

AVALIAÇÃO DO MÚSCULO DIGÁSTRICO NA ADMINISTRAÇÃO EXPERIMENTAL DE SINVASTATINA

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA
DENTÁRIA**

Autor: TIAGO ANDRÉ MONTEIRO BAETA GIL AGOSTINHO

Orientador: MESTRE RODRIGO HUGO FARINHA HENRIQUES MARQUES

Co-orientador: PROF. DOUTOR ANTÓNIO MANUEL SILVÉRIO CABRITA

Avaliação do músculo digástrico na administração experimental de Sinvastatina

Agostinho, Tiago¹; Cabrita, António²; Marques, Rodrigo³

1. Aluno do Mestrado Integrado em Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
2. Prof. da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra
3. Assistente convidado da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

Av. Bissaya Barreto, Bloco de Celas

3000-075 Coimbra

Telefone: +351 239 484183

Fax: + 351 239 402910

tiago_agostinho46@hotmail.com

Resumo

A sinvastatina é um fármaco utilizado no tratamento das deslipidémias, com benefícios na melhoria da mortalidade e mortalidade cardiovascular. Estão documentados casos de rbdomiólise associados à utilização de fármacos da família das estatinas. O músculo digástrico tem um importante papel na cinética mandibular e no equilíbrio do aparelho estomatognático, fundamental para a sua boa função. A contracção deste músculo provoca a abertura mandibular e a elevação do osso hióide. A rbdomiólise define-se como a lesão do músculo esquelético provocada por factores físicos, químicos ou biológicos, que pode, potencialmente afectar os músculos mastigadores. Esta destruição das fibras musculares conduz à libertação de produtos das celulares na corrente sanguínea. A mioglobina, uma proteína libertada durante este processo, é lesiva para os rins, podendo causar um quadro agudo de insuficiência renal. O objectivo do presente trabalho é avaliar o efeito da sinvastatina sobre o músculo digástrico. Neste estudo foram utilizados dez ratos da estirpe Wistar com dois meses de idade no início do ensaio. Os animais foram distribuídos aleatoriamente por dois grupos com igual número de elementos: o grupo controlo (Grupo CTRL 1) e o grupo teste (Grupo TST 2), cada um dos quais com cinco animais. Os animais do grupo teste foram submetidos à administração diária de 5mg/kg de sinvastatina em solução aquosa, por gavagem. Todos os animais do estudo foram mantidos nas condições padrão, com livre acesso a água e comida, e foram sacrificados ao fim de quatro semanas de ensaio. Todos os fragmentos colhidos durante a necrópsia foram fixados em solução de formaldeído neutro tamponado a 10%. Foram colhidos fragmentos de músculo digástrico para fixação em álcool etílico a 70%. A análise morfométrica foi realizada com o auxílio do programa Image J, em fotografias de lâminas de músculo digástrico coradas com Hematoxilina e Eosina, em corte transversal. Não foram observados quaisquer sinais morfológicos, à observação histológica, que indicassem a presença de focos de rbdomiólise, no músculo observado, para a dose de sinvastatina utilizada. Para um intervalo de confiança a 95%, observa-se que a área média das fibras musculares em corte transversal varia entre 2106 px e 2139 px, no grupo controlo; e 2188 e 2252 px no grupo teste. Não se observaram quaisquer sinais de

lesão morfológica do músculo digástrico, em animais expostos à dose de 5mg/kg de sinvastatina. A análise morfométrica deste músculo revelou não existirem diferenças estatisticamente significativas na área das fibras musculares em corte transversal.

Palavras chave: sinvastatina, músculo digástrico, rabdomiólise, morfometria, ATM

Introdução

A articulação temporomandibular (ATM), constituída pelo côndilo mandibular posicionado no interior da cavidade glenóide do osso temporal, com interposição do disco articular, é uma articulação composta. O disco articular, não calcificado, permite a realização de movimentos complexos e a articulação entre a mandíbula e o crânio [1].

O disco articular é formado por tecido conjuntivo fibroso denso, e encontra-se isento de vasos sanguíneos e terminações nervosas em quase toda a sua extensão. A porção periférica externa do disco articular é ligeiramente innervada. O disco torna-se progressivamente mais espesso a partir da sua porção central na direcção anterior e posterior [1].

Os músculos mastigadores são músculos pares: masseter, temporal, pterigoideu lateral e pterigoideu medial. A mastigação e a estabilidade do aparelho estomatognático é conseguida à custa da função de algumas estruturas acessórias, entre as quais se encontra o músculo digástrico [1].

O músculo masseter possui forma rectangular, tem origina no arco zigomático e estende-se para baixo e para a frente até ao bordo lateral do ramo horizontal da mandíbula. A principal função deste músculo é a elevação da mandíbula. A sua porção superficial também auxilia na protrusão da mesma [1].

O músculo temporal forma de leque, e pode ser dividido em três áreas distintas de acordo com a direcção das fibras. Esta disposição está relacionada com a função primordial de cada um dos feixes. A contracção das fibras da porção anterior provoca elevação da mandíbula e a contracção da porção média a retrusão mandibular [1].

O músculo pterigoideu medial é responsável pela elevação mandibular e é também um músculo activo na protrusão. A sua contracção unilateral provoca o movi-

mento mediotrusivo da mandíbula[1].

