palavras-chave:** costelas, morfometria, autópsia

**Abstract**

---

---

## Abstract

**Introduction:** The descriptions of the lesions of the JOC are frequent in literature. But the mechanism, the etiologic factors and which the paper of the production of cartilaginous matrix in genesis of these injuries not yet was clarified. **Objective:** To identify the possible quantitative alterations of the cartilaginous matrix located in the osteocondral junction of autopsied embryos and to relate them with fetal illnesses. **Methods:** 254 blades of osteocondral junctions of perinatal autopsies had been used. For the morphometric analysis we use the method Tricômico de Blue Masson. **Results:** The amount of cartilaginous matrix was bigger in lesions AMC and MCO ( $p < 0.05$ ). We do not find difference statistics enters the amount of cartilaginous matrix enters the lesions of the diagnosed JOC in the three groups of perinatal deaths. In the natives with the lesions bizarre in the JOC had a reduction of the amount of cartilaginous matrix ( $p < 0.05$ ). You autopsy them perinatal with lesions in the JOC present greater age. With lesion with standard bizarre presents minor gestational age to the birth ( $p < 0.05$ ). It did not have relation enters the death causes and the amount of cartilaginous matrix in the osteocondral junction you autopsy Them perinatal that had presented restriction of the intrauterine growth had presented minor amount of cartilaginous matrix in the osteocondral junction. ( $p < 0.05$ ) it did not have relation enters the amount of cartilaginous matrix in the osteocondral junction and the illnesses of base. In the congenital malformations, the congenital cardiopathies had significantly presented bigger amount of cartilaginous matrix in the osteocondral junction ( $p < 0.05$ ). **Conclusion:** The injuries of the osteocondral junction in you autopsy perinatal are associates with alteration of the amount of deposited cartilaginous matrix enters the cells of the cartilage. As the production of the cartilaginous matrix the study of the production depends on the association of genetic stimulations with

ambient factors and degradation of the matrix must be the key for the agreement of the involved mechanisms in these lesions.

**Word-key:** ribs, morfometria, autopsy

# Introdução



## **Introdução**

O desenvolvimento do osso no feto é conseqüente a substituição do colágeno primitivo, por osso e tecido de sustentação. Nos ossos longos, as vértebras, as costelas, a pelve e os ossos da base do crânio ocorre a formação de um molde cartilaginoso que cresce continuamente e é progressivamente substituído por osso; esse processo é chamado de ossificação endocondral, e os ossos formados dessa maneira são chamados de ossos cartilagosos. Ao contrário, os ossos da abóboda do crânio, do maxilar e da maior parte da mandíbula são formados pela deposição de osso dentro de tecido mesenquimal primitivo, esse processo de substituição direta do mesênquima por osso é conhecida como ossificação intramembranosa, e os ossos formados desse modo são chamados de ossos membranosos. O desenvolvimento ósseo é controlado pelo hormônio do crescimento, pelo hormônio tireóideo e pelos hormônios sexuais (YOUNG & HEALTH, 2001).

Para que ocorra a ossificação endocondral é necessária a presença de um molde de cartilagem hialina, de forma parecida com a do osso que vai se formar, porém com um tamanho menor (JUNQUEIRA & CARNEIRO, 1995; GARTNER & HIATT, 2002).

A cartilagem cresce por proliferação de células e formação de matriz extracelular. Por causa da capacidade que a cartilagem tem de crescimento é que a maior parte do esqueleto do embrião é primeiramente formado por cartilagem e a proliferação desta tem um papel importante no desenvolvimento e crescimento do esqueleto fetal (PELTOMAKI & HAKKINEN, 1992).



O molde cartilaginoso fica maior com o crescimento do feto. Em ambos os lados da cavidade da medula, que também se amplia, a cartilagem passa por transformações que se assemelham as que ocorreram inicialmente no centro do molde. Estas mudanças do desenvolvimento, que envolvem condrócitos e matriz em ambas extremidades do molde cartilaginoso, levam a formação das cartilagens de conjugação (discos epifisários). Sendo que esta cartilagem de conjugação persiste em uma região do osso longo em desenvolvimento enquanto houver crescimento nesta região de osso (HENRIKSON, KAYE, MAZURKIEWICZ, 1999) .

A junção osteocondral (JOC), que corresponde ao disco de crescimento ósseo, aparece como uma coluna de cartilagem no meio de matriz extracelular e trabéculas ósseas. O padrão de crescimento é em torno de 220 µm por dia. A cartilagem cresce em colunas e finalmente as últimas camadas de células hipertrofiadas, sofrem apoptose e deixam na zona livre de medula óssea da JOC filetes de cartilagem e matriz que serão utilizados para formação do novo osso (EMERY and KALPAKTSOGLU, 1976).

A JOC ou disco de crescimento ósseo é composto de cartilagem, forma uma estreita faixa de ligação entre a epífise e a diáfise, e pode ser dividido de acordo com o tipo celular (PIZAURO; CIANCAGLINI & MACARI, 2002):

- Zona de reserva, que contém condrócitos aparentemente dispersos e inativos;
- Zona de proliferação, onde a maioria das divisões celulares ocorrem. Esta região contém as células precursoras dos condrócitos (células progenitoras). Células jovens se diferenciam em condrócitos acarretando um acúmulo de novas células que são deslocadas para baixo, formando uma coluna ao longo da zona proliferativa. A formação dessa coluna permite a subdivisão da matriz em septos transversais, que separam as colunas de células adjacentes.

