



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

JOZEIAS FERNANDES DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS E DO
ÁCIDO HIALURÔNICO NO TRATAMENTO DA
OSTEOARTRITE INDUZIDA EM ARTICULAÇÕES
TEMPOROMANDIBULARES DE COELHOS**

Araçatuba - SP
2026

JOZEIAS FERNANDES DE SOUSA

**AVALIAÇÃO DO PLASMA RICO EM PLAQUETAS E DO
ÁCIDO HIALURÔNICO NO TRATAMENTO DA
OSTEOARTRITE INDUZIDA EM ARTICULAÇÕES
TEMPOROMANDIBULARES DE COELHOS**

Dissertação apresentada à Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia de Araçatuba, para obtenção do título de Mestre.

Área de Concentração: Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial

Orientador: Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Junior

Coorientador: Prof. Dr. Fábio Ricardo Loureiro Sato

**Araçatuba - SP
2026**

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S725a Sousa, Jozeias Fernandes de.
Avaliação do plasma rico em plaquetas e do ácido hialurônico no tratamento da osteoartrite induzida em articulações temporomandibulares de coelhos / Jozeias Fernandes de Sousa. – Araçatuba, 2026
60 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista (UNESP), Faculdade de Odontologia, Araçatuba
Orientador: Prof. Idelmo Rangel Garcia Júnior
Coorientador: Prof. Fábio Ricardo Loureiro Sato

1. Articulação temporomandibular 2. Osteoartrite 3. Ácido hialurônico 4. Plasma rico em plaquetas 5. Injeções intra-articulares 6. Modelos animais de doenças I. T.

Black D7
CDD 617.6

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

Dedico este trabalho a meus
pais por todo amor e cuidado.

AGRADECIMENTOS

Agradeço, primeiramente, a Deus, pela vida e pelo amparo constante, especialmente nos momentos de maior dificuldade ao longo desta trajetória.

À minha família, meu alicerce e maior fonte de força. Aos meus pais, José Lito Almeida de Sousa e Joselina Fernandes de Sousa, pelo amor, apoio financeiro e emocional e dedicação incondicional. Aos meus irmãos, Dr. Jonathas Fernandes de Sousa e Dra. Patrícia Fernandes de Sousa, e aos meus cunhados, Tonny Charles e Jaqueline Fernandes, pelo incentivo e presença constante.

À minha esposa, Andressa dos Santos Fernandes, por acreditar neste projeto desde o início e por compartilhar comigo cada etapa deste percurso. Seu apoio foi fundamental para a concretização deste trabalho.

Aos meus orientadores, Prof. Dr. Fabio Ricardo Loureiro Sato e Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Junior, expressei minha sincera gratidão pela confiança, paciência, conselhos, suporte e valiosas orientações acadêmicas, decisivas para o desenvolvimento e conclusão desta pesquisa.

Aos professores da pós-graduação da FOA-UNESP — Alaíde Gonçalves, Alessandra Marcondes Aranega, Ana Paula Farnezi Bassi, André Luís Fabris, Cláudio Aparecido Casatti, Daniela Ponzoni, Fellippo Ramos Verri, Francisley Ávila Souza, Osvaldo Magro Filho, Roberta Okamoto e Wilton Mitsunari Takeshita. — Pelo cuidado, dedicação e orientação na construção de uma formação acadêmica e profissional sólida.

Aos meus professores da graduação, especializações e residência, pelos ensinamentos transmitidos e pela contribuição essencial à minha formação profissional e fonte de inspiração.

Aos colegas da pós-graduação — Ana Bacelar, Ana Julia, Arthur, Camila, Carol Marchioli, Luma, Melissa, João, Maria Eduarda, Mateus, Milena, Natalia Santos, Paulo, Juliana, Sara e Ynara — pelo companheirismo, pelas trocas de experiências e pelo apoio ao longo desta jornada.

Aos funcionários da FOA-UNESP, pela cordialidade e atenção no cotidiano acadêmico, e, de modo especial, ao Sr. João, pelo zelo e cuidado dispensados aos animais no biotério.

Agradeço de forma especial às pessoas que colaboraram de forma direta na execução desta pesquisa: Prof. Fábio Sato, Prof. Idelmo R. Garcia Jr, Prof. Cláudio Casatti, Profa. Alaíde, Melissa e Sr. João.

Aos pacientes, pela confiança depositada em nossa equipe, sem a qual este estudo não seria possível.

Agradeço ainda ao Laboratório Multiusuário da FOA-UNESP e à FINEP (FINEP/CT-INFRA - Convênio FINEP: 01.12.0530.00 – PROINFRA 01/2011) pelo apoio na microtomografia computadorizada das articulações coelhos.

Por fim, registro que o presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES), Código de Financiamento 001.

“Se alguém está indo pelo caminho errado, ele não precisa de motivação para percorrê-lo. O que ele precisa é de educação para retornar”

Douglas Sinn

RESUMO

SOUSA, J. F. **Avaliação do plasma rico em plaquetas e do ácido hialurônico no tratamento da osteoartrite induzida em articulações temporomandibulares de coelhos.** 2026. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista (UNESP), Araçatuba, 2026.

A osteoartrite (OA) da articulação temporomandibular (ATM) apresenta elevado grau de morbidade, frequentemente demandando reconstruções complexas. O diagnóstico precoce possibilita terapias minimamente invasivas, como a infiltração intra-articular de ácido hialurônico (AH) ou plasma rico em plaquetas (PRP). Este estudo objetivou avaliar a efetividade do AH e do PRP no controle da OA induzida em ATMs de coelhos. Foram utilizados 18 coelhos albinos (*Oryctolagus cuniculus*), distribuídos em grupos experimentais. A OA foi induzida mediante infiltração intra-articular de monoiodoacetato de sódio (MIA) na concentração de 3 mg/ml. Após quatro semanas, os animais foram submetidos aos protocolos de tratamento: o grupo controle avaliou a progressão da patologia, enquanto os grupos testes receberam infiltrações de AH ou PRP. As articulações foram analisadas por meio de avaliações macroscópicas, microtomografia computadorizada (microCT), análises histológicas, histomorfométricas e imuno-histoquímicas nos períodos de 6 e 8 semanas pós-indução. Os resultados demonstraram que os grupos tratados com AH e PRP apresentaram preservação estatisticamente relevante da integridade da superfície articular em comparação ao grupo não tratado. A análise por microCT revelou menor erosão óssea subcondral nos grupos de intervenção, enquanto a histomorfometria confirmou a manutenção das camadas condilares e maior celularidade nos tecidos tratados. Conclui-se que as terapias minimamente invasivas com ácido hialurônico e concentrados plaquetários são eficazes na atenuação da progressão da osteoartrite da ATM em modelo experimental, demonstrando potencial condroprotetor e auxiliando na manutenção da homeostase articular.

Palavras-chave: articulação temporomandibular; osteoartrite; ácido hialurônico; plasma rico em plaquetas; injeções intra-articulares; modelos animais de doenças.

ABSTRACT

SOUSA, J. F. **Evaluation of platelet-rich plasma and hyaluronic acid in the treatment of induced osteoarthritis in rabbit temporomandibular joint.** 2026. Dissertação (Mestrado) – São Paulo State University (UNESP), School of Dentistry, Araçatuba, 2026.

Osteoarthritis (OA) of the temporomandibular joint (TMJ) presents a high degree of morbidity, often requiring complex reconstructions. Early diagnosis enables minimally invasive therapies, such as intra-articular infiltration of hyaluronic acid (HA) or platelet-rich plasma (PRP). This study aimed to evaluate the effectiveness of HA and PRP in controlling induced OA in rabbit TMJs. Eighteen male New Zealand white rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) were used and distributed into experimental groups. OA was induced by intra-articular infiltration of sodium monoiodoacetate (MIA) at a concentration of 3 mg/ml. After four weeks, the animals underwent treatment protocols: the control group evaluated the progression of the pathology, while the test groups received HA or PRP infiltrations. The joints were analyzed through macroscopic evaluations, micro-computed tomography (microCT), histological, histomorphometric, and immunohistochemical analyses at 6 and 8 weeks post-induction. Results demonstrated that the groups treated with HA and PRP showed statistically significant preservation of the articular surface integrity compared to the untreated group. MicroCT analysis revealed lower subchondral bone erosion in the intervention groups, while histomorphometry confirmed the maintenance of condylar layers and higher cellularity in the treated tissues. It is concluded that minimally invasive therapies with hyaluronic acid and platelet concentrates are effective in attenuating the progression of TMJ osteoarthritis in an experimental model, demonstrating chondroprotective potential and assisting in the maintenance of joint homeostasis.

Keywords: temporomandibular joint; osteoarthritis; hyaluronic acid; platelet-rich plasma; injections, intra-articular; disease models, animal.

LISTA DE FIGURAS

Figura 1 – Molécula de monoiodoacetato de sódio	19
Figura 2 – Pesagem dos coelhos	24
Figura 4 – Infiltração de AH	28
Figura 5 – Infiltração de PRP	28
Figura 6 – Fluxograma mostrando de forma resumida a sequência de etapas seguidas nesta pesquisa	29
Figura 7– Contagem automática do número de células do disco articular	31
Figura 8 – Histomorfometria da espessura das camadas condilares	32
Figura 9 – Processo de delimitação e segmentação condilar	33
Figura 10 – Registro do peso dos coelhos	37
Figura 11 – Visualização descritiva de médias com erro	
Figura 12 – Corte histológico em HE, SFG e AT grupo MIA	43
Figura 13 – Corte histológico corado com SFG do grupo soro fisiológico	44
Figura 14 – Corte histológico em HE grupo soro fisiológico	
Figura 15 – Cortes histológicos sagitas seriados da ATM corado pela HE (A) e AT (B-E) do grupo experimental soro fisiológico	
Figura 16 – Cortes histológicos sagitas seriados da ATM corado pela HE (A) e AT (B-E) do grupo experimental soro fisiológico	
Figura 17 – Cortes histológicos da ATM corado pela AT do grupo experimental AH47	
Figura 18 – Cortes histológicos da ATM corado pela SFG do grupo experimental AH	47
Figura 19 – Cortes histológicos da ATM corado pela AT do grupo experimental AH48	
Figura 20 – Análise comparativa microtomográfica do côndilo mandibular em diferentes protocolos experimentais (Soro, MIA, AH e PRP)	40
Figura 21 – Comparação relativa entre área de superfície, volume e número de células	43

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Divisão dos grupos por procedimento e período de eutanásia	29
Tabela 2 – Teste de normalidade do peso dos coelhos	38
Tabela 3 – Extensão média da linha de transição condro-óssea	40
Tabela 4 – Parâmetros microtomográficos do osso trabecular (BV/TV, porosidade total, Tb.Th, Tb.Sp e BS/BV) (Parâmetros 2D)	41
Tabela 5 – Comparação das médias da área de superfície, volume e número de células	49

LISTA DE QUADROS

Quadro 1 – Métodos mais utilizados para indução de OA da ATM em animais	20
Quadro 2 - Informações iniciais sobre nascimento, desmame e peso dos coelhos	23
Quadro 3 - Resumo da análise estatística	
Quadro 4 - Médias de espessura das camadas condilares por grupo experimental	51

LISTA DE APÊNDICES

APÊNDICE A - Formatação do Trabalho Acadêmico	55
APÊNDICE B - Formatação das Seções	59

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AH	Ácido hialurônico
AT	Azul de toluidina
ATM	Associação Internacional do Trabalho
BS/BV	Razão superfície/volume
DC/TMD	Critérios de Diagnóstico para as Disfunções Temporomandibulares
HE	Hematoxilina e eosina
L-PRP	Plasma rico em plaquetas pobre em leucócitos
MIA	Monoiodoacetato de sódio
MicroCT	Microtomografia computadorizada
OA	Osteoartrite
PRP	Plasma rico em plaquetas
ROI	<i>Region of Interest</i>
SFG	Safranina-O/ <i>fast green</i>
Tb.N	Número de trabéculas
Tb.Sp	Separação trabecular
Tb.Th	Espessura trabecular

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	15
1.1 Opções de Tratamento Minimamente Invasivos para OA da ATM	16
1.1.1 Ácido hialurônico	17
1.1.2 Concentrados plaquetários	18
1.2 Indução da Osteoartrite em Modelo Animal	19
2 OBJETIVOS	21
2.1 Objetivo Geral	21
2.2 Objetivos Específicos	21
3 METODOLOGIA	22
3.1 Apreciação do Projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais	22
3.2 Animais	22
3.2.1 Aquisição dos animais	23
3.2.2 Alimentação dos animais	23
3.2.3 Controle do peso	23
3.3 Delineamento Experimental	25
3.3.1 Cálculo amostral	25
3.3.2 Grupos experimentais	25
3.4 Procedimentos Intra-Articulares	26
3.4.1 Sedação profunda	26
3.4.2 Indução da osteoartrite nos animais	26
3.4.3 Infiltrações intra-articulares de AH e PRP	27
3.4.4 Cuidados pós-procedimentos	30
3.4 Eutanásia e Perfusão	30
3.5 Processamento Histológico	31
3.6 Análises Morfológicas	33
3.6.1 Análise histológica	33
3.6.2 Análise histomorfométrica	33
3.6.2 Análise microtomográfica	35
3.7 Análise Estatística	36
4 RESULTADOS	39
4.1 Evolução do peso	39
4.2 Avaliação histológica	42

4.2.1 Avaliação qualitativa da ATM	42
4.2.2 Avaliação histológica do grupo soro fisiológico	43
4.2.3 Avaliação histológica do grupo MIA	44
4.2.4 Avaliação histológica do grupo AH	46
4.2.5 Avaliação histológica do grupo PRP	48
4.2.7 Avaliação histopatológica de órgãos diversos	49
4.3 Avaliação histométrica	49
4.3.1 Espessura das camadas histológicas do côndilo mandibular dos animais	49
4.4 Avaliação microtomográfica	55
4.4.1 Densidade óssea	56
4.4.1 Volume condilar e área de superfície	57
5 DISCUSSÃO	60
6 LIMITAÇÕES E TRABALHOS FUTUROS	63
7 CONCLUSÃO	64
REFERÊNCIAS	65
APÊNDICES	72
APÊNDICE A – Microtomografia computadorizada das articulações dos coelhos	72
APÊNDICE B - Documento de aprovação (Processo: 2024-319)	76

1 INTRODUÇÃO

A osteoartrite (OA) é doença articular crônica (Vanelli *et al.*, 2010), caracterizada por sinovite, degradação progressiva da cartilagem e remodelação do osso subcondral (Wang *et al.*, 2012). A OA da articulação temporomandibular (ATM) é uma doença ainda sem um tratamento específico disponível (Yun *et al.*, 2023) e apresenta uma elevada prevalência na população (Huang *et al.*, 2022) e é especialmente comum em pacientes do sexo feminino (Wang *et al.*, 2012). De acordo com os Critérios de Diagnóstico para as Disfunções Temporomandibulares - (DC/TMD) (Schiffman *et al.*, 2014), as doenças degenerativas que afetam a ATM, são caracterizadas pela deterioração dos tecidos articulares associado com alterações do tecido ósseo na região da cabeça da mandíbula e da eminência articular.

Clinicamente os pacientes portadores de OA apresentam crepitação como ruído articular nos movimentos mandibulares e ao exame de imagem, constata-se presença de aplainamento e erosão das superfícies articulares, cistos subcondrais, esclerose e osteófitos (Mercuri, 2008).

Os fatores que levam ao desenvolvimento das OA não são totalmente conhecidos até o momento, mas sabe-se que uma série de alterações metabólicas ocorrem para o aparecimento dessa patologia, e a nível celular, ocorre um desequilíbrio entre a síntese e a degradação dos condrócitos, e consequentemente da matriz da cartilagem que levam a perda da integridade da fibrocartilagem articular ao longo do tempo (Goldring, 2000).

O estresse mecânico excessivo desempenha um papel importante (Zhang *et al.*, 2023), este pode levar à infiltração de mediadores inflamatórios originários da sinóvia, causando, por fim, defeitos no metabolismo da cartilagem (Song *et al.*, 2020).

1.1 Opções de tratamento minimamente invasivos

A abordagem das alterações degenerativas articulares é de fundamental importância para evitar que a doença progrida, levando a situações graves como reabsorções condilares severas até casos de fibroaquilose articular, que demandam procedimentos de salvação para a ATM, através da substituição das estruturas articulares por próteses e enxertos ósseos.

Entretanto, quando os quadros de OA são diagnosticados de forma precoce, o tratamento a ser instituído tende a ser menos invasivo, inclusive sendo bastante efetivo para estes casos (Tanaka; Detamore; Mercuri, 2008).

Atualmente estão em andamento vários esforços de pesquisa para desenvolver estratégias de tratamento eficazes para a OA da ATM. Dentre os chamados tratamento minimamente invasivos, a literatura apresenta como opções terapêuticas a artrocentese (Nitzan; Price, 2001), a artroscopia da ATM (Murakami; Clark, 1993), a infiltração intra-articular com ácido hialurônico (AH) (Goiato *et al.*, 2016) bem como fatores de crescimento (como o plasma rico em plaquetas – PRP) (Hegab *et al.*, 2015).

Pesquisas estão sendo realizadas para estabelecer o papel e a eficácia destas medicações em joelhos com infiltrações intra-articulares de AH (Chavda; Rabbani; Wadhwa, 2022; Nouri *et al.*, 2022; Sconza *et al.*, 2023), glicocorticóide (Tschopp *et al.*, 2023), ozônio (Raeissadat *et al.*, 2021), PRP (Ivander; Anggono, 2024; Nouri *et al.*, 2022; Raeissadat *et al.*, 2021; Testa *et al.*, 2021; Tschopp *et al.*, 2023) e polinucleotídeos (Dallari *et al.*, 2020; Stagni *et al.*, 2021; Vanelli *et al.*, 2010) sendo necessário o avanço científico em outras articulações.

Apesar de vários trabalhos descreverem uma melhora clínica dos pacientes com OA com a infiltrações de AH* ou PRP† usados isoladamente ou em combinações

* Trabalhos que relatam melhora clínica em pacientes com OA tratados com AH: Chung; Lin; Chang, 2019.

† Trabalhos que relatam melhora clínica em pacientes com OA tratados com PRP/PRF: Xiong *et al.*, 2023; Haddad *et al.*, 2023; Gutiérrez; Sábado-Bundó; Gay-Escoda, 2022.

(AH + PRP)[‡], outras pesquisas questionam sua eficácia[§]. No entanto são escassos os estudos que avaliam este benefício em nível histológico.

A possibilidade de uso das infiltrações intra-articulares para o controle das OA que afetam a ATM é de grande interesse pois com procedimentos pouco invasivos seria possível o controle dessas doenças.

1.1.1 Ácido hialurônico

O ácido hialurônico é o principal componente do líquido sinovial e da cartilagem articular, e tem papel importante na lubrificação da articulação, proteção da fibrocartilagem, nutrição das partes avascular do disco e tem papel estrutural na formação da cartilagem (Altman *et al.*, 2015).

Estudos recentes mostraram a importância da lubrificação da articulação em seu correto funcionamento, levantando a hipótese de que problemas nesse sistema de lubrificação exercem importante papel no desenvolvimento das osteoartrites (Guarda-Nardini *et al.*, 2007). As alterações correspondentes na biomecânica e no metabolismo da ATM induzem a um ciclo vicioso de deterioração da cartilagem quando o AH no fluido sinovial é alterado (Xinmin; Jian, 2005). O desenvolvimento da OA poderia ser aliviado com a reposição de hialuronato de sódio. Com base nesta possibilidade, a viscosuplementação foi proposta por Balazs e Denglinger (1993).

Na presença da inflamação, o peso molecular e a concentração do AH diminui no líquido sinovial, levando a alterações metabólicas e da propriedade biomecânica da fibrocartilagem. As funções de viscosidade e de barreira molecular são enfraquecidas, que diminui a proteção às moléculas de proteoglicanas da matriz de cartilagem contra os componentes inflamatórios (Takahashi *et al.*, 2004).

[‡] Trabalhos que mostram que a associação de AH e PRP é mais eficaz que utilizados isoladamente: Asadpour *et al.*, 2022.

[§] Trabalhos que questionam o benefício clínico do AH: Altman *et al.*, 2004; Boettger *et al.*, 2011; Jørgensen *et al.*, 2010. Trabalhos que questionam o benefício clínico do PRP: Nouri *et al.*, 2022.

O AH exógeno além de estimular a síntese do AH endógeno, também regula a produção de proteoglicanas, glicosaminoglicanas e colágeno, estimulando a resposta do organismo ao reparo da fibrocartilagem e diminuindo a reação inflamatória (Goldberg; Buckwalter, 2005).