O músculo pterigoideu lateral era descrito como tendo duas porções: uma inferior e outra superior[1]. Actualmente, este músculo é dividido em: pterigoideu lateral inferior e o pterigoideu lateral superior[1].

O músculo digástrico embora não seja considerado por alguns autores um músculo mastigador, tem um importante papel na cinética mandibular. É dividido em dois ventres: um anterior e um posterior. A contracção deste músculo provoca a abertura mandibular e a elevação do osso hióide[1].

As estatinas pertencem à classe dos fármacos inibidores competitivos da HMG-COA redutase[2, 3]. São fármacos que provocam a redução do colesterol LDL, tendo como outros efeitos, a diminuição do stress oxidativo e a inflamação vascular[2, 3, 4]. Estes compostos induzem o aumento de receptores de LDL de alta afinidade. Esse efeito aumenta tanto o catabolismo fraccional das LDL quanto a extracção hepática dos precursores das LDL do sangue, reduzindo, assim, os níveis de LDL[2].

A sinvastatina é um dos fármacos desta classe mais utilizado. Foram reportados alguns casos de rabdomiólise associada à sua utilização[3].

A rabdomiólise é uma situação patológica, que embora muito rara pode pôr em causa a vida do doente. Caracteriza-se pela destruição do músculo esquelético, resultando na libertação do conteúdo intracelular para o sistema circulatório[4].

Ainda não está totalmente esclarecido o mecanismo pela qual as estatinas provocam rabdomiólise porém existem algumas hipóteses. A primeira é que as estatinas provocam a destruição de intermediários metabólicos da síntese do colesterol. A segunda é que as estatinas induzem a apoptose celular e podem causar alterações nos canais de condutância ao cloro dentro dos miócitos [3].

O diagnóstico definitivo é conseguido através da realização de exames histopatológicos de biópsias de músculo. As lesões de rabdomiólise são caracterizadas pela perda nuclear e estriação das fibras musculares, sem presença de células inflamatórias [3]. As complicações inerentes à rabdomiólise são insuficiência renal aguda e a coagulação intravascular disseminada, mas podem também surgir arritmias e paragem cardíaca [4, 5].

O presente trabalho tem como objectivo dar um contributo para a avaliação do efeito da sinvastatina sobre o músculo digástrico, num modelo experimental de administração oral do fármaco, em ratos Wistar.

Material e métodos

Preparação e distribuição dos animais

No estudo foram utilizados 10 ratos da estirpe Wistar com dois meses de idade no início do ensaio, provenientes dos Laboratórios “Charles River”, e alojados na Sala de Experimentação do Biotério Central da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Antes de iniciar o estudo, os animais foram submetidos a um período de quarentena de 7 dias.

Os animais foram distribuídos aleatoriamente por dois grupos com igual número de elementos: o grupo controlo (Grupo CTRL 1) e o grupo teste (Grupo TST 2), cada um dos quais com 5 animais. O grupo controlo foi mantido nas condições padrão de alojamento, com acesso a água e alimento ad libitum, sem qualquer manipulação. Os animais do grupo teste foram submetidos à administração diária de 5mg/kg de sinvastatina em solução aquosa, por gavagem.

Manutenção dos animais

Os ratos foram mantidos nas condições padrão do biotério, com temperatura de 25°C e 60-65% de humidade num regime de 12 horas de luz e 12 horas de escuridão. O ensaio prolongou-se durante quatro semanas, findas as quais foram sacrificados todos os animais, de ambos os grupos.

A vigilância para rastreio de alterações patológicas foi diária, com observação dos seus hábitos alimentares. A pesagem foi realizada semanalmente, coincidindo a última pesagem com a hora do sacrifício.

Sacrifício, Colheitas e Registos

Todos os animais que chegaram ao fim da experiência foram eutanasiados e necropsiados. A eutanásia foi realizada por sobredosagem da associação anestésica de quetamina e xilasina intraperitoneal.

Na necrópsia foram registados os dados referentes à observação do hábito externo, observação detalhada do hábito interno e fragmentos de tecidos colhidos e respectiva finalidade, em modelo próprio em utilização no Serviço de Patologia Experimental.

Foi realizada a pesagem do fígado, do baço, da tiróide, dos pulmões, dos rins, das gónadas, da próstata, do coração e dos músculos masseter, temporal e digástrico. Em relação ao baço e coração, foram medidos o seu eixo maior e dois outros eixos ortogonais, permitindo obter valores relativos à altura, largura e espessura de cada um destes órgãos.

Em todos os animais foram colhidos para histopatologia de rotina fragmentos do coração, dos pulmões, do fígado, da tiróide, das gónadas, do baço, do intestino delgado, do intestino grosso, do pénis, da prostata, do esterno, da mandíbula e dos músculos masseter, temporal e digástrico. Todos os fragmentos foram fixados em solução de formaldeído neutro tamponado a 10%. Foram colhidos fragmentos de músculo digástrico para fixação em álcool etílico a 70%.

Histopatologia

Todos os fragmentos colhidos para histopatologia foram incluídos em parafina, tendo sido realizados cortes de cerca 4 micrótomos de espessura para coloração de rotina de Hematoxilina e Eosina.

Análise Histopatológica e Morfométrica

Para cada músculo digástrico de cada indivíduo, foram realizadas 10 fotografias dos cortes histopatológicos transversais corados com Hematoxilina e Eosina, utilizando os padrões estereológicos de aleatorização padronizada para aquisição de imagens.

