



UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALAGOAS
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE

TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE DA ARTICULAÇÃO
TEMPOROMANDIBULAR: REVISÃO SISTEMÁTICA E AVALIAÇÃO DOS
EFEITOS DA SINVASTATINA SOBRE OSTEOBLASTOS HUMANOS *IN VITRO*

MONALY DE OLIVEIRA LIMA

MACEIÓ-AL,
2022

MONALY DE OLIVEIRA LIMA

**TRATAMENTO DA OSTEOARTRITE DA ARTICULAÇÃO
TEMPOROMANDIBULAR: REVISÃO SISTEMÁTICA E
AVALIAÇÃO DOS EFEITOS DA SINVASTATINA SOBRE OSTEOBLASTOS
HUMANOS *IN VITRO***

Dissertação a ser apresentada ao Programa de Pós-graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas como pré-requisito para a obtenção do título de mestre em Ciências da Saúde.

Orientador: Prof. Emiliano de Oliveira Barreto

Coorientador: Prof. Ricardo Viana Bessa Nogueira

MACEIÓ-AL,

2022

Catálogo na Fonte
Universidade Federal de Alagoas
Biblioteca Central
Divisão de Tratamento Técnico

Bibliotecário: Marcelino de Carvalho Freitas Neto – CRB-4 – 1767

L732t Lima, Monaly de Oliveira.
Tratamento da osteoartrite da articulação temporomandibular : revisão sistemática e avaliação dos efeitos da sinvastatina sobre osteoblastos humanos *in vitro* / Monaly de Oliveira Lima. – 2022.
148 f. : il., grafs., tabs. color.

Orientador: Emiliano de Oliveira Barreto.
Co-orientador: Ricardo Viana Bessa Nogueira.
Dissertação (mestrado em ciências da saúde) – Universidade Federal de Alagoas. Instituto de Ciências Biológicas e da Saúde. Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. Maceió, 2022.

Bibliografia: f. 84-96.
Apêndices: f. 97-124.
Anexos: f. 125-148.

1. Tratamento farmacológico. 2. Osteoartrite. 3. Articulação temporomandibular. 4. Sinvastatina. 5. Osteoblastos. I. Título.

CDU: 616.716-007.234



Folha de Aprovação

MONALY DE OLIVEIRA LIMA

Tratamento da osteoartrite da articulação temporomandibular: revisão sistemática e avaliação dos efeitos da sinvastatina sobre osteoblastos humanos *in vitro*

Dissertação submetida ao corpo docente do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde da Universidade Federal de Alagoas e aprovada em 25 de agosto de 2022.

Banca Examinadora

Documento assinado digitalmente
 EMILIANO DE OLIVEIRA BARRETO
Data: 26/08/2022 11:02:33-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Prof. Dr. EMILIANO DE OLIVEIRA BARRETO (Orientador – UFAL)

Documento assinado digitalmente
 JAMYLLE NUNES DE SOUZA FERRO
Data: 26/08/2022 17:10:50-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Profa. Dra. JAMYLLE NUNES DE SOUZA FERRO – (UFAL)

Documento assinado digitalmente
 JANAINA ANDRADE LIMA SALMOS DE BRITO
Data: 30/08/2022 10:55:19-0300
Verifique em <https://verificador.itl.br>

Profa. Dra. JANAINA ANDRADE LIMA SALMOS DE BRITO - (UFAL-Arapiraca)

“O homem pode traçar no coração o seu caminho,
Mas é Jeová quem orienta os seus passos.”
Provérbios 16:9.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus pela realização desse sonho. Em meus momentos com Ele, pedi sabedoria, saúde e determinação para correr atrás dos meus objetivos e pude sentir sua presença infinitas vezes durante esse processo. Dedico essa realização à Ele e agradeço os grandes exemplos a serem seguidos que ele colocou em minha vida durante esse processo.

Agradeço à Universidade Federal de Alagoas, às instituições de fomento, CNPq, CAPES, e FAPEAL por contribuir com a realização desse estudo.

Ao meu professor e orientador Emiliano de Oliveira Barreto, pela oportunidade e confiança depositada em mim quando me recebeu como aluna e orientanda. Agradeço a paciência durante o meu processo de aprendizado a novas técnicas e conhecimentos antes não explorados. Seus ensinamentos e direcionamentos tornaram esse trabalho algo prazeroso de se fazer.

Ao meu co-orientador Ricardo Viana Bessa Nogueira por toda orientação e motivação, por me permitir participar de projetos acadêmicos enriquecedores, e por sua generosidade em compartilhar comigo sua sabedoria, não só sobre coisas terrenas, mas também sobre um bem muito Maior. Suas palavras me iluminaram e me edificaram não só como aluna, mas também como pessoa. Agradeço também pela oportunidade de ter conhecido e trabalhado com a Prof. Dra. Janaina Salmos, que edificou ainda mais esse processo, com suas orientações e conselhos.

A todos os integrantes do Laboratório de Biologia Celular e Molecular que me receberam com muito carinho e afinho, e se dispuseram a transmitir seus conhecimentos comigo. Nos nomes de Juliane Barreto, Camila Mendes, Prof. Dra. Danielma Reis, Liliane Tenório, Everlaine Leitte, Erick Ferreira, Alef Batista, Vitor Monte, Sara Araújo e aos meus parceiros de trabalho Julianderson Carmo, Anderson Santos e Tayhana Medeiros que acabaram se tornando grandes amigos, a todos o meu muito obrigada. Os ensinamentos e trocas com vocês tornaram a minha trajetória durante este período muito mais feliz.

Agradeço ao meu marido Octavio Lima e a sua família por todo incentivo e companheirismo durante essa jornada, ouvindo os meus desabafos e tornando tudo mais leve e possível. E não menos importante, agradeço aos meus familiares e amigos que por muitas vezes compreenderam a minha ausência e me deram apoio para prosseguir com meus objetivos, em especial a minha mãe, Valdilene Lima e ao meu

pai Diógenes Aurélio por sempre terem me incentivado a seguir com os meus estudos e a minha irmã Monalisa Lima que foi uma grande companheira durante toda a vida.

RESUMO

A osteoartrite da articulação temporomandibular (OA-ATM) é uma doença degenerativa de caráter focal, crônico e não-infeccioso, estando associada a remodelação do osso subcondral com desregulação funcional dos osteoblastos. Estudos sugerem que as estatinas são candidatas promissoras a novos medicamentos para a osteoartrite (OA) devido a seus efeitos na modulação da resposta inflamatória. Diante disso, o presente estudo objetivou realizar uma revisão sistemática visando responder quais seriam os fármacos disponíveis para o tratamento da OA. Além disso, buscou-se ainda utilizar uma abordagem experimental para avaliar os efeitos *in vitro* da sinvastatina sobre osteoblastos humanos, um componente celular importante envolvido na patogênese da OA-ATM. Para a revisão sistemática foi utilizada estratégias de busca nas bases de dados MEDLINE, Cochrane Central, Web of Science, BBO e EMBASE, sendo incluídos artigos até julho de 2022. Após análise dos resumos, e aplicação dos critérios de elegibilidade, 6 estudos atenderam aos critérios estabelecidos. A avaliação metodológica foi realizada pela Escala de Jadad, a análise quanto ao risco de viés foi determinada pela tabela para risco de viés, e análise da evidência foi determinada pela ferramenta GRADE. A análise dos trabalhos revelou que o tratamento farmacológico com injeções intra-articulares de plasma rico em plaquetas, triancinolona, betametasona, tenoxicam, ácido hialurônico, associadas ou não com glucosamina oral, e hialuronato de sódio, associado ou não com glucosamina oral, causaram uma diminuição da intensidade da dor em todos os estudos avaliados, com destaque para o nível de evidência alto de acordo com a ferramenta GRADE para o tratamento intra-articular com hialuronato de sódio associado a terapia com glucosamina oral. Na abordagem experimental do presente estudo, foi utilizado uma linhagem de osteoblastos humanas MG-63 para avaliar *in vitro* os efeitos da sinvastatina. Nossos resultados demonstraram que as concentrações de 1-10 μ M de sinvastatina não afetaram a viabilidade celular dos osteoblastos. Ao avaliar a morfologia dos osteoblastos, observou-se que a sinvastatina alterou a morfologia das células à medida que o formato polarizado foi sendo substituído pelo aumento do número de células com perfil arredondado. Esta alteração na morfologia também foi observada quando as células foram estimuladas com LPS. Entretanto, ao avaliar a capacidade fagocítica destas células, o tratamento com sinvastatina não foi capaz de induzir/alterar a fagocitose de partículas de zimosan. Em outro conjunto experimental, a produção de óxido nítrico por osteoblastos estimulado por LPS foi inibido pelo tratamento com sinvastatina. Em conjunto, os resultados deste estudo demonstram que a literatura científica reunida na revisão sistemática apresenta alternativas terapêuticas que suportam a melhora da dor e dos ruídos da OA-ATM. Entretanto, estudos com variáveis e métodos padronizados detalhados se fazem necessários a fim de reduzir o risco de viés encontrado, podendo comprometer a conclusão de determinada opção terapêutica para a prática clínica. Além disso, enfatiza-se a importância da correlação de estudos clínicos com biomarcadores avaliados *in vitro* que possam contribuir com a análise de fármacos visando a prevenção e/ou estagnação da progressão da OA-ATM. Diante disso, aliado ao descrito na literatura, a sinvastatina mostra-se como uma promissora candidata a fármaco modulador de algumas funções de osteoblastos, indicando potencial para uso clínico na OA-ATM.

Palavras-chave: Tratamento Farmacológico. Osteoartrite. Articulação Temporomandibular. Sinvastatina. Osteoblastos.

ABSTRACT

Osteoarthritis of the temporomandibular joint (TMJ-OA) is a chronic, non-infectious, focal degenerative disease associated with subchondral bone remodeling with functional dysregulation of osteoblasts. Studies suggest that statins are promising candidates for new drugs for osteoarthritis (OA) because of their effects on modulating the inflammatory response. Therefore, the present study aimed to carry out a systematic review in order to answer which drugs would be available for the treatment of OA. Furthermore, we also sought to use an experimental approach to evaluate the *in vitro* effects of simvastatin on human osteoblasts, an important cellular component involved in the pathogenesis of TMJ-OA. For the systematic review, search strategies were used in the MEDLINE, Cochrane Central, Web of Science, BBO and EMBASE databases, including articles until July 2022. After analyzing the abstracts and applying the eligibility criteria, 6 studies met the established criteria. The methodological assessment was performed using the Jadad Scale, the analysis for risk of bias was determined by the table for risk of bias, and analysis of evidence was determined by the GRADE tool. The analysis of the studies revealed that pharmacological treatment with intra-articular injections of platelet-rich plasma, triamcinolone, betamethasone, tenoxicam, hyaluronic acid, associated or not with oral glucosamine, and sodium hyaluronate, associated or not with oral glucosamine, caused a decreased pain intensity in all studies evaluated, with emphasis on the high level of evidence according to the GRADE tool for intra-articular treatment with sodium hyaluronate associated with oral glucosamine therapy. In the experimental approach of the present study, a human osteoblast lineage MG-63 was used to evaluate *in vitro* the effects of simvastatin. Our results demonstrated that concentrations of 1-10 μM of simvastatin did not affect the cell viability of osteoblasts. When evaluating the morphology of osteoblasts, it was observed that simvastatin altered the morphology of the cells as the polarized shape was replaced by an increase in the number of cells with a rounded profile. This change in morphology was also observed when cells were stimulated with LPS. However, when evaluating the phagocytic capacity of these cells, treatment with simvastatin was not able to induce/alter the phagocytosis of zymosan particles. In another experimental set, LPS-stimulated production of nitric oxide by osteoblasts was inhibited by treatment with simvastatin. Taken together, the results of this study demonstrate that the scientific literature gathered in the systematic review presents therapeutic alternatives that support the improvement of pain and noise in TMJ-OA. However, studies with detailed standardized variables and methods are necessary in order to reduce the risk of bias found, which may compromise the conclusion of a certain therapeutic option for clinical practice. Furthermore, the importance of the correlation of clinical studies with biomarkers evaluated *in vitro* that can contribute to the analysis of drugs aiming at the prevention and/or stagnation of the progression of TMJ-OA is emphasized. Therefore, together with what is described in the literature, simvastatin appears to be a promising candidate for a drug that modulates some osteoblast functions, indicating potential for clinical use in TMJ-OA.

Keywords: Drug Therapy. Osteoarthritis. Temporomandibular Joint. Simvastatin. Osteoblasts.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1- Representação da articulação temporomandibular.	20
Figura 2- Diagrama representativo dos elementos moleculares envolvidos na patogênese da OA-ATM.	23
Figura 3- Representação dos eventos moleculares envolvidos na degradação da ATM.	24
Figura 4- <i>Penicillium citrinum</i> Pen-51, fungo que produz compactina, primeira estatina descoberta.	31
Figura 5- Ranking de prescrições de estatinas realizadas em 2019.	31
Figura 6- Estatinas e a via de síntese do colesterol.	32
Figura 7- Estrutura molecular da sinvastatina.	34
Figura 8- Esquema de tratamento com sinvastatina.	47
Figura 9- Fluxograma PRISMA da Estratégia de Busca.	52
Figura 10- Sumário do risco de viés de cada estudo incluído na análise metodológica feita pela escala Risk of Bias 2.0.	63
Figura 11- Análise do risco de viés de todos os estudos incluídos na análise metodológica feita pela escala Risk of Bias 2.0, representado em porcentagem.	64
Figura 12- Detalhamento da análise do risco de viés de todos os estudos incluídos na análise metodológica feita pela escala Risk of Bias 2.0, representado em porcentagem.	65
Figura 13- Sumário dos resultados da qualidade da evidência de acordo com o GRADE.	67
Figura 14- Efeito da sinvastatina sobre a viabilidade de células osteoblásticas MG-63.	68
Figura 15- Imagem microscópica representativa de células MG-63 submetidas ao tratamento com sinvastatina e estimulação com LPS.	69
Figura 16- Quantificação do número de células no ensaio de contagem celular identificando o perfil morfológico após tratamento com sinvastatina e estimulação com LPS.	70
Figura 17- Fotomicrografias do efeito da sinvastatina sobre a capacidade fagocítica de células MG-63.	71

Figura 18- Efeito da sinvastatina sobre a produção de nitrito por células MG-63 estimuladas por LPS.	72
--	----

LISTA DE TABELAS

Tabela 1- Elementos da estratégia PICO, assunto relacionado e palavras-chave	40
Tabela 2- Estratégia de busca e base de dados	41
Tabela 3- Características dos estudos avaliados	53
Tabela 4- Método de aplicação dos estudos incluídos	54
Tabela 5- Síntese de evidências.....	55
Tabela 6- Pontuações atingidas pelos estudos segundo a Escala de Jadad ..	62

LISTA DE ABREVIATURAS

µg	Micrograma
µg/mL	Micrograma/mililitro
µL	Microlitro
µM	Micromolar
AG	Ácido graxo
AH	Ácido hialurônico
AINE	Antiinflamatório não esteroideal
ATM	Articulação temporomandibular
BCRJ	Banco de células do Rio de Janeiro
BMP	Proteína morfogenética óssea
CS	Corticoesteroide
CYP3A4	Citocromo P450 3A4
DAD	Desordem articular degenerativa (do inglês, Disorder Joint Degenerative)
DECS	Descritores em ciências da saúde
DM	Dieta Mediterrânea
DMEM	<i>Dulbecco's Modified Eagle Medium</i>
DTM	Disfunções temporomandibulares
ECR	Ensaio clínicos randomizados
ELISA	Ensaio de imunoabsorbância enzimática (do inglês, Enzyme Linked ImmunonoSorbent Assay)
EVA	Escala analógica visual
GRADE	Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation
GTP	Trifosfato de guanosina
HMG-CoA	3-hidroxi-3-methyl-glutaril-CoA redutase
HS	Hialuronato de sódio
IFN- γ	Interferon-gama
IL	Interleucina
iNOS	Óxido Nitrico Sintase
LDL	Lipoproteína de baixa densidade

LPS	Lipopolissacarídeo
MESH	(do inglês, medical subject headings)
MMP	Metaloproteinases de matriz (do inglês, Matrix Metalloproteinases)
mRNA	RNA mensageiro
MTT	Brometo de (3-(4,5 dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazólio)
NFkB	Fator nuclear kappa-B (do inglês, nuclear factor kappa B)
NO	Óxido nítrico (do inglês, nitric oxide)
OA	Osteoartrite
OA-ATM	Osteoartrite da articulação temporomandibular
OPG	Osteoprotegerina
PBS	Tampão fosfato-salino
PGE2	Prostaglandinas E2
PRP	Plasma Rico em Plaquetas
PRF	Fibrina Rica em Plaquetas
RANK	Receptor ativador do fator nuclear kappa-B (do inglês, Receptor activator of Nfk-B)
RANKL	Ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa-B (do inglês, Receptor activator of Nfk-B)
RDC-TMD	Critérios diagnósticos para disfunções temporomandibulares (DC/TMD) (do inglês, Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders).
RT-PCR	Transcrição reversa, seguida da reação da polimerase em cadeia (do inglês, Reverse Transcription Polimerase Chain Reaction)
SBF	Soro bovino fetal
SINV	Sinvastatina
TGF-β	Fator de crescimento transformador (do inglês, Transforming growth fator)
TIMPs	Inibidor tecidual de metaloproteinases (do inglês, Tissue Inhibitors of Metalloproteinases)
TNF-α	Fator de necrose tumoral
TRA	Tabela para Risco de Viés (do inglês: Risk of Bias).

TRAP	Fosfatase ácida resistente ao tartarato
TRV	Tabela de risco para viés (do inglês, Risk of Bias)
TX	Tenoxicam
VEGF	Factor de Crescimento Endotelial Vascular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	16
2 REVISÃO DE LITERATURA	19
2.1 Osteoartrite e sua etiopatogênese.....	19
2.2 Osteoartrite da ATM	20
2.2.1 Modelo de trauma mecânico direto	23
2.2.2 Mecanismo de hipóxia-reperusão	25
2.2.3 Modelo de inflamação neurogênica.....	25
2.3 Células ósseas e a OA-ATM	25
2.4 Terapias disponíveis para a OA-ATM	28
2.5 Estatinas	30
2.5.1 Estatinas como agentes anti-inflamatórios	33
2.5.2 Sinvastatina.....	34
3 OBJETIVOS.....	37
3.1 Objetivo geral	37
3.2 Objetivos específicos.....	37
4 MATERIAIS E MÉTODOS	38
4.1 Revisão Sistemática.....	38
4.1.1 Princípios Éticos.....	38
4.1.2 Tipo de Estudo	38
4.1.3 Critérios de inclusão	38
4.1.4 Critérios de exclusão	38
4.1.5 Estratégia de busca.....	39
4.1.6 Pergunta PICO	39
4.1.7 Seleção de artigos originais	42
4.1.8 Variáveis.....	43
4.1.9 Avaliação da qualidade metodológica	43
4.1.9.1 Escala de Jadad (JADAD, 1996)	43
4.1.9.2 Análise do risco de viés.....	44
4.1.9.3 Análise da qualidade da evidência	44
4.2 Estudo Experimental.....	46
4.2.1 Reagentes	46
4.2.2 Cultivo celular	46
4.2.3 Tratamento com sinvastatina	47

4.2.4 Ensaio de viabilidade celular	47
4.2.5 Ensaio de morfologia celular	48
4.2.6 Avaliação da atividade fagocítica	49
4.2.7 Ensaio de óxido nítrico	49
4.2.8 Análise estatística	50
5 RESULTADOS	51
5.1 Revisão Sistemática	51
5.1.1 Artigos originais identificados	51
5.1.2. Variáveis analisadas	54
5.1.2.1 Variáveis Independentes	56
5.1.2.2 Variáveis dependentes	56
5.1.2.2.1 Melhora da dor	56
5.1.2.2.2 Abertura de boca	58
5.1.2.2.3 Presença ou ausência de ruídos	59
5.1.2.2.4 Melhora geral da sintomatologia	60
5.1.3 Avaliação da qualidade metodológica	61
5.1.3.1 Escala de qualidade (JADAD et al., 1996)	61
5.1.3.2 Análise do risco de viés	62
5.1.3.3 Análise da qualidade da evidência	66
5.2 Estudo Experimental	68
5.2.1 Efeito da sinvastatina sobre a viabilidade de osteoblastos	68
5.2.2 Efeito da sinvastatina sobre a morfologia de células osteoblásticas estimuladas ou não com LPS	69
5.2.3 Efeito da sinvastatina sobre a atividade fagocítica de células osteoblásticas	71
5.2.4 Efeito da sinvastatina sobre a produção de óxido nítrico em células osteoblásticas estimuladas com LPS	72
6 DISCUSSÃO	73
7 CONCLUSÕES	83
REFERÊNCIAS	84
APÊNDICES	97
ANEXOS	125

1 INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é considerada uma doença degenerativa da articulação caracterizada pela progressiva perda de cartilagem, por inflamação sinovial crônica que leva ao remodelamento do osso peri-articular com formação de osteófitos e por esclerose óssea subcondral, com desregulação funcional dos osteoblastos (LI et al., 2021; LOESER et al., 2012). As articulações do corpo comumente afetadas pela osteoartrite são joelhos, quadris e coluna, entretanto, outras articulações também podem ser afetadas, incluindo a articulação temporomandibular (ATM). A osteoartrite da ATM (OA-ATM) possui origem multifatorial que causa dor na mandíbula e na região facial de origem não dentária, o que frequentemente limita a fala, a mastigação e outros movimentos mandibulares (JOHNSON; HUNTER, 2014). Embora de etiologia pouco conhecida, vários fatores como infecções, trauma, hábitos parafuncionais (apertamento dentário e bruxismo) desempenham um papel importante na ocorrência da OA-ATM (PANTOJA et al., 2019).

Apesar da OA-ATM ser classificada como uma condição artrítica de baixo índice inflamatório, uma considerável atenção tem sido dada à resposta inflamatória devido ao impacto na progressiva degradação da cartilagem (DE SOUZA et al., 2012; LEE et al., 2020). A evolução do quadro inflamatório resulta em manifestações clínicas devido a ruptura da cartilagem articular, o que leva a remodelação patológica do osso subcondral, condição que amplifica a sensação dolorosa e a incapacidade (LOESER et al., 2012; JOHNSON; HUNTER, 2014; CHEN; NUNEZ, 2010).

Interleucina (IL)-12 e outras citocinas inflamatórias, incluindo IL-1 β , IL-6 e fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), estão aumentadas no líquido sinovial de pacientes com OA-ATM (CEVIDANES et al., 2014; OGURA et al., 2010). A expressão de IL-1 β e TNF- α é relatada como aumentada na inflamação crônica experimental de ATMs de roedores, sugerindo que eles podem ser uma das causas para as alterações degenerativas da ATM. Além disso, a propriedade biomecânica do disco articular é diminuída neste modelo (WANG et al., 2014), implicando que a inflamação crônica na ATM deteriora a capacidade adaptativa do tecido.

Apesar da OA-ATM ter uma patogênese ainda não totalmente esclarecida, estudos prévios demonstraram que radicais livres produzidos por cargas mecânicas excessivas causam a degradação de ácido hialurônico, componente vital do líquido sinovial na ATM, o que gera impacto negativo na lubrificação das superfícies

articulares. A degradação dessas moléculas, acentuam a deterioração do sistema lubrificador da articulação, resultando em aumento do atrito e consequente desordem desse sistema (NITZAN et al., 2001).

A terapia da OA-ATM visa principalmente aliviar os sintomas, interromper o progresso da doença e restaurar a função da ATM. O tratamento tradicional desta condição patológica inclui principalmente opções não-cirúrgicas, como fisioterapia, placas oclusais, uso de anti-inflamatórios não-esteroidais (AINEs) e artrocentese com lubrificação ou corticosteróide (DE SOUZA et al., 2012). Mesmo com estas opções de tratamentos, há necessidade de ampliar a quantidade de fármacos disponíveis para uso na terapêutica da osteoartrite da ATM (FUKUI et al., 2012).

Estudos recentes sugerem que as estatinas, o qual a sinvastatina se encontra como uma de suas representantes, são medicamentos hipolipemiantes de primeira linha para tratamento e prevenção de doença arterial coronariana e aterosclerose. Entretanto, estudos pré-clínicos e clínicos demonstram que a sinvastatina exibe importantes efeitos imunomoduladores, antioxidantes e anti-inflamatórios, independentemente de suas ações na redução de lipídeos. Em particular, a sinvastatina mostrou-se capaz de diminuir a expressão de NFkB, iNOS e citocinas inflamatórias (FUKUI et al., 2012; TANAKA et al., 2019; HU et al., 2011), mostrando-se capazes de regular a inflamação e favorecer a produção de matriz extracelular, que são condições relevantes para o tratamento das desordens temporomandibulares. Logo, a possibilidade da sinvastatina apresentar efeitos benéficos para o tratamento da OA-ATM a coloca como um fármaco elegível como opções terapêuticas para a osteoartrite da ATM.

O racional desta proposta se justifica ainda pela concepção do reposicionamento de fármacos, que é uma estratégia atual que contribui para aumentar as opções terapêuticas visando o tratamento de certas patologias. Este conceito é definido pela IUPAC (International Union of Pure and Applied Chemistry) como sendo uma estratégia que busca descobrir novas aplicações para um fármaco existente, que não foram previamente referenciadas e que atualmente não são prescritas ou investigadas (BUCKLE et al., 2013). Diante disso, o presente estudo teve por objetivo determinar evidências na literatura científica que possam amparar uma terapêutica farmacológica em pacientes com osteoartrite da ATM, por meio de uma revisão sistemática e, em paralelo, avaliar os efeitos *in vitro* da sinvastatina sobre

osteoblastos humanos da linhagem MG-63, a fim de caracterizar suas ações farmacológicas.

2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Osteoartrite e sua etiopatogênese

A osteoartrite (OA) é considerada uma doença articular crônica degenerativa, com perda de cartilagem, inflamação sinovial e alteração do osso peri-articular, levando a formação de osteófitos e esclerose óssea subcondral. Essas alterações em cartilagem e osso são mediadas por células, como condrócitos, osteoclastos, osteoblastos e osteócitos (MARUOTTI; CORRADO; CANTATORE, 2017).

Etiologicamente, a OA está relacionada principalmente a doenças sistêmicas, processos de envelhecimento, fatores hormonais, comportamentais e a sobrecarga mecânica (MARTINS et al., 2021), podendo ser considerada como primária (processos degenerativos da cartilagem relacionados ao avanço da idade ou à herança genética) ou secundária (distúrbios mecânicos, como traumas ou desvios de eixo articular e de distúrbios metabólicos e processos inflamatórios) (PAULA, 2018; HOAGLUND, 2013; WANG, X. et al., 2015).

Independente da etiologia, a OA ocasiona uma sintomatologia dolorosa em articulações sinoviais, causando incapacidade funcional aos indivíduos acometidos. Diferentes mediadores pró-inflamatórios, incluindo citocinas e quimiocinas, podem ser detectadas no líquido sinovial de paciente com OA produzidos por condrócitos, células sinoviais e outras células da articulação, como os osteoblastos (MILLER et al., 2014). As manifestações clínicas da OA são dor, rigidez matinal transitória e crepitação com movimento articular, causando deterioração da qualidade de vida dos indivíduos, e afetando sua capacidade produtiva.

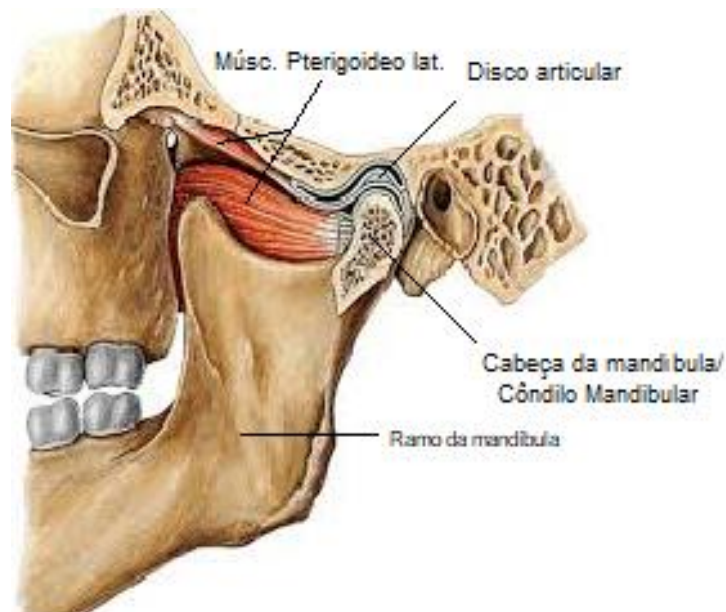
A OA é considerada a forma mais comum de doença degenerativa das articulações afetando aproximadamente 15% da população mundial, em maioria no gênero feminino. As articulações com maior prevalência acometidas são joelho, quadril e coluna vertebral, porém ombro e articulação temporomandibular (ATM) também podem ser afetadas (LOESER et al., 2012; JOHNSON; HUNTER, 2014; VALESAN et al., 2021). As articulações possuem em comum, o colágeno, considerado como componente principal no revestimento das cartilagens. Na ATM, o revestimento de fibrocartilagem contém predominantemente colágeno tipo I, enquanto a cartilagem hialina na articulação do joelho consiste principalmente de colágeno tipo II (VOS et al., 2013). Além disso, as concentrações de proteínas da matriz oligomérica da cartilagem

sérica e de prostaglandina E2 (PGE 2) são maiores no líquido sinovial de pacientes com OA-ATM do que nas articulações de joelhos dos pacientes com OA (VOS et al., 2014; WANG et al., 2014). Entretanto, até o momento, não se tem nenhuma molécula identificada como indicador de prognóstico ou marcador de diagnóstico para OA-ATM (WANG et al., 2014). Sendo assim, a OA-ATM não deve ser considerada como uma doença comum das articulações, fazendo-se necessário o aprofundamento dos mecanismos imunobiológicos, a fim de elucidar com maior precisão sua patogênese. Por consequência, ampliar o arsenal terapêutico disponível para o tratamento desta condição patológica mostra-se também necessário.

2.2 Osteoartrite da ATM

A articulação temporomandibular (ATM) é uma articulação sinovial diartrodial bilateral, que participa de funções essenciais no suporte à vida, como mastigação, deglutição e fala. Fica localizada no crânio, e une o côndilo mandibular à fossa glenóide do osso temporal (Figura 1) (ZHAO et al., 2021).

Figura 1 - Representação da articulação temporomandibular.



Representação sagital da anatomia da articulação temporomandibular e suas estruturas adjacentes. Fonte adaptado (SOBOTTA, 2005).

A ATM é composta pelo côndilo mandibular, a fossa glenóide do osso temporal e um disco fibrocartilaginoso intra-articular que fica entre os dois ossos. Uma cápsula fibrosa, revestida na superfície luminal pela membrana sinovial, conecta esses dois ossos e encapsula o líquido sinovial dentro da cavidade articular. As epífises do côndilo e da fossa são recobertas por cartilagem articular que, junto com o disco articular e o líquido sinovial, permitem um movimento suave da mandíbula (HILL et al., 2014).

A ATM faz parte do sistema estomatognático e exerce uma grande função para o funcionamento do corpo humano. Para o devido funcionamento deste sistema integrado a músculos da face e dentes, é necessário que as forças exercidas nessa articulação sejam equilibradas. Quando um desses integrantes se encontra em desarmonia, todo o sistema pode ser altamente prejudicado (OKESON, 2008; ZHAO et al., 2021). Com a idade, as superfícies articulares estão sujeitas à degeneração, devido ao uso diário intenso dos movimentos executados, o que pode resultar em processos degenerativos na articulação, como a osteoartrite (OA) (HILL et al., 2014).

A osteoartrite da articulação temporomandibular (OA-ATM) é uma condição patológica de origem multifatorial e indefinida, a qual pode ocorrer de forma generalizada ou localizada, sendo esta última a mais comum. A OA-ATM tem sido associada ao deslocamento de disco, micro traumas, parafunção e sobrecarga funcional, influência do hormônio estrogênio de forma sistêmica, além de outras doenças (como a artrite reumatóide) (PANTOJA et al., 2019; ZHAO et al., 2021). Devido ao quadro sintomatológico ser muito semelhante a outras disfunções temporomandibulares (DTM) é importante que o profissional tenha o conhecimento da possível etiopatogenia da OA-ATM para uma conduta terapêutica apropriada (SAMPAIO-BARROS et al., 2007).

Os principais sinais e sintomas clínicos da OA-ATM são dor nas articulações, som articular, crepitação, restrição de movimento e abertura de boca e eventualmente perda da função articular. Radiograficamente os sinais esperados de uma desordem articular degenerativa em desenvolvimento são: esclerose e erosão óssea (DERWICH; MITUS-KENING; PAWLOWSKA, 2021; SILVA et al., 2020).

A OA-ATM é decorrente do desequilíbrio patológico entre mecanismos biológicos de remodelamento tecidual. Afeta não apenas a cartilagem, mas todos os componentes teciduais da região articular. Os efeitos nocivos dessa desarmonia

biológica levam a danos progressivos a cartilagem articular e as suas estruturas adjacentes. (GOMES et al., 2015; CEVIDANES et al., 2014).

Um dos desafios dessa patologia é o diagnóstico em estágios avançados com extenso comprometimento das estruturas envolvidas. Em pacientes jovens, a OA-ATM é ainda mais difícil de ser diagnosticada, pois apresenta-se com poucos sintomas. Geralmente nesses pacientes a OA-ATM está associada à artrite idiopática juvenil (AIJ), que prevalentemente acomete mais as mulheres por volta dos 16 anos e apresentam alto risco de inflamação e destruição (JÚNIOR et al., 2012; RINGOLD; CRON, 2009; AL-SHWAIKH et al., 2016).