- Zona de maturação é a região onde os condrócitos passam por uma fase de pós-divisão a um estado de maturação. O estado de maturação é caracterizado por uma fase de intensa síntese e secreção de matriz.
- Zona hipertrófica, contém os condrócitos aumentados e muitas vesículas da matriz no citoplasma;
- Zona de calcificação, ocorre a morte dos condrócitos, com formação de septos longitudinais. O fosfatato de cálcio é liberado e se deposita no interstício.

O crescimento longitudinal do osso ocorre através do equilíbrio preciso entre a proliferação dos condrócitos, produção de matriz cartilaginosa, hipertrofia, calcificação e invasão vascular da lacuna do condrócito hipertrofiado (LOVERIDGE et al, 1993; ANDERSON, 1995; GERBER & FERRARA, 2000; FARQUHASON & JEFERREIS, 2000; JEFERREIS et al, 2000).

O papel dos condrócitos no disco de crescimento é extremamente importante devido, principalmente ao fato de que seu período de vida é sincronizado no tempo e no local onde sua atividade é requerida. Acúmulo de resultados experimentais, ao longo desses últimos anos, tem mostrado que a hipertrofia dos condrócitos é a etapa essencial para invasão vascular e, subsequente, substituição da matriz calcificada por osso (GERBER & FERRARA, 2000), sugerindo que a vascularização da região inferior do disco de crescimento representa uma etapa crucial na interação entre os processos de condrogênese (produção de cartilagem) e osteogênese (formação do tecido ósseo), principalmente durante o período de crescimento rápido dos ossos longos ou reparo de fraturas (GERBER & FERRARA, 2000). Mudanças nesse equilíbrio podem levar ao desenvolvimento de doenças esqueléticas, tais como osteoartrite, calcificação ectópica e discondroplasia.

A matriz extracelular é uma verdadeira rede de macromoléculas que circundam as células nos tecidos, sendo sintetizadas por estas, de forma geneticamente determinada, porém sofrendo influências do meio, apresentando composições diferenciadas, diretamente relacionadas ao tipo celular que a secretou (LABAT-ROBERT, 2004).

Três grupos principais de proteínas compõem a matriz extracelular, representados pelas proteínas estruturais fibrosas, proteínas estruturais não fibrosas e proteínas matricelulares. Dentre as proteínas estruturais fibrosas, subdivididas nos sistemas colagênico e elástico, destacam-se, respectivamente, os colágenos fibrilares e não-fibrilares e as fibras elaunínicas, oxitalânicas e elásticas. Por sua vez, dentre as proteínas estruturais não fibrosas, estão as glicosaminoglicanas e glicoproteínas, e constituindo as proteínas matricelulares, apontam-se as trombospondinas, osteopontinas e tenascinas (SIQUEIRA JUNIOR, DANTAS, 2000).

A matriz cartilaginosa consiste de fibrilas colágenas (predominantemente colágeno tipo II) e substância fundamental amorfa a qual é formada principalmente de proteoglicanos (MUNDLOS, 1994).

Entre todas as macromoléculas que compõem a cartilagem articular, os proteoglicanos destacam-se por possuírem alto peso molecular, cerca de 2,5 milhões de daltons. Eles são formados por vários elementos organizados numa complexa arquitetura aniônica, com função de mola biológica. Sua unidade básica são os glicosaminoglicanos (GAG), altamente sulfatados, um dos responsáveis pela propriedades hidrofílicas dos proteoglicanos. Existem vários tipos de glicosaminoglicanos, porém, na cartilagem são encontrados o sulfato de condroitina e o querato sulfato. Estes são ligados a uma proteína central através de ligamento covalentes, formando complexos denominados agregans, os quais ligam-se ao ácido hialurônico, através de proteínas de ligação. A presença de água na

cartilagem em associação com os proteoglicanos confere ao tecido uma tendência expansiva, por causa da pressão osmótica de pró-hidratação, que por sua vez é contida pela forte força de contenção exercida pela malha de fibras de colágeno, criando uma considerável pressão de expansão dentro do tecido (VELOSA; TEODORO; YOSHINARI; 2003).

Os componentes da matriz compreendem não apenas um suporte estrutural para constituintes celulares, mas também uma fonte de moléculas sinalizadoras capazes de influenciar o crescimento e diferenciação de tipos celulares diversos (SIQUEIRA & DANTAS, 2000; MOTT & WERB, 2004; PINHEIRO et al, 2004).

A zona proliferativa é a responsável pela produção de matriz cartilaginosa, em tecidos jovens e na zona de crescimento é encontrada preferencialmente ao redor dos condrócitos, sendo que na JOC das articulações é encontrada em maior quantidade na zona proliferativa (CARLSEN et al, 1998; GIANNONI et al., 2003).

Dentre as lesões na JOC descritas na literatura, a mais freqüente é o aumento da matriz cartilaginosa, podendo indicar intercorrências no período gestacional (EMERY, 1964; EMERY; KALPAKTSOGLU, 1967; ROBERTSON; IVEMARK, 1969; 1970).

Várias alterações graves no desenvolvimento ósseo que cursam com óbito perinatal, restrição de crescimento intra-uterino (RCIU), alterações placentárias, desordens maternas e algumas anormalidades congênitas, tem sido relacionadas às lesões da JOC, encontradas nas costelas (JOSHI, 1994).

Anormalidades da JOC foram associadas também com malformações bucais e membrana hialina (ROBERTSON; IVEMARK, 1969).

