UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS

LETÍCIA DA COSTA SIQUEIRA

FOTOBIOMODULAÇÃO NO TRATAMENTO DE DISFUNÇÃO TEMPOROMANDIBULAR: ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO

ALFENAS/MG

2024

LETÍCIA DA COSTA SIQUEIRA

FOTOBIOMODULAÇÃO NO TRATAMENTO DE DISFUNÇÃO TEMPOROMANDIBULAR: ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO

Dissertação apresentada como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Área de concentração: Alterações Patológicas do Complexo Bucomaxilofacial.

Orientador: Prof. Dr. Daniel Augusto de Faria Almeida

ALFENAS/MG

2024

Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal de Alfenas
Biblioteca Central

da Costa Siqueira, Letícia.
Fotobiomodulação no tratamento de disfunção temporomandibular: ensaio clínico controlado randomizado / Letícia da Costa Siqueira. - Alfenas, MG, 2024.
112 f. : il. -

Orientador(a): Daniel Augusto de Faria Almeida.
Dissertação (Mestrado em Ciências Odontológicas) - Universidade Federal de Alfenas, Alfenas, MG, 2024.
Bibliografia.

1. Síndrome da Disfunção da Articulação Temporomandibular. 2. Terapia com Luz de Baixa Intensidade. 3. Placas Oclusais. 4. Qualidade de Vida. I. de Faria Almeida, Daniel Augusto, orient. II. Título.

Ficha gerada automaticamente com dados fornecidos pelo autor.

LETÍCIA DA COSTA SIQUEIRA

FOTOBIOMODULAÇÃO NO TRATAMENTO DE DISFUNÇÃO TEMPOROMANDIBULAR: ENSAIO CLÍNICO CONTROLADO RANDOMIZADO

O Presidente da banca examinadora abaixo assina a aprovação da Dissertação apresentada como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Ciências Odontológicas pela Universidade Federal de Alfenas. Área de concentração: Odontologia

Aprovada em: 22 de julho de 2024.

Prof. Dr. Daniel Augusto de Faria Almeida

Presidente da Banca Examinadora

Instituição: Universidade Federal de Alfenas-MG

Prof. Dr. Leonardo Amaral dos Reis

Instituição: Universidade Federal de Alfenas-MG

Prof. Dr. Valentim Adelino Ricardo Barão

Instituição: Universidade Estadual de São Paulo - Campinas-SP

Documento assinado eletronicamente por **Daniel Augusto de Faria Almeida**, **Professor(a) do Magistério Superior**, em 22/07/2024, às 11:05, conforme horário oficial de Brasília, com fundamento no art. 6º, § 1º, do Decreto nº 8.539, de 8 de outubro de 2015.

A autenticidade deste documento pode ser conferida no site https://sei.unifal-mg.edu.br/sei/controlador_externo.php?acao=documento_conferir&id_orgao_acesso_externo=0, informando o código verificador **1293343** e o código CRC **629817CE**.

Dedico este trabalho à memória da minha avó Maria Tereza. Sinto saudades da “casa da vó”, das nossas conversas, do piano e de estudar ao seu lado enquanto ela fazia tricô.

AGRADECIMENTOS

Foi um período intenso de aprendizado e crescimento, estes dois anos de mestrado. Realizar uma pesquisa clínica foi um desafio e ao mesmo tempo uma experiência de imenso valor, não apenas pela contribuição ao campo científico, mas também pelo impacto direto e positivo na qualidade de vida dos pacientes envolvidos. Diante disso, não poderia deixar de agradecer a todas as pessoas que fizeram parte dessa trajetória.

Primeiramente à minha família, a base de tudo que o sou e de tudo o que virei a ser. Seguir a área acadêmica é muito mais que um sonho, pois a educação sempre foi algo muito valorizado em nossa casa. Pai e mãe, é uma conquista nossa. Sempre que preciso, recebo conforto e incentivo e nos momentos de felicidade é com vocês que quero comemorar. Sou abençoada por ter uma família tão maravilhosa, unida e presente em todos os momentos. Aos meus pais, irmão, noivo, sogros, cunhados, sobrinho, tios e primos, vocês são tudo em minha vida e têm todo o meu amor.

Ao meu orientador Daniel, gostaria de expressar minha profunda gratidão por todo o apoio e confiança depositados em mim nesse período, afinal, liderar uma pesquisa clínica não foi nada fácil. Desde a graduação, você tem sido um professor exemplar, sempre ensinando com paciência e dedicação. Aprendi e continuo aprendendo muito com você, não apenas sobre a área de estudo, mas também sobre ética, liderança e trabalho em equipe.

À família que o programa de pós-graduação me deu, os DTMers: Guilherme, Mariana, Thamires, Pedro, Sarah, Lara, Ariadne e César. Vocês são alunos maravilhosos, responsáveis e super dedicados. Desejo tudo de melhor para vocês e que continuem alcançando tudo o que sonham. Foi um privilégio trabalhar ao lado de uma equipe tão talentosa.

Aos amigos e colegas de mestrado, como foi bom conviver com vocês. Apesar de nem sempre conseguirmos nos encontrar, guardo cada um com muito carinho no meu coração. À Camila, minha irmã de mestrado e parceira de pesquisa, aprendi tanto com você, sou grata por nossa amizade e sintonia. Henrique, companheiro de caminhada, obrigada pelas melhores conversas e dias felizes! A experiência na pós-graduação da UNIFAL foi enriquecedora e especial, graças ao ambiente acolhedor e ao apoio de todos vocês.

Aos professores da UNIFAL, em especial os professores Leandro e Leonardo que gentilmente emprestaram os equipamentos de fotobiomodulação de suas clínicas. A professora Marcela, obrigada por todo o apoio e orientação ao longo desses últimos anos. Seu exemplo como professora e tutora do grupo PET sempre me inspiraram a seguir a área acadêmica e a reabilitação oral.

A todos os pacientes que participaram da pesquisa, sua disposição em colaborar e compartilhar suas experiências foi crucial para o andamento e sucesso do estudo. Sem a sua participação e confiança, este projeto não teria sido possível. Seu envolvimento me fez reconhecer a importância do trabalho realizado e de como ele pode impactar positivamente a vida das pessoas.

Também gostaria de agradecer ao PPGCO e à Universidade Federal de Alfenas (UNIFAL), que tem sido minha segunda casa desde a graduação. À equipe e funcionários por sempre estarem dispostos a ajudar e criarem um ambiente propício para o aprendizado e a pesquisa. Aos alunos que acompanhei durante os estágios e só aumentaram a minha alegria em poder ensinar. Sempre guardarei as melhores lembranças dessa instituição que moldou minha trajetória acadêmica e pessoal.

A todos vocês, meu muito obrigada. A conclusão desta etapa é, sem dúvida, um reflexo do esforço, dedicação e apoio de cada um. Sou profundamente grata por tudo o que foi proporcionado e estou ansiosa para continuar contribuindo com a ciência, inspirada por todos que me apoiaram nesta jornada.

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior - Brasil (CAPES) - Código de Financiamento: 001.

RESUMO

O presente estudo teve como objetivo avaliar a eficácia da fotobiomodulação (FBM), do dispositivo oclusal (DO) e a combinação das terapias (DOL) nos sintomas da disfunção temporomandibular muscular (DTM), por meio de um ensaio clínico randomizado controlado. Com base no DC/TMD, os participantes foram divididos em três grupos: DO, L e DOL. Os grupos DO e DOL foram instruídos a usar o dispositivo durante o sono; nos grupos L e DOL, o protocolo de FBM (3J/cm2 por ponto) foi administrado em 5 sessões, uma vez por semana. A intensidade da dor foi avaliada por meio da Escala Visual Analógica (EVA), a mobilidade mandibular pela determinação da abertura bucal máxima não assistida e a qualidade de vida através do Oral Health Impact Profile (OHIP-14). A amostra contou com 99 participantes (DO (n=34), L (n=32) e DOL (n=33)), sendo 80 mulheres e 19 homens, com idade média de 31,54 ± 10,39 anos. Os resultados revelaram notável diminuição dos níveis de dor imediatamente após o tratamento em todos os períodos analisados nos grupos L e DOL ($p<0,05$), com maior eficácia do grupo DOL sobre o grupo DO até a segunda semana ($p<0,05$). Além disso, foi observada melhora significativa nos parâmetros de mobilidade mandibular imediatamente após o tratamento em todos os períodos avaliados no grupo L e no grupo DOL, exceto na última sessão ($p<0,05$). Quanto à qualidade de vida, todas as modalidades terapêuticas foram eficazes, com maiores escores do grupo L comparados tanto ao grupo DO, quanto ao grupo DOL durante a reavaliação ($p<0,05$). Tanto o DO quanto a FBM foram eficazes com superioridade da associação de terapias a curto prazo. Ao final do tratamento, a combinação de terapias não se mostrou superior ao uso isolado de qualquer uma delas.

Palavras-chave: Síndrome da Disfunção da Articulação Temporomandibular; Terapia com Luz de Baixa Intensidade; Placas Oclusais; Qualidade de Vida.