A OA-ATM é classificada como uma condição inflamatória artrítica de baixo grau em contraponto a artrite reumatoide, considerada uma condição altamente inflamatória (DE SOUZA et al., 2012). Entretanto, mesmo sendo considerada uma “inflamação de baixo grau”, esse fator tem sido reportado como de grande importância para a progressão da doença (WANG X. D. et al., 2015; ZHAO et al., 2021). Suas características são semelhantes a inflamações provocadas por agentes exógenos ao organismo, exibindo recrutamento de leucócitos polimorfonucleares e produção de citocinas e quimiocinas pró-inflamatórias, em especial o TNF- α e interleucina (IL)-1 (CHEN; NUNEZ, 2010). No líquido sinovial de pacientes com OA-ATM, é possível observar a presença de TNF- α , IL-17, IL-6, IL-1 β e IL-22, acompanhado por infiltração de células inflamatórias, predominantemente de macrófagos e linfócitos T (ZHAO et al., 2021). Ademais a esses fatores, a degradação tecidual realizada por enzimas também está relacionada à etiopatogenia da OA. No decorrer da progressão degenerativa, é observada a presença de mediadores inflamatórios derivados da degradação do ácido araquidônico (prostaglandina e leucotrienos), na qual estão relacionados à sintomatologia dolorosa, que contribuem para a evolução do processo degenerativo (MILAM, 2005; KANEYAMA et al., 2007).

Além de citocinas pró-inflamatórias, a osteoartrite conta também com a participação de vários outros fatores envolvidos no curso da remodelação da cartilagem conforme ilustrado na figura 2 (p. 23)(SICUREZZA et al., 2013).

Figura 2 - Diagrama representativo dos elementos moleculares envolvidos na patogênese da OA-ATM.

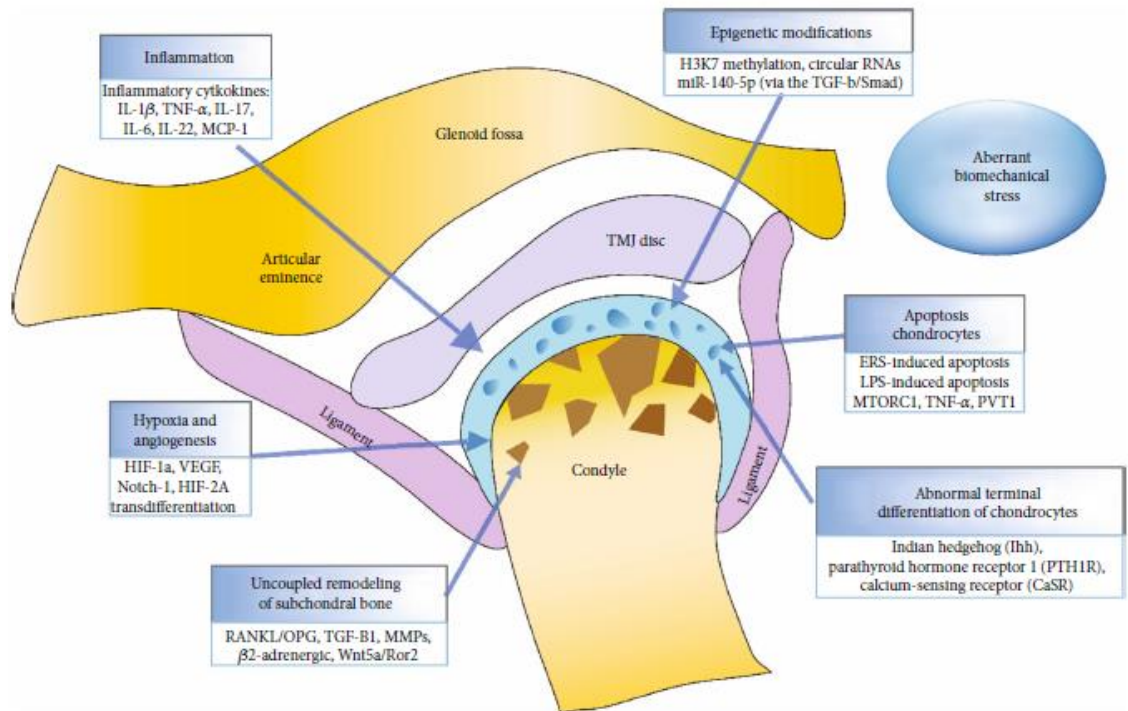


Diagrama ilustrando os componentes anatômicos da ATM e os eventos moleculares envolvidos na patogênese da OA-ATM. FONTE: (ZHAO et al., 2021).

Buscando entender os mecanismos relacionados à etiopatogenia da OA-ATM, três modelos buscam explicar os mecanismos que dão início a cascatas de sinalização molecular nesta patologia. Esses modelos são: modelo de trauma mecânico direto, modelo de hipóxia-reperfusão e modelo de inflamação neurogênica (MILAM, 2005).

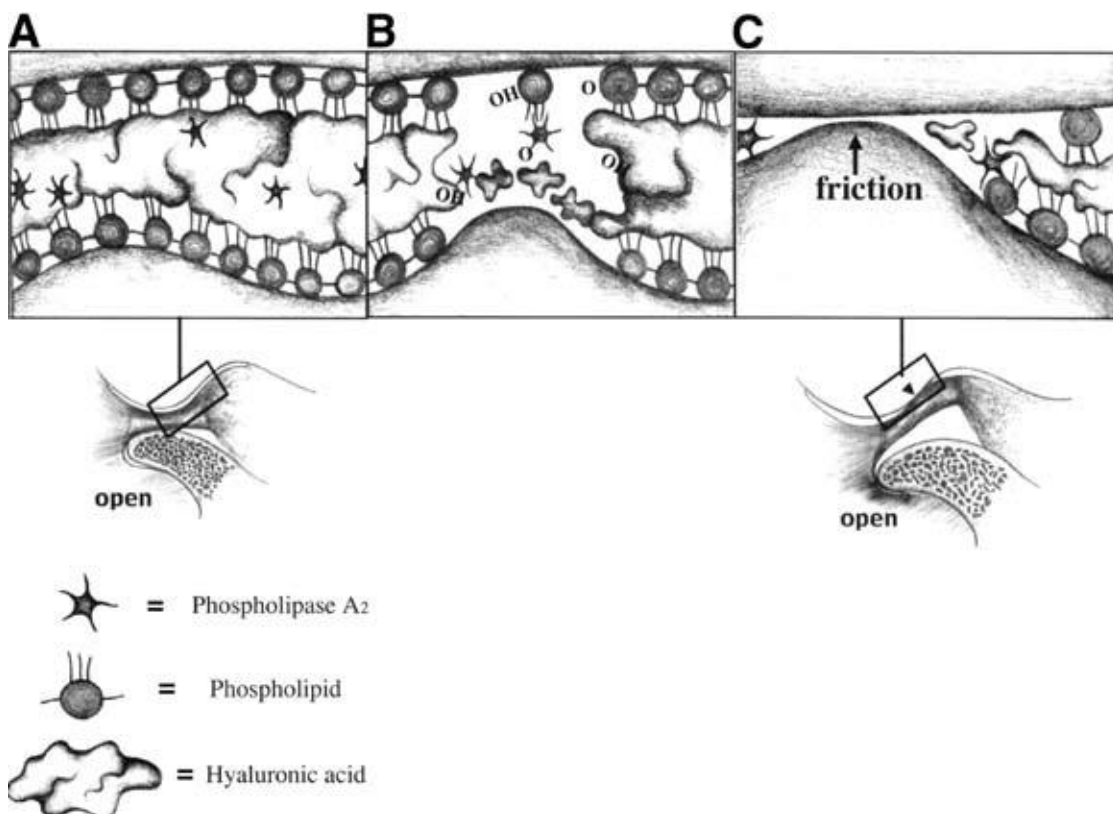
2.2.1 Modelo de trauma mecânico direto

O modelo de trauma mecânico direto propõe que uma articulação sem o devido amortecimento e lubrificação ao receber forças excessivas sofram danos teciduais na articulação temporomandibular capazes de gerar radicais livres, por um mecanismo denominado como fissão hemolítica ou ruptura hemolítica. Os radicais livres são elétrons desemparelhados, instáveis, que oxidam moléculas adjacentes às roubando um elétron. Ao aceitar um elétron de uma molécula vizinha, ela torna-se estável por estar emparelhada, entretanto, a molécula que perdeu um elétron torna-se instável funcionalmente. Esses mecanismos se perpetuam por reações de oxidação-redução

incitadas pela produção de radicais livres, causando prejuízo ao tecido afetado (MILAM,1988; 2005).

De acordo com Nitzan (2001), radicais produzidos podem levar a quebra de componentes articulares envolvidos na lubrificação, como os fosfolipídeos e o ácido hialurônico. A figura 3, exemplifica a ATM com seu funcionamento normal. Como mecanismo de proteção articular, fosfolipídios ativos de superfície (FAS) recobrem as superfícies articulares, e, em conjunto com o ácido hialurônico (AH), formam um filme fluido de proteção contra a enzima fosfolipase A2 (FA2), responsável pela clivagem dos fosfolipídeos da membrana celular em ácido araquidônico. Quando forças excessivas incidem na articulação, radicais livres podem quebrar o AH, levando a uma não proteção contra a FA2, permitindo dessa forma a degradação dos FAS (Figura 3B), com atrito do côndilo articular (Figura 3C).

Figura 3 - Representação dos eventos moleculares envolvidos na degradação da ATM.



Representação ilustrativa do sistema de lubrificação articular e seu colapso parcial com a degradação de moléculas envolvidas no correto funcionamento articular da ATM, a exemplo dos fosfolipídeos de membrana (Phospholipid) e ácido hialurônico (Hyaluronic acid), além da enzima fosfolipase A2 responsável pela clivagem dos fosfolipídeos de membrana. FONTE: (NITZAN, 2001).

2.2.2 Mecanismo de hipóxia-reperfusão

Foi apontado que os radicais livres são produzidos em OA-ATM por um mecanismo envolvendo o aumento da carga mecânica incidida nos côndilos das articulações temporomandibulares. Os radicais livres derivados do oxigênio podem ser gerados por um mecanismo de hipóxia-reperfusão, decorrentes de estímulos intermitentes de sobrecarga articular, que interferem no suprimento sanguíneo local, oriundos do aumento da pressão hidrostática intra-articular e do estresse por contato. Após um período sem o devido suprimento sanguíneo local, as células que sofreram hipóxia, produzem radicais livres, além de mudança do metabolismo celular homeostático (HASKIN et al, 1995; NITZAN; PRICE, 2001; MILAM, 2005).

2.2.3 Modelo de inflamação neurogênica

A ATM é densamente innervada por neurônios sensoriais capazes de produzir e secretar neuropeptídeos pró-inflamatórios. Com a estimulação mecânica dessas regiões, há liberação de neuropeptídeos, incluindo a substância P e os peptídeos relacionados ao gene da calcitonina, são liberados dos terminais nervosos para os tecidos articulares adjacentes e o líquido sinovial. Esses neuropeptídeos podem então estimular as células residentes adjacentes, resultando na secreção de outras moléculas solúveis por essas células e promovendo uma resposta inflamatória local. Entretanto, o papel exato dessas moléculas na patogênese da doença degenerativa da ATM ainda precisa ser elucidado (MILAM, 2005).

Em resumo, cargas mecânicas podem iniciar eventos moleculares envolvidos na patogênese de doenças degenerativas da ATM por (1) ruptura física de moléculas nos tecidos articulares, resultando na formação de radicais livres, (2) induzindo a formação de radicais livres derivados de oxigênio por um mecanismo de hipóxia-reperfusão, ou (3) evocando a liberação de neuropeptídeos pró-inflamatórios de terminais nervosos localizados em tecidos da ATM (MILAM, 2005).

2.3 Células ósseas e a OA-ATM

O diagnóstico clínico da OA-ATM pode ser norteado pelas características radiográficas do osso subcondral. Um número crescente de estudos já demonstrara a

participação do osso subcondral na patogênese da OA-ATM, sugerindo que o aumento da renovação do osso subcondral desempenha um papel na iniciação ou progressão da OA-ATM. Com a degradação da cartilagem, é observado uma perda óssea subcondral e diminuição da densidade mineral óssea, os condrócitos dentro da cartilagem degradada aumentam a proporção de RANKL e OPG levando a perda óssea subcondral. Estudos já demonstraram aumentos locais dos níveis de metaloproteinases de matriz (MMP-9), IL-6 e TGF- β 1 envolvidos na remodelação do osso subcondral, frequentemente observado nos estágios iniciais da OA-ATM (WANG, X. et al., 2015).

Os osteoblastos, osteócitos e osteoclastos, são células que fazem parte do componente ósseo da articulação temporomandibular. Formadores ósseos, os osteoblastos se diferenciam em osteócitos, os quais ficam aprisionados em lacunas após a mineralização. Para a correta homeostase entre aposição óssea e reabsorção, os osteoclastos cumprem o dever de manter o remodelamento ósseo realizando reabsorção óssea (TEIXEIRA et al., 2011; HEYMANN; ROUSSELLE, 2000).

A remodelação óssea é um processo dinâmico entre o produto ósseo formado pelos osteoblastos e a reabsorção óssea realizada pelos osteoclastos. Em condições patológicas, a exemplo da osteoartrite, citocinas pró-inflamatórias e mediadores locais sinalizam para um aumento da reabsorção osteoclástica e pela inibição da função reparadora do osteoblasto (JUNG et al., 2009). As células osteogênicas contribuem para as necessárias interações celulares que fazem parte da remodelação óssea. Estas interações, que podem ser pelo contato celular, controlam a atividade e a intensidade da remodelação óssea (HEYMANN; ROUSSELLE, 2000).

Os osteócitos são células metabolicamente ativas e multifuncionais, derivadas dos osteoblastos, altamente especializadas, que atuam como mecanossensores respondendo as forças mecânicas que são aplicadas ao osso (JUNQUEIRA; CARNEIRO, 2004). Foi reconhecido que essas células desempenham inúmeras funções no tecido ósseo, promovendo a tradução de estímulos mecânicos em sinais bioquímicos, atuando como os maestros da remodelação óssea, onde sua apoptose foi reconhecida como um sinal quimiotático para a reabsorção óssea osteoclástica (FLORENCIO-SILVA et al., 2015).

Além disso, os osteócitos são uma importante fonte de RANKL para a formação de osso esponjoso. O receptor de membrana RANK é encontrado em células precursoras de osteoclastos. Vários tipos de células produzem OPG, que é uma

citocina secretada com afinidade ao RANKL e tem efeito inibitório sobre ele. Em condições de homeostase, osteoblasto produz OPG que atua como receptor para RANKL, controlando a osteoclastogênese e a perda óssea de maneira balanceada. Desordens no sistema RANKL/RANK/OPG estão associadas a certas doenças humanas, inclusive osteoporose pós-menopausa, artrite reumatoide, tumores ósseos e certos tumores metastáticos (ALVAREZ et al., 2019). Nos últimos anos, uma quantidade crescente de evidências científicas sobre o papel dos osteoblastos na patogênese da osteoartrite reportam a estreita correlação entre o sistema OPG/RANK/RANKL e a alteração óssea subcondral observada na osteoartrite (MARUOTTI; CORRADO; CANTATORE, 2017).

Em condições inflamatórias, ocorre aumento dos níveis de radicais livres e citocinas pró-inflamatórias (IL-6, IL-17, TNF- α e IFN- γ) no líquido sinovial. Quanto maior a população dessas citocinas, maior a severidade da doença. Isto proporciona uma queda nos níveis de OPG produzidos pelos osteoblastos, que também produzem mais RANKL. Os osteócitos que foram produzidos por esses osteoblastos mostram níveis reduzidos de maturação e aumento dos níveis de apoptose devido à diminuição da expressão da integrina- β 1, em comparação com as moléculas da matriz extracelular derivadas dos osteoblastos do osso subcondral normal. Essas citocinas produzidas vão sustentar a cadeia inflamatória da osteoartrite (OA), sugerindo uma rede altamente complexa de origens celulares da atividade de RANKL em tecidos, induzidas por inflamação (ALVAREZ et al., 2019).

As citocinas cumprem um papel fundamental na resposta imune, regulando a homeostase, a inflamação, a diferenciação celular e a regeneração tecidual. Dentre as diversas citocinas relacionadas ao desenvolvimento do processo inflamatório, cabe mencionar a IL-6, relacionada a diversas alterações patológicas com perda óssea por seu caráter promotor de osteoclastogênese e ativação de reabsorção óssea de osteoclastos que vem sendo relacionada a patologia da OA (NAGY; RADEFF; STERN, 2001; GUNSON; ARNETT; MILAM, 2012).

Para a melhor compreensão de eventos celulares e moleculares a fim de estudar a biologia das células osteoblásticas, vários estudos *in vitro* com modelos de culturas celulares são empregados, a exemplo de: células primárias de diferentes espécies, osteoblastos induzidos a partir de células-tronco pluripotentes, linhagens celulares imortalizadas e linhagens malignas. O uso desses modelos de osteoblastos

mostra-se úteis para caracterização farmacológica inicial de candidatos a fármacos para o tratamento da OA-ATM (CZEKANSKA et al., 2012).

2.4 Terapias disponíveis para a OA-ATM

Atualmente a estratégia de tratamento para OA-ATM visa o alívio de sinais e dos sintomas, incluindo o controle da dor, evitando a progressão do dano a cartilagem e a destruição do osso subcondral, além de buscar restaurar a função articular (DERWICH; MITUS-KENING; PAWLOWSKA, 2021). Os tratamentos mais comuns para a OA-ATM são: o uso de anti-inflamatórios não esteroidais e esteroidais, fisioterapia, laserterapia e artrocentese (lavagem intra-articular da articulação associadas ou não com medicação). Essas terapias são eficazes no alívio de sinais e dos sintomas na maioria dos casos, entretanto, a longo prazo o efeito terapêutico não é satisfatório (WANG X. et al., 2015; MELIS et al., 2012).

Estudos demonstram que o estado nutricional equilibrado do paciente tem um papel benéfico na osteoartrite. Já é amplamente aceito que a perda de peso e a atividade física fazem parte das estratégias de tratamento não farmacológico para a OA (THOMAS et al., 2018), e que a obesidade é um fator de risco para o desenvolvimento da OA-ATM (DU et al., 2020). Diante disso, a dieta mediterrânea (DM) pode ter um efeito protetor na OA por suas propriedades anti-inflamatórias, rica em polifenóis, que previnem a inflamação e a destruição da cartilagem. A DM também produz uma proporção mais baixa de ácidos graxos (AG) n-6 para n-3, diminuindo assim a expressão gênica de proteinases e de citocinas inflamatórias. Por outro lado, sugere-se que uma alta ingestão de n-6 (AG) induz processos inflamatórios, resultando em aumento do dano à cartilagem (MORALES-IVORRA et al., 2018; DYER et al., 2017). Além disso, estudos sugerem uma relação importante entre a obesidade e o ritmo circadiano, onde padrões de sono saudáveis com manutenção do ciclo claro/escuro e controle do peso derivadas de mudanças na dieta, podem ser intervenções comportamentais úteis para combater o desenvolvimento e progressão da OA (DERNIE; ADEYOJU, 2021).

Geralmente o tratamento da OA-ATM requer uma abordagem multidisciplinar, incluindo profissionais especialistas em DTM, fisioterapeutas, reumatologistas, ortodontistas e, muitas vezes, também de um cirurgião maxilofacial e protesista. Em alguns casos, a farmacoterapia também é indicada para alívio da dor. Adicionalmente,

é recomendado que o paciente faça uma consulta reumatológica para excluir doença sistêmica. Se algum tipo de doença reumatológica for diagnosticada, é importante que o tratamento seja realizado previamente (DERWICH; MITUS-KENING; PAWLOWSKA, 2021).

As possibilidades atuais de tratamento versam de acordo com a progressão da degeneração articular. Dessa forma, o tratamento conservador, incluindo fisioterapia e terapia com talas, é recomendado para o início do tratamento da OA. No decorrer da progressão da doença, as injeções intra-articulares de ácido hialurônico, corticosteroides e plasma rico em plaquetas (PRP) podem ser utilizados como procedimentos cirúrgicos minimamente invasivos, proporcionando um alívio da dor na articulação temporomandibular e a melhora do aumento da abertura máxima da boca. Esses efeitos podem ser potencializados com a realização da artrocentese em conjunto. Em estágios avançados, a cirurgia aberta na articulação pode ser indicada (DERWICH; MITUS-KENING; PAWLOWSKA, 2021; LIAPAKI et al., 2021; IŞIK et al., 2022).

Tratamentos que objetivam prevenir a progressão da degradação da cartilagem e os danos ao osso subcondral devem ser investigados, e a regeneração da ATM pode fornecer a solução ideal a longo prazo (WANG X. D. et al., 2015). Diante desse panorama, estudos buscam apontar possíveis fármacos que tenham o efeito de reduzir a dor e as repercussões progressivas da OA-ATM, no entanto ainda se faz necessário aprofundar as evidências que mostrem terapias eficazes para essa abordagem (LE GRAVERAND-GASTINEAU, 2009). Além disso, apesar do tratamento com anti-inflamatórios esteroidais reduzirem a dor e a inflamação local, eles também afetam negativamente o desenvolvimento ósseo no côndilo da mandíbula (GEORGE et al., 2013).

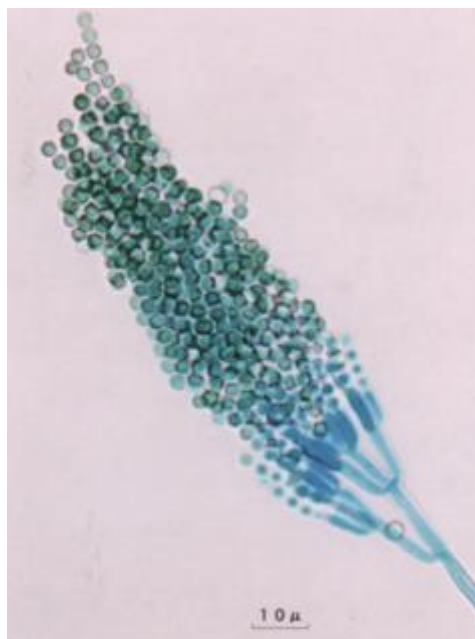
Sabe-se que a ativação de osteoblastos por citocinas, por radicais livres, por catabólitos de origem fosfolipídica e por desequilíbrios hormonais podem levar a quimiotaxia de osteoclastos e promover a quebra da matriz extracelular, levando a erosões e destruição óssea. Diante disso, o uso de fármacos para inibir ou estagnar a degradação condilar mandibular é requisitado. Neste cenário, o emprego de antioxidantes, anti-inflamatórios não esteroidais, inibidores de MMPs (tetraciclina), inibidores de leucotrienos (Piroxicam ®), e inibidores de citocinas inflamatórias tem sido bem-sucedido a fim de inibir a propagação da doença (GUNSON; STEPHEN; MILAM, 2012).

Evidências científicas têm demonstrado que o grupo farmacológico das estatinas possa ser um promissor candidato para ser utilizado no manejo da OA-ATM devido aos seus efeitos antioxidantes, anti-inflamatórios e imunomoduladores. Estudos avaliando as estatinas demonstram que, além de sua capacidade de redução de lipídios, as estatinas também exercem efeitos anti-inflamatórios em uma ampla variedade de doenças que necessitam ainda serem exploradas (GILBERT et al., 2017).

2.5 Estatinas

A descrição do grupo farmacológico das estatinas data da década de 1970, em um momento onde apenas alguns redutores de lipídios eram conhecidos, a exemplo do ácido nicotínico. Almejava-se então fármacos com maior eficácia e menor toxicidade na redução de lipídios (MARKOWSKA et al., 2020). Endo e colaboradores (1976) descobriram então um metabólito fúngico produzido naturalmente por *Penicillium citrinum* (Figura 4, p. 31), com potenciais propriedades na redução da produção de colesterol. Buscando elucidar esse mecanismo, teorizou-se que um inibidor da biossíntese do colesterol, especificamente a molécula 3-hidroxi-3-metilglutaril-CoA (HMG-CoA), poderia ser um eficaz redutor esteroideal (ENDO, 2008).

Figura 4 - *Penicillium citrinum* Pen-51, fungo que produz compactina, primeira estatina descoberta.



Micrografia de *Penicillium citrinum* Pen-51. Barra de escala, 10 µm. Fonte: Adaptado: (ENDO, 2008).

Desse modo, a compactina, a qual posteriormente teve seu nome modificado para mevastatina, deu início ao marco na terapia hipolipemiante, hoje conhecida como o grupo das estatinas (MARKOWSKA et al., 2020). Atualmente, as estatinas são fármacos amplamente utilizados na terapia para hipercolesterolemia (Figura 5), proporcionando a redução do risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (GILBERT et al., 2017).

Figura 5 - Ranking de prescrições de estatinas realizadas em 2019.

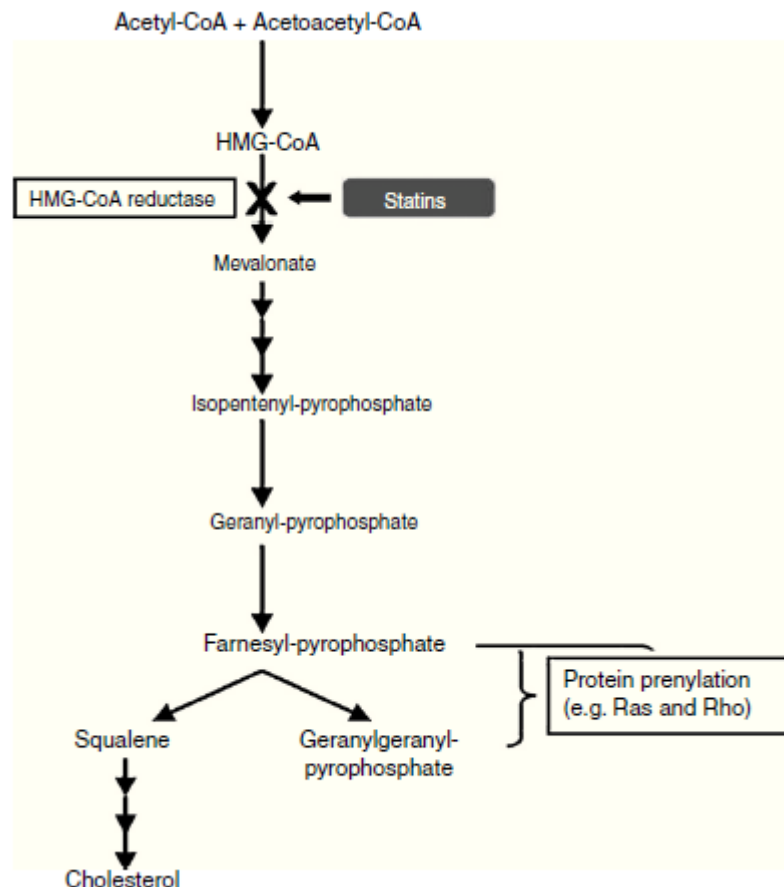
Classificação ▲	Nome do Medicamento	Prescrições totais (2019)	Total de pacientes (2019)	Mudança Anual
1	Atorvastatina	112.104.359	24.493.971	0
13	Sinvastatina	36.812.966	8.543.612	↓ 3
21	Rosuvastatina	27.041.319	6.129.254	↑ 7
32	Pravastatina	20.683.277	4.875.694	↓ 3
95	Lovastatina	8.091.735	1.897.500	↓ 5

Número de prescrições de medicamentos pertencentes às estatinas realizadas em 2019 nos Estados Unidos, dispostas em um ranking das 200 principais drogas de 2019. Fonte: <https://clincalc.com/>

O mecanismo de ação das estatinas parte da inibição farmacológica reversível e competitiva da conversão de HMG-CoA, em L-mevalonato, a etapa limitante da taxa

na síntese de colesterol, por bloqueio competitivo do sítio ativo da enzima HMG-CoA redutase (Figura 6). O bloqueio da via do mevalonato afeta a produção de colesterol e reduz os níveis de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) sérica, que estão associados a um maior risco de desenvolvimento de doenças cardiovasculares (GILBERT et al., 2017; FONSECA, 2005).

Figura 6 - Estatinas e a via de síntese do colesterol.



Fonte: GILBERT et al., 2017.

Os fármacos derivados do grupo das estatinas são estruturalmente semelhantes com a molécula de HMG-COA, indicando farmacologicamente seu potencial inibidor competitivo da enzima HMG-CoA redutase. Essa enzima, HMG-CoA redutase, pertence a via metabólica do mevalonato, é responsável pela produção de colesterol e de isoprenóis no corpo humano. Diante disso, a inibição desta enzima torna-se o mecanismo necessário para a redução dos níveis de colesterol no organismo (MARKOWSKA et al., 2020; TAVARES et al., 2016).

2.5.1 Estatinas como agentes anti-inflamatórios

A via do mevalonato desempenha um papel vital em várias funções celulares, incluindo sinalização celular, diferenciação e proliferação celular e transporte de vesículas pelo citoplasma celular (BEDI et al., 2016). Estudos demonstram que as estatinas têm efeitos pleiotrópicos, independentes da redução do colesterol, e isso se deve ao seu papel na indução de modificações pós-transcricionais de importantes intermediários isoprenóides a jusante do mevalonato. Os derivados do mevalonato são necessários nas modificações pós-transcricionais das proteínas de ligação do trifosfato de guanosina (GTPases), responsáveis pela regulação da osteoblastogênese e osteoclastogênese. Este processo é conhecido como “prenilação” e afeta numerosas moléculas de transdução de sinal nas vias inflamatórias, vasculares e miocárdicas (GILBERT et al., 2017; SORIAL et al., 2020).

Do ponto de vista farmacodinâmico, as estatinas são seletivas para sua atuação junto à enzima HMG-CoA redutase e vários dos efeitos pleiotrópicos destes fármacos parecem depender de uma menor ativação de algumas proteínas que interferem em vias de sinalização celular, relacionadas a genes que condicionam a síntese de citocinas inflamatórias, fatores de coagulação, ou relacionados a maior expressão de óxido nítrico (FONSECA, 2005).

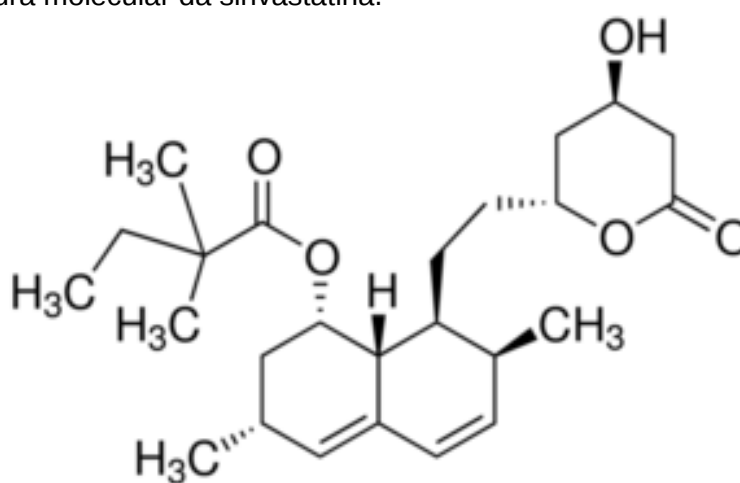
Assim, a redução de mevalonato determina uma menor ativação de proteínas envolvidas nas vias de sinalização intracelular moduladas por estatinas, a exemplo das proteínas Ras e Rho (FONSECA, 2005). As proteínas Rho, em particular, estão envolvidas na expressão de citocinas pró-inflamatórias, e a sinvastatina, fármaco pertencente do grupo das estatinas, vem sendo relacionada com a redução da atividade dessa proteína envolvida na indução do TNF- α e na ativação do fator nuclear NF- κ B (GILBERT et al., 2017).

As estatinas, como citado, possuem efeitos na redução de lipídios, em propriedades anti-inflamatórias, e também efeitos a nível ósseo. Este grupo pode desempenhar um papel além da redução de fatores pró-inflamatórios, atuando também na proliferação celular osteogênica, contribuindo assim na formação óssea. Isso se deve provavelmente por meio da via BMP2 (proteínas morfogenéticas ósseas 2), conhecida por estimular a diferenciação de osteoblastos (RUIZ-GASPA et al., 2007; PILMANE; SKAGERS, 2011).

2.5.2 Sinvastatina

Diante da variedade de fármacos derivados do grupo das estatinas, a sinvastatina é uma das mais comumente prescritas, por seus efeitos antiateroscleróticos, anti-inflamatórios e antioxidantes (COLLINS et al., 2007; GUPTA et al., 2019). Assim como ao grupo farmacológico a que pertence, a sinvastatina (Figura 7) possui como mecanismo de ação a inibição da enzima HMG-CoA redutase (MAGAN-FERNANDEZ et al., 2018).

Figura 7 - Estrutura molecular da sinvastatina.



Fonte: Sigma Aldrich.

Amplamente utilizada na indústria farmacêutica, sendo uma estratégia de menor custo no tratamento de dislipidemias e na prevenção de doenças cardiovasculares, a sinvastatina possui além de seu caráter hipolipemiante, uma variedade de outras atividades biológicas, a serem exploradas, como a de estimular a formação óssea (ARAUJO et al., 2011; TANAKA et al., 2019; HU et al., 2011), promover fenótipos condrogênicos em células do disco intervertebral e efeitos anti-inflamatórios (SVERDRUP et al., 2010).

De caráter lipofílico, possui meia-vida curta (2-3 horas), metabolizada principalmente pelo citocromo P450 (CYP450 3A4, abreviado como CYP3A4) (BRUNTON; HILAK-DANDAN; KNOLLMAN, 2018). Seu uso habitual em doses de 5 a 80 mg, por via oral, reduz os níveis de colesterol de lipoproteína de baixa densidade (LDL) em 25 a 50%, reduzindo o risco de doença cardiovascular em 35% e a mortalidade geral em até 30% ao longo de 5 anos. A dose inicial de sinvastatina

recomendada para a redução lipídica é de 40 mg, devendo ser ajustada em pacientes com insuficiência renal grave ou que fazem uso de medicamentos inibidores do CYP3A4, a exemplo do gemfibrozil e da ciclosporina (ROBINSON, 2007).