Em estudo realizado em autópsias de natimortos com idade gestacional entre 22 e 41 semanas observou-se que em 60% dos casos estudados foram encontradas lesões da

JOC, estando estas associadas com restrição do crescimento intra-uterino, malformações congênitas e asfixia perinatal (EMERY; KALPAKTSOGLU, 1967; PELTOMAKI, 1994). Na Síndrome da Morte Súbita na Infância foi demonstrada uma desorganização da junção osteocondral que poderia ser usada como um parâmetro para avaliar a duração e a presença de doenças anteriores nestas crianças (ROBERTSON; IVEMARK, 1969; PELTOMAKI, 1994; FAZZALARI et al., 1997).

As descrições das lesões da JOC são freqüentes na literatura. Mas o mecanismo, os fatores etiológicos e qual o papel da produção de matriz cartilaginosa na gênese destas lesões ainda não foi esclarecido.

**Hipótese**

---

---

## **Hipótese**

A produção de matriz cartilaginosa na junção osteocondral se altera com as doenças fetais devido a modificações intrínsecas das camadas que compõem a junção osteocondral.

**Objetivo**

---

---



## **Objetivo Geral**

Identificar as possíveis alterações quantitativas da matriz cartilaginosa localizada na junção osteocondral de fetos autopsiados e relacioná-las com doenças fetais.

## **Objetivos Específicos**

1. Através de técnicas morfométricas quantificar a matriz cartilaginosa localizada na JOC e comparar a quantidade de matriz com as alterações encontrada na JOC;
2. Comparar a quantidade de matriz cartilaginosa localizada na JOC com a idade cronológica na autópsia;
3. Comparar a quantidade de matriz cartilaginosa localizada na JOC com as causas de óbito ;
4. Comparar a quantidade de matriz cartilaginosa localizada na JOC com a doenças de base.

## **Materials e métodos**



## Materiais e Métodos

### 1. Aspectos éticos do projeto

O projeto foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) da Universidade Federal do Triângulo Mineiro com o protocolo de nº 504.

### 2. Seleção do material

Foram utilizadas 254 lâminas de junções osteocondrais de autópsias perinatais realizadas no Hospital Escola da Universidade Federal do Triângulo Mineiro (HE-UFTM) e no Hospital das Clínicas da Faculdade de Medicina de Ribeirão Preto da Universidade de São Paulo (HC –FMRP/USP), no período de 1999 a 2005.

Os casos utilizados neste estudo foram selecionados nos laudos de autópsias perinatais em que as lesões da JOC já haviam sido analisadas na coloração pela Hematoxilina-eosina e haviam sido classificadas segundo (COHEN, 1948; EMERY, 1957; EMERY, 1964, EMERY, 1964; EMERY; KALPAKTSOGLU, 1967; ROBERTSON; IVEMARK, 1969; CASTRO & POPEK, 2007):

- Normal: Quando as colunas de cartilagem formavam filas organizadas e no final da zona hipertrófica a quantidade de matriz cartilaginosa depositada ocupava menos de 50% do comprimento da linha entre a cartilagem e o osso.
- Aumento da Matriz Cartilaginosa (AMC) caracterizado por uma faixa de matriz cartilaginosa entre as últimas células da cartilagem e a cavidade óssea, em mais de 50% do comprimento da linha entre a cartilagem e o osso;

- Padrão Bizarro (BZ) caracterizado por completa desorganização das colunas de células cartilaginosas caracterizado por irregularidade estrutural nas zonas hipertrófica e proliferativa;
- Aumento de matriz cartilaginosa e formação de osso próximo à cartilagem (MCO quando havia uma desorganização das colunas de células cartilaginosas com formação de finas trabéculas ósseas entre a zona hiperplásica e a zona livre de medula, formando estruturas similares à pontes, por isso, alguns autores denominam essa alteração morfológica de “ponte óssea”.

### **3. Critérios de inclusão e exclusão**

Foram incluídos os casos com autópsias perinatais completas que incluiu a coleta da JOC e que constava no laudo a descrição morfológica da JOC no HE. Os casos excluídos deste estudo foram autópsias perinatais em que não se coletou a JOC e autópsias perinatais com malformações ósseas.

### **4. Revisão dos laudos de autópsia**

Dos laudos de autópsias foram coletadas as doenças de base, o gênero, a idade do paciente, as causas de óbito e as medidas antropométricas (peso corporal, peso encefálico, comprimento corporal, vértice calcâneo e medida do pé). As doenças de base e as causas de óbito foram agrupadas de acordo com os critérios descritos na literatura (ROBBINS & COTRAN, 1999).

Definiu-se como natimorto todo feto com idade gestacional igual ou superior a 22 semanas e/ou peso maior ou igual a 500 gramas cujo óbito ocorreu antes da separação

completa do corpo materno e que, ao nascer, não tenha apresentado quaisquer das seguintes manifestações compatíveis com a vida: batimentos cardíacos, pulsação de cordão umbilical ou movimento de músculos voluntários, de acordo com a décima Revisão da Classificação Internacional de Doenças (CID – 10). O termo nativivo foi utilizado para todos os óbitos que ocorreram no período neonatal (menos de 28 dias) (CARTLIDGE; STEWART, 1995).

A restrição de crescimento intra-uterino dos fetos foi classificada de acordo com o peso no gráfico do percentil 10. Utilizamos o peso, circunferência cefálica, circunferência abdominal, medida do pé e comprimento total e comparamos com a curva normal (LUBCHENCO et al, 1966; BATTAGLIA; LUBCHENCO, 1967; CHAMBERS et al 1993).

