

**PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
ESCOLA DE MEDICINA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM CIÊNCIAS DA SAÚDE**

Flavio de Alcântara Camejo

**EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE IL-6 EM DISCOS ARTICULARES
HUMANOS DA ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR (ATM) COM
DESARRANJOS INTERNOS**

CURITIBA

2014

Flavio de Alcântara Camejo

**EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE IL-6 EM DISCOS ARTICULARES
HUMANOS DA ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR (ATM) COM
DESARRANJOS INTERNOS**

Tese apresentada ao Programa de Pós-graduação em Medicina da
Pontifícia Universidade Católica do Paraná, como parte dos requisitos para
obtenção do título de Doutor em Ciências da Saúde.

Orientadora: Profa. Dra. Paula Cristina Trevilatto

CURITIBA

2014

Dados da Catalogação na Publicação

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Sistema Integrado de Bibliotecas – SIBI/PUCPR

Biblioteca Central

Camejo, Flavio de Alcântara

C181e Expressão imuno-histoquímica de IL-6 em discos articulares humanos da
2014 articulação temporomandibular (ATM) com desarranjos internos / Flavio de
Alcântara Camejo ; orientador, Paula Cristina Trevilatto. – 2014.
vi, 51 f. ; 30 cm

Tese (doutorado) - Pontifícia Universidade Católica do Paraná, Curitiba, 2014

Inclui bibliografias

Texto em português e inglês

1. Imunohistoquímica. 2. Articulação temporomandibular. 3. Interleucina.

I. Trevilatto, Paula Cristina. II. Pontifícia Universidade Católica do Paraná.

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde. III. Título.

CDD 20. ed. – 610



PUCPR

GRUPO MARISTA

Pontifícia Universidade Católica do Paraná

Escola de Medicina

Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - Stricto Sensu

**ATA DA SESSÃO PÚBLICA DE EXAME DE TESE DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO
EM CIÊNCIAS DA SAÚDE EM NÍVEL DE DOUTORADO DA PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE
CATÓLICA DO PARANÁ**

Aos dezoito dias do mês de outubro de 2014, realizou-se a sessão pública de defesa de tese provisório : "EXPRESSÃO IMUNO-HISTOQUÍMICA DE IL-6 EM DISCOS ARTICULARES HUMANOS DA ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR (ATM) COM DESARRANJOS INTERNOS"

apresentada por **FLAVIO DE ALCANTARA CAMEJO** para obtenção do título de doutora; Área de Concentração: Medicina e áreas afins.

A Banca Examinadora foi composta pelos seguintes membros:

MEMBROS DA BANCA	ASSINATURA
Prof. Dra. Lucia de Noronha (PUCPR) - Presidente	
Prof. Dr. Vinicius Augusto Tramontina (PUCPR)	
Prof. Dr. Luis Eduardo Almeida (WISCONSIN-EUA)	
Prof. Dra. Andrea Duarte Doetzer (FEPR)	
Prof. Dr. Luiz Carlos Machado Miguel (UNIVILLE)	

De acordo com as normas regimentais a Banca Examinadora deliberou sobre os conceitos a serem distribuídos e que foram os seguintes:

Prof. Dra. Lucia de Noronha (PUCPR) - Presidente Parecer: APROVADO

Prof. Dr. Vinicius Augusto Tramontina (PUCPR) Parecer: Aprovado

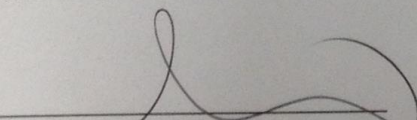
Prof. Dr. Luis Eduardo Almeida (WISCONSIN-EUA) Parecer: APROVADO

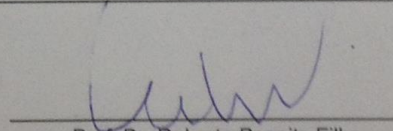
Prof. Dra. Andrea Duarte Doetzer (FEPR) Parecer: Aprovado

Prof. Dr. Luiz Carlos Machado Miguel (UNIVILLE) Parecer: APROVADO

Parecer Final: APROVADO

Observações da Banca Examinadora:


Prof. Dra. Lucia de Noronha
Presidente da Banca Examinadora


Prof. Dr. Roberto Pecoits Filho
Coordenador do PPGCS PUCPR

DEDICO

Aos meus familiares, em especial meus pais,

Fernando e Maria Zélia, por me apoiarem

e estarem sempre ao meu lado, tornando

possível ter tudo que tenho e sou hoje.

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

À **Prof. Dra. Paula Cristina Trevilatto**, minha orientadora, com quem ao longo destes 4 anos pude ter o prazer e honra de conhecer e conviver. Só tenho a agradecer, pela confiança, ajuda, apoio, paciência, e parceria. Sempre otimista e disposta a ajudar, mesmo estando extremamente ocupada. Muito obrigado.

Ao **Prof. Luis Eduardo Almeida**, amigo e eterno chefe. Só tenho a agradecer, por estar sempre disposto a ajudar, compartilhar seus conhecimentos e se manter presente ao longo de 8 anos de amizade. Sem dúvida um dos principais responsáveis por esta importante fase acadêmica a qual estou concluindo, e ser o principal responsável pelo profissional que sou hoje. Muito obrigado.

AGRADECIMENTOS

Aos Professores do Programa de Pós-Graduação em Ciências da Saúde - PPGCS da Escola de Saúde e Biociências da Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR, muito obrigado pela oportunidade de ampliar meus conhecimentos através das aulas e cursos oferecidos.

À **Profa. Dra. Márcia Olandonski**, obrigado pela fundamental colaboração, paciência e competência na realização das análises estatísticas deste estudo.

À **Marina Azevedo, Ana Paula Camargo Martins, Seigo Nagashima e Lucia Noronha**, por estarem sempre dispostos a ajudar com paciência e competência na realização da parte laboratorial deste estudo.

Às ex-alunas do curso de odontologia e bolsistas do PIBIC, **Karina Sao Thiago Caporal e Viviane Ambros**, pela fundamental ajuda na concretização deste trabalho.

À ex- secretária do Programa de Pós-Graduação PUCPR, **Alcione Ap^a Slugovieski**, e à atual secretária, **Vanessa Elisa Camilo**, obrigado pela atenção e auxílio durante todo o curso.

Agradeço pelo incentivo e apoio de meus amigos, e companheiros de trabalho no transcorrer desta importante etapa acadêmica, assim como o de todos que de alguma forma contribuíram para conclusão desta tese.

*“É muito melhor arriscar coisas grandiosas,
alcançar triunfos e glórias,
mesmo expondo-se a derrota,
do que formar fila com os pobres de espírito
que nem gozam muito nem sofrem muito,
porque vivem nessa penumbra cinzenta
que não conhece vitória nem derrota”.*

Theodore Roosevelt

SUMÁRIO

RESUMO.....	8
ABSTRACT.....	10
1. INTRODUÇÃO.....	12
1.1 Articulação Temporomandibular (ATM).....	13
1.1.1 Disco Articular.....	14
1.2 Desarranjos internos da Articulação Temporomandibular.....	16
1.2.1 Deslocamento Anterior de Disco Articular Com Redução.....	18
1.2.2 Deslocamento Anterior de Disco Articular Sem Redução.....	19
1.2.3 Osteoartrose.....	19
1.3 Processo Inflamatório.....	21
1.3.1 Interleucina 6 (IL-6)	22
2. PROPOSIÇÃO.....	26
3. ARTIGO	28
4. CONCLUSÃO	56
5. REFERÊNCIAS.....	58

RESUMO

O processo inflamatório é uma resposta coordenada que protege o hospedeiro após a infecção ou trauma, e que envolve diversas reações moleculares. Uma vez que a inflamação está intimamente ligada ao processo de destruição da articulação temporomandibular, este estudo tem por objetivo analisar, por meio de análise imuno-histoquímica, a expressão de IL-6, um marcador inflamatório importante em discos articulares temporomandibulares de pacientes com deslocamento anterior de disco com (ADDwR) e sem redução (ADDwoR) e sua associação com a osteoartrose (OA). Quarenta e dois ($n = 42$) discos articulares foram divididos em dois cortes: 1) análise 1: 8 de controle, 17 ADDwR, 17 ADDwoR, e 2) análise 2: sem OA ($n = 25$) e com OA ($n=17$). A área de imunocoloração foi comparada estatisticamente entre os grupos ($p<0,05$). Não foram observadas diferenças significativas entre os grupos ADDwR e ADDwoR, e com e sem OA, com respeito à expressão de IL-6, após exame imuno-histoquímico. Estudos futuros devem ser realizados com uma amostra maior, o que poderia esclarecer a associação do mediador inflamatório IL-6 com a disfunção da articulação temporomandibular.

ABSTRACT

The inflammatory process is a coordinated response that protects host after infection or trauma, involving several molecular reactions. Once the inflammation is closely linked to the process of destruction of the temporomandibular joint, this study aims to examine, by immunohistochemistry, the expression of IL-6, an important inflammatory marker, in temporomandibular articular discs of patients with anterior disc displacement with (ADDwR) and without reduction (ADDwoR) and its association with osteoarthritis (OA). Forty-two (n=42) articular discs were divided into two cutoffs: 1) analysis 1: 8 control, 17 ADDwR, 17 ADDwoR, and 2) analysis 2: without OA (n=25) and with OA (n=17). The area of immunostaining was compared statistically between groups ($p<0.05$). It was not observed significant differences between the groups ADDwR and ADDwoR, and with and without OA, in respect to the expression of IL-6 by immunohistochemical examination. Future studies should be conducted with a larger sample size, which could clarify the association of the inflammatory mediator IL-6 with temporomandibular joint dysfunction.

INTRODUÇÃO

1. INTRODUÇÃO

1.1 A ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR (ATM)

A articulação temporomandibular (ATM) é uma articulação chamada de gínglimo-artroidal (capaz de realizar movimentos tanto de rotação quanto de translação), formada pelas superfícies articulares do osso temporal e do côndilo mandibular bilateralmente, sendo separada em um compartimento superior e inferior por um disco fibrocartilaginoso, e totalmente envolto por uma cápsula articular.

Internamente, a ATM possui uma fina membrana, composta por uma camada íntima de células sinoviais (1-4 células de profundidade) que recobre todas as superfícies internas da articulação, com exceção do disco e cartilagem articular, cuja principal função é a produção de fluido sinovial, mas também está envolvida na rápida difusão de nutrientes para a cavidade articular, bem como na fagocitose, na degradação e na remoção de detritos para fora da articulação (TEN CATE, 1994).

O fluido sinovial produzido por estas células possui, além da função de lubrificar as superfícies da articulação, um papel fundamental na manutenção e proteção da cartilagem articular, bem como o fornecimento de nutrientes essenciais para os fibrocondrócitos, o que é facilitado pelo movimento da articulação. A falta de movimento articular reduz a difusão de nutrientes a partir do líquido sinovial para os fibrocondrócitos que compõem as superfícies articulares. Um dos principais componentes do fluido sinovial é o ácido hialurônico, motivo pelo qual muitos estudos vêm associando seu uso em articulações com osteoartrose, demonstrando melhorar a mobilidade articular e suprimir a dor e inflamação (NEO et al., 1997).

As articulações temporomandibulares se movem em conjunto, e ao contrário da maioria das articulações sinoviais, são revestidas por fibrocartilagem, que é mais resistente a mudanças degenerativas e tem uma maior capacidade para reparação do que a cartilagem hialina presente nas demais articulações (DIMITROULIS, 2005).

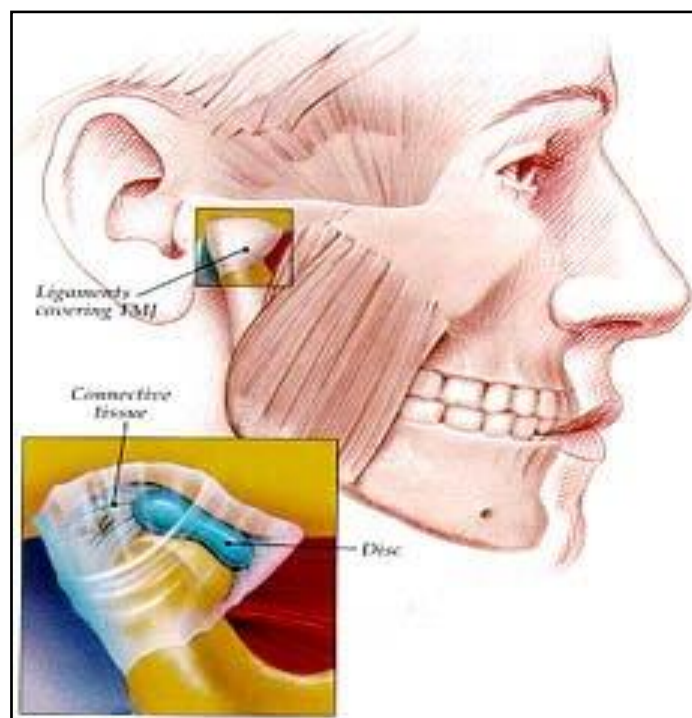
Semelhante a outras articulações, as articulações temporomandibulares podem se adaptar às demandas funcionais, possuindo enorme capacidade de

remodelação (DIMITROULIS, 2005). Apresentam-se como uma articulação duplo-dependente, possuindo um ponto fixo e rígido de início e fim de movimento, que apresenta correlação com as estruturas dentárias. Dessa forma, qualquer alteração em uma ATM, com o tempo, acarretará disfunção na articulação contralateral (BROSSARD, 2005).

1.1.1 Disco articular

O disco articular é uma estrutura fibrocartilaginosa, bicôncava, normalmente avascular e aneural, que divide a articulação temporomandibular em dois compartimentos, um superior juntamente com o osso temporal e outro inferiormente juntamente com o côndilo mandibular, servindo para reduzir o atrito entre essas superfícies ósseas (Figura 1).