A análise morfométrica foi realizada com o auxílio do programa desenvolvido pelos Institutos Nacionais de Saúde (EUA), Image J 1.42q, que permitiu a medição

da área de secção das fibras musculares em corte transversal.

Assim, a variação deste parâmetro pode ser descrita utilizando a média, desvio padrão e coeficiente de variação. Com base nestes dados definem-se para o grupo controlo sem patologia, cinco tipos de fibras musculares, de acordo com as secções observadas: fibras muito pequenas, fibras pequenas, fibras médias, fibras grandes e fibras muito grandes. Designamos de fibras médias aquelas cuja área se encontra compreendida no intervalo [média — desvio padrão, média + desvio padrão]. Designamos fibras grandes, aquelas cujo valor da área se encontra incluído no intervalo [média + desvio padrão, média + 2 x desvio padrão]. Designamos fibras pequenas, quando o valor da área está incluído no intervalo [média — 2 x desvio padrão, média — desvio padrão]. Consideramos que as fibras musculares são muito pequenas, quando o valor da sua área se encontra abaixo do considerado como fibras pequenas, e as fibras são consideradas como muito grandes quando a sua área excede a área das fibras grandes.

Resultados

Não foram observados quaisquer sinais que indicassem a presença de focos de rabdomiólise, no músculo observado, para a concentração utilizada. Para um intervalo de confiança a 95%, observa-se que a área média das fibras musculares em corte transversal do grupo controlo varia entre 2106 px e 2139 px. A média da área das fibras musculares, em corte transversal, no grupo teste varia entre 2188 e 2252 px. Desta forma, observa-se uma ligeira tendência para o aumento da área das fibras no grupo teste. Fazendo a distribuição das fibras por grupos, de acordo com a sua área, tendo em conta a média e desvio padrão, observa-se que não existem variações significativas entre os dois grupos.

Os desvios padrão são bastante díspares. Significa que as fibras são muito heterogéneas, isto é, foram medidas fibras muito grandes e fibras muito pequenas.

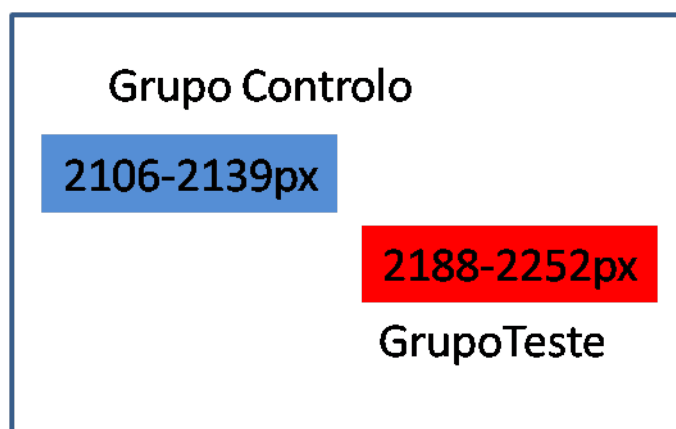


Figura 1: Representação esquemática da variação da área das fibras musculares do músculo digástrico em cortes histológicos transversais corados com Hematoxilina e Eosina

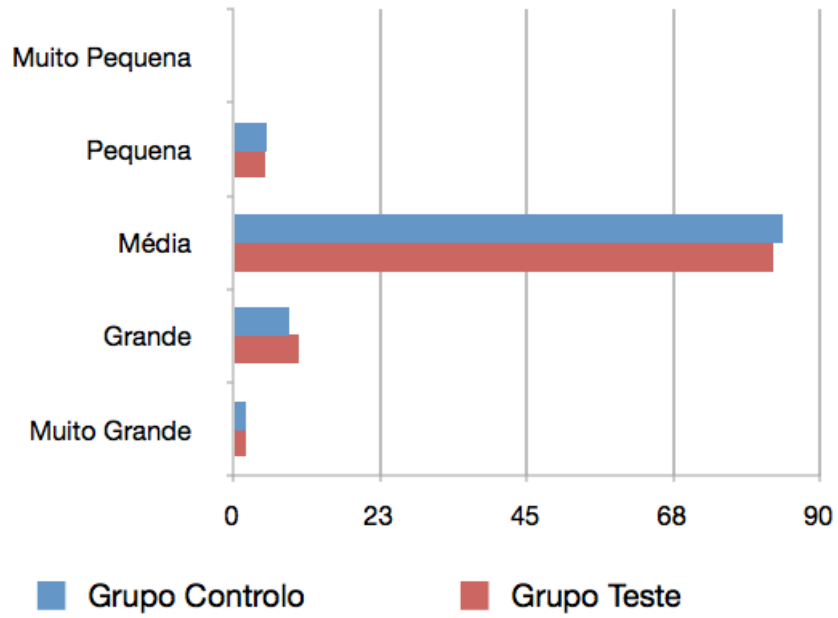


Figura 2: área relativa das fibras musculares do músculo digástrico em cortes histológicos transversais corados com Hematoxilina e Eosina