## **5. Análise Morfométrica**

Depois de selecionados os casos, os blocos foram recortados e as lâminas coradas pelo método de Tricômico de Masson Azul (TMA). As medidas foram realizadas utilizando-se uma câmara de vídeo acoplada a microscópio de luz comum que enviava as mensagens do microscópio a um sistema analisador de imagens (KS 300 Carl Zeiss<sup>®</sup>, Kontron, Germany), onde, o campo a ser quantificado, mostrou a área de matriz cartilaginosa, com a coloração azul. Da área marcada obtivemos o percentual de matriz cartilaginosa localizada entre a zona hiperplásica e a zona livre de medula óssea da JOC por campo (Prancha 1). Toda a extensão da JOC foi medida. De cada lâmina analisada a média de todos os campos medidos representou a porcentagem de matriz cartilaginosa encontrada na JOC por caso.

## 6. Análise Estatística

Para a análise estatística foi elaborada uma planilha eletrônica. As informações foram analisadas utilizando-se o Programa eletrônico Sigma Stat<sup>®</sup> 2.0. Em seguida, as variáveis normais, homocedásticas, foram analisadas utilizando-se testes paramétricos, na comparação entre dois grupos, o teste “t” de Student; e na comparação entre três ou mais grupos a análise de variância (ANOVA) seguidos do teste de Dunn.

Quando a distribuição não foi normal, utilizamos testes não paramétricos, na comparação entre dois grupos, o teste Mann-Whitney, e na comparação entre três ou mais grupos o teste de Kruskal-Wallis seguidos do teste de Tukey. As proporções foram comparadas pelo teste qui-quadrado, acompanhado do teste exato de Fisher ou teste de correção de Yates.

Foram consideradas estatisticamente as diferenças que  $p$  foi menor que 5% ( $p < 0,05$ ).

## **Resultados**



## **Resultados**

Foram analisadas 254 lâminas de JOC de autópsias perinatais no período de 1999 a 2005 no HE – UFTM e no HC – FMRP/USP. Destes, 120 casos (47,2%) eram de natimortos e 124 (52,6%) eram crianças com óbito no período neonatal, sendo que, 37 (14,5%) de nativos horas e 97 (38,1%) de nativos dias.

Nos laudos de autópsias perinatais revisados, dos 254 casos selecionados, 201 (79,1%) casos foram classificados como normais, 38 casos (14,9%) como aumento da matriz cartilaginosa (AMC), 10 casos (3,9%) com conformação bizarra (BZ) e 5 casos (2%) com aumento de matriz cartilaginosa e formação de osso próximo à cartilagem (MCO).

A quantidade de matriz cartilaginosa depositada na zona livre de medula óssea das JOC foi maior no grupo de aumento de matriz cartilaginosa (AMC) e aumento de matriz com formação de osso próximo à cartilagem (MCO) ( $p < 0,05$ ; Tabela 1; Prancha 2).



Tabela 1. Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de achados morfológicos das junções osteocondrais coletadas das autópsias perinatais realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.

JOC	% de Matriz Cartilaginosa			
	n(%)	Med	25%	75%
NORMAL	201(79,1)	15,477	11,695	19,074
AMC	38(14,9)	20,386	16,670	26,253
BZ	10(3,9)	17,165	14,398	22,050
MCO	5(1,9)	23,485	20,123	26,943
TOTAL	254(100)			

H = 31,105; p = <0,001; Método de Dunn com p<0,05 para MCO x N; AMC x N; AMC: aumento da matriz cartilaginosa; BZ: conformação bizarra; MCO: aumento de matriz cartilaginosa e formação de osso próximo à cartilagem; Med: mediana; JOC: junção osteocondral; n:número de casos.

Em todos os grupos de óbitos perinatais, natimortos, nativos horas e dias, houve aumento da matriz cartilaginosa nas JOC com lesões, mas esta diferença não foi estatisticamente significante. No grupo de nativos dias a lesão com padrão Bizarro apresentou menor quantidade de matriz cartilaginosa (p<0,05), menor idade gestacional ao nascimento (p=0,078) e maior idade no momento do óbito (p<0,05; Tabela 2).

Tabela 2. Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de achados morfológicos das junções osteocondrais nos diferentes grupos de óbitos perinatais das autópsias realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.

GOP	JOC	n (%)	% MATRIZ CARTILAGINOSA	IG (s)	IAO
Natimorto			H = 5,358, p = 0,069	H = 0,074, p=0,963	
n= 120			Med (25%-75%)	Med (25%-75%)	
	N	105 (41,3)	15,16 (11,1-18,9)	30,5 (26-36)	
	AMC	9 (3,5)	18,05 (16,4-21,2)	29,0 (25,3-37)	
	BZ	6 (2,4)	16,81 (12,9-20,5)	32,0 (30-33)	
Horas			t = -1,018, p = 0,316	t=-1,583, p=0,122	T=44,000,p=0,487
n=37			<b>X±DP</b>	<b>X±DP</b>	Med (25%-75%)
	N	34 (13,4)	14,432 ± 4,879	29,1 ± 4,9	3,0 (0,4-9,0)
	AMC	3 (1,2)	17,546 ± 7,641	33,7 ± 3,1	1,5 (0,5-3,4)
Dias			H = 14,212, p = 0,003;	H = 6,808,p = 0,078	H = 14,554,p = 0,002
n=97			BZ x N: p<0,05	Med (25%-75%)	BZ x N: p<0,05;
			Med (25%-75%)		Med (25%-75%)
	N	62 (24,4)	17,0 (13,3-21,4)	32,5 (27,0-37,0)	3,0 (1,0-8,0)
	AMC	26 (10,2)	20,7 (18,2-28,1)	34,3 (28,2-38,0)	9,0 (5,0-18,0)
	MCO	5 (2,0)	23,5 (20,1-26,9)	38,3 (34,8-40,3)	14,0 (1,8-27,0)
	BZ	4 (1,6)	19,3 (15,4-24,8)	25,9 (23,0-32,4)	15,0 (11,0-21,5)
TOTAL		254 (100)			