ABSTRACT

The present study aimed to evaluate the efficacy of photobiomodulation (PBMT), the occlusal device (OS), and the combination of therapies (OSL) on the symptoms of muscular temporomandibular dysfunction (TMD) through a randomized controlled clinical trial. Based on the DC/TMD, participants were divided into three groups: OS, L and OSL. The OS and OSL groups were instructed to use the device during sleep; in the L and OSL groups, the PBMT protocol (3J/cm² per point) was administered in 5 sessions, once a week. Pain intensity was assessed using the Visual Analog Scale (VAS), mandibular mobility by determining the maximum unassisted mouth opening, and quality of life through the Oral Health Impact Profile (OHIP-14). The sample included 99 participants (OS (n=34), L (n=32), and OSL (n=33)), with 80 women and 19 men, with a mean age of 31.54 ± 10.39 years. The results revealed a notable decrease in pain levels immediately after treatment in all periods analyzed in the L and OSL groups ($p<0.05$), with greater efficacy of the OSL group over the OS group up to the second week ($p<0.05$). Additionally, significant improvement in mandibular mobility parameters was observed immediately after treatment in all evaluated periods in the PBM and OSL groups, except in the last session ($p<0.05$). All therapeutic modalities were effective regarding quality of life, with higher scores in the PBM group compared to both the OS and OSL groups during reevaluation ($p<0.05$). The OS and PBMT were effective, with the combination of therapies being superior in the short term. At the end of the treatment, the combination of therapies was not superior to the isolated use of either therapy.

Keywords: Temporomandibular Joint Dysfunction Syndrome; Low-Level Light Therapy; Occlusal Splints; Quality of life.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

AD	Aconselhamento Direcionado
ATM	Articulação Temporomandibular
BAI	Inventário de Ansiedade de Beck
DC/TMD	Critérios Diagnósticos para Desordens Temporomandibulares
DDcR	Deslocamento do Disco com Redução
DM	Dor Miofascial
DO	Dispositivo Oclusal
DOL	Dispositivo Oclusal + Laser
DOM	Dispositivo Oclusal Macio
DOR	Dispositivo Oclusal Rígido
DOSM	Dispositivo Oclusal Semi-Macio
DTM	Disfunção Temporomandibular
DTMA	Disfunção Temporomandibular Articular
EMG	Eletromiografia
EVA	Escala Visual Analógica
FBM	Fotobiomodulação
GC	Grupo Controle
GE	Grupo Estudo
HADS	Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão
IDATE-S e T	Inventário de Ansiedade Traço-Estado
L	Laser
NIDCR	National Institute of Dental and Craniofacial Research
OHIP-14	Oral Health Impact Profile
OPPERA	Orofacial Pain: Prospective Evaluation and Risk Assessment
OS	Occlusal Splint
OSL	Occlusal Splint + Laser
PBMT	Photobiomodulation Therapy
RR	Risco Relativo
TENS	Transcutaneous Electrical Nerve Stimulation
TM	Terapia Manual
TMD	Temporomandibular Dysfunction

TMJ	Temporomandibular Joint
USG	Ultrassonografia

SUMÁRIO

1	**INTRODUÇÃO GERAL**	**12**
2	**REVISÃO LITERATURA**	**14**
2.1	CONCEITO E EPIDEMIOLOGIA	14
2.2	ETIOLOGIA	15
2.3	DIAGNÓSTICO	16
2.4	TRATAMENTO	18
2.4.1	**Dispositivos oclusais**	**18**
2.4.2	**Fotobiomodulação**	**19**
2.5	AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DAS TERAPIAS	20
2.5.1	**Escala Visual Analógica de Dor (EVA)**	**20**
2.5.2	**Abertura Máxima sem Dor**	**21**
2.5.3	**OHIP-14**	**21**
3	**ARTIGO 1 – PHOTOBIOMODULATION IN THE TREATMENT OF TEMPOROMANDIBULAR DYSFUNCTION: A RANDOMIZED CONTROLLED CLINICAL TRIAL**	**22**
4	**CONSIDERAÇÕES FINAIS**	**46**
	REFERÊNCIAS	**47**
	APÊNDICES	**50**
	ANEXOS	**65**

1 INTRODUÇÃO GERAL

A Disfunção Temporomandibular (DTM) é definida como um conjunto de distúrbios que envolvem os músculos mastigatórios, a articulação temporomandibular (ATM) e estruturas associadas (Fernandes *et al.*, 2017; Borges *et al.*, 2018). Estima-se que 31% de adultos/idosos e 11% de crianças/ adolescentes sejam acometidos, com maior proporção do gênero feminino (Valesan *et al.*, 2021). Sua etiologia é multifatorial, associada a fatores físicos, psicológicos e sociais (Manfredini;Lombardo;Siciliani, 2017). Os sinais e sintomas mais prevalentes incluem dor musculoesquelética, dores na cabeça e na orelha, zumbido, sensibilidade muscular e da ATM à palpação, limitação e/ou incoordenação de movimentos mandibulares e ruídos articulares (de Godoy *et al.*, 2015; Sobral *et al.*, 2018).

O correto diagnóstico dessas disfunções, sejam musculares e/ou articulares, é fundamental para o sucesso do tratamento (Valesan *et al.*, 2021). Para isso, há ferramentas de classificação disponíveis na literatura que auxiliam na padronização, como os Critérios Diagnósticos para Disfunções Temporomandibulares (DC/TMD) (Niemela *et al.*, 2012; de Godoy *et al.*, 2015; Valesan *et al.*, 2021; Carvalho *et al.*, 2023). Em decorrência de sua etiologia multifatorial, o tratamento é multidisciplinar, com aplicação de medidas terapêuticas iniciais conservadoras, reversíveis e individualizadas, como aconselhamento, acupuntura, dispositivo oclusal (DO) e a fotobiomodulação (FBM) (Fernandes *et al.*, 2017; Carvalho *et al.*, 2019).

Os DOs constituem a modalidade terapêutica mais documentada e utilizada para o tratamento de DTM (Conti *et al.*, 2012; Michelotti *et al.*, 2012). Sua utilização promove uma oclusão de relação cêntrica ideal, de modo a eliminar interferências posteriores, orientar os dentes anteriores e reduzir a atividade neuromuscular (Niemela *et al.*, 2012). A placa estabilizadora, confeccionada para o arco maxilar, é indicada para tratamento de desordens musculares dolorosas e apresenta várias técnicas de confecção (Michelotti *et al.*, 2012). Dentre as técnicas de confecção, na simplificada descrita por Okeson (2021), a posição exata da mandíbula é determinada através da ação direta dos músculos, ou seja, dispensa a montagem de modelos de gesso em articulador além de permitir a instalação da placa na mesma consulta em que foi feita a moldagem.

A FBM destaca-se no tratamento da dor relacionada à DTM por suas

propriedades que influenciam na síntese e liberação de substâncias analgésicas, melhoram a microcirculação local e oxigenação de células hipóxicas, promovendo o relaxamento muscular e a remoção de subprodutos metabólicos, rompendo o ciclo de dor e espasmo (Uemoto *et al.*, 2013; de Godoy *et al.*, 2015; Carvalho *et al.*, 2023). Como efeitos, espera-se a diminuição da dor através da redução do número de trigger points e do escore total de dor e melhora da abertura bucal durante a função (Carvalho *et al.*, 2023). Trata-se de uma técnica não invasiva, bem aceita pelos pacientes e de custo relativamente baixo (Borges *et al.*, 2018).

Para a análise da efetividade dessas terapias, a mensuração da dor através da Escala Visual Analógica (EVA) tem sido aplicada em diversos estudos, visto que a dor musculoesquelética é o principal sintoma clínico de DTM (Dantas *et al.*, 2020; Aisaiti *et al.*, 2021). Como a dor pode gerar limitações ou restrições nos movimentos mandibulares, é importante avaliar a abertura bucal dos pacientes, ou seja, a mobilidade mandibular (Dantas *et al.*, 2020). Além dessas avaliações, é necessário considerar os fatores psicossociais através de questionários que avaliem o impacto dos procedimentos terapêuticos na qualidade de vida dos pacientes (Fernandes *et al.*, 2017; Borges *et al.*, 2018). Sendo assim, o Oral Health Impact Profile (OHIP-14) constitui-se como uma ferramenta para avaliar o desconforto, a disfunção e o impacto auto percebido das doenças bucais nas atividades diárias dos pacientes (Slade, 1997).

Dada a escassez de estudos que descrevem protocolos precisos e também a combinação de abordagens terapêuticas conservadoras, o presente estudo propôs avaliar o uso isolado e combinado do DO, a partir da técnica de confecção simplificada, e da FBM para o controle da dor e melhoria da mobilidade mandibular em pacientes com DTM muscular.

2 REVISÃO LITERATURA

2.1 CONCEITO E EPIDEMIOLOGIA

A Disfunção Temporomandibular (DTM) é definida como um conjunto de distúrbios que envolvem os músculos mastigatórios, a articulação temporomandibular (ATM) e estruturas associadas (Fernandes *et al.*, 2017; Borges *et al.*, 2018). Altamente prevalentes na população em geral, as DTMs configuram-se como uma das principais causas de dor a qual não possui origem dentária que afeta a região orofacial (Ferreira *et al.*, 2013; Hanna *et al.*, 2021).

O estudo epidemiológico de Gonçalves *et al.* (2010), avaliou a prevalência de sintomas de DTM em uma amostra urbana representativa da população brasileira. A amostra incluiu 1.230 habitantes com idade entre 15 e 65 anos, sendo 51,5% mulheres. Os resultados do estudo mostraram que pelo menos um sintoma de DTM foi relatado por 39,2% dos indivíduos, sendo que a dor relacionada à DTM foi notada por 25,6% da população; o som da ATM foi o sintoma mais comum, seguido por dor na ATM e dor nos músculos mastigatórios. Todos os sintomas foram mais prevalentes em mulheres do que em homens. Em particular, o risco relativo (RR) de pelo menos um sintoma de DTM em mulheres foi de 1,31 (IC 95% = 1,14 a 1,52). Quando pelo menos dois sintomas estavam presentes, o RR foi de 1,93 (IC 95% = 1,49 a 2,51). Para três ou mais sintomas de DTM, o RR foi de 2,49 (IC 95% = 1,67 a 3,71). As mulheres também foram mais propensas que os homens a ter dor por DTM (RR = 1,78; IC 9% = 1,45 a 2,18). Os autores concluíram que os sintomas individuais ou combinados são prevalentes na população urbana brasileira e são mais frequentes em mulheres do que em homens.