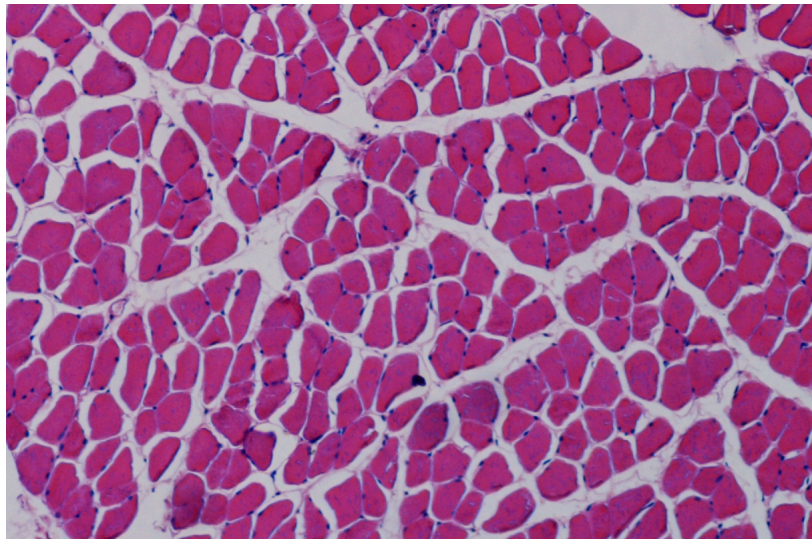


Figura 3: Fotografia de corte histológico transversal das fibras do grupo controle, do músculo digástrico, corado com Hematoxilina e Eosina (ampliação 200 vezes)

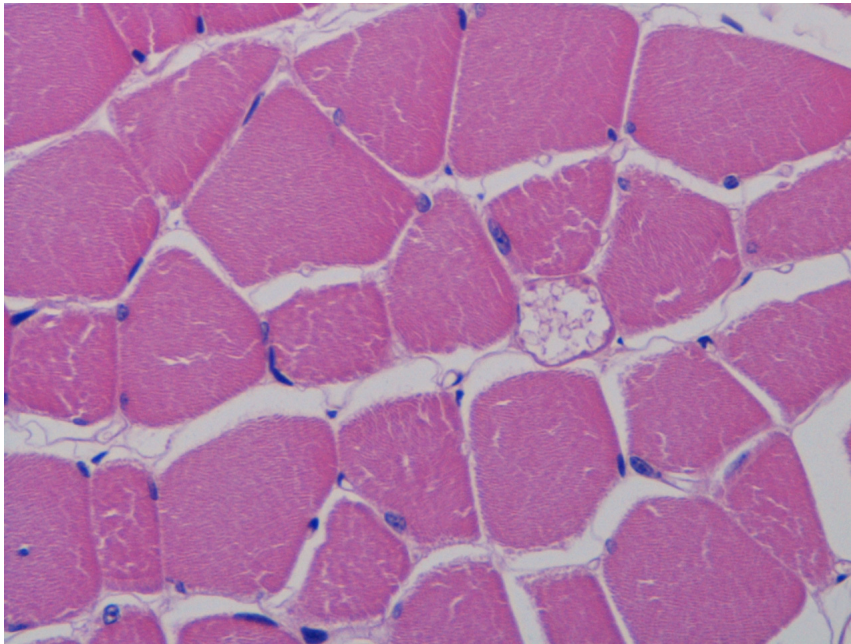


Figura 4: Fotografia de corte histológico transversal das fibras do grupo controle, do músculo digástrico, corado com Hematoxilina e Eosina (ampliação 400 vezes)

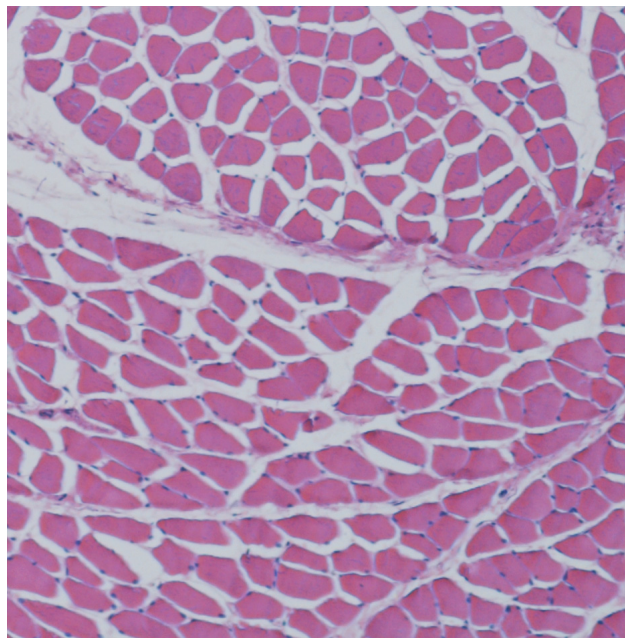


Figura 5: Fotografia de corte histológico transversal das fibras do grupo teste, do músculo digástrico, corado com Hematoxilina e Eosina (ampliação 200 vezes)