Além disso, seu horário de administração norteia a melhora da eficácia da ação do fármaco, em virtude de sua meia-vida curta e da síntese de colesterol endógeno ser mais ativo à noite. Com isso, a administração de sinvastatina a noite confere 10% maior eficácia em comparação ao uso pela manhã (ROBINSON, 2007; WALLACE; CHINN; RUBIN, 2003).

Estudos realizados nas últimas duas décadas vêm apontando para um reposicionamento da sinvastatina para fins anti-inflamatórios e osteopromotores (GUPTA et al., 2019). Em um modelo de artrite reumatoide, a sinvastatina foi capaz de atenuar significativamente o desenvolvimento e a expansão de linfócitos Th1, que, pelo menos em parte, conduz a produção de citocinas pró-inflamatórias pelos macrófagos de uma forma dependente do contato celular (LEUNG et al., 2003).

Os primeiros estudos abordando o potencial efeito da sinvastatina em células ósseas foi descrito por Mundy e colaboradores (1999) usando um modelo de defeito de calvária de camundongos, onde a sinvastatina estimulou a regeneração óssea, promovendo a formação óssea da região. O mecanismo para essa regeneração óssea mediado pela sinvastatina vem sendo atribuído às suas propriedades anti-inflamatórias, inibidoras de osteoclastos, e estimuladoras de neovascularização pelo aumento do fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (GUPTA et al., 2019; MONTERO; MANZANO; ALBALADEJO, 2014).

Nyan e colaboradores (2014), buscando avaliar o uso da sinvastatina na osseointegração e formação óssea de implantes, demonstraram que a sinvastatina induziu a expressão de fatores de crescimento de caráter osteogênico, proliferativos, migratórios, além de recrutamento e diferenciação celular, quando estimuladas topicamente, sem mostrar quaisquer efeitos indesejáveis.

O uso abundante da sinvastatina se deve a seus baixos efeitos adversos. Cita-se a respeito disso disfunções hepáticas e sintomas relacionados a miopatia, que quando grave podem assumir a forma de rabdomiólise, podendo levar a quadros de insuficiências renais agudas. Entretanto, os efeitos benéficos se sobressaem, tornando esse fármaco popularmente conhecido e distribuído amplamente pela indústria farmacêutica (PEDERSEN; TOBERT, 2004; GUNSON; STEPHEN; MILAM, 2012).

Desta forma, diante dos estudos para compreender a proposta de uso da sinvastatina no que permeia a patogênese da osteoartrite, faz-se necessário a realização de pesquisas buscando aprofundar seus aspectos farmacodinâmicos sobre componentes celulares envolvidos na OA-ATM, propiciando assim o desenvolvimento de uma possível terapêutica embasada em evidências científicas com repercussões clínicas importantes, almejando o uso tópico deste grupo como objeto de estudo para as novas terapias relacionadas ao tratamento da OA.

Tendo por base as informações apresentadas, neste estudo realizamos uma abordagem bibliográfica e experimental de estratégias terapêuticas disponíveis para o tratamento atual da OA. Com isso, buscou-se responder a seguinte pergunta clínica: “Considerando os pacientes com OA-ATM, quais são os fármacos/terapêutica disponíveis para aplicação direta na ATM (por infiltração ou por aplicação tópica)?”. Adicionalmente, foi avaliado *in vitro* os efeitos da sinvastatina na ativação de células osteoblásticas (MG-63) com LPS.

3 OBJETIVOS

3.1 Objetivo geral

Revisar a literatura científica sobre as terapias medicamentosas disponíveis no tratamento da osteoartrite da articulação temporomandibular (OA-ATM), e, adicionalmente, avaliar *in vitro* o efeito da sinvastatina sobre as funções de osteoblastos humanos.

3.2 Objetivos específicos

1. Avaliar por meio de uma revisão sistemática as terapias medicamentosas disponíveis para o tratamento da OA-ATM;
2. Avaliar o efeito da sinvastatina sobre a viabilidade de osteoblastos;
3. Avaliar possíveis mudanças da morfologia de osteoblastos sobre o efeito da sinvastatina;
4. Avaliar o efeito da sinvastatina na produção de óxido nítrico de osteoblastos estimulados com LPS;
5. Avaliar o efeito da sinvastatina sobre a atividade fagocítica de osteoblastos estimulados por LPS e expostos a zimosan.

4 MATERIAIS E MÉTODOS

4.1 Revisão Sistemática

4.1.1 Princípios Éticos

Segundo a Resolução nº 510/2016 do Conselho Nacional de Saúde (CNS) por se tratar de um estudo com análise de dados secundários obtidos exclusivamente a partir de bases de dados eletrônicos disponível na internet, não foi necessário a submissão ao comitê de ética (BRASIL, 2016).

4.1.2 Tipo de Estudo

Revisão sistemática de ensaios clínicos randomizados sobre a utilização de fármacos (por infiltração ou por aplicação tópica) com o uso concomitante ou não de medicação sistêmica no tratamento da Osteoartrite da Articulação Temporomandibular.

4.1.3 Critérios de inclusão

Para a análise de inclusão dos estudos, considerou-se os resumos e artigos de texto completos em inglês, espanhol e português publicados até julho de 2022 que tratassem de ensaios clínicos randomizados (ECR) abordando formas de tratamento da OA-ATM, envolvendo a atuação terapêutica farmacológica sobre a aplicação direta na ATM (por infiltração ou por aplicação tópica) de diferentes substâncias com o uso concomitante ou não de medicação sistêmica, podendo ou não ter efetividade comparada com a de outras terapias.

4.1.4 Critérios de exclusão

As revisões sistemáticas e meta-análises foram descartadas desta avaliação, assim como os estudos de caso-controle, relatos de caso, estudos *in vitro* utilizando modelos não humanos e estudos que não envolveram a avaliação de pacientes. Estudos que apresentaram métodos de tratamento não farmacológicos ou procedimentos cirúrgicos, como a artrocentese ou a cirurgia aberta da ATM também foram excluídos.

4.1.5 Estratégia de busca

Foi realizada uma pesquisa nos bancos de dados MEDLINE, Cochrane Central, Web of Science, Bibliografia Brasileira de Odontologia (BBO) e EMBASE até julho de 2022 de artigos nos idiomas inglês, espanhol e português. A estruturação da estratégia de busca foi feita usando o formato PICO (PICO QUESTION). As bases de dados foram acessadas pela estratégia de busca, em seguida os títulos e resumos foram analisados pela primeira vez. No segundo estágio, foram selecionados artigos de texto completo para leitura e análises cuidadosas em relação aos critérios de elegibilidade (inclusão/exclusão) e posterior extração de dados.

4.1.6 Pergunta PICO

Esta etapa foi estruturada considerando pacientes com OA-ATM que foram submetidos a procedimento de aplicação direta na ATM (por infiltração ou por aplicação tópica) (P), uso de diferentes substâncias com uso concomitante ou não de medicação sistêmica (I) em comparação com placebo ou outros tratamentos (C), determinam uma melhora dos sinais e sintomas da OA-ATM (O). Essa tática está apresentada na tabela 1 (p. 40). Após a busca no MESH (Medical Subject Headings) e no DECS (Descritores em Saúde), foram definidas as palavras-chave. Esses termos foram combinados com os operadores booleanos (AND e OR) e utilizados como estratégia de busca nas principais bases de dados para obtenção dos textos científicos.

Tabela 1-. Elementos da estratégia PICO, assunto relacionado e palavras-chave.

Componente	Indicador	Descritor
P: População de interesse	Pacientes com OA ATM	Temporomandibular Joint [ti] AND Osteoarthritis [ti] AND Temporomandibular joint OR TMJ [mh] OR Temporomandibular joint OR TMJ [tiab] OR TMJD
I: Intervenção	Aplicação de diferentes substâncias na ATM, com uso concomitante de medicação sistêmica ou não.	Drug Administration OR Drug Therapy
C: Comparação	Placebo ou outros tratamentos	simvastatin OR hyaluronic acid OR corticosteroids OR NSAIDs OR sodium hyaluronate OR platelet rich plasma OR glucosamine hydrochloride
O: Resultado/Desfecho	Melhora de sinais e sintomas da ATM	Temporomandibular Joint [ti] OR drug therapy

Fonte: Autor, 2022.

A estratégia de busca utilizada segue descrita na tabela 2.

Tabela 2- Estratégia de busca e base de dados.

Base de dados	Estratégia de busca
MEDLINE	((Osteoarthritis) AND (Temporomandibular Joint)) AND (Drug Therapy OR Drug Administration)
Web of Science	TS= (temporomandibular joint OR TMJ) AND TS= (osteoarthritis OR TMJD) AND TS= (drug therapy AND simvastatin OR hyaluronic acid OR corticosteroids OR NSAIDs OR sodium hyaluronate OR platelet rich plasma OR glucosamine hydrochloride)
Cochrane Central Library	(temporomandibular joint) AND (temporomandibular joint disorders OR osteoarthritis) AND (drug administration OR drug therapy)
EMBASE	('temporomandibular joint' OR tmjd) AND osteoarthritis AND 'drug therapy' AND (simvastatin OR 'hyaluronic acid' OR corticosteroids OR nsaid OR 'sodium hyaluronate' OR 'platelet rich plasma' OR 'glucosamine hydrochloride')
BBO	temporomandibular joint OR TMJ AND osteoarthritis AND drug therapy

Fonte: Autor, 2022.

4.1.7 Seleção de artigos originais

Inicialmente as bases de dados foram acessadas pela estratégia de busca citada, em seguida os títulos e os resumos foram analisados. No segundo estágio, foram selecionados artigos de texto completo para leitura e análise cuidadosa em relação aos critérios de elegibilidade (inclusão/exclusão) para posterior extração de dados realizada por dois revisores (Monaly de Oliveira Lima e Sara de Araújo Correia). Em casos de desacordo entre os revisores, reuniões foram realizadas visando uma conclusão consensual com um terceiro revisor (Ricardo Viana Bessa Nogueira), e o resultado dessa discussão após consenso foi considerado final. Um formulário padronizado foi utilizado para compilar os dados dos artigos incluídos (Apêndice B, p. 99). A concordância entre os revisores foi mensurada usando a estatística Kappa de Cohen (SIM; WRIGHT, 2005), que se refere a capacidade de aferir resultados idênticos aplicados ao mesmo fenômeno, entre avaliadores diferentes (MIOT, 2016). Os dados dos estudos foram compilados em um formulário padronizado (Apêndice A e B, p. 97 e 99 respectivamente).

4.1.8 Variáveis

Os estudos foram alocados em grupos baseados na terapêutica farmacológica utilizada. Foram consideradas variáveis independentes relacionadas ao: desenho do estudo, tempo de acompanhamento, número de sujeitos, faixa etária, média de idade, gênero, tipo de procedimento realizado e horário de administração da terapia medicamentosa empregada. As variáveis dependentes referentes a OA e a terapêutica para a ATM foram: melhora da dor, abertura de boca, presença/ausência de ruídos articulares e melhora geral da sintomatologia apresentada pelos pacientes.

4.1.9 Avaliação da qualidade metodológica

4.1.9.1 Escala de Jadad (JADAD, 1996)

A análise da qualidade de um estudo depende da avaliação de vários itens. No presente trabalho, visando a avaliação de estudos clínicos randomizados, a qualidade metodológica dos artigos foi avaliada pela Escala de Jadad (JADAD, 1996), que consiste em 5 perguntas que podem ser respondidas apenas com sim, a qual será representada pelo numeral 1 (um), ou não (a pontuação representada será zero) que versam sobre a randomização, o mascaramento do estudo e a descrição de perdas e exclusões.

Para a randomização: o método de geração da sequência aleatória será considerado apropriado quando todos os participantes do estudo possuem a mesma chance de receber uma determinada intervenção onde o investigador não possa prever. Para o mascaramento duplo-cego: um estudo deve ser considerado duplo-cego quando o termo "duplo-cego" for utilizado. O método será considerado apropriado quando nem o responsável pelo cuidado do paciente e nem o paciente tiveram como identificar o tipo de tratamento realizado, ou, na ausência desta declaração, se os usos de placebos idênticos ao tratamento com o medicamento utilizado foram mencionados (JADAD, 1996; CASTRO, 2001).

Para as perdas e exclusões: é necessário que os participantes que entraram no estudo, mas que não completaram o período de observação ou que não foram incluídos na análise, sejam descritos. Em casos que não houveram perdas, é necessário que esteja descrito no artigo. Se não houver a descrição de perdas, é atribuído a nota zero a este item. A pontuação máxima obtida é 5, estudos com pontuações menores que 3 são considerados de baixa qualidade metodológica (JADAD, 1996; CASTRO, 2001).

4.1.9.2 Análise do risco de viés

Para a análise do risco de viés dos estudos encontrados, foi realizada a Tabela de Risco para Viés (TRV). A TRV é uma ferramenta desenvolvida pela Colaboração Cochrane para ensaios clínicos randomizados (HIGGINS et al., 2019). Para isso, foi utilizada a versão 2.0 do Risk of Bias (RoB 2.0) que permite a análise do risco de viés mediante a avaliação em domínios. Os domínios avaliados foram:

Domínio 1: Risco de viés decorrente do processo de randomização;

Domínio 2: Risco de viés devido a desvios das intervenções pretendidas (Efeito da atribuição à intervenção ou efeito de aderir à intervenção);

Domínio 3: Dados de resultados ausentes;

Domínio 4: Risco de viés na medição do resultado;

Domínio 5: Risco de viés na seleção do resultado relatado.

As perguntas de sinalização e a forma de pontuação de cada item estão detalhados no anexo A.

4.1.9.3 Análise da qualidade da evidência

A qualidade e a força de recomendação da evidência foram avaliadas pela ferramenta Grading of Recommendations Assessment, Development and Evaluation (GRADE). A ferramenta GRADE avalia a qualidade da evidência baseada no delineamento do estudo, risco de viés, inconsistência, evidência indireta, imprecisão e outras considerações, podendo ser caracterizada como alta, moderada, baixa ou muito baixa. A ferramenta GRADE disponibilizada no website <http://gradepr.org> possibilitou a criação de uma tabela de resumos dos achados, que representam a

confiança na informação utilizada em apoio a uma recomendação (BALSHEM et al., 2011; BRASIL, 2014).

4.2 Estudo Experimental

4.2.1 Reagentes

A sinvastatina (S6196, $\leq 97\%$ de pureza – HPLC), o tampão de fosfato (phosphate buffered saline – PBS), o Tween-20, o metanol P.A., a coloração com kit panótico, o reagente de Griess (A e B), LPS (Lipopolissacarídeo, *E coli* I0127:B8), meio de cultivo celular (DMEM), L-glutamina, o MTT ([brometo de (3-(4,5-dimetiltiazol-2-yl)-2,5-difenil tetrazólio)], e o zimosan de *Saccharomyces cerevisiae*, foram adquiridos da Sigma-Aldrich (Saint-Louis, MO, EUA). O dimetilsufóxido (DMSO), foi obtido da Synth (Diadema, SP, BRA). O soro bovino fetal (SBF) e a penicilina/estreptomicina foram obtidos da Gibco (Invitrogen, Carlsbad, CA, USA).

4.2.2 Cultivo celular

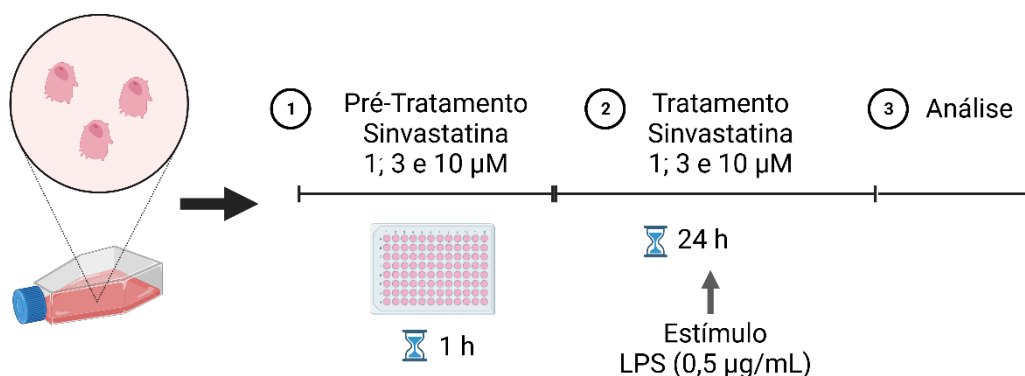
Foi utilizada a linhagem de osteoblastos humanos (MG-63), obtida do Banco de Células do Rio de Janeiro (BCRJ). As células foram mantidas seguindo as instruções do BCRJ, sendo cultivadas em meio de cultura Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM), suplementado com Soro Bovino Fetal (SBF, 10%), penicilina/estreptomicina (0,02%), piruvato de sódio (1 mM) e L-glutamina (2 mM), em atmosfera umedecida contendo 5% de CO₂, à 37 °C em garrafas de cultura de 25 cm³. O crescimento celular foi acompanhado por meio de observação em microscópio invertido (Olympus IX70).

Para fins de manutenção celular, foram realizadas trocas de suplementação a cada 72 horas com confluência celular em torno de 80% (ISHIMOTO et al., 2019). As células foram desaderidas da garrafa de cultura por tripsinização, utilizando 3 mL de tripsina a 0,05% por 5 minutos. Em seguida, as células foram transferidas para um falcon de 15 mL e centrifugadas por 10 minutos. Após este período, o sobrenadante foi descartado e as células ressuspensas com a adição de um 1 mL de meio DMEM para posterior passagem para a nova garrafa de cultura de 25 cm³ com meio suplementado novamente com DMEM, suplementado com SBF (10%), penicilina/estreptomicina (0,02%), piruvato de sódio (1mM) e L-glutamina (2 mM), em atmosfera umedecida contendo 5% de CO₂, à 37°C.

4.2.3 Tratamento com sinvastatina

As células em cultivo foram pré-tratadas com sinvastatina, solubilizada em PBS, por 1 hora nas concentrações 1, 3 e 10 μM . Após este pré-tratamento, o meio de cultivo foi retirado e as células foram tratadas novamente nas mesmas concentrações de sinvastatina concomitante com a estimulação com LPS (0,5 $\mu\text{g/mL}$), por 24 horas, após este período foram realizadas as análises, como pode ser evidenciado na Figura 8.

Figura 8- Esquema de tratamento com sinvastatina.



Esquema do protocolo de tratamento utilizado com sinvastatina. Para o ensaio de viabilidade celular por MTT, as células foram pré-tratadas com diferentes concentrações de sinvastatina (1, 3, 10 μM), e posteriormente tratadas por 24 horas para análise em espectrofotômetro. No ensaio para avaliação da morfologia celular, da produção de óxido nítrico e da fagocitose, as células foram pré-tratadas com sinvastatina e estimuladas com LPS por 24 horas. Além disso, partículas de zimosan foram adicionadas ao ensaio de fagocitose em conjunto ao tratamento com sinvastatina. **Fonte:** Autor, 2022.

4.2.4 Ensaio de viabilidade celular

O efeito da sinvastatina sobre a viabilidade de osteoblastos foi avaliado pelo ensaio de 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolio (MTT) descrito por Mosmann (1983). Este método tem por base a avaliação indireta da viabilidade celular a partir da atividade da enzima mitocondrial desidrogenase em clivar os anéis de tetrazólio do MTT, formando cristais de formazan que são impermeáveis às membranas celulares e ficam retidos no interior das células viáveis. Após a lise celular, os sais de formazan são liberados e dissolvidos, sendo a quantidade de células viáveis diretamente proporcional ao nível de cristais produzidos (TEIXEIRA et al., 2011; MOSMAM, 1983).

Para este ensaio, células de linhagem celular MG-63 foram semeadas em placas de 96 poços (7×10^3 células/poço), em 200 μL /poço, e mantidas em estufa de

CO₂ com adesão *overnight* a 37°C. Posteriormente, as células foram submetidas ao tratamento com sinvastatina diluída em meio DMEM em diferentes concentrações (1, 3, 10 e 30 µM), ou apenas meio DMEM suplementado com SBF a 2%, penicilina/estreptomicina (0,02%), piruvato de sódio (1 mM) e L-glutamina (2 mM) (grupo controle) por 24h e 48h em estufa de CO₂. Após o tratamento de 24h e 48h foi adicionado 25 µL/poço de MTT (5 mg/mL de PBS). O MTT foi incubado por 4 horas em uma temperatura de 37°C e 5% de CO₂. Após o período de incubação de 4 horas, o sobrenadante foi desprezado e, sobre as células, foi adicionado 150 µL de dimetilsulfóxido 1% (DMSO), para solubilizar os cristais de formazan produzidos. A densidade óptica (DO) da solução em cada poço foi mensurada a 540 nm em espectrofotômetro. O percentual de viabilidade celular foi determinado em relação à amostra de controle, seguindo à fórmula:

$$\% \text{ viabilidade celular} = \frac{\text{Densidade óptica das células tratadas}}{\text{Densidade óptica das células não tratadas}} \times 100$$

4.2.5 Ensaio de morfologia celular

A avaliação da morfologia celular dos diferentes grupos estimulados ou não com LPS e tratados com sinvastatina, foi realizada mediante a análise por microscopia óptica com aumento de 100x no microscópio invertido (Olympus IX70). Para isso, as células foram semeadas em microplacas de 96 poços na densidade de $2,5 \times 10^3$ células, em 200 µL por poço, com meio DMEM suplementado a 10% de SBF, sendo mantidas *overnight* em estufa de CO₂. Posteriormente, as células foram mantidas em meio de cultura suplementado com 2% de SBF por 24 horas, e organizadas nos seguintes grupos experimentais: grupo controle (células expostas apenas ao meio de cultivo DMEM), grupo sinvastatina (1, 3 e 10 µM de sinvastatina), grupo de células estimuladas com 0,5 µg/mL de LPS, e grupo de células estimuladas com LPS (0,5 µg/mL) e tratadas com sinvastatina (1, 3 e 10 µM). Após esse período, a morfologia celular foi observada e diferenciada quanto ao seu aspecto polarizado e arredondado mediante a contagem celular pelo aplicativo WBC Counter e expresso em porcentagem.

4.2.6 Avaliação da atividade fagocítica

Células MG-63 foram semeadas (2×10^4 /poço) sobre lamínulas de vidro circular de 13 mm de diâmetro, dispostas em placas de 24 poços em DMEM (SBF 10%, L-glutamina 2 mM, piruvato de sódio (1mM) e penicilina/estreptomicina 0,02%) e mantidas em estufa de CO₂ à 37°C. A proporção de partículas de zimosan para cada célula MG-63 foi de 1:10 (Adaptado de SIGOLA et al., 2016), sendo todos os grupos mantidos em estufa de CO₂ à 37°C e avaliados 24 h após estimulação com LPS (0,5 µg/ml), exposição ao zimosan e tratamento com sinvastatina. Os grupos experimentais foram divididos em: grupo controle; grupo tratado com sinvastatina (1 µM); grupo exposto ao zimosan; grupo estimulado com LPS; grupo expostos ao zimosan e tratados com sinvastatina (1 µM) e grupo exposto ao zimosan e estimulado com LPS.

Após o período de 24 horas, as lamínulas foram lavadas com PBS, fixadas com metanol P.A. por 10 minutos e coradas com kit panótico (1:10). Em seguida, as lamínulas foram lavadas e montadas em lâminas com Entellan®. As lâminas foram examinadas por microscopia de luz, utilizando o microscópio Olympus BX41. A fagocitose foi determinada a partir de fotomicrografias com aumento de x400, contando 100 osteoblastos por poço. A fagocitose foi avaliada como o número médio de partículas por célula (NMP), pela porcentagem de células que fagocitaram (PF), e pelo índice fagocitário (IF) que foi determinado da seguinte forma: $IF = NMP \times PF$.

4.2.7 Ensaio de óxido nítrico

A avaliação da produção de óxido nítrico (NO) foi avaliada através do método indireto de Griess (GREEN et al., 1982), mediante a análise da produção de nitrito dos sobrenadantes dos diferentes grupos estimulados ou não com LPS e tratados com sinvastatina. Para isso, as células foram semeadas em microplacas de 96 poços na densidade de 5×10^3 células, em 200 µL por poço, com meio DMEM suplementado a 10% de SBF, sendo mantidas overnight em estufa de CO₂. Posteriormente, as células foram mantidas em meio de cultura suplementado com 2% de SBF por 24 horas, e organizadas nos seguintes grupos experimentais: grupo controle (células expostas apenas ao meio de cultivo DMEM), grupo sinvastatina (células expostas as concentrações de 1 µM), grupo de células estimuladas com 0,5 µg/mL de LPS, e grupo

de células estimuladas com LPS (0,5 µg/mL) e tratadas com sinvastatina (1 µM). Após 24 horas, 100 µL do sobrenadante de cada grupo foi recolhido e colocado em uma placa de 96 poços de fundo chato. As concentrações de nitrito foram obtidas através da análise de regressão linear a partir da curva padrão, empregando-se diluições seriadas de nitrito de sódio a partir de 100 µl de uma curva de concentração inicial de 100 µM, até a décima primeira diluição. Em seguida foi adicionado o reagente de Griess em uma proporção de 1:1 dos reagentes A e B nas amostras bem como na curva padrão. A densidade óptica por espectrofotometria foi medida no comprimento de onda de 540 nm, e os resultados foram expressos em µM (nitrito).

4.2.8 Análise estatística

Os dados foram tabulados em planilhas de excel e posteriormente adicionados ao programa GraphPad Prism® 7.0 (Software Inc., San Diego, CA, EUA). Todos os resultados foram expressos em média ± desvio padrão (S.D.). Comparação estatística entre os grupos foi realizada por análise de variância One-way ANOVA seguida pelo pós-teste de comparações múltiplas de Newman-Keuls. O resultado das diferenças foi considerado estatisticamente significativo para valores de $p \leq 0,05$ usando o mesmo programa GraphPad Prism® 7.0.

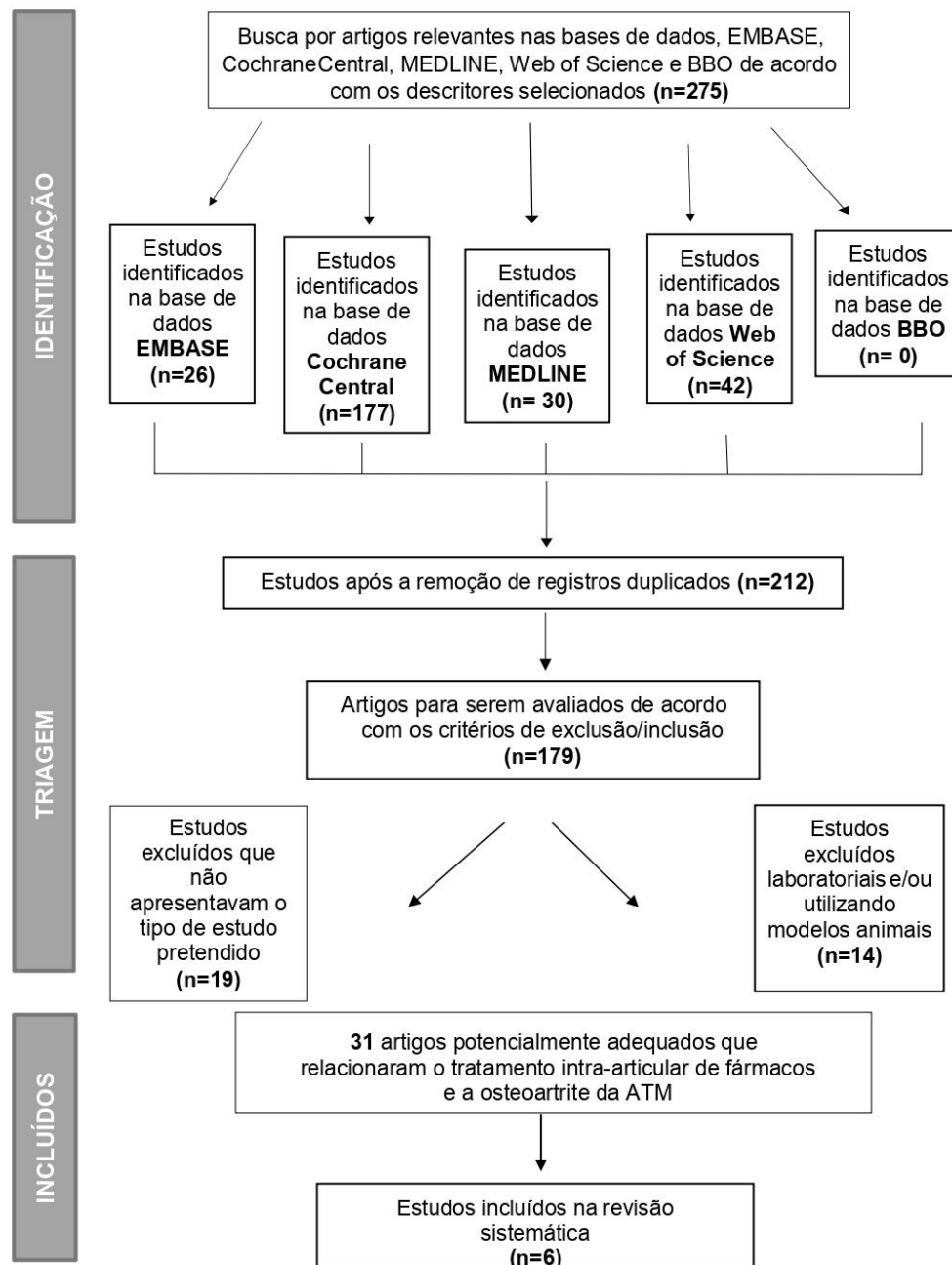
5 RESULTADOS

5.1 Revisão Sistemática

5.1.1 Artigos originais identificados

Um total de 275 artigos foram encontrados em todas as bases de dados citadas anteriormente. Depois de remover duplicatas, 212 artigos permaneceram. Após a leitura dos títulos e dos resumos, com a observação do atendimento da aplicação dos critérios para seleção dos artigos, foram excluídos 33 artigos, onde 19 deles não apresentavam o tipo de estudo pretendido e 14 tratavam-se de estudos laboratoriais e/ou utilizando modelos animais. Dos 179 artigos resultantes, 148 artigos não abordavam a problemática de interesse. Os revisores concordaram fortemente (Kappa de Cohen = 0,87) para a seleção dos artigos. Após discussão com um terceiro revisor, 31 artigos foram avaliados como potencialmente relevantes para a análise na íntegra, porém, apenas 6 artigos atenderam a todos os critérios pré-estabelecidos. Tratam-se de estudos experimentais que avaliaram pacientes com OA-ATM, bem como o tratamento destes de forma intra-articular com associação ou não de medicação sistêmica concomitante. O fluxograma PRISMA para a realização desta revisão é fornecido na figura 9 (p. 52).

Figura 9 - Fluxograma PRISMA da Estratégia de Busca.



Fonte: Autor, 2022.

As informações sobre os autores, o ano de publicação, o tipo de estudo, o tamanho da amostra, a idade, o tempo de acompanhamento e os parâmetros avaliados de cada estudo estão descritos na tabela 3 (p. 53).

Tabela 3 - Características dos estudos avaliados.

Nº	Autores	Ano	Tipo de estudo	Nº da amostra	Idade	Tempo de acompanhamento	Parâmetros avaliados
1.	Bjørnland et al.	2007	Estudo randomizado	40	51,7 anos (>20 anos)	6 meses	Dor Abertura de boca Movimentos mandibulares Ruídos mandibulares
2.	Cen et al.	2018	Estudo randomizado duplo cego	144	38,1 anos (16-70 anos)	12 meses	Dor Abertura de boca Níveis de IL-1 β , IL-6, e TGF- β no líquido sinovial da ATM.
3.	Gencer et al.	2014	Estudo randomizado duplo-cego	100	39,4 anos (20-65 anos)	6 semanas	Dor
4.	Kutuk et al.	2019	Estudo randomizado	60	36,1 anos (>16 anos)	3 meses	Dor Ruídos articulares Perda de função Perda de força
5.	Tang et al.	2010	Estudo randomizado duplo-cego	40	43,5 anos (25-63 anos)	5 semanas	Dor Avaliação de citocinas no líquido sinovial dos níveis de uPA, receptor de uPA (suPAR) e inibidor De PA 1 (PAI-1).
6.	Yang. et al.	2018	Estudo randomizado duplo cego	144	38,1 anos (16-70 anos)	12 meses	Dor Abertura de boca Movimentos mandibulares Qualidade de vida

Fonte: Autor, 2022.

Dos 6 artigos que se encaixaram nos critérios de inclusão, 4 compararam os diferentes efeitos do tratamento com o grupo controle, e 2 compararam os resultados, entre si, das respectivas intervenções utilizadas. No total 528 pacientes foram avaliados quanto a terapia intra-articular de diferentes fármacos na ATM.

Os detalhes dos protocolos utilizados pelos estudos estão dispostos na tabela 4 (p. 54). A média de idade dos pacientes foi de 41,1 anos. O tempo de acompanhamento clínico variou de 5 semanas a 12 meses. As pesquisas com maior número de participantes (27,2% ambos) foram Yang e colaboradores (2018) e Cen e colaboradores (2018).

Tabela 4 - Protocolo dos estudos incluídos.