Valesan *et al.* (2021) realizaram uma revisão sistemática de estudos transversais com o objetivo de avaliar a prevalência das DTM na população geral. Dos 21 trabalhos incluídos com um total de 11.553 indivíduos, houve maior prevalência do gênero feminino (6.099 mulheres; 4.078 homens, 1.358 sexo não especificado; proporção de mulheres para homens de 1,5) e a idade média dos participantes variou entre 7 e 75 anos. A partir da síntese quantitativa e qualitativa dos dados, a prevalência global de DTM obtida foi de aproximadamente 31% para adultos/idosos e 11% para crianças/adolescentes.

Quanto à população brasileira, Melo *et al.* (2023) realizaram uma revisão sistemática de 11 estudos que avaliaram a prevalência de DTM em 6365 participantes de todas as regiões do Brasil. Os resultados mostraram que a prevalência de DTM na população brasileira é de 33,6%, com maior proporção do gênero feminino. A prevalência foi maior em participantes com idade entre 20 e 40 anos, e em participantes com histórico familiar de DTM. Os tipos mais comuns de DTM na população brasileira foram: dor miofascial (DM) (55,7%), deslocamento do disco com redução (DDcR) (24,1%) e disfunção temporomandibular articular (DTMA) (16,8%). Os autores recomendaram que os profissionais de saúde estejam cientes da alta prevalência de DTM na população brasileira para que possam diagnosticar e tratar a condição precocemente. Também destacam que sejam realizados mais estudos para avaliar os fatores de risco e os mecanismos etiológicos das DTMs na população brasileira.

2.2 ETIOLOGIA

Suvinen *et al.* (2005) discutiram os diferentes modelos etiológicos propostos para as DTMs. Os modelos mais antigos, conhecidos como unidimensionais, atribuíam a causa das DTM a um único fator, como a oclusão dentária ou o estresse. No entanto, estes não foram capazes de explicar a complexidade das disfunções. Modelos mais recentes, conhecidos como multidimensionais ou biopsicossociais, são mais consistentes com as evidências científicas disponíveis e reconhecem que as DTMs são causadas por uma combinação de fatores físicos, psicológicos e sociais. Assim, o modelo biopsicossocial envolve uma abordagem adequada para a compreensão da doença como um todo, de modo a melhorar o processo diagnóstico, o tratamento e a qualidade de vida dos pacientes afetados.

O trabalho de Slade *et al.* (2016) apresenta uma revisão dos principais resultados de uma série de estudos epidemiológicos sobre dor associada à DTM, realizados sob o financiamento do National Institute of Dental and Craniofacial Research (NIDCR) dos Estados Unidos. Os estudos OPPERA (Orofacil Pain: Prospective Evaluation and Risk Assessment), realizados nos Estados Unidos, Canadá, Europa e Austrália, tiveram como objetivo identificar fatores de risco para o desenvolvimento de DTM dolorosa. Dentre eles, foi relatado o histórico familiar de

DTM e doenças sistêmicas como artrite reumatóide e fibromialgia, estresse, bruxismo, outros hábitos parafuncionais e traumas. O artigo conclui que os estudos OPPERA forneceram uma base sólida para o desenvolvimento de novas estratégias de prevenção e tratamento da DTM.

Apesar de uma relação causal entre má oclusão e DTM ser defendida há anos, estudos recentes têm demonstrado o contrário. Manfredini;Lombardo,Siciliani (2017), realizaram uma revisão sistemática de estudos epidemiológicos sobre a associação entre a oclusão dentária e DTM. Os estudos incluídos deveriam realizar uma análise de variáveis como sinais, sintomas e diagnósticos específicos por meio de análise de variáveis únicas ou múltiplas, além de utilizarem métodos validados para diagnóstico. Dentre os 25 estudos incluídos, apenas em alguns artigos sobre populações de pacientes ou não pacientes, as análises de múltiplas variáveis descreveram associações com possível relevância clínica. Cada um desses artigos identificou não mais do que duas variáveis oclusais associadas à DTM entre todo o espectro de características sob investigação. Por outro lado, essas variáveis não foram associadas à DTM em mais de um artigo. Assim, os resultados levaram a concluir que a oclusão dentária não deve ser considerada fator causal das disfunções DTMs.

2.3 DIAGNÓSTICO

O diagnóstico de DTM é complexo e requer uma abordagem abrangente através de anamnese e exame clínico completos e, quando necessário, exames complementares. A integração das informações obtidas permite identificar o histórico da dor, fatores desencadeantes, agravantes e avaliação dos sinais e sintomas, de modo a estabelecer um correto diagnóstico e plano de tratamento. Como auxiliar no método diagnóstico, há diversas ferramentas de classificação disponíveis na literatura, com destaque aos Critérios Diagnósticos para Desordens Temporomandibulares (DC/TMD) (Ferreira *et al.*, 2013).

Schiffman *et al.* (2014) realizaram um estudo baseado no DC/TMD incorporando revisões e atualizações através de novas evidências científicas e consenso entre especialistas. Essa ferramenta apresenta uma estrutura bi-axial, sendo Eixo I: Diagnostica os tipos de DTM mais comuns, como DTMA e DM, baseado em critérios específicos de dor, limitação funcional e achados físicos; Eixo II: Avalia

fatores psicossociais e comportamentais que podem influenciar o manejo e prognóstico das DTMs, incluindo ansiedade, depressão, estresse, problemas de sono e comportamentos parafuncionais. Suas aplicações envolvem o diagnóstico rápido e preciso de DTMs em diferentes contextos clínicos, planejamento de tratamentos personalizados direcionados à causa principal, avaliação da eficácia de intervenções terapêuticas e investigação clínica, favorecendo estudos comparativos e o desenvolvimento de novos tratamentos. Segundo os autores, os DC/TMD representam um avanço significativo no diagnóstico e manejo dos DTMs, oferecendo uma abordagem sistemática, padronizada e baseada em evidências. Sua aplicação em ambientes clínicos e de pesquisa contribui para melhorar o cuidado dos pacientes com DTMs.

O Eixo I é dividido em três grandes grupos:

a) DTM Muscular (Grupo I):

- Mialgia: dor muscular associada à função mandibular, à palpação muscular, ou ambas.
- Mialgia Localizada: dor restrita a um local específico.
- Mialgia Generalizada: dor difusa que envolve múltiplos músculos.
- Miosite: inflamação muscular.
- Espasmo: contração involuntária sustentada dos músculos.
- Fibromialgia: dor muscular difusa associada a outros sintomas sistêmicos.

b) DTM Articular (Grupo II):

- Deslocamento de Disco com Redução: deslocamento do disco articular que retorna à posição normal durante a abertura e fechamento da boca.
- Deslocamento de Disco sem Redução com Limitação de Abertura: deslocamento do disco articular que não retorna à posição normal, limitando a abertura da boca.
- Deslocamento de Disco sem Redução sem Limitação de Abertura: deslocamento do disco que não retorna à posição normal, mas sem limitação significativa na abertura da boca.

c) DTM Degenerativa e Inflamatória (Grupo III):

- Artralgia: dor nas articulações temporomandibulares associada à função mandibular, à palpação, ou ambas.
- Osteoartrite: degeneração da cartilagem articular e alterações ósseas subjacentes, com ou sem dor.
- Osteoartrose: forma de osteoartrite sem sintomas dolorosos.

2.4 TRATAMENTO

Em decorrência da etiologia multifatorial das DTM, muitas opções de tratamento têm sido propostas. É indicado priorizar abordagens conservadoras e reversíveis, consideradas mais eficazes no alívio dos sintomas, redução da dor e restabelecimento das funções orofaciais e cervicais do crânio (Michelotti *et al.*, 2012; Carvalho *et al.*, 2019). Essa abordagem envolve o uso de DO, terapia cognitivo-comportamental, terapia farmacológica, estimulação elétrica nervosa transcutânea (TENS), acupuntura, terapias manuais, ultrassom e FBM.

Nesse contexto, Melo *et al.* (2020) avaliaram, através de um ensaio clínico randomizado, a eficácia de três terapias conservadoras para o tratamento da dor e da ansiedade associadas às DTMs. Assim, 89 pacientes com diagnóstico de DTM foram divididos em quatro grupos de tratamento: DO + Aconselhamento Direcionado (AD) (n = 25); DO (n = 24); Terapia Manual (TM) (n = 21); e AD (n = 19). Os participantes foram avaliados quanto à dor, ansiedade e diagnóstico de DTM antes e após 1 mês de terapia. A dor foi medida por uma EVA; para avaliar a ansiedade foram utilizados a Escala Hospitalar de Ansiedade e Depressão (HADS), o Inventário de Ansiedade de Beck (BAI) e o Inventário de Ansiedade Traço-Estado (IDATE-S e T). Os quatro grupos obtiveram uma redução significativa na dor e nos sintomas de ansiedade 1 mês após a conclusão. A partir dos resultados, os autores concluíram que terapias foram eficazes na redução da dor e da ansiedade em pacientes com diagnóstico de DTM; porém, nenhum tratamento foi superior ao outro na redução das variáveis estudadas.