1.1.2 Concentrados plaquetários

O uso de concentrados plaquetários autólogos** intra-articulares tem sido uma forma de tratamento bastante utilizada nos últimos anos (Asadpour *et al.*, 2022; Chung; Lin; Chang, 2019; Haddad *et al.*, 2023; Haigler *et al.*, 2018). O objetivo da utilização dos fatores de crescimento é possibilitar a aceleração do processo de reparo do tecido ósseo e tecido mole através da aplicação de materiais naturais de fontes biológicas.

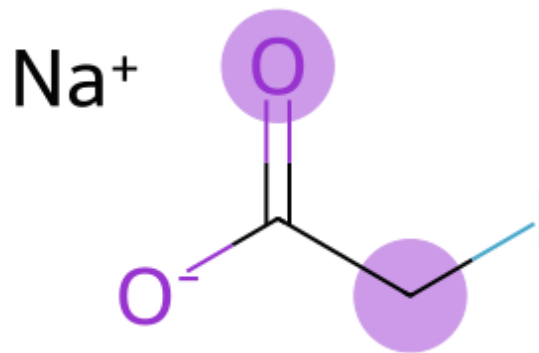
Dentre os chamados fatores de crescimento, o mais empregado é o plasma rico em plaquetas. Este auxilia na síntese do AH intra-articular, na produção de glicosaminoglicanas pelos condrócitos, balanceia a angiogênese e estimula a proliferação celular e produção da fibrocartilagem pelos condrócitos (Lin *et al.*, 2018). Entretanto, muitos trabalhos questionam o real benefício do PRP sobre esses processos degenerativos articulares (Haddad *et al.*, 2023; Haigler *et al.*, 2018; Lacoste; Martineau; Gagnon, 2003; Xiong *et al.*, 2023). Muitos desses questionamentos se devem ao fato de a liberação dos fatores de crescimento ser muito rápida, atingindo altas concentrações em um curto período. O problema é que essa rápida liberação acontece antes do crescimento dos osteoblastos e das demais células dos tecidos articulares, limitando o efeito sobre a regeneração óssea (Lacoste; Martineau; Gagnon, 2003). Apesar de vários trabalhos questionarem seu benefício clínico, outros estudos mostraram que o PRP é eficaz no manejo da OA da ATM (Asadpour *et al.*, 2022; Carvalho, 2018; Chung; Lin; Chang, 2019; Gutiérrez; Sábado-Bundó; Gay-Escoda, 2022; Haddad *et al.*, 2023; Haigler *et al.*, 2018; Xu *et al.*, 2023).

** Concentrados plaquetários autólogos: Plasma rico em plaquetas (PRP), Fibrina rica em plaquetas (PRF), Plasma rico em plaquetas leucocitário (P-PRP), Plasma rico em plaquetas pobre em leucócitos (L-PRP). Fonte: (Pacheco *et al.*, 2022).

1.2 Indução da OA em modelo animal

O modelo de OA da ATM induzido por monoiodoacetato de sódio (MIA) (Figura 1) é o método mais amplamente relatado (Kuyinu *et al.*, 2016; Zhao *et al.*, 2022). Esta técnica, minimamente invasiva, replica com eficácia as anormalidades ósseas e de cartilagem observadas na OA humana e que permite a modulação da progressão e da gravidade das lesões articulares por meio da modificação da concentração (Wang *et al.*, 2012).

Figura 1 – Molécula de monoiodoacetato de sódio



Fonte: <https://www.chembk.com>

O MIA funciona suprimindo a atividade da desidrogenase do gliceraldeído-3-fosfato, impedindo assim a glicólise e resultando na morte dos condrócitos na cartilagem articular (Yun *et al.*, 2023). Quando esta substância é injetada na articulação, ele induz lesões na cartilagem caracterizadas pela depleção de proteoglicanos e deterioração funcional da articulação, espelhando o processo patológico observado na OA humana (Fuentes *et al.*, 2017; Güler *et al.*, 2011). A destruição condilar se apresenta de maneira dependente do tempo, incluindo apoptose de condrócitos nos estágios iniciais, desorganização subsequente da matriz da cartilagem e erosão do osso subcondral, fibrose, esclerose do osso subcondral e formação de osteófitos nos estágios finais (Wang *et al.*, 2012).

Quadro 1 – Métodos mais utilizados para indução de OA da ATM em animais

Métodos cirúrgicos	Estresse mecânico da ATM	Substâncias químicas
a) Remoção de parte do disco ou menissectomia. b) Transecção de parte do ligamento colateral ou cruzado. c) Deslocamento forçado para anterior do disco articular.	a) Abertura mandibular repetitiva por várias horas por dias consecutivos.	a) Injeção intra-articular de substância que afetam a fisiologia articular, incluindo a inibição do metabolismo dos condrócitos por papaína ou iodoacetato. b) Lesão aos ligamentos e tendões com collagenase. c) Denervação seletiva da articulação por imunotoxinas.

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

2 OBJETIVOS

2.1 Objetivo Geral

Avaliar a efetividade do AH e do PRP no controle das OA induzida na ATM de coelhos.

2.2 Objetivos Específicos

- a) Avaliar a integridade da superfície osteocondral de articulações temporomandibulares em coelhos após os tratamentos minimamente invasivos.
- b) Mensurar/Comparar a efetividade do AH e do PRP no controle das OA induzidas na ATM dos coelhos.
- c) Fornecer embasamento científico para a correta seleção de medicações intra-articulares utilizadas no tratamento da OA.

3 METODOLOGIA

3.1 Apreciação do Projeto pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Animais

A proposta experimental foi submetida à apreciação da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da Faculdade de Odontologia e da Faculdade de Medicina Veterinária do Campus de Araçatuba – UNESP, tendo sua execução formalmente aprovada em 22 de agosto de 2024, sob o Processo FOA nº 319-2024. A certificação emitida atesta que o protocolo está em total conformidade com os Princípios Éticos da Experimentação Animal, possuindo validade até 15 de dezembro de 2025 e relatório final no final janeiro de 2026. O protocolo para uso de animais e documento de aprovação estão anexados em apêndices ao final do trabalho.

3.2 Animais

Foram utilizados para esse estudo coelhos da raça Nova Zelândia (*Oryctolagus cuniculus*), variação “*albinus*”, machos^{††}, adultos, com idade aproximada de 18 semanas e peso corporal entre 3 e 4 kg^{‡‡}. Os animais foram mantidos no biotério em gaiolas individuais, em ambiente climatizado. Foram tomadas todas as medidas cabíveis para se minimizar o sofrimento dos animais neste estudo.

^{††} Coelhos machos têm um perfil hormonal mais estável em comparação com fêmeas, cujos níveis hormonais flutuam durante o ciclo reprodutivo. Essas flutuações hormonais podem influenciar os resultados dos experimentos, especialmente em estudos relacionados a inflamação e resposta imune (Obernier; Baldwin, 2006).

^{‡‡} Intervalo de peso definido baseado na literatura (Güler *et al.*, 2011; Molinet *et al.*, 2020).

3.2.1 Aquisição dos animais

Os coelhos foram adquiridos com recursos próprios dos pesquisadores em julho de 2024, com peso médio entre 2 e 3kg, todos sem lesões cutâneas, apatia ou tendência à perda de peso (Quadro 2).

Quadro 2 - Informações iniciais sobre nascimento, desmame e peso dos coelhos

	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M	M
Acasalento	136 x 58	186 x 36	170 x 36	279 x 58	256 x 69	275 X 69	224 x 104	248 x 69	255 x 37	152 x 37	160 x M4 (2)	188 x 36 (3)	255 x 37 (1)
Nascimento	14/04/2024	08/03/2024	30/03/2024	16/03/2024	13/04/2024	06/04/2024	03/05/2024	03/05/2024	03/05/2024	20/04/2024	03/05/2024	03/05/2024	03/05/2024
Animais	4	4	4	4	5	6	5	4	5	5	4	5	5
Desmama	14/05/2024	09/04/2024	07/05/2024	16/04/2024	14/05/2024	07/05/2024	04/06/2024	04/06/2024	04/06/2024	21/05/2024	04/06/2024	04/06/2024	04/06/2024
Peso Desmama (kg)	2,2	2	2,8	1,4	2,7	3	3,1	2,8	2,9	3	2	3,3	2,6
Peso Desmama médio	0,550	0,500	0,700	0,350	0,540	0,500	0,620	0,700	0,580	0,600	0,500	0,660	0,520
GMD D ajustado (g)	16,67	14,06	17,11	9,68	15,81	14,52	17,81	20,31	16,56	17,74	14,06	19,06	14,69
IDADE (dias)	30,00	32,00	38,00	31,00	31,00	31,00	32,00	32,00	32,00	31,00	32,00	32,00	32,00

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

3.2.2 Alimentação dos animais

Os animais foram alimentados com a ração padrão (Coelhão Natural P 20kg – GUABI, São Paulo, SP, Brasil), balanceada e desenvolvida especificamente para suprir as necessidades nutricionais da espécie, garantindo aporte adequado de energia, proteínas e vitaminas.

Além da ração padrão, realizou-se suplementação alimentar com probiótico Organew® (Vetnil, Louveira, SP, Brasil), com a finalidade de auxiliar na manutenção da microbiota intestinal e favorecer a absorção de nutrientes.

3.2.3 Controle do peso

O peso corporal dos animais foi monitorado sistematicamente ao longo de todo o período experimental, com o objetivo de avaliar as condições gerais de saúde, identificar possíveis repercussões sistêmicas dos procedimentos realizados e garantir a padronização entre os grupos experimentais (Figura 2).

As pesagens foram realizadas em balança digital de precisão, previamente calibrada, em dias e horários padronizados (Todas as manhãs de quintas ou sextas-

feiras), minimizando interferências relacionadas à variação circadiana e ao padrão alimentar. O peso inicial foi registrado antes de qualquer intervenção, sendo utilizado como parâmetro para cálculo das medicações utilizadas durante a pesquisa.

Figura 2 – Pesagem dos coelhos



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: - O valor foi registrado semanalmente em quilogramas em tabela pelo pesquisador.

Variações superiores a 10% do peso corporal inicial foram consideradas critérios de alerta para avaliação clínica detalhada. Nos casos em que foram observadas alterações significativas, os animais foram examinados quanto à ingestão alimentar, hidratação, presença de sinais clínicos de dor ou desconforto e possíveis intercorrências relacionadas aos procedimentos experimentais.

A manutenção do peso corporal dentro de padrões fisiológicos foi considerada um indicador indireto de bem-estar animal e adequação do modelo experimental.

Todos os dados obtidos foram registrados em planilhas específicas e posteriormente incluídos na análise estatística descritiva e comparativa entre os grupos.

3.3 Delineamento Experimental

3.3.1 Cálculo amostral

Utilizando o software G*Power (Mayr; Buchner, 2006), o tamanho da amostra foi determinado com um nível de significância (α) 95%, uma margem de erro de $\pm 0,5$ unidades e poder do teste ($1-\beta$) de 0.80. O desvio padrão (σ) foi estimado em 0.5, com base em estudos anteriores (Artuzi *et al.*, 2016; Berteretche *et al.*, 2001; Dormer *et al.*, 2011; Kyllar *et al.*, 2018; Monteiro *et al.*, 2022.) e a diferença entre médias (Δ) de 1.0. Chegamos a resultado de 3.92 coelhos por grupo, arredondamos para 4 coelhos^{ss}. Porém adicionamos um fator de segurança aumentando a amostra para 06 coelhos em cada grupo amostral.

3.3.2 Grupos experimentais

Os animais foram distribuídos de forma aleatória^{***} em 4 grupos experimentais: Grupo Soro; Grupo MIA; Grupo AH; Grupo PRP. Para cada grupo experimental, exceto Grupo Soro, a avaliação tecidual foi realizada em 2 períodos: 6ª semana e 8ª semana após a realização das infiltrações com MIA. Para cada grupo amostral e período iremos utilizar 6 animais, totalizando 12 articulações em cada grupo.

^{ss} Fórmula utilizada: n é o tamanho amostral por grupo; σ é o desvio padrão; μ_1 e μ_2 médias dos dois grupos; Z

$\alpha/2$ é o valor crítico para o nível de significância; $Z\beta$ é o valor crítico para o poder do teste. Fonte: Fleiss; Levin; Paik, 2003.

^{***} Os animais foram identificados com etiquetas fixados na orelha com um número inteiro que variam de 1 a 18. Para atribuição aleatória dos grupos, estes foram distribuídos através do Microsoft Excel com a função =ALEATORIOENTRE().

3.4 Procedimentos Intra-Articulares

3.4.1 Sedação profunda

Os procedimentos minimamente invasivos foram realizados sob sedação dissociativa realizada por médico veterinário, especializado em Anestesiologia Veterinária, habilitado e em conformidade com as normas éticas vigentes para experimentação animal. As dosagens foram previamente calculadas de forma individualizada, com base no peso corporal aferido no dia anterior ao procedimento. Foram administrados via intramuscular de cloridrato de quetamina a 1% na dosagem de 10mg/Kg, e do cloridrato de xilazina a 2%, 5 mg/Kg.

3.4.2 Indução da osteoartrite nos animais

As infiltrações foram realizadas com os animais mantidos em jejum pré-operatório de 8 horas. Foi realizada a administração via intramuscular de cloridrato de quetamina a 1% (Francotar®, Virbac, SP, Brasil) na dose de 10 mg/kg, e do Cloridrato de xilazina a 2% (Rompum®, Bayer, RS, Brasil) na dose de 5 mg/kg para obtenção do efeito anestésico.

Para a realização da infiltração intra-articular das medicações, foi realizado inicialmente uma tricotomia manual da região pré-auricular e antissepsia com gaze embebida com PVPI degermante. A articulação foi localizada através de palpação local com movimentos de abertura e fechamento de boca, sendo inserido no espaço inferior da articulação uma agulha 29G (12 x 0,33 mm) conectada a uma seringa descartável.

Para o desenvolvimento da OA da ATM, administramos em cada articulação cerca de 0,5 ml de solução de monoiodoacetato de sódio (Merck KGaA, Darmstadt, Alemanha) a 3 mg/ml^{†††}.

^{†††} Baseado nos trabalhos de Güler e colaboradores (2011). Foram avaliadas diferentes concentrações de MIA para indução de OA em ATM de coelhos. 12 coelhos receberam uma injeção de MIA (dose de 50 µl de concentrações de 1,5, 2, 2,5, 3mg/ml). Imagens de TC foram obtidas antes e depois das

3.4.3 Infiltrações intra-articulares de AH e PRP

Grupo Soro: Infiltração bilateral de solução salina. (Figura 4).

Grupo MIA: Infiltração bilateral de solução salina e MIA (3 mg/ml). Parte dos animais (n=3) foi eutanasiado com 40 dias após a infiltração de MIA e os demais (n=3) eutanasiados com 60 dias.

Grupo AH: Infiltração de 0,1 ml de solução de MIA e solução salina. Após 30 dias foi infiltrado cerca de 0,1 ml de Osteonil (TRB Brasil, São Paulo, SP, Brasil) nas cavidades de ambas as articulações dos coelhos.

injeções na 2ª, 4ª e 6ª semanas. As alterações osteoartíticas iniciais na ATM dos coelhos foram encontradas histologicamente na 4ª semana e com uma concentração de 3 mg/ml.

Figura 4 – Infiltração de AH

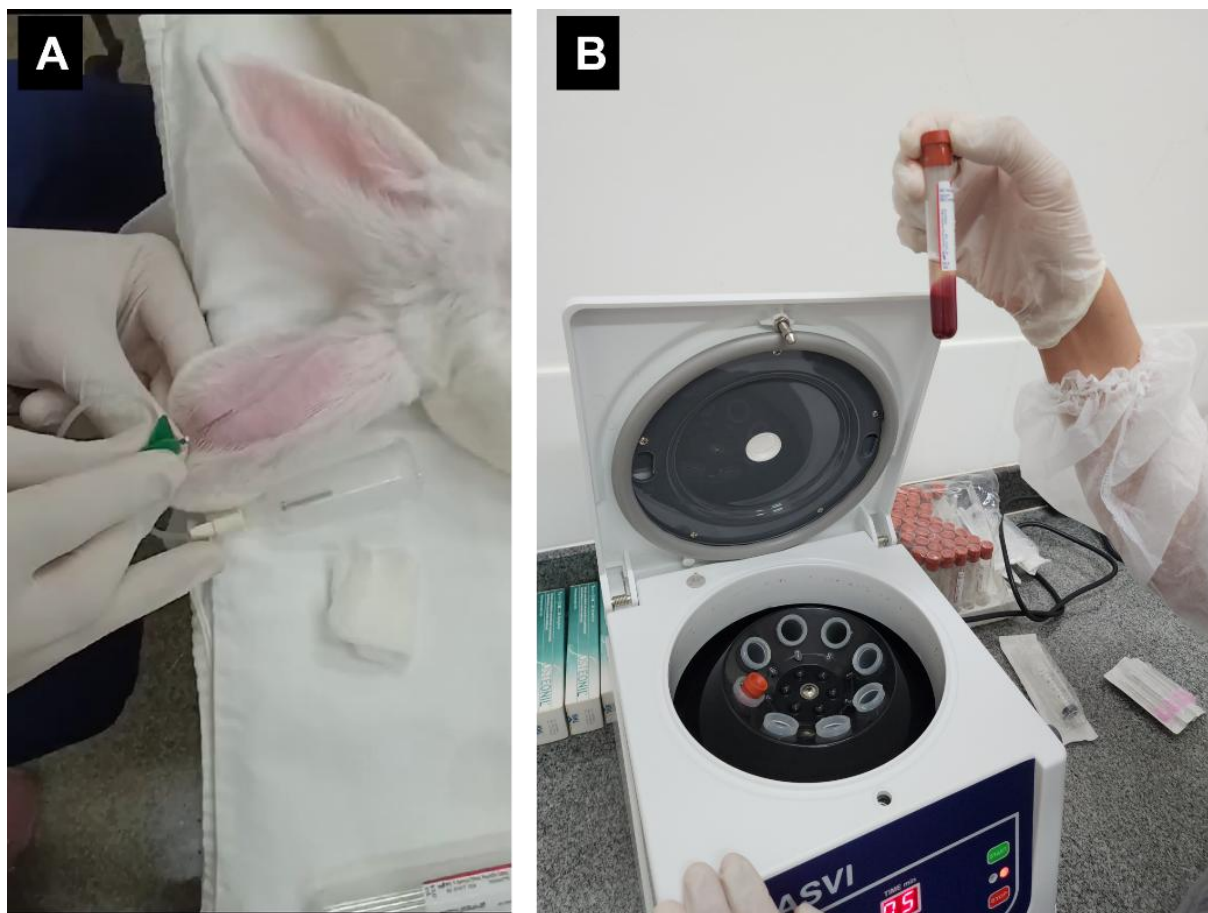


Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: A e B - Osteonil®, TRB Brasil, São Paulo, SP, Brasil). C – Infiltração de AH após a localização dos pontos anatômicos.

Grupo PRP: Foram retirados cerca de 18 ml de sangue da veia marginal da orelha, sendo o mesmo colocado em centrífuga a 2500 rpm por 5 minutos, sendo então coletado cerca de 0,5 ml do PRP que foi infiltrado com o auxílio de uma agulha 29G no espaço inferior da articulação dos animais (Figura 5) (Tabela 2).