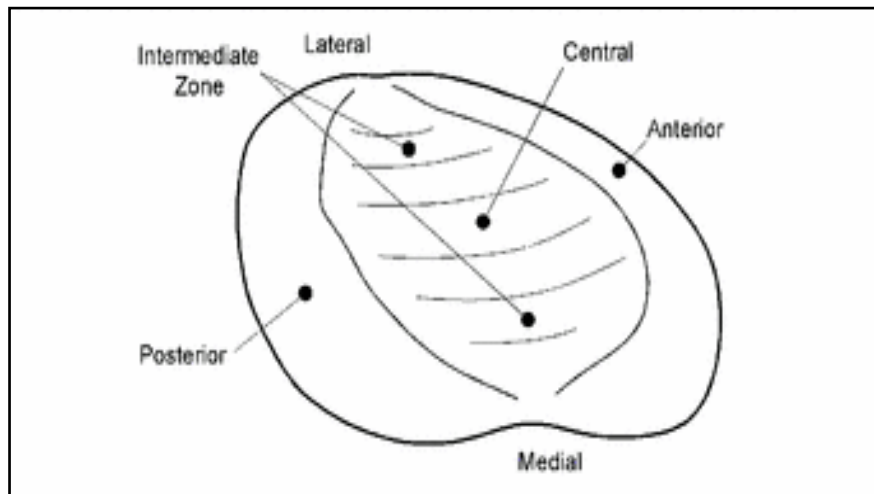
Figura 1: Localização da articulação temporomandibular e seu disco articular.



Fonte: Color Atlas of Temporomandibular Joint Surgery. Peter D. Quinn; Editora Mosby, 1998.

Em um estudo de 1954, Rees (REES, 1954) descreveu a anatomia geral do disco articular sendo composta por três zonas: a posterior (+/- 3 mm de espessura), a intermédia (+/- 1,5 mm de espessura) e a anterior (+/- 2mm de espessura) (Figura. 2).

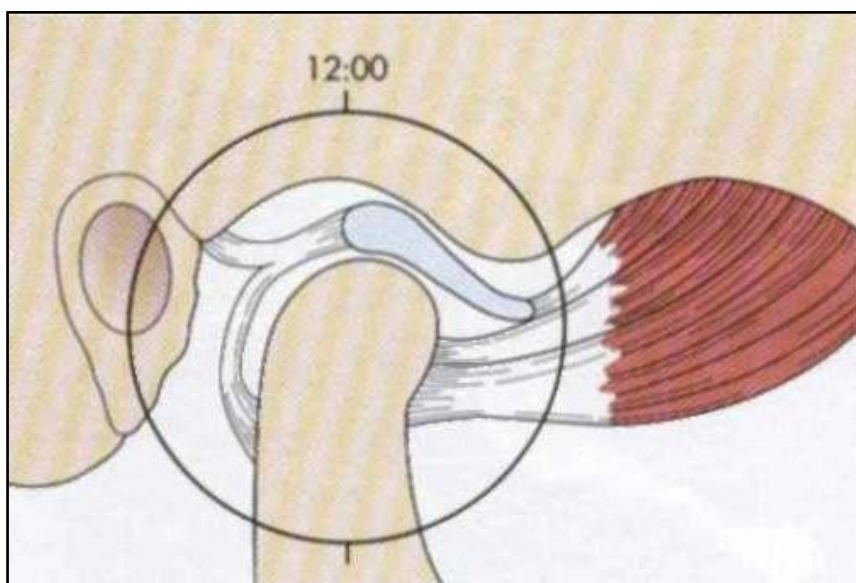
Figura 2 - Zonas do disco articular da articulação temporomandibular.



Fonte: Lamela et al.; Non-linear viscoelastic model for behaviour characterization of temporomandibular joint discs. Experimental Mechanics. 2011, pág. 1435-1440.

A posição normal de repouso do disco é tomada com a banda posterior localizada em "posição 12 horas" em relação ao côndilo em oclusão, com a pressão condilar sendo exercida através da fina zona intermédia sobre a inclinação posterior da eminência articular (Figura 3).

Figura 3 - Posição normal do disco em relação ao côndilo mandibular



Fonte: Color Atlas of Temporomandibular Joint Surgery. Peter D. Quinn; Editora Mosby, 1998.

O disco da ATM é composto quase inteiramente de colágeno tipo 1, com apenas vestígios de colágeno tipo II (MILAN, KLEBE, TRIPLET & HERBERT, 1991). Fibras de elastina são encontradas em quantidades muito menores em relação ao colágeno e tendem a ser mais prevalentes na superfície superior e periférica do disco da ATM (KEITH, 1979). As fibrilas de colágeno dentro de uma matriz de glicosaminoglicanos sulfatados são projetadas para resistir à compressão, bem como forças de tensão (ALLEN & ATHANASIOU, 2006). Devido à sua natureza avascular ou pouco vascularizada, o disco tem uma capacidade muito pobre de reparo (TEN CATE, 1994).

1.2 DESARRANJOS INTERNOS DA ARTICULAÇÃO TEMPOROMANDIBULAR

Os desarranjos articulares são as desordens mais frequentes nas articulações temporomandibulares e caracterizam-se por uma relação posicional e funcional anormal entre o disco articular e superfícies articulares da ATM, que podem levar de um estágio mais grave à degeneração osteoartrítica da ATM (CAMEJO et al., 2014; LORETO et al., 2012; KIGA et al., 2011).

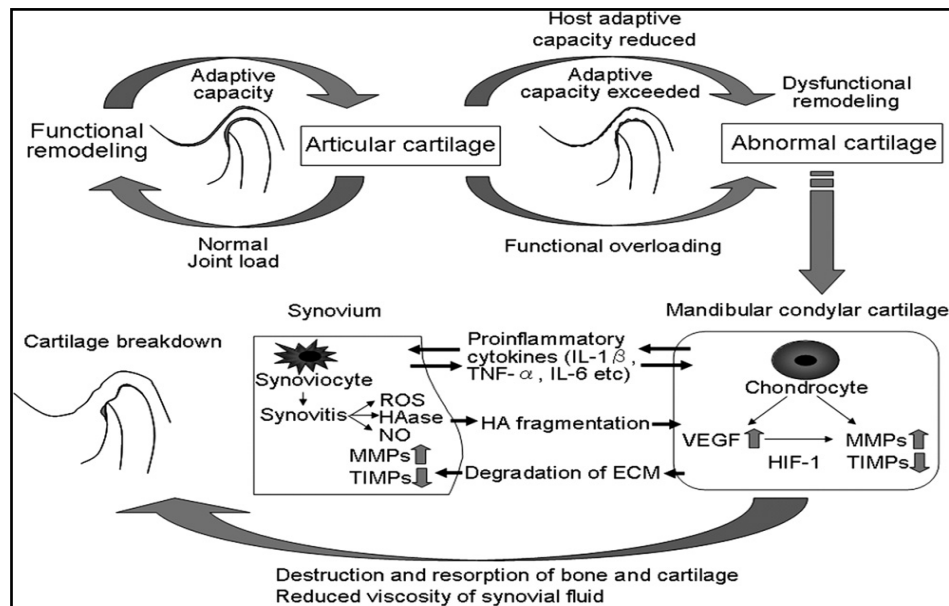
O disco da ATM pode apresentar diferentes níveis de mal posicionamento (ex. deslocamento lateral ou medial do disco), mas a situação que é mais frequente é o deslocamento anterio-medial, devido ao tracionamento pelo músculo pterigoideu lateral, o que a torna a maior artropatia temporomandibular. É caracterizada por uma relação anormal ou mal alinhamento do disco articular em relação ao côndilo. Essa condição frequentemente refere-se a um desarranjo interno, o qual interfere com o movimento suave da ATM, resultando em achados clínicos como dor, sons articulares e travamento (CAMEJO et al., 2014; LEONARDI et al., 2012; LORETO et al., 2010; LEONARDI et al., 2010).

As desordens da ATM são encontradas mais frequentemente nas mulheres, sendo que os fatores responsáveis por esta prevalência ainda não estão completamente esclarecidos. Estudos recentes vêm demonstrando a influência de hormônios sexuais femininos em tais desarranjos, como o

estradiol, progesterona e estrogênio (ARNETT et al., 2013; TORRES-CHAVES et al., 2011; KOU et al., 2011; RIBEIRO DA SILVA et al., 2010).

As diferenças entre alterações adaptativas e doenças dependem do balanço entre eventos moleculares anabólicos (reparativos) e catabólicos (destrutivos) nos tecidos afetados. Portanto, a doença se estabelece quando a destruição supera a reparação tecidual (Figura 4).

Figura 4. Processo de destruição da cartilagem articular da articulação temporomandibular.



Kuroda, et al.; Biomechanical and biochemical characteristics of the mandibular condylar cartilage, *Osteoarthritis and Cartilage*, 2009, pág. 1408 -1415.

Sons articulares não são necessariamente sinais de degeneração ou um indicativo para tratamento. Desarranjos moderados a severos são observados sem imagens em mais de 30% da população, assim como 25% dos cliques articulares mostram discos normais ou levemente deslocados. Somente 5% apresentam problemas funcionais ou patológicos que são passíveis de cirurgia. Independentemente de ser agudo ou crônico o deslocamento de disco não necessariamente é doloroso e pacientes livres de dor frequentemente não requerem tratamento. Terapia é indicada se dor, limitação de abertura bucal ou ambas estiverem presentes.

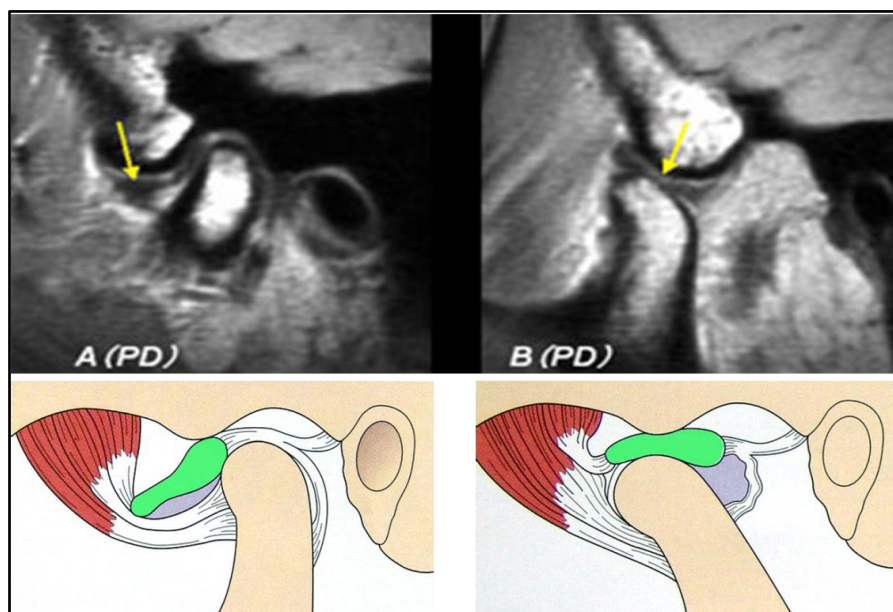
Os deslocamentos anteriores de disco podem ser mais comumente agrupados em duas categorias: deslocamento de disco com e sem redução, podendo ser uni ou bilateral. No segundo grupo, muitos autores concluíram

que o disco da ATM é sujeito irreparavelmente a sobrecargas anormais diretas e/ou indiretas por um longo período, levando a mudanças patológicas como remodelamento, displasia e deformação (CAMEJO et al., 2014; LORETO et al., 2010; CAPURSO E MARINI, 2007; MILANI et al., 2003; EBERHAR et al., 2000).

1.2.1 Deslocamento anterior de disco com redução

No deslocamento anterior de disco com redução, o disco articular encontra-se deslocado anteriormente em repouso e, com a abertura de boca, este disco retorna à posição anatômica ideal em relação ao côndilo (Figura 5). Nesta condição o disco reduz ou é recapturado na abertura bucal. A redução do disco é acompanhada por um som que é frequentemente descrito como um clique ou estalo. Com o fechamento mandibular, um segundo som, chamado de clique recíproco ou som de fechamento, pode ser escutado quando o disco retorna à posição anteriorizada, geralmente associado à dor por compressão do tecido retrodiscal (zona bilaminar) pelo côndilo, a qual é innervada. (GRAFF-RADFORD, BASSIUR, 2014).

Figura 5: Deslocamento de Disco com Redução. A – Seta demonstrando disco articular localizado anteriormente em posição de boca fechada. B – Seta demonstrando disco articular retornando para sua posição correta durante movimento de abertura bucal.



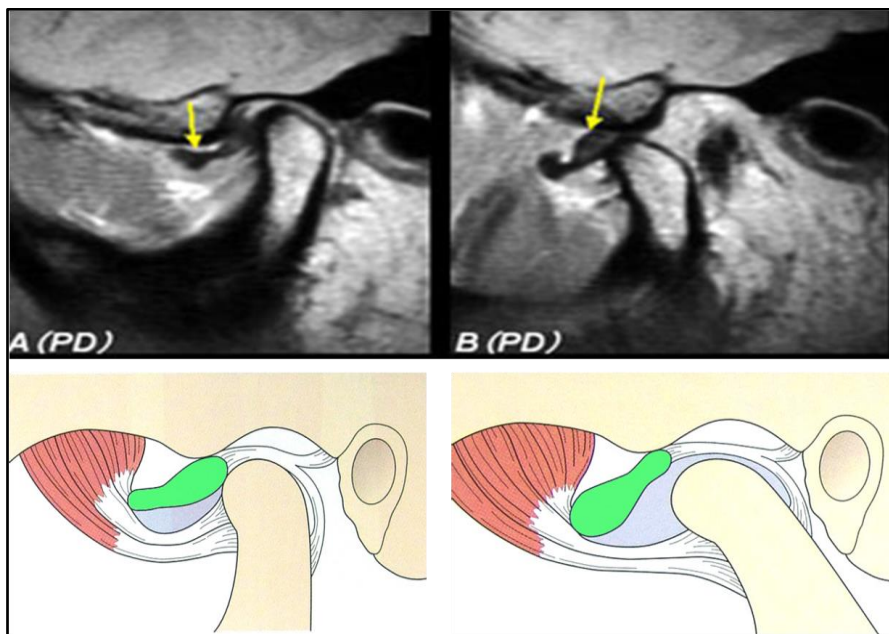
Fonte: Color Atlas of Temporomandibular Joint Surgery. Peter D. Quinn; Editora Mosby, 1998.

1.2.2 Deslocamento anterior de disco sem redução

No deslocamento anterior do disco sem redução, o disco se mantém fora de posição durante o movimento mandibular, permanecendo deslocado anteriormente em todos os movimentos mandibulares, sem ocorrer o retorno deste à posição anatômica ideal em relação ao côndilo (Figura 6).