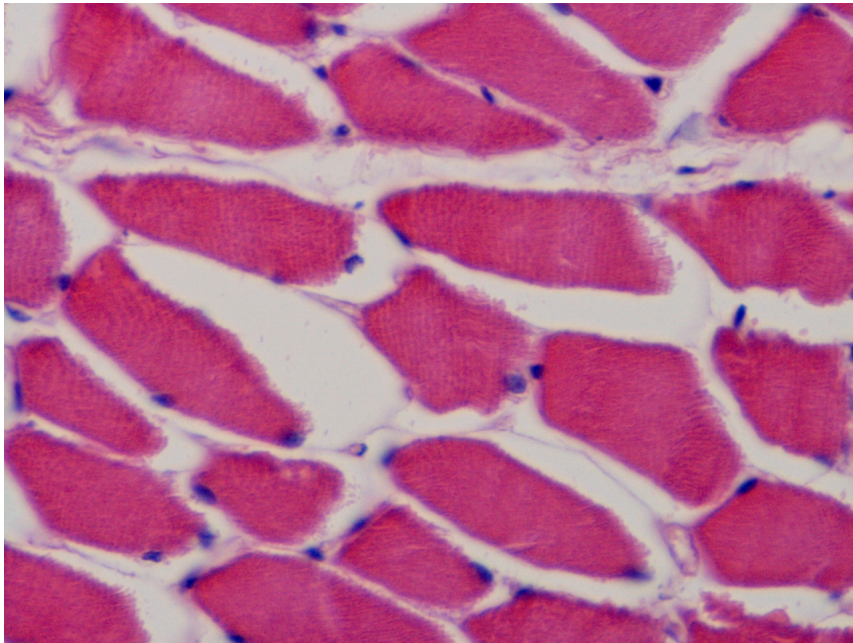


Figura 6: Fotografia de corte histológico transversal das fibras do grupo teste, do músculo digástrico, corado com Hematoxilina e Eosina (ampliação 400 vezes)

Discussão

Desde que as estatinas têm vindo a ser usadas na prática clínica, a miopatia tem sido reconhecida como um efeito adverso desta terapêutica. Existem diversas hipóteses que suportam esta teoria. A primeira sugere que existe um aumento de entrada de estatinas no músculo esquelético por transportadores monocarboxilo [6], a segunda defende uma diminuição do colesterol membranar que resulta em alterações da fluidez com desestabilização e degeneração[7], a terceira teoria alega que pode existir uma diminuição da condutância dos canais cloro[8], a quarta e última defende a hipótese de haver alteração na função mitocondrial, levando a um aumento de cálcio no citoplasma[9]. Contudo todas estas teorias ainda não são totalmente suportadas e pode concluir-se que o mecanismo envolvido nos fenómenos musculares relacionados com a utilização de estatinas é ainda desconhecido.

Neste estudo, à semelhança de outros estudos com concentrações relativamente baixas de sinvastatina e outras estatinas e, sem qualquer associação medicamentosa, não foram encontrados quaisquer sinais de rabdomiólise [3, 10]. Estes resultados podem estar relacionados com a baixa dose de sinvastatina utilizada, quando comparada com as doses comprovadamente tóxicas e responsáveis, em modelo experimental, pela indução de rabdomiólise. Pela análise dos resultados obtidos, verificou-se que existe um aumento da área das fibras do grupo teste relativamente ao grupo controlo, que, embora discreto, poderá constituir um primeiro sinal do possível envolvimento do músculo digástrico em fenómenos de rabdomiólise.

A incidência de rabdomiólise é muito reduzida em estudos randomizados, uma vez que os doentes de alto risco são habitualmente excluídos [11, 12, 13]. É detetada uma maior incidência de rabdomiólise quando as estatinas são usadas fora de

estudos clínicos[14, 15]. Estudos epidemiológicos têm mostrado que a rabdomiólise é 12 vezes mais frequente quando a terapêutica para a deslipidemia combina fibratos, comparando com a monoterapia com estatinas [14, 16, 17, 18]. A interação de fármacos pode aumentar o risco de rabdomiólise[14, 15, 19, 20, 21]. Algumas linhas de evidência mostram que pacientes com rabdomiólise induzida por estatinas podem ter problemas metabólicos subjacentes, que predis põem para esta situação[16]. Um grande número de doentes com rabdomiólise induzida por estatinas têm problemas metabólicos musculares subjacentes [22]. A cultura de células de miócitos de doentes com reações musculares provocadas por estatinas demonstram uma anormal oxidação de ácidos gordos, comparativamente com miócitos saudáveis [23].

Relativamente ao diagnóstico de rabdomiólise, a concentração de creatina quinase (CK), nomeadamente o sub tipo CK-MM é o indicador mais sensível de lesão muscular.[4] A persistência de níveis elevados de CK indica que existe agressão muscular contínua[24] Apesar de vários autores postularem vários níveis de CK para o diagnóstico de rabdomiólise, a magnitude destes valores é ainda arbitrária e não existe ainda um valor padrão estabelecido. Os níveis séricos de referência de CK são para os homens até 190 U/L e para as mulheres 167 U/L. Níveis de CK cinco vezes mais elevados do que os valores considerados normais (JF quaid?), constituem critério de diagnóstico de rabdomiólise[25, 26]. A “Clinical Advisory on Statins” define a ocorrência de rabdomiólise induzida por estatinas, quando os níveis de CK estão 10 vezes mais elevados do que o normalciteKhan, Kenneth, Pastemak , com níveis séricos de creatinina elevados e urina escura com mioglobínúria.[29, 30] Após a indução do dano muscular, os níveis de mioglobina excedem a concentração de proteínas do plasma, alcançando os glomérulos e podendo ser excretados na urina. A mioglobínúria não ocorre sem rabdomiólise, mas pode ocorrer rabdomiólise sem mioglobínúria [30]. Apesar de a mioglobina e a mioglobínúria serem parâmetros utilizados para definir rabdomiólise, a sua sensibilidade e especificidade são afectados por muitos factores.[4]