Figura 5 – Infiltração de PRP



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

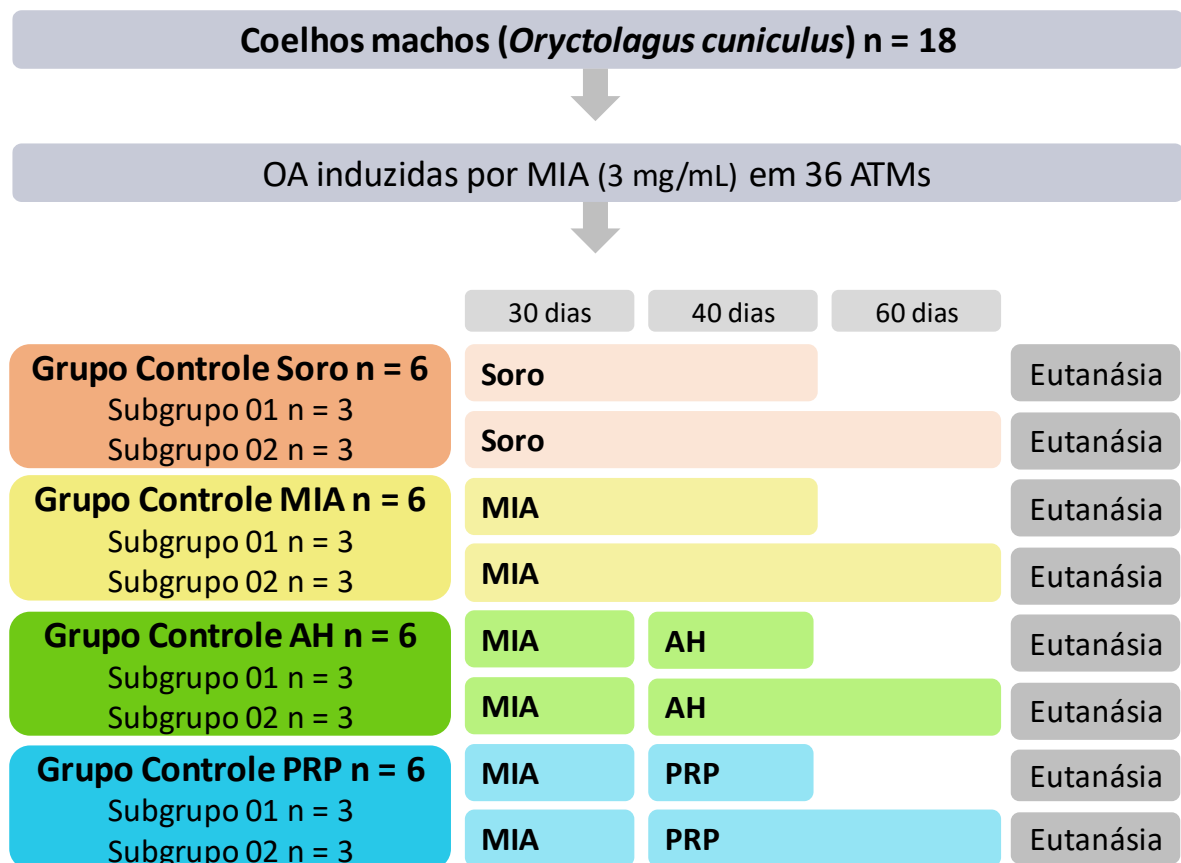
Legenda: A e B - Coleta do sangue sendo realizada por médico-veterinário especialista sem Anestesiologia Veterinária da veia marginal da orelha. C – Material colhido foi centrifugado a 2500 rpm por 5 minutos, sendo então coletado cerca de 0,5 ml do PRP para obtenção do PRP.

Tabela 2 - Divisão dos grupos por procedimento e período de eutanásia

Grupo de animais	Procedimentos	N	Período de eutanásia
Grupo Soro	Soro	06	6 ^a e 8 ^a semana
Grupo MIA	MIA	06	6 ^a e 8 ^a semana
Grupo AH	MIA -> AH	06	6 ^a e 8 ^a semana
Grupo PRP	MIA -> PRP	06	6 ^a e 8 ^a semana

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Figura 6 - Fluxograma mostrando de forma resumida a sequência de etapas seguidas nesta pesquisa



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

3.4.4 Cuidados pós-procedimentos

Após as intervenções os coelhos receberam administração intramuscular de pentabiótico (Pentabiótico® Veterinário Pequeno Porte - Font Dodge – Campinas – Brasil) na dosagem de 0,1ml/kg e de dipirona sódica (Analgex V®, Agener União Saúde Animal - SP – Brasil) na dosagem de 1mg/kg/dia, sendo a primeira dose no pós-operatório imediato. Os animais foram mantidos no biotério em gaiolas individuais, em ambiente climatizado, e alimentados com ração sólida padrão e água “*ad libitum*”, até a eutanásia.

3.4 Eutanásia e Perfusão

A eutanásia foi realizada por um médico veterinário, especialista em Anestesiologia Veterinária, por meio de perfusão transcardíaca. Inicialmente, a caixa

torácica do animal foi rebatida cirurgicamente até a exposição do coração, seguido da remoção do saco pericárdico. Um volume de 0,1 ml de heparina foi injetada no ventrículo esquerdo por meio de uma seringa apropriada. Em prosseguimento, foi perfundido, através de transposição do ventrículo esquerdo com uma cânula e abertura do átrio direito para efusão das soluções perfundidas, um volume de 200-300 ml de solução salina a 0,9% acrescida de heparina durante 2-3 minutos, seguido da solução fixadora de (3000-4000 ml) constituída de formaldeído a 4% em tampão fosfato de sódio, 0,1 M, pH 7,2 a 4-8°C, durante 20-30 minutos. Um bloco anatômico de cada lado do crânio contendo a referida ATM foi delimitado através de uma serra de corte. Esse bloco foi imerso na mesma solução fixadora para pós-fixação durante 24 horas a temperatura de 4°C.

Em seguida, essas peças anatômicas foram descalcificadas em solução de EDTA a 10% em tampão fosfato de sódio a 0,1M, pH 7,4 a temperatura ambiente, sob contínua agitação. A solução descalcificadora foi trocada a cada 4 dias durante as três primeiras semanas, seguido de trocas semanais. No 50º dia, as peças anatômicas descalcificados foram reduzidas através de navalhas e mantidos por mais duas semanas em solução descalcificadora para completo processo de descalcificação. Finalmente, cada ATM foi dividida e sua região mediana através de uma secção sagital anteroposterior, utilizando navalhas descartáveis, resultando em um bloco medial e outro lateral. Esses blocos foram transferidos para mega-cassetes devidamente identificados e lavados em água corrente por no mínimo 12 horas para eliminação de resíduos de EDTA.

3.5 Processamento Histológico

As amostras foram submetidas ao processamento histológico de rotina (desidratação, clareamento e impregnação, 1 hora de duração para cada imersão) em um processador histológico automático (PT 05, Lupetec, SP, Brasil), seguido de impregnação adicional com parafina histológica (temperatura de fusão de 56-58°C, Êxodo Científica Química Fina Indústria e Comércio Ltda, SP, Brasil) em estufa microprocessada com temperatura controlada (520C, Fanem, SP, Brasil). Cada ATM foi incluída em formas de papel e emblocada em suporte de madeira.

O bloco de parafina contendo a ATM foi acoplado em um micrótomo manual (RM 2125, Leica, GmbH, Alemanha) e desbastado até a completa exposição da face de corte com visualização da região mediana da ATM. Esse bloco, foi delimitado em sua superfície, mantendo apenas a ATM e suas adjacências. O bloco resultante foi transferido para uma estufa para liquefação da parafina e novamente reincluído e embocado em suporte de madeira. Cortes sagitais sequenciais da ATM com 5 micrometros de espessura foram obtidos, sendo coletados aproximadamente 5 lâminas histológicas de cada bloco. Essas lâminas foram transferidas para uma estufa a 56-58°C durante 24 horas. Em prosseguimento, as lâminas foram submetidas a coloração de rotina, sendo 2 lâminas coradas pela técnica da hematoxilina e eosina (HE), 1 lâmina corada pela técnica do azul de toluidina (AT) e 1 lâmina corada pela técnica da safranina-O/fast green (SFG) e 1 lâmina ficou de reserva. As lâminas coradas foram montadas com meio de montagem (DPX) e lamínulas de 24x50 mm. Finalmente, foram limpas e etiquetadas.

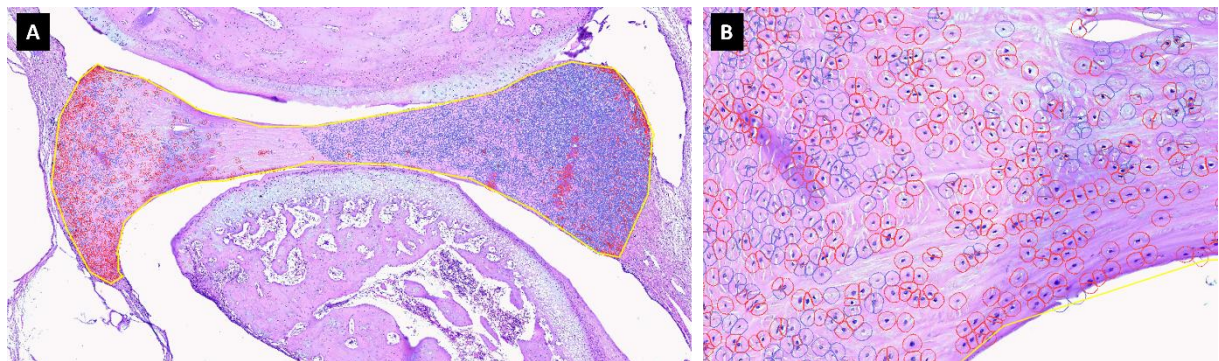
As lâminas histológicas coradas em HE, AT ou SFG foram selecionadas para avaliar a citoarquitetura e submetidos a análise histológica qualitativa e histomorfométrica. As imagens digitais dos cortes foram obtidas com o auxílio de uma câmera digital acoplada a um microscópio com magnificação de 4x. As imagens foram analisadas com o software BioquantOsteo II (Bioquant Image Analysis Corp, Nashville, USA). Foram feitas avaliações quantitativas e qualitativas da membrana sinovial, superfícies articulares e do disco articular, quanto ao tipo de tecido presente, espessura, celularidade e presença de possível infiltrado inflamatório, além da delineação das superfícies articulares como regulares ou irregulares. A divisão citoarquitetônica do côndilo foi separada em camadas de tecido: a) camada de tecido conjuntivo denso modelado (superfície); b) cartilagem hialina ou fibrocartilagem, delimitado até o limite do osso.

3.6 Análises Morfológicas

3.6.1 Análise histológica

3.6.2 Análise histomorfométrica

Figura 7– Contagem automática do número de células do disco articular



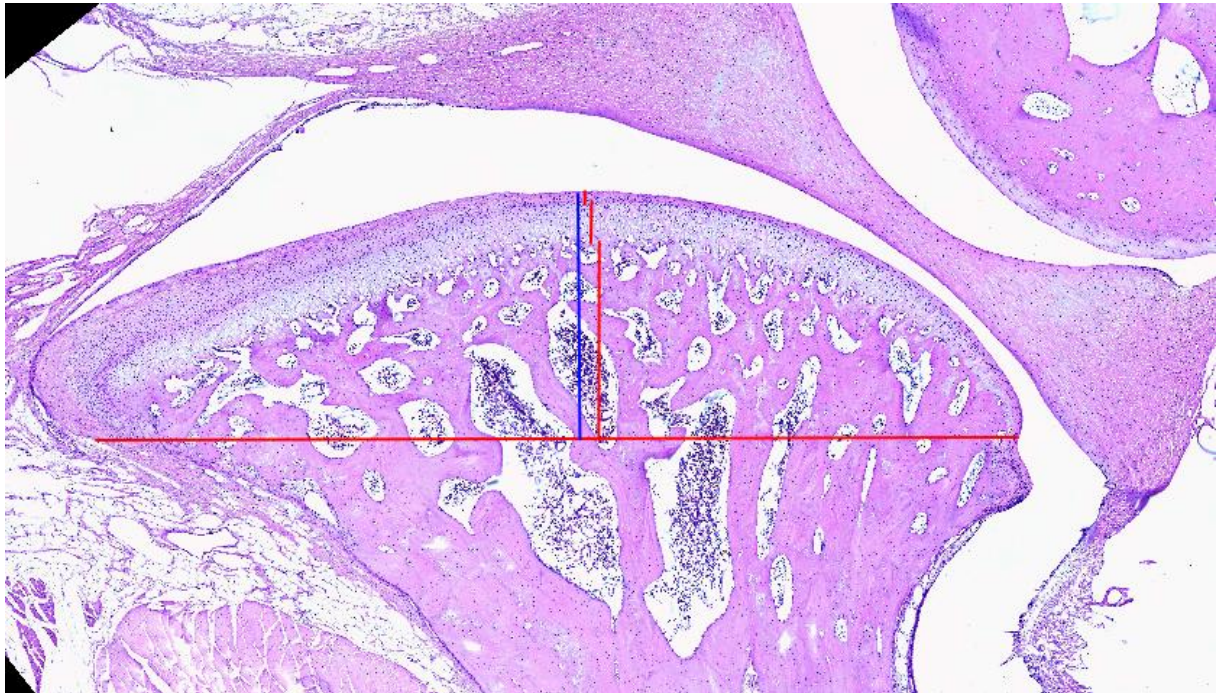
Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: A e B – Localização automática de células feitas no QuPath 0.6.0.

Para a mensuração da espessura das camadas condilares, foi selecionada a região central do côndilo mandibular dos animais. Foi traçado uma linha vertical do ponto mais central e outra linha perpendicular ao eixo que conecta as extremidades lateral direita e esquerda da estrutura. Com o objetivo de facilitar a análise morfométrica, as seis camadas histológicas tradicionalmente descritas no côndilo mandibular foram agrupadas em três faixas principais, definidos da seguinte forma:

- a) Camada fibrosa superficial: corresponde à camada mais externa do revestimento condilar.
- b) Camada cartilaginosa: representa a porção intermediária da cartilagem condilar.
- c) Camada óssea subcondral: corresponde à camada mais profunda, constituída pelo osso subcondral subjacente à cartilagem.

Figura 8 – Histomorfometria da espessura das camadas condilares

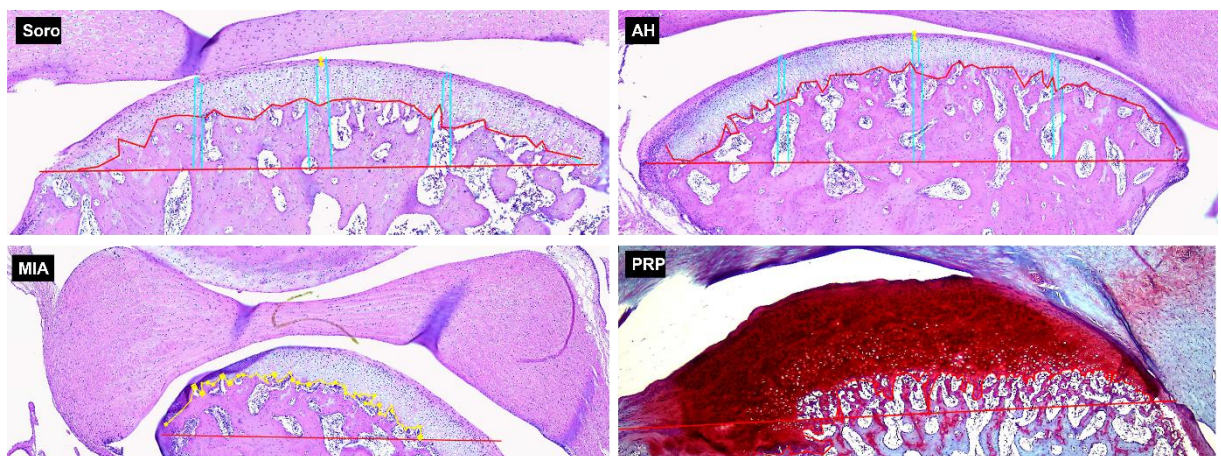


Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: Para mensurar a espessura das camadas condilares foi escolhida a região mais central com uma linha vertical e perpendicular a esta uma linha horizontal. As seis camadas do côndilo foram reorganizadas em apenas 03 camadas.

Foi ainda traçado uma linha na transição condro-óssea para avaliar irregularidades, invaginações e deformações da superfície. Essa métrica funciona como um indicador indireto do grau de irregularidade estrutural do côndilo mandibular.

Figura 9 – Linha de interface condro-óssea



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

3.6.2 Análise microtomográfica

As amostras foram escaneadas por microtomografia computadorizada de alta resolução utilizando o equipamento SkyScan 1176 (Bruker MicroCT, Aatselaar, Bélgica), com o objetivo de avaliar a arquitetura óssea trabecular e cortical do côndilo mandibular.

As imagens obtidas foram reconstruídas por meio do software NRecon (SkyScan, versão 1.6.6.0, Bruker MicroCT, Edimburgo, Reino Unido) e Slicer 3d (versão 5.x, Slicer Community / Brigham and Women's Hospital, Boston, MA, EUA), posteriormente alinhadas espacialmente no DataViewer (SkyScan, versão 1.4.4, 64-bit, Bruker MicroCT, Edimburgo, Reino Unido) e analisadas quantitativamente no CTAnalyser (SkyScan, versão 1.12.4.0, Bruker MicroCT, Edimburgo, Reino Unido).

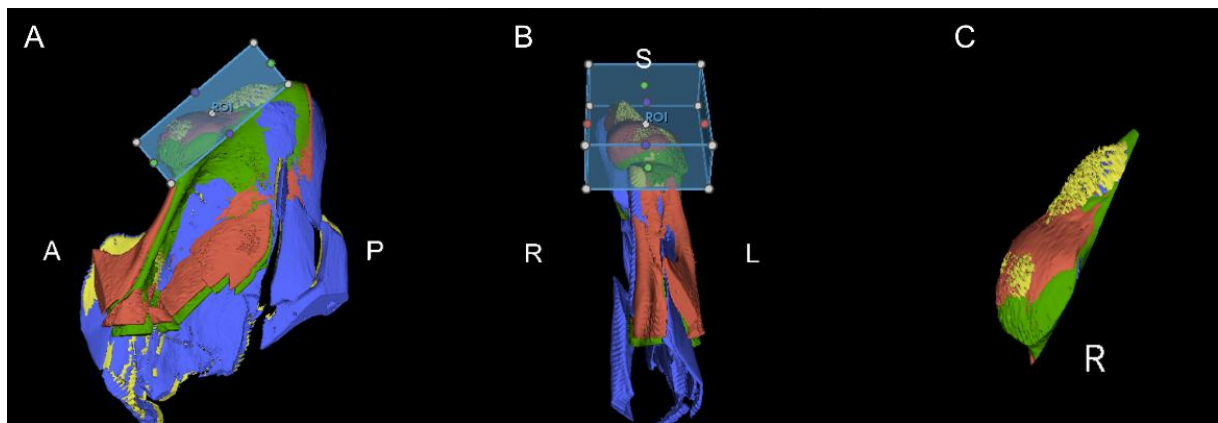
Foram avaliados os seguintes parâmetros:

- a) **Aspectos morfológicos do disco articular;**
- b) **Superfície da cartilagem condilar**, com análise da textura e presença de irregularidades superficiais;
- c) **Volume ósseo e densidade mineral óssea** do osso condilar;
- d) **Microarquitetura trabecular**, incluindo os parâmetros:
 - a. número de trabéculas (**Tb.N**),
 - b. espessura trabecular (**Tb.Th**),
 - c. separação trabecular (**Tb.Sp**);
- e) **Identificação de áreas de calcificação**, quando presentes.

A avaliação do volume condilar foi conduzida no *software* 3D Slicer (versão 5.x, Slicer Community / Brigham and Women's Hospital, Boston, MA, EUA). O protocolo metodológico iniciou-se com o registro manual das superfícies articulares, onde a atribuição de cores distintas facilitou a distinção anatômica e o preciso alinhamento dos modelos STL. Visando a padronização da amostra, criou-se um volume delimitador (ROI - *Region of Interest*) com dimensões fixas, replicado em todas as articulações analisadas. Este volume serviu como máscara para a segmentação das

novas malhas (*meshes*), isolando a região condilar das demais estruturas. O volume final de cada espécime foi mensurado a partir dessas malhas resultantes, assegurando a consistência estatística da medição.

Figura 9 - Processo de delimitação e segmentação condilar



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: A e B - Definição da ROI sobre os modelos STL alinhados. (C) Modelos tridimensionais segmentados de vários côndilos prontos para análise volumétrica. Elaborado pelo próprio autor.

3.7 Análise Estatística

Para assegurar a consistência e a confiabilidade dos resultados, foi implementado um processo de calibração do pesquisador responsável pela coleta e análise dos dados. Foram criados protocolos detalhados e padronizados, baseados na literatura (Fuentes *et al.*, 2017; Molinet *et al.*, 2020; Wang *et al.*, 2012; Yun *et al.*, 2023), para cada etapa do processo, desde a preparação das amostras até a análise dos resultados (análise histológica, histomorfométrica e MicroCT).

A metodologia estatística para esta pesquisa envolverá análises descritivas e inferenciais. Os dados coletados foram tabulados utilizando *software* Microsoft (MS) Excel (Versão 16.0. Microsoft, Redmond, Washington, Estados Unidos).

Inicialmente, foi realizada uma análise descritiva para caracterizar as medidas de tendência central e dispersão das variáveis contínuas e frequências para variáveis categóricas. A normalidade dos dados foi verificada utilizando o teste de Anderson-Darling. O teste de Levene foi aplicado para avaliar a homogeneidade das variâncias.