Clinicamente, este processo é frequentemente caracterizado por redução da abertura de boca de, no máximo, 30 mm ou até mesmo impedindo totalmente a abertura de boca, com trauma contínuo na região retrodiscal, normalmente associado com dor aguda, com desvio em abertura para o lado afetado e ausência de clique articular (GRAFF-RADFORD, BASSIUR, 2014).

Figura 6: Deslocamento de Disco sem Redução. A – Seta demonstrando disco articular localizado anteriormente em posição de boca fechada. B – Seta demonstrando disco articular permanecendo em mesma posição de boca fechada durante movimento de abertura bucal, sem ocorrer portanto redução à sua posição correta.



Fonte: Color Atlas of Temporomandibular Joint Surgery. Peter D. Quinn; Editora Mosby, 1998.

1.2.3 Osteoartrose

A osteoartrose (OA) é uma desordem degenerativa focal que afeta primariamente a cartilagem articular e o osso subcondral de articulações sinoviais, como a ATM (STEGENGA, DE BONT, BOERING & VAN WILLIGEN,

1991). É a condição osteoartrítica mais comum que afeta a ATM, e mostra alta prevalência em mulheres e idosos (BJORNLAND, GJAERUM, MOYSTAD, 2007; JOHANSSON et al., 2006).

A OA da ATM é caracterizada por vários níveis de inflamação da cartilagem articular e osso (VERNAL et al., 2008; YAMADA et al., 2004; STEGENGA et al., 1991). Vários mediadores inflamatórios, citocinas, associadas à destruição óssea e metaloproteases da matriz (MMPs) têm sido consideradas como possíveis marcadores ativos de OA na ATM, incluindo a interleucina 1 beta (IL-1 β), a interleucina 6 (IL-6), o interferon gama (INF- γ), o ativador da via NF-kappa-B, o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), a prostaglandina E₂ (PGE₂), a osteoprotegerina (OPG), as metaloproteinases 2 e 9 (MMP-2, MMP-9), e as agrecanase 1 e 2 (KANEYAMA et al., 2005; SANDLER et al., 1998; SHAFER et al., 1994).

Na OA da ATM, uma resposta inflamatória complexa é desenvolvida, envolvendo a síntese de diferentes citocinas por células sinoviais e inflamatórias nos tecidos articulares (VERNAL et al., 2008; YAMADA et al., 2004; STEGENGA et al., 1991). Durante o início e progressão da doença, existe um desequilíbrio local entre expressão de uma citocina específica e de seus receptores regulatórios solúveis, que pode ser crítico na atividade biológica da rede de citocinas. Nessas condições, tanto fibroblastos quanto células sinoviais são ativados a expressar MMPs e citocinas, que controlam a formação/destruição da cartilagem e osso articular, determinando o resultado clínico da OA na ATM.

Nesse processo, os condrócitos vão morrendo e produzem menor quantidade de proteoglicanas e de colágeno. Em consequência disso, o osso que está embaixo da cartilagem, chamado osso subcondral, reage espessando-se e dando origem a excrescências ósseas chamadas osteófitos, levando a alterações osteoartríticas na articulação. Sendo assim, o colapso e a erosão da superfície articular do côndilo mandibular são sinais indicativos de osteoartrose.

Já está bem documentado na literatura que a osteoartrose frequentemente ocorre em conjunto com os desarranjos internos da ATM (DE BONT et al., 1986). Entretanto, um estudo de Dimitroulis, em 2005, descreve que, em apenas 6 articulações de 18 (33%) diagnosticadas com desarranjos

em disco articular, foram encontrados sinais de osteoartrose e sugere que o fato de a osteoartrose não ter sido encontrada em todos os casos poderia ser justificado pelos desarranjos internos precederem a osteoartrose.

1.3 PROCESSO INFLAMATÓRIO

A inflamação tecidual é uma resposta coordenada que protege e cura o hospedeiro após uma infecção ou trauma e envolve várias reações moleculares do hospedeiro. A habilidade do hospedeiro em controlar este processo, assim que o agente causador da inflamação seja removido, previne a autodestruição tecidual. Esta autorregulação ocorre através de um balanço entre mediadores pró- e anti-inflamatórios.

Vários estudos têm demonstrado que o processo inflamatório está intimamente ligado ao mecanismo de destruição da ATM (JIANG et al., 2013; LEE et al., 2010; HAMADA et al., 2008; SATO et al., 2003; NISHIMURA et al., 2002; MALEMUND & GOLDBERG, 1999; SANDLER et al., 1998). Com a estimulação inflamatória, células liberam citocinas, as quais vão desencadear múltiplas cadeias reacionais, culminando com a destruição da matriz tecidual, por ação das metaloproteases da matriz (MMPs) (figura 4).

As citocinas são proteínas de baixa massa molecular, produzidas por uma variedade de tipos celulares. Atuam promovendo a indução ou regulação da resposta imune. Essas citocinas associadas à inflamação incluem IL-6, IL-8, IL-1 β , TNF- α , INF- γ , e fator de crescimento tumoral beta (TGF- β) (JIANG et al., 2013; VERNAL et al., 2008).

Classicamente, o TGF- β_1 é considerado um fator promotor de fibrose. Entretanto, alguns autores classificam o TGF- β_1 como um fator pró-inflamatório, uma vez que ele atua como agente quimiotático para neutrófilos, monócitos e linfócitos do sangue (JIAO et al., 2014; JIANG et al., 2013).

Algumas citocinas atuam como potentes agentes anti-inflamatórios, como por exemplo IL-4, IL-10 e IL-13, que suprimem a produção de IL-1, TNF- α , IL-8 e moléculas de adesão vascular (FERNANDES et al., 2002; DINARELLO, 2000).

Várias citocinas, especialmente a IL-6, estimulam a produção de proteínas na fase aguda da inflamação, em resposta a estímulos variados; porém, a IL-6 exibe duas características contrastantes. Em modelos de doenças inflamatórias crônicas demonstra ser pró-inflamatória, enquanto em alguns modelos de inflamação aguda exibe um perfil anti-inflamatório, devido aos seus efeitos inibitórios sobre TNF- α e IL-1, e ativação de IL-1ra e IL-10 (VERNAL et al., 2008; GABAY et al., 2006).

O equilíbrio existente entre a produção de citocinas pró e anti-inflamatórias tem relação direta com a progressão e duração do quadro inflamatório e, conseqüentemente, de doenças, como as articulares (MALEMUND & GOLDBERG, 1999; DINARELLO, 2000; FERNANDES et al., 2002).

1.3.1 Interleucina 6 (IL-6)

Dentre as citocinas, a interleucina 6 (IL-6), também chamada de interferon beta 2 (INF- β 2) merece destaque devido à sua atividade pró-inflamatória (VERNAL et al., 2008; GABAY et al., 2006).

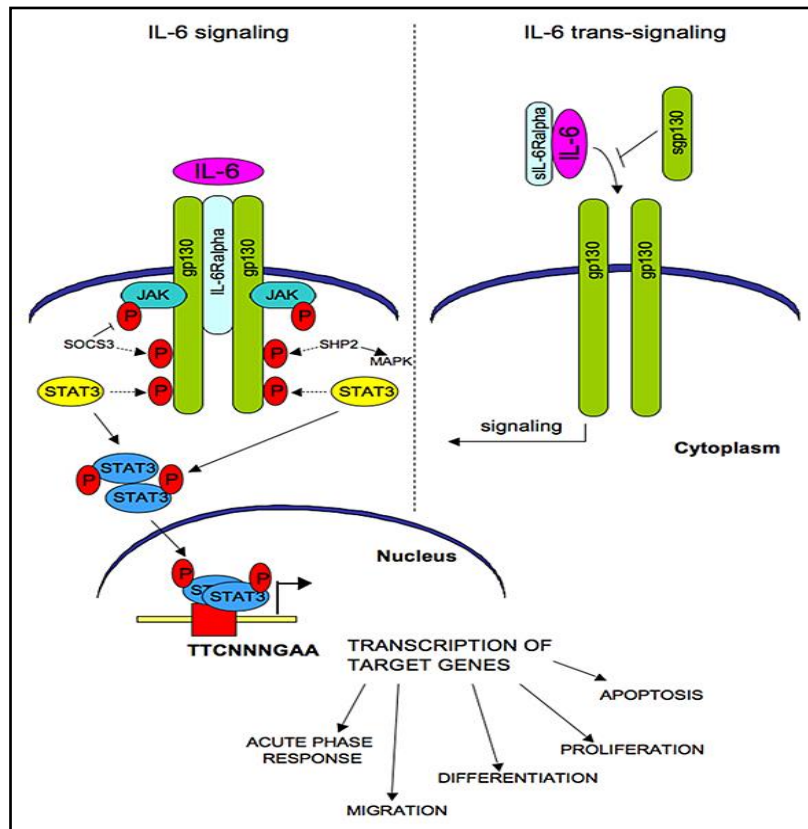
É uma citocina pleiotrópica que regula reações imunológicas, inflamação e oncogênese. A IL-6 é produzida por vários tipos celulares, incluindo linfócitos, monócitos, fibroblastos, células endoteliais e também pela estimulação por outras citocinas, principalmente IL-1 e TNF- α (SOUZA et al., 2008; VERNAL et al., 2008; GABAY et al., 2006); em contraste, IL-4 e IL-13 inibem sua produção.

A IL-6 exerce a sua atividade biológica através de duas moléculas de receptores: IL-6R (também conhecida como IL-6Ra, gp80 ou CD126) e gp 130 (também referido como IL-6R β ou CD130). IL-6R é importante para a fixação da ligação, mas como só tem 82 aminoácidos no seu domínio citoplasmático desempenha um papel menor na transdução de sinal (SHIINA et al., 2012).

O IL-6R pode ser encontrado na forma membranar (tissular) ou na forma solúvel. Quando a IL-6 liga-se a IL-6Rm (IL-6R ligada à membrana), a homodimerização de gp130 é induzida, e um complexo receptor funcional de alta afinidade de IL-6, IL-6R e gp130 é formado. IL-6Rs (IL-6R solúvel), que não possui a porção intracitoplasmática de IL-6Rm e é produzido quer por clivagem enzimática de IL-6Rm por ADAM (uma desintegrina e

metalo-proteinase) -17, ou através de processamento alternativo, também pode ligar-se com IL-6, e, em seguida, o complexo de IL-6 e IL-6Rs pode formar um novo complexo com a gp130. Este sistema de sinalização do receptor original é denominado IL-6 trans-sinalização (Figura 7) (SHIINA et al., 2012).

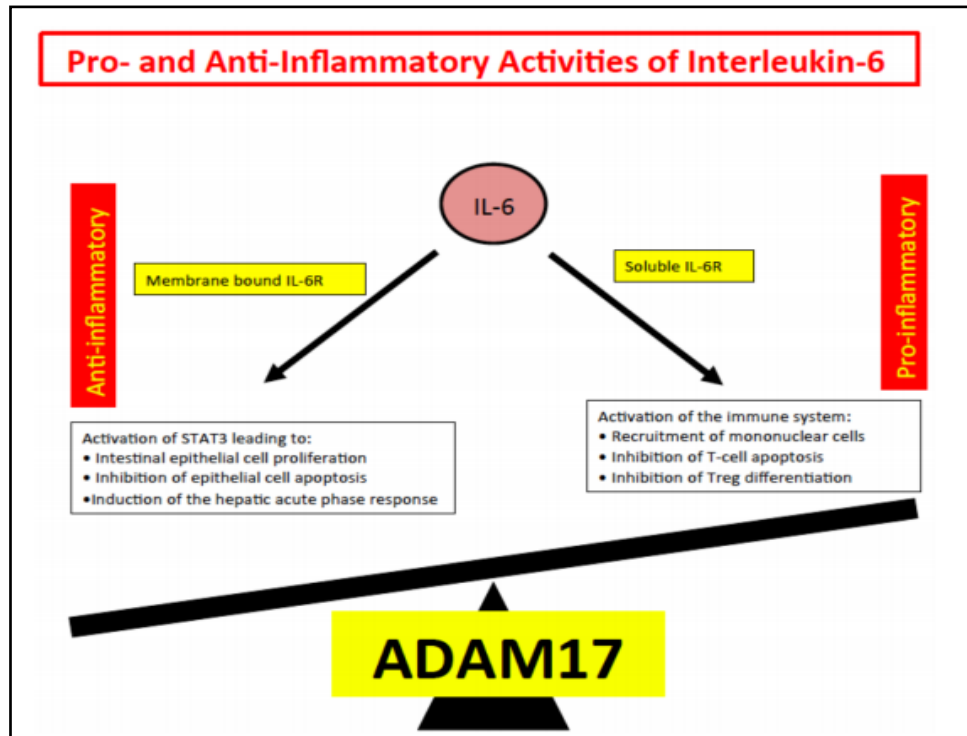
Figura 7: Sinalização e Trans-Sinalização de IL-6.



Fonte: Shiina et al.; IL-6/IL-6 receptor system and its role in physiological and pathological conditions. Clin Sci (Lond). 2012 Feb;122(4):143-59.

A trans-sinalização de IL-6 está correlacionada com a parte pró-inflamatória da atividade biológica da IL-6, a qual é realizada através da participação da fração solúvel de seu receptor (IL-6Rs), enquanto que sua via clássica de sinalização compreende a atividade degenerativa ou antiinflamatória da IL-6, a qual é realizada através da fração membranal ou tissular de seu receptor (IL-6Rm). Uma vez que a clivagem do IL-6R é principalmente governada pela protease ADAM-17, especula-se que ADAM-17 tenha um papel decisivo no processo inflamatório (Figura 8) (ROSE-JOHN, 2012).

Figura 8: Atividade Pró e Anti-Inflamatória de IL-6.



Fonte: Rose-John S; IL-6 Trans-Signaling via the Soluble IL-6 Receptor: Importance for the Pro-Inflammatory Activities of IL-6. Int J Biol Sci. 2012;8(9):1237-47.