Nº	Autores	Ano	Protocolo utilizado	Método de aplicação
1.	Bjørnland et al.	2007	0,7–1 mL de AH, (Hylan GF 20®), ou CS (betametasona).	Duas injeções intra-articulares de HS ou CS com intervalo de 14 dias.
2.	Cen et al.	2018	1 mL de A.H (20mg/2mL) + comprimidos de GS 240mg, 2 comprimidos, 3 vezes ao dia, durante 3 meses, ou 20mg/mL de A.H + placebo.	Injeções intra-articulares 1 vez por semana, durante 4 semanas em conjunto a 2 comprimidos de cloridrato de GS (240 mg) ou 2 comprimidos de placebo, 3 vezes ao dia, durante 3 meses.
3.	Gencer et al.	2014	10 mg/mL de AH (Hyalgan); 7 mg/mL.Betametasona; 20 mg/mL de Tenoxicam ou solução salina.	0,5 ml de solução de HA, CS, TX ou solução salina foi injetada uma vez, intra-articularmente guiadas por ultrassonografia.
4.	Kutuk et al.	2019	1 mL de PRP, AH ou CS (triancinolona).	1mL injetada intra-articularmente de PRP, AH ou CS guiadas por ultrassonografia.
5.	Tang et al.	2010	1mL de HS ou solução salina fisiológica. Coleta de líquido sinovial antes e depois de pacientes com OA-ATM e sem OA-ATM.	5 injeções intra-articulares de HS ou injeção de solução salina fisiológica uma vez por semana, durante 5 semanas.
6.	Yang. et al	2018	20mg/mL de HS (Sofast®) + comprimidos de glucosamina 240mg, 2 comprimidos 3 vezes ao dia (1,44 g/dia) por 3 meses ou 20mg/mL de HS + placebo.	4 injeções intra-articulares de HS uma vez por semana durante 3 semanas consecutivas + comprimidos via oral de glucosamina ou placebo oral por 3 meses

Legenda: AH: Ácido hialurônico, CS: Corticoesteróides, GS: Glucosamina, HS: Hialuronato de sódio, PRP: Plasma rico em plaquetas e TX: Tenoxicam. **Fonte:** Autor, 2022.

5.1.2. Variáveis analisadas

As variáveis de interesse, tipo de abordagem de acordo com a estratégia PICO, e os resultados e implicações clínicas a respeito dos artigos selecionados estão descritas na síntese de evidências da tabela 5 (p. 55).

Tabela 5 - Síntese de evidências dos artigos selecionados.

Nº	Autores	Tipo de abordagem	Melhora da dor	Ruídos articulares	Abertura de boca	Repercussão clínica / Melhora geral
1.	Bjørnland et al., 2007.	# Injeções com H.S. 20 participantes # Injeções com Corticóides 20 participantes	HS Melhora em 7 de 20 (35%). Inicial 70 ($\pm 16,2$), final 14 ($\pm 16,2$). CS Melhora em 6 de 20 (30%). Inicial 73 ($\pm 18,1$), final 31 ($\pm 31,7$).	Melhora em 6 articulações Melhora em 9 articulações	HS Inicial 33,1 ($\pm 9,3$), final 40,0 ($\pm 8,3$). CS Inicial 35,4 ($\pm 8,4$), final 39,0 ($\pm 8,5$).	# Menos intensidade da dor em 6 meses para ambos os grupos # Melhora geral na maioria dos participantes (52,5%) do grupo tratado com H.S. # Melhora em 50% dos participantes do grupo tratado com corticoides.
2.	Cen et al., 2018.	# Injeções com A.H. associado a glucosamina oral. 67 participantes # Injeções com A.H. associado a placebo oral. 69 participantes	A.H. e glucosamina oral (linha de base 49,53 $\pm$ 23,26; avaliação final 17,42 $\pm$ 18,41). A.H. e placebo oral (linha de base 51,11 $\pm$ 21,45; avaliação final 28,61 $\pm$ 20,32).	Não foram avaliados	A.H. e glucosamina oral (linha de base 31,65 $\pm$ 8,34; avaliação final 41,51 $\pm$ 5,45). A.H. e placebo oral (linha de base 31,53 $\pm$ 8,60; avaliação final 37,92 $\pm$ 5,45).	# Ambas as estratégias aliviaram os sintomas em curto prazo. # Menos intensidade da dor em 1 ano de acompanhamento no grupo tratado com A.H. e glucosamina oral. # Melhora no parâmetro abertura máxima de boca no grupo A.H e glucosamina em 1 ano de acompanhamento.
3.	Gencer et al., 2014.	# Injeções com A.H. 25 participantes # Injeções com Betametasona 25 participantes # Injeções com Tenoxicam 25 participantes # Injeções com Solução Salina 25 participantes	EVA para dor em média 3,41 $\pm$ 1,2 variando de 3 a 9 EVA para dor em média 4,51 $\pm$ 1,0 variando de 0 a 8 EVA para dor em média 5,86 $\pm$ 0,1 variando de 0 a 7 EVA para dor em média 8,16 $\pm$ 1,5 variando de 0 a 9	Não foram avaliados	Não foram avaliados	# Os escores de alívio de dor do A.H. foram maiores em comparação aos outros grupos # Melhora geral dos pacientes utilizando todas as medicações.
4.	Kutuk et al., 2019.	# Injeções com PRP 12 participantes # Injeções com A.H. 14 participantes # Injeções com Corticóides 17 participantes	EVA para dor em média 2 variando de 1 a 6 EVA para dor em média 5,5 variando de 2 a 7 EVA para dor em média 1 variando de 1 a 7	Presença de Creptação 0 (0,0%) Presença de Creptação 7 (50,0%) Presença de Creptação 12 (70,6%)	Perda de função Melhora de 9 para 0 (PRP) Melhora de 9 para 4 (A.H.) Melhoras de 14 para 10 (CS)	# As injeções intra-articulares com PRP foram mais efetivas em comparação aos outros grupos # Redução mais eficaz da dor no grupo PRP em comparação aos outros # Redução de ruídos foi mais eficaz no grupo PRP. Nos outros grupos eles acabaram aumentando
5.	Tang et al., 2010.	# Injeções com HS. 20 participantes # Injeções com Solução Salina 20 participantes	Melhora da EVA para dor em média 4,52 $\pm$ 2,54 #Controle	Não foram avaliados	Não foram avaliados	# Os pacientes tratados H.S. tiveram melhora da dor. # Não houve diferença após a injeção de solução salina.
6.	Yang et al., 2018.	# 4 injeções com H.S + Glucosamina Oral (1,44g/d) por 3 meses. 72 participantes # 4 Injeções com H.S. + Placebo por 3 meses. 72 participantes	#EVA para dor em média 17,4 $\pm$ 18,4 #EVA para dor em média 28,6 $\pm$ 20,3	Não foram avaliados	H.S + glucosamina oral (aumento de 9,85 mm) H.S. isolado (aumento de 6,37 mm)	# O uso associado da glucosamina oral demonstrou uma maior redução da intensidade da dor em um acompanhamento a longo prazo (6-12 meses).

AH: Ácido hialurônico, CS: Corticoesteróides, HS: Hialuronato de sódio, PRP: Plasma rico em plaquetas e TX: Tenoxicam. Fonte: Autor, 2022. **Fonte:** Autor, 2022.

5.1.2.1 Variáveis Independentes

A população estudada totalizou um número de 528 pacientes avaliados. 428 pacientes, representando 81% do total de participantes, receberam injeções intra-articulares em comparação a uma terapia placebo, que foi determinada nos estudos por grupos tratados com injeções de solução salina ou a não adição da terapia oral associada. 100 participantes dos estudos (18,9%) foram avaliados pela comparação entre si das respectivas eficácias dos grupos intervenção. Os detalhes da terapia empregada em cada estudo estão descritos na tabela 4 (p.54). Não foram encontrados estudos envolvendo a administração tópica de fármacos para a OA-ATM.

A média de idade dos pacientes correspondente a cada estudo segue na tabela 3 (p. 53). Quanto ao número de participantes no estudo, Yang e colaboradores (2018) e Cen e colaboradores (2018) tiveram o maior número de participantes, totalizando 144 em cada estudo, respectivamente. Foi possível observar a predominância do gênero feminino em todos os estudos avaliados (71,2%). Não foram observados a descrição do horário de administração da terapia empregada em nenhum dos estudos avaliados.

Todos os estudos selecionados constituíam estudos clínicos randomizados, variando de 5 semanas a 12 meses de acompanhamento dos pacientes, com diferentes fármacos administrados de forma direta na ATM, dentre eles: Injeções com ácido hialurônico (AH), hialuronato de sódio (HS), anti-inflamatórios esteroidais (betametasona), anti-inflamatórios não esteroidais (tenoxicam), plasma rico em plaquetas (PRP) e glucosamina oral.

5.1.2.2 Variáveis dependentes

5.1.2.2.1 Melhora da dor

A variável melhora da dor foi descrita em todos os estudos a partir da escala visual analógica (EVA do inglês: Visual analogue scale). Para Bjørnland e colaboradores (2007), uma menor intensidade da dor foi observada em pacientes tratados com hialuronato de sódio em comparação com pacientes tratados com corticosteroides (betametasona) em um período total de acompanhamento de 6

meses, além disso, os pacientes que apresentaram dor na ATM associada a dores miofasciais obtiveram um menor resultado da melhora da dor em comparação aos pacientes apenas com dor na ATM. Esses resultados fundamentam a melhora geral dos pacientes ao longo do estudo, destacando, no entanto, a maior relevância no grupo hialuronato de sódio em comparação ao grupo tratado com corticosteroide ($p=0.001$) (BJØRNLAND et al., 2007).

Dentre os estudos avaliados, o trabalho de Cen e colaboradores (2018) buscou avaliar injeções intra-articulares de ácido hialurônico (AH) associado a terapia com glucosamina oral em comparação com a terapia com AH sem a associação com glucosamina oral. Como resultados, foi reportado uma diminuição significativa na percepção a dor em ambos os grupos após 1 mês de tratamento, sem diferenças estatísticas entre os dois grupos. Entretanto, em um acompanhamento de 12 meses, a pontuação média da EVA diminuiu significativamente no grupo intervenção (linha de base: $49,53 \pm 23,26$; avaliação final $17,42 \pm 18,41$) em comparação ao grupo controle (linha de base $51,11 \pm 21,45$; avaliação final $28,61 \pm 20,32$) ($p=0,001$).

Gencer e colaboradores (2014) mostraram que o grupo AH (10 mg / ml) apresentou escores de alívio da dor significativamente melhores em comparação com os outros grupos de anti-inflamatórios (betametasona e tenoxicam), na 1ª e 6ª semanas ($p<0,05$). Observou-se, também, que o efeito do alívio da dor dos pacientes tratados com tenoxicam (TX) (20 mg de tenoxicam/mL) diminuiu significativamente entre a 1ª e a 6ª semana, e no geral, os valores de alívio de dor dos grupos TX e CS (7,0 mg de betametasona/mL) foram melhores do que os escores do grupo controle.

Kutuk e colaboradores (2019) analisando diferentes grupos tratados com PRP, AH e corticosteroide (triancinolona), inferiu que o grupo tratado com PRP, obteve pontuações EVA em média para dor de 2, variando de 1 a 6, apresentando uma redução mais eficaz da dor em comparação aos outros grupos ($p<0,05$). As alterações nas pontuações da escala EVA foram significativas no 2º e 3º mês de acompanhamento. As diferenças entre o 1º e 3º mês foram estatisticamente significantes de acordo com correção de Bonferroni ($p<0,0028$).

Os escores de dor, medidos pela escala visual analógica apontaram melhora geral da dor em média $4,52 \pm 2,54$ em comparação a linha de base ($7,48 \pm 2,83$; $p<0,05$) no grupo tratado com HS, assim como diferenças significativas foram observadas entre o grupo intervenção com HS e o grupo controle tratado com injeção

de solução salina ($p < 0,05$) durante o acompanhamento de 5 semanas (TANG et al., 2010).

Para Yang e colaboradores (2018), os valores em média obtidos pelos escores da escala EVA foram significativamente menores quando comparados a associação dos comprimidos orais de cloridrato de glucosamina (1,44 g/dia) com a injeção intra-articular de hialuronato de sódio na ATM, sendo eles $17,4 \pm 18,4$ e $28,6 \pm 20,3$ ($p < 0,001$), respectivamente. Vale ressaltar que resultados significativos entre os grupos foram obtidos ao longo de 12 meses de acompanhamento, visto que não foram observados a modulação da dor em curtos períodos de tempo (0 – 3 meses).

5.1.2.2.2 Abertura de boca

A função mandibular avaliada por Bjørnland e colaboradores (2007), apresentou um aumento significativo no seguimento de 6 meses da abertura vertical e da protrusão no grupo tratado com hialuronato de sódio, inicial $33,1 (\pm 9,3)$, final $40,0 (\pm 8,3)$, em comparação ao grupo tratado com CS (betametasona), inicial $35,4 (\pm 8,4)$, final $39,0 (\pm 8,5)$. Além da abertura vertical mandibular e dos movimentos de protrusão, movimentos laterais também foram avaliados, o qual para movimentos laterais, ambos os tratamentos melhoraram a função (HS, $p = 0,024$; CS, $p = 0,042$).

No estudo de Cen e colaboradores (2018), houve um aumento acentuado na abertura máxima de boca após o tratamento em ambas terapias no período de 1 mês de acompanhamento (AH associado a glucosamina oral e AH associado ao placebo), sem diferenças estatísticas entre os grupos. No acompanhamento de 12 meses após a intervenção, o grupo tratado com AH associado a glucosamina oral obteve aumentos significativos (linha de base $31,65 \pm 8,34$; avaliação final $41,51 \pm 5,45$) em comparação ao grupo controle (linha de base $31,53 \pm 8,60$; avaliação final $37,92 \pm 5,45$) ($p < 0,001$).

Não foi especificado o termo análise de abertura de boca no estudo de Kutuk e colaboradores (2019). Para esse estudo, a nomenclatura utilizada foi a perda de função. Entende-se que a limitação na abertura de boca compromete a função. Diante disso, não foi possível observar diferenças estatísticas entre os grupos (PRP, AH, CS) $p > 0,0028$ na variável perda de função avaliada por Kutuk e colaboradores (2019). Entretanto, houve melhora considerável desse parâmetro no grupo tratado com PRP (75% da amostra participante do grupo PRP apresentava perda de função. Após 3 meses de acompanhamento, todos os participantes afetados apresentaram melhora

no parâmetro perda de função). Nos grupos tratados com AH, houve uma melhora de 64,3% para 28,6% dos participantes acometidos com perda de função, e de 82,4% para 58,8% dos pacientes do grupo tratado com CS.

Yang e colaboradores (2018) observaram um aumento considerável no parâmetro abertura máxima de boca após o tratamento com ambas terapias (HS intra-articular associado a GS oral ou HS associado a placebo oral) selecionadas no período de tempo entre 1, 3 e 6 meses, porém sem diferenças estatísticas ($p>0,05$). Após um 1 ano de acompanhamento, o grupo tratado com hialuronato de sódio + cloridrato de glucosamina apresentou uma melhora estatisticamente significativa na abertura máxima de boca em 9,85 mm ($41,5\pm5,45$), em comparação ao grupo controle com 6,37 mm ($37,9\pm5,45$) ($p<0,001$). Parâmetro não avaliado por Gencer e colaboradores (2014) e Tang e colaboradores (2010).

5.1.2.2.3 Presença ou ausência de ruídos

Bjørnland e colaboradores (2007), observaram que ambos os grupos obtiveram diminuição nos sons articulares após a administração de HS e CS. Com melhora em 6 articulações de 12 no grupo HS a partir da primeira aplicação e melhora em 9 articulações de 17 no grupo tratado com CS a partir da segunda aplicação ($p=0,014$).

No estudo de Kutuk e colaboradores (2019), diante do parâmetro presença ou ausência de ruídos. Não foi possível observar diferenças estatísticas entre os grupos (PRP, AH, CS $p>0,0028$) em relação a presença ou ausência de ruídos nos diferentes tempos de acompanhamento (avaliação prévia ao tratamento e a cada mês, durante 3 meses). Entretanto, houve melhora considerável no grupo PRP (75% da amostra que apresentava crepitação foram cessadas totalmente após o tratamento - 0%), em comparação aos outros grupos avaliados (grupo tratado com AH com melhora de 64,3% para 50,0% dos participantes que apresentavam crepitação e grupo tratado com CS com melhora de 76,5% para 70,6%).

O parâmetro presença ou ausência de ruídos não foi avaliado por Gencer e colaboradores (2014), Tang e colaboradores (2010) e Yang e colaboradores (2018).

5.1.2.2.4 Melhora geral da sintomatologia

Pacientes tratados com injeções de hialuronato de sódio ou CS, apresentaram melhora tanto da dor como da função após acompanhamento de 6 meses. Em um comparativo quanto a dor apenas na ATM e a dor na ATM em conjunto com dores miofasciais, a melhora foi mais acentuada em pacientes tratados apenas com dor na ATM, onde a injeção com hialuronato de sódio apresentou resultados mais significativos (BJØRNLAND et al., 2007).

Cen e colaboradores (2018) observou uma melhora dos escores de dor em conjunto com um aumento da abertura de boca em ambas terapias avaliadas (AH + glucosamina oral 240mg, 3 vezes ao dia; AH + placebo oral) em um período de 1 mês de acompanhamento. Além disso, as concentrações de IL-6 avaliadas pela coleta de líquido sinovial da ATM, mostraram-se reduzidas com o tratamento associado a glucosamina oral em comparação a terapia com placebo. Em 12 meses de acompanhamento, foi possível observar uma melhora significativa ($p < 0,05$) nos parâmetros clínicos avaliados (dor e abertura de boca), na redução de citocinas inflamatórias (IL-6 e IL-1 β), e no aumento dos níveis de TGF- β no líquido sinovial dos pacientes tratados com AH associado a glucosamina oral em comparação a terapia placebo.

Diante dos parâmetros estudados (dor e sensação de desconforto na ATM), houve uma acentuada melhora após a administração de todos os fármacos avaliados (AH, betametasona, tenoxicam e solução salina). Destes, o AH obteve resultados significativamente melhores na melhora da dor em comparação aos outros grupos ($p < 0,05$) (GENCER et al., 2014).

Pacientes tratados com PRP, HA e CS obtiveram melhora geral em todas as terapias utilizadas no conjunto de parâmetros estudados (avaliação da dor, ruídos na ATM, perda de função e perda de força), obtendo melhora acentuada no grupo tratado com PRP (KUTUK et al., 2019).

O tratamento com hialuronato de sódio para Tang e colaboradores (2010), proporcionou o alívio da dor mediante a redução do escore de dor (EVA), correlacionando-se com alterações nos níveis de plasminogênio do tipo uroquinase (uPA) e do receptor solúvel de uPA (uPAR), bem como na atividade de uPA. Não houveram outros parâmetros clínicos avaliados.

A terapia com HS combinada com glucosamina oral (1,44 g/dia) proporcionaram alívio da dor (3 a 6 meses de acompanhamento) causada pela OA da ATM e melhora na funcionalidade da ATM a longo prazo (6 a 12 meses de acompanhamento), entretanto, não apresentaram melhora significativa dos outros parâmetros estudados (abertura máxima de boca e dor) em um curto período de acompanhamento. Efeitos adversos puderam ser observados (fadiga, erupção cutânea e efeitos adversos no trato gastrointestinal), porém sem diferenças estatísticas entre o grupo intervenção (18%) e o placebo (15,2%) (YANG et al., 2018).

5.1.3 Avaliação da qualidade metodológica

5.1.3.1 Escala de qualidade (JADAD et al., 1996)

Em relação à qualidade dos artigos, após a leitura criteriosa e a aplicação da Escala de Jadad, foi possível observar que 4 de 6 estudos (66%) conseguiram pontuação maior que 3 na escala de JADAD, onde 3 estudos apresentaram 5 pontos e um estudo apresentou 4 pontos. Isto implica em uma classificação de boa qualidade metodológica ao menos para esta classificação. Os demais, não foram considerados estudos com boa qualidade metodológica, visto que dois estudos apresentaram uma pontuação menor que 3, pois não apresentaram descrições claras quanto ao processo de randomização e cegamento (Tabela 6, p. 62).

Os dados dessas observações seguem nos apêndices C ao H. Os artigos foram representados pelas letras A-F, onde (A): Bjørnland e colaboradores (2007); (B): Cen e colaboradores (2018); (C) Gencer e colaboradores (2014); (D): Kutuk e colaboradores (2019); (E): Tang e colaboradores (2010) e (F): Yang e colaboradores (2018).

Quanto a descrição de perdas ou exclusões, os estudos C, D e E não relataram perdas ou exclusões durante o seguimento do estudo, deste modo, este quesito foi considerado positivo para a pontuação a seguir. O estudo A, relatou 3 perdas, porém sem especificações do motivo, recebendo assim uma pontuação negativa representada pelo número 0, os estudos B e F, relataram e descreveram os motivos das perdas, recebendo assim um ponto positivo representado pelo número 1 (apêndice H).

Tabela 6- Pontuações atingidas pelos estudos segundo a Escala de Jadad.

Perguntas	Pontuação					
	A	B	C	D	E	F
1a.O estudo foi descrito como aleatório (uso de palavras como "randômico", "aleatório", "randomização")?	1	1	1	1	1	1
1b. O método da randomização foi descrito e é adequado?	0	1	1	0	0	1
2a. O estudo foi descrito como duplo-cego?	0	1	1	0	1	1
2b. O método foi adequado?	0	1	1	0	1	1
3. Houve descrição das perdas e exclusões?	1	1	1	1	1	1
Total	2	5	5	2	4	5

As respostas variam de 0 (não) e 1(sim), para cada afirmação positiva, 1 ponto é gerado, que resulta em uma avaliação de 0-5. (A): Bjørnland e colaboradores (2007); (B): Cen e colaboradores (2018); (C) Gencer e colaboradores (2014); (D): Kutuk e colaboradores (2019); (E): Tang e colaboradores (2010) e (F): Yang e colaboradores (2018). **Fonte:** Autor, 2022.

5.1.3.2 Análise do risco de viés

A análise do risco de viés (Risk of Bias 2.0 Cochrane) demonstrou uma classificação predominantemente de caráter intermediário, com a presença de estudos com alto risco de viés e outros com baixo risco de viés. As especificações quanto ao tipo de viés identificado e o estudo correspondente encontra-se na figura 10 (p. 63). Na figura 11 (p. 64), os resultados do risco de viés seguem expressos por meio de porcentagem. O detalhamento das porcentagens obtidas de acordo com o risco de viés segue na figura 12 (p.65).

Figura 10 - Sumário do risco de viés de cada estudo incluído na análise metodológica feita pela escala Risk of Bias 2.0.

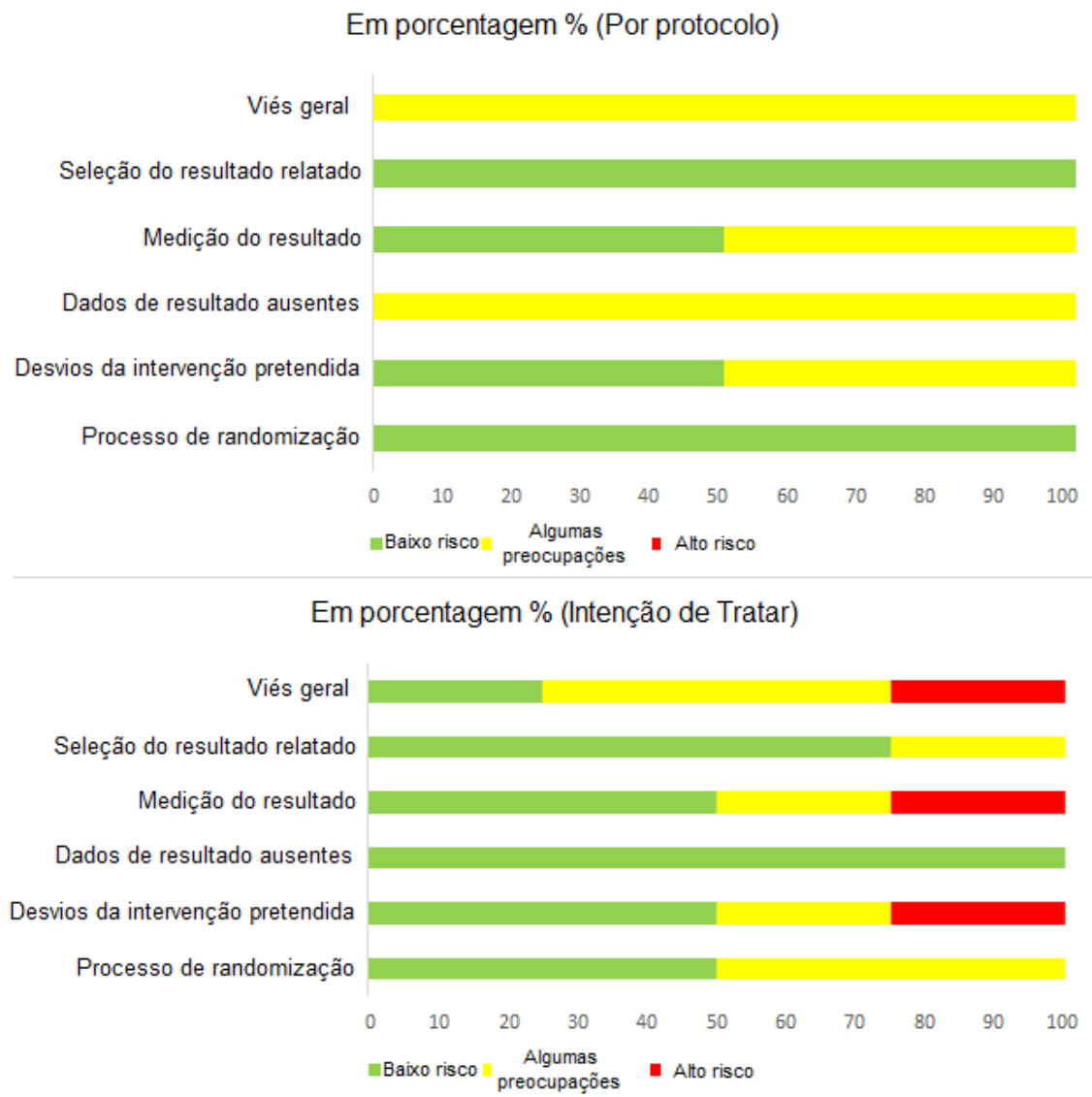
Análise	ID	ID do estudo	Experimental	Comparação	D1	D2	D3	D4	D5	Geral
Por protocolo	1	Bjørnland et al., 2007	Corticoesteróide	Hialuronato de sódio	+	!	!	!	+	!
Por protocolo	2	Cen et al., 2018	Glucosamina e AH	Placebo e AH	+	+	!	+	+	!
ITT	3	Gencer et al., 2014	AH, tenoxicam e betametasona	Solução salina	!	+	+	+	!	!
ITT	4	Kutuk et al., 2019	Plasma rico em plaquetas	AH e corticoesteroide	!	-	+	-	!	-
ITT	5	Thang et al., 2010	Hialuronato de sódio (HS)	Solução salina	+	!	+	!	+	!
ITT	6	Yang et al., 2018	HS com glucosamina	HS sem glucosamina	+	+	+	+	+	+

Legenda:	D1	Processo de randomização
	D2	Desvios das intervenções pretendidas
	D3	Dados de resultado ausentes
	D4	Medição do resultado
	D5	Seleção do resultado relatado

Risco de viés:	+	Baixo risco
	!	Algumas preocupações
	-	Alto risco

Os artigos analisados foram divididos em seções de acordo com o tipo de análise pretendida. Na análise por intenção de tratar (ITT), todos os resultados dos desfechos foram analisados de acordo com o tratamento para o qual o paciente foi originalmente randomizado, mesmo que tenham ocorrido desvios no tratamento (não adesão, desistência, troca de grupos, etc). Na análise por protocolo foram incluídos apenas os indivíduos que cumpriram o que estava programado no protocolo, ou seja, apenas aqueles que receberam de forma completa o tratamento para o qual foram alocados originalmente (DHYPPOLITO, 2021). Ácido hialurônico (HS), Hialuronato de sódio (HS). **Fonte:** Autor, 2022.

Figura 11 - Análise do risco de viés de todos os estudos incluídos na análise metodológica feita pela escala Risk of Bias 2.0, representado em porcentagem.



Os estudos foram expressos em porcentagem de acordo com os critérios para avaliação do risco de viés (Risk of Bias 2.0, Cochrane) (HIGGINS et al., 2019). **Fonte:** Autor, 2022.

Figura 12- Detalhamento da análise do risco de viés de todos os estudos incluídos na análise metodológica feita pela escala Risk of Bias 2.0, representado em porcentagem.

	Processo de Randomização	Desvios das intervenções pretendidas	Dados de resultado ausentes	Medição do resultado	Seleção do resultado relatado	Viés geral
Aderindo à intervenção (o efeito 'per-protocol')						
Número total de estudos = 2						
Baixo risco	100	50	0	50	100	0
Algumas preocupações	0	50	100	50	0	100
Alto risco	0	0	0	0	0	0
Atribuição à intervenção (o efeito 'intenção de tratar')						
Número total de estudos = 4						
Baixo risco	50	50	100	50	75	25
Algumas preocupações	50	25	0	25	25	50
Alto risco	0	25	0	25	0	25

Fonte: Autor, 2022.

5.1.3.3 Análise da qualidade da evidência

Diante das diferenças entre os estudos quanto a intervenção utilizada para o tratamento da OA-ATM, e a presença de apenas um estudo caracterizado como baixo risco de viés pela Risk of Bias 2.0 da Cochrane, apenas o estudo de Yang e colaboradores (2018) foi submetido a avaliação da qualidade da evidência pela ferramenta GRADE. A figura 13 (p. 67) apresenta os dados da análise da qualidade do conjunto da evidência para as associações investigadas. O questionamento inicial para essa análise foi se a intervenção com hialuronato de sódio combinado a cloridrato de glucosamina oral e o desfecho de melhora da dor em pacientes com OA-ATM poderia ser confiável comparado ao tratamento com hialuronato de sódio e placebo oral. Para a análise, foi realizado a média dos escores de dor entre os grupos nos diferentes meses de acompanhamento (1, 3, 6 e 12 meses) e a diferença entre essas médias. O resultado dessa avaliação considerou a certeza da evidência alta.

Figura 13 - Sumário dos resultados da qualidade da evidência de acordo com o GRADE.**Hialuronato de sódio combinado a cloridrato de glucosamina oral comparado a hialuronato de sódio e placebo oral para pacientes com Osteoartrite da ATM****Paciente ou população:** Pacientes com Osteoartrite da ATM**Contexto:** A osteoartrite (OA) pode ser uma das DTMs mais graves, com um enorme impacto na qualidade de vida. Ocorre em 10 a 76% da população, e pessoas de 20 a 40 anos têm a maior prevalência. Os principais objetivos do tratamento da OA-ATM são: aliviar a dor, diminuir as disfunções, e amenizar ou mesmo reverter a destruição óssea.**Intervenção:** hialuronato de sódio combinado a cloridrato de glucosamina oral**Comparação:** hialuronato de sódio e placebo oral

Desfechos	Efeitos absolutos potenciais* (95% IC)		Efeito relativo (95% CI)	Nº de participantes (estudos)	Certainty of the evidence (GRADE)	Comentários
	Risco com hialuronato de sódio e placebo oral	Risco com hialuronato de sódio combinado a cloridrato de glucosamina oral				
Melhora da Dor (Dor) avaliado com: Escala Visual Analógica (EVA) Escala de: 0 para 100	A média melhora da Dor foi 31,75 mm ^a	mean 5.95 mm mais alto (5.18 mais alto para 6.71 mais alto) ^b	-	144 (1 ECR)	⊕⊕⊕⊕ Alta	O grupo tratado com cloridrato de glucosamina oral (1,44 g/dia) por 3 meses em conjunto com injeções intra-articulares de hialuronato de sódio apresentou escores da escala analógica visual mais baixos do que o grupo tratado apenas com injeções intra-articulares de hialuronato de sódio no mês 6 (17,4 vs 28,6 mm; P = 0,001) e no mês 12 (20,6 vs 29,2 mm; P = 0,007).

* **O risco no grupo de intervenção** (e seu intervalo de confiança de 95%) é baseado no risco assumido do grupo comparador e o **efeito relativo** da intervenção (e seu IC 95%). **IC:** Intervalo de Confiança.

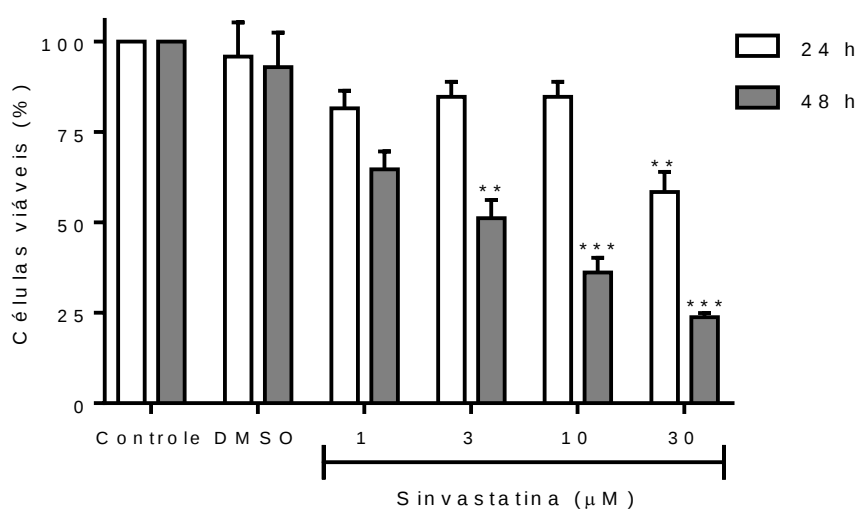
Graus de evidência do Grupo de Trabalho GRADE**Alta certeza:** estamos muito confiantes de que o verdadeiro efeito se aproxima da estimativa do efeito.**Certeza moderada:** estamos moderadamente confiantes na estimativa do efeito: é provável que o efeito verdadeiro seja próximo da estimativa do efeito, mas existe a possibilidade de que seja substancialmente diferente.**Baixa certeza:** nossa confiança na estimativa do efeito é limitada: o verdadeiro efeito pode ser substancialmente diferente da estimativa do efeito.**Certeza muito baixa:** temos muito pouca confiança na estimativa do efeito: o efeito verdadeiro provavelmente será substancialmente diferente da estimativa do efeito.