2.4.1 Dispositivos Oclusais

Os DOs constituem a modalidade terapêutica mais documentada e utilizada para o tratamento de DTM (Conti *et al.*, 2012; Michelotti *et al.*, 2012). Sua utilização

promove uma oclusão de relação cêntrica ideal, de modo a eliminar interferências posteriores, orientar os dentes anteriores e reduzir a atividade neuromuscular (Michelotti *et al.*, 2012; Niemela *et al.*, 2012). Zhang *et al.* (2020) avaliaram a eficácia do DO no tratamento de DTM. A revisão sistemática incluiu 22 ensaios clínicos randomizados com um total de 2.897 participantes. Os resultados mostraram que o DO promoveu uma redução significativa da dor, rigidez, limitação de movimento e da necessidade de cirurgia. A melhora foi observada em todos os tipos de DTM, incluindo DM, DDcR e DTMA. Entretanto, a resposta ao tratamento foi melhor em mulheres do que em homens, em participantes com DTM de leve a moderada do que em participantes com DTM grave e naqueles que usaram os dispositivos por pelo menos 6 meses. Os autores concluíram que o DO é uma opção de tratamento eficaz, tanto como tratamento primário quanto adjuvante em combinação com outras terapias, mas ressaltaram a necessidade da realização de mais ensaios clínicos randomizados de alta qualidade e a longo prazo sobre o tema.

A partir da hipótese de que o DO poderia reduzir o estresse oxidativo e melhorar os aspectos psicológicos da DTM, Alajbeg *et al.* (2020) realizaram um ensaio clínico randomizado incluindo 34 pacientes com DTM crônica. Os pacientes foram divididos em dois grupos, o Grupo 1 recebeu DO e o Grupo 2 não. Após a avaliação antes e depois de 6 meses de tratamento, os resultados mostraram que os pacientes que receberam DO tiveram uma redução significativa nos marcadores de estresse oxidativo no sangue, saliva e fluido gengival em comparação com os pacientes que não receberam a terapia. Também foi observada uma redução significativa nos sintomas de depressão e ansiedade em comparação com os pacientes que não receberam DO. Os pesquisadores concluíram que tais dispositivos são uma opção eficaz para o tratamento da DTM crônica e podem ajudar a reduzir o estresse oxidativo e melhorar os aspectos psicológicos envolvidos.

O DO estabilizador, confeccionado para o arco maxilar, é indicado para tratamento de desordens musculares dolorosas e apresenta várias técnicas de confecção (Michelotti *et al.*, 2012). Akat *et al.* (2023) avaliaram o efeito de três tipos de DO na atividade muscular mastigatória, espessura e comprimento da musculatura em pacientes com bruxismo. Os pesquisadores recrutaram 68 pacientes com bruxismo e os dividiram em quatro grupos com 17 participantes cada: Grupo controle (GC), DO Rígido (DOR), DO Macio (DOM) e DO Semi-Macio (DOSM). Os pacientes

foram avaliados antes e depois do uso dos dispositivos após três meses de tratamento por meio de ultrassonografia (USG) e eletromiografia (EMG). Os resultados do estudo mostraram que valores EMG em todos os grupos DO foram significativamente menores após o tratamento do que antes ($p<0,05$). Tais valores não diferiram no GC. Ao USG, a média da espessura muscular nos pacientes com bruxismo foi maior do que nos controles, e as maiores alterações na espessura muscular ocorreram com a DOR ($p<0,05$). Os pesquisadores concluíram que o DO é uma opção eficaz para o tratamento do bruxismo, sendo o DOR particularmente mais eficaz para reduzir a atividade muscular mastigatória e diminuir a espessura e o comprimento dos músculos mastigatórios.

2.4.2 Fotobiomodulação

A FBM destaca-se no tratamento da dor relacionada à DTM por suas propriedades analgésicas, anti-inflamatórias e regenerativas (Borges *et al.*, 2018; Carvalho *et al.*, 2019). Hanna *et al.* (2021) realizaram uma Revisão sistemática e meta-análise de ensaios clínicos randomizados controlados que avaliaram a eficácia da FBM no tratamento de DTM. O artigo discute seu potencial para ser uma terapia alternativa ou adjuvante. Dos 44 estudos incluídos, foi realizada metanálise de 32. A FBM foi eficaz na redução da dor, da limitação funcional e dos níveis de estresse oxidativo em pacientes com DTM; mais eficaz do que o placebo na redução da dor e da limitação funcional e não associada a eventos adversos graves. O protocolo de tratamento da FBM para DTM variou de acordo com os estudos. No entanto, a maioria utilizou lasers de baixa potência (entre 5 e 100 mW) aplicados à área da ATM ou aos músculos mastigatórios. A duração do tratamento variou de 5 a 30 minutos. A partir dos resultados, concluíram que a FBM é uma terapia promissora para o tratamento de DTM, porém mais pesquisas são necessárias para determinar a dose e o protocolo ideal.

2.5 AVALIAÇÃO DA EFETIVIDADE DAS TERAPIAS

2.5.1 Escala Visual Analógica de Dor (EVA)

Tendo em vista que a dor musculoesquelética é o principal sintoma clínico de DTM, a mensuração da dor através da EVA tem sido aplicada em diversos estudos para a análise da efetividade das terapias utilizadas (Dantas *et al.*, 2020; Aisaiti *et al.*, 2021).

2.5.2 Abertura Máxima sem Dor

Como a dor pode gerar limitações ou restrições nos movimentos mandibulares, é importante, também, avaliar a abertura bucal dos pacientes (Dantas *et al.*, 2020).

2.5.3 OHIP-14

Além dessas avaliações, é necessário considerar os fatores psicossociais através de questionários que avaliem o impacto dos procedimentos terapêuticos na qualidade de vida dos pacientes (Fernandes *et al.*, 2017; Borges *et al.*, 2018). Nesse sentido, Slade (1997) propôs um índice – Oral Health Impact Profile (OHIP) – com o objetivo de se avaliar o impacto de problemas bucais na qualidade de vida, a partir da percepção das pessoas acerca de disfunções, desconfortos e incapacidades por problemas na boca. Gabardo;Moysés,Moysés (2013) realizaram uma revisão sistemática da literatura com o objetivo de analisar a autopercepção de saúde bucal através do OHIP-14 e sua associação com diversos fatores. O estudo incluiu trabalhos publicados em bases de dados indexadas entre 2000 e 2012, que utilizaram o OHIP para avaliar a saúde bucal. Foram selecionados 20 estudos, com um total de 13.923 participantes. Os resultados indicaram que uma pior saúde bucal, medida pelo OHIP, esteve associada a aspectos sociodemográficos, clínicos, comportamentais e psicossociais e sua inter-relação. Segundo os autores, o OHIP se mostrou como um instrumento útil para avaliar a saúde bucal e identificar indivíduos com maior risco de impactos negativos na qualidade de vida relacionados à saúde bucal. Ainda destacaram a necessidade da realização de mais estudos sobre esse tema a fim de estimular o desenvolvimento de intervenções mais direcionadas e eficazes para a promoção de saúde.

3 ARTIGO 1 – PHOTOBIOMODULATION IN THE TREATMENT OF TEMPOROMANDIBULAR DYSFUNCTION: A RANDOMIZED CONTROLLED CLINICAL TRIAL

Artigo científico elaborado e submetido de acordo com as normas do periódico internacional Lasers in Medical Science.

ORIGINAL ARTICLE

Photobiomodulation in the Treatment of Temporomandibular Dysfunction: A Randomized Controlled Clinical Trial

Letícia da Costa Siqueira DDS[1], Guilherme Ferreira Bento [1], Camila Freire Brant DDS[1], Lélio Fernando Ferreira Soares MSc[2], Marcela Filié Haddad Danziger PhD[1], Carlos José Soares PhD[3], Daniel Augusto de Faria Almeida PhD[1]

[1]School of Dentistry, Alfenas Federal University (Unifal-MG), Alfenas, Minas Gerais, Brazil.

[2]Department of Diagnosis and Surgery, School of Dentistry at Araraquara, São Paulo State of University (FOAR/UNESP), São Paulo, Brazil

[3]Department of Operative Dentistry and Dental Materials, School of Dentistry, Federal University of Uberlândia - UFU, Uberlândia, Minas Gerais, Brazil.

ABSTRACT

Purpose: Evaluate the influence of Photobiomodulation Therapy (PBMT) through Low-Level Light Therapy (LLLT), occlusal splint (OS), and Occlusal Splint + Laser (OSL) on the symptoms of muscle-origin temporomandibular dysfunction (TMD) in a randomized clinical trial.

Methods: Diagnosed by DC/TMD, included participants were divided into three groups: OS, L, and OSL. OS and OSL groups used the device during sleep; in L and OSL groups, the PBMT protocol (3J/cm² per point) was administered in 5 weekly sessions. Pain was assessed using the Visual Analog Scale (VAS), mandibular mobility by maximum unassisted mouth opening, and quality of life by the Oral Health Impact Profile (OHIP-14).

Results: The sample included 99 participants (OS (n=34), L (n=32), and OSL (n=33)), with 80 women and 19 men, with an average age of 31.54 ± 10.39 years. There was a significant decrease in pain after treatment in L and OSL groups ($p<0.05$), with greater efficacy of OSL group over OS group until the second week ($p<0.05$). Significant improvement in mandibular mobility was also observed after treatment in L and OSL groups, except in the last session ($p<0.05$). Regarding quality of life, all therapies were effective, with higher scores in L group compared to OS and OSL groups during reevaluation ($p<0.05$).

Conclusion: All conservative therapies evaluated in this study were effective for the analyzed parameters, with emphasis on the combination of therapies, which provided immediate pain reduction due to PBMT and symptom stabilization through the continuous use of OS.

Keywords: Temporomandibular Joint Dysfunction Syndrome; Low-Level Light Therapy; Occlusal Splints; Quality of life; Conservative Treatment.