GOP= Grupos de óbitos perinatais; JOC=junção osteocondral; IG (S)=idade estacional em semanas; IAO=idade ao óbito;

N: normal; AMC: aumento da matriz cartilaginosa; BZ: conformação bizarra; MCO: aumento de matriz cartilaginosa e formação de osso próximo à cartilagem; Med: mediana; n:número de casos; H:Kruskal-Wallis; t= Teste t de Student; T= Mann-Whitney; X: média; DP: desvio padrão

No grupo de óbito perinatal de nativos dias houve aumento da quantidade de matriz cartilaginosa nas JOC ( $p < 0,05$ ) em comparação com os grupos de nativos horas e natimortos.

Tabela 3. Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de óbitos perinatais das autópsias realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.

GOP	Campo de Matriz (%)			
	n(%)	Med	25%	75%
Natimorto	120 (47,3)	15,5	11,5	19,6
Nativos (horas)	37 (14,5)	14,3	11,8	16,7
Nativos (dias)	97 (38,2)	17,8	14,8	22,0
Total	254 (100)			

n: número de casos; Med: mediana; OP: grupo de óbitos perinatais

Não há diferença estatística entre a quantidade de matriz cartilaginosa na JOC nos diferentes grupos de causas de óbito (Tabela 4).

Tabela 4. Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de causas de óbito das autópsias perinatais realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.

CAUSAS DE ÓBITO	n(%)	Med	25%	75%
Anóxia intra-uterina	101 (39,7)	15,6	11,7	19,6
Anóxia perinatal	56 (22)	16,8	14,0	22,0
Complicações da prematividade	47 (18,5)	17,0	11,7	19,2
Doença infecciosa	36 (14,1)	16,5	14,5	19,7
Outras	12 (4,7)	21,4	17,5	28,4
Doenças autoimunes	2 (0,7)	13,9	11,0	16,8
TOTAL	254 (100)			

H = 10,446; p = 0,064 ; n: número de casos; Med: mediana

As autópsias perinatais com restrição do crescimento intra-uterino apresentaram menor quantidade de matriz cartilaginosa na junção osteocondral (Tabela 5).

Tabela 5 : Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nas JOC com o crescimento intra-uterino das crianças autopsiadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.

RCIU	n(%)	Campo da Matriz cartilaginosa (%)	25%	75%
Não	208 (82,6)	16,5	13,0	20,6
Sim	44 (17,4)	14,7	9,3	19,8
Total	252 (100)*			

RCIU – restrição de crescimento intra-uterino; T=4805,000; p=0,083; n: número de casos; Med: mediana

\* Dois casos analisados não possuíam o relato do peso, não sendo possível avaliar RCIU

Os grupos de doenças de base diagnosticadas foram: malformações com 82 casos (32,2%), 52 casos com prematuridade (20,4%), 34 casos (13,3%) por fatores indeterminados e 30 casos (11,8%) de doenças maternas. Não há diferença estatística na quantidade de matriz cartilaginosa depositada na JOC nos diferentes grupos de doenças de base (Tabela 6).

Tabela 6. Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de doenças de base coletados dos laudos das autópsias perinatais realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005.

Doença de base	n (%)	Med	25%	75%
Malformação	82 (32,2)	17,4	12,020	21,746
Prematuridade	52 (20,4)	16,5	12,547	19,765
Indeterminado	34 (13,3)	15,2	11,2	18,0
Doença materna	30 (11,8)	16,9	14,4	21,1
Causas placentárias	20 (7,8)	16,6	12,8	19,9
Doença infecciosas	16 (6,2)	16,7	13,9	20,5
Anóxia intra-uterina	4 (1,5)	17,9	13,6	27,3
Doença autoimunes	3 (1,1)	14,9	12,0	16,3
Dç não-imunes	3 (1,1)	14,6	13,7	16,1
Aspiração de mecônio	3 (1,1)	13,6	9,5	24,5
Neoplasia	2 (0,7)	16,9	16,2	17,5
Hipermotilidade	2 (0,7)	10,7	6,8	14,5
Trauma de parto	1 (0,3)	9,781	9,781	9,781
Doença do sistema respiratório	1 (0,3)	17,886	17,886	17,886
Alteração metabólica	1 (0,3)	11,170	11,170	11,170
Total	254 (100)			

H = 12,370 ; p = 0,651; n: número de casos; Med: mediana

No grupo de doenças de base malformações congênicas, as cardiopatias congênicas apresentaram quantidade significativamente maior de matriz cartilaginosa na JOC (Tabela 7).

Tabela 7: Comparação da quantidade de matriz cartilaginosa depositada nos diferentes grupos de malformações congênicas diagnosticadas nas autópsias perinatais realizadas no HE/UFTM e HC/FMRP no período de 1999-2005..