5.2 Estudo Experimental

5.2.1 Efeito da sinvastatina sobre a viabilidade de osteoblastos

Objetivando determinar o efeito direto da sinvastatina sobre a viabilidade das células MG-63, estas foram expostas por 24 h ou 48h a diferentes concentrações de sinvastatina e tiveram a viabilidade mensurada pelo método MTT. Conforme apresentado na figura 14, as células MG-63 tratadas por 24 h com sinvastatina nas concentrações de 1, 3, 10 e 30 μM exibiram uma viabilidade celular de 81,5%, 84,7%, 85% e 58%, respectivamente, em relação as células do grupo controle (tratados apenas com meio DMEM). Após 48h de exposição, a sinvastatina nas concentrações de 1, 3, 10 e 30 μM reduziu a viabilidade das células para 64%, 51,2%, 36,2% e 23,8%, respectivamente. Células expostas ao DMSO 1% (veículo) em ambos os tempos (24 e 48 h) não exibiram alterações significativas na viabilidade quando comparadas as células do grupo controle.

Figura 14 8- Efeito da sinvastatina sobre a viabilidade de células osteoblásticas MG-63.

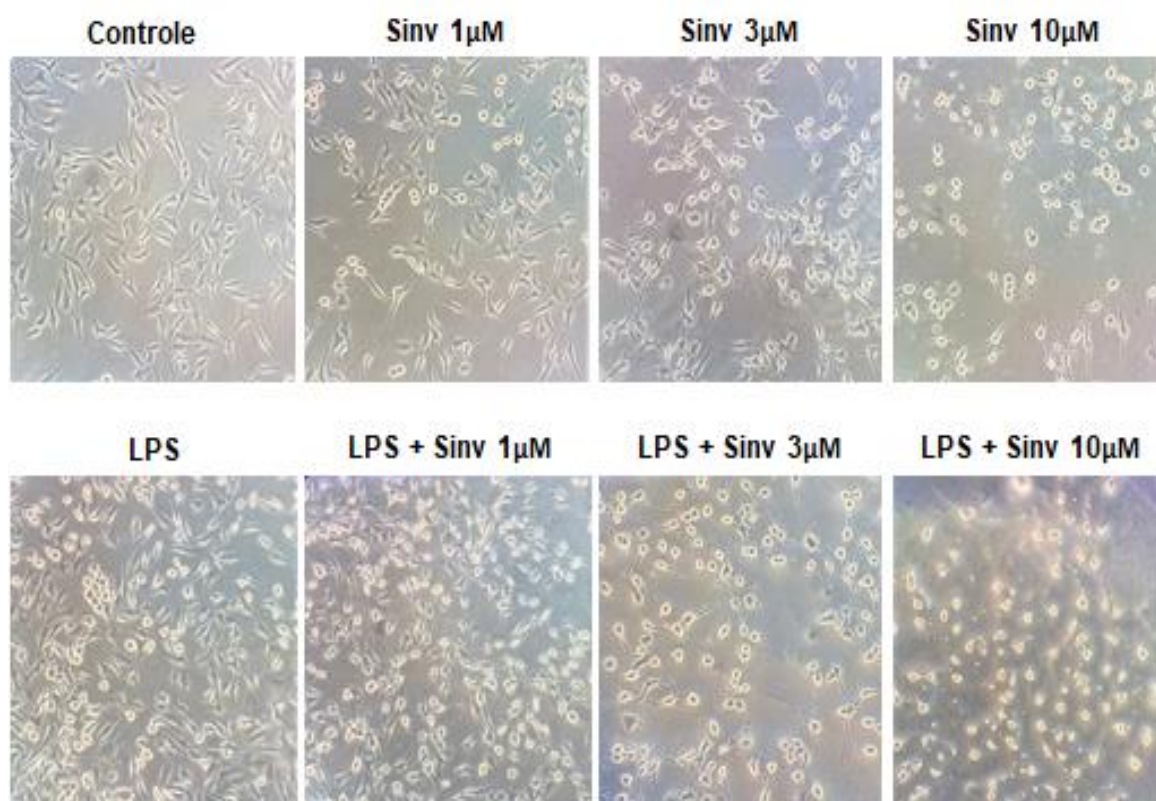


Ensaio de viabilidade celular por meio da técnica de MTT em células (7×10^3) MG-63 na presença de sinvastatina nas concentrações (1, 3, 10 e 30 μM) por 24 e 48 horas. A análise estatística foi realizada pelo teste ANOVA One-Way seguido do pós-teste Newman-Keuls. As barras representam a média $\pm$ EPM ($n = 4$) da porcentagem de células viáveis após o tratamento por 24 e 48 horas com sinvastatina. A análise estatística foi realizada utilizando o teste de variância One-Way ANOVA seguido do pós-teste de Newman Keuls, com ** $p < 0,01$ e *** $p < 0,001$ comparado as células não tratadas no respectivo tempo de análise.

5.2.2 Efeito da sinvastatina sobre a morfologia de células osteoblásticas estimuladas ou não com LPS

Considerando que no tempo de 24 horas a sinvastatina nas concentrações de 1, 3 e 10 μM induziu alterações semelhantes sobre a viabilidade das células, estendemos nossas análises para avaliar se este fármaco, nestas concentrações, poderia alterar a morfologia das células osteoblásticas. Como apresentado na figura 15, foi possível observar que células do grupo controle exibiam uma forma poligonal e alongada (perfil polarizado), enquanto que as células expostas à sinvastatina passaram a exibir um aumento crescente no perfil de células arredondadas acompanhada da redução no número de células polarizadas. Ainda sob tratamento com sinvastatina, a estimulação com LPS aumentou o número de células com aspecto arredondado ao mesmo tempo em que a quantidade de células polarizadas reduziu (Figura 15).

Figura 15 9- Imagem microscópica representativa de células MG-63 submetidas ao tratamento com sinvastatina e estimulação com LPS.

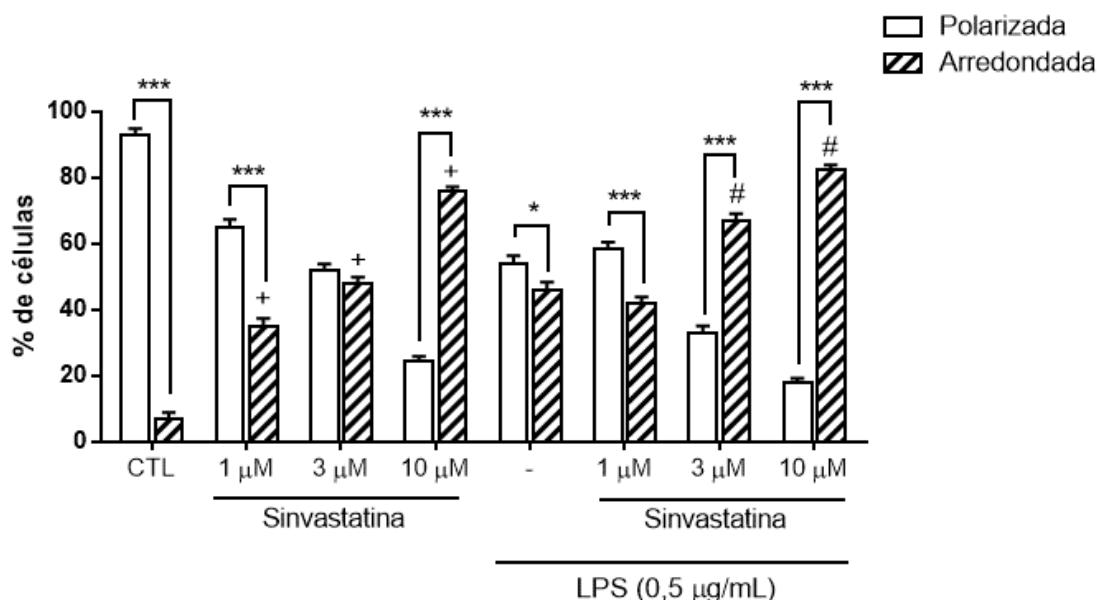


Células MG-63 tratadas com sinvastatina nas concentrações 1, 3 e 10 μM , submetidas ou não à estimulação com LPS. Aumento de 100X.

A análise morfológica das células por meio do microscópio permitiu estimar o número de células com morfologia polarizada e arredondadas. Conforme a figura 16 em condições de cultivo, sem estimulação com LPS ou tratamento com sinvastatina, as células MG-63 exibiram em sua maioria (96%) um formato polarizado, que após o tratamento com as concentrações de 1, 3 e 10 μM de sinvastatina, observou-se uma redução no número de células com o formato polarizado para 65%, 55% e 27%, respectivamente. Paralelamente a esta redução no formato polarizado, o tratamento com 1, 3 e 10 μM sinvastatina aumentou o número de células arredondadas de 4% para 35%, 45%, e 73%, respectivamente.

Ao observar as células MG-63 sob estimulação com LPS (0,5 $\mu\text{g/mL}$), foi identificado também uma redução no número de células polarizadas para 54%, acompanhado pela elevação na proporção de células arredondadas para 46%. A exposição das células à sinvastatina sob estimulação com LPS não alterou o perfil morfológico das células quando mantidas apenas com sinvastatina.

Figura 16 - Quantificação do número de células no ensaio de contagem celular identificando o perfil morfológico após tratamento com sinvastatina e estimulação com LPS.

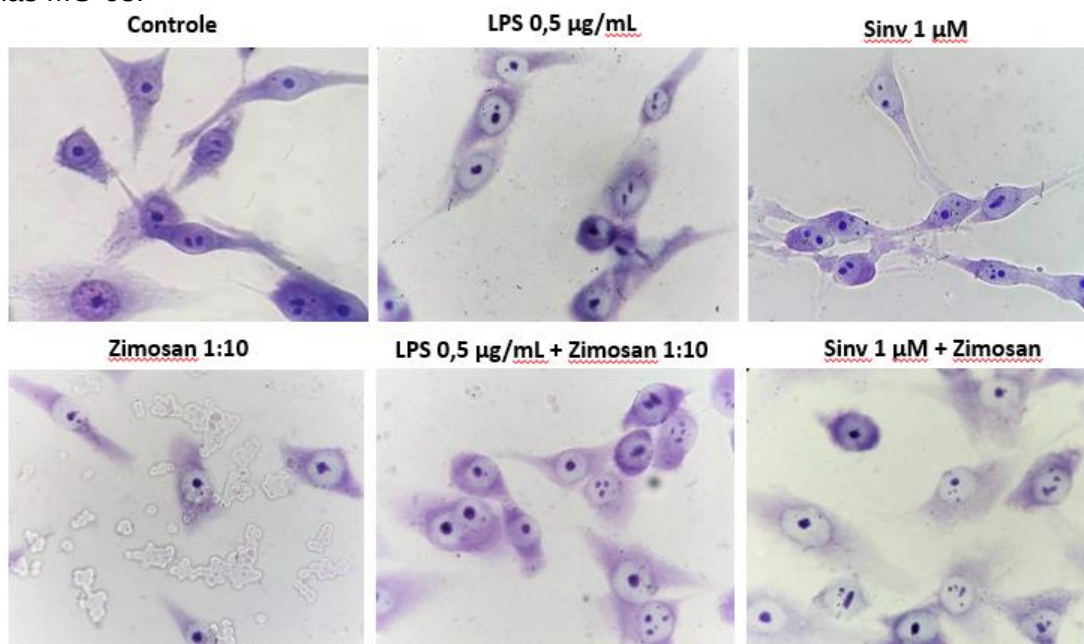


Representação da proporção entre células polarizadas/arredondadas e células arredondadas, com e sem estímulo com LPS (0,5 $\mu\text{g/mL}$) e tratadas com sinvastatina (1, 3 ou 10 μM). A análise estatística foi realizada utilizando o teste de variância One-Way ANOVA seguido do pós-teste de Newman Keuls, com * $p < 0,05$ e *** $p < 0,001$, + $p < 0,001$ em relação às células arredondadas tratadas com sinvastatina comparadas com células do grupo controle (CTL), e # $p < 0,001$ em relação às células arredondadas sem tratamento com sinvastatina e estimuladas com LPS.

5.2.3 Efeito da sinvastatina sobre a atividade fagocítica de células osteoblásticas

Com o propósito de verificar o efeito da sinvastatina sobre uma característica funcional dos osteoblastos, decidiu-se avaliar inicialmente a capacidade fagocítica de partículas de zimosan por osteoblastos *in vitro*. Tendo por base o resultado anterior onde a concentração de 1 μM de sinvastatina foi a que menos alterou os aspectos morfológicos da célula sob estimulação com LPS ou não, decidiu-se seguir os demais ensaios utilizando apenas esta concentração. Partículas de zimosan foram adicionadas em uma proporção de 10 partículas para cada 1 célula osteoblástica, e a capacidade fagocítica foi avaliada pelo número de células que fagocitaram, pelo número de partículas por célula e pelo índice fagocitário determinado pelo número de células que fagocitaram, vezes o número de partículas fagocitadas por célula. Como apresentado na figura 17, observa-se que as células osteoblásticas em contato com as partículas de zimosan, não apresentaram a habilidade de fagocitar no período observado de 24h, o que não foi alterado pelo tratamento com a sinvastatina na concentração de 1 μM .

Figura 17 - Fotomicrografias do efeito da sinvastatina sobre a capacidade fagocítica de células MG-63.

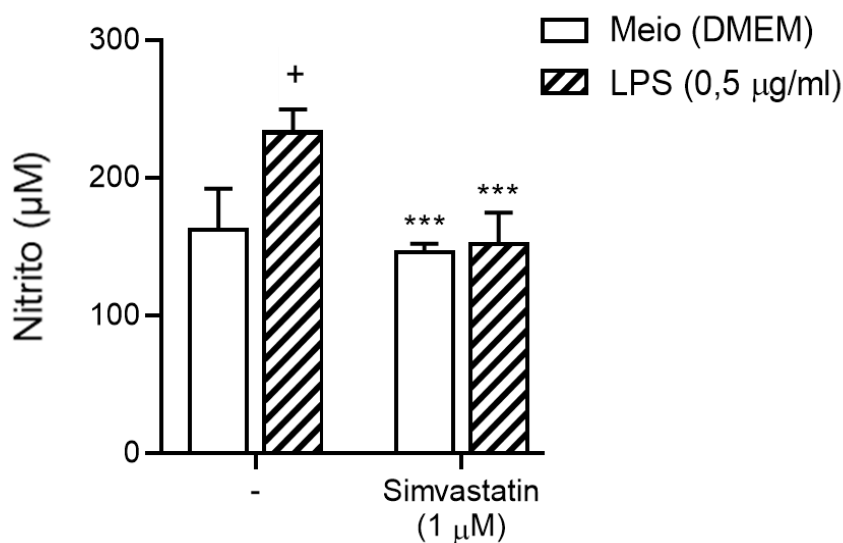


Fotomicrografias ilustrando as células MG-63 expostas a: zimosan 1:10; LPS (0,5 $\mu\text{g/mL}$); sinvastatina 1 μM . Coradas com kit panótico, em um aumento de 100X.

5.2.4 Efeito da sinvastatina sobre a produção de óxido nítrico em células osteoblásticas estimuladas com LPS

Em outro conjunto de experimentos buscou-se avaliar a capacidade da sinvastatina (1 μ M) em afetar a geração de mediadores inflamatórios por células osteoblásticas sob estimulação. Para isso, foi avaliado a produção de óxido nítrico (NO) por células MG-63 estimuladas com LPS (0,5 μ g/mL) por 24 horas. Como apresentado na figura 18, a estimulação com LPS (0,5 μ g/mL) induziu em células MG-63 um aumento significativo nos níveis de NO após 24 h. O tratamento com sinvastatina na concentração de 1 μ M impediu a produção de NO em células estimuladas com LPS.

Figura 18 - Efeito da sinvastatina sobre a produção de nitrito por células MG-63 estimuladas por LPS.



Produção de nitrito por células osteoblásticas (5×10^3) na presença de LPS por 24 horas com e sem a utilização de sinvastatina nas concentrações 1 μ M. A análise estatística foi realizada mediante ao teste ANOVA One-Way seguido do pós-teste Newman-Keuls, onde $p < 0,05$. Diferenças significativas entre os valores estão representadas por (***).

6 DISCUSSÃO

Apesar dos avanços no tratamento de degenerações articulares, ainda há uma carência de fármacos que possam estagnar ou prevenir o processo degenerativo da OA-ATM sem afetar o desenvolvimento fisiológico do tecido ósseo. Diante desse paradigma, agrupar informações científicas sobre as opções terapêuticas disponíveis para deter e/ou amenizar os danos causados pela OA-ATM se faz necessário. Para isso, o presente estudo realizou duas abordagens sobre esta condição patológica: i) uma revisão sistemática sintetizando os dados na literatura acerca das terapêuticas disponíveis para o tratamento da OA-ATM de forma intra-articular; ii) e avaliou o efeito direto da sinvastatina sobre funções de osteoblastos humanos *in vitro*.

A revisão sistemática é um tipo de investigação científica que tem por objetivo reunir, avaliar e conduzir uma síntese de resultados de múltiplos estudos primários, utilizando métodos sistemáticos e explícitos para identificar, selecionar e avaliar as pesquisas disponíveis na literatura. Baseia-se na coleta e análise de dados, advindas inicialmente de uma pergunta clínica previamente elaborada, que busca dar logicidade a um arsenal documental, impactando na aplicação de pesquisas em diferentes escalas e contextos (CORDEIRO et al., 2007; GALVÃO; RICARTE, 2019). De acordo com Higgins e colaboradores (2011), uma revisão sistemática consiste em um conjunto definido de objetivos desenhados a partir de uma metodologia explícita e passível de ser reproduzida, seguida de uma busca sistemática para identificar os estudos que atendam aos critérios de elegibilidade. Inclui-se ainda a certificação da validade dos achados incluí-los por meio de avaliações do risco de viés (TRA - Risk of Bias), e a apresentação sistemática dos resultados da revisão.

Visto que a OA é uma doença degenerativa crônica ainda sem um tratamento eficaz para impedir o processo degenerativo e com grande impacto negativo sobre a sociedade, a realização de uma revisão sistemática sobre esta temática objetivou oferecer um referencial teórico frente a carência de estudos que possam reunir dados sobre fármacos úteis para o tratamento da OA-ATM.

Os estudos foram alocados em grupos baseados nas variáveis de interesse e na terapêutica farmacológica empregada, seguindo assim parâmetros importantes para o diagnóstico da OA-ATM. O Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders (DC/TMD) é um instrumento amplamente utilizado para pesquisas envolvendo disfunções da ATM (SCHIFFMAN et al., 2014). Este instrumento norteia

o correto diagnóstico a partir de parâmetros clínicos frequentemente encontrados e que devem ser confirmados com a presença de alterações ósseas específicas como: cisto subcondral, erosão, esclerose óssea ou formação de osteófitos por tomografia computadorizada (TC). O uso da TC é considerado como padrão-ouro para guiar o diagnóstico de tais processos degenerativos (DA-SILVA et al., 2020; PANTOJA et al., 2019).

Dentre as variáveis independentes consideradas no conjunto de artigos avaliados, pode-se observar uma maior incidência no gênero feminino. Isto pode estar associado à importantes questões hormonais, onde a presença do hormônio estrógeno tem uma forte relação com essa incidência (MORENO et al., 2021). A relação entre o hormônio estrógeno e a patogênese da OA pode ser controverso entre a proteção ou danificação da cartilagem, desempenhando papéis diferentes de acordo com a localidade acometida (PARK et al., 2019). Diferenças entre essa relação foi reportada entre a OA-ATM e a OA em joelho, onde o acometimento prevalente das mulheres varia entre as faixas etárias ao longo da vida, com uma maior susceptibilidade do desenvolvimento da OA-ATM em mulheres na puberdade e idade fértil, enquanto o desenvolvimento da OA em joelho afeta principalmente mulheres na pós-menopausa (TIAN et al., 2022). Embora a maioria dos estudos referentes aos efeitos do estrogênio tenham se concentrado na cartilagem articular, seus efeitos também afetam outros tecidos articulares durante o curso da OA, como o osso periarticular, o revestimento sinovial, os músculos, os ligamentos e a cápsula (ROMAN-BLAS et al., 2009).

Diante do contexto de que as células envolvidas na patogênese da OA-ATM, como condrócitos e osteoblastos, são influenciadas pelo relógio circadiano na homeostase dos tecidos (CHAN et al., 2021). Buscou-se avaliar uma importante variável (tempo biológico), caracterizada pelo horário de administração da terapia empregada. Uma vez que o ritmo circadiano de um alvo farmacológico pode ser crucial para determinar a eficácia de um fármaco em um determinado momento, pois a expressão do alvo flutua ao longo do dia, principalmente para medicamentos com meia-vida curta, como a sinvastatina (DERNIE et al., 2021; BRUNTO; HILAL-DANDAN; KNOLLMANN, 2018). Além dos efeitos sobre a eficácia, o momento da administração do fármaco pode interagir com os ritmos circadianos na absorção, na distribuição, no metabolismo e na eliminação do fármaco (DERNIE et al., 2021). Nos estudos avaliados pela presente revisão sistemática, não foi possível observar a

descrição do horário de administração ou do horário do dia que foi feito a avaliação dos parâmetros analisados pelos autores. A negligência dessa informação gera desafios ao rigor experimental e à reprodutibilidade do estudo, visto que os processos fisiológicos e comportamentais exibem flutuações diárias impulsionadas por relógios circadianos endógenos (NELSON et al., 2022).

Buscando aferir variáveis dependentes relevantes para o diagnóstico e a progressão da OA da ATM, o parâmetro melhora da dor pôde ser observado em todos os estudos avaliados. Dentre os fármacos reportados nos estudos destaca-se o uso do ácido hialurônico (AH), que é um potente glicosaminoglicano, componente natural do líquido sinovial articular, também encontrado na matriz extracelular de tecidos conjuntivos (GENCER et al., 2014). O AH desempenha um papel significativo na nutrição e lubrificação das superfícies articulares da ATM (NITZAN, 2001). Esse papel está diretamente relacionado ao valor da pressão intra-articular, o que faz com que o AH altere sua conformação e se adeque entre conformações esferoidais e lineares, permitindo movimentos de deslizamentos e nutrição na ATM pela penetração na fibrocartilagem. A degradação desse componente está associada a fatores como o envelhecimento e a inflamação deflagrada por geração local de espécies reativas de oxigênio ou outros estímulos (DERWICH; MITUS-KENING; PAWLOWSKA, 2021; TANAKA et al., 2008). Destaca-se nos estudos avaliados a maior relevância do AH na redução da dor em comparação a terapia com corticosteroides e a grupos controle de pacientes tratados com solução salina.

Outro tratamento reportado nos estudos, foi a terapia com plasma rico em plaquetas (PRP). O PRP é um concentrado autólogo de plaquetas e múltiplos fatores de crescimento, que atua na diferenciação condrogênica, na produção da matriz e na remodelação do tecido, estimulando a proliferação de condrócitos a manipular a cartilagem e a biossíntese de colágeno e de proteoglicanos (KUTUK et al., 2019; DERWICH; MITUS-KENING; PAWLOWSKA, 2021). Portanto, como apontado na tabela 3 (p. 53), todos os grupos obtiveram resultados semelhantemente positivos, especialmente na dor e na abertura máxima de boca, em especial o tratamento com PRP, inclusive em comparação com o tratamento com AH. Entretanto, de acordo com o risco de viés avaliado pela ferramenta Cochrane, Kutuk e colaboradores (2019) ao analisar e concluir uma acentuada melhora nos parâmetros avaliados com a terapia com PRP, obtiveram um alto risco de viés pela falta de informações pertinentes ao processo de randomização e mascaramento do estudo. Considerando esse fator

importante, o estudo de Yang e colaboradores (2018) foi o único artigo da presente revisão considerado com baixo risco de viés (Risk of Bias 2.0) em conjunto com uma alta qualidade metodológica de acordo com a escala de Jadad.

Diante desse panorama, o sistema GRADE foi empregado a partir deste único estudo com baixo risco de viés, uma vez que as intervenções variavam entre os estudos. O uso dessa ferramenta teve por objetivo complementar a análise feita pelo Risk of Bias da Cochrane, uma vez que uma avalia a qualidade metodológica a partir do risco de viés dos estudos individuais, enquanto o GRADE buscou avaliar o conjunto da evidência para um determinado desfecho a partir de uma questão de pesquisa proposta pela estratégia PICO. Essas abordagens não dispensam uma ou outra, e sim complementam a análise, a fim de levar a uma melhor confiabilidade para a tomada de decisão na prática clínica (HIGGINS, 2019; BRASIL, 2014). Embora a intervenção realizada pelo estudo de Yang e colaboradores (2018) tenha obtido um alto nível de evidência no desfecho melhora da dor, de acordo com o sistema GRADE, vale salientar que ainda que uma evidência de maior qualidade seja mais propensa a ser associada a uma forte recomendação clínica em contraponto a uma evidência de menor qualidade, evidências de alta qualidade não necessariamente serão recomendações fortes. Essa afirmação pode ser atribuída ao fato de que no contexto de uma revisão sistemática, as classificações atribuídas a uma qualidade de evidência não necessariamente serão determinações para o uso de determinada intervenção, em razão de que este tipo de estudo não inclui os processos necessários para fazer recomendações (BALSHEM, 2011; BRASIL, 2014).

A partir do conjunto dessas observações, torna-se importante pontuar a atuação da glucosamina na OA-ATM, visto que ela é amplamente utilizada no tratamento da OA de outras articulações do corpo humano, promovendo ação anti-inflamatória por meio da inibição da atividade da IL-1, da ativação do fator nuclear-kB e das MMPs da matriz. Além de regular a atividade da colagenase para prevenir danos às articulações (YANG et al., 2018). A glucosamina é um dos principais pilares da matriz estrutural do tecido conjuntivo das articulações, além de ser substrato para a síntese de glicosaminoglicanos, estimulando a síntese e inibindo a sua degradação, além de apresentar efeitos protetores no corpo contra danos oxidativos (MACHADO; MACHADO; CUNALI, 2012). Nesse contexto, vale ressaltar que mesmo que as injeções intra-articulares de hialuronato de sódio combinadas a administração via oral de comprimidos de glucosamina em comparação ao tratamento com apenas injeções

de hialuronato de sódio por Yang e colaboradores (2018), apresentaram o alívio da dor na ATM no seguimento de 6 a 12 meses, com melhora nos parâmetros avaliados, recomendações quanto ao uso dessa intervenção não é o objetivo da presente revisão, visto que a aplicabilidade de determinada terapia deve levar em consideração um conjunto de informações pertinentes ao seu uso, seus riscos e seus benefícios (BRASIL, 2014).

Considerando todos os estudos selecionados, foi possível observar a não homogeneidade quanto as variáveis determinantes para a análise da eficácia da terapia empregada nos estudos avaliados. Na presença de pacientes com sintomatologia dolorosa, limitação no movimento mandibular e ruídos articulares, foi possível constatar a não aferição de parâmetros importantes para o contexto da OA-ATM que poderiam sugestivamente serem investigados antes e depois da terapia empregada, contribuindo assim com o estudo, a exemplo da aferição da abertura máxima de boca, e a presença ou a ausência de ruídos articulares, itens não avaliados por Gencer e colaboradores (2014) e Tang e colaboradores (2020). A presença ou ausência de ruídos também não foi objeto de estudo para Yang e colaboradores (2018).

A dor e a limitação na amplitude do movimento mandibular contribuem com os achados do exame físico que suportam o diagnóstico de distúrbios temporomandibulares (DTMs). Em especial na OA, os ruídos articulares (crepitação) estão relacionados à ruptura da superfície articular, que ocorre frequentemente em pacientes com osteoartrite (GAUER; SEMIDEY, 2015). Em face do exposto, se faz imprescindível a análise desses parâmetros para nortear clinicamente a efetividade da terapia empregada.

Outra limitação de uma análise global sobre os estudos refere-se a baixa homogeneidade entre os manuscritos quanto a duração de acompanhamento dos pacientes, descrição dos resultados e tamanho amostral. Como demonstrado, foi possível encontrar fármacos com aplicação intra-articular, entretanto não foram observados estudos utilizando a via tópica, ponto este de interesse na pergunta de pesquisa da presente revisão sistemática. Estudos avaliando a aplicação tópica de AINEs como uma abordagem para alívio dos sintomas da osteoartrite em joelhos são encontrados na literatura, porém o objeto de estudo ainda não é a ATM (LIM; AL-DADAH, 2022). Esta via de administração possivelmente reduz as reações adversas por maximizar o efeito local e minimizar a toxicidade sistêmica. Porém, a penetração

no tecido-alvo obtida após aplicação tópica é menor que 15% da concentração plasmática obtida após a administração oral. Esta possibilidade pode ser de grande valia para fármacos que possuam um efeito benéfico para a patogenia em questão, mas que apresentem reações adversas consideráveis (PEREIRA et al., 2006).

Um ponto importante para esta revisão foram os escores obtidos da avaliação do risco de viés, esta, considerada a maior limitação encontrada no presente estudo. Prevalentemente os estudos apresentaram riscos de viés intermediários, com a presença de um estudo com alto risco de viés. Estudos que apresentem alto risco de viés podem levar o pesquisador ao erro em suas conclusões, interferindo diretamente na interpretação dos resultados, o que pode comprometer a conclusão para a avaliação da terapia empregada (DE CARVALHO et al., 2013). Em contraponto a esta análise, a qualidade metodológica realizada pela Escala Jadad, apresentou escores positivos em sua maioria, o que pode ser atribuído ao fato de que sua análise é baseada em 5 perguntas que apenas podem ser respondidas por sim ou não, o que pode de certa forma generalizar dados que poderiam ser especificados.

Foi possível observar, algumas limitações na presente revisão, como por exemplo a complexidade e a subjetividade na avaliação dos domínios tanto da análise do Risk of Bias, quanto da ferramenta GRADE, visto que há a necessidade de um julgamento qualitativo para a realização dos julgamentos a respeito de cada um dos domínios avaliados em ambas as ferramentas. Esta limitação foi contornada por discussões e acompanhamento no momento da análise dos domínios por um 3º revisor experiente.

Ao analisar o conjunto de trabalhos reunidos nesta revisão é sugestivo que estudos futuros visando ensaios clínicos randomizados sigam um delineamento prévio bem estruturado com variáveis e descrição de seus resultados e método detalhados e uniformizados. Isso permitirá a realização de pesquisas abordando variáveis importantes na avaliação clínica dos parâmetros afetados pela OA. Se possível ainda, correlacionar a aspectos moleculares, considerando as limitações dos critérios clínicos para detecção da OA que limitam o diagnóstico precoce da OA-ATM. Outro fator importante é que esses sintomas clínicos podem não serem fiéis ao processo degenerativo em questão pelo componente subjetivo destes (ALVAREZ et al., 2019). Com isso, torna-se crucial a realização de novas pesquisas visando uma estratégia de diagnóstico precoce em conjunto com biomarcadores avaliados *in vitro*.

A outra abordagem do presente estudo avaliou os efeitos da sinvastatina sobre os osteoblastos humanos *in vitro*. O envolvimento destas células na patogênese e na fisiopatologia das OAs são amplamente reconhecidas na literatura científica (MARUOTTI; CORRADO; CANTATORE, 2017). Porém, apesar dos avanços no manejo/tratamento de degenerações articulares, ainda há uma carência de fármacos que possam estagnar ou prevenir o processo degenerativo da OA-ATM sem afetar o desenvolvimento fisiológico do tecido ósseo. Neste sentido, estudos prévios têm reportado amplamente os efeitos benéficos da sinvastatina como agente antioxidante e anti-inflamatório. Logo, considerando a necessidade de alternativas terapêuticas para a OA-ATM, estudos objetivando caracterizar a ação de candidatos a fármacos ou sobre o reposicionamento de fármacos mostram-se relevantes para a terapêutica da OA-ATM.

Inicialmente, buscou-se avaliar os efeitos da sinvastatina sobre a viabilidade de células humanas osteoblásticas da linhagem MG-63. Para isso, as células foram expostas por 24 horas a sinvastatina e não apresentaram alterações significativas na sua viabilidade até a concentração de 10 μ M. Diferente dos nossos resultados, Fromigué e colaboradores (2006) reportou que a sinvastatina na concentração de 10 μ M foi capaz de induzir efeitos citotóxicos nas células MG-63. Em outro trabalho onde se buscou avaliar o efeito citotóxico da sinvastatina, só que desta vez utilizando outra linhagem de células osteoblásticas, as células SaOS-2, foi observado que concentrações superiores a 2 mg ($\approx$ 5 μ M) reduziram a viabilidade das células (SUTHANTHIRAN et al., 2012). O conjunto destas observações sustentam a segurança do uso de concentrações inferiores a 10 μ M de sinvastatina para identificar as respostas biológicas das células frente a estimulações.

Análises em biologia celular indicam que alterações na morfologia celular revelam informações valiosas sobre o comportamento biológico das células frente a várias condições que incluem exposição à fármacos, morte celular, senescência, entre outros. Estas alterações morfológicas causadas por estímulos estão relacionadas aos componentes do citoesqueleto, mas em última análise, reage as alterações tanto de vias metabólicas citoplasmáticas quanto da expressão de genes (PAVILLON et al., 2018). Neste contexto, tendo como propósito a avaliação do efeito direto da sinvastatina nos aspectos morfológicos dos osteoblastos, as células foram tratadas com sinvastatina e estimuladas com LPS. Está bem estabelecido que as células MG-63 exibem uma morfologia polarizada com características fusiformes (PAUTKE et al.,

2004). Em condições de estímulo, as células MG-63 alteram sua morfologia fusiforme perdendo progressivamente as projeções de membrana que garantem o perfil polarizado e adquirem um perfil morfológico arredondado (LEE et al., 2004).

Diante dos experimentos realizados, após o tempo de 24 h de exposição à sinvastatina foi possível observar uma significativa mudança morfológica em comparação com células mantidas apenas com meio de cultivo (controle). Particularmente, as células expostas a sinvastatina passaram a apresentar um perfil morfológico arredondado com perda de prolongamentos citoplasmáticos, fenômeno que se mostrou dependente da concentração utilizada (Figura 15, p. 69). Quando as células foram submetidas apenas a estimulação com LPS também foi verificada uma mudança morfológica para um perfil arredondado. Porém, ao se observar a morfologia de células expostas à sinvastatina e estimuladas com LPS não foi identificado nenhuma alteração no perfil morfológico das células quando comparado com as células tratadas apenas com sinvastatina. A partir destas observações pode-se especular que a sinvastatina estaria sendo capaz de gerar algum nível de ativação celular a ponto de alterar a morfologia das células.