A IL-6 se constitui como um importante marcador inflamatório e está entre os mediadores mais potentes da resposta aguda ao trauma. Ela participa de uma cascata de reações que inicia com o dano tecidual e que objetiva, em última instância, a restauração do tecido (GUNSON, ARNETT, MILLAN, 2012). É uma citocina envolvida numa série de atividades imunológicas, em especial a síntese de substâncias de fase aguda pelo fígado, estando envolvida na regulação metabólica da proteína C reativa. Tal como um de seus receptores (gp130), é amplamente expressa durante a reação inflamatória, produzindo efeitos indesejáveis em vários órgãos (TONET et al., 2008).

Normalmente é expressa em níveis baixos, exceto durante infecção, trauma ou outros fatores estressantes. Entre os vários fatores que regulam a expressão do gene da IL-6, estão o estrógeno e a testosterona. Após a menopausa ou andropausa, os níveis de IL-6 são elevados mesmo na ausência de infecção, trauma ou estresse (ERSHLER et al., 2000). A própria hiperglicemia característica da intolerância à glicose tem relação com a síntese imediata de marcadores como IL-6, com variações dos níveis séricos

positivamente relacionados e com aumentos mais significativos na hiperglicemia em pulsos, situação comum no diabético (SOUZA et al., 2008).

Nos músculos esqueléticos, a IL-6 tem sido relacionada à proteólise muscular evidenciada clinicamente pela hipertrofia muscular (WASHINGTON et al., 2011; OSHI et al., 2011).

As interleucinas, em especial a IL-6, desempenham papel importante em vários outros processos fisiológicos e patológicos, como, na depressão (DOWLAT et al., 2010), na doença de Alzheimer (SWARDFAGER et al., 2010), na esquizofrenia (KARANIKAS, 2011), na diabetes (BASU et al., 2011; KIM et al., 2009), na tuberculose (OKADA et al., 2011), em doenças cardíacas (BENERJEE et al., 2009; KOENIG et al., 2006), na arteriosclerose (VYROUBAL et al., 2011), nos variados tipos de câncer (KORKAYA et al., 2011; PINE et al., 2011; MATSUMOTO et al., 2010; GRIVENNIKOV et al., 2009), na doença periodontal (MURAYAMA et al., 2011), na peri-implantite (JAVED et al., 2011), na artrite reumatóide (SIERAKOWSKI & CUTOLO, 2011; CHENEVIER-GOBEAUX et al., 2004), e na artrite psorítica (FIOCCO et al., 2010).

Em articulações, a IL-6 é produzida pelas células sinoviais, monócitos, macrófagos e fibroblastos (FU et al., 1995; KUBOTA et al., 1998; SANDLER et al., 1998).

Em estudos prévios na articulação temporomandibular, a concentração de IL-6 no fluido sinovial foi correlacionada com níveis de sinovite, vista artroscopicamente (LEE et al., 2010; HAMADA et al., 2008; SATO et al., 2003; NISHIMURA et al., 2002; SANDLER et al., 1998). Foi também verificado que a IL-6 aumenta a atividade osteoclástica, contribuindo para reabsorção óssea. (HONDA, 2011; FU et al., 1995).

PROPOSIÇÃO

2. PROPOSIÇÃO

Este estudo foi projetado para examinar, através de análise imuno-histoquímica, a expressão de IL-6 em discos da articulação temporomandibular (ATM) de humanos com deslocamento anterior de disco com e sem redução. Além disso, uma associação com osteoartrose da ATM também foi investigada, para melhor compreender a relação entre o deslocamento de disco da ATM e o processo inflamatório.

ARTIGO

IL-6 Expression in Disc Derangement of Human Temporomandibular Joint and Association with Osteoarthritis

ABSTRACT

Background: The inflammatory process is a coordinated response that protects and heals the host after infection or trauma, involving several molecular reactions of the host. Once the inflammation is closely linked to the process of destruction of the temporomandibular joint, this study aims to examine, by immunohistochemistry, the expression of IL-6, an important inflammatory marker, in temporomandibular articular discs of patients with anterior disc displacement with (ADDwR) and without reduction (ADDwoR) and its association with osteoarthritis (OA). **Methods:** Forty-two (n=42) articular discs were divided into two cutoffs: 1) 8 control, 17 ADDwR, 17 ADDwoR, and 2) without OA (n=25) and with OA (n=17). The area of immunostaining was compared statistically between groups ($p<0.05$). **Results:** It was not observed significant differences between the groups ADDwR and ADDwoR, and with and without OA, in respect to the expression of IL-6 by immunohistochemical examination. **Conclusion:** IL-6 expression was not different either between groups with anterior disc displacement with or without reduction neither association with osteoarthritis. Future studies should be conducted with a larger sample size, which could clarify the association of the inflammatory mediator IL-6 with temporomandibular joint dysfunction.

Running Title: IL-6 and temporomandibular disorders.

Keywords: temporomandibular disorder, disc derangement, osteoarthritis, IL-

Introduction

A disc derangement is defined as a malposition of the articular disc in relation to the condyle and articular eminence of temporal bone. The most common position is anterior disc displacement (pure anterior displacement, anterolateral or anteromedial displacement), and can be divided into with (ADDwR) or without (ADDwoR) reduction (1-4).

In ADDwR the articular disc of temporomandibular joint (TMJ) is displaced while the mouth is closed and the teeth are in contact in habitual occlusion and it slides into its normal functional position as the jaw open (5,6). In ADDwoR, the condyle is unable to slide or snap back underneath the disc. The displaced disc thus does not reduce to its position on top of the condyle during the opening movement (5,6).

Disc displacement results in stretching and inflammation of the retrodiscal tissue, which often results in internal derangement of temporomandibular joint (ID), and it is considered to be a risk factor for osteoarthritis (OA) development, with abnormal remodeling of the condyle and mandibular fossa (7, 8-17).

ID is characterized by mechanical interference within the joint, associated with progressive disc displacement secondary to inflammation, trauma (most common etiologic factor) or degeneration, though it is unclear the real pathogenesis, which may be associated with genetic predisposition, hormonal influence or microbial invasion (18-19).

Previous studies have shown the correlation between inflammatory process and destruction of TMJ components, and (interleukine 6) IL-6 has been pointed as one of the most important proinflammatory cytokines contributing to the pathogenesis of TMJ ID (20-28).

IL-6 is a pleiotropic cytokine produced by several cells, like synovial cells, monocytes, macrophages, and fibroblasts, in the TMJ (29,30). It regulates immunological reactions, inflammation, haematopoieses and oncogenesis (20,21,26), and mediates the induction of osteoclast progenitor differentiation and osteoclast activity (28).

IL-6 is important to the transition between acute to chronic inflammation (31), and present a dual effect; at some levels it acts as proinflammatory, whereas in others can exhibit an anti-inflammatory profile (32-34).

In this study we tested the hypothesis that IL-6 may be involved in the progression of TMJ ID, as shown by previous research. (20-27) Therefore, the present investigation was designed to evaluate, through immunohistochemistry, the expression of IL-6 in TMJ articular discs of ADDwR and ADDwoR patients. Moreover, the presence of TMJ OA was also investigated to better understand the relationship between TMJ disc displacement and IL-6 expression.

Materials and methods

Sample selection

A convenient sample of 42 temporomandibular discs from 29 patients, mean age 32.7 years old, (18 to 56), was recruited for study from the patient pool at the Evangelico School Hospital, Curitiba, southern region of Brazil (Table I), as approved by the Ethical Committee on Research at Pontifical Catholic University of Paraná, according to Resolution 196/96 of the National Health Council and approved under registration number 104. Subjects were not include if presenting: use of orthodontic appliances, chronic usage of antiinflammatory drugs, history of diabetes, hepatitis, HIV infection, immunosuppressive chemotherapy, history of any disease known to severely compromise immune

function, current pregnancy or lactation, dentofacial deformity major jaw trauma, previous TMJ surgery, and previous steroid injection in the TMJ.

Subjects completed personal medical history questionnaires and, within a protocol approved by an Institutional Review Board, signed a consent form after being advised of the nature of the study. All patients were asked to complete a pain questionnaire, and a clinical examination was performed according to Clinical Practice Guidelines for TMJ surgery of the American Association of Oral Maxillofacial Surgeons. Basically, the clinical examination consisted of palpation of the TMJ region, the occurrence of painful opening/closing mouth, and crepitation. The patients were considered to be affected and treated surgically when presenting painful clinical signs of disc displacement after unsuccessful nonsurgical treatment for at least 6 months. Regarding complementary exams, all patients had a panorex. These patients were from the Brazilian public health system; therefore, a few of them had financial conditions to afford other exams such as computerized tomography (CT) scan or a TMJ magnetic resonance imaging. Accordingly, the diagnoses were primarily clinical.

Patients presenting disc displacement with and without reduction were grouped together for analysis. Out of the control patients, 4 individuals presented condyle fracture (CFx), confirmed by radiographs and CT scan, which needed to be operated for the fracture reduction and 4 subjects displayed active condyle hyperplasia (CH), diagnosed by radiographs, CT scan, and scintigraphy, as follows:

- 1) Subjects without any signs of disc displacement (control group; n=8; 8 specimens);
- 2) Patients presenting anterior disc displacement with reduction (ADDwR; n=10; 17 specimens);

- 3) Patients presenting anterior disc displacement without reduction (ADDwoR; n=11; 17 specimens).

Subjects were included in clinical categories according to the presence or absence of disc displacement and, at a second moment, according to the presence or absence of osteoarthritis (using Wilkes classification) (35).

Patients' selection for OA analysis was based on the primary diagnosis of severe TMJ ID. The stages of TMJ ID were classified into mild, intermediate and severe according to Wilkes classification based on clinical, surgical and pathological stages (35). Mild internal derangement (Wilkes stage III) is characterized by simple disc displacement without any morphological alteration of the disc and with or without osseous shift. The intermediate stage (Wilkes stage IV) is characterized by disc displacement and morphological deformity and/or osseous remodeling changes. Severe derangement (Wilkes stage V) is characterized by perforations of the disc attachments and osseous shift and/or osteoarthritic changes (sclerosis, osteophyte formation, articular surface flattening, depression and/or cystic alterations) (35). Patients from the control group and those classified as Wilkes III were considered not presenting OA and patients classified as Wilkes IV or V were included in the OA group, as follows:

- 1) Patients without OA (control group + Wilkes stage III; n=18; 25 specimens);
- 2) Patient with OA (Wilkes stage IV and V; n=11; 17 specimens).

Table I shows the baseline characteristics of the sample.

Surgical technique

TMJ surgery was performed according to the technique described by Mehra and Wolford (36).

First the displaced disk is freed by the surgeon entering the upper and lower joint spaces and lysing adhesions. At this point a small hole is placed through the lateral pole of the condyle from posterior to anterior direction. The Mitek bone-cleat introducer is inserted and pushed into the bone, where two small coils unlock and attach the cleat to the inner surface of the condyle cortical bone. A nonresorbable 2-0 or 3-0 suture is placed through the hole and through the disk at the junction of the posterior and intermediate bands, and the disk is tied down to the condylar neck. The deformity of the disk precludes repositioning it into a more normal position, and recontouring the thickened disk with a scalpel is necessary (this scalpelled material constitutes the sample).

This procedure was conducted for all patients with disc displacement and the control group. In the CFx patients, the disc displaced by fracture was repositioned and in the CH patients the disc was sutured to prevent disc displacement caused by the gap that was created after the high condylectomy. In cases with disc perforation, the disc was removed completely. Postsurgical physical therapy was indicated at the discretion of the surgeon.

Histological sections obtained by scapel of disk excess, or in cases with perforation removed completely, and were prepared for observation of the in situ expression of IL-6 by immunohistochemistry.

Immunohistochemistry

The TMJ disc sections were deparaffinized with xylol (2 x 10 min) and rehydrated with absolute ethylic alcohol (3 x 1 min) and 80% ethylic alcohol (1 x

1 min). Endogenous peroxidase activity was quenched by treatment with H₂O₂ (5% in methanol) for 10 min. Target Retrieval SolutionTM (Dako, DK-2600 Glostrup, Denmark) was used prior to slide staining for heat-inducing epitope retrieval (for formalin-fixed, paraffin-embedded material), according to the manufacturer's instructions. The sections were incubated with monoclonal IL-6 antibody (Imuny Biotechnology, Campinas, Brazil), diluted 1:50 in phosphate-buffered saline (PBS), 0.1% bovine serum albumin (BSA). For negative controls, the primary antibody was not added. PBS was used instead. The secondary antibody, AdvanceTM (Dako, DK-2600 Glostrup, Denmark), was applied for 30 min, according to the manufacturer's instruction.

The immunoreactions were visualized by incubating the sections using 3,3' diaminobenzidine (DAB) chromogen (OriGene, Rockville, MD), (1 drop in 1 mL distilled water). The sections were lightly counterstained with Harris haematoxylin for 5 min and finally mounted. Immunostaining was considered to be specific to IL-6 because immunoreactivity was not observed in the negative controls.

The colour morphometry method was used to analyse the anti-IL-6 immunostained area in the TMJ disc tissue. For this purpose, images of consecutive fields were captured by the 409 objective lens coupled with the BX50 Olympus microscope with the Sony camera, Model DXC-107A, and image analysis was performed with specific software called Image Pro Plus software (Media Cybernetics Inc., Silver Spring, USA). This software allows an observer to select and paint the positive areas to obtain an image model and make the mask for the other stained slides, being automatically calculated the area of the positive reaction (Fig. 1). This procedure was performed by a single examiner in a blind manner. The data were entered into a spread sheet, and

Microsoft Excel (Redmond, WA, USA) was used to obtain the statistical analysis. The variable area was measured in square micrometers (μm^2) and was obtained with the mean of all positive areas.

Statistical Analysis

To compare the groups regarding area, the model of analysis of variance with one factor (ANOVA) was considered. To compare control and affected group the Student's T-test for independent samples or non-parametric Mann-Whitney test was employed. To meet symmetric condition of the variable, data of area are previously submitted to a logarithmic transformation. *P* value <0.05 was considered statistically significant. Data were analyzed with the software Statistica V. 8.0 (StatSoft Inc, Tulsa, OK, USA).

Results

Expression of IL-6 was observed at cytoplasm, especially in fibrochondrocytes (Figs. 2 and 3). However, statistically significant differences were not found between TMJ samples of ADDwR, ADDwoR and Control, and between TMJ discs of patients with and without osteoarthritis.

Expression of IL-6 in TMJ sample ADDwR, ADDwoR and Control

Significant differences were not found in the expression of IL-6 in TMJ discs between the three groups for the variable area ($p=0.322$) (Table 2).