Para comparar os três grupos foi utilizada a ANOVA para medidas repetidas se os dados forem normalmente distribuídos. Caso a distribuição não for gaussiana foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis. Se a ANOVA ou Kruskal-Wallis indicarem diferenças significativas, foram realizados testes post hoc, como o teste de Tukey (para ANOVA) ou o teste de Dunn (para Kruskal-Wallis), para identificar quais grupos diferem entre si. Para dados qualitativos, como características histológicas, foram utilizados o teste do qui-quadrado ou o teste exato de Fisher, conforme apropriado, para comparar proporções entre os grupos.

As análises estatísticas e elaboração dos gráficos foram realizadas utilizando o *software* Jamovi Desktop (Versão 2.5.4).

Quadro 3 - Resumo da análise estatística

Etapas	Ferramentas	
Seleção randomizada dos coelhos	MS Excel (Função: Aleatório)	
Testes estatísticos	Dados qualitativos	Análise Descritiva: Frequências e percentuais. Teste do Qui-Quadrado: Comparar as proporções entre os grupos. Teste Exato de Fisher: Utilizado em situações onde o teste do qui-quadrado não for apropriado.
	Dados Quantitativos	Análise Descritiva: Tendência central (média, mediana) e de dispersão. Teste de Normalidade: Anderson-Darling. Comparação entre Grupos: Normalidade (ANOVA); (Não normalidade): Teste de Kruskal-Wallis. Testes Post Hoc: Teste de Tukey (ANOVA); Teste de Dunn (Kruskal-Wallis).
Construção dos gráficos	Jamovi 0.95	

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

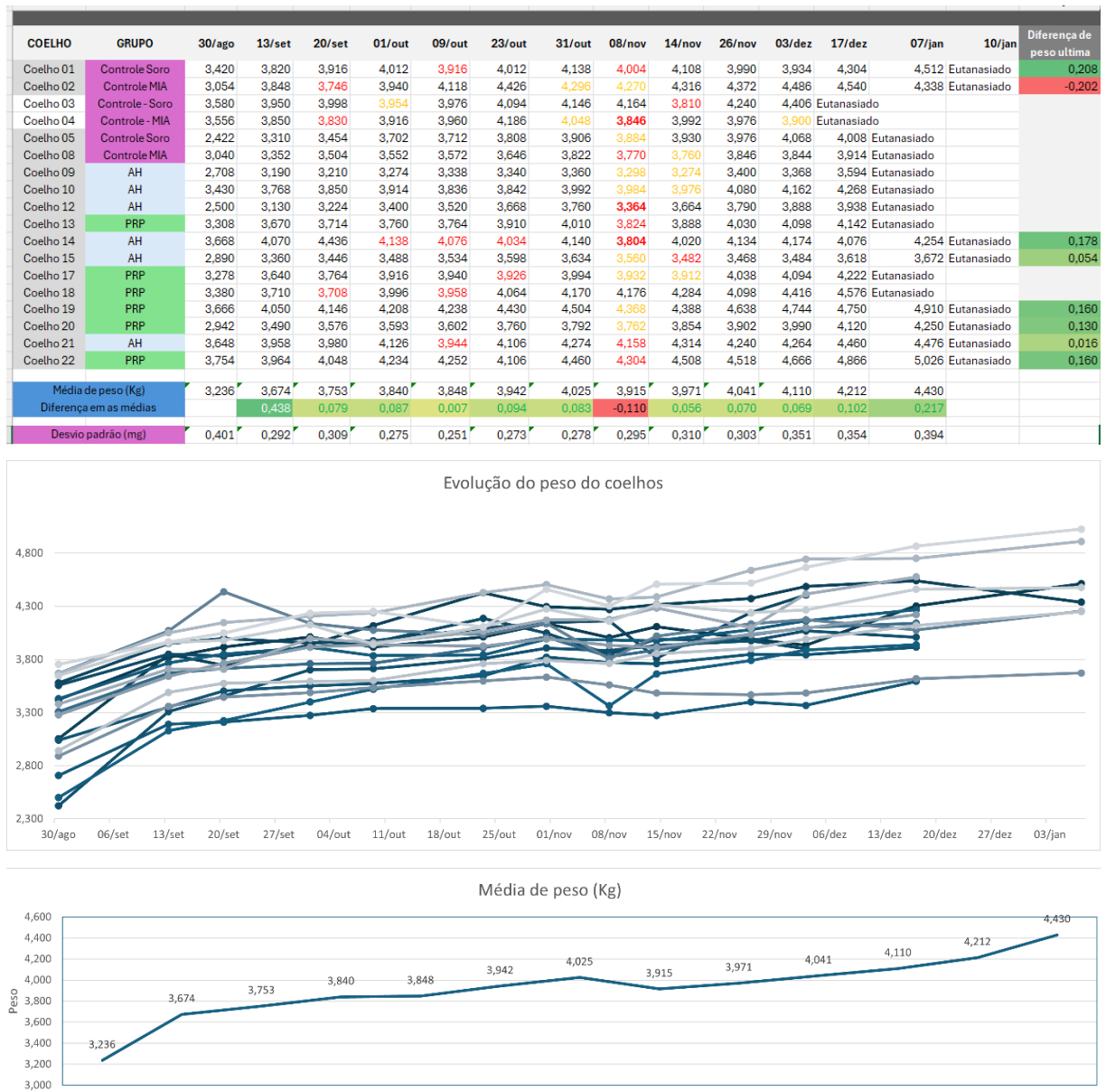
4 RESULTADOS

É a parte final do texto, onde são apresentadas conclusões correspondentes aos objetivos do trabalho. É um processo de síntese dos principais resultados, com comentários do autor e as contribuições trazidas pelo trabalho.

4.1 Evolução do peso

A análise da massa corporal dos animais revelou que todos os grupos apresentaram ganho de peso progressivo durante a fase de adaptação e crescimento (período Pré-MIA). No entanto, após a indução da osteoartrite com MIA no dia 07 de novembro, observou-se uma alteração na curva de crescimento dos animais.

Figura 10 – Registro do peso dos coelhos



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: A – Registro do peso dos coelhos. B – Evolução do peso dos animais. C – Evolução da média do peso.

A análise estatística de medidas repetidas demonstrou uma interação significativa entre os fatores Tempo e Grupo ($p < 0,05$). O teste post-hoc de Tukey revelou que:

- a) **Grupos Tratados (AH e PRP):** Ambos os grupos apresentaram um aumento de peso estatisticamente significativo entre o período "Pós-MIA Imediato" e o ponto final de "Tratamento" ($p < 0,05$). Visualmente, as

curvas desses grupos retomaram uma inclinação ascendente semelhante à do grupo Controle Soro (saudável).

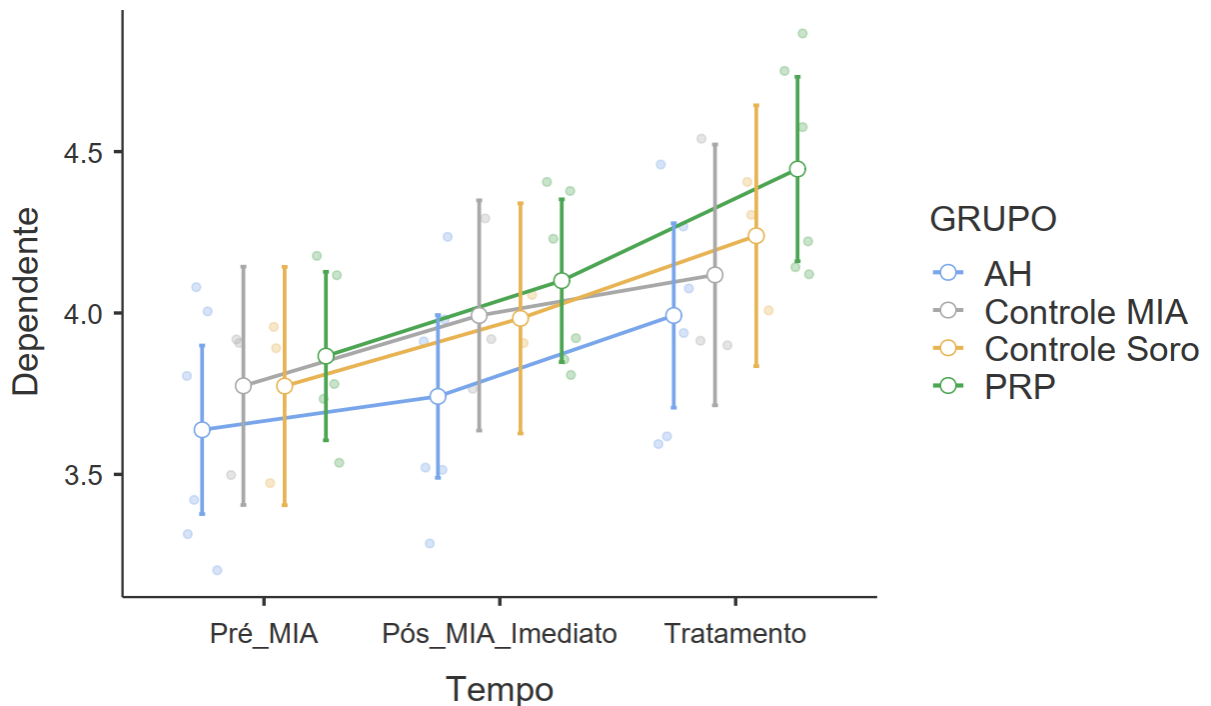
- b) **Grupo Controle MIA:** Este grupo apresentou a menor média de peso ao final do experimento. Embora tenha havido um ganho residual, a inclinação da curva foi significativamente menor em comparação aos grupos que receberam AH ou PRP.

No tempo final, os grupos AH e PRP não apresentaram diferença estatística em relação ao grupo Controle Soro ($p > 0,05$), indicando que os tratamentos foram eficazes em permitir que os animais retomassem seu desenvolvimento ponderal normal, ao contrário do grupo MIA, que permaneceu com déficit de peso (Figura 12).

Tabela 2 – Teste de normalidade do peso dos coelhos

	30/ago	13/set	20/set	01/out	09/out	23/out	31/out	08/nov	14/nov	26/nov	03/dez	17/dez	07/jan
Média	3.24	3.67	3.75	3.84	3.85	3.94	4.02	3.92	3.97	4.04	4.11	4.21	4.43
Desvio-padrão	0.412	0.300	0.318	0.283	0.258	0.281	0.286	0.303	0.319	0.312	0.361	0.365	0.421
W de Shapiro-Wilk	0.921	0.927	0.980	0.943	0.960	0.974	0.976	0.953	0.971	0.962	0.971	0.976	0.942
p Shapiro-Wilk	0.135	0.169	0.950	0.322	0.595	0.875	0.901	0.468	0.822	0.635	0.820	0.923	0.628

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Figura 11 – Visualização descritiva de médias com erro

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.2 Avaliação histológica

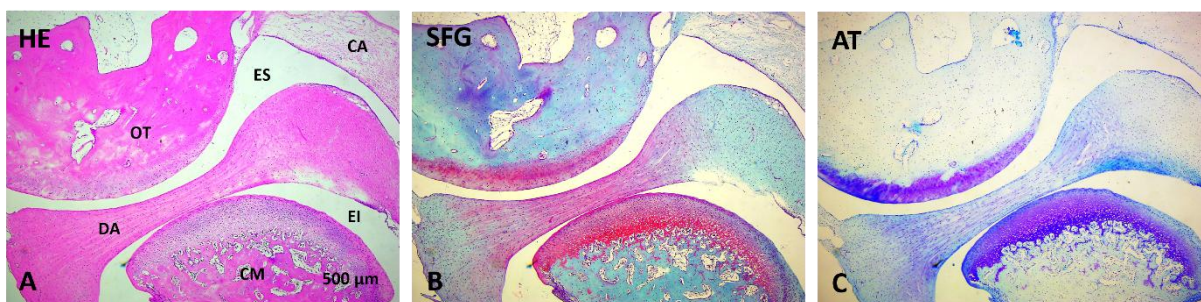
4.2.1 Avaliação qualitativa da ATM

As avaliações histopatológicas empregando as técnicas histológicas de coloração da hematoxilina e eosina (HE), azul de toluidina (AT) e safranina-O/ fast green (SFG) foram adequadas para revelar as características teciduais da ATM, em particular os revestimentos do côndilo e do osso temporal assim como da organização do disco articular, membrana sinovial e ligamento/cápsula nos diferentes grupos experimentais (Figura 1). A técnica de coloração do HE permitiu uma análise global, quanto aos parâmetros teciduais, celulares e da matriz extracelular fibrilar, assim como processos inflamatórios, degenerativos ou regenerativos (Figura 12A). A técnica de coloração da AT revelou especificamente às áreas de rica quantidade de proteoglicanos glicosaminoglicanos e proteoglicanos com caráter ácido, os quais estão presentes, principalmente nas áreas de cartilagem hialina, fibrocartilagem ou em processos de neoformação cartilaginosa ou cartilaginização (Figura 12B).

Finalmente, a técnica de coloração da SFG permitiu também uma avaliação global, destacando as áreas cartilaginosas (Figura 12C).

Vale salientar que a superfície articular do côndilo mostrou sempre sinais de crescimento ósseo por meio de ossificação endocondral, além da ossificação intramembranosa da região de transição no colo do côndilo (Figura 1). Este achado indica que essa estrutura cartilaginoso-óssea ainda está em processo de crescimento nos animais selecionados para o presente estudo. Por outro lado, a superfície da fossa articular do osso temporal, mostrou sempre sinais de fibrocartilagem, com ausência de cartilagem hialina, indicando que essa superfície alcançou maturidade, cessando o crescimento por ossificações endocondral ou intramembranosa (Figura 12).

Figura 12 – Corte histológico em HE, SFG e AT grupo MIA



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

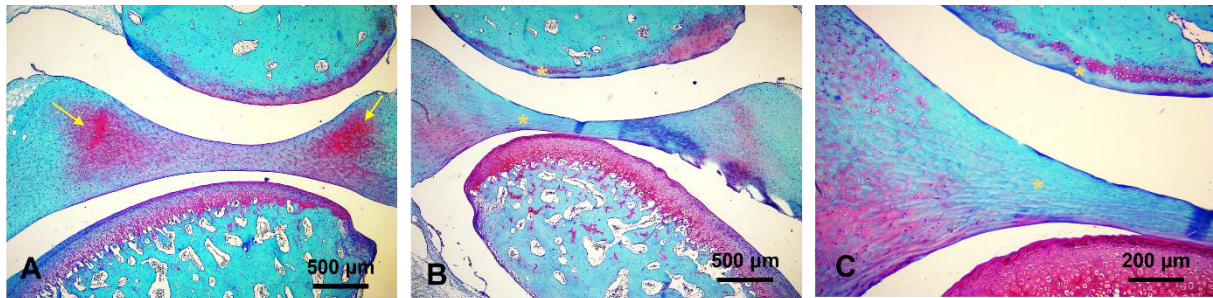
Legenda: Cortes histológicos sagitas seriados de 5 µm de espessura da ATM do grupo experimental moniodoacetato mostrando as características de coloração pelas técnicas da hematoxilina e eosina (HE) em A, safranina-O/fast green (SFG) em B e azul de toluidina (AT) em C. Abreviaturas: CA, cápsula; CM, côndilo da mandíbula; DA, disco articular; EI, espaço articular infradiscal; ES, espaço articular supradiscal; OT, osso temporal.

4.2.2 Avaliação histológica do grupo soro fisiológico

As avaliações histológicas revelaram que 70% das amostras apresentaram aspectos de normalidade com apenas presença de neoformação de fibrocartilagem nas áreas periféricas do disco articular (Figura 13A). Por outro lado, 30% das amostras indicaram algumas alterações teciduais significantes, tais como, evidente morte celular dos fibrócitos/fibroblastos da parte central do disco articular sem desestruturação das fibras colágenas (Figura 13B-C). Além disso, tais alterações estavam associadas a desestruturação do revestimento do osso temporal. Essa desestruturação foi evidente com perda da camada superficial de tecido conjuntivo denso modelado e/ou acelularização dessa camada, vinculado a degeneração dos condrócitos subjacentes da fibrocartilagem (Figura 13B-C). A membrana basal apresentou espessura e organização celular com padrão de normalidade, assim como

o tecido conjuntivo distribuído pelos ligamentos/cápsula também não evidenciou presença de quadro inflamatório ou alterações vasculares (Figura 14).

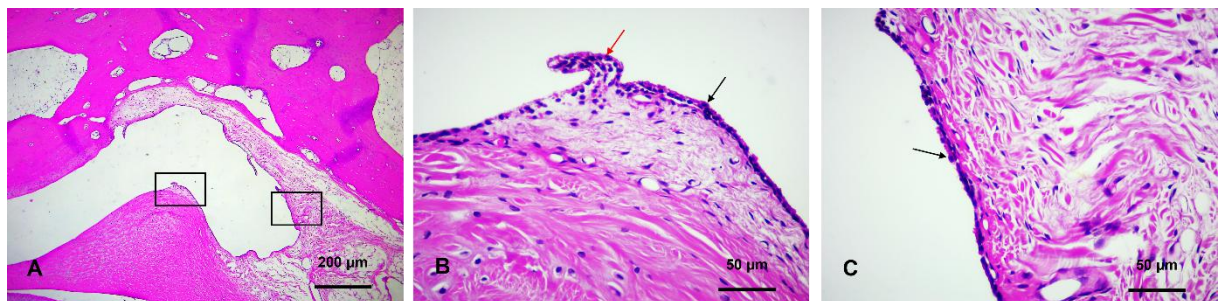
Figura 13 – Corte histológico corado com SFG do grupo soro fisiológico



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: Cortes histológicos sagitas seriados de 5 µm de espessura da ATM corado pela SFG do grupo experimental soro fisiológico. Em A, mostra uma ATM com condições de normalidade, com disco articular celularizado. As setas apontam as regiões periféricas do disco articular com formação de fibrocartilagem. Em B-C é observada uma ATM, em menor (B) e maiores resoluções (C), com sinais de alterações, tais como acelularização da porção central do disco articular do revestimento do osso temporal (asteriscos).

Figura 14 – Corte histológico em HE grupo soro fisiológico



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: Cortes histológicos sagitas seriados de 5 µm de espessura da ATM corado pela HE do grupo experimental soro fisiológico. Em A, mostra áreas de membrana sinovial na periferia do disco articular (A-B) e na superfície interna da cápsula (A e C), indicados pelos retângulos que são evidenciados em maior resolução em B-C. Em B, observar a discreta espessura da membrana basal (seta preta) e a presença de uma vilosidade sinovial (seta vermelha). Em C também é mostrada a membrana sinovial com discreta espessura.

4.2.3 Avaliação histológica do grupo MIA

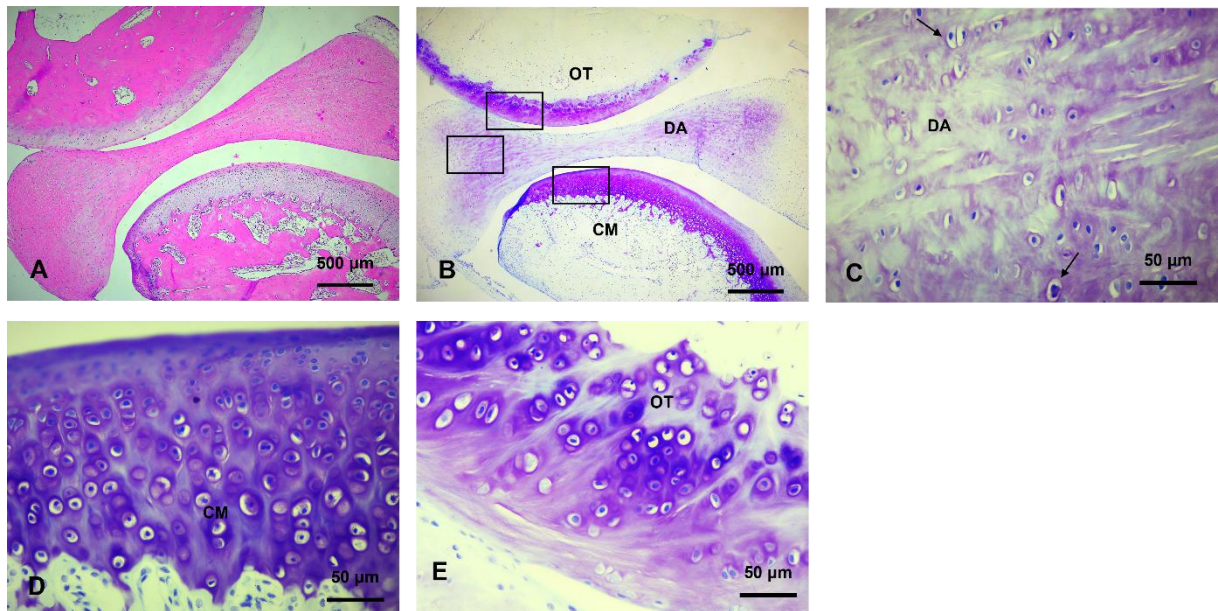
Nesse grupo experimental foi notado um padrão de normalidade quanto aos revestimentos das superfícies articulares, sem alterações ou sinais de irregularidades nas amostras analisadas (Figura 15). Não foram observadas, áreas de morte celular nas regiões centrais do disco articular ou na superfície articular do osso temporal

(Figura 4A-B). Entretanto, sinais de cartilaginizacão das regiões periféricas do disco articular foram observados em todas as amostras (Figura 15C). As superfícies articulares do osso temporal e do côndilo mandibular mostraram camada de fibrocartilagem e cartilagem hialina espessas; entretanto, somente avaliações histomorfométricas podem confirmar esse achado (Figura 15D-E).