INTRODUCTION

Temporomandibular Dysfunction (TMD) is defined as a set of disorders involving the masticatory muscles, the temporomandibular joint (TMJ), and associated structures, affecting 31% of adults/elderly and 11% of children/adolescents [1, 2]. Its etiology is associated with physical, psychological, and social factors, supported by the biopsychosocial model [3]. Musculoskeletal pain in the lateral face, head, and neck is a main TMD symptom and can alter motor behavior, limiting mandibular movements [4-6]. Other common symptoms include joint noises, tinnitus, and a feeling of fullness in the ears, directly impacting the individual's quality of life [6, 7].

Due to its multifactorial characteristics, conservative therapies are the first choice of treatment for TMD [7, 8]. This approach involves occlusal splint (OS), cognitive-behavioral therapy, pharmacological therapy, transcutaneous electrical nerve stimulation (TENS), acupuncture, manual therapies, ultrasound, and photobiomodulation (PBMT) [1, 9].

OS is one of the most documented and widely used therapeutic modalities for the treatment of TMD [9, 10]. Among the fabrication methods, in the mixed technique described by Okeson [11], the exact position of the mandible is determined through the direct action of the muscles, without the need for mounting plaster models on an articulator, and it allows for installation in the same appointment. However, OS is not effective in all cases and depends on patient compliance [10].

As a treatment alternative, PBMT stands out for its analgesic, anti-inflammatory, and regenerative properties, which are capable of promoting muscle relaxation and dissolving trigger points [1, 12]. These properties have contributed to the increasing number of studies in recent years on the efficacy of PBMT, though there is high variability among them due to differences in parameters, lack of standardization, and small sample sizes [6, 13]. Therefore, more robust evidence is needed to evaluate its therapeutic effect in patients with TMD.

Given the scarcity of studies that describe precise protocols and the combination of conservative therapeutic approaches, the present study aimed to evaluate the isolated and combined use of the OS, utilizing the modified mixed fabrication technique, and PBMT in controlling pain, mandibular mobility, and oral health-related quality of life in patients with muscular TMD.

METHODOLOGY

This blinded, controlled, and randomized clinical study with a parallel model was conducted per the CONSORT protocol for conducting clinical studies (NCT05989217 Clinical Trials Protocol registration). The Human Research Ethics Committee of UNIFAL-MG approved the study protocol (protocol no. 66265922.7.0000.5142). After being informed about all the research details, the participants signed the Informed Consent Form, as required by the National Health Council.

The participants were divided in study groups based on the therapies received: OS Group, which served as the control group and received conventional treatment with an occlusal splint; L Group received PBMT with low-level laser therapy; and OSL Group received the combination of therapies (Table 1).

Table 1 – Distribution of Study Groups.

GROUP	THERAPY
OS	Occlusal Splint
L	Laser
OSL	Occlusal Splint + Laser

Participants

The study population consisted of participants presenting with pain in the masticatory muscles and/or TMJ and TMD of Muscular Origin according to the Diagnostic Criteria for TMD (DC/TMD) [14]. These participants were screened at the TMD Clinic of the School of Dentistry at UNIFAL-MG, where therapeutic procedures and data collection were conducted between April and November 2023.

Inclusion Criteria

Adults over the age of majority, of both sexes, regardless of race or socioeconomic status, were included, with their main complaint being pain in the TMJ or orofacial region, with or without limitation of mouth opening, diagnosed with muscular TMD using DC/TMD Axis 1. Participants were required to have a complete permanent dentition and functional occlusion.

Exclusion Criteria

Participants were excluded in cases of: congenital problems affecting the TMJ and/or orofacial and cervical region of the skull; neoplastic conditions; history of recent trauma to the orofacial/cervical region of the skull; prior use of any type of TMJ treatment device; current use of functional orthopedic appliances or fixed and/or removable orthodontic appliances; cleft lip and/or palate syndromes; severe psychiatric disorders; severe heart problems; severely compromised dental condition such as periodontitis and/or indication for endodontic treatment; use of topical or systemic photosensitizing medications; pregnant women; dermatological conditions in the area where irradiation would be performed; impaired cognitive capacity; history of cranial trauma related to the etiology of orofacial pain; migraines or intracranial disorders; use of medications for treating TMJ or muscle problems; other causes of orofacial pain such as caries, neuropathies, and fibromyalgia; inability to attend the clinic during the prescribed treatment period; insistence on specific treatments different from those studied; and presence of removable partial or complete dentures with distal extension.

Interventions/Therapies

Occlusal Splint Group (OS)

Participants allocated to this group received the OS fabricated using the modified simplified mixed technique [11]. This device is made from an acetate plate, molded on a plaster model, and individualized with acrylic resin. This technique allows the professional to fabricate and install the device in a short time, reducing laboratory steps and costs.

After installation and adjustments, the participant was instructed to use the device every night during sleep. Weekly adjustments were made for 4 weeks.

Laser Group (L)

The application protocol was based on the work of Carvalho et al. [15]. All participants were examined, and the laser was applied to predetermined points and specific trigger points identified during the clinical examination. The application was symmetrical, meaning on both sides of the face, with the same number of points, regardless of whether it was a "trigger point" or not.

The equipment used (Laser Therapy EC, DMC, São Carlos) and the parameters for the applications have the following characteristics: 808 nm wavelength, 100 mW power output, 105 J/cm² energy density, spot area of 0.028 cm², 3J energy per point, 1 application per week for 4 weeks.

The predefined areas where the laser was applied: 1) temporal muscle, three points (anterior region of the muscle bundle, middle muscle bundle, and posterior muscle region); 2) masseter muscle, six points (three points at the origin and three points at the insertion; 3) medial pterygoid muscle, one point located medially behind the retromolar triangle; 4) sternocleidomastoid muscle, six points (two at the muscle origin, two in the middle portion, and two at the insertion); 5) trigger points for pain, one point for each pain point diagnosed by palpation; and 6) TMJ, three points: one point at the most posterior part of the TMJ region (the laser light should be introduced through the outer ear by positioning the beam anteriorly), one at the most superior portion of the TMJ, and one at the anterior part of the TMJ.

Occlusal Splint + Laser Group (OSL)

The therapies were combined over the same period as the other groups, ensuring the same application and evaluation protocols.

Outcomes

The study participants were evaluated before and after the therapies at weeks 0, 2, 4, and 12. The following analyses were performed:

Visual Analogue Scale (VAS)

VAS was used to quantify spontaneous pain in the TMJ and/or masticatory muscles at rest or during palpation. The VAS is a 10 cm long line (ruler) with the left

endpoint indicating a state of no pain and the right endpoint indicating the greatest imaginable pain [16].

Pain-Free Mouth Opening

Defined as the maximum amount a patient can open their mouth without feeling pain, measured as the distance between the incisal edges of the upper and lower central incisors.

Oral Health Impact Profile (OHIP-14)

The impact of oral health-related quality of life was analyzed using the OHIP-14 questionnaire, developed by Slade [17], in its translated and validated form for Brazilian Portuguese.

The primary variable of this study was spontaneous pain in the TMJ and/or masticatory muscles, assessed using the VAS. The other described parameters were considered secondary variables.

Sample Size

The sample size calculation for this study, conducted using the G*Power software version 3.1.9.4, was based on the work of Ekici et al. [18], considering the Visual Analog Scale (VAS) for pain after TMD treatment among different experimental groups as the primary variable. The mean difference between the assessment periods after 12 weeks of follow-up was considered, with an effect size F = 0.2879730. According to the aim of the present study, the ANOVA test: Repeated measures between factors was applied, considering 3 experimental groups and 5 assessment measurements. Thus, a sample size of 96 individuals, 32 individuals per group, was sufficient to apply statistical tests with a type I error of 0.05 and a power β greater than 0.90.

Randomization

Participants (n=99) were randomly allocated to one of three groups (OS=34; L=32; OSL=33) using a randomization program (https://www.sealedenvelope.com). A researcher (MFHD), not involved in the clinical stages, was responsible for the randomization/allocation and preparation of the envelopes corresponding to the treatment of each participant.

Blinding

Participants were not informed about the specific meaning of each envelope. During assessments and statistical analyses, researchers did not have access to the corresponding groups of each participant. All therapies were administered by the research team and conducted by the same researcher who was aware of the allocated treatment for participants. However, assessments were conducted by a clinician who remained blinded to the allocation to avoid assessment bias.