Expression of IL-6 in TMJ discs of patients with and without osteoarthritis

It was observed that all the patients with ADDwoR presented OA. On the other hand, all patients without OA presented ADDwR.

Statistically significant differences were not found in the expression of IL-6 in TMJ discs between the groups with and without OA for the variable area ($p=0.133$) (Table 3).

Discussion

For the last few years, many papers were published showing the participation of various markers, and distinct pathways in the progression of TMJ ID using TMJ discs and synovial liquid (27, 40-54). In diseases of the TMJ, the synovium and articular cartilage produce various mediators that have the potential to induce chondrocyte death through necrosis or apoptosis (37-39). Camejo et al. (48), showed a higher expression of FasL, an apoptotic marker, in TMJ discs with reduction when compared to discs without reduction (in which a less intense inflammatory process and more mechanical stress may coexist); and a lower expression of this marker in the discs of patients with osteoarthrosis, which suggests that apoptosis may protect against TMJ disorder progression and reinforces that necrosis should be the main way of cell death in OA fibrochondrocytes.

One of the most important and studied pathway in the progression of TMJ ID is inflammation. The clinical symptoms of temporomandibular disorders involve pain and dysfunction during mandibular movement, which are basically symptoms of inflammation. Inflammatory changes in the TMJ modify physical and functional properties, first reversibly and finally irreversibly reducing its ability to withstand pressure and compression forces (55). Loreto et al. (46) showed that MMP-7 and MMP-9 are expressed in arthritic joints and provided evidence of a role for those MMPs in disc damage in TMJ ID, with higher expression being detected in the posterior than in the anterior and intermediate

bands of ADDwR and ADDwoR discs. Cytokines have emerged as the master controllers of hard tissue degradation in human joint tissue in both osteoarthritis and inflammatory arthritis models (27, 28). Kim et al. (50), using TMJ synovial liquid, demonstrated a higher expression of IL-1 β , IL-6 and Granulocyte Macrophage Colony stimulating Factor (GM-CSF) in patients with temporomandibular dysfunction.

IL-6 is one of the main cytokines enrolled in this process, produced by many kinds of cells, such as monocytes/macrophages, T cells, fibroblasts, and endothelial cells, promoting T-cell and B-cell differentiation, usually elevated in sepsis or aseptic inflammation (such as rheumatoid arthritis) (56). IL-6 may have a role in acute and chronic phases of inflammation. Acute inflammation is a beneficial and limited response, particularly during infectious conditions, whereas chronic inflammation is a persistent phenomenon that can lead to tissue damage, and to angiogenesis involving the synovium, articular cartilage, and bone. One characteristic of acute inflammation is that initially, the infiltration of leukocytes is predominantly neutrophilic, but after 24 to 48 hours monocytic cells predominate. In contrast, chronic inflammation is associated histologically with the presence of mononuclear cells such as lymphocytes and macrophages. IL-6 causes not only the acute phase reaction, but also the development of specific cellular and immune humoral response, including the final stage of B cell differentiation, immunoglobulin secretion and activation of T cells. The main mechanism of acute inflammation to chronic is the recruitment of monocytes to the inflammation area, which explains the importance of IL-6 in this process. In models of chronic inflammatory diseases, such as arthritis, IL-6 is pro-inflammatory, while in models of acute inflammation, IL-6 exhibits an anti-inflammatory profile (31-34).

Since the inflammatory process influences the progression of ID, this study was designed to test the hypothesis that IL-6 may be higher expressed in TMJ human disc of ADDwR and ADDwoR, and not only in the synovial fluid, as already extensively described in the literature (46, 48-52). Nevertheless, significant differences were not observed between the groups control and with and without anterior disc reduction of the articular disc with respect to the variable area for the expression of IL-6 measured by immunohistochemical examination. It was observed, however, that although an increase was not statistically significant, a higher IL-6 expression was found in the group with more extreme phenotype (without reduction), in which continuous chronic inflammation has jeopardized the tissue.

Moreover, the presence of TMJ OA was also investigated to better understand the relationship between TMJ disc displacement and IL-6 expression. OA is a focal degenerative disorder that primarily affects the articular cartilage and subchondral bone of synovial joints such as TMJ, which ultimately relies on osteoclastic activity (54,57,58). It is a consensus that TMJ disc displacement and OA often occur concomitantly, and that disc displacement leads to OA (57,59-68). It was not observed in our study significant differences between the groups with and without osteoarthritis with respect to the variable area for the expression of IL-6 measured by immunohistochemical examination, but the results suggested a higher expression in the group with osteoarthritis, last stage of a chronic inflammatory destructive process. This may represent a frustrated attempt to control disease progression.

The lack of difference between the groups in this study does not mean that the levels of IL-6 are not really increased in cases of disc displacement

without reduction, and with osteoarthritis. This study has some restrictive limitations, such as the small sample size together with the control group, which includes patients with condyle fracture and condyle hyperplasia. Although the sample size is extremely reduced, it is noteworthy that only about 5% of people worldwide present a functional or pathological TMJ problem amenable to surgery (69) and, for ethical reasons, it is not possible to retrieve healthy retrodiscal tissue from normal patients to serve as controls. Moreover, our sample may be one of largest samples *in vivo* composed of articular discs. Besides, there was a very high variability in IL-6 expression inside each group, which might have contributed to this finding.

Future studies should be conducted with a larger *in vivo* sample size, which could make clearer the impact of IL-6 on the progression of TMJ ID.

Acknowledgements

The first author would like to thank Pontifical Catholic University of Paraná (PUCPR) for the PhD scholarship provided.

References

1. WESTESSON PI, LARHEIM TA, TANAKA H. Posterior disc displacement in the temporomandibular joint. J Oral Maxillofac Surg 1998; 56: 1266–73.
2. BLANKESTIJN J, BOERING G. Posterior dislocation of the temporomandibular disc. Int J Oral Surg 1985; 14: 437–43.
3. HUDDLESTON SLATER JJ, LOBBEZOO F, HOFMAN N, NAEIJE M. Case report of a posterior disc displacement without and with reduction. J Orofac Pain 2005; 19: 337–42.

4. CHIBA M, WATANABE N, ECHIGO S. Longitudinal MRI follow-up of non-reducible posterior disc displacement accompanied by bone marrow oedema in the mandibular condyle. *Dentomaxillofac Radiol* 2007; 36: 304–7.
5. PÉREZ DEL PALOMAR DP, DOBLARE`M. An accurate simulation model of anteriorly displaced TMJ discs with and without reduction. *Med Eng Phys* 2007; 29: 216–26.
6. OKESON JP. Management of temporomandibular disorders and occlusion. St Louis: Mosby-Year book, Inc. 1993; 294:409–77.
7. SEGÙ M, POLITI L, GALIOTO S, COLLESANO V. Histological and functional changes in retrodiscal tissue following anterior articular disc displacement in the rabbit: review of the literature. *Minerva Stomatol.* 2011 Jul-Aug;60(7-8):349-58.
8. SCAPINO RP. Histopathology associated with malposition of the human temporomandibular joint disc. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 55: 382–97.
9. HALL MB, BROWN RW, BAUGHMAN RA. Histologic appearance of the bilaminar zone in internal derangement of the temporomandibular joint. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1984; 58:375–81.
10. ISACSSON G, ISBERG A, JOHANSSON AS, LARSON O. Internal derangement of the temporomandibular joint: radiographic and histologic changes associated with severe pain. *J Oral Maxillofac Surg* 1986; 44: 771–8.
11. MCCOY JM, GOTCHER JE, CHASE DC. Histologic grading of TMJ tissues in internal derangement. *Cranio* 1986; 4:213–18.

12. CARLSSON GE, OBERG T, BERGMAN F, FAJERS CM. Morphological changes in the mandibular joint disk in temporomandibular joint pain dysfunction syndrome. *Acta Odontol Scand* 1967; 25: 163–81.
13. CASTELLI WA, NASJLETI CE, DIAZ-PEREZ R, CAFFESSE RG. Histopathologic findings in temporomandibular joints of aged individuals. *J Prosthet Dent* 1985; 53: 22.
14. HELMY ES, TIMMIS DP, SHARAWY MH, ABDELATIF O, BAYS RA. Fatty change in the human temporomandibular joint disc. Light and electron microscopy study. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1990; 19: 38–43.
15. DE BONT LGM, STENGenga B. Pathology of temporomandibular joint internal derangement and osteoarthritis. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1993; 22: 71–4.
16. MARCHETTI C, PIACENTINI C, FARINA A, BERNASCONI G, CALLIGARO A. A microscopic and immunocytochemical study of structural changes in dysfunctional human temporomandibular joint discs. *Arch Oral Biol* 1995; 40: 549–57.
17. MILAM SB, ZARDENETA G, SCHMITZ JP. Oxidative stress and degenerative temporomandibular joint disease: a proposed hypothesis. *J Oral Maxillofac Surg* 1998; 56: 214–23.
18. MCINTOSH M, DIMITROULIS G. Microbiological investigation of retrodiscal tissues from patients with advanced internal derangement of the temporomandibular joint. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2012 Mar;41(3):313-6.
19. DIMITROULIS G. A critical review of interpositional grafts following temporomandibular joint discectomy with an overview of the dermis-fat graft. *Int J Oral Maxillofac Surg*. 2011 Jun;40(6):561-8.

20. FU K, MA X, ZHANG Z, PANG X, CHEN W. Interleukin-6 in synovial fluid and HLA-DR expression in synovium from patients with temporomandibular disorders. *J Orofac Pain* 1995; 9: 131–137.
21. KUBOTA E, KUBOTA T, MATSUMOTO J, SHIBATA T, MURAKAMI K. Synovial fluid cytokines and proteinases as markers of temporomandibular joint disease. *J Oral Maxillofac Surg* 1998; 56:192–198.
22. TAKAHASHI T, KONDOH T, FUKUDA M, YAMAZAKI Y, TOYOSAKI T, SUZUKI R. Proinflammatory cytokines detectable in synovial fluids from patients with temporomandibular disorders. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 1998; 85: 135–141.
23. NISHIMURA M, SEGAMI N, KANEYAMA K, SUZUKI T, MIYAMARU M. Proinflammatory cytokines and arthroscopic findings of patients with internal derangement and osteoarthritis of the temporomandibular joint. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2002; 40:68–71.
24. SEGAMI N, MIYAMARU M, NISHIMURA M, SUZUKI T, KANEYAMA K, MURAKAMI K. Does joint effusion on T2 MRI reflect synovitis? Part 2. Comparison with concentration levels of proinflammatory cytokines and protein in synovial fluid of the temporomandibular joint with internal derangements. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2002; 94: 515–521.
25. SEGAMI N, NISHIMURA M, KANEYAMA K, MIYAMARU M, SATO J, MURAKAMI K. Does joint effusion on T2 magnetic resonance images reflect synovitis? Comparison of arthroscopic findings in internal derangements of the temporomandibular joint. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2001; 92: 341–345.

26. SANDLER NA, BUCKELY M, CILLO JE, BRAUN TW. Correlation of inflammatory cytokines with arthroscopic findings in patients with temporomandibular joint. *J Oral Maxillofac Surg* 1998; 56:534–543.
27. SATO J, SEGAMI N, NISHIMURA M, DEMURA N, YOSHIMURA H, YOSHITAKE Y, NISHIKAWA K. Expression of interleukin 6 in synovial tissues in patients with internal derangement of the temporomandibular joint. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2003 Apr;41(2):95-101.
28. GUNSON MJ, ARNETT GW, MILAM SB. Pathophysiology and pharmacologic control of osseous mandibular condylar resorption. *J Oral Maxillofac Surg*. 2012 Aug;70(8):1918-34.
29. AKIRA S, TAGA T, KISHIMOTO T. Interleukin-6 in biology and medicine. *Adv Immunol* 1993; 54: 1–78.
30. NISHIMOTO N, KISHIMOTO T, YOSHIZAKI K. Anti-interleukin 6 receptor antibody treatment in rheumatic disease. *Ann Rheum Dis* 2000; 59 (Suppl 1): i21–i27
31. KAPLANSKI G, MARIN V, MONTERO-JULIAN F, MANTOVANI A, FARNARIER C: IL-6: a regulator of the transition from neutrophil to monocyte recruitment during inflammation. *Trends Immunol* 2003, 24: 25-29.
32. ALONZI T, FATTORI E, LAZZARO D, COSTA P, PROBERT L, KOLLIAS G, DE BENEDETTI F, POLI V, CILIBERTO G: Interleukin-6 is required for the development of collagen-induced arthritis. *J Exp Med* 1998, 187:461-468.