Grupo Malformações Congênicas	n (%)	Med	25%	75%
Ausência de malformação	172 (67,7)	16,1	12,7	19,6
Cardiopatía congênita	23 (9)	21,4	17,7	25,7
Anomalia congênita	23 (9)	16,1	11,8	19,3
Defeitos do fechamento	16 (6,2)	12,9	9,3	17,7
Malformação renais	9 (3,5)	17,7	14,8	23,6
Seqüências	7 (2,7)	16,1	11,4	20,1
Cromossomopatia	4 (1,5)	16,5	13,4	19,4
Total	254 (100)			

H = 16,215 with 6 degrees of freedom. (p = 0,013); Teste de Dunn's: p<0,05; Cardiopatía congênita x ausência de malformação; n: número de casos; Med: mediana

## Discussão





## Discussão

Nos estudos publicados anteriormente sobre as lesões da junção osteocondral em autopsias perinatais a morfologia das lesões foi descrita em detalhes (EMERY, 1965; EMERY; KALPAKTSOGLU, 1967; ROBERTSON; IVEMARK, 1969, 1970; SINCLAIR-SMITH et al, 1976; CASTRO; POPEK, 2007). A questão central após estas publicações foi quais seriam os fatores etiológicos e o mecanismo pelo qual estas lesões se formaram. A matriz cartilaginosa é produzida pelas células da junção osteocondral e a sua produção é determinada geneticamente, mas, também sofre repercussões das doenças que afetam o feto no período perinatal (LABAT-ROBERT, 2004). Desta forma, a determinação das modificações da matriz cartilaginosa aumentariam o conhecimento dos mecanismos etiopatogênicos envolvidos nas lesões da junção osteocondral diagnosticadas nas autopsias perinatais.

O primeiro resultado de nosso estudo demonstrou que nas lesões da matriz cartilaginosa AMC e MCO ocorreu um maior depósito de matriz cartilaginosa na junção osteocondral. A produção da matriz cartilaginosa é realizada de forma sincronizada com a mineralização da matriz cartilaginosa, com a destruição desta e com a formação do osso (CAPELA et al, 2005). Em nosso estudo a presença de matriz em quantidade aumentada na junção osteocondral parece indicar um atraso na formação óssea. Estes dados estão de acordo com outros estudos em que estas lesões foram consideradas como cicatrizes de intercorrências ocorridas com a mãe durante a gestação (EMERY; KALPAKTSOLOU, 1967 EMERY, 1965; EMERY; KALPAKTSOGLU, 1967; ROBERTSON; IVEMARK, 1969, 1970).

Em nosso estudo encontramos diminuição da quantidade de matriz cartilaginosa associada com a forma de lesão Bizarro (BZ) em nativos. Em nosso estudo esta lesão é representada histologicamente por uma completa desestruturação da junção osteocondral e

foi encontrada mais frequentemente em prematuros. O mecanismo de formação da lesão parece estar associado à imaturidade das células da junção osteocondral em responder as intercorrências que ocorreram com o feto. Esta lesão foi considerada a lesão mais grave encontrada em nosso estudo. Estes dados estão de acordo com artigos publicados em adultos, onde a produção de matriz cartilaginosa foi considerada um mecanismo de proteção contra a inflamação na cartilagem e, nos pacientes que desenvolvem osteoartrite atrófica, forma mais grave da doença, a perda da capacidade de formação de matriz cartilaginosa foi considerada um fator de pior prognóstico (CONROZIER et al, 2006).

Em relação às causas de morte não encontramos associação entre as lesões da junção osteocondral e os diferentes tipos de causas de morte. As lesões da junção osteocondral servem para indicar que havia uma doença antes da morte (SINCLAIR-SMITH et al, 1976), mas segundo nossos resultados é inespecífica para indicar a causa de morte. A estimativa do tempo de doença intrauterina ao qual o feto ficou exposto é importante, pois, altera a morfologia de vários órgãos tendo um efeito no prognóstico da evolução fetal e do estabelecimento das doenças que podem ter levado ao óbito (KAPPOOR, et al, 2006).

Nas autopsias pediátricas com restrição de crescimento intrauterino houve uma diminuição da quantidade de matriz cartilaginosa, mas a diferença não foi estatisticamente significativa. De acordo com nossos resultados a alteração da quantidade de matriz cartilaginosa na junção osteocondral está associada com a presença de lesões da matriz cartilaginosa não representando uma diminuição do crescimento total do feto. Estes resultados estão de acordo com outros estudos que demonstraram lesões na junção osteocondral das costelas, mas o exame dos ossos longos nos mesmos casos não demonstrou alteração na junção osteocondral não afetando o crescimento do feto (GARCIA-RAMIREZ et al, 2000). Nos estudos publicados anteriormente em que as lesões

da junção osteocondral apresentaram associação com restrição de crescimento intrauterino (EMERY; KALPAKTSOULOU, 1967; EMERY, 1965; EMERY; KALPAKTSOULOU, 1967; CASTRO et al, 2007) a descrição de quais as lesões associadas e da morfometria da quantidade de matriz cartilaginosa não foi realizada não sendo possível maiores comparações com nossos resultados.

No grupo de malformações congênitas encontramos uma quantidade significativamente maior de matriz cartilaginosa nas autopsias com cardiopatias congênitas. Estes resultados estão de acordo com os relatos na literatura em que as lesões da junção osteocondral e as malformações foram conseqüentes a um defeito intrínseco do desenvolvimento do embrião (CASTRO et al, 2007). Em outros estudos com pacientes com trissomia do cromossomo 21, em que as cardiopatias congênitas fazem parte das malformações associadas, foi relatado uma maturação anormal da cartilagem na junção osteocondral (GARCIA-RAMIREZ et al, 1998). Em fetos anencefálicos a desorganização da zona proliferativa com diminuição da densidade celular foi descrita na junção osteocondral (GARCIA-RAMIREZ et al, 2000). Embora a descrição das alterações da junção osteocondral nas malformações congênitas sejam freqüentes na literatura o mecanismo envolvido na formação destas lesões deve ser mais bem estudado.