Statistical analysis

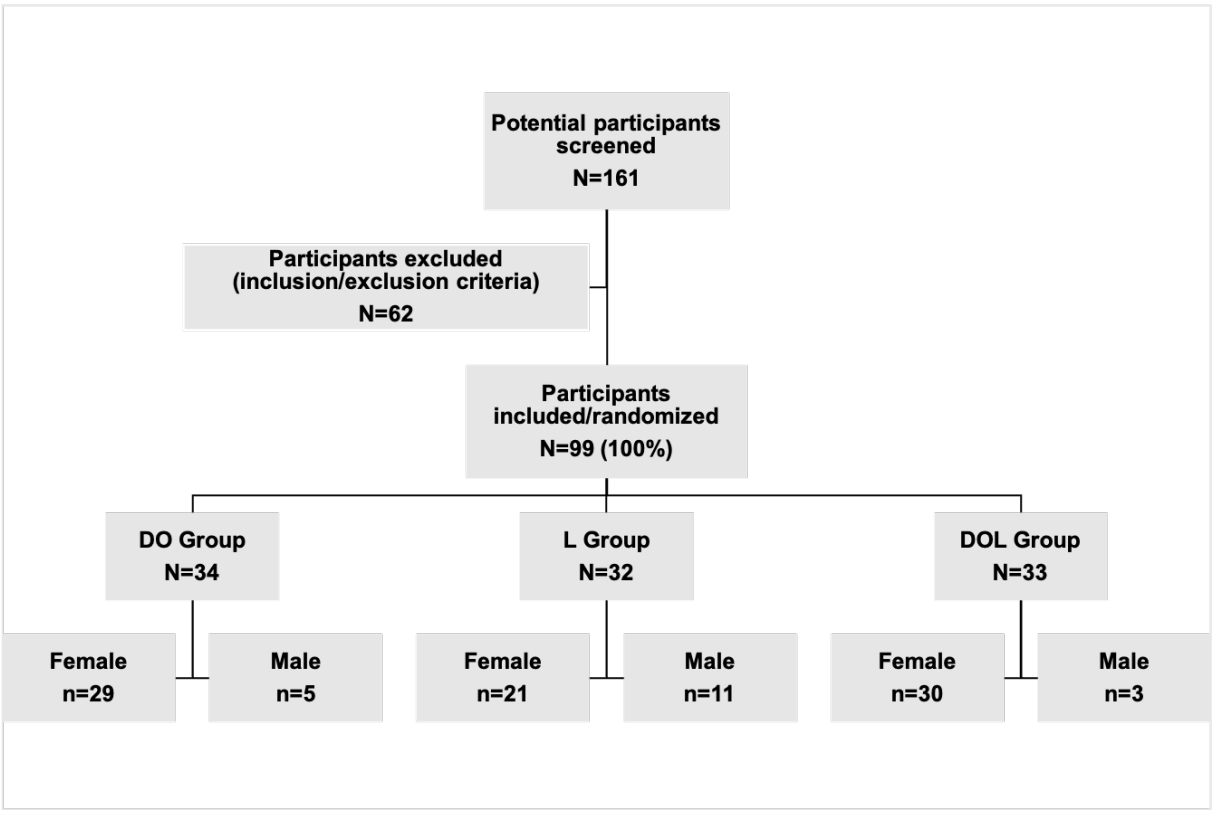
Data obtained by demographic questionnaire, VAS, mouth opening, and OHIP-14 were submitted to the Kolmogorov-Smirnov test for normality assessment. In addition, homoscedasticity and sphericity tests were also applied prior to carrying out the analysis of variance. The One-Way ANOVA test complemented by Tukey was used to compare participants' ages, while the Binomial Chi-Square test was used to assess participants' sex. Two-Way ANOVA test complemented by Šídák's test was applied for intragroup comparisons, while the Tukey test was applied for intergroup comparisons. All the tests were applied with a level of significance of 5% using the statistical software GraphPad Prism 9.5 (San Diego, USA).

RESULTS

Demographic data

This research screened 161 potential participants; 62 participants were excluded after inclusion/exclusion criteria were applied. A total of 99 participants were included in this randomized clinical trial. (Figure 1). The mean age of all participants was 31.54 ± 10.39 years, with no statistically significant difference between the groups ($p > 0.05$). Female participants were more prevalent in the OS (85.29%) and OSL (90.90%) groups compared to male participants in this study ($p < 0.05$) (Table 2).

Figure 1. Flow chart of the study



OS: Occlusal splint; L: Laser; OSL: Occlusal splint + Laser; N/n: Number of participants.

Table 2 - Demographic data.

	OS	L	OSL
N	**(n=34)**	**(n=32)**	**(n=33)**
Age			
Mean ± SD	**33.12 ± 11.13[a]**	**32.66 ± 10.09[a]**	**28.82 ± 9.62[a]**
Gender			
Female (%)	**29 (85.29)***	**21 (65.62)**	**30 (90.90)***

OS: Occlusal splint; L: Laser; OSL: Occlusal splint + Laser; N: Number of participants; SD: Standard deviation; *intragroup statistical differences between participant sex ($p < 0.05$) – Binomial Chi-Square Test; different letters indicate statistical differences between groups ($p < 0.05$) - One-Way ANOVA complemented by the Tukey test.

Pain (VAS)

The assessment of self-reported pain using VAS demonstrated that the three groups (OS, L, and OSL) had no significant difference at the beginning of treatment (Week 0 – Pre-treatment; $p > 0.05$). After the first treatment session (Post-treatment - Week 0), groups L (1.781; $p < 0.0001$) and OSL (1.485; $p = 0.0002$) showed a significant reduction in pain scores compared during Pre-treatment, with superiority of the OSL group over the OS group in this period ($p < 0.05$).

Week 2 demonstrated similar parameters of superiority of the OSL group to the OS group ($p < 0.05$). Pain reduction between pre- and post-treatments in groups L (1.594; $p < 0.0001$), and OSL (1.063; $p = 0.0011$) were also observed. Week 4, in turn, did not show significant statistical differences for the intergroup assessment ($p > 0.05$) post-treatment. Between treatments, groups L (0.9375; $p = 0.0002$) and OSL (1.091; $p < 0.0001$) were able to generate a greater reduction in self-reported pain.

Finally, during the reassessment, after 12 weeks, participants in L group reported higher self-reported pain scores compared to OS and OSL groups, with a statistically significant difference for OS group, which presented lower scores ($p < 0.05$) (Table 3 – Figure 2A).

Table 3 - Self-reported pain assessment (VAS).

	Group (Mean ± SD)		
	OS	**L**	**OSL**
Week 0	**(n=34)**	**(n=32)**	**(n=33)**
Baseline	**3.824 ± 2.455[a]**	**3.844 ± 2.384[a]**	**3.333 ± 2.102[a]**
Post-treatment	**3.265 ± 2.550[a]**	**2.063 ± 2.213[ab]**	**1.848 ± 1.889[b]**
Mean difference	**0.5588**	**1.781**	**1.485**
Value of p	**0.3039**	**<0.0001***	**0.0002***
Week 2	**(n=34)**	**(n=32)**	**(n=32)**
Baseline	**2.559 ± 2.489[a]**	**3.188 ± 2.693[a]**	**2.219 ± 2.393[a]**
Post-treatment	**2.706 ± 2.553[a]**	**1.594 ± 1.998[ab]**	**1.156 ± 1.588[b]**
Mean difference	**-0.1471**	**1.594**	**1.063**
Value of p	**0.9351**	**<0.0001***	**0.0011***
Week 4	**(n=33)**	**(n=32)**	**(n=33)**
Baseline	**1.061 ± 1.273[a]**	**1.813 ± 2.221[a]**	**1.758 ± 2.222[a]**
Post-treatment	**1.303 ± 1.571[a]**	**0.875 ± 1.621[a]**	**0.6667 ± 1.109[a]**
Mean difference	**-0.2424**	**0.9375**	**1.091**
Value of p	**0.6084**	**0.0002***	**<0.0001***
Week 12	**(n=33)**	**(n=32)**	**(n=33)**
Re-evaluation	**0.727 ± 1.48[c]**	**2.50 ± 2.54[d]**	**1.64 ± 1.83[cd]**

VAS: Visual analogue scale; OS: Occlusal splint; L: Laser; OSL: Occlusal splint + Laser; SD: Standard deviation; * intragroup statistical differences between baseline and post-treatment ($p < 0.05$) – Two-Way ANOVA complemented by the Šídák test; different letters indicate statistical differences between groups ($p < 0.05$) - Two-Way ANOVA complemented by the Tukey test; cd different letters indicate statistical differences between groups ($p < 0.05$) – One-Way ANOVA complemented by the Tukey test.

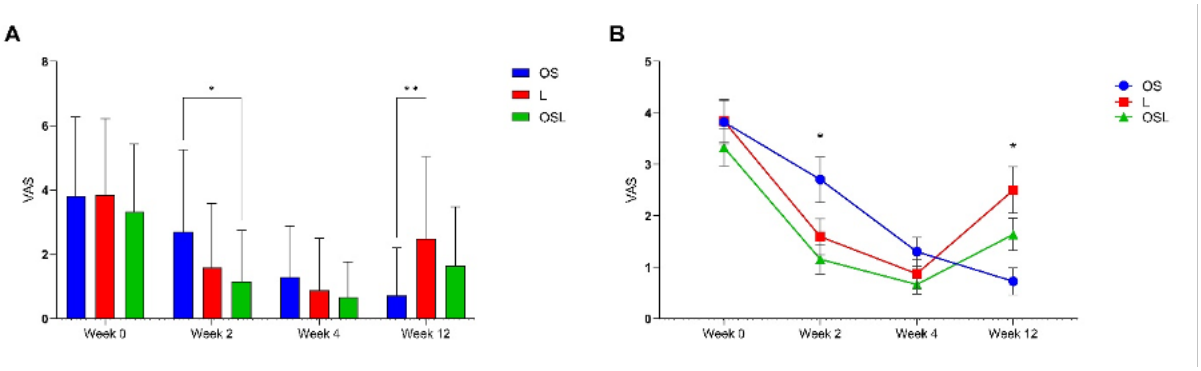
It was noteworthy that the three treatment modalities evaluated were able to promote a reduction in self-reported pain between pre-treatment sessions of Week 0 and post-treatment sessions of Week 4 and Week 12 ($p < 0.05$), highlighting the mean difference obtained by the OS group after 12 weeks (Table 4 – Figure 2B).

Table 4 - Assessment of self-reported pain (VAS) between Week 0 pre-treatment and Weeks 4 and 12 post-treatments.

	Group (Mean ± SD)		
	OS	L	OSL
Week 0	**3.824 ± 2.455[a]**	**3.844 ± 2.384[a]**	**3.333 ± 2.102[a]**
Week 4	**1.303 ± 1.571[a]**	**0.875 ± 1.621[a]**	**0.6667 ± 1.109[a]**
Mean difference	**2.530**	**2.969**	**2.667**
Value of p	**<0.0001***	**<0.0001***	**<0.0001***
Week 0	**3.824 ± 2.455[a]**	**3.844 ± 2.384[a]**	**3.333 ± 2.102[a]**
Week 12	**0.727 ± 1.48[a]**	**2.50 ± 2.54[b]**	**1.64 ± 1.83[ab]**
Mean difference	**3.105**	**1.344**	**1.697**
Value of p	**<0.0001***	**0.0074***	**0.0004***

VAS: Visual analogue scale; OS: Occlusal splint; L: Laser; OSL: Occlusal splint + Laser; SD: Standard deviation; * intragroup statistical differences between post-treatment sessions ($p < 0.05$) – Two-Way ANOVA complemented by the Šídák test; different letters indicate statistical differences between groups ($p < 0.05$) - Two-Way ANOVA complemented by the Tukey test.