33. YAMAMOTO M, YOSHIZAKI K, KISHIMOTO T, ITO H: IL-6 is required for the development of Th-1 cell-mediated murine colitis. *J Immunol* 2000, 164:4878-4882.
34. XING Z, GAULDIE J, COX G, BAUMANN H, JORDANA M, LEI XF, ACHONG MK: IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. *J Clin Invest* 1998, 101:311-320.
35. WILKES C. Arthrography of the Temporomandibular joint inpatients with the TMJ pain-dysfunction syndrome. *Minn Med* 1978; 61: 645–52.
36. MEHRA P, WOLFORD LM. Use of the Mitek anchor in temporomandibular joint disc-repositioning surgery. *Proc (Bayl Univ Med Cent)* 2001; 14: 22–6.
37. CARSON DA, RIBERIO JM. Apoptosis and disease. *Lancet* 1993; 341: 1251–4.
38. GU Z, SHIBATA T, CAO Z, FENG J, HU J. Chondrocyte apoptosis in temporomandibular joints with disc displacement. *J Oral Maxillofac Surg* 2002; 60: 1026–31.
39. HOUSTON A, O'CONNELL J. The Fas signalling pathway and its role in the pathogenesis of cancer. *Curr Opin Pharmacol* 2004; 4: 321–6.
40. LEONARDI R, ALMEIDA LE, RUSU M, SICUREZZA E, PALAZZO G, LORETO C. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand expression correlates to temporomandibular joint disk degeneration. *J Craniofac Surg* 2011; 22: 504–8.
41. LEONARDI R, MIGLIORE MR, ALMEIDA LE, TREVILATTO PC, LORETO C. Limited fatty infiltration due to apoptosis in human

- degenerated temporomandibular joint disks: an immunohistochemical study. *J Craniofac Surg* 2010; 21: 1508–11.
42. LEONARDI R, ALMEIDA LE, TREVILATTO P, LORETO C. Occurrence and regional distribution of TRAIL and DR5 on temporomandibular joint discs: comparison of disc derangement with and without reduction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2010; 109: 244–51.
43. LORETO C, ALMEIDA LE, TREVILATTO P, LEONARDI R. Apoptosis in displaced temporomandibular joint disc with and without reduction: an immunohistochemical study. *J Oral Pathol Med* 2011; 40: 103–10.
44. LORETO C, ALMEIDA LE, MIGLIORE MR, CATALBIANO M, LEONARDI R. TRAIL, DR5 and caspase 3-dependent apoptosis in vessels of diseased human temporomandibular joint disc. An immunohistochemical study. *Eur J Histochem* 2010; 54: e40.
45. LORETO C, MUSUMECI G, LEONARDI R. Chondrocyte-like apoptosis in temporomandibular joint disc internal derangement as a repair-limiting mechanism. An in vivo study. *Histol Histopathol* 2009; 24: 293–8.
46. LORETO C, LEONARDI R, MUSUMECI G, PANNONE G, CASTORINA S. An ex vivo study on immunohistochemical localization of MMP-7 and MMP-9 in temporomandibular joint discs with internal derangement. *Eur J Histochem*. 2013 Apr 15;57(2):e12.
47. IIMIRZALIOĞLU P, UÇKAN S, GÜLER N, HABERAL A, UÇKAN D. Synovial apoptosis in temporomandibular joint disc displacement without reduction. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009; 108: 693–8.
48. DE ALCÂNTARA CAMEJO F, ALMEIDA LE, DOETZER AD, CAPORAL KS, AMBROS V, AZEVEDO M, ALANIS LR, OLANDOSKI M,

- NORONHA L, TREVILATTO PC. FasI expression in articular discs of human temporomandibular joint and association with osteoarthritis. *J Oral Pathol Med* 2014; 43 (1): 69-75.
49. GULEN H, ATAOGU H, HALILOGLU S, ISIK K. Proinflammatory cytokines in temporomandibular joint synovial fluid before and after arthrocentesis. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod*. 2009 May;107(5):e1-4
50. KIM YK, KIM SG, KIM BS, LEE JY, YUN PY, BAE JH, OH JS, AHN JM, KIM JS, LEE SY. Analysis of the cytokine profiles of the synovial fluid in a normal temporomandibular joint: preliminary study. *J Craniomaxillofac Surg*. 2012 Dec;40(8):e337-41
51. LEE JK, CHO YS, SONG SI. Relationship of Synovial Tumor Necrosis Factor α and Interleukin 6 to Temporomandibular Disorder. *J Oral Maxillofac Surg*. 2010 May;68(5):1064-8
52. BOULOUX GF. Temporomandibular joint pain and synovial fluid analysis: a review of the literature. *J Oral Maxillofac Surg*. 2009 Nov;67(11):2497-504.
53. WAKE M, HAMADA Y, KUMAGAI K, TANAKA N, IKEDA Y, NAKATANI Y, SUZUKI R, FUKUI N. Up-regulation of interleukin-6 and vascular endothelial growth factor-A in the synovial fluid of temporomandibular joints affected by synovial chondromatosis. *Br J Oral Maxillofac Surg*. 2013 Mar;51(2):164-9.
54. VERNAL R, VELÁSQUEZ E, GAMONAL J, GARCIA-SANZ JA, SILVA A, SANZ M. Expression of proinflammatory cytokines in osteoarthritis of the temporomandibular joint. *Arch Oral Biol*. 2008 Oct;53(10):910-5

- 55.ISRAEL HA, SAED-NEJAD F, RATCLIFFE A. Early diagnosis of osteoarthrosis of the temporomandibular joint: correlation between arthroscopic diagnosis and keratan sulfate levels in the synovial fluid. J Oral Maxillofac Surg. 1991 Jul;49(7):708-11
- 56.LIPSKY PE, Interleukin-6 and rheumatic diseases. Arthritis Res Ther. 2006;8 Suppl 2:S4
- 57.DIMITROULIS G. The role of surgery in the management of disorders of theTemporomandibular Joint: acritical reviewof the literature. Part 1. Int J Oral Maxillofac Surg 2005; 34: 107–13.
- 58.STEGENGA B. Temporomandibular joint osteoarthrosis and internal derangement: diagnostic and therapeutic outcome assessment. Thesis, Groningen, The Netherlands: Univ of Groningen, 1991.
- 59.HELMY ES, TIMMIS DP, SHARAWY MH, ABDELATIF O, BAYS RA. Fatty change in the human temporomandibular joint disc. Light and electron microscopy study. Int J Oral Maxillofac Surg 1990; 19: 38–43.
- 60.NAGAI H, KUMAMOTO H, FUKUDA M, TAKAHASHI T. Inducible nitric oxide synthase and apoptosis-related factors in the synovial tissues of in temporomandibular joints with internal derangement and osteoarthritis. J Oral Maxillofacial Surg 2003; 61: 801–7.
- 61.DE BONT LGM, BOERING G, LIEM RSB, EULDERINK F, WESTESSON PL. Osteoarthrosis and internal derangement of the temporomandibular joint. A light microscopic study. J Oral Maxillofac Surg 1986; 44: 634–43.
- 62.STEINHARDT G. Zur Pathologie und Therapie des Kiefergelenkknackens.Dtsch Z Chir 1933; 241: 531–52. 55.

63. BOERING G. Temporomandibular joint osteoarthritis [thesis]. Groningen, The Netherlands: Univ of Groningen, 1966.
64. FARRAR WB. Diagnosis and treatment of anterior dislocation of the articular disc. N Y State Dent J 1971; 41: 348–51.
65. KATZBERG RW, KEITH DA, GURALNICK WC, MANZIONE JV, TEN EICK WR. Internal derangements and arthritis of the temporomandibular joint. Radiology 1983; 146: 107–12.
66. WESTESSON PL, ROHLIN M. Internal derangement related to osteoarthritis in temporomandibular joint autopsy specimens. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1984; 57: 17–22.
67. DE BONT LGM, DIJKGRAAF LC, STEGENGA B. Epidemiology and natural progression of articular temporomandibular disorders. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1997; 83:72–6.
68. LUDER HU. Factors affecting degeneration in human temporomandibular joints as assessed histologically. Eur J Oral Sci 2002; 110: 106–13.
69. DIMITROULIS G. Temporomandibular joint surgery: what does it mean to the dental practitioner? Aust Dent J. 2011 Sep;56(3):257-64.

Table 1. Baseline clinical characteristics of the control and study group with and without TMJ dysfunction, associated with Wilkes Stage

Patient	Race	Gender	Age (yrs)	Diagnosis	Affected Side		Wilkes Stage
					Right	Left	
1	Caucasian	F	39	ADDwoR	X		V
2	Caucasian	M	27	CFx	X		
3	Caucasian	F	25	ADDwoR		X	V
4	Caucasian	F	46	ADDwoR		X	V
4	Caucasian	F	46	ADDwoR	X		V
5	Caucasian	F	20	ADDwoR		X	V
5	Caucasian	F	20	ADDwoR	X		V
6	Caucasian	F	41	ADDwR		X	III
6	Caucasian	F	41	ADDwR	X		III
7	Caucasian	F	35	CH		X	
8	Caucasian	F	32	ADDwR		X	III
8	Caucasian	F	32	ADDwR	X		III
9	Caucasian	F	41	ADDwoR		X	V
9	Caucasian	F	41	ADDwoR	X		V
10	Caucasian	F	26	ADDwR		X	III
10	Caucasian	F	26	ADDwR	X		III
11	Caucasian	F	28	ADDwR		X	III
11	Caucasian	F	28	ADDwR	X		III
12	Caucasian	F	33	CH		X	
13	Caucasian	F	36	ADDwR		X	III
13	Caucasian	F	36	ADDwR	X		III
14	Caucasian	F	18	ADDwR		X	III
14	Caucasian	F	18	ADDwR	X		III
15	Caucasian	F	38	ADDwoR		X	IV
15	Caucasian	F	38	ADDwoR	X		IV
16	Caucasian	F	45	ADDwoR	X		IV
17	Caucasian	F	23	CH		X	
18	Caucasian	F	51	ADDwoR		X	V
19	Caucasian	F	33	ADDwoR	X		V
19	Caucasian	F	33	ADDwoR		X	V
20	Caucasian	M	22	CFx	X		
21	Caucasian	F	35	ADDwoR	X		IV
22	Caucasian	F	22	ADDwR	X		III
22	Caucasian	F	22	ADDwR		X	III
23	Caucasian	F	24	ADDwR		X	III
24	Caucasian	M	18	CFx	X		
25	Caucasian	F	32	CH		X	
26	Caucasian	M	37	CFx	X		
27	Caucasian	F	23	ADDwoR	X		IV
27	Caucasian	F	23	ADDwoR		X	IV
28	Caucasian	F	42	ADDwR	X		III
29	Caucasian	F	56	ADDwR	X		III

ADDWOR, Anterior disc displacement without reduction; ADDWR, anterior disc displacement with reduction; CH, condylar hyperplasia; CFx, condylar fracture.

Table 2. IL-6 area of immunostaining (μm^2) in the discs of the control and study group with and without TMJ dysfunction.

Variable	Group	n	Mean	Median	Minimum	Maximum	Standard deviation	P-value*
Area	Control	8	54.17	53.77	16.50	97.09	28.60	0.322
	With reduction	17	55.46	44.74	12.82	248.25	52.82	
	Without reduction	17	77.05	51.57	28.78	225.08	58.74	

* One-factor ANOVA, $p < 0.05$

Table 3. Differences between groups with and without osteoarthritis with respect to area of *in situ* expression (μm^2) of IL-6 cytokine.

Variable	Group	n	Mean	Median	Minimum	Maximum	Standard deviation	P-value*
IL-6 area	Without osteoarthritis	25	55.05	44.74	12.82	248.25	45.82	0.133
	With osteoarthritis	17	77.05	51.57	28.78	225.08	58.74	

*Student's t test for independent samples, $p < 0.05$

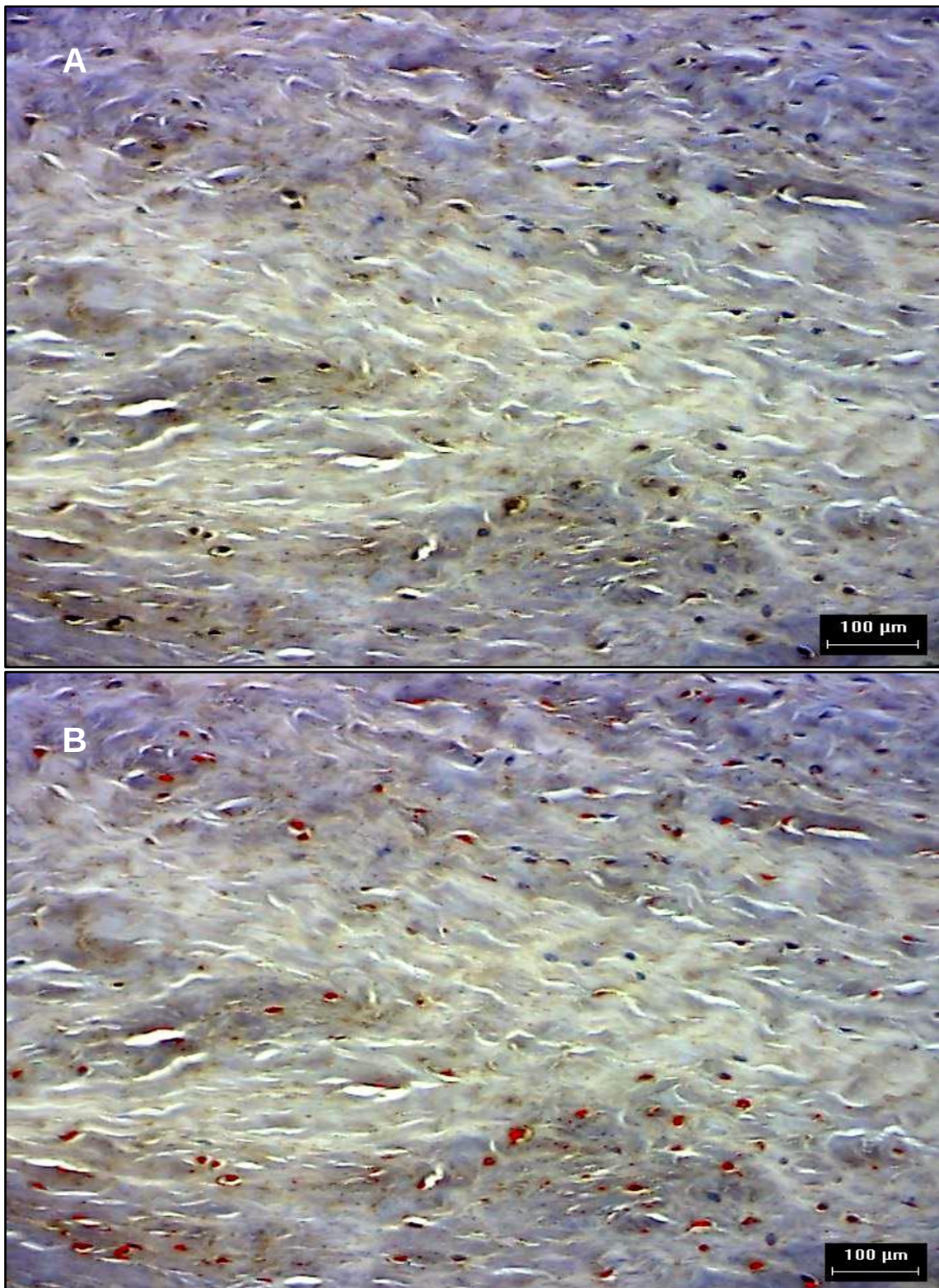


Figure 1 (A) Microphotography showing the positive immunohistochemical reaction for IL-6 in brown, used as the mask. (B) Image Pro Plus™ analysis of the positive immunohistochemical reaction identified by the software through a sample of brown coloration considered appropriated by the observer, pattern followed for all fields analysed. The mean of all positive reaction represented the immunohistochemical expression of IL-6 measured in μm^2 .