A evidência que esse grupo apresentou um histórico de indução de processo inflamatório prévio foi comprovado pelo espessamento da membrana sinovial tanto da porção periférica do disco articular como nas superfícies internas dos /ligamentos/cápsula (Figura 16A). Esses espessamentos foram também associados ao aumento de vilosidades sinoviais (Figura 16B). Não foram notadas áreas residuais de inflamação crônica.

Não foram evidenciadas diferenças histológicas entre os animais sacrificados com 40 ou 60 dias, após a administração de MIA ou latência.

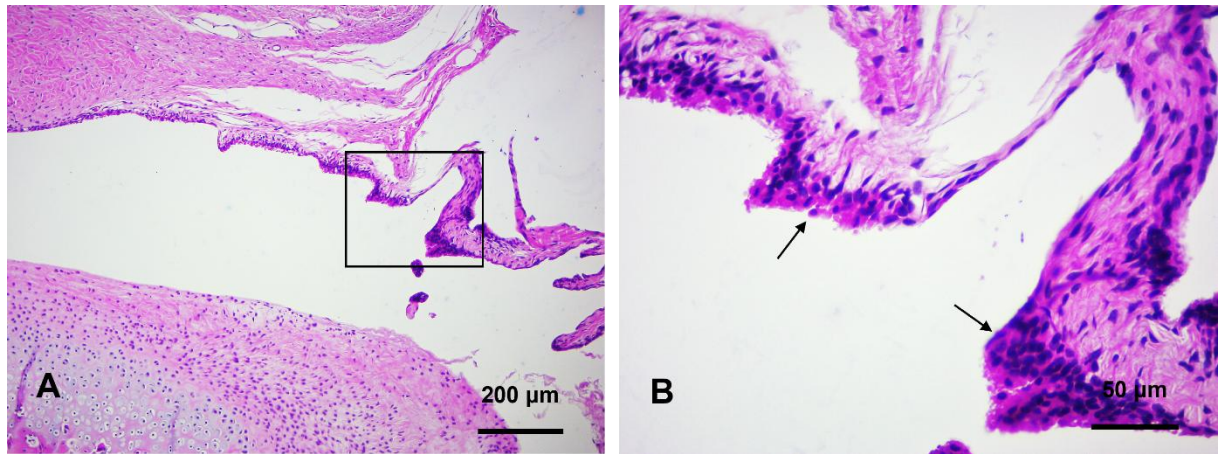
Figura 15 – Cortes histológicos sagitas seriados da ATM corado pela HE (A) e AT (B-E) do grupo experimental soro fisiológico.



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: Cortes histológicos sagitas seriados de 5 µm de espessura da ATM corado pela HE (A) e AT (B-E) do grupo experimental soro fisiológico. Em A é mostrado as características histológicas gerais. Em B-E é observado a coloração da cartilagem hialina da região do côndilo mandíbula (B e D), fibrocartilagem de substituição ou cartilaginação da porção periférica do disco articular (B e C) e reativação ou neoformação de cartilagem hialina na região articular do osso temporal (B e E). Os retângulos ilustrados em C-E. Abreviaturas: CM, côndilo da mandíbula; DA, disco articular; OT, osso temporal.

Figura 16 – Cortes histológicos sagitas seriados da ATM corado pela HE (A) e AT (B-E) do grupo experimental soro fisiológico.



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

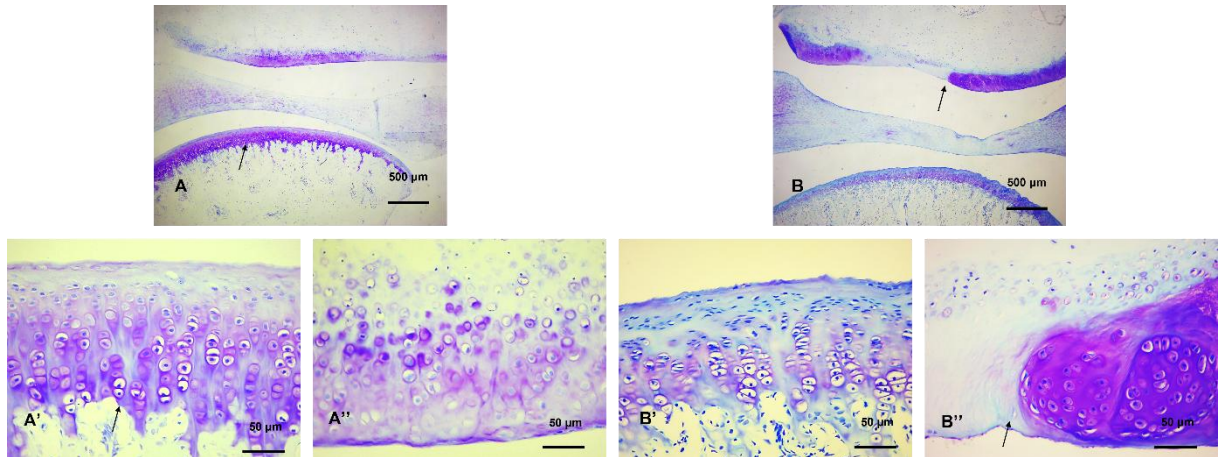
Legenda: Cortes histológicos sagitas seriados de 5 µm de espessura da ATM corado pela HE (A) e AT (B-E) do grupo experimental soro fisiológico. Em A é mostrado as características histológicas gerais. Em B-E é observado a coloração da cartilagem hialina da região do côndilo mandíbula (B e D), fibrocartilagem de substituição ou cartilaginação da porção periférica do disco articular (B e C) e reativação ou neoformação de cartilagem hialina na região articular do osso temporal (B e E). Os retângulos ilustrados em C-E. Abreviaturas: CM, côndilo da mandíbula; DA, disco articular; OT, osso temporal.

4.2.4 Avaliação histológica do grupo AH

As avaliações histológicas revelaram que apenas 15% das amostras apresentaram aspectos de normalidade (Figura 17A-A''). Por outro lado, 85% das amostras indicaram alterações teciduais significantes, similares aquelas mencionadas anteriormente, em relação ao disco articular e superfície do osso temporal (Figura 6B-B''). Também foram notadas irregularidades na superfície do côndilo, além da perda da regularidade da espessura da cartilagem hialina (Figura 17B-B'').

A membrana basal apresentou frequentemente aumento da espessura, indicando histórico de processo inflamatório. Uma outra amostra mostrou ossificação da parte posterior do disco articular, associado com uma área traumática da superfície do côndilo, no qual foi notada reorganização tecidual, com neoformação de cartilagem hialina e área óssea com ausência de osteócitos (Figura 18A-A''). Uma amostra mostrou processo inflamatório crônico agudizado, na região do recesso posterior do ligamento articular, com material hialino entremeado por células inflamatórias mononucleadas e focos de agudização, com acúmulo de leucócitos polimorfonucleados (neutrófilos) (Figura 18B-B'').

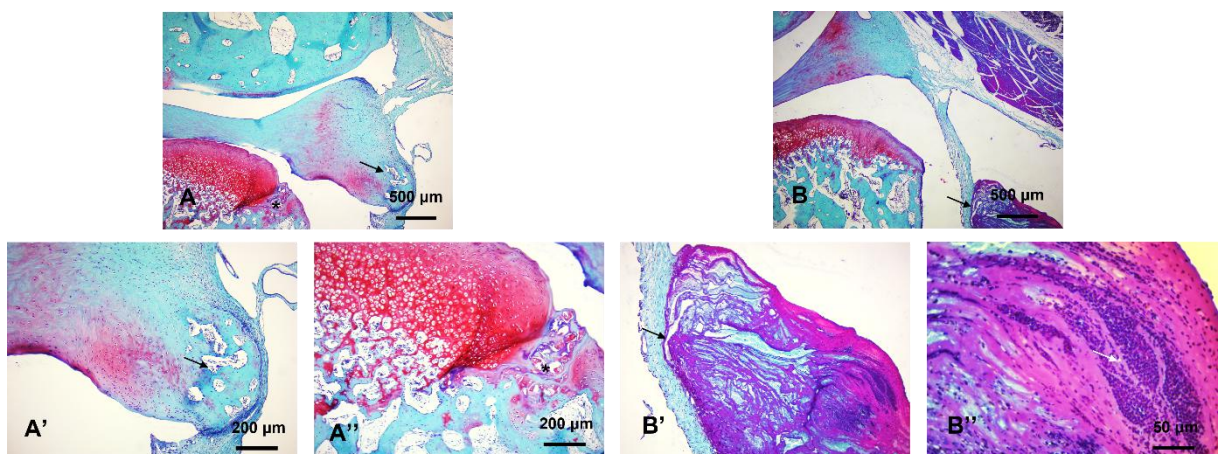
Figura 17 – Cortes histológicos da ATM corado pela AT do grupo experimental AH



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: Cortes histológicos sagital de 5 µm de espessura da ATM corado pela AT do grupo experimental ácido hialurônico. Em A e mostrado em menor resolução uma ATM com padrão de normalidade com áreas cartilagem hialina no côndilo mandibular (A-A', seta) e de neoformação de cartilagem hialina no osso temporal (A e A''). Em B e mostrado em menor resolução uma ATM com padrão com alterações teciduais, principalmente na superfície articular do osso temporal (B e B'', seta) com áreas de neoformação de cartilagem hialina associada a uma área com fibrocartilagem com sinais de acelularização, a seta indica o limite entre essas duas regiões. Em B' mostra a cartilagem hialina no côndilo mandibular.

Figura 18 – Cortes histológicos da ATM corado por SFG do grupo experimental AH



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: Cortes histológicos sagital de 5 µm de espessura da ATM corado pela SFG de dois animais do grupo experimental ácido hialurônico com sinais de alteração (A-A'' e B-B''). Em A é mostrado em menor resolução uma ATM com a região periférica do disco articular com sinal da presença de fibrocartilagem associada a uma área com ossificação endocondral (A-A', seta). Em A e A'' (asterisco) é mostrada uma área do côndilo da mandíbula com sinais de lesão tecidual da cartilagem hialina e osso subjacente, resultando em uma área sem vitalidade. Em B-B'' é mostrado em menor resolução uma ATM com a região posterior do recesso do espaço articular infradiscal, indicando um

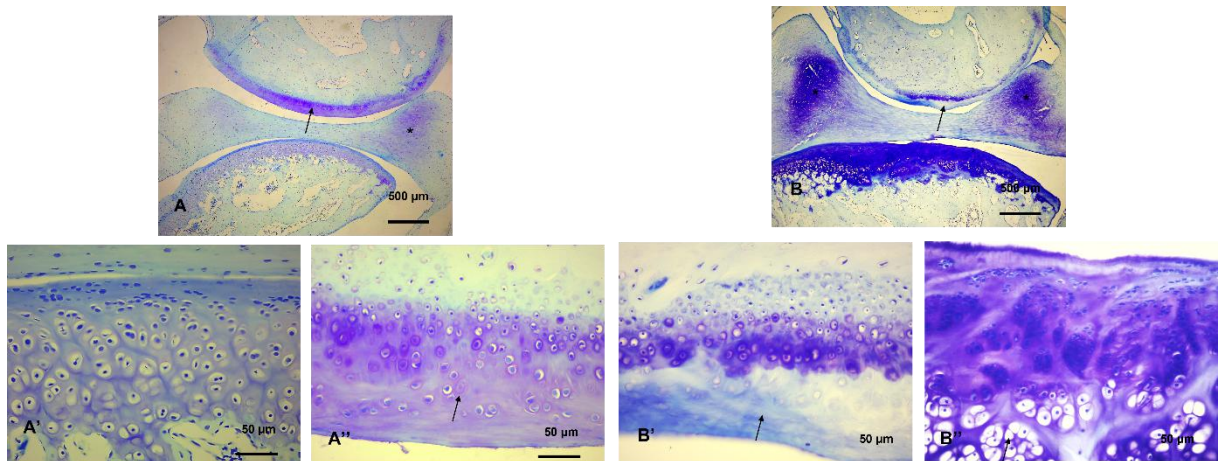
acúmulo de material hialino entremeado com células inflamatórias mononucleadas e presença de focos de agregados de neutrófilos, indicando agudização (seta).

4.2.5 Avaliação histológica do grupo PRP

As avaliações histológicas revelaram que apenas 20% das amostras apresentaram aspectos de normalidade (Figura 19A-A''). Por outro lado, 80% também indicaram alterações teciduais significantes, similares aquelas já previamente apontadas no grupo experimental que foi tratado com ácido hialurônico (Figura 19B-B'').

A membrana basal também apresentou frequentemente aumento da espessura, indicando histórico de processo inflamatório. Uma amostra mostrou processo inflamatório e desorganização do tecido conjuntivo moderadamente denso na região do ligamento posterior do disco articular, com presença de tecido conjuntivo frouxo entremeado com células inflamatórias.

Figura 19 – Cortes histológicos da ATM corado pela AT do grupo experimental AH



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: Cortes histológicos sagital de 5 µm de espessura da ATM corado pela AT do grupo experimental ácido hialurônico. Em A e mostrado em menor resolução uma ATM com discretas alterações, com áreas de fibrocartilagem na porção periférica do disco articular (A, asterisco), cartilagem hialina no côndilo mandibular (A-A') e de neoformação de cartilagem hialina no osso temporal (A e A'', seta). Em B e mostrado em menor resolução uma ATM com padrão com alterações teciduais moderadas, com formação de fibrocartilagem (B, asteriscos), com áreas de neoformação de cartilagem hialina associada a uma área com fibrocartilagem com sinais de acelularização (B-B', seta) e cartilagem hialina espessa (B e B'') com distribuição irregular dos grupos de condrócitos (B'', seta).

4.2.7 Avaliação histopatológica de órgãos diversos

A avaliação histopatológica de vários órgãos vitais do modelo animal adotado foi realizada com o intuito de mostrar as condições de saúde sistêmica dos animais selecionados para o estudo experimental. Amostras do coração, pulmão, fígado, vesícula biliar, pâncreas, estômago, duodeno, jejuno, íleo, colón descendente, linfonodo cervical, baço, rim, bexiga, testículo, adrenal, tireoide, tronco cerebral, cerebelo e córtex pré-frontal foram analisados. Os resultados apontaram que os animais selecionados para o estudo, que foram submetidos a perfusão transcardíaca, cujas ATMs foram analisadas apresentaram excelente condições de saúde sistêmica. Apenas, um animal mostrou discreta inflamação na bexiga, sem indicação que o processo séptico se disseminou para outros órgãos, tais como rim e pulmão, entre outros. Os dados dessa avaliação histopatológica serão apresentados no formato de tabela com fotomicrografias e inseridos no repositório institucional da UNESP no decorrer do presente ano, uma vez que não havia tempo hábil para inclusão na referida dissertação.

4.3 Avaliação histométrica

As análises histopatológicas quantitativas (histometria/ histomorfometria) foram limitadas a quantificação de células viáveis, com núcleo basófilo evidente pela técnica de coloração HE no disco articular. Além disso, foram mensuradas a espessura do tecido conjuntivo denso modelado superficial e da cartilagem hialina do côndilo. Esses dados visam complementar e corroborar qualitativamente os achados da avaliação qualitativa prévia.

4.3.1 Espessura das camadas histológicas do côndilo mandibular dos animais

Os animais do grupo tratado com soro apresentaram espessura média aproximada de 13 μm na camada fibrosa, 68 μm na camada cartilaginosa e 297 μm no osso subcondral. Observou-se que a camada fibrosa manteve espessura relativamente baixa, indicando uma superfície articular sem sinais evidentes de espessamento reacional. A camada cartilaginosa apresentou valores intermediários quando comparada aos demais grupos, sugerindo manutenção parcial da cartilagem condilar. No entanto, a camada óssea subcondral apresentou valores elevados de

espessura, o que pode refletir processo de remodelação óssea ou esclerose subcondral, alteração frequentemente associada à progressão da osteoartrite. Esses achados sugerem que, na ausência de intervenção terapêutica efetiva, podem ocorrer alterações estruturais no osso subcondral mesmo com relativa preservação das camadas mais superficiais (Quadro 04).

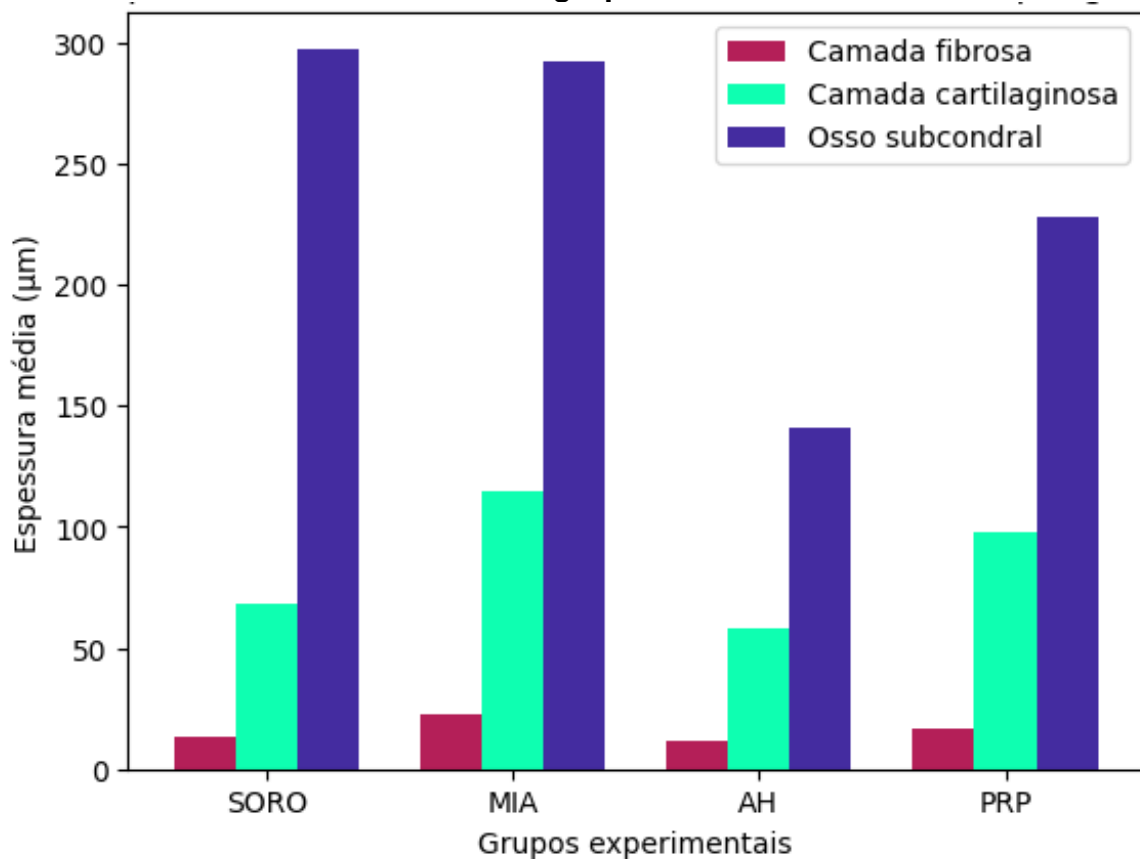
Quadro 4 – Médias de espessura das camadas condilares por grupo experimental

Grupo	Camada Fibrosa	Camada Cartilaginosa	Camada Óssea
SORO (n=6)	12,35	69,14	262,45
MIA (n=2)	22,83	114,89	291,65
AH (n=4)	11,98	58,04	140,62
PRP (n=3)	16,76	97,46	228,66

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: Os valores representam a média aritmética simples de cada grupo.