Não é clara a frequência com que ocorre miotoxicidade durante a terapia com estatinas. As revisões bibliográficas de casos clínicos, têm mostrado patologia miopática em menos de 0,1% dos doentes.[31, 32] Cerca de um quarto dos doentes refere mialgia, com sintomas musculares minor em 5-7% dos doentes.[30, 32, 33]

Apesar de as causas de rabdomiólise serem muito diversas, o seu resultado é comum e culmina com a destruição do miócito e libertação do seu conteúdo para o sistema circulatório. No miócito normal, o sarcolema, uma fina membrana que envolve as fibras musculares estriadas, contém numerosas bombas que regulam o gradiente electroquímico celular. A concentração intracelular de sódio é normalmente mantida em 10mEq/l por uma bomba de sódio potássio adenosina trifosfato (Na/K-ATPase) membranar.[34] Esta bomba de sódio/potássio transporta activamente sódio do interior para o exterior da célula. Como resultado, o interior da célula tem uma carga mais negativa em relação ao exterior da célula, sendo as cargas positivas transportadas para o exterior da célula. O gradiente electroquímica que se estabelece, induz o transporte de sódio para o interior da célula e de cálcio para o exterior, através de uma proteína de troca iónica. Os níveis baixos de cálcio intracelular são mantidos por uma bomba (Ca²⁺ ATPase) que promove a entrada de cálcio no retículo sarcoplasmático e na mitocôndria.[35] Este processo necessita de consumo de energia. O esgotar dos níveis de ATP parece ser o resultado final das principais causas de rabdomiólise que conduz a disfunção da bomba Na/ K-ATPase, com o conseqüente aumento da permeabilidade aos iões sódio, pela destruição da membrana ou pela diminuição da produção de energia.[36]

A acumulação de sódio no citoplasma leva a um aumento da concentração intracelular de cálcio. Este excesso de cálcio faz aumentar a actividade intracelular de enzimas proteolíticas que degradam a célula muscular. À medida que o miócito é destruído, grandes quantidades de potássio, aldolase, fosfato, mioglobina, CK, lactato-desidrogenase, aspartato transaminase e ureia são libertados em circulação [34, 35, 37]. Em condições fisiológicas normais, a concentração de mioglobina no plasma é muito baixa (0 a 0,003 mg/dl). Se mais de 100g de musculo esquelético for danificado, os níveis de mioglobina ultrapassam a capacidade de ligação às proteínas do plasma e podem precipitar-se no filtrado glomerular. Excesso de mioglobina pode causar obstrução dos túbulos renais, nefrotoxicidade e falência renal aguda.[38, 39]

A rabdomiólise pode ter várias causas e em muitos casos, para haver rabdomiólise é necessário múltiplas agressões musculares ou uma lesão muscular pré-existente. [40] As causas mais comuns de rabdomiólise em adultos são: o uso de drogas ilícitas, abuso de álcool, certos medicamentos, problemas musculares,

traumatismos, síndrome neuroléptico maligno (NMS), convulsões e imobilizações prolongadas.[40] No entanto, em crianças as causas mais comuns são: miosites virais, traumatismos, patologias do tecido conjuntivo, excesso de exercício e abuso de medicação.[39]

O diagnóstico definitivo de rbdomiólise deve ser feito com recurso a exames laboratoriais tais como CK e mioglobínúria.[4]

Ao contrário da sinvastatina, que foi a medicação utilizada neste estudo, a Crestatina é a estatina mais implicada no fenómeno de rbdomiólise[3], porém a primeira é a mais utilizada na terapêutica das deslipidémias. Por este facto, a sinvastatina foi a estatina seleccionada para a realização deste estudo, em dose próxima da utilizada com objectivo terapêutico da deslipidémia, sem obter qualquer evidência de rbdomiólise. Em contexto clínico, raros são os doentes que se encontram em monoterapia com sinvastatina, podendo estar expostos a outros fármacos ou substâncias não farmacológicas, como suplementos alimentares que contribuam para o aumento do risco de rbdomiólise.

Numa sociedade em que as doenças cardiovasculares são cada vez mais prevalentes, torna-se importante saber qual o papel dos medicamentos utilizados na terapêutica destas patologias, nomeadamente a sinvastatina. A sinvastatina tem um importante risco de desencadear lesão muscular que pode também envolver os músculos que participam na função e equilíbrio do aparelho estomatognático. Os músculos mastigadores participam do sistema temporomandibular, em conjunto com a articulação temporomandibular (ATM). As disfunções temporomandibulares (DTM) podem ser causa ou consequência de lesão ou patologia de qualquer dos componentes do sistema temporomandibular: músculos ou articulação. A DTM é caracterizada clinicamente por dor na região temporomandibular ou nos músculos mastigadores, dor irradiada para a região supraciliar, face, ombros, pescoço, ouvidos; cefaleias, estalidos, limitação da abertura bucal, desvios na abertura bucal e bruxismo. A sintomatologia pode ser uni ou bilateral.[41, 42, 43]

O sistema temporomandibular consiste essencialmente em dois componentes fundamentais: a articulação temporomandibular e o sistema neuromuscular a ela associado. Uma disfunção temporomandibular pode ser o resultado de qualquer defeito num destes dois sistemas. Os sintomas podem ser uni ou bilaterais e envolver a face, a cabeça e a mandíbula.[43]

A DTM possui uma etiologia multifactorial e juntamente com os hábitos para-funcionais pode ser origem ou agravar outros maus hábitos que podem aumentar a actividade dos músculos mastigadores.[44] Quando existe lesão muscular, como o que existe na rabdomiólise, o equilíbrio do sistema estomatognático e da ATM, bem como dos restantes músculos mastigadores é afectado.