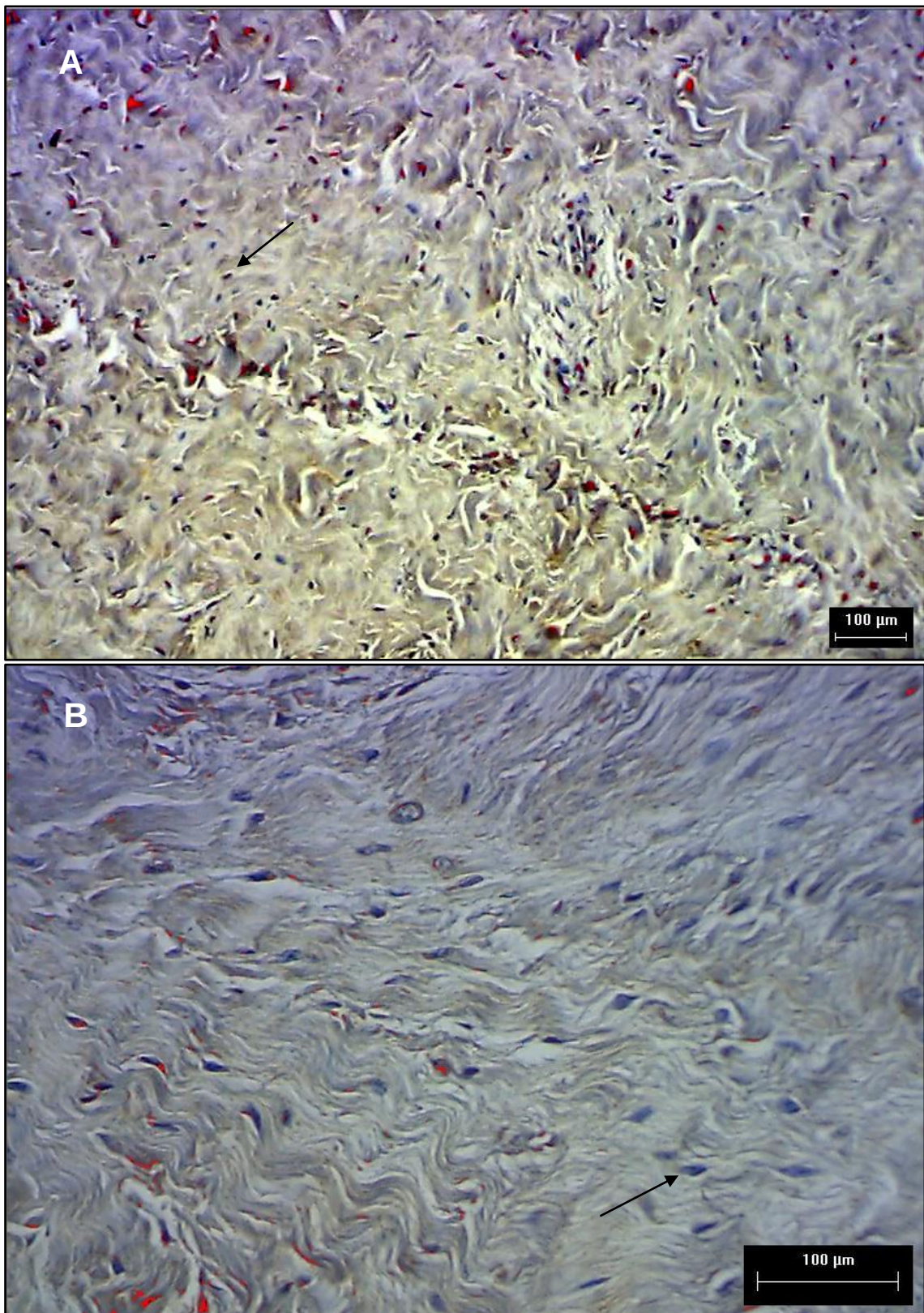


Figure 2 Immunostaining for IL-6 in the temporomandibular joint disc of patients affected by disc displacement with reduction (ADDwR). (A) Magnification of 10x. Arrow = fibrochondrocyte. (B) Magnification of 20x. Arrow = fibrochondrocyte.

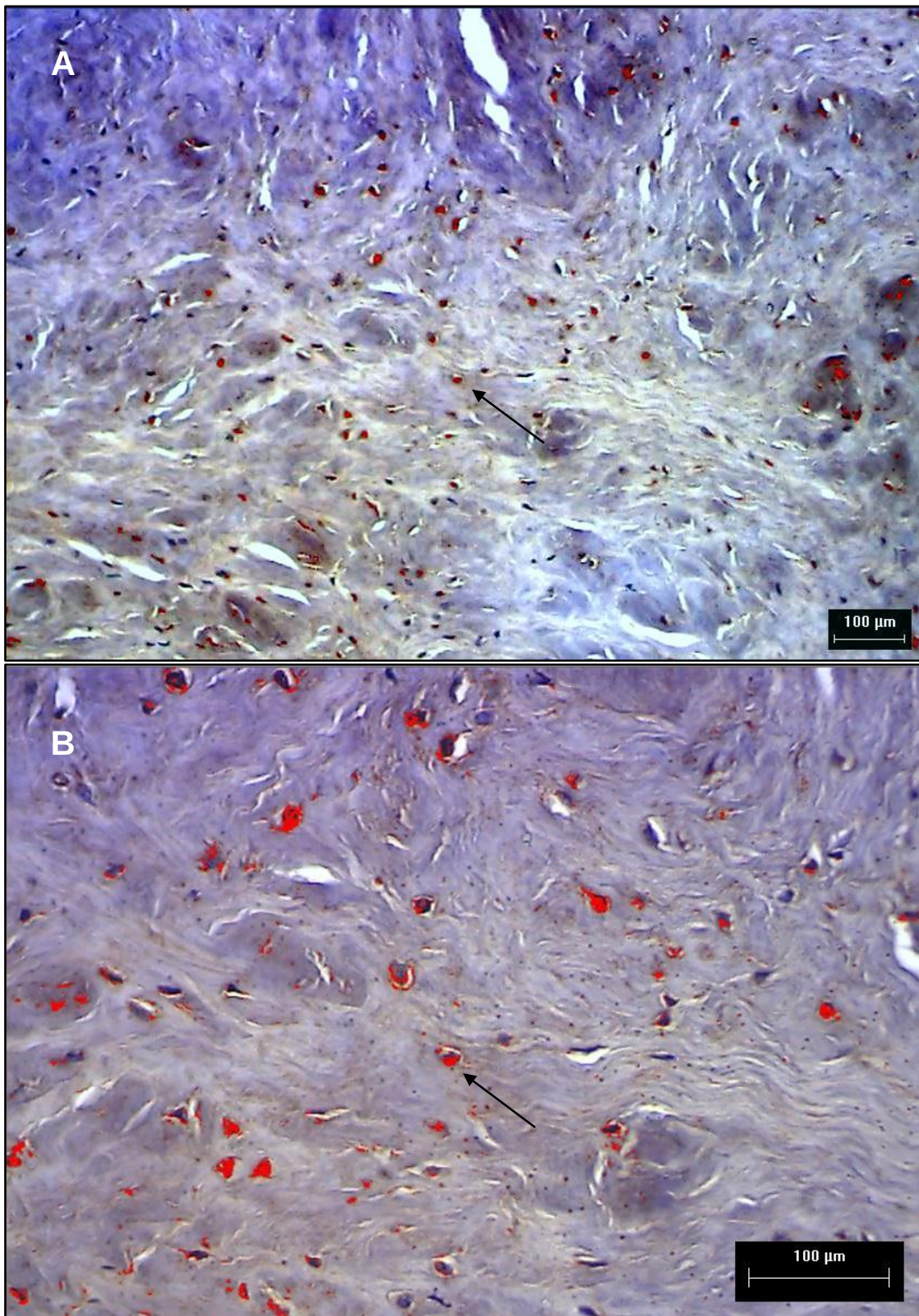


Figure 3 Immunostaining for IL-6 in the temporomandibular joint disc of patients affected by disc displacement without reduction (ADDwoR). (A) Magnification of 10x. Arrow = fibrochondrocyte. (B) Magnification of 20x. Arrow = fibrochondrocyte.

CONCLUSÕES

4. CONCLUSÕES

Nesse estudo:

- 1) Não foram observadas diferenças estatisticamente significante entre os grupos controle, ADDwR e ADDwoR, com relação à variável área para a expressão da IL-6. Observou-se, no entanto uma maior expressão de IL-6, apesar de não estatisticamente significativa, no grupo com fenótipo mais extremo (deslocamento de disco sem redução).
- 2) Não foram observadas diferenças estatisticamente significantes na expressão da IL-6 entre os grupos com osteoartrose e sem osteoartrose. Porém, os resultados sugerem uma maior expressão no grupo com osteoartrose - a última fase de um processo destrutivo inflamatório crônico, o pode representar uma tentativa frustrada de controlar a progressão da doença.
- 3) Foi verificado que todos os pacientes com ADDwoR apresentavam OA, e que todos os pacientes sem OA eram do grupo com ADDwR

A grande variabilidade de expressão da IL-6 encontrada dentro de cada grupo, juntamente com o pequeno tamanho amostral, pode explicar a diferença não ter sido estatisticamente significante entre os grupos. Estudos futuros deverão ser realizados, com um tamanho amostral maior, o que contribuirá para elucidar a associação do mediador inflamatório IL-6 com a disfunção da articulação temporomandibular.

REFERÊNCIAS

REFERÊNCIAS

ALLEN KD, ATHANASIOU KA. Tissue Engineering of the TMJ disc: a review. **TISSUE ENG**. 2006 May;12(5):1183-96. Review.

BANERJEE I, FUSELER JW, INTWALA AR, BAUDINO TA. IL-6 loss causes ventricular dysfunction, fibrosis, reduced capillary density, and dramatically alters the cell populations of the developing and adult heart. **AM J PHYSIOL HEART CIRC PHYSIOL**. 2009 May;296(5):H1694-704. Epub 2009 Feb 20.

BASU S, ZETHELIUS B, HELMERSSON J, BERNE C, LARSSON A, ARNLÖV J. Cytokine-mediated inflammation is independently associated with insulin sensitivity measured by the euglycemic insulin clamp in a community-based cohort of elderly men. **INT J CLIN EXP MED**. 2011;4(2):164-8. Epub 2011 Apr 3.

BJORNLAND T, GJAERUM AA, MOYSTAD A. Osteoarthritis of the temporomandibular joint: an evaluation of the effects and complications of corticosteroid injection compared with injection with sodium hyaluronate. **J ORAL REHABIL** 2007;34:583–9.

BROUSSARD JS JR. Derangement, osteoarthritis, and rheumatoid arthritis of the temporomandibular joint: implications, diagnosis, and management. **DENT CLIN NORTH AM**. 2005 Apr;49(2):327-42.

CAMEJO F DE A, ALMEIDA LE, DOETZER AD, CAPORAL KS, AMBROS V, AZEVEDO M, ALANIS LR, OLANDOSKI M, NORONHA L, TREVILATTO PC. FasL expression in articular discs of human temporomandibular joint and association with osteoarthrosis. **J ORAL PATHOL MED**. 2014 Jan;43(1):69-75. doi: 10.1111/jop.12089. Epub 2013 Jun 10.

QUINN PD. **COLOR ATLAS OF TEMPOROMANDIBULAR JOINT SURGERY**. Editora Mosby,1998.

CAPURSO U, MARINI I. Orthodontic treatment of TMJ disc displacement with pain: an 18 year follow-up. **PROG ORTHOD**. 2007;8(2):240-50.

DE BONT LGM, BOERING G, LIEM RSB, EULDERINK F, WESTESSON PL. Osteoarthrosis and internal derangement of the temporomandibular joint. A light microscopic study. **J ORAL MAXILLOFAC SURG** 1986;44:634–643.

DIMITROULIS G. The role of surgery in the management of disorders of the Temporomandibular Joint: a critical review of the literature. Part 1. **INT J ORAL MAXILLOFAC SURG**. 2005 Mar;34(2):107-13.

DINARELLO CA. Proinflammatory Cytokines. **CHEST**. 2000 Aug; 118(2): 503-8.

DOWLATI Y, HERRMANN N, SWARDFAGER W, LIU H, SHAM L, REIM EK, LANCTOT KL. A meta-analysis of cytokines in major depression. **BIOLOGICAL PSYCHIATRY** 67(5):446-457. Doi: 10.1016/j.biopsych.2009.09.033. PMID 20015486.

ERSCHLER WB, KELLER, ET. Age-associated increased interleukin-6 gene expression, late-life diseases, and frailty. **ANNU REV MED** 2000; 51:245-270.

FERNANDES JC. MARTEL-PELLETIER J, PELLETIER. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. **BIORHEOLOGY**. 2002;39 (1-2):237-46.

FIOCCO U, SFRISO P, OLIVIERO F, ROUX-LOMBARD P, SCAGLIORI E, COZZI L, LUNARDI F, CALABRESE F, VEZZÙ M, DAINESE S, MOLENA B, SCANU A, NARDACCHIONE R, RUBALTELLI L, DAYER JM, PUNZI L. Synovial effusion and synovial fluid biomarkers in psoriatic arthritis to assess intraarticular tumor necrosis factor- α blockade in the knee joint. **ARTHRITIS RES THER**. 2010;12(4):R148. Epub 2010 Jul 19.

FU K, MA X, ZHANG Z, PANG X, CHEN W. Interleukin-6 in synovial fluid and HLA-DR expression in synovium from patients with temporomandibular disorders. **J OROFAC PAIN**. 1995 Spring;9 (2):131-7.

GABAY C. Interleukin-6 and chronic inflammation. **ARTHRITIS RES THER**. 2006;8 Suppl 2:S3. Epub 2006 Jul 28.

GRAFF-RADFORD SM; BASSIUR JP. Temporomandibular Disorders and Headaches. **NEUROLOGIC CLINICS** - May 2014 (Vol. 32, Issue 2, Pages 525-537.

GRIVENNIKOV S, KARIN E, TERZIC J, MUCIDA D, YU GY, VALLABHAPURAPU S, SCHELLER J, ROSE-JOHN S, CHEROUTRE H, ECKMANN L, KARIN M. IL-6 and Stat3 are required for survival of intestinal epithelial cells and development of colitis-associated cancer. **CANCER CELL**. 2009 Feb 3;15(2):103-13.