Figure 2 - Assessment of self-reported pain (VAS) during treatment sessions.



A: Intergroup assessment of self-reported pain - Two-Way ANOVA complemented by the Tukey test (Mean ± SD); B: Longitudinal monitoring of self-reported pain assessment (Mean ± SEM). VAS: Visual analogue scale; OS: Occlusal splint; L: Laser; OSL: Occlusal splint + Laser; SEM: Standard error of the mean; *significant statistical difference ($p < 0.05$).

Mouth opening

The assessment of voluntary mouth opening also demonstrated no significant difference between individuals during Week 0 – pre-treatment ($p > 0.05$). During the post-treatment evaluation of the same week, groups L (-5.594; $p < 0.0001$), and OSL (-3.303; $p = 0.0068$) achieved greater gains in mouth opening, without statistical differences between the groups ($p > 0.05$).

During Week 2, groups L and OSL presented greater mouth opening compared to the OS group during pre-treatment ($p < 0.05$). The intergroup evaluation demonstrated maintenance of the demonstrated trend, with higher post-treatment values ($p < 0.05$) compared to the OS group. The intragroup evaluation demonstrated that groups L (-1.688; $p = 0.0116$) and OSL (-1.438; $p = 0.0395$) presented greater gains in mouth opening between pre-treatment and post-treatment of Week 2 ($p < 0,05$).

During week 4, no group showed a statistically significant difference for pre-treatment or post-treatment intergroup assessment ($p > 0.05$). However, L group (-2.094; $p = 0.006$) showed greater gains in mouth opening between pre-treatment and post-treatment during this period.

After 12 weeks, during the participants' reassessment, all groups were aligned for voluntary mouth opening ($p > 0.05$) (Table 5 – Figure 3A).

Table 5 – Assessment of voluntary mouth opening (mm).

	Group (Mean ± SD)		
	OS	**L**	**OSL**
Week 0	**(n=34)**	**(n=32)**	**(n=33)**
Baseline	**41.76 ± 8.435[a]**	**38.72 ± 9.643[a]**	**41.79 ± 7.574[a]**
Post-treatment	**43.32 ± 7.850[a]**	**44.31 ± 7.271[a]**	**45.09 ± 7.099[a]**
Mean difference	**-1.559**	**-5.594**	**-3.303**
Value of p	**0.3563**	**<0.0001***	**0.0068***
Week 2	**(n=34)**	**(n=32)**	**(n=32)**
Baseline	**43.85 ± 7.978[a]**	**48.19 ± 6.949[b]**	**49.16 ± 7.283[b]**
Post-treatment	**44.68 ± 8.587[a]**	**49.88 ± 6.554[b]**	**50.59 ± 6.603[b]**
Mean difference	**-0.8235**	**-1.688**	**-1.438**
Value of p	**0.3633**	**0.0116***	**0.0395***
Week 4	**(n=33)**	**(n=32)**	**(n=33)**
Baseline	**45.00 ± 8.682[a]**	**44.31 ± 7.798[a]**	**45.09 ± 8.379[a]**
Post-treatment	**45.94 ± 8.703[a]**	**46.41 ± 8.312[a]**	**46.58 ± 8.419[a]**
Mean difference	**-0.9394**	**-2.094**	**-1.485**
Value of p	**0.3883**	**0.006***	**0.0714**
Week 12	**(n=33)**	**(n=32)**	**(n=33)**
Re-evaluation	**47.00 ± 8.235[c]**	**45.44 ± 7.388[c]**	**46.85 ± 7.698[c]**

OS: Occlusal splint; L: Laser; OSL: Occlusal splint + Laser; SD: Standard deviation; * intragroup statistical differences between baseline and post-treatment ($p < 0.05$) – Two-Way ANOVA complemented by the Šídák test; different letters indicate statistical differences between groups ($p <$

0.05) - Two-Way ANOVA complemented by the Tukey test; c One-Way ANOVA complemented by the Tukey test.

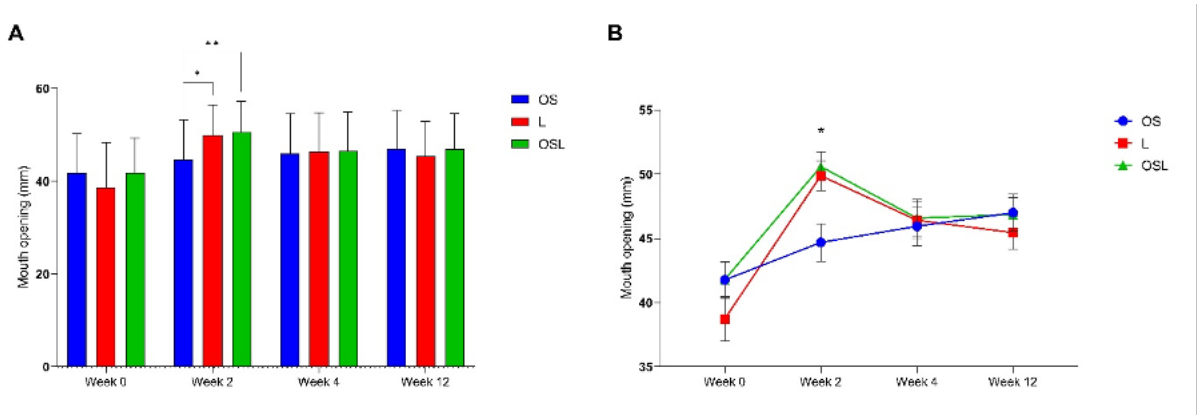
It was noteworthy that the three treatment modalities evaluated were able to promote gains in voluntary mouth opening between pre-treatment sessions of Week 0 and post-treatment sessions of Week 4 and Week 12 ($p < 0.05$), with no statistically significant differences between groups after 4 or 12 weeks ($p > 0.05$) (Table 6 – Figure 3B).

Table 6 – Voluntary assessment of voluntary mouth opening (mm) between Week 0 pre-treatment and Weeks 4 and 12 post-treatments.

	Group (Mean ± SD)		
	OS	**L**	**OSL**
Week 0	**41.76 ± 8.435[a]**	**38.72 ± 9.643[a]**	**41.79 ± 7.574[a]**
Week 4	**45.94 ± 8.703[a]**	**46.41 ± 8.312[a]**	**46.58 ± 8.419[a]**
Mean difference	**-4.017**	**-7.688**	**-4.788**
Value of p	**0.0166***	**<0.0001***	**0.0033***
Week 0	**41.76 ± 8.435[a]**	**38.72 ± 9.643[a]**	**41.79 ± 7.574[a]**
Week 12	**47.00 ± 8.235[a]**	**45.44 ± 7.388[a]**	**46.85 ± 7.698[a]**
Mean difference	**-5.398**	**-6.719**	**-5.061**
Value of p	**0<0.0001***	**<0.0001***	**0.0001***

VAS: Visual analogue scale; OS: Occlusal splint; L: Laser; OSL: Occlusal splint + Laser; SD: Standard deviation; * intragroup statistical differences between post-treatment sessions ($p < 0.05$) – Two-Way ANOVA complemented by the Šídák test; different letters indicate statistical differences between groups ($p < 0.05$) - Two-Way ANOVA complemented by the Tukey test.

Figure 3 - Assessment of voluntary mouth opening throughout treatment sessions.



A: Intergroup assessment of spontaneous mouth opening - Two-Way ANOVA complemented by the Tukey test (Mean ± SD); B: Longitudinal monitoring of the assessment of spontaneous mouth opening (Mean ± SEM). OS: Occlusal splint; L: Laser; OSL: Occlusal splint + Laser; SEM: Standard error of the mean; *significant statistical difference ($p < 0.05$).

OHIP-14

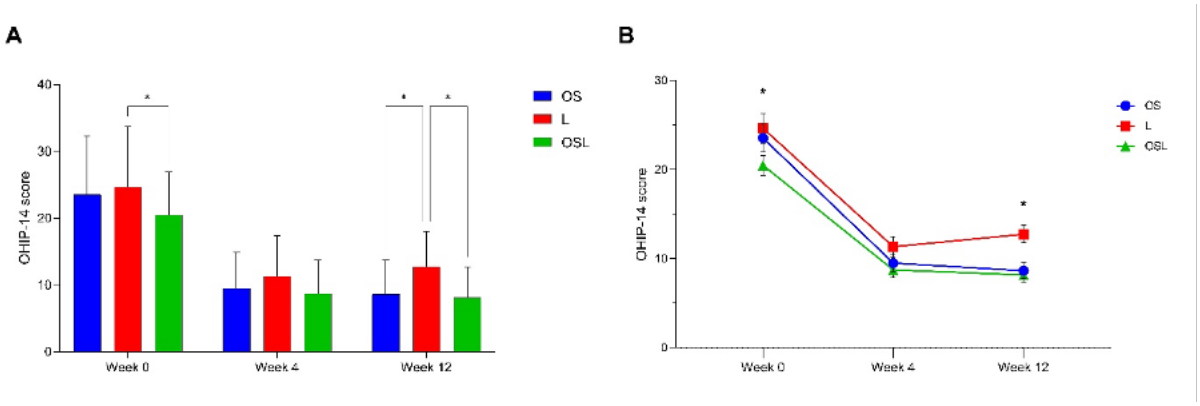
During the sessions, a statistically significant reduction was observed for all groups from the beginning of treatment (Week 0) until the last session (Week 4), and then, during the reassessment (Week 12) ($p < 0.0001$). Throughout the treatment, statistically significant differences were observed between groups ($p < 0.05$). During Week 0, patients in L group had higher OHIP-14 scores (24.63 ± 9.09) compared to patients in OSL group (20.48 ± 6.37; $p < 0.05$). During Week 4, no statistically significant differences were observed between groups ($p < 0.05$). However, during the Week 12 reassessment, those patients in L group reported higher scores (12.73 ± 5.31) when compared to both OS group (8.63 ± 5.06) and OSL group (8 .15 ± 4.50). Finally, there was maintenance between the OHIP-14 scores obtained during Week 4 and Week 12 ($p > 0.05$) (Table 7 – Figure 4).