Seria interessante medir os níveis de ácido láctico nos restantes músculos mastigadores, para saber se, em caso de rabdomiólise do músculo digástrico, os restantes músculos mastigadores teriam uma actividade aumentada. Sempre que há uma alteração de um dos componentes do sistema mastigatório, poderá levar a um desequilíbrio deste sistema, conduzindo potencialmente a DTM.

A DTM raramente tem um único factor desencadeante.[1] Deste modo, o fenómeno de rabdomiólite pode ter um importante papel na DTM, principalmente em doentes tratados com sinvastatina.[4, 21]

Em estudos posteriores, com concentrações mais elevadas de sinvastatina, seria interessante a pesquisa de alterações da ATM. Deste modo, poder-se-ia inferir se a lesão dos músculos mastigatórios estaria relacionada ou não com qualquer tipo de dano articular.

A terapia da rabdomiólise passa pela reposição de fluidos e electrólitos, possuir uma via urinária desobstruída e pela prevenção de uma insuficiência renal aguda.[21]

É fundamental a descoberta de um biomarcador específico para a detecção de lesão muscular provocada por estatinas, patologia que não é totalmente conhecida e cujos mecanismos de catabolismo muscular e atrofia seriam importantes clarificar.

Os estudos prospectivos de seguimento de doentes com rabdomiólise induzida por estatinas são necessários para perceber todos os problemas metabólicos envolvidos nesta situação e no seu tratamento; bem como da possível interacção farmacológica e de suplementos alimentares capazes de conduzir a rabdomiólise, em doentes tratados com estatinas.

Conclusão

Com a realização deste trabalho, não é possível concluir que a sinvastatina tenha um efeito directo sobre o músculo do digástrico, com indução de lesão morfológica.

Não é possível a associação das alterações da área média das fibras musculares do músculo digástrico em corte transversal que foram observadas, com disfunção temporomandibular.

Doses elevadas de sinvastatina são comprovadamente indutoras de rabdomiólise, mas fica por esclarecer a diferente susceptibilidade dos músculos mastigadores em relação a outros grupos musculares e, o seu possível impacto na manutenção do equilíbrio e função do aparelho estomatognático.

Agradecimentos

Um especial agradecimento ao meu Orientador, Dr. Rodrigo Farinha, pelo apoio e ajuda incondicional na realização deste trabalho.

Ao Prof. Doutor António Manuel Silvério Cabrita, o meu obrigado por todos os seus ensinamentos transmitidos e pela disponibilidade sempre presente.

Quero igualmente agradecer ao Dr. Gustavo Barandas e à Dr. Rute Duarte, pelo apoio que me foi dado na realização deste trabalho experimental e ao Engenheiro José Ricardo Cabeças pelo apoio na formatação do trabalho em $\text{L}^{\text{A}}\text{T}_{\text{E}}\text{X}$.

Bibliografia

- [1] Okeson, J.P., Tratamento das desordens Temporomandibulares e Oclusão. 6ª Edição.
- [2] Katzung, B.G., Farmacologia Básica e Clínica. 10ª Edição: p. 515.
- [3] Magalhaes, M.E., [Mechanisms of rhabdomyolysis with statins]. Arq Bras Cardiol, 2005. 85 Suppl 5: p. 42-4.
- [4] Khan, F.Y., Rhabdomyolysis: a review of the literature. The Journal of Medicine, 2009.
- [5] Siddique, H., Rhabdomyolysis and Acute Renal Failure Due to Simvastatin and Amiodarone. British Journal of Cardiology, 2008.
- [6] Sirvent, P., et al., Simvastatin induces impairment in skeletal muscle while heart is protected. Biochem Biophys Res Commun, 2005. 338(3): p. 1426-34.
- [7] Pierce, L.R., D.K. Wysowski, and T.P. Gross, Myopathy and rhabdomyolysis associated with lovastatin-gemfibrozil combination therapy. JAMA, 1990. 264(1): p. 71-5.
- [8] Baker, Molecular clues into the pathogenesis of statin-mediated muscle toxicity. Muscle Nerve. 2004: p. 572-80.
- [9] Sirvent, P., et al., Simvastatin triggers mitochondria-induced Ca²⁺ signaling alteration in skeletal muscle. Biochem Biophys Res Commun, 2005. 329(3): p. 1067-75.
- [10] Westwood, F.R., et al., Statin-induced muscle necrosis in the rat: distribution, development, and fibre selectivity. Toxicol Pathol, 2005. 33(2): p. 246-57.