Figura 20 - Espessura média das camadas do côndilo mandibular por grupo



O grupo submetido à indução com MIA apresentou maior espessura média da camada fibrosa (~23 μm) e também maior espessura da camada cartilaginosa (~115

µm) entre todos os grupos avaliados. Esse aumento pode estar relacionado a alterações degenerativas associadas ao modelo experimental de osteoartrite, incluindo processos inflamatórios, hipertrofia celular ou edema da cartilagem remanescente, além de espessamento da superfície fibrosa como resposta adaptativa ao dano articular. A espessura média do osso subcondral foi semelhante à observada no grupo SORO (~292 µm), indicando manutenção do padrão de remodelação óssea observado nos animais não tratados. Em conjunto, esses achados são compatíveis com alterações estruturais características do processo degenerativo articular induzido pelo MIA.

Os animais tratados com ácido hialurônico apresentaram menor espessura média da camada fibrosa (~12 µm) e também menor espessura da camada cartilaginosa (~58 µm) entre os grupos avaliados. Esses resultados podem indicar redução do espessamento reacional ou da hipertrofia cartilaginosa associada ao processo degenerativo, sugerindo possível efeito modulador do ácido hialurônico sobre os tecidos articulares. Além disso, foi observada redução expressiva da espessura do osso subcondral (~141 µm) quando comparada aos grupos SORO e MIA. Essa diminuição pode estar relacionada a menor remodelação ou esclerose subcondral, sugerindo potencial efeito protetor do tratamento na preservação da arquitetura óssea condilar.

O grupo tratado com PRP apresentou espessura média da camada fibrosa (~17 µm) superior à observada nos grupos SORO e AH, porém inferior à do grupo MIA. A camada cartilaginosa apresentou espessura média de aproximadamente 97 µm, valor intermediário entre os grupos avaliados. Esses achados podem indicar manutenção parcial da cartilagem condilar, sugerindo possível efeito regenerativo ou modulador do PRP sobre o tecido cartilaginoso. Em relação ao osso subcondral, observou-se espessura média de aproximadamente 228 µm, também intermediária entre os demais grupos. Esse padrão sugere que o PRP pode contribuir para modulação do processo de remodelação óssea associado à osteoartrite, sem atingir os níveis de espessamento observados nos grupos controle e MIA.

De maneira geral, o grupo MIA apresentou as maiores espessuras nas camadas superficiais e cartilaginosas, sugerindo alterações estruturais relacionadas ao processo degenerativo induzido experimentalmente. O grupo SORO apresentou padrão semelhante no osso subcondral, indicando possível progressão das alterações

ósseas na ausência de tratamento efetivo. Por outro lado, os grupos AH e PRP demonstraram tendência de redução da espessura do osso subcondral e valores intermediários nas demais camadas, sugerindo possível efeito modulador desses tratamentos sobre a remodelação tecidual do côndilo mandibular.

4.3.2 Linha de interface condro-óssea

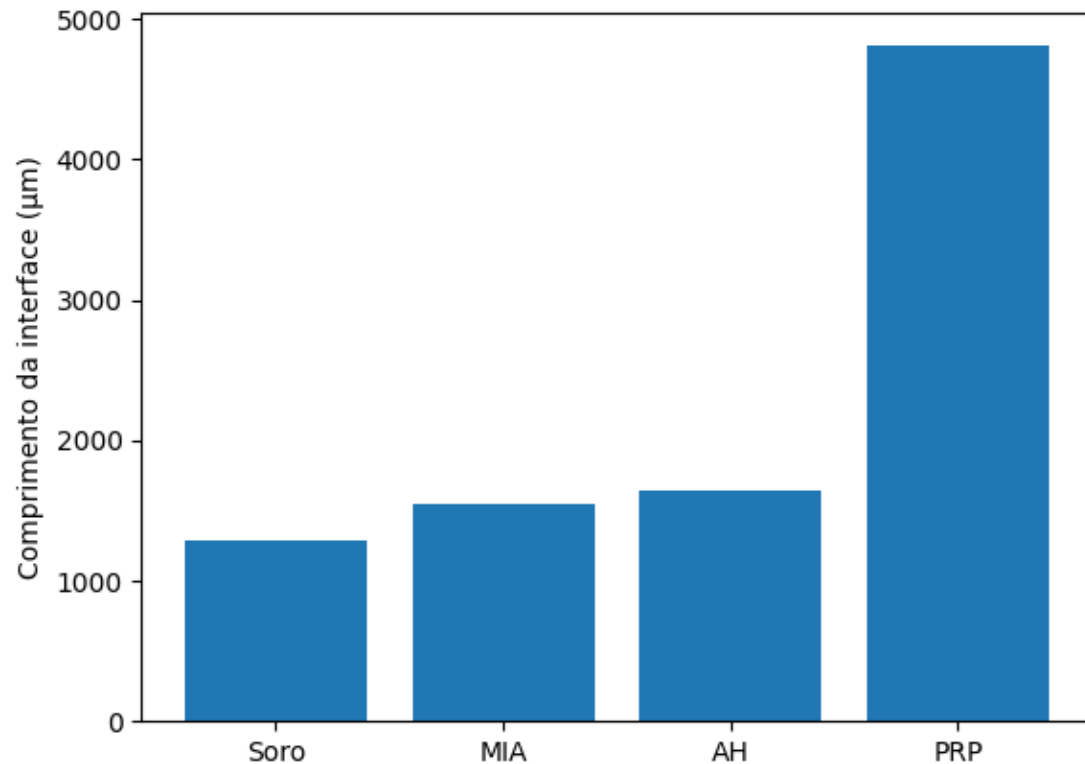
A análise morfométrica do comprimento da interface entre a cartilagem condilar e o osso subcondral revelou diferenças entre os grupos experimentais. Essa medida corresponde ao trajeto da linha que delimita a junção osteocondral, sendo considerada um indicador indireto do grau de irregularidade da superfície condilar. Superfícies mais regulares apresentam menor extensão linear, enquanto superfícies com invaginações, ondulações ou deformações estruturais resultam em maior comprimento da interface.

Tabela 4 – Extensão média da linha de transição condro-óssea (μm) nos grupos experimentais

Grupo Experimental	Extensão Média (μm)	Desvio Padrão ($\pm$)*
Grupo Soro	1293,31	304,36
Grupo MIA	1541,85	284,80
Grupo AH	1641,87	571,11
Grupo PRP	4805,04	1885,02

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Figura 21 – Comprimento médio da interface cartilagem-osso subcondral por grupo



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

No grupo controle tratado com soro, os valores observados foram relativamente baixos e pouco variáveis, com média aproximada de 1293 μm . Esse padrão sugere a presença de uma interface osteocondral mais regular e preservada, característica de uma estrutura condilar sem alterações degenerativas significativas. A menor extensão da interface indica que a superfície de contato entre cartilagem e osso subcondral apresenta poucas irregularidades estruturais.

No grupo submetido à indução de osteoartrite pelo MIA, observou-se aumento do comprimento da interface em relação ao grupo controle, com média aproximada de 1542 μm . Esse achado sugere o início de alterações estruturais na junção osteocondral, possivelmente relacionadas ao processo degenerativo característico da osteoartrite. A maior extensão da interface pode refletir a presença de irregularidades na superfície condilar, associadas à remodelação do osso subcondral e à desorganização da estrutura cartilaginosa.

No grupo tratado com ácido hialurônico, os valores apresentaram média aproximada de 1642 μm e maior variabilidade entre as amostras. Embora alguns valores se aproximem dos observados no grupo controle, outros indicam maior extensão da interface, sugerindo que o tratamento pode ter promovido apenas uma

recuperação parcial da regularidade da junção osteocondral. Esses resultados podem refletir os efeitos conhecidos do ácido hialurônico na melhora da lubrificação articular e na proteção da cartilagem, sem necessariamente restaurar completamente a arquitetura estrutural da interface cartilagem–osso subcondral.

O grupo tratado com PRP apresentou os maiores valores de comprimento da interface, com média aproximada de 4805 μm e elevada dispersão entre as amostras. Esse padrão indica uma superfície osteocondral significativamente mais irregular, caracterizada por maior número de invaginações e complexidade estrutural. Esse aumento pode estar relacionado à intensa atividade de remodelação tecidual estimulada pelos fatores de crescimento presentes no PRP, os quais podem induzir processos de reparo, proliferação celular e reorganização da matriz extracelular na região osteocondral.

4.3.3 Número de células no disco articular

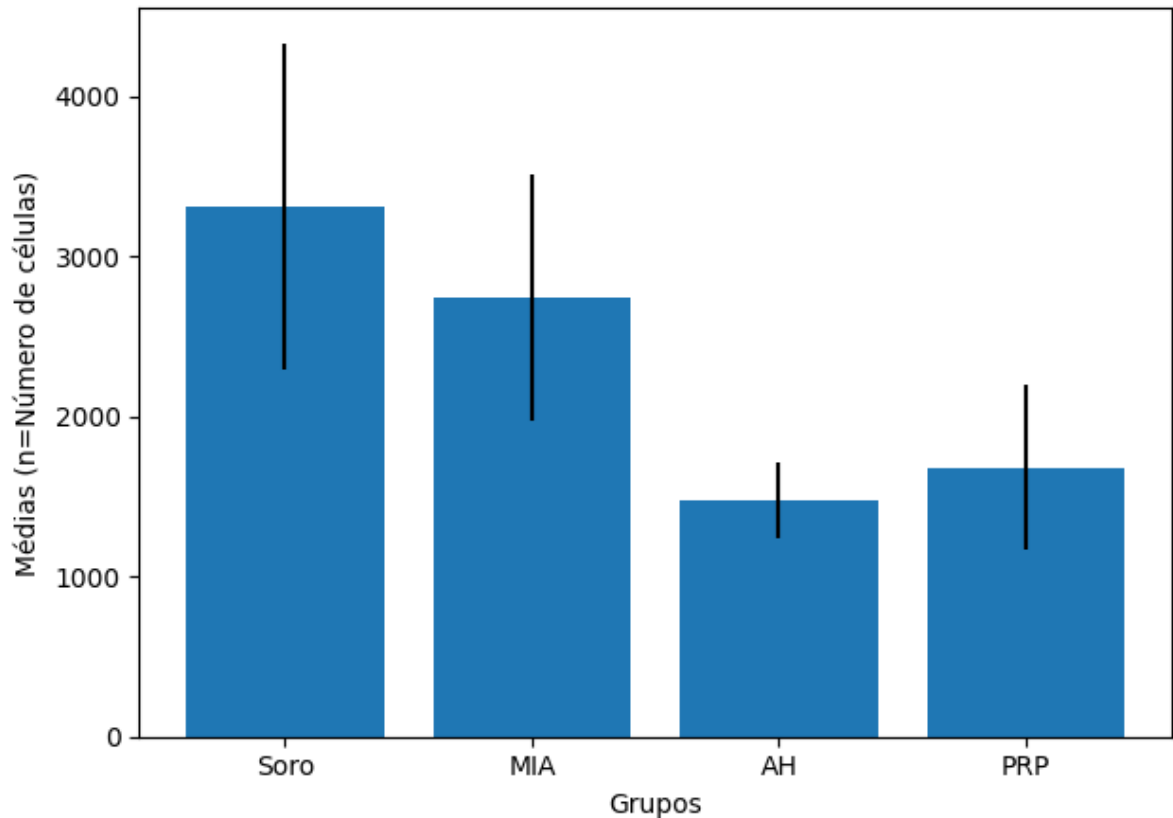
A análise dos dados demonstrou variações na densidade celular do disco articular entre os diferentes grupos experimentais. O grupo controle (Soro) apresentou a maior média de células (3316), indicando maior densidade celular nas amostras avaliadas. Entretanto, observou-se também elevada variabilidade, refletida pelo desvio-padrão mais alto entre os grupos.

Tabela 4 – Média de células no disco articular por grupos

Grupo	Média de células	Desvio-padrão
Soro	3316	1018,98
MIA	2744,2	772,62
AH	1476,2	237,86
PRP	1682	511,51

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Figura 22 – Contagem celular do disco articular por grupo experimental



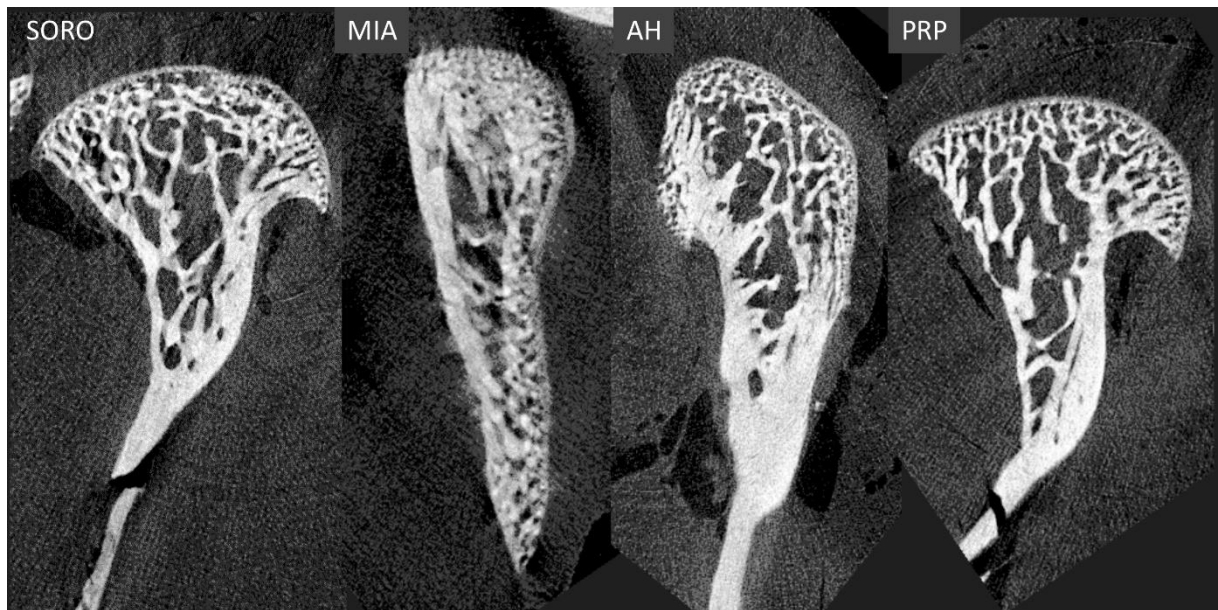
Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

O grupo MIA, utilizado para indução de osteoartrite, apresentou redução na média de células (2744,2) em relação ao grupo controle, o que pode estar associado aos processos degenerativos provocados pela ação do MIA, conhecidos por causar morte celular e degradação tecidual na articulação.

Entre os grupos tratados, observou-se que o grupo PRP apresentou média celular de 1682, enquanto o grupo tratado com ácido hialurônico apresentou a menor média (1476,2). Esses resultados indicam que ambos os grupos tratados apresentaram menor densidade celular quando comparados aos grupos controle e MIA, porém com menor variabilidade no grupo AH, sugerindo maior homogeneidade entre as amostras analisadas.

4.4 Avaliação microtomográfica

Figura 12 – Análise comparativa microtomográfica do côndilo mandibular em diferentes protocolos experimentais (Soro, MIA, AH e PRP)



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

4.4.1 Densidade óssea

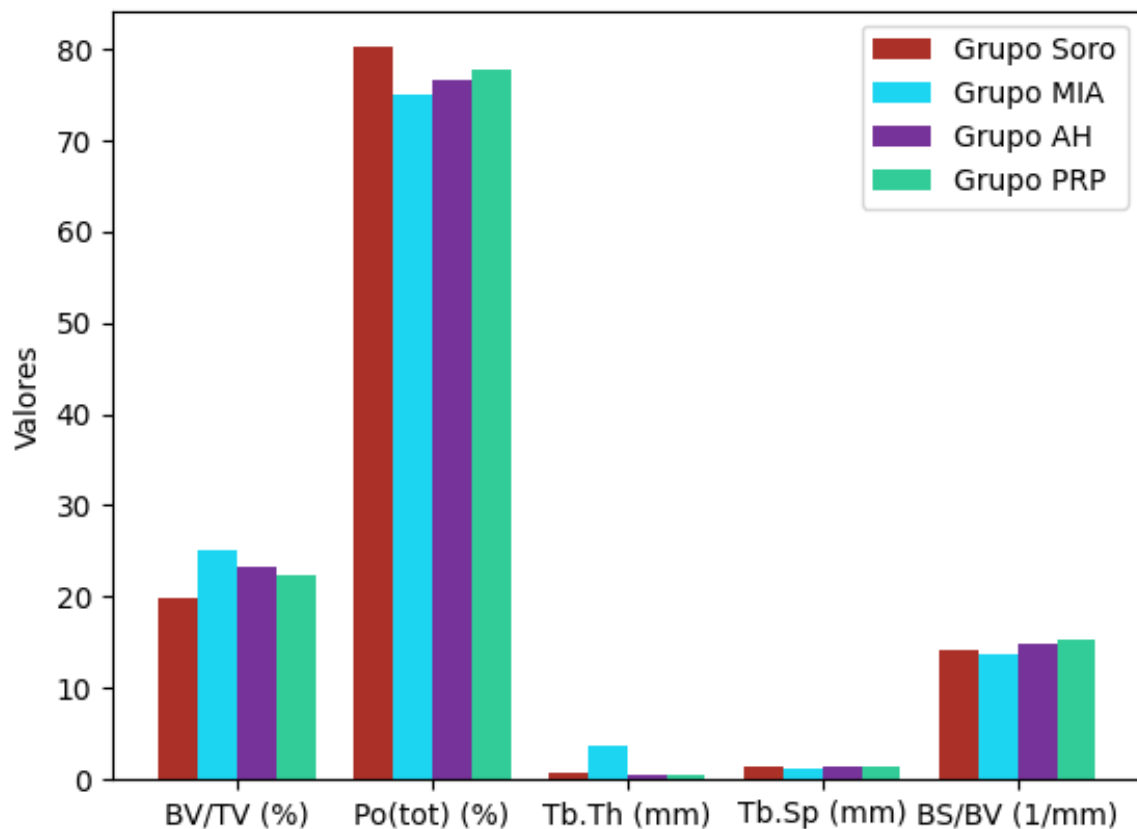
A análise microtomográfica quantitativa revelou alterações distintas na microarquitetura óssea subcondral entre os grupos. O grupo Controle MIA exibiu sinais compatíveis com esclerose óssea, evidenciados pelo maior percentual de volume ósseo (BV/TV: 25,02%) e expressivo aumento na espessura trabecular (Tb.Th: 3,66 mm). Em contraste, os animais tratados com AH e PRP apresentaram parâmetros de volume e separação trabecular mais consistentes com o grupo Controle Soro. A maior razão superfície/volume (BS/BV) observada nos grupos tratados sugere a manutenção de uma rede trabecular mais complexa e funcional, indicando que as terapias com AH e PRP mitigaram os efeitos deletérios da osteoartrite sobre a morfologia interna do côndilo mandibular (Tabela 3 e Figura 20).

Tabela 4 – Parâmetros microtomográficos do osso trabecular (BV/TV, porosidade total, Tb.Th, Tb.Sp e BS/BV) (Parâmetros 2D)

Parâmetro	Grupo Soro	Grupo MIA	Grupo AH	Grupo PRP
BV/TV (%) (Volume Ósseo)	19,83	25,02	23,36	22,31
Po (tot) (%) (Porosidade)	80,16	74,97	76,63	77,68
Tb.Th (mm) (Espessura)	0,65	3,667	0,425	0,577
Tb.Sp (mm) (Separação)	1,406	1,224	1,332	1,42
BS/BV (1/mm) (Complexidade)	14,08	13,78	14,96	15,22

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Figura 20 – Comparação dos parâmetros do osso trabecular entre os grupos



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Legenda: Foi possível observar que não houve diferenças significativas entre os grupos.