Shams e colaboradores (2015) buscando analisar a morfologia celular de osteoblastos humanos MG-63, na osseointegração de implantes dentários com ou sem superfícies contaminadas com saliva, observaram que em superfícies não contaminadas com saliva, as células apresentavam um formato alongado e fusiforme, com processos celulares cada vez mais longos, enquanto as células contaminadas com saliva apresentavam-se com formato circular e processos curtos, indicativos de diminuição na diferenciação celular. Outros estudos também demonstraram que a sinvastatina induz modificações nas funções celulares impactando o processo de osseointegração em células MG-63 (YANG et al., 2009). Adicionalmente, é reconhecido que células com perfil estático possuem fibras de estresse capazes de garantir lesões focais firmes sobre o substrato, ao contrário de células móveis que possuem um corpo mais arredondado com adesões focais frágeis, o que é vantajoso para uma resposta migratória (BERSHADSKY, et al., 1985). Em conjunto, estas observações nos permitem especular o potencial da sinvastatina em favorecer a resposta migratória dos osteoblastos.

Considerando que mudanças morfológicas podem indicar alterações no estado de ativação funcional das células, decidiu-se estender as análises para avaliar outra habilidade dos osteoblastos envolvida no processo de mineralização do osso, a

fagocitose. A fagocitose, um processo de endocitose ou internalização de partículas, visa eliminar restos celulares, micro-organismos e corpos estranhos em organismos multicelulares (LOHMANN et al., 2000). Apesar dos osteoblastos serem considerados fagócitos não profissionais, estas células são capazes de internalizar diferentes tipos de partículas, como titânio e outras pequenas partículas de biomateriais usados em implantes médicos, látex e vários patógenos microbianos (ALLAEYS; MARCEAU; POUBELLE, 2013; MEDINA-HUERTAS et al., 2014). Além disso, os osteoblastos podem também fagocitar os corpos apoptóticos oriundos de células de revestimento ósseo, durante o início da formação óssea. Em condições fisiológicas, a apoptose exerce um papel significativo no controle do crescimento ósseo, enquanto que em condições patológicas a apoptose é estimulada a partir de traumas mecânicos e deficiências de estrogênio (ANDIA et al., 2018). Independente da origem, estes estímulos são encontrados na patogênese da OA-ATM.

Para mensurar a influência da sinvastatina na fagocitose, foi realizado o ensaio onde as células MG-63 foram expostas à partículas de zimosan, um derivado da parede celular da levedura *Saccharomyces cerevisiae*, sabidamente conhecido por ser engolfado ao entrar em contato com células dotadas de habilidade fagocítica (UNDERHILL et al., 2003). No resultado do presente estudo, não foi possível observar a habilidade fagocitária dos osteoblastos frente as partículas de zimosan pelas células MG-63, assim como também não foram encontradas mudanças nesse perfil frente ao tratamento com sinvastatina. Em contraponto ao nosso resultado, estudos anteriores utilizando a técnica de citometria de fluxo demonstraram que a linhagem de células MG-63 possui capacidade de fagocitar grânulos de látex. Em outra análise, também com células MG-63, a fagocitose de micro-organismos, *Candida sp.*, foi observada após avaliação a partir de microscopia eletrônica de transmissão (DÍAZ-RODRÍGUEZ et al., 2009). Diante disso, é possível especular que a partícula de zimosan (1:10) utilizada no presente trabalho possa ser incapaz de estimular a fagocitose por células MG-63, porém estudos futuros devem ser realizados para confirmação desta hipótese.

Considerando o interesse em avaliar os efeitos da sinvastatina sobre a geração de mediadores inflamatórios, buscou-se quantificar inicialmente a produção de NO por células MG-63 estimuladas por LPS. A produção de NO em condições fisiológicas, derivados do óxido nítrico sintase endotelial (eNOS), cumpre um papel importante na regulação óssea, sendo um dos mediadores locais e segundo mensageiro de hormônios sistêmicos, a exemplo do estrogênio que participa na regulação da função

óssea. No entanto, em condições inflamatórias, a produção de NO local derivado do óxido nítrico sintase induzível (iNOS) possui papel no agravamento da destruição óssea (YIN et al., 2012).

No presente estudo, ao utilizar um indutor indireto de osteoclastogênese, o LPS (JIANG et al., 2013), observamos que 24 h após o estímulo houve um aumento nos níveis de NO produzidos no sobrenadante da cultura de células. Nestas condições, o tratamento das células com sinvastatina reduziu a produção de NO de forma significativa em células osteoblásticas estimuladas com LPS, revelando seu potencial efeito anti-inflamatório. Semelhante aos resultados encontrados, um estudo usando células MG-63 estimuladas com H₂O₂, observou que os altos níveis de NO foram atenuados com o tratamento com sinvastatina, evidenciando assim o potencial efeito da sinvastatina na redução de vias oxidativas em células osteoblásticas (YIN et al., 2012). Estes efeitos inibitórios da sinvastatina sobre a geração de NO também pode ser percebido em outras linhagens celulares como macrófagos RAW264.7., onde Leung e colaboradores (2011) reportou que a sinvastatina inibiu a expressão de óxido nítrico sintase induzível (iNOS) induzida por LPS, além de reduzir a produção de mediadores pró-inflamatórios, como TNF- α e radicais livres, fenômenos que se mostraram relacionados à redução da degradação de I κ B- α e da translocação/ativação do fator de transcrição nuclear- κ B causadas por LPS. Estes dados sugerem que a redução na produção de NO nestas células pela sinvastatina pode promover um efeito protetor contra lesões ósseas derivadas de vias mediadas por estresse oxidativo (YIN et al., 2012). Até o momento, o conjunto dos resultados observados evidenciam e reafirmam o potencial da sinvastatina em prevenir a ativação associada ao perfil inflamatório dos osteoblastos, características interessantes que podem ser usadas no tratamento da OA-ATM.

7 CONCLUSÕES

O presente trabalho realizou uma revisão sistemática demonstrando a amenização da sintomatologia da OA-ATM em todos os estudos avaliados, com redução dos escores indicativos de dor, assim como a redução dos ruídos da ATM. Entretanto, os estudos foram prevalentemente avaliados com risco de viés intermediário, com isso, conclusões sobre uma determinada intervenção podem ser guiadas de forma imprecisa.

Salienta-se a necessidade de novos estudos que busquem a padronização das variáveis estudadas, o detalhamento de seu método, o possível aumento da amostra participante e a correlação com marcadores moleculares a fim de contribuir com o diagnóstico precoce da OA-ATM.

Em conjunto com os dados da revisão, os resultados obtidos *in vitro* utilizando linhagem celular MG-63 permitem concluir, até o momento, que:

- As concentrações de 1-10 μ M de sinvastatina, no período de 24 horas, não afetaram a viabilidade celular;
- Foram observadas mudanças morfológicas das células tratadas com sinvastatina, as quais apresentaram uma morfologia arredondada em substituição a uma característica polarizada;
- A sinvastatina não foi capaz de induzir/alterar a fagocitose de partículas de zimosan;
- O tratamento com sinvastatina se mostrou eficiente em inibir a produção do mediador pró-inflamatório óxido nítrico.

Destaca-se ainda que este efeito inibidor da produção de NO foi atingido com concentrações de sinvastatina inferiores daquelas que reduzem a viabilidade celular, o que fortalece seu potencial modulador da inflamação.

REFERÊNCIAS

- ALLAEYS, I.; MARCEAU, F.; POUBELLE, P. E. NLRP3 promotes autophagy of urate crystals phagocytized by human osteoblasts. **Arthritis research & therapy**, v. 15, n. 6, p. 1-16, 2013.
- ALVAREZ, C. et al. Osteoimmunology of oral and maxillofacial diseases: translational applications based on biological mechanisms. **Frontiers in immunology**, v. 10, p. 1664, 2019.
- AL-SHWAIKH, H. et al. Radiologic features of temporomandibular joint osseous structures in children with juvenile idiopathic arthritis. Cone beam computed tomography study. **Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal**, v. 18, p. 51-60, 2016.
- ARAUJO, D. V. et al. Analysis of cost-effectiveness of simvastatin versus atorvastatin in the secondary prevention of cardiovascular events with in the Brazilian public healthcare system. Value in Health: **The Journal of the International Society for Pharmacoeconomics and Outcomes Research**, v. 14, n. 5 Suppl 1, p. S29-32, 2011.
- BALSHEM, H. et al. GRADE guidelines: 3. Rating the quality of evidence. **Journal of clinical epidemiology**, v. 64, n. 4, p. 401-406, 2011.
- BEDI, O. et al. Pleiotropic effects of statins: new therapeutic targets in drug design. **Naunyn-Schmiedeberg's archives of pharmacology**, v. 389, n. 7, p. 695-712, 2016.
- BERGSTRAND, S. et al. Long-term effectiveness of arthrocentesis with and without hyaluronic acid injection for treatment of temporomandibular joint osteoarthritis. **Journal of oral science**, v. 61, n. 1, p. 82-88, 2019.
- BERSHADSKY, A. D. et al. Focal contacts of normal and RSV-transformed quail cells: Hypothesis of the transformation-induced deficient maturation of focal contacts. **Experimental cell research**, v. 158, n. 2, p. 433-444, 1985.
- BJØRNLAND, T. et al. Osteoarthritis of the temporomandibular joint: an evaluation of the effects and complications of corticosteroid injection compared with injection with sodium hyaluronate. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 34, n. 8, p. 583-589, 2007.

BRASIL. Ministério da Saúde. Conselho Nacional de Saúde. Resolução nº510, de 7 de abril de 2016. Trata sobre as diretrizes e normas regulamentadoras de pesquisa em ciências humanas e sociais. **Diário Oficial da União**, Brasília, DF, 24 de maio 2016.

BRASIL. Ministério da Saúde. Secretaria de Ciência, Tecnologia e Insumos Estratégicos. Departamento de Ciência e Tecnologia. Diretrizes metodológicas: Sistema GRADE-Manual de graduação da qualidade da evidência e força de recomendação para tomada de decisão em saúde. Brasília, DF, 2014.

BRUNTON, L. L.; HILAL-DANDAN, R.; KNOLLMANN, B. C. **As Bases Farmacológicas da Terapêutica de Goodman e Gilman**. 13^a ed. Porto Alegre: Artmed, 2018.

BUCKLE, D. R. et al. Glossary of terms used in medicinal chemistry. Part II (IUPAC Recommendations 2013). **Pure and Applied Chemistry**, v. 85, n. 8, p. 1725-1758, 2013.

CEN, X. et al. Glucosamine oral administration as an adjunct to hyaluronic acid injection in treating temporomandibular joint osteoarthritis. **Oral Diseases**, v. 24, n. 3, p. 404-411, 2018.

CEVIDANES, L. H. S. et al. 3D osteoarthritic changes in TMJ condylar morphology correlates with specific systemic and local biomarkers of disease. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 22, n. 10, p. 1657-1667, 2014.

CHAN, W. C. W. et al. Regulation and role of transcription factors in osteogenesis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 22, n. 11, p. 5445, 2021.

CHEN, G. Y.; NUÑEZ, G. Sterile inflammation: sensing and reacting to damage. **Nature Reviews Immunology**, v. 10, n. 12, p. 826-837, 2010.

COLLINS, K. M. T. et al. A mixed methods investigation of mixed methods sampling designs in social and health science research. **Journal of mixed methods research**, v. 1, n. 3, p. 267-294, 2007.

CORDEIRO, A. M. et al. Revisão sistemática: uma revisão narrativa. **Revista do Colégio Brasileiro de Cirurgiões**, v. 34, p. 428-431, 2007.

CZEKANSKA, E. M. et al. In search of an osteoblast cell model for *in vitro* research. **Eur Cell Mater**, v. 24, n. 4, p. 1-17, 2012.

DA-SILVA, B. M. et al. Relação entre sintomas e sinais imagenológicos das disfunções degenerativas da articulação temporomandibular com o Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders e a tomografia computadorizada de feixe cônico. **Brazilian Journal of Pain**, v. 3, p. 222-227, 2020.

DE CARVALHO, A.; SILVA, V.; GRANDE, A. J. Avaliação do risco de viés de ensaios clínicos randomizados pela ferramenta da colaboração Cochrane. **Diagn Tratamento**, v. 18, n. 1, p. 38-44, 2013.

DERNIE, F.; ADEYOJU, D. A matter of time: circadian clocks in osteoarthritis and the potential of chronotherapy. **Experimental Gerontology**, v. 143, p. 111163, 2021.

DERWICH, M.; MITUS-KENING, M.; PAWLOWSKA, E. Orally Administered NSAIDs—General Characteristics and Usage in the Treatment of Temporomandibular Joint Osteoarthritis - A Narrative Review. **Pharmaceuticals**, v. 14, n. 3, p. 219, 2021.

DE SOUZA, R. F. et al. Interventions for managing temporomandibular joint osteoarthritis. **Cochrane database of systematic reviews**, n. 4, 2012.

DHYPPOLITO I. M. Análise por intenção de tratar. **Eme.cochrane**, 2022. Disponível em: < [https://eme.cochrane.org/analise-por-intencao-de-tratar/#:~:text=Na%20an%C3%A1lise%20por%20inten%C3%A7%C3%A3o%20de,%2C%20etc\)%20\(2\).](https://eme.cochrane.org/analise-por-intencao-de-tratar/#:~:text=Na%20an%C3%A1lise%20por%20inten%C3%A7%C3%A3o%20de,%2C%20etc)%20(2).>)>. Acesso em: 10 de jun. de 2022.

DHYPPOLITO I. M. Análise por tratamento recebido (as treated) e análise por protocolo (per protocol). **Eme.cochrane**, 2022. Disponível em: < [https://eme.cochrane.org/analise-por-tratamento-recebido-as-treated-e-analise-por-protocolo-per-protocol/#:~:text=Na%20an%C3%A1lise%20por%20protocolo%2C%20s%C3%A3o,na%20an%C3%A1lise\)%20\(1\).](https://eme.cochrane.org/analise-por-tratamento-recebido-as-treated-e-analise-por-protocolo-per-protocol/#:~:text=Na%20an%C3%A1lise%20por%20protocolo%2C%20s%C3%A3o,na%20an%C3%A1lise)%20(1).>)>. Acesso em: 10 de jun. de 2022.

DÍAZ-RODRÍGUEZ, L. et al. Antigenic phenotype and phagocytic capacity of MG-63 osteosarcoma line. **Annals of the New York Academy of Sciences**, v. 1173, p. E46-E54, 2009.

DU, J. et al. Effect of high fat diet and excessive compressive mechanical force on pathologic changes of temporomandibular joint. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, p. 1-9, 2020.

DYER, J. et al. Effect of a Mediterranean type diet on inflammatory and cartilage degradation biomarkers in patients with osteoarthritis. **The journal of nutrition, health & aging**, v. 21, n. 5, p. 562-566, 2017.

ENDO, A. A gift from nature: the birth of the statins. **Nature Medicine**, v. 14, n. 10, p. 1050-1052, 2008.

ENDO, A. et al. ML-236A, ML-236B, and ML-236C, new inhibitors of cholesterologenesis produced by *Penicillium citrinum*. **The Journal of antibiotics**, v. 29, n. 12, p. 1346-1348, 1976.

JÚNIOR, A. M. L. F. et al. Temporomandibular disorder in patients with juvenile idiopathic arthritis: clinical evaluation and correlation with the findings of cone beam computed tomography. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology**, v. 114, n. 3, p. e51-e57, 2012.

FLORENCIO-SILVA, R. et al. Biologia do tecido ósseo: estrutura, função e fatores que influenciam as células ósseas. **BioMed research international**, v. 2015, 2015.

FONSECA, F. A. H. Farmacocinética das estatinas. **Arquivos brasileiros de cardiologia**, v. 85, p. 9-14, 2005.

FROMIGUÉ, O. et al. RhoA GTPase inactivation by statins induces osteosarcoma cell apoptosis by inhibiting p42/p44-MAPKs-Bcl-2 signaling independently of BMP-2 and cell differentiation. **Cell Death & Differentiation**, v. 13, n. 11, p. 1845-1856, 2006.

FUKUI, T. et al. Therapeutic effect of local administration of low- dose simvastatin-conjugated gelatin hydrogel for fracture healing. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 27, n. 5, p. 1118-1131, 2012.

GALVÃO, M. C. B.; RICARTE, I. L. M. Revisão sistemática da literatura: conceituação, produção e publicação. **Logeion: Filosofia da informação**, v. 6, n. 1, p. 57-73, 2019.

GAUER, R.; SEMIDEY, M. J. Diagnosis and treatment of temporomandibular disorders. **American family physician**, v. 91, n. 6, p. 378-386, 2015.

GENCER, Z. K. et al. A comparative study on the impact of intra-articular injections of hyaluronic acid, tenoxicam and betametazon on the relief of temporomandibular joint disorder complaints. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 42, n. 7, p. 1117-1121, 2014.

GEORGE, M. D. et al. Effect of simvastatin injections on temporomandibular joint inflammation in growing rats. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 71, n. 5, p. 846-853, 2013.

GILBERT, R. et al. Statins as anti-inflammatory agents: A potential therapeutic role in sight-threatening non-infectious uveitis. **Porto Biomedical Journal**, v. 2, n. 2, p. 33-39, 2017.

GOMES, L. R. et al. Diagnostic index of three-dimensional osteoarthritic changes in temporomandibular joint condylar morphology. **Journal of Medical Imaging**, v. 2, n. 3, p. 034501, 2015.

GREEN, L. C. et al. Analisis of nitrate, nitrite, and nitrate in biological fluids. **Annals of Biochemistry**, v. 126, p. 131-138, 1982.

GUNSON, M. J.; ARNETT, G. W.; MILAM, S. B. Pathophysiology and pharmacologic control of osseous mandibular condylar resorption. **Journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 70, n. 8, p. 1918-1934, 2012.

GUPTA, S. et al. The impact of simvastatin intervention on the healing of bone, soft tissue, and TMJ cartilage in dentistry: a systematic review and meta-analysis. **International journal of implant dentistry**, v. 5, n. 1, p. 1-11, 2019.

HASKIN, C. L. et al. Pathogenesis of degenerative joint disease in the human temporomandibular joint. **Critical Reviews in Oral Biology & Medicine**, v. 6, n. 3, p. 248-277, 1995.

HEYMANN, D; ROUSSELLE, A. V. gp130 Cytokine family and bone cells. **Cytokine**, v. 12, n. 10, p. 1455-1468, 2000.

HIGGINS, J. P. et al. (Ed.). **Cochrane handbook for systematic reviews of interventions**. John Wiley & Sons, 2019.

HILL, A. et al. Lubricin protects the temporomandibular joint surfaces from degeneration. **PloS one**, v. 9, n. 9, p. e106497, 2014.

HOAGLUND, F. T. Primary osteoarthritis of the Hip: A genetic disease caused by European genetic variants. **The journal of bone & joint surgery**, v. 95, n. 5, p. 463-468, 2013.

HU, M. H. et al. Lovastatin promotes redifferentiation of human nucleus pulposus cells during expansion in monolayer culture. **Artificial organs**, v. 35, n. 4, p. 411-416, 2011.

ISHIMOTO, K. et al. Rapid establishment of highly migratory cells from cancer cells for investigating cellular functions. **Journal of Receptors and Signal Transduction**, v. 39, n. 3, p. 194-198, 2019.

IŞIK, G. et al. Injectable platelet-rich fibrin as treatment for temporomandibular joint osteoarthritis: A randomized controlled clinical trial. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, 2022.

JADAD, A. R. et al. Assessing the quality of reports of randomized clinical trials: is blinding necessary?. **Controlled clinical trials**, v. 17, n. 1, p. 1-12, 1996.

JIANG, J. et al. Calcium hydroxide reduces lipopolysaccharide-stimulated osteoclast formation. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontology**, v. 95, n. 3, p. 348-354, 2003.

JOHNSON, V. L.; HUNTER, D. J. The epidemiology of osteoarthritis. **Best practice & research Clinical rheumatology**, v. 28, n. 1, p. 5-15, 2014.

JUNG, W. K. et al. The 15-deoxy-Delta12, 14-prostaglandin J2 inhibits LPS-stimulated AKT and NF-κB activation and suppresses interleukin-6 in osteoblast-like cells MC3T3E-1. **Life sciences**, v. 85, n. 1-2, p. 46-53, 2009.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. Histologia Básica. 11ª edição. Rio de Janeiro, 2004.

KANE S. P. ClinCalc DrugStats 2021 Update – The Most Commonly Prescribed Drugs in the United States. **ClinCalc**, 2021. Disponível em:

<<https://clincalc.com/blog/2021/09/clincalc-drugstats-2021-update-the-most-commonly-prescribed-drugs-in-the-united-states/>>. Acesso em 22 de junho de 2022.

KANEYAMA, K. et al. Prognostic factors in arthrocentesis of the temporomandibular joint: comparison of bradykinin, leukotriene B4, prostaglandin E2, and substance P level in synovial fluid between successful and unsuccessful cases. **Journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 65, n. 2, p. 242-247, 2007.

KUTUK, G. S. et al. Clinical and Radiological Comparison of Effects of Platelet-Rich Plasma, Hyaluronic Acid, and Corticosteroid Injections on Temporomandibular Joint Osteoarthritis. *Journal of Craniofacial Surgery*, v. 30, n.4, p. 1144-1148, 2019.

LEE, S. J. et al. Response of MG63 osteoblast-like cells onto polycarbonate membrane surfaces with different micropore sizes. **Biomaterials**, v. 25, n. 19, p. 4699-4707, 2004.

LEE, Y. H. et al. Emerging potential of exosomes in regenerative medicine for temporomandibular joint osteoarthritis. **International journal of molecular sciences**, v. 21, n. 4, p. 1541, 2020.

LE GRAVERAND-GASTINEAU, M.-P. Hellio. OA clinical trials: current targets and trials for OA. Choosing molecular targets: what have we learned and where we are headed?. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 17, n. 11, p. 1393-1401, 2009.

LEUNG, B. P. et al. A novel anti-inflammatory role for simvastatin in inflammatory arthritis. **The Journal of Immunology**, v. 170, n. 3, p. 1524-1530, 2003.

LEUNG, P. O. et al. Simvastatin inhibits pro-inflammatory mediators through induction of heme oxygenase-1 expression in lipopolysaccharide-stimulated RAW264.7 macrophages. **Toxicology Letters**, v. 207, n. 2, p. 159-166, 2011.

LI, B. et al. Pathological mechanism of chondrocytes and the surrounding environment during osteoarthritis of temporomandibular joint. **Journal of Cellular and Molecular Medicine**, v. 25, n. 11, p. 4902-4911, 2021.

LIM, W. B.; AL-DADAH, O. Conservative treatment of knee osteoarthritis: A review of the literature. **World Journal of Orthopedics**, v. 13, n. 3, p. 212, 2022.

LOESER R. F. et al. Arthritis & Rheumatism. **Official Journal of the American College of Rheumatology**. v. 64, n. 6, p. 1697-1707, 2012.

LOHMANN, C. H. et al. Phagocytosis of wear debris by osteoblasts affects differentiation and local factor production in a manner dependent on particle composition. *Biomaterials*, v. 21, n. 6, p. 551-561, 2000.

MACHADO, E.; MACHADO, P.; CUNALI, P. A. Utilização de sulfato de condroitina e sulfato de glicosamina nas alterações degenerativas da ATM: uma revisão sistemática. **Dental Press Journal of Orthodontics**, v. 17, p. e1-e5, 2012.

MAGAN-FERNANDEZ, A. et al. Simvastatin exerts antiproliferative and differentiating effects on MG63 osteoblast-like cells: Morphological and immunocytochemical study. **Journal of periodontal research**, v. 53, n. 1, p. 91-97, 2018.

MARKOWSKA, A. et al. Statins: HMG-CoA Reductase Inhibitors as Potential Anticancer Agents against Malignant Neoplasms in Women. **Pharmaceuticals**, v. 13, n. 12, p. 422, 2020.

MARTINS, A. P. et al. Osteoartrite na Articulação temporomandibular. *Revista do Conselho Regional de Odontologia de Minas Gerais*, v. 20, n. 1, p. 28-33, 2021.

MARUOTTI, N.; CORRADO, A.; CANTATORE, F. P. et al. Osteoblast role in osteoarthritis pathogenesis. **Journal of cellular physiology**, v. 232, n. 11, p. 2957-2963, 2017.

MEDINA-HUERTAS, R. et al. The effects of low-level diode laser irradiation on differentiation, antigenic profile, and phagocytic capacity of osteoblast-like cells (MG-63). **Lasers in medical science**, v. 29, n. 4, p. 1479-1484, 2014.

MELIS, M. Low level laser therapy for the treatment of temporomandibular disorders: a systematic review of the literature. **CRANIO®**, v. 30, n. 4, p. 304-312, 2012.

MILAM, S. B. et al. Oxidative stress and degenerative temporomandibular joint disease: a proposed hypothesis. **Journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 56, n. 2, p. 214-223, 1998.

MILAM, S. B. Pathogenesis of degenerative temporomandibular joint arthritides. **Odontology**, v. 93, n. 1, p. 7-15, 2005.

MILLER, R. E. et al. Osteoarthritis joint pain: the cytokine connection. **Cytokine**, v. 70, n. 2, p. 185-193, 2014.

MIOT, H. A. Análise de concordância em estudos clínicos e experimentais. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 15, p. 89-92, 2016.

MONTERO, J.; MANZANO, G.; ALBALADEJO, A. The role of topical simvastatin on bone regeneration: A systematic review. **Journal of Clinical and Experimental Dentistry**, v. 6, n. 3, p. e286, 2014.

MORALES-IVORRA, I. et al. Osteoarthritis and the Mediterranean diet: a systematic review. **Nutrients**, v. 10, n. 8, p. 1030, 2018.

MORENO, A. G. U. T. et al. Influence of estrogen on pain modulation in temporomandibular disorder and its prevalence in females: an integrative review. **Research, Society and Development**, v. 10, n. 2, p. e38510212453-e38510212453, 2021.

MOSMANN, T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays. **Journal of immunological methods**, v. 65, n. 1-2, p. 55-63, 1983.

MUNDY, G. et al. Stimulation of bone formation *in vitro* and in rodents by statins. **Science**, v. 286, n. 5446, p. 1946-1949, 1999.

NAGY, Z.; RADEFF, J.; STERN, P. H. Stimulation of interleukin-6 promoter by parathyroid hormone, tumor necrosis factor α , and interleukin-1 β in UMR-106 osteoblastic cells is inhibited by protein kinase C antagonists. **Journal of Bone and Mineral Research**, v. 16, n. 7, p. 1220-1227, 2001.

NELSON, R. J. et al. Time of day as a critical variable in biology. **BMC biology**, v. 20, n. 1, p. 1-16, 2022.

NITZAN, D. W. The process of lubrication impairment and its involvement in temporomandibular joint disc displacement: a theoretical concept. **Journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 59, n. 1, p. 36-45, 2001.

NITZAN, D. W.; PRICE, A. The use of arthrocentesis for the treatment of osteoarthritic temporomandibular joints. **Journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 59, n. 10, p. 1154-1159, 2001.

NYAN, M. et al. Accelerated and enhanced bone formation on novel simvastatin-loaded porous titanium oxide surfaces. **Clinical implant dentistry and related research**, v. 16, n. 5, p. 675-683, 2014.

OGURA, N. et al. MCP-1 production in temporomandibular joint inflammation. **Journal of dental research**, v. 89, n. 10, p. 1117-1122, 2010.

PANTOJA, L. L. Q. et al. Prevalence of degenerative joint disease of the temporomandibular joint: a systematic review. **Clinical oral investigations**, v. 23, n. 5, p. 2475-2488, 2019.

PARK, Y. et al. Estrogen selectively enhances TMJ disc but not knee meniscus matrix loss. **Journal of Dental Research**, v. 98, n. 13, p.1532-1538, 2019.

PAULA, S. K. S. Avaliação *in vitro* da atividade imunomoduladora e anti-apoptótica do miglustato na osteoartrite. 2018. Dissertação (Mestrado em Inovação Terapêutica) - Universidade Federal de Pernambuco, Recife, 2018.

PAUTKE, C. et al. Characterization of osteosarcoma cell lines MG-63, Saos-2 and U-2 OS in comparison to human osteoblasts. **Anticancer research**, v. 24, n. 6, p. 3743-3748, 2004.

PAVILLON, N. et al. Noninvasive detection of macrophage activation with single-cell resolution through machine learning. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 115, n. 12, p. e2676-e2685, 2018.

PEDERSEN T. R.; TOBERT J. A. Simvastatin: a review. **Expert Opin Pharmacother**, v. 5, n. 12, p. 2583-2596, 2004.

PEREIRA H. L. A et al. Topical Anti-inflammatory Drugs in Osteoarthritis of the Knee. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 46, n.3, p. 188-193, 2006.

PILMANE, M; SKAGERS, A. Growth factors, genes, bone proteins and apoptosis in the temporomandibular joint (TMJ) of children with ankylosis and during disease recurrence. **Stomatologija**, v. 13, n. 3, p. 96-101, 2011.

ROBINSON, J. G. Simvastatin: present and future perspectives. **Expert Opinion on Pharmacotherapy**, v. 8, n. 13, p. 2159-2127, 2007.

ROMAN-BLAS, J. A. et al. Osteoarthritis associated with estrogen deficiency. **Arthritis research & therapy**, v. 11, n. 5, p. 1-14, 2009.

RINGOLD, S; CRON, R. Q. The temporomandibular joint in juvenile idiopathic arthritis: frequently used and frequently arthritic. **Pediatric Rheumatology**, v. 7, n. 1, p. 1-9, 2009.

RUIZ-GASPA, S. et al. Simvastatin and atorvastatin enhance gene expression of collagen type 1 and osteocalcin in primary human osteoblasts and MG-63 cultures. **Journal of cellular biochemistry**, v. 101, n. 6, p. 1430-1438, 2007.

SAMPAIO-BARROS, P. D. et al. First update on the Brazilian consensus for the diagnosis and treatment of spondyloarthropathies: ankylosing spondylitis and psoriatic arthritis. **Revista Brasileira de Reumatologia**, v. 47, n. 4, p. 233-242, 2007.

SCHIFFMAN, E. et al. Diagnostic criteria for temporomandibular disorders (DC/TMD) for clinical and research applications: recommendations of the International RDC/TMD Consortium Network and Orofacial Pain Special Interest Group. **Journal of oral & facial pain and headache**, v. 28, n. 1, p. 6, 2014.

SHAMS, N. et al. Morphology and differentiation of MG63 osteoblast cells on saliva contaminated implant surfaces. **Journal of Dentistry**, v. 12, n. 6, p. 424, 2015.

SICUREZZA, E. et al. Expression of β -defensin 4 on temporomandibular joint discs with anterior displacement without reduction. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 41, n. 8, p. 821-825, 2013.

SIGOLA, L. B. et al. Effects of Toll-like receptor ligands on RAW 264.7 macrophage morphology and zymosan phagocytosis. **Tissue and Cell**, v. 48, n. 4, p. 389-396, 2016.

SILVA, M. A. G. et al. Prevalence of degenerative disease in temporomandibular disorder patients with disc displacement: A systematic review and meta-analysis. **Journal of Cranio-Maxillofacial Surgery**, v. 48, n. 10, p. 942-955, 2020.

SIM, J.; WRIGHT, C. C. The kappa statistic in reliability studies: use, interpretation, and sample size requirements. **Physical therapy**, v. 85, n. 3, p. 257-268, 2005.

SOBOTTA. **Atlas de Anatomia Humana. Cabeça, pescoço e extremidades**. v. 1. Rio de Janeiro: Editora Guanabara Koogan, 2005.

SORIAL, A. K. et al. Statins, bone biology and revision arthroplasty: review of clinical and experimental evidence. **Therapeutic Advances in Musculoskeletal Disease**, v. 12, p. 1-9, 2020.

SUTHANTHIRAN, T. K. et al. Collagen with simvastatin promotes cell metabolism in osteoblast-like SaOS-2 cells. **Journal of pharmacy & bioallied sciences**, v. 4, n. Suppl 2, p. S142, 2012.

SVERDRUP, F. M. et al. Protein geranylgeranylation controls collagenase expression in osteoarthritic cartilage. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 18, n. 7, p. 948-955, 2010.

TANAKA, E. et al. Degenerative disorders of the temporomandibular joint: etiology, diagnosis, and treatment. **Journal of dental research**, v. 87, n. 4, p. 296-307, 2008.

TANAKA, T. et al. Attenuation of osteoarthritis progression in mice following intra-articular administration of simvastatin- conjugated gelatin hydrogel. **Journal of tissue engineering and regenerative medicine**, v. 13, n. 3, p. 423-432, 2019.

TANG, Y. L. et al. Effects of intra-articular administration of sodium hyaluronate on plasminogen activator system in temporomandibular joints with osteoarthritis. **Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod**, v. 109, n. 4, p. 541-7, 2010.

TAVARES, M. T. et al. Understanding the chemical process related to the bioactivation of simvastatin through experimental and in silico methods: a practical class. **Química Nova**, v. 39, n. 4, p. 502-506, 2016.

TEIXEIRA, V. P. et al. Efeito do lipopolissacarídeo de Escherichia coli sobre a proliferação de osteoblastos. **ConScientiae Saúde**, v. 10, n. 2, p. 210-214, 2011.

THOMAS, S. et al. What is the evidence for a role for diet and nutrition in osteoarthritis?. **Rheumatology**, v. 57, n. 4, p. 61-74, 2018.

TIAN, Y. et al. Similarities and differences of estrogen in the regulation of temporomandibular joint osteoarthritis and knee osteoarthritis. **Histology and Histopathology**, p. 18442-18442, 2022.