- [11] MRC/BHF, Heart Protection Study of cholesterol lowering with simvastatin in 20,536 high-risk individuals: a randomised placebo-controlled trial. 2002.
- [12] Cannon, C.P., et al., Intensive versus moderate lipid lowering with statins after acute coronary syndromes. *N Engl J Med*, 2004. 350(15): p. 1495-504.
- [13] Sever, P.S., et al., Prevention of coronary and stroke events with atorvastatin in hypertensive patients who have average or lower-than-average cholesterol concentrations, in the Anglo-Scandinavian Cardiac Outcomes Trial–Lipid Lowering Arm (ASCOT-LLA): a multicentre randomised controlled trial. *Lancet*, 2003. 361(9364): p. 1149-58.
- [14] Graham, A., Incidence of hospitalized rhabdomyolysis in patients treated with lipid-lowering drugs. 2004.
- [15] Staffa, J.A., J. Chang, and L. Green, Cerivastatin and reports of fatal rhabdomyolysis. *N Engl J Med*, 2002. 346(7): p. 539-40.
- [16] Kenneth, G., Clinical Perspectives of Statin-Induced Rhabdomyolysis. *The American Journal of Medicine*, 2006.
- [17] Omar, M.A., J.P. Wilson, and T.S. Cox, Rhabdomyolysis and HMG-CoA reductase inhibitors. *Ann Pharmacother*, 2001. 35(9): p. 1096-107.
- [18] Chang, J., Rhabdomyolysis with HMG-CoA reductase inhibitors and gemfibrozil combination therapy. 2004.
- [19] Jacobson, E.R., Myositis and rhabdomyolysis associated with concurrent use of simvastatin and nefazodone. 1997.
- [20] Schmassmann, A., Rhabdomyolysis due to interaction of simvastatin with mibefradil. 1998.
- [21] Siddique, H., Rhabdomyolysis and Acute Renal Failure Due to Simvastatin and Amiodarone. 2008.
- [22] Vladutiu, Genetic risk factors and metabolic abnormalities associated with lipid lowering therapies.
- [23] Phillips, A.M., Myotoxic reactions to lipid-lowering therapy are associated with altered oxidation of fatty acids. 2005.

- [24] Minnema, B.J., et al., A case of occult compartment syndrome and nonresolving rhabdomyolysis. *J Gen Intern Med*, 2008. 23(6): p. 871-4.
- [25] Sauret, J.M., G. Marinides, and G.K. Wang, Rhabdomyolysis. *Am Fam Physician*, 2002. 65(5): p. 907-12.
- [26] Lane, D.P., Rhabdomyolysis has many causes, including statins, and may be fatal.²⁷.
- [27] Pasternak, Clinical Advisory on the use and safety of statins. 2002.
- [28] Antonelli, M., Clinical perspectives of statin-induced rhabdomyolysis. 2006.
- [29] RC, P., Clinical advisory on the use and safety os statins. 2002.
- [30] M., S., Meta-analysis of Drug-induced Adverse Events Associated with Intensive-dose Statin Therapy. 2007.
- [31] Harper, A., The Broad Spectrum of Statin Myopathy: from Myalgia to Rhabdomyolysis. 2007.
- [32] Ballantyne, Risk for Myopathy with Statin Therapy in High-Risk Patients. 2003.
- [33] Arora, R., M. Liebo, and F. Maldonado, Statin-induced myopathy: the two faces of Janus. *J Cardiovasc Pharmacol Ther*, 2006. 11(2): p. 105-12.
- [34] Luck, R.P. and S. Verbin, Rhabdomyolysis: a review of clinical presentation, etiology, diagnosis, and management. *Pediatr Emerg Care*, 2008. 24(4): p. 262-8.
- [35] Zager, R.A., Rhabdomyolysis and myohemoglobinuric acute renal failure. *Kidney Int*, 1996. 49(2): p. 314-26.
- [36] Knochel, J.P., Mechanisms of rhabdomyolysis. *Curr Opin Rheumatol*, 1993. 5(6): p. 725-31.
- [37] Huerta-Alardín, Rhabdomyolysis- an overview for clinicians. 2005.
- [38] Vanholder, R., et al., Rhabdomyolysis. *J Am Soc Nephrol*, 2000. 11(8): p. 1553-61.
- [39] Mannix, R., et al., Acute pediatric rhabdomyolysis: causes and rates of renal failure. *Pediatrics*, 2006. 118(5): p. 2119-25.

- [40] Melli, G., V. Chaudhry, and D.R. Cornblath, Rhabdomyolysis: an evaluation of 475 hospitalized patients. *Medicine (Baltimore)*, 2005. 84(6): p. 377-85.
- [41] Pollmann, Sounds produced by the mandibular joint in a sample of healthy workers. 1993.
- [42] Kafas, Temporomandibular joint pain: diagnostic characteristics of chronicity. 2007.
- [43] Kafas, Assessment of pain in temporomandibular disorders: the biopsychosocial complexity. 2006: p. 45-149.
- [44] Molina, O.F., et al., Oral jaw behaviors in TMD and bruxism: a comparison study by severity of bruxism. *Cranio*, 2001. 19(2): p. 114-22

Anexo

Para a realização deste trabalho experimental, foi da responsabilidade do aluno:

- a recolha de informação bibliográfica para enquadramento do tema,
- a participação na necrópsia dos animais e no processamento histológico das amostras do músculo digástrico,
- colheita fotográfica e análise morfométrica das lâminas de histologia do músculo digástrico.