4.4.1 Volume condilar e área de superfície

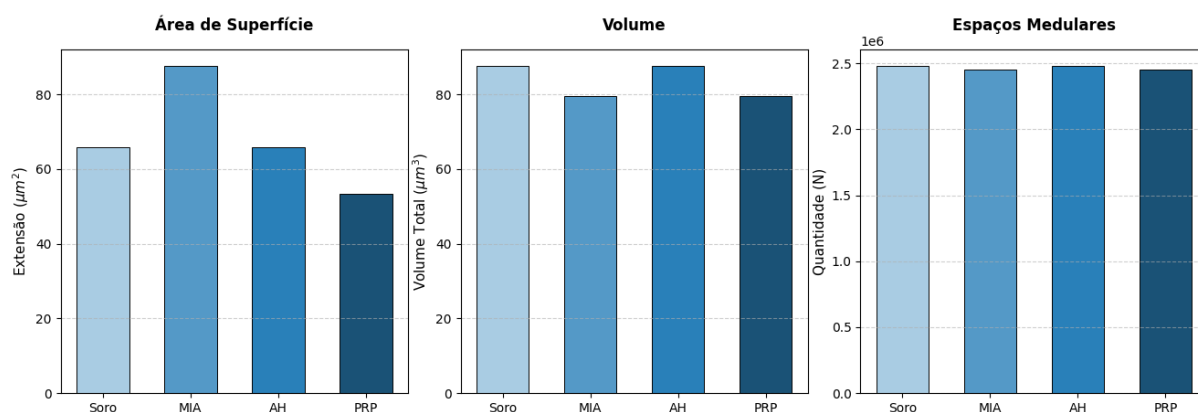
A tabela a seguir compara quatro grupos experimentais (Soro, MIA, AH e PRP) em três parâmetros: área de superfície, volume e número de células (Tabela 4 e Figura 21).

Tabela 5 – Comparação das médias da área de superfície, volume e número de espaços medulares

Grupo	Área de superfície	Volume	Espaços medulares
Soro	65.79339 mm ²	87.668386 mm ³	2480736
MIA	87.6683 mm ²	79.463493 mm ³	2454012
AH	65.79339 mm ²	87.668386 mm ³	2480736
PRP	53.29376 mm ²	79.463493 mm ³	2454012

Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

Figura 21 – Comparação das médias da área de superfície, volume e número de espaços medulares



Fonte: Elaborada pelo próprio autor.

a) Grupo MIA: Este grupo apresenta uma redução no volume (79,46 mm³) em comparação ao grupo controle (Soro: 87,66 mm³). Isso indica perda de massa óssea ou cartilaginosa (erosão condilar). Curiosamente, sua área de superfície é a maior (87,66 mm²), o que sugere que a superfície do côndilo se tornou mais irregular ou rugosa (característica de processos degenerativos).

b) Grupo AH: Os valores são idênticos aos do grupo Soro. Na interpretação científica, isso sugere que o tratamento com AH foi eficaz em manter ou recuperar a integridade volumétrica original da articulação.

c) Grupo PRP: Apresenta o menor volume ($79,46 \text{ mm}^3$, igual ao MIA) e a menor área de superfície ($53,29 \text{ mm}^2$). Isso pode indicar um processo de remodelação intensa ou uma resposta morfológica distinta que merece investigação qualitativa nas imagens.

Quando avaliado a morfometria 3D, a relação entre área e volume é um indicador de complexidade da forma:

- a) MIA: Menos volume com mais área. Superfície complexa, irregular, possivelmente com osteófitos ou erosões.
- b) Soro/AH: Equilíbrio preservado, sugerindo uma superfície mais lisa e íntegra.

Os resultados quantitativos (Tabela 4) demonstram que o grupo submetido à indução por MIA apresentou uma redução volumétrica de aproximadamente 9,35% em relação ao grupo controle (Soro). Paralelamente, observou-se um aumento na área de superfície no grupo MIA ($87,66 \text{ mm}^2$), sugerindo maior irregularidade cortical. O tratamento com AH demonstrou preservação total dos parâmetros volumétricos originais, assemelhando-se ao grupo controle, enquanto o grupo PRP exibiu valores volumétricos reduzidos, similares ao grupo MIA, porém com a menor área de superfície registrada entre todos os grupos ($53,29 \text{ mm}^2$).

Os parâmetros morfométricos avaliados — área de superfície, volume e número de células — foram expressos em valores relativos normalizados (%), considerando o grupo controle como referência. Na análise da área de superfície, observou-se que o grupo MIA apresentou o maior valor relativo (100%), enquanto os grupos Soro e AH apresentaram valores semelhantes entre si (aproximadamente 75%). O grupo PRP apresentou o menor valor relativo, em torno de 61%.

Em relação ao volume, os grupos Soro, AH e PRP apresentaram valores semelhantes entre si, próximos de 100%, enquanto o grupo MIA apresentou valor discretamente inferior, aproximando-se de 90%.

Quanto ao número de células, os valores relativos mostraram-se semelhantes entre os grupos avaliados. O grupo Soro apresentou valor de referência (100%), seguido pelos grupos PRP (aproximadamente 100%), MIA (cerca de 99%) e AH (aproximadamente 98%).

5 DISCUSSÃO

A osteoartrite (OA) da articulação temporomandibular (ATM) permanece como um desafio clínico devido à ausência de tratamentos específicos e sua alta prevalência, particularmente em mulheres. O presente estudo buscou avaliar a eficácia de tratamentos minimamente invasivos, como o ácido hialurônico (AH) e o plasma rico em plaquetas (PRP), que têm sido apontados como alternativas promissoras para evitar a progressão da doença para estágios graves, como a fibroaquilose.

A evolução do peso corporal é um indicador clínico indireto de bem-estar animal e ausência de dor sistêmica em modelos de osteoartrite. No presente estudo, a estagnação ou o menor ganho de peso observado no grupo Controle MIA sugere que a dor articular e a limitação funcional impostas pela indução da patologia interferiram no comportamento alimentar dos coelhos. Em contrapartida, a recuperação do peso nos grupos AH e PRP após as infiltrações terapêuticas corrobora a hipótese de que ambos os tratamentos foram eficazes no manejo da condição dolorosa, permitindo que os animais mantivessem um ritmo de crescimento fisiológico comparável ao grupo saudável (Controle Soro).

Não foi possível observar em nosso modelo de indução da OA: perfurações discais, cistos subcondrais ou erosão óssea. A identificação dessas alterações poderia contribuir para uma correlação mais direta com as características frequentemente descritas em pacientes humanos com osteoartrite em estágios intermediários ou avançados. Entretanto, foi observada ausência de células viáveis no tecido conjuntivo denso. É importante destacar que o presente estudo se limitou à avaliação de períodos experimentais de 40 e 60 dias. Considera-se possível que, em um tempo experimental mais prolongado, como por exemplo 150 dias, pudesse ocorrer uma perda mais acentuada desse tecido, resultando na ausência completa do tecido conjuntivo denso e consequente exposição da fibrocartilagem e do osso subcondral. Essas características histológicas também foram descritas no estudo conduzido por Molinet (Molinet et al., 2020).

No presente estudo, não foi observada diferença estatisticamente significativa entre os tratamentos com ácido hialurônico (AH) e plasma rico em plaquetas (PRP). No grupo tratado com AH, verificou-se uma arquitetura tecidual mais semelhante à

observada no grupo controle. Esse achado está de acordo com diversos estudos que relatam efeitos benéficos do ácido hialurônico na articulação temporomandibular, promovendo melhora na organização estrutural e na homeostase articular (Giovanni Guarda-Nardini et al., 2007; Machado, Bonotto e Cunali, 2013). Por outro lado, alguns estudos não demonstraram melhora significativa associada ao uso dessa medicação (Roy D. Altman et al., 2004; Michael K. Boettger et al., 2011; Anders Jørgensen et al., 2010; Maria Vanelli et al., 2010), evidenciando que os resultados ainda permanecem controversos na literatura.

Em relação ao PRP, foi possível observar maior desorganização das camadas que compõem o côndilo mandibular dos coelhos. Esse fenômeno foi evidenciado também pelos resultados da análise histomorfométrica, especialmente pela medida do comprimento da interface entre cartilagem e osso subcondral, que indicou maior irregularidade estrutural. Até o momento, não foram encontrados na literatura estudos que descrevam especificamente esse tipo de alteração morfométrica utilizando esse parâmetro. Ainda assim, nossos achados não contradizem pesquisas que relatam efeitos potencialmente benéficos do PRP na regeneração ou modulação inflamatória em modelos experimentais de osteoartrite (Reza Asadpour et al., 2022; Chun-Yuh Chung; Chun-Cheng Lin; Hung-Hsuan Chang, 2019; Rafael Gutiérrez; Albert Sábado-Bundó; Cosme Gay-Escoda, 2022; Alaa Haddad et al., 2023; Julio Pacheco et al., 2022; Zhi-Qiang Xu et al., 2023). Esses estudos sugerem que o PRP pode exercer efeitos positivos na modulação da resposta inflamatória e na regeneração tecidual, embora os mecanismos estruturais envolvidos ainda não estejam completamente esclarecidos. Nossos achados microtomográficos e histomorfométricos corroboram a literatura que indica que a reposição de hialuronato de sódio (viscosuplementação) pode aliviar o desenvolvimento da OA ao restaurar as propriedades biomecânicas do líquido sinovial. Enquanto alguns estudos questionam o benefício clínico isolado do AH ou do PRP, os resultados desta pesquisa sugerem que a aplicação precoce destas substâncias atua positivamente na regulação da matriz da cartilagem e na modulação da resposta inflamatória.

A análise da microarquitetura óssea por meio da micro-CT revelou achados que merecem uma interpretação cuidadosa, especialmente no que tange ao grupo Controle MIA. Embora este grupo tenha apresentado o maior volume ósseo ($BV/TV =$

25,02\%) e a maior espessura trabecular ($Tb.Th = 3,66 \text{ mm}$), esses índices não devem ser correlacionados a um tecido ósseo saudável.

Pelo contrário, esse aumento quantitativo é um marcador clássico da esclerose subcondral e da formação de osteófitos. Na osteoartrite induzida, a degradação severa da cartilagem hialina expõe o osso subcondral a cargas mecânicas anormais, resultando em uma resposta reacional de densificação mineral. Este osso, embora "mais grosso", carece da organização trabecular fisiológica e da elasticidade necessária para a absorção de impactos, tornando a articulação mais rígida e propensa à degeneração contínua. Além disso, a presença de neoformação óssea marginal (osteófitos) contribui para elevar artificialmente os valores de volume ósseo total.

Em contrapartida, os grupos tratados com AH e PRP demonstraram valores de BV/TV (23,36\% e 22,31\%, respectivamente) mais equilibrados e próximos aos níveis observados no grupo Controle Soro. Um achado relevante foi a maior razão superfície/volume (BS/BV) nos grupos PRP (15,22) e AH (14,96) em comparação ao grupo MIA (13,78). Esse parâmetro indica que os tratamentos preservaram ou estimularam uma arquitetura trabecular mais refinada e complexa.

Do ponto de vista biológico, isso sugere que as terapias foram eficazes em mitigar a remodelação óssea desordenada (esclerose), favorecendo a manutenção de uma microestrutura óssea mais próxima da normalidade e menos "maciça", o que é fundamental para a funcionalidade da articulação temporomandibular.

6 LIMITAÇÕES E TRABALHOS FUTUROS

Este estudo apresenta limitações metodológicas que devem ser consideradas na interpretação dos resultados. Inicialmente, destaca-se o uso do modelo experimental de OA induzida por MIA, o qual, embora amplamente empregado para simular alterações degenerativas articulares, não reproduz integralmente a complexidade multifatorial da OA da ATM em humanos. Histologicamente não foi possível observar cisto subcondrais e erosão ósseas em nossos modelos.

Adicionalmente, embora as análises morfológicas e histométricas forneçam dados quantitativos relevantes, a ausência de correlação com marcadores moleculares (como citocinas inflamatórias ou mediadores de degradação da matriz extracelular) restringe a compreensão mecanística dos efeitos observados. A inclusão de análises imunohistoquímicas ou expressão gênica poderia aprofundar a interpretação biológica dos achados.

A translação dos resultados para a prática clínica deve ser realizada com prudência. Diferenças anatômicas, biomecânicas e funcionais entre a ATM de coelhos e a ATM humana podem influenciar a resposta terapêutica, limitando a aplicabilidade direta dos achados em humanos.

Pesquisas futuras podem explorar um tempo maior entre a terapia e o tratamento, esperando assim perfurações discais e erosões ósseas. Estudos longitudinais com múltiplos pontos de avaliação permitiriam mapear a evolução temporal da OA e a resposta progressiva às intervenções intra-articulares. A integração de análises histológicas, microtomográficas e moleculares tende a proporcionar uma abordagem multimodal mais completa da patogênese e do efeito terapêutico.

Além disso, investigações voltadas à modulação do microambiente inflamatório e à regeneração condral, com foco em terapias biológicas ou estratégias baseadas em engenharia tecidual, representam um campo promissor. Ensaios pré-clínicos que aproximem o modelo experimental das condições clínicas humanas poderão fortalecer a evidência translacional e subsidiar futuros estudos clínicos controlados.

7 CONCLUSÃO

Os resultados obtidos neste estudo demonstraram que as terapias intra-articulares com ácido hialurônico e plasma rico em plaquetas apresentaram efeitos benéficos no tratamento da osteoartrite induzida na articulação temporomandibular de coelhos.

Ambos os tratamentos foram capazes de atenuar alterações degenerativas características da doença, contribuindo para a preservação da estrutura do côndilo mandibular e da cartilagem articular quando comparados ao grupo com osteoartrite não tratado. No entanto, foi observada uma maior desorganização histológica no grupo tratado com PRP.

REFERÊNCIAS

- ALTMAN, R. *et al.* The mechanism of action for hyaluronic acid treatment in the osteoarthritic knee: a systematic review. **BMC Musculoskeletal Disorders**, v. 16, n. 1, p. 321, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1186/s12891-015-0775-z>.
- ANKHA, M.D.V.E.A. Uso de ácido hialurônico associado ao plasma rico em plaquetas na regeneração de defeitos do disco articular e da superfície osteocondral causados pela osteoartrite na ATM. - São José dos Campos: [s.n.], UNESP. 2018.
- ARTUZI, Felipe Ernesto *et al.* Rabbit model for osteoarthrosis of the temporomandibular joint as a basis for assessment of outcomes after intervention. **British Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, London, v. 54, n. 5, p. e33–e37, 2016. DOI: 10.1016/j.bjoms.2016.01.022.
- ASADPOUR, N. *et al.* Combined platelet-rich plasma and hyaluronic acid can reduce pain in patients undergoing arthrocentesis for temporomandibular joint osteoarthritis. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 80, n. 9, p. 1474-1485, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joms.2022.05.002>
- BALAZS, E. A.; DENLINGER, J. L. Viscosupplementation: a new concept in the treatment of osteoarthritis. **The Journal of Rheumatology. Supplement**, v. 39, p. 3-9, 1993.
- BERTERETCHE, M. V. *et al.* Histologic changes associated with experimental partial anterior disc displacement in the rabbit temporomandibular joint. **Journal of Orofacial Pain**, v. 15, n. 4, p. 306-319, 2001.
- BOETTGER, Michael Karl *et al.* Evaluation of long-term antinociceptive properties of stabilized hyaluronic acid preparation (NASHA) in an animal model of repetitive joint pain. **Arthritis Research & Therapy**, v. 13, n. 4, p. R110, 7 jul. 2011.
- CHAVDA, S.; RABBANI, S. A.; WADHWA, T. Role and effectiveness of intra-articular injection of hyaluronic acid in the treatment of knee osteoarthritis: a systematic review. **Cureus**, v. 14, n. 4, p. e24503, 2022. DOI: <https://doi.org/10.7759/cureus.24503>
- CHUNG, P. Y.; LIN, M. T.; CHANG, H. P. Effectiveness of platelet-rich plasma injection in patients with temporomandibular joint osteoarthritis: a systematic review

and meta-analysis of randomized controlled trials. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 127, n. 2, p. 106-116, 2019. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2018.09.003>

DALLARI, Dante et al. Efficacy of Intra-Articular Polynucleotides Associated With Hyaluronic Acid Versus Hyaluronic Acid Alone in the Treatment of Knee Osteoarthritis: A Randomized, Double-Blind, Controlled Clinical Trial. **Clinical Journal of Sport Medicine**, v. 30, n. 1, p. 1, jan. 2020.

DORMER, N. H. *et al.* Osteochondral interface regeneration of the rabbit mandibular condyle with bioactive signal gradients. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 69, n. 6, p. e50-e57, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joms.2010.12.049>

FLEISS, Joseph L.; LEVIN, Bruce; PAIK, Myunghee Cho. **Statistical methods for rates and proportions**. 3. ed. Hoboken: John Wiley & Sons, 2003.

FUENTES, R. *et al.* Injection in temporomandibular joint of rats. Description of technical protocol. **Polish Journal of Veterinary Sciences**, v. 20, n. 2, p. 207-211, 2017. DOI: <https://doi.org/10.1515/pjvs-2017-0025>

GOIATO, M. C. *et al.* Are intra-articular injections of hyaluronic acid effective for the treatment of temporomandibular disorders? A systematic review. **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 45, n. 12, p. 1531-1537, 2016.

GOLDBERG, V. M.; BUCKWALTER, J. A. Hyaluronans in the treatment of osteoarthritis of the knee: evidence for disease-modifying activity. **Osteoarthritis and Cartilage**, v. 13, n. 3, p. 216-224, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joca.2004.11.010>

GOLDRING, M. B. The role of the chondrocyte in osteoarthritis. **Arthritis & Rheumatism**, v. 43, n. 9, p. 1916-1926, 2000. DOI: [https://doi.org/10.1002/1529-0131\(200009\)43:9<1916::AID-ANR2>3.0.CO;2-I](https://doi.org/10.1002/1529-0131(200009)43:9<1916::AID-ANR2>3.0.CO;2-I)

GUARDA-NARDINI, L. *et al.* A one-year case series of arthrocentesis with hyaluronic acid injections for temporomandibular joint osteoarthritis. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 103, n. 6, p. e14-e22, 2007. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2006.12.021>

GÜLER, N. *et al.* Sodium iodoacetate induced osteoarthritis model in rabbit temporomandibular joint: CT and histological study (part I). **International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 40, n. 11, p. 1289-1295, 2011. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijom.2011.07.908>

GUTIÉRREZ, I. Q.; SÁBADO-BUNDÓ, H.; GAY-ESCODA, C. Intraarticular injections of platelet rich plasma and plasma rich in growth factors with arthrocentesis or arthroscopy in the treatment of temporomandibular joint disorders: a systematic review. **Journal of Stomatology, Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 123, n. 5, p. e327-e335, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jormas.2021.12.006>

HADDAD, C. *et al.* Platelet-rich plasma injections for the treatment of temporomandibular joint disorders: a systematic review. **Journal of Oral Rehabilitation**, v. 50, n. 11, p. 1330-1339, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1111/joor.13545>

HAIGLER, M. C. *et al.* Use of platelet-rich plasma, platelet-rich growth factor with arthrocentesis or arthroscopy to treat temporomandibular joint osteoarthritis: Systematic review with meta-analyses. **Journal of the American Dental Association**, v. 149, n. 11, p. 940-952.e2, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.adaj.2018.07.025>

HEGAB, A. F. *et al.* Platelet-rich plasma injection as an effective treatment for temporomandibular joint osteoarthritis. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery**, v. 73, n. 9, p. 1706-1713, 2015. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.joms.2015.03.045>

HUANG, X. *et al.* Drug delivery systems for treatment of temporomandibular joint osteoarthritis. **Frontiers in Pharmacology**, v. 13, p. 1054703, 2022. DOI: <https://doi.org/10.3389/fphar.2022.1054703>

IVANDER, G.; ANGGONO, Y. A comparison of intra-articular hyaluronic acid and platelet-rich plasma for knee osteoarthritis: a systematic review. **Orthopedic Reviews**, v. 16, p. 94236, 2024. DOI: <https://doi.org/10.52965/001c.94236>

KUYINU, E. L. *et al.* Animal models of osteoarthritis: classification, update, and measurement of outcomes. **Journal of Orthopaedic Surgery and Research**, v. 11, p. 19, 2016. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13018-016-0346-5>