VALESAN L. F. et al. Prevalence of temporomandibular joint disorders: a systematic review and meta-analysis. **Clinic Oral Investigation**, v. 25, n. 2, p. 441-453, 2021.

VOS L. M. et al. Alteration of cartilage degeneration and inflammation markers in temporomandibular joint osteoarthritis occurs proportionally. **Journal Oral Maxillofacial Surgery**. v. 71, n. 10, p. 1659–1664, 2013.

VOS, L. M. et al. Inflammation is more distinct in temporomandibular joint osteoarthritis compared to the knee joint. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 72, n. 1, p. 35-40, 2014.

YANG, J. Y. et al. Quantitative analysis of osteoblast- like cells (MG63) morphology on nanogrooved substrata with various groove and ridge dimensions. **Journal of Biomedical Materials Research**, v. 90, n. 3, p. 629-640, 2009.

YANG, W. et al. Oral Glucosamine Hydrochloride Combined with Hyaluronate Sodium Intra-Articular Injection for Temporomandibular Joint Osteoarthritis: A Double-Blind Randomized Controlled Trial. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**.v. 76, n. 10, p. 2066-2073, 2018.

YIN, H. et al. Protection against osteoporosis by statins is linked to a reduction of oxidative stress and restoration of nitric oxide formation in aged and ovariectomized rats. **European journal of pharmacology**, v. 674, n. 2-3, p. 200-206, 2012.

WALLACE, A.; CHINN, D.; RUBIN, G. Taking simvastatin in the morning compared with in the evening: randomised controlled trial. **Bmj**, v. 327, n. 7418, p. 788, 2003.

WANG, X. et al. Metabolic triggered inflammation in osteoarthritis. **Osteoarthritis and cartilage**, v. 23, n. 1, p. 22-30, 2015.

WANG, X. D. et al. Deterioration of mechanical properties of discs in chronically inflamed TMJ. **Journal of dental research**, v. 93, n. 11, p. 1170-1176, 2014.

WANG, X. D. et al. Current understanding of pathogenesis and treatment of TMJ osteoarthritis. **Journal of dental research**, v. 94, n. 5, p. 666-673, 2015.

ZHAO, Y.; XIE, L. An Update on Mesenchymal Stem Cell-Centered Therapies in Temporomandibular Joint Osteoarthritis. **Stem Cells International**, v. 2021, 2021.

APÊNDICES

APÊNDICE A – Formulário para avaliação dos critérios de inclusão dos artigos originais

AVALIAÇÃO INICIAL DOS ESTUDOS

ID do estudo: _____ Data: ____/____/____

Título:

Autores:

DOI: _____

1. Tipos de estudos

Trata-se de um ensaio clínico aleatório?

☐	Sim	☐	Não	☐	Indeterminado
--------------------------	-----	--------------------------	-----	--------------------------	---------------

2. Tipos de participantes

Os participantes são apropriados para responder à pergunta da pesquisa da revisão sistemática?

☐	Sim	☐	Não	☐	Indeterminado
--------------------------	-----	--------------------------	-----	--------------------------	---------------

3. Tipos de intervenção

Houve alguma intervenção de interesse a revisão sistemática?

☐	Sim	☐	Não	☐	Indeterminado
--------------------------	-----	--------------------------	-----	--------------------------	---------------

4. Quais são os grupos de comparações?

Grupo experimental	Grupo controle

5. Variáveis do estudo

As variáveis analisadas neste estudo são de interesse a revisão sistemática?

☐	Sim	☐	Não	☐	Indeterminado
--------------------------	-----	--------------------------	-----	--------------------------	---------------

6. Decisão final

Este estudo pode ser incluído na revisão sistemática para extração de dados?

	Sim		Não
--	-----	--	-----

APÊNDICE B – Formulário para coleta de dados dos artigos originais incluídos

INFORMAÇÃO DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

ID do estudo:

Data: ____/____/____

Título:

Autores:

DOI:

Informação a ser coletada
1. Método 1.1) Pergunta da pesquisa: 1.2) Hipóteses: 1.3) Objetivos: 1.4) Randomização: 1.4.1 Geração da sequência de alocação: 1.4.2 Sigilo da alocação: 1.5) Cegamento: 1.5.1 Pessoa responsável pelos cuidados aos participantes 1.5.2. Participantes 1.5.3. Pessoa responsável pela coleta de dados 1.5.4. Pesquisador principal 1.5.5 Pessoa que faz a análise dos dados 1.5.6 Pessoa que escreveu o artigo 1.6) Perdas do seguimento após a intervenção: 1.6.1 Perdas: 1.6.2 Exclusões: 1.7) Duração do seguimento pós-intervenção: 1.8) Quais os critérios de inclusão? 1.9) Número de participantes que receberam o tratamento desejado 1.10) Número de participantes que foram analisados: 1.11) Momentos em que os dados foram avaliados durante o estudo: 1.12) Momentos relatados no estudo:

1.13) Tipo de estudo: 1.14) Os grupos eram comparáveis em relação a mais importante característica prognóstica? 1.15) Princípio da intenção-do-tratamento: 1.16) Cálculo do tamanho da amostra: 1.17) Escala de Qualidade (JADAD et al., 1996): 1.17.1 O estudo foi descrito como aleatório (uso de palavras como "randômico", "aleatório", "randomização")? 1.17.2 O método foi adequado? 1.17.3 O estudo foi descrito como duplo-cego? 1.17.4 O método foi adequado? 1.17.5 Houve descrição das perdas e exclusões?
2. Participantes 2.1) Critérios de inclusão: 2.2) Idade: 2.3) Gênero: 2.4) Número de participantes: 2.5) Critérios de exclusão: 2.6) Duração do estudo: 2.7) Local do estudo:
3. Intervenção 3.1) Grupo de intervenção: 3.1.1 Técnica anestésica: 3.1.2 Fármacos utilizados:
4. Variáveis 4.1) Variáveis primárias: 4.2) Variáveis secundárias:
5. Notas Comissão de ética, conflito de interesses.

APÊNDICE C – Coleta de dados dos artigos originais incluídos

INFORMAÇÃO DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

ID do estudo: Bjørnland e colaboradores (2007).

Data: 01/04/2007

Título: **Osteoarthritis of the temporomandibular joint: an evaluation of the effects and complications of corticosteroid injection compared with injection with sodium hyaluronate.**

Autores: Bjørnland T, Gjaerum AA, Møystad A.

DOI: 10.1111/j.1365-2842.2007.01759.x

Informação a ser coletada
1. Método 1.1) Pergunta da pesquisa: Não informado no estudo. 1.2) Hipóteses: Foi testada a hipótese de que não há diferenças significativas entre as injeções intra-articulares das duas drogas em termos de alívio da dor, sons articulares, função e complicações. 1.3) Objetivos: Comparar a eficácia e as complicações das injeções intra-articulares na ATM de corticosteroides e hialuronato de sódio, entre pacientes com diagnóstico de osteoartrite da ATM. 1.4) Randomização: 1.4.1 Geração da sequência de alocação: Sim. 1.4.2 Sigilo da alocação: Informação não disponível no estudo. 1.5) Cegamento: 1.5.1 Pessoa responsável pelos cuidados aos participantes: Informação não disponível no estudo. 1.5.2 Participantes: Sim.

1.5.3 Pessoa responsável pela coleta de dados:

Informação não disponível no estudo.

1.5.4. Pesquisador principal:

Informação não disponível no estudo.

1.5.5 Pessoa que faz a análise dos dados:

Informação não disponível no estudo.

1.5.6 Pessoa que escreveu o artigo:

Informação não disponível no estudo.

1.6) Perdas do seguimento após a intervenção:**1.6.1 Perdas:**

Não houve relato de perda.

1.6.2 Exclusões:

12 pacientes sem achados radiológicos de OA.

1.7) Duração do seguimento pós-intervenção:

6 meses.

1.8) Quais os critérios de inclusão?

Dor subjetiva da ATM em função e repouso por > 1 ano, função mandibular restrita e evidência radiográfica de osteoartrite da ATM, como erosões, achatamento, esclerose e osteófitos do côndilo e/ou da fossa articular. Os pacientes também deveriam ter tentado tratamentos conservadores adequados; como informação e tranquilização, anti-inflamatórios não esteroidais, fisioterapia e placas oclusais sem alívio dos sintomas, antes da participação no estudo.

1.9) Número de participantes que receberam o tratamento desejado (envolvidos no estudo):

40 participantes.

1.10) Número de participantes que foram analisados:

40 participantes.

1.11) Momentos em que os dados foram avaliados durante o estudo:

14 dias, 1 e 6 meses.

1.12) Momentos relatados no estudo:

14 dias 1 e 6 meses.

1.13) Tipo de estudo:

Ensaio clínico prospectivo, cego e randomizado.

1.14) Os grupos eram comparáveis em relação a mais importante característica prognóstica?

Sim.

1.15) Princípio da intenção-do-tratamento:

Não.

1.16) Cálculo do tamanho da amostra:

Não informado no estudo.

1.17) Escala de Qualidade (JADAD et al., 1996):

1.17.1 O estudo foi descrito como aleatório (uso de palavras como "randômico", "aleatório", "randomização")?:

Sim.

1.17.2 O método foi adequado?

Sim.

1.17.3 O estudo foi descrito como duplo-cego?

Não.

1.17.4 O método foi adequado?

Sim.

1.17.5. Houve descrição das perdas e exclusões?

Não há relatos de perdas.

2. Participantes

2.1) Critérios de inclusão:

Dor subjetiva da ATM em função e repouso por > 1 ano, função mandibular restrita e evidência radiográfica de osteoartrite da ATM, como erosões, achatamento, esclerose e osteófitos do côndilo e/ou da fossa articular. Os pacientes também deveriam ter tentado tratamentos conservadores adequados; como informação e tranquilização, anti-inflamatórios não esteroidais, fisioterapia e placas oclusais sem alívio dos sintomas, antes da participação no estudo.

2.2) Idade:

Superior a 20 anos.

2.3) Gênero:

34 mulheres e 6 homens.

2.4) Número de participantes:

52 participantes.

2.5) Critérios de exclusão:

Pacientes com histórico de artrite geral ou outras doenças do tecido conjuntivo, tratamento com drogas imunossupressoras, qualquer doença de órgão, infecção geral e se estivessem grávidas ou amamentando ou tivessem qualquer alergia conhecida ou hipersensibilidade a ovos, penas, proteínas de aves ou frango, foram excluídos do estudo. Os critérios de exclusão adicionais: injeções de qualquer corticosteroide ou qualquer preparação de hialuronato de sódio nos 12 meses anteriores.

2.6) Duração do estudo:

6 meses.

2.7) Local do estudo:

Noruega.

3. Intervenção**3.1) Grupo de intervenção:****3.1.1 Técnica anestésica:**

Injeções intra-articulares de lidocaína 2% + adrenalina (0,7 a 1ml).

3.1.2 Fármacos utilizados:

Sal sódico de ácido hialurônico, (Hylan GF 20), ou corticosteróide (fosfato sódico de betametasona, acetato de betametasona).

4. Variáveis**4.1) Variáveis primárias:**

Diferenças no efeito e complicações das injeções intra-articulares de hialuronato de sódio em comparação às injeções de corticosteroides.

4.2) Variáveis secundárias:

Avaliação da dor, sons articulares, função mandibular.

5. Notas

Informação não disponível no estudo.

APÊNDICE D – Coleta de dados dos artigos originais incluídos

INFORMAÇÃO DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

ID do estudo: Cen e colaboradores (2018).

Data: 04/2018

Título: **Glucosamine oral administration as an adjunct to hyaluronic acid injection in treating temporomandibular joint osteoarthritis.**

Autores: Xiao Cen, Yan Liu, Shasha Wang, Xianrui Yang, Zongdao Shi, Xinhua Liang.

DOI: 10.1111/odi.12760

Informação a ser coletada
1. Método 1.1) Pergunta da pesquisa: Não informado no estudo. 1.2) Hipóteses: Não informado no estudo. 1.3) Objetivos: Investigar o efeito terapêutico da glucosamina oral (GS) como adjuvante à injeção de ácido hialurônico (AH) em pacientes com osteoartrite da articulação temporomandibular (OA-ATM). 1.4) Randomização: 1.4.1 Geração da sequência de alocação: Sim. 1.4.2 Sigilo da alocação: Sim. 1.5) Cegamento: 1.5.1 Pessoa responsável pelos cuidados aos participantes: Sim. 1.5. 2. Participantes: Sim. 1.5.3 Pessoa responsável pela coleta de dados: Sim. 1.5.4. Pesquisador principal:

Não informado no estudo.

1.5.5 Pessoa que faz a análise dos dados:

Sim.

1.5.6 Pessoa que escreveu o artigo:

Não informado no estudo.

1.6) Perdas do seguimento após a intervenção:

1.6.1 Perdas:

Sim, 8 participantes.

1.6.2 Exclusões:

Não.

1.7) Duração do seguimento pós-intervenção:

1 ano de acompanhamento.

1.8) Quais os critérios de inclusão?

(i) homens ou mulheres de 16 a 70 anos; (ii) ser diagnosticado como ATM OA por RDC/TMD e TC de feixe cônico (TCFC); (iii) consentimento do participante no julgamento e podem cooperar.

1.9) Número de participantes que receberam o tratamento desejado (envolvidos no estudo)

72 participantes.

1.10) Número de participantes que foram analisados:

136 participantes.

1.11) Momentos em que os dados foram avaliados durante o estudo:

Início do estudo e 1 mês, 1 ano de acompanhamento.

1.12) Momentos relatados no estudo:

Início do estudo e 1 mês, 1 ano de acompanhamento.

1.13) Tipo de estudo:

Estudo prospectivo duplo-cego randomizado.

1.14) Os grupos eram comparáveis em relação a mais importante característica prognóstica?

Sim.

1.15) Princípio da intenção-do-tratamento:

Não.

1.16) Cálculo do tamanho da amostra:

O tamanho da amostra foi calculado supondo que a taxa de eficiência do grupo controle foi de 40%, a diferença entre os dois grupos foi de 30% e a taxa de abandono não foi superior a 20%.

1.17) Escala de Qualidade (JADAD et al., 1996):

1.17.1 O estudo foi descrito como aleatório (uso de palavras como "randômico", "aleatório", "randomização")?

Sim.

1.17.2 O método foi adequado?

Sim.

1.17.3 O estudo foi descrito como duplo-cego?

Sim.

1.17.4 O método foi adequado?

Sim.

1.17.5. Houve descrição das perdas e exclusões?

Sim.

2. Participantes

2.1) Critérios de inclusão:

- (i) homens ou mulheres de 16 a 70 anos;
- (ii) ser diagnosticado como TMJ OA por RDC/TMD e tomografia computadorizada de feixe cônico;
- (iii) consentir e cooperar com a participação no estudo.

2.2) Idade:

Em média 38,1 anos. (16-70 anos).

2.3) Gênero:

18 homens, 118 mulheres.

2.4) Número de participantes:

144 participantes.

2.5) Critérios de exclusão:

- (i) sensibilidade a penas ou ovos ou Glucosamina ou outras doenças alérgicas;
- (ii) ter recebido o mesmo ou outros tratamentos de OA no último ano;
- (iii) ter participado de outros ensaios clínicos nos últimos 3 meses;
- (iv) presença de infecções na área da ATM;

(v) presença de doenças graves do coração, fígado, rim ou no sistema sanguíneo.

2.6) Duração do estudo:

1 ano de acompanhamento.

2.7) Local do estudo:

Noruega.

3. Intervenção

3.1) Grupo de intervenção:

3.1.1 Técnica anestésica:

Não relatada.

3.1.2 Fármacos utilizados:

Hialuronato de sódio (20mg/2mL), glucosamina oral 240mg e placebo oral.

4. Variáveis

4.1) Variáveis primárias:

Análise da dor e abertura máxima de boca.

4.2) Variáveis secundárias:

Níveis de IL-1 β , IL-6 e TGF- β .

5. Notas

Fonte de fomento, comissão de ética, conflito de interesses.

Os autores declararam que os clínicos gerais participantes, os farmacêuticos e a equipe do laboratório que disponibilizou os comprimidos de glucosamina e do placebo (State Key Laboratory of Oral Diseases e do West China Hospital of Stomatology. Xinsidun Drug Manufacturing Limited Company) não participaram do projeto, da condução, da análise e do relatório do estudo.

Apêndice E – Formulário para coleta de dados dos artigos originais incluídos

INFORMAÇÃO DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

ID do estudo: Gencer e colaboradores (2014).

Data: 08/ 01/ 2014

Título: A comparative study on the impact of intra-articular injections of hyaluronic acid, tenoxicam and betametazon on the relief of temporomandibular joint disorder complaints

Autores: Gencer ZK, Özkiris M, Okur A, Korkmaz M, Saydam L.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2014.01.041>

Informação a ser coletada
1. Método 1.1) Pergunta da pesquisa: Não informado. 1.2) Hipóteses: Não informado. 1.3) Objetivos: Investigar a eficácia comparativa de injeções intra-articulares de três diferentes agentes anti-inflamatórios: ácido hialurônico, betametasona e tenoxicam. 1.4) Randomização: 1.4.1 Geração da sequência de alocação: Sim. 1.4.2 Sigilo da alocação: Informação não disponível no estudo. 1.5) Cegamento: 1.5.1 Pessoa responsável pelos cuidados aos participantes: Sim. 1.5. Participantes: Sim. 1.5.3 Pessoa responsável pela coleta de dados: Informação não disponível no estudo. 1.5.4 Pesquisador principal:

Sim.

1.5.5 Pessoa que faz a análise dos dados:

Informação não disponível no estudo.

1.5.6 Pessoa que escreveu o artigo:

Informação não disponível no estudo.

1.6) Perdas do seguimento após a intervenção:

1.6.1 Perdas:

Não.

1.6.2 Exclusões:

Não.

1.7) Duração do seguimento pós-intervenção:

6 semanas.

1.8) Quais os critérios de inclusão?

Pacientes em estágio intermediário tardio (IV) e tardio (V) da OA-ATM foram incluídos nos grupos de estudo. Grupos de controle selecionaram pacientes em estágio inicial (I). De acordo com a classificação de Wilkes.

1.9) Número de participantes que receberam o tratamento desejado (envolvidos no estudo):

100 participantes.

1.10) Número de participantes que foram analisados:

100.

1.11) Momentos em que os dados foram avaliados durante o estudo:

1º semana, 6º semana.

1.12) Momentos relatados no estudo:

1º semana, 6º semana.

1.13) Tipo de estudo:

Estudo prospectivo randomizado duplo-cego.

1.14) Os grupos eram comparáveis em relação a mais importante característica prognóstica?

Sim.

1.15) Princípio da intenção-do-tratamento:

Não.

1.16) Cálculo do tamanho da amostra:

Não informado.

1.17) Escala de Qualidade (JADAD et al., 1996)

1.17.1 O estudo foi descrito como aleatório (uso de palavras como "randômico", "aleatório", "randomização")?

Sim.

1.17.2 O método foi adequado?

Sim.

1.17.3 O estudo foi descrito como duplo-cego?

Sim.

1.17.4 O método foi adequado?

Sim.

1.17.5 Houve descrição das perdas e exclusões?

Não há relatos de perda.

2. Participantes

2.1) Critérios de inclusão:

Pacientes em estágio intermediário tardio (IV) e tardio (V) foram incluídos nos grupos de estudo. Grupos de controle selecionaram pacientes em estágio inicial (I). De acordo com a classificação de Wilkes.

2.2) Idade:

18-65 anos.

2.3) Gênero:

55 mulheres e 45 homens.

2.4) Número de participantes:

100.

2.5) Critérios de exclusão:

Foram excluídos os pacientes com operações recentes, distúrbios sistêmicos, síndromes fibromiálgicas, hipersensibilidade conhecida aos AINEs, história positiva para úlcera péptica e presença de cefaleia ou otalgia por outros motivos.

2.6) Duração do estudo:

6 semanas
2.7) Local do estudo: Bozok, Yozgat, Turquia.
3. Intervenção 3.1) Grupo de intervenção: 3.1.1 Técnica anestésica: Informação não disponível no estudo. 3.1.2 Fármacos utilizados: Ácido hialurônico 10 mg/mL, hialuronato de sódio, betametasona (Diprospan 7 mg/mL), Tenoxicam (Tilcotil 20 mg/mL), solução salina, anti-inflamatório não esteroide (Etodolac 400 mg), relaxante muscular (Thiocolchicoside 8 mg).
4. Variáveis 4.1) Variáveis primárias: Comparação dos efeitos e complicações das injeções intra-articulares de ácido hialurônico, betametasona e tenoxicam. 4.2) Variáveis secundárias: Dor.
5. Notas Fonte de fomento, comissão de ética, conflito de interesses. Nenhum dos autores tem qualquer conflito de interesse, financeiro ou outro.

APÊNDICE F – Coleta de dados dos artigos originais incluídos

INFORMAÇÃO DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

ID do estudo: Kutuk e colaboradores (2019).

Data: 31/10/2018

Título: Clinical and Radiological Comparison of Effects of Platelet-Rich Plasma, Hyaluronic Acid, and Corticosteroid Injections on Temporomandibular Joint Osteoarthritis

Autores: Kutuk G. S, Gökçe G, Arslan M, Özkan Y, Kütük M, Kursat Arikan O.

DOI: 10.1097/SCS.00000000000005211

Informação a ser coletada
1. Método 1.1) Pergunta da pesquisa: Não informado. 1.2) Hipóteses: Não informado. 1.3) Objetivos: Comparar os resultados clínicos de injeções intra-articulares de SC, AH e PRP em pacientes com dor na ATM e clinicamente diagnosticado com OA-ATM. 1.4) Randomização: 1.4.1 Geração da sequência de alocação: Sim. 1.4.2 Sigilo da alocação: Informação não disponível no estudo. 1.5) Cegamento: 1.5.1 Pessoa responsável pelos cuidados aos participantes Informação não disponível no estudo. 1.5. Participantes Informação não disponível no estudo. 1.5.3 Pessoa responsável pela coleta de dados Informação não disponível no estudo. 1.5.4. Pesquisador principal

Informação não disponível no estudo.

1.5.5 Pessoa que faz a análise dos dados

Informação não disponível no estudo.

1.5.6 Pessoa que escreveu o artigo

Informação não disponível no estudo.

1.6) Perdas do seguimento após a intervenção:

1.6.1 Perdas:

Não.

1.6.2 Exclusões:

Não.

1.7) Duração do seguimento pós-intervenção:

6 meses.

1.8) Quais os critérios de inclusão?

Pacientes com diagnóstico de ATM-OA de acordo com os critérios diagnósticos de doença temporomandibular (Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders, Axis I Group IIIb) foram incluídos no estudo.

1.9) Número de participantes que receberam o tratamento desejado (envolvidos no estudo)

60.

1.10) Número de participantes que foram analisados:

60 participantes.

1.11) Momentos em que os dados foram avaliados durante o estudo:

1 mês, 2 meses, 3 meses, 6 meses.

1.12) Momentos relatados no estudo:

1 mês, 2 meses, 3 meses, 6 meses.

1.13) Tipo de estudo:

Ensaio clínico randomizado.

1.14) Os grupos eram comparáveis em relação a mais importante característica prognóstica?

Sim.

1.15) Princípio da intenção-do-tratamento:

Sim.

1.16) Cálculo do tamanho da amostra:

Não tem.

1.17) Escala de Qualidade (JADAD et al., 1996):

1.17.1 O estudo foi descrito como aleatório (uso de palavras como "randômico", "aleatório", "randomização")?

Sim.

1.17.2 O método foi adequado?

Sim.

1.17.3 O estudo foi descrito como duplo-cego?

Não.

1.17.4 O método foi adequado?

1.17.5 Houve descrição das perdas e exclusões?

Não houve relato de perda

2. Participantes

2.1) Critérios de inclusão:

Pacientes com diagnóstico de OA-ATM de acordo com os critérios diagnósticos de doença temporomandibular (Research Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders, Axis I Group IIIb) foram incluídos no estudo.

2.2) Idade:

Pacientes maiores de 16 anos.

2.3) Gênero:

Sem preferência.

2.4) Número de participantes:

60 participantes.

2.5) Critérios de exclusão:

Foram excluídos pacientes com doença hematológica e neurológica, inflamatória, do tecido conjuntivo e maligna na região de cabeça e pescoço, menores de 16 anos, gestantes, aqueles que foram tratados para doença da ATM não relacionada à osteoartrite da ATM e casos que receberam cirurgia craniofacial do estudo.

2.6) Duração do estudo:

6 meses.

2.7) Local do estudo:

Aydin, Turquia.

3. Intervenção 3.1) Grupo de intervenção: 3.1.1 Técnica anestésica: Informação não relatada no estudo. 3.1.2 Fármacos utilizados: Plasma rico em plaquetas, ácido hialurônico e acetato de triancinolona.
4. Variáveis 4.1) Variáveis primárias: Diferentes efeitos dos fármacos escolhidos, HA, PRP e CS, na melhora geral do paciente com OA-ATM. 4.2) Variáveis secundárias: Dor, perda de função, perda de força, presença de crepitação.
5. Notas Fonte de fomento, comissão de ética, conflito de interesses. Os autores informaram que não houve conflitos de interesse.

APÊNDICE G – Formulário para coleta de dados dos artigos originais incluídos

INFORMAÇÃO DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

ID do estudo: Tang e colaboradores (2010).

Data: 04/02/2010

Título: **Effects of intra-articular administration of sodium hyaluronate on plasminogen activator system in temporomandibular joints with osteoarthritis**

Autores: Tang YZ, Zhu GQ, Zheng M, Zhang JY, Shi ZD, Liang XH

DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.11.007

Informação a ser coletada
1. Método 1.1) Pergunta da pesquisa: Não informado. 1.2) Hipóteses: A hipótese dada foi que uma maior atividade do sistema ativador de plasminogênio (PA) e níveis dos componentes de PA seriam encontrados em articulações com OA do que em indivíduos controles saudáveis. A hipótese de que a atividade de PA do tipo uroquinase (uPA) e os níveis de componentes de PA seriam afetados pela injeção intra-articular de SH, também foi testada. 1.3) Objetivos: Investigar atividade uPA e os níveis dos principais componentes do Sistema PA (uPA; e inibidor de PA 1, PAI-1 e receptor solúvel de uPA, suPAR) na região sinovial fluido da ATM OA, bem como o efeito da injeção de SH no sistema PA na OA-ATM. 1.4) Randomização: 1.4.1 Geração da sequência de alocação: Sim. 1.4.2 Sigilo da alocação: A sequência foi mantida na farmácia do hospital e no Centro de Bom Procedimento Clínico (GCP). 1.5) Cegamento: 1.5.1 Pessoa responsável pelos cuidados aos participantes:

Sim.

1.5. Participantes

Sim.

1.5.3 Pessoa responsável pela coleta de dados:

Informação não disponível no estudo.

1.5.4. Pesquisador principal:

Informação não disponível no estudo.

1.5.5 Pessoa que faz a análise dos dados:

Informação não disponível no estudo.

1.5.6 Pessoa que escreveu o artigo:

Informação não disponível no estudo.

1.6) Perdas do seguimento após a intervenção:

1.6.1 Perdas:

Não.

1.6.2 Exclusões:

Não.

1.7) Duração do seguimento pós-intervenção:

6 meses.

1.8) Quais os critérios de inclusão?

Pacientes diagnosticados com OA e tratados sem sucesso por terapia conservadora (exercícios de mandíbula, fisioterapia e placas oclusais) foram incluídos no estudo.

1.9) Número de participantes que receberam o tratamento desejado (envolvidos no estudo):

40 participantes.

1.10) Número de participantes que foram analisados:

40 participantes.

1.11) Momentos em que os dados foram avaliados durante o estudo:

Semanalmente, 5 semanas, 6 meses.

1.12) Momentos relatados no estudo:

5 semanas, 6 meses.

1.13) Tipo de estudo:

Ensaio clínico aleatório, duplo-cego.

1.14) Os grupos eram comparáveis em relação a mais importante característica prognóstica?

Sim.

1.15) Princípio da intenção-do-tratamento:

Não.

1.16) Cálculo do tamanho da amostra:

Não informado no estudo.

1.17) Escala de Qualidade (JADAD et al., 1996):

1.17.1 O estudo foi descrito como aleatório (uso de palavras como "randômico", "aleatório", "randomização")?

Sim.

1.17.2 O método foi adequado?

Sim.

1.17.3 O estudo foi descrito como duplo-cego?

Sim.

1.17.4 O método foi adequado?

Sim.

1.17.5. Houve descrição das perdas e exclusões?

Não houve relato de perda.

2. Participantes

2.1) Critérios de inclusão:

Pacientes diagnosticados com OA e tratados sem sucesso por terapia conservadora (exercícios de mandíbula, fisioterapia e placas oclusais) foram incluídos no estudo.

2.2) Idade:

25-63 anos.

2.3) Gênero:

Sem preferência.

2.4) Número de participantes:

40.

2.5) Critérios de exclusão:

Pacientes com história de artrite geral ou outras doenças do tecido conjuntivo, tratamento com drogas imunossupressoras, quaisquer doenças de órgãos,

infecção geral e trauma induzido distúrbios articulares foram excluídos do estudo.

2.6) Duração do estudo:

6 meses.

2.7) Local do estudo:

Sichuan, China Ocidental.

3. Intervenção

3.1) Grupo de intervenção:

3.1.1 Técnica anestésica:

Anestesia local (cloridrato de lidocaína 1%)

3.1.2 Fármacos utilizados:

Solução salina fisiológica, hialuronato de sódio.

4. Variáveis

4.1) Variáveis primárias:

Atividade de PA do tipo uroquinase (uPA) e dor.

4.2) Variáveis secundárias:

Níveis dos principais componentes do Sistema PA (PA do tipo uroquinase, uPA; Receptor solúvel de uPA, suPAR e inibidor de PA 1 (PAI-1).

5. Notas

Fonte de fomento, comissão de ética, conflito de interesses.

Informação não disponível no estudo.

Apêndice H – Formulário para coleta de dados dos artigos originais incluídos

INFORMAÇÃO DOS ESTUDOS INCLUÍDOS

ID do estudo: Yang e colaboradores (2018).

Data: 23/04/2018

Título: Oral Glucosamine Hydrochloride Combined With Hyaluronate Sodium Intra-Articular Injection for Temporomandibular Joint Osteoarthritis: A Double-Blind Randomized Controlled Trial

Autores: Yang W, Miao C, Sun H, Li L, Li C.

DOI: 10.1016/j.joms.2018.04.031

Informação a ser coletada
1. Método 1.1) Pergunta da pesquisa: Não informado. 1.2) Hipóteses: Não informado. 1.3) Objetivos: Investigar a eficácia e segurança das pílulas de cloridrato de glucosamina orais combinadas com injeção intra-articular de hialuronato de sódio na OA da ATM. 1.4) Randomização: 1.4.1 Geração da sequência de alocação: Sim. 1.4.2 Sigilo da alocação: Sim. 1.5) Cegamento: 1.5.1 Pessoa responsável pelos cuidados aos participantes Sim. 1.5. Participantes Sim. 1.5.3 Pessoa responsável pela coleta de dados Sim. 1.5.4. Pesquisador principal

Sim.

1.5.5 Pessoa que faz a análise dos dados

Sim.

1.5.6 Pessoa que escreveu o artigo:

Informação não disponível no estudo.

1.6) Perdas do seguimento após a intervenção:

1.6.1 Perdas:

18 participantes.

1.6.2 Exclusões:

Não.

1.7) Duração do seguimento pós-intervenção:

1 ano.

1.8) Quais os critérios de inclusão?

Pacientes sintomáticos de 16 a 70 anos com OA.

1.9) Número de participantes que receberam o tratamento desejado (envolvidos no estudo)

144 participantes.

1.10) Número de participantes que foram analisados:

144 participantes.

1.11) Momentos em que os dados foram avaliados durante o estudo:

1 mês, 3 meses, 6 meses, 1 ano.

1.12) Momentos relatados no estudo:

1 mês, 3 meses, 6 meses, 1 ano.

1.13) Tipo de estudo:

Estudo controlado randomizado duplo-cego.

1.14) Os grupos eram comparáveis em relação a mais importante característica prognóstica?

Sim.

1.15) Princípio da intenção-do-tratamento:

Sim.

1.16) Cálculo do tamanho da amostra:

Sim.

1.17) Escala de Qualidade (JADAD et al., 1996)

1.17.1 O estudo foi descrito como aleatório (uso de palavras como "randômico", "aleatório", "randomização")?

Sim.

1.17.2 O método foi adequado?

Sim.

1.17.3 O estudo foi descrito como duplo-cego?

Sim.

1.17.4 O método foi adequado?

Sim.

1.17.5. Houve descrição das perdas e exclusões?

Sim.

2. Participantes

2.1) Critérios de inclusão:

Pacientes sintomáticos de 16 a 70 anos com OA foram incluídos.

2.2) Idade:

16-70 anos.

2.3) Gênero:

(24 homens e 120 mulheres).

2.4) Número de participantes:

144 participantes.

2.5) Critérios de exclusão:

Pacientes alérgicos a vários medicamentos ou portadores de doença de hipersensibilidade; disfunção grave do coração, fígado, rim ou sistema sanguíneo; infecção na área da ATM; ou fratura anterior da mandíbula, cirurgia anterior da ATM ou outra patologia da ATM foram excluídas.

2.6) Duração do estudo:

1 ano.

2.7) Local do estudo:

Chengdu, China.

3. Intervenção

3.1) Grupo de intervenção:

3.1.1 Técnica anestésica:

Lidocaína a 2% e cloreto de sódio a 0,9%.

3.1.2 Fármacos utilizados:

Hialuronato de sódio (20 mg), cloridrato de glucosamina (240mg), lidocaína 2%, cloreto de sódio (0,9%), diclofenaco de sódio (50 mg).

4. Variáveis**4.1) Variáveis primárias:**

Eficácia e complicações da combinação entre hialuronato de sódio e cloridrato de glucosamina.

4.2) Variáveis secundárias:

Dor, abertura máxima intersticial de boca, desvio da mandíbula da linha média ao abrir, desvio da mandíbula da linha média durante a protrusão e qualidade de vida.