Em conclusão as lesões da junção osteocondral em autopsias perinatais estão associadas com alteração da quantidade de matriz cartilaginosa depositada entre as células da cartilagem. Como a produção da matriz cartilaginosa depende da associação de estímulos gênicos com fatores ambientais o estudo da produção e degradação da matriz deve ser a chave para o entendimento dos mecanismos envolvidos nestas lesões.

**Conclusão**



## Conclusões

**Para o objetivo:** Comparar a quantidade de matriz cartilaginosa com as alterações encontradas na JOC:

- A quantidade de matriz cartilaginosa foi estatisticamente maior nas lesões AMC e MCO.
- No grupo de nativos dias com a lesão de padrão bizarro na JOC houve uma diminuição estatisticamente significativa da quantidade de matriz cartilaginosa.

**Para o objetivo:** Comparar a quantidade de matriz cartilaginosa localizada na JOC com a idade cronológica;

- Em relação a idade as autópsias perinatais com lesões na JOC apresentam maior depósito de matriz;
- Não foi encontrada diferença estatística entre a quantidade de matriz cartilaginosa entre as lesões da JOC diagnosticadas nos três grupos de mortes perinatais: natimortos, neomorto horas e neomorto dias.
- As crianças com lesão de padrão bizarro apresentam menor idade gestacional ao nascimento e maior idade no momento do óbito.

**Para o objetivo:** Comparar a quantidade de matriz cartilaginosa com as causas de óbito;

- Não houve relação entre as causas de óbito e a quantidade de matriz cartilaginosa na junção osteocondral.

**Para o objetivo:** Comparar a quantidade de matriz cartilaginosa com as doenças de base

- As autopsias perinatais que apresentaram restrição do crescimento intra-uterino apresentaram menor quantidade de matriz cartilaginosa na junção osteocondral.
- Não houve relação entre a quantidade de matriz cartilaginosa na junção osteocondral e as doenças de base.
- No grupo de doenças de base malformações congênitas, as cardiopatias congênitas apresentaram quantidade significativamente maior de matriz cartilaginosa na junção osteocondral.

## **Referências Bibliográficas**



## Referências Bibliográficas

1. ABNT – (Associação Brasileira de Normas Técnicas). **NBR6023. Informação e documentação – referências – elaboração.** Rio de Janeiro: ABNT, 2002. 24p.
1. ANDERSON, H.C. Molecular biology of matrix vesicles. **Clinical Orthopaedics and Related Research.**, p. 266-280, 1995
2. BATTAGLIA, F.C.; LUBCHENCO, L. O. A practical classification of newborn infants by weight and gestational age. **J. Pediatr.**, v. 71, p. 159-163, 1967.
3. CAPELA, F.; REIS, J.; POTES, J. Discondroplasia da tíbia como modelo em estudos de mecanobiologia experimental. p. 307-313, 2005.
4. CARLSEN. S.; HANSSON, A. S.; OLSSON, H.; HEINEGRARD, D.; HOLMDAHL, R. Cartilage oligomeric matrix protein (COMP) – induced arthritis in rats. **Clin. Exp. Immunol.**; v. 114, n. 3, p.477-84, 1998.
5. CARTLIDGE, P. H. T., STEWART, J . H. Effect of changing the stillbirth definition on evaluation of perinatal mortality rates. **Lancet**, v. 346, p. 4486-8, 1995
6. CASTRO, C.; POPEK, E.J. Osteochondral Junction lesions in stillborn fetuses and their relationship to autopsy diagnoses. **Early Hum Dev**, p. 93-98, 2007



7. CID. 10 Revisão. OMS, Genebra, Suíça. Faculdade de Saúde Pública da Universidade de São Paulo FSP-USP / OMS / OPAS. Edusp – Editora da Universidade de São Paulo, 1997.
8. CHAMBERS, H. M.; KNOWLES, S.; STAPLES, A.; TAMBLYN, M.; HAAN, E. A. Anthropometric measurements in the second trimester fetus. **Early Hum. Dev.**; v. 33, p. 45-49, 1993.
9. EMERY, J .L. The assessment of the duration of illness in children unexpectedly dead. **Medicine Science and the Law**, p.39-44, 1964.
10. EMERY, J .L. and KALPAKTSOGLU, P.K. The costochondral junction during later stages of intrauterine life, and abnormal patterns found in association with perinatal death. **Arch.Dis.Childh.**; v.42, p.1-13, 1967.
11. FAZZARALI, N . L.; MOORE, A. J.; BYERS, S.; BYARD, R.W. Quantitative analyses of trabecular morphogenesis in the human costochondral junction during the postnatal period in normal subjects. **Anat. Rec.**; v. 248, p. 1-12, 1997.
12. FARQUHARSON, C.; JEFFEREIS, D. Chondrocytes and longitudinal bone growth: the development of tibial dyschondroplasia. **Poultry Science**, p. 994-1004, 2000.