GUNSON MJ, ARNETT W, MILAM SB. Pharmacologic Control of Condylar Resorption. **J ORAL MAXILLOFAC SURG** 2012.

HAMADA Y, HOLMLUND AB, KONDOH T, NAKAOKA K, SEKIYA H, SHIOBARA N, GOTOH A, KUMAGAI K, SUZUKI R, SETO K. Severity of arthroscopically observed pathology and levels of inflammatory cytokines in the synovial fluid before and after visually guided temporomandibular joint irrigation correlated with the clinical outcome in patients with chronic closed lock. **ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD**. 2008 Sep;106(3):343-9. Epub 2008 Jun 11.

HONDA K. Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptor suppress osteoclastic differentiation by inducing PGE(2) production in chondrocytes. **J ORAL SCI**. 2011;53(1):87-96.

JAVED F, AL-HEZAIMI K, SALAMEH Z, ALMAS K, ROMANOS GE. Proinflammatory cytokines in the crevicular fluid of patients with peri-implantitis. **CYTOKINE**. 2011 Jan;53(1):8-12. Epub 2010 Sep 25.

JIANG Q, QIU YT, CHEN MJ, ZHANG ZY, YANG C. Synovial TGF- β 1 and MMP-3 levels and their correlation with the progression of temporomandibular joint osteoarthritis combined with disc displacement: A preliminary study. **BIOMED REP**. 2013 Mar;1(2):218-222. Epub 2012 Nov 26.

JIAO K, ZHANG M, NIU L, YU S, ZHEN G, XIAN L, YU B, YANG K, LIU P, CAO X, WANG M. Overexpressed TGF- β in subchondral bone leads to mandibular condyle degradation. **J DENT RES**. 2014 Feb;93(2):140-7. doi: 10.1177/0022034513513034. Epub 2013 Dec 5.

JOHANSSON A, UNELL L, CARLSSON GE, SODERFELDT B, HALLING A. Risk factors associated with symptoms of temporomandibular disorders in a population of 50- and 60-year-old subjects. **J ORAL REHABIL** 2006; 33:473–81.

JOOS H, HOGREFE C, RIEGER L, DÜRSELEN L, IGNATIUS A, BRENNER RE. Single impact trauma in human early-stage osteoarthritic cartilage: Implication of prostaglandin D2 but no additive effect of IL-1 β on cell survival. **INT J MOL MED**. 2011 Aug;28(2):271-7. doi: 10.3892/ijmm.2011.694. Epub 2011 May 6.

KANEYAMA K, SEGAMI N, SUN W, SATO J, FUJIMURA K. Analysis of tumor necrosis factor- α , interleukin-6, interleukin-1 β , soluble tumor necrosis factor receptors I and II, interleukin-6 soluble receptor, interleukin-1 soluble receptor type II, interleukin-1 receptor antagonist, and protein in the synovial fluid of patients with temporomandibular joint disorders. **ORAL SURG ORAL MED ORAL PATHOL ORAL RADIOL ENDOD** 2005; 99:276–84.

KARANIKAS EP. Psycho-immunological mechanisms in schizophrenia. **PSYCHIATRIKE**. 2011 Jan-Mar;22(1):43-52.

KEITH DA. Elastin in the bovine mandibular joint. **ARCH ORAL BIOL**. 1979;24(3):211-5.

KIGA N, TOJYO I, MATSUMOTO T, HIRAISHI Y, SHINOHARA Y, MAKINO S, FUJITA S. Expression of lumican and fibromodulin following interleukin-1 β stimulation of disc cells of the human temporomandibular joint. **EUR J HISTOCHEM**. 2011;55(2):e11. doi: 10.4081/ejh.2011.e11.

KOENIG W, KHUSEYINOVA N, BAUMERT J, THORAND B, LOEWEL H, CHAMBLESS L, MEISINGER C, SCHNEIDER A, MARTIN S, KOLB H, HERDER C. Increased concentrations of C-reactive protein and IL-6 but not IL-18 are independently associated with incident coronary events in middle-aged men and women: results from the MONICA/KORA Augsburg case-cohort study, 1984-2002. **ARTERIOSCLER THROMB VASC BIOL**. 2006 Dec;26(12):2745-51. Epub 2006 Sep 28.

KORKAYA H, LIU S, WICHA MS. Regulation of Cancer Stem Cells by Cytokine Networks: Attacking Cancers Inflammatory Roots. **CLIN CANCER RES.** 2011 Jun 17. [Epub ahead of print].

KOU XX, WU YW, DING Y, HAO T, BI RY, GAN YH, MA X. 17 β -estradiol aggravates temporomandibular joint inflammation through the NF- κ B pathway in ovariectomized rats. **ARTHRITIS RHEUM.** 2011 Jul;63(7):1888-97. doi: 10.1002/art.30334.

KURODA S, TANIMOTO K, IZAWA T, FUJIHARA S, KOOLSTRA JH, TANAKA E. Biomechanical and biochemical characteristics of the mandibular condylar cartilage. **OSTEOARTHRITIS CARTILAGE.** 2009 Nov; 17(11):1408-15.doi: 10.1016/j.joca.2009.04.025. Epub 2009 May 18. Review.

LAMELA MJ, PRADO Y, FERNÁNDEZ P, FERNÁNDEZ-CANTELI A, TANAKA E. Non-linear viscoelastic model for behaviour characterization of temporomandibular joint discs. **EXPERIMENTAL MECHANICS.** 2011, Vol. 51 Issue 8, p1435-1440. 6p.

LAWYER T, WINGERTER S, TUCCI M, BENGHUZZI H. Cellular effects of catabolic inflammatory cytokines on chondrocytes - biomed 2011. **BIOMED SCI INSTRUM.** 2011;47:252-7.

LEE JK, CHO YS, SONG SI. Relationship of synovial tumor necrosis factor alpha and interleukin 6 to temporomandibular disorder. **J ORAL MAXILLOFAC SURG.** 2010 May;68(5):1064-8. Epub 2009 Dec 23.

LEONARDI R, MIGLIORE MR, ALMEIDA LE, TREVILATTO PC, LORETO C. Limited fatty infiltration due to apoptosis in human degenerated temporomandibular joint disks: an immunohistochemical study. **J CRANIOFAC SURG.** 2010 Sep;21(5):1508-11.

LORETO C, ALMEIDA LE, TREVILATTO P, LEONARDI R. Apoptosis in displaced temporomandibular joint disc with and without reduction: an immunohistochemical study. **J ORAL PATHOL MED.** 2011 Jan;40(1):103-10. doi: 10.1111/j.1600-0714.2010.00920.x.

LORETO C, ALMEIDA LE, MIGLIORE MR, CALTABIANO M, LEONARDI R. TRAIL, DR5 and caspase 3-dependent apoptosis in vessels of diseased human temporomandibular joint disc. An immunohistochemical study. **EUR J HISTOCHEM.** 2010;54(3):e40.

MALEMUND C.J., GOLDBERG V.M. Future directions for research and treatment of the osteoarthritis. **FRONT BIOSCI** 1999; 15: D762-71.

MATSUMOTO S, HARA T, MITSUYAMA K, YAMAMOTO M, TSURUTA O, SATA M, SCHELLER J, ROSE-JOHN S, KADO S, TAKADA T. Essential roles of IL-6 trans-signaling in colonic epithelial cells, induced by the IL-6/soluble-IL-6 receptor derived from lamina propria macrophages, on the development of colitis-associated premalignant cancer in a murine model. **J IMMUNOL.** 2010 Feb 1;184(3):1543-51. Epub 2009 Dec 30.

MILAM SB, KLEBE RJ, TRIPLETT RG, HERBERT D. Characterization of the extracellular matrix of the primate temporomandibular joint. **J ORAL MAXILLOFAC SURG.** 1991 Apr;49(4):381-91.

MURAYAMA R, KOBAYASHI M, TAKESHITA A, YASUI T, YAMAMOTO M. MAPKs, activator protein-1 and nuclear factor- κ B mediate production of interleukin-1 β -stimulated cytokines, prostaglandin E(2) and MMP-1 in human periodontal ligament cells. **J PERIODONTAL RES.** 2011 May 25. doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01374.x. [Epub ahead of print].

NATHAN C. Points of control in inflammation. **NATURE** 2002; 420: 846-52.

NISHIMURA M, SEGAMI N, KANEYAMA K, SUZUKI T, MIYAMARU M. Proinflammatory cytokines and arthroscopic findings of patients with internal derangement and osteoarthritis of the temporomandibular joint. **BR J ORAL MAXILLOFAC SURG.** 2002 Feb;40(1):68-71.

NEO H, ISHIMARU JI, KURITA K, GOSS AN. The effect of hyaluronic acid on experimental temporomandibular joint osteoarthritis in the sheep. **J ORAL MAXILLOFAC SURG.** 1997 Oct;55(10):1114-9.

NUCLEOS COMMUNICATIONS,INC. *Disponível em <www.nucleusinc.com>.* Acesso em 01 ago. 2014.

OCHI E, NAKAZATO K, ISHII N. Muscular Hypertrophy and Changes in Cytokine Production After Eccentric Training in the Rat Skeletal Muscle. **J STRENGTH COND RES.** 2011 May 20. [Epub ahead of print].

OKADA M, KITA Y, KANAMARU N, HASHIMOTO S, UCHIYAMA Y, MIHARA M, INOUE Y, OHSUGI Y, KISHIMOTO T, SAKATANI M. Anti-IL-6 Receptor Antibody Causes Less Promotion of Tuberculosis Infection than Anti-TNF- α Antibody in Mice. **CLIN DEV IMMUNOL.** 2011;2011:404929. Epub 2011 Feb 22.

PINE SR, MECHANIC LE, ENEWOLD L, CHATURVEDI AK, KATKI HA, ZHENG YI, BOWMAN ED, ENGELS EA, CAPORASO NE, HARRIS CC. Increased Levels of Circulating Interleukin 6, Interleukin 8, C-Reactive Protein, and Risk of Lung Cancer. **J NATL CANCER INST.** 2011 Jun 17. [Epub ahead of print].

RIBEIRO-DA SILVA MC, PERES LINE SR, LEME GODOY DOS SANTOS MC, ARTHURI MT, HOU W, FILLINGIM RB, RIZZATTI BARBOSA CM. Estrogen receptor-alpha polymorphisms and predisposition to TMJ disorder. **J PAIN.** 2009 May;10(5):527-33.

SANDLER NA, BUCKLEY MJ, CILLO JE, BRAUN TW. Correlation of inflammatory cytokines with arthroscopic findings in patients with temporomandibular joint internal derangements. **J ORAL MAXILLOFAC SURG.** 1998 May;56(5):534-43; discussion 543-4.

SATO J, SEGAMI N, NISHIMURA M, DEMURA N, YOSHIMURA H, YOSHITAKE Y, NISHIKAWA K. Expression of interleukin 6 in synovial tissues in patients with internal derangement of the temporomandibular joint. **BR J ORAL MAXILLOFAC SURG**. 2003 Apr;41(2):95-101.

SHAHER DM, ASSAEL L, WHITE LB, ROSSOMANDO EF. Tumor necrosis factor-alpha as a biochemical marker of pain and outcome in temporomandibular joints with internal derangements. **J ORAL MAXIL SURG** 1994;52:786-91.

SOUZA LS, MACHADO SH, BRENOL CV, BRENOL JC, XAVIER RM. Growth velocity and interleukin 6 concentrations in juvenile idiopathic arthritis. **J RHEUMATOL**. 2008 Nov;35(11):2265-71. Epub 2008 Oct 1.

STEGENGA B, DE BONT LG, BOERING G, VAN WILLIGEN JD. Tissue responses to degenerative changes in the temporomandibular joint: a review. **J ORAL MAXILLOFAC SURG**. 1991 Oct;49(10):1079-88. Review.

SCHUERWEGH AJ, DOMBRECHT EJ, STEVENS WJ, VAN OFFEL JF, BRIDTS CH, DE CLERCK LS. Influence of pro-inflammatory (IL-1 alpha, IL-6, TNF-alpha, IFN-gamma) and anti-inflammatory (IL-4) cytokines on chondrocyte function. **OSTEOARTHRITIS CARTILAGE**. 2003 Sep;11(9):681-7.

TEN CATE AR. Temporomandibular joint. In: Ten Cate AR (ed) **ORAL HISTOLOGY. DEVELOPMENT, STRUCTURE, AND FUNCTION**. Mosby, St. Louis, p. 432-455.

TONET AC, KARNIKOWSKI M, MORAES CF, GOMES L, KARNIKOWSKI MGO, CORDOVA C, NOBREGA OT. Association between the -174 G/C promoter polymorphism of the interleukin-6 gene and cardiovascular disease risk factors in Brazilian older women. **BRAZ J MED BIOL RES**. 2008;41(1):47-53.

TORRES-CHÁVEZ KE, FISCHER L, TEIXEIRA JM, FÁVARO-MOREIRA NC, OBANDO-PEREDA GA, PARADA CA, TAMBELI CH. Sexual dimorphism on cytokines expression in the temporomandibular joint: the role of gonadal steroid hormones. **INFLAMMATION**. 2011 Oct;34(5):487-98. doi: 10.1007/s10753-010-9256-6.

VERNAL R, VELÁSQUEZ E, GAMONAL J, GARCIA-SANZ JA, SILVA A, SANZ M. Expression of proinflammatory cytokines in osteoarthritis of the temporo-mandibular joint. **ARCH ORAL BIOL**. 2008 Oct; 53(10):910-5. doi: 10.1016/j.archoralbio.2008.04.004. Epub 2008 May 27.

YAMADA K, SAITO I, HANADA K, HAYASHI T. Observation of three cases of temporomandibular joint osteoarthritis and mandibular morphology during adolescence using helical CT. **J ORAL REHABIL** 2004;31:298-305.

WASHINGTON TA, WHITE JP, DAVIS JM, WILSON LB, LOWE LI, SATO S, CARSON JA. Skeletal muscle mass recovery from atrophy in il-6 knockout

mice. ***ACTA PHYSIOL (OXF)***. 2011 aug;202(4):657-69. doi: 10.1111/j.1748-1716.2011.02281.x. epub 2011 apr 27.