5. Notas**Comissão de ética, conflito de interesses.**

A aprovação ética obtida do comitê de ética (2009022). Conflitos de interesse: A Xinsidun Drug Manufacturing Limited Company gentilmente doou as pílulas de cloridrato de glucosamina e placebo. Eles não participaram do julgamento para projetar, conduzir ou relatar o estudo.

ANEXOS

ANEXO A – PROTOCOLO PARA AVALIAR O RISCO DE VIÉS DE ENSAIOS RANDOMIZADOS.

Risk of bias 2.0 cochrane (HIGGINS et al., 2019).

Detalhes do estudo	
ID do estudo:	Data:
Título:	
Autores:	
DOI:	
Design de estudo	
☐ de grupo paralelo randomizado individualmente ☐ Ensaio de grupo paralelo randomizado por cluster ☐ Ensaio cruzado individualmente randomizado (ou outro pareado)	
Para efeitos desta avaliação, as intervenções que estão a ser comparadas são definidas como Experimental: Comparador:	
Especificar qual resultado está sendo avaliado quanto ao risco de viés	
Especifique o resultado numérico que está sendo avaliado.	
O objetivo da equipe de revisão é esse resultado...? ☐ para avaliar o efeito da <i>atribuição à intervenção</i> (o efeito 'intenção de tratar') ☐ para avaliar o efeito de <i>aderir à intervenção</i> (o efeito 'per-protocol')	
Se o objetivo é avaliar o efeito de aderir à intervenção , selecione os desvios da intervenção pretendida que devem ser abordados (pelo menos um deve ser verificado): ☐ ocorrência de intervenções não protocolares ☐ falhas na implementação da intervenção que poderiam ter afetado o resultado	

☐ não adesão à sua intervenção atribuída pelos participantes do estudo

Quais das seguintes fontes foram obtidas para ajudar a informar a avaliação de risco de viés? (marque quantos se aplicam)

☐ Artigo(s) de jornal com resultados do estudo

☐ Protocolo de avaliação

☐ Plano de análise estatística (SAP)

☐ Registro de registro de ensaio não comercial (por exemplo, registro ClinicalTrials.gov)

☐ Registro de registro de estudo de propriedade da empresa (por exemplo, registro de registro de estudo clínico da GSK)

☐ “Literatura cinzenta” (por exemplo, tese não publicada)

☐ Resumo(s) da conferência sobre o julgamento

☐ Documento regulamentar (por exemplo, Relatório de Estudo Clínico, Pacote de Aprovação de Medicamentos)

☐ Aplicação de ética em pesquisa

☐ Resumo do banco de dados de subsídios (por exemplo, NIH RePORTER ou Research Councils UK Gateway to Research)

☐ Comunicação pessoal com o experimentador

☐ Comunicação pessoal com o patrocinador

Avaliação do risco de viés

As respostas sublinhadas em **verde** são marcadores potenciais de baixo risco de viés, e as respostas em **vermelho** são marcadores potenciais de risco de viés. Onde as perguntas se referem apenas a mensagens de assinatura para outras perguntas, nenhuma formatação é usada. Onde, S= Sim, PY= provavelmente sim, PN, provavelmente não, N= não, NI= não informado.

Domínio 1: Risco de viés decorrente do processo de randomização

Perguntas de sinalização	Comentários	Opções de resposta
1.1 A sequência de alocação foi aleatória?		<u>S</u> / <u>PY</u> / PN / N / NI
1.2 A sequência de alocação foi ocultada até que os participantes fossem inscritos e designados para as intervenções?		<u>S</u> / <u>PY</u> / PN / N / NI
1.3 As diferenças basais entre os grupos de intervenção sugeriram um problema com o processo de randomização?		S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI

Julgamento de risco de viés		Baixa / Alta / Algumas preocupações
Opcional: Qual é a direção prevista do viés decorrente do processo de randomização?		

Domínio 2: Risco de viés devido a desvios das intervenções pretendidas (Efeito da atribuição à intervenção)

Perguntas de sinalização	Comentários	Opções de resposta
2.1. Os participantes estavam cientes de sua intervenção designada durante o estudo?		S / PY / <u>PN / N</u> / NI
2.2. Os cuidadores e as pessoas que realizavam as intervenções estavam cientes da intervenção atribuída aos participantes durante o estudo?		S / PY / <u>PN / N</u> / NI
2.3. Se <u>Y/IPY</u> /NI para 2.1 ou 2.2 : Houve desvios da intervenção pretendida que surgiram devido ao contexto do estudo?		NA / S / PY / <u>PN / N</u> / NI
2.4 Se <u>Y/IPY</u> para 2.3 : Esses desvios provavelmente afetaram o resultado?		NA / S / PY / <u>PN / N</u> / NI
2.5. Se <u>S/IPY</u> /NI a 2.4 : Esses desvios da intervenção pretendida foram equilibrados entre os grupos?		NA / <u>S / PY</u> / <u>PN / N</u> / NI
2.6 Foi utilizada uma análise apropriada para estimar o efeito da atribuição à intervenção?		<u>S / PY</u> / <u>PN / N</u> / NI
2.7 Se <u>N/PN</u> /NI para 2.6: Houve potencial para um impacto substancial (no resultado) da falha em analisar os participantes do grupo para o qual foram randomizados?		NA / S / PY / <u>PN / N</u> / NI
Julgamento de risco de viés		Baixa / Alta / Algumas preocupações
Opcional: Qual é a direção prevista do viés devido a desvios das intervenções pretendidas?		

Domínio 2: Risco de viés devido a desvios das intervenções pretendidas (Efeito de aderir à intervenção)

Perguntas de sinalização	Comentários	Opções de resposta
2.1. Os participantes estavam cientes de sua intervenção designada durante o estudo?		S / PY / <u>PN</u> / N / NI
2.2. Os cuidadores e as pessoas que realizavam as intervenções estavam cientes da intervenção atribuída aos participantes durante o estudo?		S / PY / <u>PN</u> / N / NI
2.3. [Se aplicável:] Se <u>Y/PY</u> /NI para 2.1 ou 2.2 : As intervenções importantes fora do protocolo foram equilibradas entre os grupos de intervenção?		NA / <u>S</u> / PY / <u>PN</u> / N / NI
2.4. [Se aplicável:] Houve falhas na implementação da intervenção que poderiam ter afetado o resultado?		NA / S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
2.5. [Se aplicável:] Houve não adesão ao regime de intervenção designado que poderia ter afetado os resultados dos participantes?		NA / S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
2.6. Se <u>N/PN</u> /NI para 2,3, ou <u>Y/PY</u> /NI para 2,4 ou 2,5 : Foi usada uma análise apropriada para estimar o efeito da adesão à intervenção?		NA / <u>S</u> / PY / <u>PN</u> / N / NI
Julgamento de risco de viés		Baixa / Alta / Algumas preocupações
Opcional: Qual é a direção prevista do viés devido a desvios das intervenções pretendidas?		

Domínio 3: dados de resultados ausentes

Perguntas de sinalização	Comentários	Opções de resposta
3.1 Os dados para este resultado estavam disponíveis para todos, ou quase todos, os participantes randomizados?		<u>S</u> / PY / <u>PN</u> / N / NI

3.2 Se <u>N/PN</u> /NI para 3.1 : Há evidências de que o resultado não foi enviesado por dados de resultados ausentes?		NA / <u>S / PY</u> / <u>PN</u> / N
3.3 Se <u>N/PN</u> para 3.2 : A falta no resultado pode depender de seu valor real?		NA / S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
3.4 Se <u>Y/PY</u> /NI para 3.3 : É provável que a falta do resultado dependa de seu verdadeiro valor?		NA / S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
Julgamento de risco de viés		Baixa / Alta / Algumas preocupações
Opcional: Qual é a direção prevista do viés devido à falta de dados de resultados?		

Domínio 4: Risco de viés na medição do resultado

Perguntas de sinalização	Comentários	Opções de resposta
4.1 O método de medição do resultado foi inadequado?		S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
4.2 A medição ou determinação do resultado pode ter diferido entre os grupos de intervenção?		S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
4.3 Se <u>N/PN</u> /NI para 4.1 e 4.2 : Os avaliadores de resultados estavam cientes da intervenção recebida pelos participantes do estudo?		NA / S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
4.4 Se <u>Y/PY</u> /NI a 4.3 : A avaliação do resultado pode ter sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?		NA / S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
4.5 Se <u>Y/PY</u> /NI a 4.4 : É provável que a avaliação do resultado tenha sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?		NA / S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
Julgamento de risco de viés		Baixa / Alta / Algumas preocupações
Opcional: Qual é a direção prevista do viés na medição do resultado?		

Domínio 5: Risco de viés na seleção do resultado relatado

Perguntas de sinalização	Comentários	Opções de resposta
5.1 Os dados que produziram este resultado foram analisados de acordo com um plano de análise pré-especificado que foi finalizado antes que os dados de resultados não cegos estivessem disponíveis para análise?		<u>S</u> / PY / PN / N / NI
É provável que o resultado numérico que está sendo avaliado tenha sido selecionado, com base nos resultados, de...		
5.2. ... várias medidas de resultados elegíveis (por exemplo, escalas, definições, pontos de tempo) dentro do domínio do resultado?		S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
5.3 ... múltiplas análises elegíveis dos dados?		S / PY / <u>PN</u> / <u>N</u> / NI
Julgamento de risco de viés		Baixa / Alta / Algumas preocupações
Opcional: Qual é a direção prevista do viés devido à seleção do resultado relatado?		

Risco geral de viés

Julgamento de risco de viés		Baixa / Alta / Algumas preocupações
Opcional: Qual é a direção geral prevista do viés para esse resultado?		

ANEXO B - TABELA DE RISCO DE VIÉS

ID do estudo: Bjørnland e colaboradores (2007).

Data: 01/04/2007

Título: **Osteoarthritis of the temporomandibular joint: an evaluation of the effects and complications of corticosteroid injection compared with injection with sodium hyaluronate**

Autores: Bjørnland T, Gjaerum AA, Møystad A.

DOI: 10.1111/j.1365-2842.2007.01759.x

ID único	1	ID do estudo	Bjørnland e colaboradores (2007).
Ref ou Label		Objetivo (intenção)	Aderindo à intervenção (o efeito 'per-protocol')
Experimental	Corticosteróide	Comparador	Hialuronato de sódio
Resultado	Hialuronato de sódio foi mais eficaz do que a terapia com corticosteróide na redução da dor.	Resultados	Avaliação da pontuação de dor: Grupo corticosteroide, linha de base 73 (18±1), avaliação final 31 (31±7) (P < 0,000). Grupo hialuronato de remédios (16±2), linha de base 70, avaliação final 14 (16±2) (P = 0,001).
Domínio	Pergunta de sinalização		Resposta
Viés decorrente do processo de randomização	1.1 A sequência de alocação foi aleatória?		S
	1.2 A sequência de alocação foi ocultada até que os participantes fossem inscritos e designados para as intervenções?		PY
	1.3 As diferenças basais entre os grupos de intervenção sugeriram um problema com o processo de randomização?		PN

	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés devido a desvios das intervenções pretendidas	2.1 Os participantes estavam cientes de sua intervenção designada durante o estudo?	N
	2.2 Os cuidadores e as pessoas que realizaram as intervenções estavam cientes da intervenção atribuída aos participantes durante o estudo?	NI
	2.3. [Se aplicável:] Se Y/PY/NI para 2.1 ou 2.2: As intervenções importantes fora do protocolo foram equilibradas entre os grupos de intervenção?	-
	2.4. [Se aplicável:] Houve falhas na implementação da intervenção que poderiam ter afetado o resultado?	-
	2.5. [Se aplicável:] Houve não adesão ao regime de intervenção designado que poderia ter afetado os resultados dos participantes?	PN
	2.6. Se N/PN/NI para 2,3, ou Y/PY/NI para 2,4 ou 2,5: Foi utilizada uma análise apropriada para estimar o efeito da adesão à intervenção?	-
	Risco de julgamento de viés	Algumas preocupações
Viés devido a dados de resultados ausentes	3.1 Os dados para este resultado estavam disponíveis para todos, ou quase todos, os participantes randomizados?	NI
	3.2 Se N/PN/NI para 3.1: Há evidência de que o resultado não foi enviesado por dados de resultados ausentes?	PN
	3.3 Se N/PN para 3.2: A falta no resultado pode depender de seu verdadeiro valor?	PN
	3.4 Se Y/PY/NI para 3.3: É provável que a falta do resultado dependa de seu verdadeiro valor?	-
	Risco de julgamento de viés	Algumas preocupações
	4.1 O método de medição do resultado foi inadequado?	PN

Viés na medição do resultado	4.2 A medição ou determinação do resultado pode ter diferido entre os grupos de intervenção?	PN
	4.3 Os avaliadores de resultados estavam cientes da intervenção recebida pelos participantes do estudo?	NI
	4.4 Se S/PY/NI para 4.3: A avaliação do resultado pode ter sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	S
	4.5 Se S/PY/NI para 4.4: É provável que a avaliação do resultado tenha sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	PN
	Risco de julgamento de viés	Algumas preocupações
Viés na seleção do resultado relatado	5.1 Os dados que produziram este resultado foram analisados de acordo com um plano de análise pré-especificado que foi finalizado antes que os dados de resultados não cegos estivessem disponíveis para análise?	PY
	5.2 ... múltiplas medições de resultados elegíveis (por exemplo, escalas, definições, pontos de tempo) dentro do domínio de resultados?	PN
	5.3 ... múltiplas análises elegíveis dos dados?	PN
	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés geral	Risco de julgamento de viés	Algumas preocupações

ANEXO C – TABELA DE RISCO DE VIÉS

ID do estudo: Cen e colaboradores (2018).

Data: 2018.

Título: **Glucosamine oral administration as an adjunct to hyaluronic acid injection in treating temporomandibular joint osteoarthritis.**

Autores: Xiao Cen, Yan Liu, Shasha Wang, Xianrui Yang, Zongdao Shi, Xinhua Liang.

DOI: doi.org/10.1111/odi.12760

ID único	2	ID do estudo	Cen e colaboradores (2018)
Ref ou Label		Objetivo (intenção)	Aderindo à intervenção (o efeito 'per-protocol')
Experimental	Glucosamina oral e ácido hialurônico intra-articular.	Comparador	Placebo oral e ácido hialurônico intra-articular.
Resultado	Redução dos escores da dor, e aumento da abertura máxima de boca a longo prazo.	Resultados	Avaliação do escore de dor: Grupo intervenção com glucosamina oral (linha de base $49,53 \pm 23,26$; avaliação final $17,42 \pm 18,41$). Grupo placebo e injeção adicional de ácido hialurônico (linha de base $51,11 \pm 21,45$ avaliação final $28,61 \pm 20,32$). Avaliação da abertura máxima de boca: Grupo intervenção e injeção de ácido hialurônico (linha de base $31,65 \pm 8,34$; avaliação final $41,51 \pm 5,45$), grupo placebo e injeção adicional de ácido hialurônico (linha de base $31,53 \pm 8,60$; avaliação final $37,92 \pm 5,45$).
Domínio	Pergunta de sinalização		Resposta
Viés decorrente do processo de randomização	1.1 A sequência de alocação foi aleatória?		Y
	1.2 A sequência de alocação foi ocultada até que os participantes fossem inscritos e designados para as intervenções?		Y

	1.3 As diferenças basais entre os grupos de intervenção sugeriram um problema com o processo de randomização?	PN
	Risco de julgamento de viés	Baixo
	2.1 Os participantes estavam cientes de sua intervenção designada durante o estudo?	N
Viés devido a desvios das intervenções pretendidas	2.2 Os cuidadores e as pessoas que realizaram as intervenções estavam cientes da intervenção atribuída aos participantes durante o estudo?	N
	2.3. [Se aplicável:] Se Y/PY/NI para 2.1 ou 2.2: As intervenções importantes fora do protocolo foram equilibradas entre os grupos de intervenção?	-
	2.4. [Se aplicável:] Houve falhas na implementação da intervenção que poderiam ter afetado o resultado?	-
	2.5. [Se aplicável:] Houve não adesão ao regime de intervenção designado que poderia ter afetado os resultados dos participantes?	-
	2.6. Se N/PN/NI para 2,3, ou Y/PY/NI para 2,4 ou 2,5: Foi utilizada uma análise apropriada para estimar o efeito da adesão à intervenção?	-
	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés devido a dados de resultados ausentes	3.1 Os dados para este resultado estavam disponíveis para todos, ou quase todos, os participantes randomizados?	NI
	3.2 Se N/PN/NI para 3.1: Há evidência de que o resultado não foi enviesado por dados de resultados ausentes?	PN
	3.3 Se N/PN para 3.2: A falta no resultado pode depender de seu verdadeiro valor?	NI
	3.4 Se Y/PY/NI para 3.3: É provável que a falta do resultado dependa de seu verdadeiro valor?	PN
	Risco de julgamento de viés	Algumas preocupações

Viés na medição do resultado	4.1 O método de medição do resultado foi inadequado?	PN
	4.2 A medição ou determinação do resultado pode ter diferido entre os grupos de intervenção?	N
	4.3 Os avaliadores de resultados estavam cientes da intervenção recebida pelos participantes do estudo?	N
	4.4 Se S/PY/NI para 4.3: A avaliação do resultado pode ter sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	-
	4.5 Se S/PY/NI para 4.4: É provável que a avaliação do resultado tenha sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	-
	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés na seleção do resultado relatado	5.1 Os dados que produziram este resultado foram analisados de acordo com um plano de análise pré-especificado que foi finalizado antes que os dados de resultados não cegos estivessem disponíveis para análise?	PY
	5.2 ... múltiplas medições de resultados elegíveis (por exemplo, escalas, definições, pontos de tempo) dentro do domínio de resultados?	PN
	5.3 ... múltiplas análises elegíveis dos dados?	PN
	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés geral	Risco de julgamento de viés	Algumas preocupações

ANEXO D – TABELA DE RISCO DE VIÉS

ID do estudo: Gencer e colaboradores (2014).

Data: 08/ 01/ 2014

Título: **A comparative study on the impact of intra-articular injections of hyaluronic acid, tenoxicam and betametazon on the relief of temporomandibular joint disorder complaints**

Autores: Gencer Z. K.; Özkiris M., Okur A., Korkmaz M., Saydam L.

DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jcms.2014.01.041>

ID único	3	ID do estudo	Gencer e colaboradores (2014).
Ref ou Label		Objetivo (intenção)	Atribuição de intervenção (o efeito 'intenção de tratar')
Experimental	Ácido hialurônico, tenoxicam, betamesona	Comparador	Solução salina
Resultado	O ácido hialurônico produziu melhores escores na redução da dor.	Resultados	Grupo ácido hialurônico: Análise de dor, linha de base ($3,18 \pm 0,9$), acompanhamento final ($3,41 \pm 1,2$), ($p < 0,05$).
Domínio	Pergunta de sinalização		Resposta
Viés decorrente do processo de randomização	1.1 A sequência de alocação foi aleatória?		S
	1.2 A sequência de alocação foi ocultada até que os participantes fossem inscritos e designados para as intervenções?		S
	1.3 As diferenças basais entre os grupos de intervenção sugeriram um problema com o processo de randomização?		PY
	Risco de julgamento de viés		Algumas preocupações

Viés devido a desvios das intervenções pretendidas	2.1. Os participantes estavam cientes de sua intervenção designada durante o estudo?	N
	2.2. Os cuidadores e as pessoas que realizaram as intervenções estavam cientes da intervenção atribuída aos participantes durante o estudo?	N
	2.3. Se Y/PY/NI para 2.1 ou 2.2: Houve desvios da intervenção pretendida que surgiram devido ao contexto experimental?	-
	2.4 Se Y/PY para 2.3: Esses desvios provavelmente afetaram o resultado?	-
	2.5. Se Y/PY/NI para 2.4: Esses desvios da intervenção pretendida foram equilibrados entre os grupos?	-
	2.6 Foi utilizada uma análise apropriada para estimar o efeito da atribuição à intervenção?	PY
	2.7 Se N/PN/NI para 2.6: Houve potencial para um impacto substancial (no resultado) da falha em analisar os participantes do grupo para o qual foram randomizados?	-
	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés devido a dados de resultados ausentes	3.1 Os dados para este resultado estavam disponíveis para todos, ou quase todos, os participantes randomizados?	S
	3.2 Se N/PN/NI para 3.1: Há evidência de que o resultado não foi enviesado por dados de resultados ausentes?	-
	3.3 Se N/PN para 3.2: A falta no resultado pode depender de seu verdadeiro valor?	-
	3.4 Se Y/PY/NI para 3.3: É provável que a falta do resultado dependa de seu verdadeiro valor?	-
	Risco de julgamento de viés	Baixo
	4.1 O método de medição do resultado foi inadequado?	N

Viés na medição do resultado	4.2 A medição ou determinação do resultado pode ter diferido entre os grupos de intervenção?	PN
	4.3 Os avaliadores de resultados estavam cientes da intervenção recebida pelos participantes do estudo?	N
	4.4 Se S/PY/NI para 4.3: A avaliação do resultado pode ter sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	-
	4.5 Se S/PY/NI para 4.4: É provável que a avaliação do resultado tenha sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	-
	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés na seleção do resultado relatado	5.1 Os dados que produziram este resultado foram analisados de acordo com um plano de análise pré-especificado que foi finalizado antes que os dados de resultados não cegos estivessem disponíveis para análise?	PY
	5.2 ... múltiplas medições de resultados elegíveis (por exemplo, escalas, definições, pontos de tempo) dentro do domínio de resultados?	PN
	5.3 ... múltiplas análises elegíveis dos dados?	PN
	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés geral	Risco de julgamento de viés	Algumas preocupações

ANEXO E - TABELA DE RISCO DE VIÉS

ID do estudo: Kutuk e colaboradores (2019).

Data: 31/10/2018

Título: **Clinical and Radiological Comparison of Effects of Platelet-Rich Plasma, Hyaluronic Acid, and Corticosteroid Injections on Temporomandibular Joint Osteoarthritis**

Autores: Kutuk G. S, Gökçe G, Arslan M, Özkan Y, Kütük M, Kursat Arikan O.

DOI: 10.1097/SCS.00000000000005211

ID único	4	ID do estudo	Kutuk e colaboradores (2019).
Ref ou Label		Objetivo (intenção)	Atribuição de intervenção (o efeito 'intenção de tratar')
Experimental	Plasma Rico em Plaquetas, Ácido Hialurônico e Corticosteroide	Comparador	Plasma Rico em Plaquetas, Ácido Hialurônico e Corticosteroide
Resultado	Grupo PRP diminuíram a dor à palpação da ATM de forma mais eficaz.	Resultados	Grupo PRP obteve melhora da dor: linha de base 7,5 (6–8), acompanhamento final (1–6) ($P < 0,0028$).
Domínio	Pergunta de sinalização		Resposta
Viés decorrente do processo de randomização	1.1 A sequência de alocação foi aleatória?		PY
	1.2 A sequência de alocação foi ocultada até que os participantes fossem inscritos e designados para as intervenções?		NI
	1.3 As diferenças basais entre os grupos de intervenção sugeriram um problema com o processo de randomização?		N
	Risco de julgamento de viés		Algumas preocupações

Viés devido a desvios das intervenções pretendidas	2.1. Os participantes estavam cientes de sua intervenção designada durante o estudo?	NI
	2.2. Os cuidadores e as pessoas que realizaram as intervenções estavam cientes da intervenção atribuída aos participantes durante o estudo?	NI
	2.3. Se Y/PY/NI para 2.1 ou 2.2: Houve desvios da intervenção pretendida que surgiram devido ao contexto experimental?	NI
	2.4 Se Y/PY para 2.3: Esses desvios provavelmente afetaram o resultado?	-
	2.5. Se Y/PY/NI para 2.4: Esses desvios da intervenção pretendida foram equilibrados entre os grupos?	-
	2.6 Foi utilizada uma análise apropriada para estimar o efeito da atribuição à intervenção?	PY
	2.7 Se N/PN/NI para 2.6: Houve potencial para um impacto substancial (no resultado) da falha em analisar os participantes do grupo para o qual foram randomizados?	-
	Risco de julgamento de viés	Alto
Viés devido a dados de resultados ausentes	3.1 Os dados para este resultado estavam disponíveis para todos, ou quase todos, os participantes randomizados?	S
	3.2 Se N/PN/NI para 3.1: Há evidência de que o resultado não foi enviesado por dados de resultados ausentes?	-
	3.3 Se N/PN para 3.2: A falta no resultado pode depender de seu verdadeiro valor?	-
	3.4 Se Y/PY/NI para 3.3: É provável que a falta do resultado dependa de seu verdadeiro valor?	-
	Risco de julgamento de viés	Baixo
	4.1 O método de medição do resultado foi inadequado?	PN

Viés na medição do resultado	4.2 A medição ou determinação do resultado pode ter diferido entre os grupos de intervenção?	PN
	4.3 Os avaliadores de resultados estavam cientes da intervenção recebida pelos participantes do estudo?	NI
	4.4 Se S/PY/NI para 4.3: A avaliação do resultado pode ter sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	PY
	4.5 Se S/PY/NI para 4.4: É provável que a avaliação do resultado tenha sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	PN
	Risco de julgamento de viés	Alto
Viés na seleção do resultado relatado	5.1 Os dados que produziram este resultado foram analisados de acordo com um plano de análise pré-especificado que foi finalizado antes que os dados de resultados não cegos estivessem disponíveis para análise?	PY
	5.2 ... múltiplas medições de resultados elegíveis (por exemplo, escalas, definições, pontos de tempo) dentro do domínio de resultados?	PY
	5.3 ... múltiplas análises elegíveis dos dados?	PN
	Risco de julgamento de viés	Algumas preocupações
Viés geral	Risco de julgamento de viés	

ANEXO F – TABELA DE RISCO DE VIÉS

ID do estudo: Tang e colaboradores (2010).

Data: 04/ 02 / 2010

Título: **Effects of intra-articular administration of sodium hyaluronate on plasminogen activator system in temporomandibular joints with osteoarthritis**

Autores: Tang YZ, Zhu GQ, Zheng M, Zhang JY, Shi ZD, Liang XH

DOI: 10.1016/j.tripleo.2009.11.007

ID único	5	ID do estudo	Tang e colaboradores (2010).
Ref ou Label		Objetivo (intenção)	Atribuição de intervenção (o efeito 'intenção de tratar')
Experimental	Hialuronato de sódio	Comparador	Solução salina
Resultado	Alívio da dor e aumento da atividade uPA e os níveis de administração de uPA, suPAR e PAI-1 após a administração de hialuronato de sódio.	Resultados	Grupo hialuronato de médio, linha de base (SD $\pm$ 2,83; P 0,0,055), acompanhamento final (SD médio: 4,52 $\pm$ 2,54). Correlação entre a redução da pontuação do VAS e alterações na atividade de uPA (correlação de classificação de Spearman 0,56; P<.05), mudanças nos níveis de uPA (0,63; P<0,05), e mudanças nos níveis de uPAR foi de (0,47; P<0,05).
Domínio	Pergunta de sinalização		Resposta
Viés decorrente do processo de randomização	1.1 A sequência de alocação foi aleatória?		PY
	1.2 A sequência de alocação foi ocultada até que os participantes fossem inscritos e designados para as intervenções?		PY
	1.3 As diferenças basais entre os grupos de intervenção sugeriram um problema com o processo de randomização?		PN

	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés devido a desvios das intervenções pretendidas	2.1. Os participantes estavam cientes de sua intervenção designada durante o estudo?	N
	2.2. Os cuidadores e as pessoas que realizaram as intervenções estavam cientes da intervenção atribuída aos participantes durante o estudo?	N
	2.3. Se Y/PY/NI para 2.1 ou 2.2: Houve desvios da intervenção pretendida que surgiram devido ao contexto experimental?	-
	2.4 Se Y/PY para 2.3: Esses desvios provavelmente afetaram o resultado?	-
	2.5. Se Y/PY/NI para 2.4: Esses desvios da intervenção pretendida foram equilibrados entre os grupos?	-
	2.6 Foi utilizada uma análise apropriada para estimar o efeito da atribuição à intervenção?	NI
	2.7 Se N/PN/NI para 2.6: Houve potencial para um impacto substancial (no resultado) da falha em analisar os participantes do grupo para o qual foram randomizados?	N
	Risco de julgamento de viés	Algumas preocupações
Viés devido a dados de resultados ausentes	3.1 Os dados para este resultado estavam disponíveis para todos, ou quase todos, os participantes randomizados?	PY
	3.2 Se N/PN/NI para 3.1: Há evidência de que o resultado não foi enviesado por dados de resultados ausentes?	-
	3.3 Se N/PN para 3.2: A falta no resultado pode depender de seu verdadeiro valor?	-
	3.4 Se Y/PY/NI para 3.3: É provável que a falta do resultado dependa de seu verdadeiro valor?	-
	Risco de julgamento de viés	Baixo

Viés na medição do resultado	4.1 O método de medição do resultado foi inadequado?	PN
	4.2 A medição ou determinação do resultado pode ter diferido entre os grupos de intervenção?	PN
	4.3 Os avaliadores de resultados estavam cientes da intervenção recebida pelos participantes do estudo?	NI
	4.4 Se S/PY/NI para 4.3: A avaliação do resultado pode ter sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	PY
	4.5 Se S/PY/NI para 4.4: É provável que a avaliação do resultado tenha sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	PN
	Risco de julgamento de viés	Algumas preocupações
Viés na seleção do resultado relatado	5.1 Os dados que produziram este resultado foram analisados de acordo com um plano de análise pré-especificado que foi finalizado antes que os dados de resultados não cegos estivessem disponíveis para análise?	PY
	5.2 ... múltiplas medições de resultados elegíveis (por exemplo, escalas, definições, pontos de tempo) dentro do domínio de resultados?	PN
	5.3 ... múltiplas análises elegíveis dos dados?	
	Risco de julgamento de viés	
Viés geral	Risco de julgamento de viés	

ANEXO G - TABELA DE RISCO DE VIÉS

ID do estudo: Yang e colaboradores (2018)

Data: 23/04/2018

Título: **Oral Glucosamine Hydrochloride Combined With Hyaluronate Sodium Intra-Articular Injection for Temporomandibular Joint Osteoarthritis: A Double-Blind Randomized Controlled Trial**

Autores: Yang W, Miao C, Sun H, Li L, Li C.

DOI: 10.1016/j.joms.2018.04.031

ID único	6	ID do estudo	Yang e colaboradores (2018).
Ref ou Label		Objetivo (intenção)	Atribuição de intervenção (o efeito 'intenção de tratar')
Experimental	Hialuronato de sódio (HS) + glucosamina oral	Comparador	Hialuronato de sódio isolado
Resultado	O tratamento com glucosamina oral associado ao HS a longo prazo apresentou maior eficácia com resultados melhorados da função em comparação com o grupo hialuronato sódio isolado.	Resultados	O grupo Hialuronato de sódio + glucosamina oral apresentou escores da escala visual analógica mais baixos do que o hialuronato isolado em 6 meses (linha de base 20,6 vs acompanhamento final 29,2; P = 0,007) e no mês 12 (17,4 vs 28,6 mm; P = 0,001).
Domínio	Pergunta de sinalização		Resposta
Viés decorrente do processo de randomização	1.1 A sequência de alocação foi aleatória?		S
	1.2 A sequência de alocação foi ocultada até que os participantes fossem inscritos e designados para as intervenções?		S

	1.3 As diferenças basais entre os grupos de intervenção sugeriram um problema com o processo de randomização?	PN
	Risco de julgamento de viés	Baixo
	2.1. Os participantes estavam cientes de sua intervenção designada durante o estudo?	N
Viés devido a desvios das intervenções pretendidas	2.2. Os cuidadores e as pessoas que realizaram as intervenções estavam cientes da intervenção atribuída aos participantes durante o estudo?	N
	2.3. Se Y/PY/NI para 2.1 ou 2.2: Houve desvios da intervenção pretendida que surgiram devido ao contexto experimental?	-
	2.4 Se Y/PY para 2.3: Esses desvios provavelmente afetaram o resultado?	-
	2.5. Se Y/PY/NI para 2.4: Esses desvios da intervenção pretendida foram equilibrados entre os grupos?	-
	2.6 Foi utilizada uma análise apropriada para estimar o efeito da atribuição à intervenção?	PY
	2.7 Se N/PN/NI para 2.6: Houve potencial para um impacto substancial (no resultado) da falha em analisar os participantes do grupo para o qual foram randomizados?	-
	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés devido a dados de resultados ausentes	3.1 Os dados para este resultado estavam disponíveis para todos, ou quase todos, os participantes randomizados?	PY
	3.2 Se N/PN/NI para 3.1: Há evidência de que o resultado não foi enviesado por dados de resultados ausentes?	-
	3.3 Se N/PN para 3.2: A falta no resultado pode depender de seu verdadeiro valor?	-
	3.4 Se Y/PY/NI para 3.3: É provável que a falta do resultado dependa de seu verdadeiro valor?	-

	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés na medição do resultado	4.1 O método de medição do resultado foi inadequado?	PN
	4.2 A medição ou determinação do resultado pode ter diferido entre os grupos de intervenção?	PN
	4.3 Os avaliadores de resultados estavam cientes da intervenção recebida pelos participantes do estudo?	N
	4.4 Se S/PY/NI para 4.3: A avaliação do resultado pode ter sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	-
	4.5 Se S/PY/NI para 4.4: É provável que a avaliação do resultado tenha sido influenciada pelo conhecimento da intervenção recebida?	-
	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés na seleção do resultado relatado	5.1 Os dados que produziram este resultado foram analisados de acordo com um plano de análise pré-especificado que foi finalizado antes que os dados de resultados não cegos estivessem disponíveis para análise?	PY
	5.2 ... múltiplas medições de resultados elegíveis (por exemplo, escalas, definições, pontos de tempo) dentro do domínio de resultados?	PN
	5.3 ... múltiplas análises elegíveis dos dados?	PN
	Risco de julgamento de viés	Baixo
Viés geral	Risco de julgamento de viés	