13. GARCIA-RAMIREZ, M.; TORAN, N; CARRASCOSA, A.; AUDI, L. Anomalous costochondral cartilage in fetal anencephaly. **Pediatr. Dev. Pathol**, p. 256-63, 2000.
14. GARCIA-RAMIREZ, M.; TORAN, N; CARRASCOSA, A.; AUDI, L. Dow's syndrome: altered chondrogenesis in fetal rib. **Pediatr Res**, p. 93-98, 1998.
15. GARTNER, L. P.; HIATT, J. L. **Atlas Colorido de Histologia**. 3 ed. Rio de Janeiro, Guanabara Koogan, 2002
16. GERBER, H.P.; FERRARA, N. Angiogenesis and bone growth. **Trends in Cardiovascular Medicine**, p.223-238, 2000.
17. GIANNONI, P.; SIEGRIST, M.; HUNZIKER, E. B.; WONG, M. The mechanosensitivity of cartilage oligomeric matrix protein (COMP).**Biorheology**, v.40, n. 1-3, p. 101-9, 2003.
18. HENRIKSON, C.R.; KAYE, I.G.; MAZURKIEWICZ, E.J. **Histologia (National Medical – Series para estudo independente)**, 1999.
19. HOWLLET, C.R. The fine structure of the proximal growth plate of the avian tibia. **Journal of Anatomy**, p.377-399, 1979.

20. JEFFEREIS, D.; HOUSTON, B.; LESTER, D.; WITHEHEAD, C.C.; THORP, B.H.; BOTMAN, M.; FARQUHARSON, C. Expression patterns of chondrocyte genes cloned by differential display in tibial dyschondroplasia. **Biochimica et Biophysica Acta**. p. 180-188, 2000.
21. JOSHI, V.V. **Common Problems in Pediatric Pathology**. 1 ed.; New York, Igaku-Shoin, 1-33, 1994
22. JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J.; **Histologia Básica**. 8 ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, p. 108-126, 1995.
23. KAPOOR, A.; DUNN, E.; KOSTAKI, A.; ANDREWS, M. H.; MATTHEWS, S.G. Fetal programming of hypothalamo-pituitary-adrenal function: pre-natal stress and glucocorticoids. **J. Physiol**, p.31-34 ,2006
24. LABAT-ROBERT, J. Cell-matrix interactions in aging: role of receptors and matricyptins. **Ageing Research Reviews**; p.233-247,2004.
25. LOVERIDGE, N.; FARQUHARSON, C. Studies on growth plate chondrocytes in situ: cell proliferation and differentiation. **Acta Paediatrica**. p. 41-48, 1993.
26. LUBCHENCO, L.O.; HANSMAN, C.; BOYD, E. Intrauterine growth in length and head circumference as estimated from live births at gestational ages from 26 to 42 weeks. **Pediatrics**, v.37, p.403-406, 1966.

27. MOTT, D. J.; WERB, Z. Regulation of matrix by matrix metalloproteinases. **Current Opinion in Cell Biology**, p. 558-564, 2004.
28. MUNDLOS, S. **Expression Patterns of Matrix Genes During Human Skeletal Development.**; vol 28, p.1-46, 1994.
29. PELTOMAKI, T.; and HAKKINEN, L. Growth of the ribs at the costochondral junction in the rat. **J.Anat.**, v. 181, p. 259-264, 1992.
30. PELTOMAKI, T. Histologic Structure of human costochondral junction. **Plast Rec Surg.**; v.94, n.5, p. 585-589, 1994.
31. PELTOMAKI, T. Growth of a costochondral graft in the rat temporomandibular joint. **J. Oral. Maxillofac Surg**, p. 851-859, 1992.
32. PINHEIRO, V.J.J.; FREITAS, M.V.; MORETTI, S.I.A.; JORGE, G. A . JAEGER, G.R. Local invasiveness of ameloblastoma. Role played by matrix metalloproteinases and proliferative activity. **Histopathology**; v.45, p. 65-72.
33. PIZAURO, J.M; CIANCAGLINI, P; LEONE, F.A. Allosteric modulation by ATP, calcium and magnesium of rat osseous plate alkaline phosphatase. **Biochimica et Biophysica. Acta**, p.22-28, 1993.

34. PIZAURO, J.M.; CIANCAGLINI, P.; MACARI, M. Discondroplasia Tibial: Mecanismos de Lesão e Controle. **Revista Brasileira de Ciência Avícola**, p 169-185, 2002.
35. ROBBINS, L. S.; COTRAN, S. **Pathologic Basis of Disease**. Cap 10: Diseases of Infancy and Childhood, p.469-510, 1999
36. ROBERTSON, B. and IVEMARK, B.L. Abnormalities of the costochondral junction in cases of perinatal death, with special reference to hyaline membrane disease. *Acta path. Microbiol. Scand.*, v.77, p. 172-175, 1969.
37. ROBERTSON, B., IVEMARK, B. The association between trabecular rarefaction in the costochondral junction and the idiopathic respiratory distress syndrome. **Biol. Neonate.**; v. 16, p. 342-353, 1970.
38. SINCLAIR-SMITH, C.; DINSDALE, F.; EMERY J. Evidence of duration and type of illness in children found unexpectedly dead. **Arch Dis Child.**; v.51, p. 424-429, 1976.
39. SIQUEIRA JUNIOR, J.F.; DANTAS, C.J.S. Mecanismos celulares e moleculares da inflamação. São Paulo: Medsi, 2000.
40. VELOSA, P.A.P.; TEODORO, R.W.; YOSHINARI, H.N. Collagen in osteoarthrotic cartilage. **Revista Brasileira de Reumatologia. Revisão de Artigo** 160-166, 2003.

41. YOUNG, B; HEATH, J.W. **Histologia Funcional – texto e atlas em cores.**

Cap 10: Tecidos Esqueléticos, p.172-192, 2001.