- KYLLAR, M. *et al.* Diagnostic imaging modalities and surgical anatomy of the temporomandibular joint in rabbits. **Laboratory Animals**, v. 52, n. 1, p. 38-50, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1177/0023677217702178>
- LACOSTE, E.; MARTINEAU, I.; GAGNON, G. Platelet concentrates: effects of calcium and thrombin on endothelial cell proliferation and growth factor release. **Journal of Periodontology**, v. 74, n. 10, p. 1498-1507, 2003. DOI: <https://doi.org/10.1902/jop.2003.74.10.1498>
- LIN, S. L. *et al.* Effect of arthrocentesis plus platelet-rich plasma and platelet-rich plasma alone in the treatment of temporomandibular joint osteoarthritis. **Medicine**, v. 97, n. 16, p. e0477, 2018. DOI: <https://doi.org/10.1097/MD.00000000000010477>
- MAYR, S.; BUCHNER, A. Evidence for episodic retrieval of inadequate prime responses in auditory negative priming. **Journal of Experimental Psychology: Human Perception and Performance**, v. 32, n. 4, p. 932-943, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1037/0096-1523.32.4.932>
- MERCURI, L. G. Osteoarthritis, osteoarthrosis, and idiopathic condylar resorption. **Oral and Maxillofacial Surgery Clinics of North America**, v. 20, n. 2, p. 169-183, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.coms.2007.12.007>
- MOLINET, M. *et al.* Comparative study of osteoarthritis induced by monoiodoacetate and papain in rabbit temporomandibular joints: macroscopic and microscopic analysis. **Folia Morphologica**, v. 79, n. 3, p. 516-527, 2020. DOI: <https://doi.org/10.5603/FM.a2019.0104>
- MONTEIRO, J. L. G. C. *et al.* A rabbit model to investigate temporomandibular joint osteochondral regeneration. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology and Oral Radiology**, v. 134, n. 1, p. 20-27, 2022. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.oooo.2021.12.004>
- MURAKAMI, K.; CLARK, G. T. Diagnosis of intracapsular pathology associated with temporomandibular joint disorders. **Advances in Dental Research**, v. 7, n. 2, p. 120-126, 1993. DOI: <https://doi.org/10.1177/08959374930070020201>
- 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. DOI: <https://doi.org/10.1053/joms.2001.26716>

NOURI, F. *et al.* Comparison between the effects of ultrasound guided intra-articular injections of platelet-rich plasma (PRP), high molecular weight hyaluronic acid, and their combination in hip osteoarthritis: a randomized clinical trial. **BMC**

Musculoskeletal Disorders, v. 23, n. 1, p. 856, 2022. DOI:

<https://doi.org/10.1186/s12891-022-05787-8>

OBERNIER, J. A.; BALDWIN, R. L. Establishing an appropriate period of acclimatization following transportation of laboratory animals. **ILAR Journal**, v. 47, n. 4, p. 364-369, 2006. DOI: <https://doi.org/10.1093/ilar.47.4.364>

PACHECO, R. F. *et al.* Concentrados plaquetários autólogos e sua aplicabilidade na Odontologia. **Research, Society and Development**, v. 11, n. 15, p.

e501111536838, 2022. DOI: <http://dx.doi.org/10.33448/rsd-v11i15.36838>

RAEISSADAT, S. A. *et al.* The comparison effects of intra-articular injection of Platelet Rich Plasma (PRP), Plasma Rich in Growth Factor (PRGF), Hyaluronic Acid (HA), and ozone in knee osteoarthritis; a one year randomized clinical trial. **BMC**

Musculoskeletal Disorders, v. 22, n. 1, p. 134, 2021. DOI:

<https://doi.org/10.1186/s12891-021-04017-x>

STAGNI, Cesare *et al.* Randomised, double-blind comparison of a fixed co-formulation of intra-articular polynucleotides and hyaluronic acid versus hyaluronic acid alone in the treatment of knee osteoarthritis: two-year follow-up. **BMC**

Musculoskeletal Disorders, v. 22, n. 1, p. 773, 12 set. 2021.

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. 6-27, 2014.

DOI: <https://doi.org/10.11607/jop.1151>

SCONZA, C. *et al.* Ozone therapy versus hyaluronic acid injections for pain relief in patients with knee osteoarthritis: preliminary findings on molecular and clinical outcomes from a randomized controlled trial. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 10, p. 8788, 2023. DOI: <https://doi.org/10.3390/ijms24108788>

SONG, H. *et al.* Long-term changes of temporomandibular joint osteoarthritis on computed tomography. **Scientific Reports**, v. 10, n. 1, p. 6731, 2020. DOI: <https://doi.org/10.1038/s41598-020-63493-8>

TAKAHASHI, T. *et al.* A decrease in the molecular weight of hyaluronic acid in synovial fluid from patients with temporomandibular disorders. **Journal of Oral Pathology & Medicine**, v. 33, n. 4, p. 224-229, 2004. DOI: <https://doi.org/10.1111/j.0904-2512.2004.00024.x>

TANAKA, E.; DETAMORE, M. S.; MERCURI, L. G. Degenerative disorders of the temporomandibular joint: etiology, diagnosis, and treatment. **Journal of Dental Research**, v. 87, n. 4, p. 296-307, 2008. DOI: <https://doi.org/10.1177/154405910808700406>

TESTA, G. *et al.* Intra-articular injections in knee osteoarthritis: a review of literature. **Journal of Functional Morphology and Kinesiology**, v. 6, n. 1, p. 15, 2021. DOI: <https://doi.org/10.3390/jfmk6010015>

TSCHOPP, M. *et al.* A Randomized trial of intra-articular injection therapy for knee osteoarthritis. **Investigative Radiology**, v. 58, n. 5, p. 355-362, 2023. DOI: <https://doi.org/10.1097/RLI.0000000000000942>

VANELLI, R. *et al.* Efficacy of intra-articular polynucleotides in the treatment of knee osteoarthritis: a randomized, double-blind clinical trial. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 18, n. 7, p. 901-907, 2010. DOI: <https://doi.org/10.1007/s00167-009-1039-y>

WANG, X. D. *et al.* Progression of cartilage degradation, bone resorption and pain in rat temporomandibular joint osteoarthritis induced by injection of iodoacetate. **PloS One**, v. 7, n. 9, p. e45036, 2012. DOI: <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0045036>

XINMIN, Y.; JIAN, H. Treatment of temporomandibular joint osteoarthritis with viscosupplementation and arthrocentesis on rabbit model. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology, and Endodontics**, v. 100, n. 3, p. e35-e38, 2005. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.tripleo.2004.12.025>

XIONG, Y. *et al.* Efficacy and safety of platelet-rich plasma injections for the treatment of osteoarthritis: a systematic review and meta-analysis of randomized

controlled trials. **Frontiers in Medicine**, v. 10, p. 1204144, 2023. DOI:
<https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1204144>

XU, J. *et al.* Comparative effectiveness of hyaluronic acid, platelet-rich plasma, and platelet-rich fibrin in treating temporomandibular disorders: a systematic review and network meta-analysis. **Head & Face Medicine**, v. 19, n. 1, p. 39, 2023. DOI:
<https://doi.org/10.1186/s13005-023-00369-y>

XU, M.; ZHANG, X.; HE, Y. An updated view on temporomandibular joint degeneration: insights from the cell subsets of mandibular condylar cartilage. **Stem Cells and Development**, v. 31, n. 15-16, p. 445-459, 2022. DOI:
<https://doi.org/10.1089/scd.2021.0324>

YUN, S. Y. *et al.* Effective technical protocol for producing a mono-iodoacetate-induced temporomandibular joint osteoarthritis in a rat model. **Tissue Engineering Part C: Methods**, v. 29, n. 9, p. 438-445, 2023. DOI:
<https://doi.org/10.1089/ten.TEC.2023.0066>

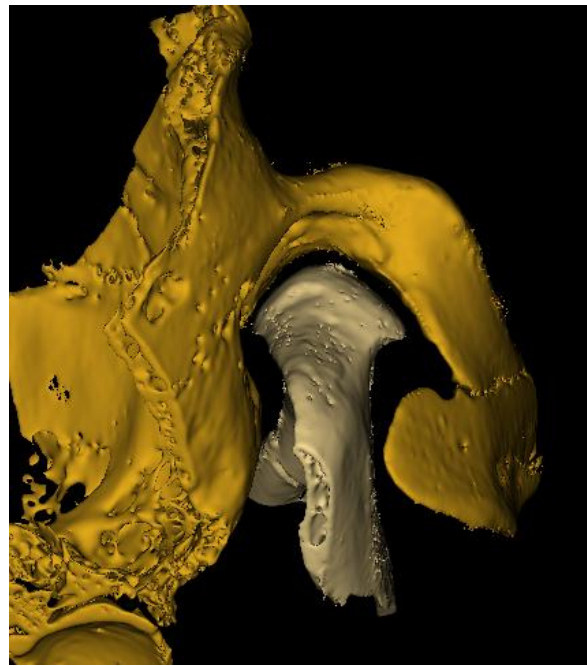
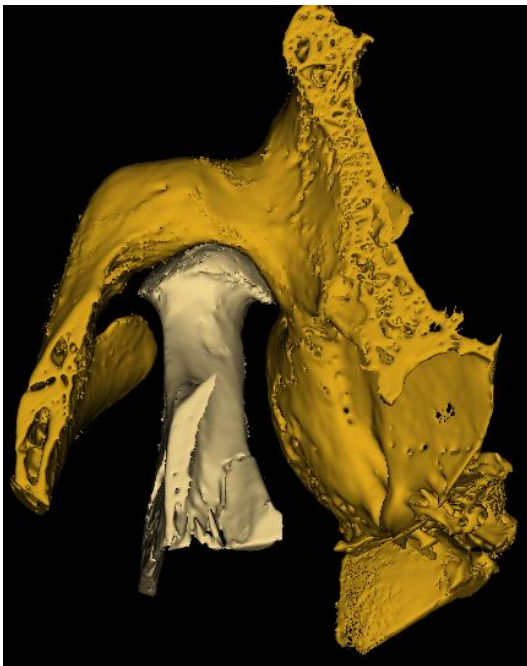
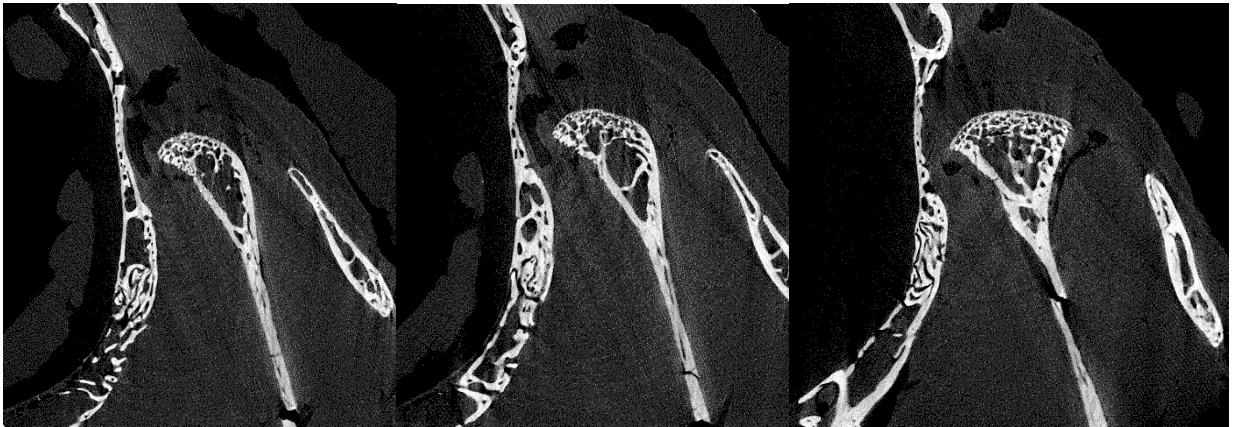
ZHANG, J. *et al.* Mechanism and potential contributing factors to temporomandibular joint osteoarthritis. **Oral Diseases**, v. 29, n. 3, p. 1060-1069, 2023. DOI:
<https://doi.org/10.1111/odi.14061>

ZHAO, Y. *et al.* Animal models of temporomandibular joint osteoarthritis: classification and selection. **Frontiers in Physiology**, v. 13, p. 859517, 2022. DOI:
<https://doi.org/10.3389/fphys.2022.859517>

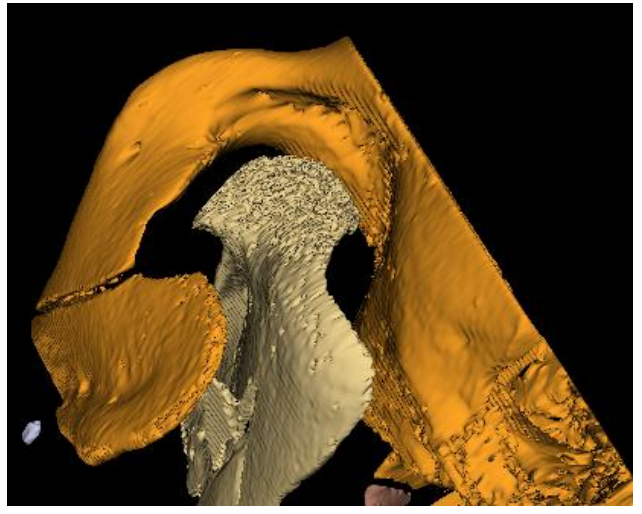
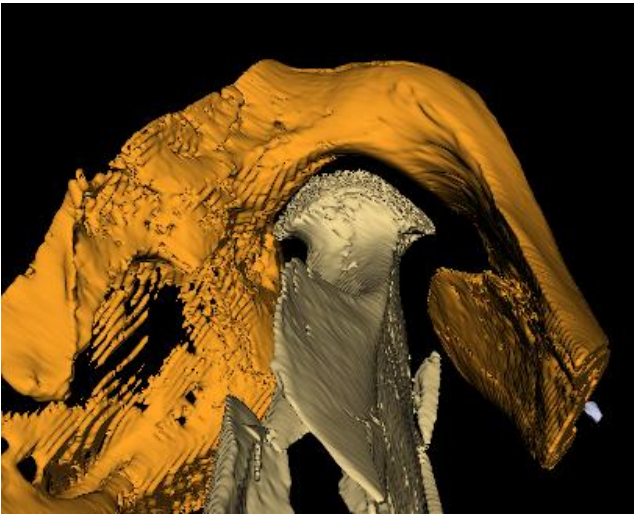
APÊNDICES

APÊNDICE A – Microtomografia computadorizada das articulações dos coelhos

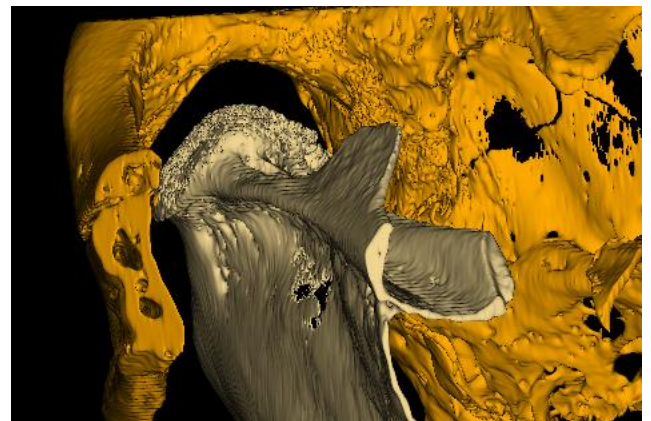
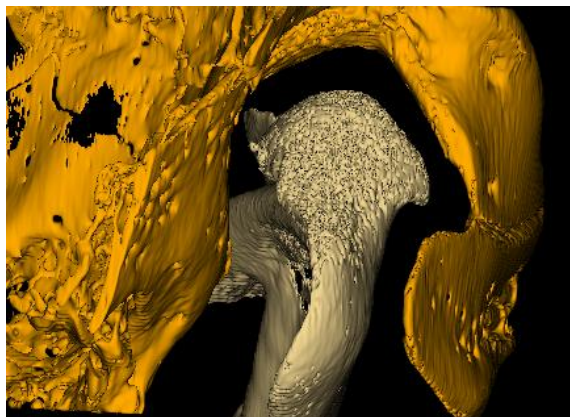
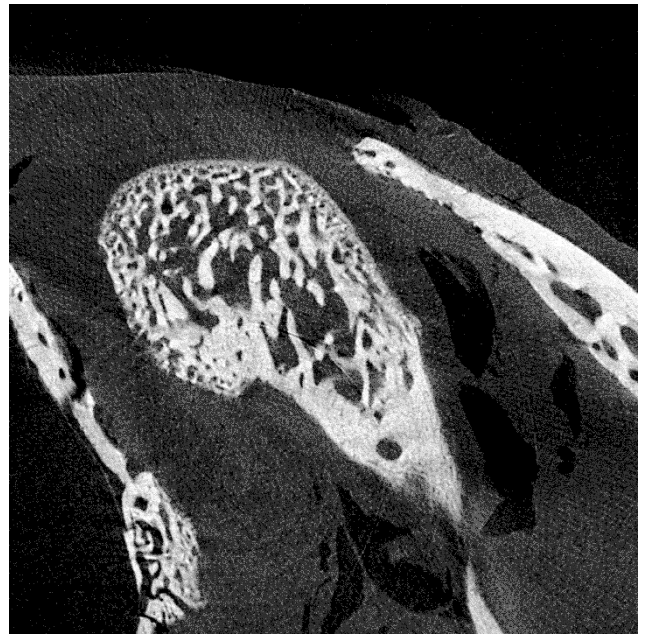
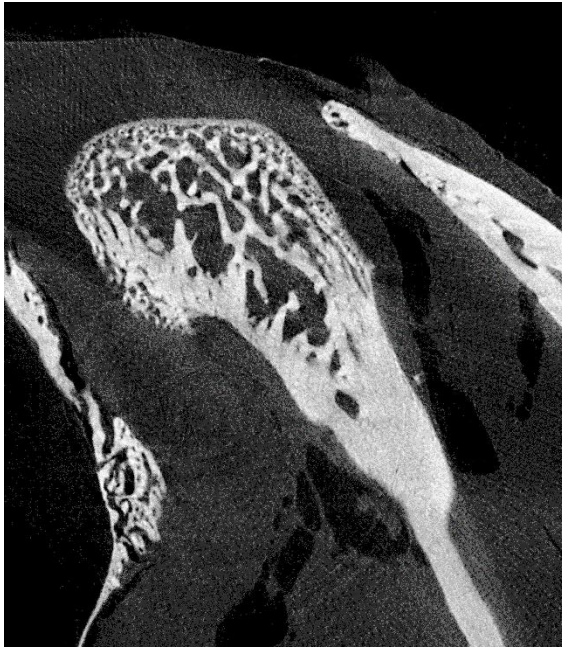
Coelho 05 – Soro (Controle sem MIA)



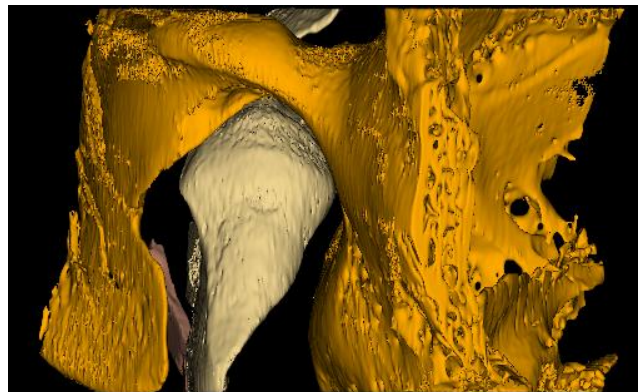
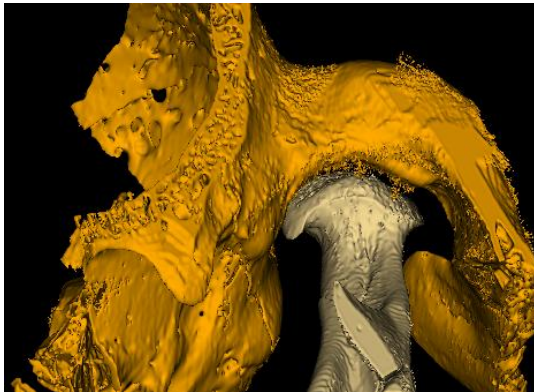
Coelho 08 – MIA



Coelho 08 – AH



Coelho 17 – PRP



APÊNDICE B - Documento de aprovação (Processo: 2024-319)



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"



CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Avaliação do plasma rico em plaquetas e do ácido hialurônico no tratamento da osteoartrite induzida em articulações temporomandibulares de coelhos"**, Processo FOA nº 319-2024, sob responsabilidade de Idelmo Rangel Garcia Junior apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 22 de Agosto de 2024.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 15 de Dezembro de 2025.

DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 15 de Janeiro de 2026.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Evaluation of platelet-rich plasma and hyaluronic acid in the treatment of induced osteoarthritis in rabbit temporomandibular joints"**, Protocol FOA nº 319-2024, under the supervision of Idelmo Rangel Garcia Junior presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on August 22, 2024.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: December 15, 2025.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: January 15, 2026.

Prof. Dr. Fellippo Ramos Verri
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais

Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba

Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP

Fone (18) 3636-3234

Email CEUA: ceua.foa@unesp.br