Table 7 – OHIP-14 assessment between Week 0 pre-treatment and Weeks 4 and 12 post-treatments.

	Group (Mean ± SD)		
	OS	**L**	**OSL**
T0	**23.55 ± 8.779^{ab}**	**24.63 ± 9.091^{a}**	**20.48 ± 6.374^{b}**
T4	**9.485 ± 5.403^{a}**	**11.33 ± 6.048^{a}**	**8.727 ± 5.014^{a}**
Mean difference	**14.06**	**13.30**	**11.76**
p-value	**<0.0001***	**<0.0001***	**<0.0001***
T0	**23.55 ± 8.779^{ab}**	**24.63 ± 9.091^{a}**	**20.48 ± 6.374^{b}**
T12	**8.636 ± 5.067^{a}**	**12.73 ± 5.317^{b}**	**8.152 ± 4.501^{a}**
Mean difference	**14.91**	**11.90**	**12.33**
p-value	**<0.0001***	**<0.0001***	**<0.0001***
T4	**9.485 ± 5.403^{a}**	**11.33 ± 6.048^{a}**	**8.727 ± 5.014^{a}**
T12	**8.636 ± 5.067^{a}**	**12.73 ± 5.317^{b}**	**8.152 ± 4.501^{a}**
Mean difference	**0.8485**	**-1.40**	**0.5758**
p-value	**0.7618**	**0.5112**	**0.8821**

OS: Occlusal stent; L: Laser; OSL: Occlusal stent + Laser; SD: Standard deviation; * intragroup statistical differences between baseline and post-treatment ($p < 0.05$) – Two-Way ANOVA complemented by Šídák's test; ^{ab} different letters indicate intergroup statistical differences ($p < 0.05$) - Two-Way ANOVA complemented by Tukey test.

Figure 4 – OHIP-14 scores throughout treatment sessions.



A: Intergroup assessment of OHIP-14 scores - Two-Way ANOVA complemented by the Tukey test (Mean ± SD); B: Longitudinal monitoring of the OHIP-14 scores (Mean ± SEM). OS: Occlusal splint; L: Laser; OSL: Occlusal splint + Laser; SEM: Standard error of the mean; *significant statistical difference ($p < 0.05$).

DISCUSSION

This clinical trial comparatively evaluated the effect of conservative therapies, OS and PBMT, both alone and in combination, in treating TMD. The results indicated that both therapies and their combination were effective in reducing the evaluated TMD parameters. These findings validate the PBMT protocol used in terms of dosimetric and irradiated local parameters, demonstrating its efficacy.

Demographic data indicated a mean age of 31 years, with a higher proportion of female participants. These results align with other studies pointing to a higher prevalence of TMD in adults between the second and third decades of life, particularly in women, linked to endocrine, hormonal, and behavioral factors [1, 2, 13, 19-23].

Among conservative therapies, the OS is the most documented and utilized modality [24, 25]. The fabrication method using the mixed technique described by Okeson [11], employed in this study as well as in the study by Ram, Shah [25], produced satisfactory results such as reduced laboratory steps, rapid fabrication and installation, and economic viability. Its social application should be highlighted, although it is not widely discussed in the literature.

However, despite being indicated as a first-line treatment, such therapy does not demonstrate efficacy in all cases, and its success depends on patient cooperation [10]. In this context, our findings regarding PBMT corroborate the literature, which indicates this therapy for its analgesic, anti-inflammatory, and reparative properties, with significant improvement in the clinical condition of patients [1, 12]. It is considered a clinically safe, non-invasive therapeutic modality that is practically free of side effects [7, 8, 26].

Regarding dosimetry, systematic reviews conducted by Hanna et al. [8] and Zhang et al. [26] report that the available evidence is not sufficient to define an ideal dosage. However, the parameters indicated by Farshidfar et al. [27], such as the use of infrared light and a wavelength of 780-980 nm, align with the protocol applied in the present study. According to Carvalho et al. [1] and the findings of this study, the application should be done symmetrically, as an incorrect operation on one side can

overload the opposite side, resulting in delayed pain and compromised clinical outcomes.

Given the complexity of TMD and the variability in patient responses to treatment, the literature highlights the heterogeneity of laser protocols used in each study, with variations in the number of sessions, periodicity, and wavelength [6, 13, 28]. Building on the work of Carvalho et al. [15], this study could offer new perspectives and validate existing practices with concrete, safe, and applicable data.

The findings of this study indicate an immediate improvement in self-reported pain scores in the groups treated with PBMT compared to the group with OS alone. This can be explained by the fact that laser therapy has short-term effects. However, all therapies were effective in controlling pain throughout the treatment, corroborating the literature [25, 29]. In the reevaluation after 12 weeks, the OS proved more effective in pain control than PBMT applied alone. This may be due to the continuous use of the device during the weeks leading up to the reevaluation, showing that the constant use of the device keeps the participant stable regarding the evaluated parameters.

Mandibular mobility, another evaluated parameter, was also superior in the groups treated with PBMT compared to the isolated use of OS at the beginning of the treatment. However, in the reevaluation, all modalities promoted significant gains in opening in paired groups, aligning with the existing literature [1, 6, 16, 29], and demonstrating that in clinical situations where this limitation is present, the use of PBMT is effective in restoring the opening pattern in a short period.

Symptoms of TMD may be negatively associated with an individual's perception of their physical, mental, and social well-being [30]. Through the application of OHIP-14, the work Ekici et al. [18] highlighted that levels of stress, anxiety, and depression are strongly related to the quality of life in TMD patients, reinforcing the importance of evaluating psychosocial parameters in disease treatment and improving quality of life. The outcomes of this study demonstrate that, despite higher scores in the L group during reassessment, all groups achieved significant improvements in quality of life. Clinical studies on the topic are consistent with these findings [16, 22].

A limitation of the study was the inability to blind the researchers responsible for applying the therapies and the patients due to the nature of the intervention. It is also

important to mention the absence of a no-treatment group, a common difficulty in clinical research due to ethical barriers related to non-treatment. Additionally, the sample size of this study demonstrates robustness and reliability in the results. More studies with different conservative therapies are needed to evaluate the effectiveness of their isolated and combined use in the treatment of TMD.

Being low-cost and low-complexity, these therapeutic modalities have significant social value, enabling more people to receive treatment. This is crucial in areas with limited dental access, offering an effective and affordable option for relieving TMD symptoms and improving quality of life.

CONCLUSION

The conservative therapies evaluated in this study were effective in controlling pain, mandibular mobility, and oral health-related quality of life in patients with muscular TMDs.

The combination of therapies stood out in alleviating TMD symptoms compared to their isolated application, thanks to the immediate pain relief provided by the PBMT and the stabilization of symptoms through the continuous use of the OS, directly contributing to the improvement of patients' quality of life.

REFERENCES

1. Carvalho FR, Barros RQ, Gonçalves AS, Muragaki SP, Pedroni ACF, Oliveira K, et al. Photobiomodulation Therapy on the Palliative Care of Temporomandibular Disorder and Orofacial/Cervical Skull Pain: Preliminary Results from a Randomized Controlled Clinical Trial. Healthcare (Basel). 2023;11(18). doi: 10.3390/healthcare11182574.
2. Valesan LF, Da-Cas CD, Réus JC, Denardin ACS, Garanhani RR, Bonotto D, et al. Prevalence of temporomandibular joint disorders: a systematic review and meta-analysis. Clinical Oral Investigations. 2021;25(2):441-53.
3. Slade GD, Ohrbach R, Greenspan JD, Fillingim RB, Bair E, Sanders AE, et al. Painful Temporomandibular Disorder: Decade of Discovery from OPPERA Studies. J Dent Res. 2016;95(10):1084-92. doi: 10.1177/0022034516653743.
4. Dantas CMG, Vivan CL, de Fantini SM, de Freitas Costa ESPM, Pannuti CM, Witzel AL, et al. The influence of educational measures and low-level laser phototherapy on temporomandibular disorders: Study protocol clinical trial (SPIRIT Compliant). Medicine (Baltimore). 2020;99(10):e19005. doi: 10.1097/MD.0000000000019005.
5. Sobral APT, de Godoy CLH, Fernandes KPS, Bussadori SK, Ferrari RAM, Horliana ACRT, et al. Photomodulation in the treatment of chronic pain in patients with temporomandibular disorder: protocol for cost-effectiveness analysis. BMJ open. 2018;8(5):e018326.
6. Aisaiti A, Zhou Y, Wen Y, Zhou W, Wang C, Zhao J, et al. Effect of photobiomodulation therapy on painful temporomandibular disorders. Sci Rep. 2021;11(1):9049. doi: 10.1038/s41598-021-87265-0.
7. Máximo C, Coêlho JF, Benevides SD, Alves GÂ DS. Effects of low-level laser photobiomodulation on the masticatory function and mandibular movements in adults with temporomandibular disorder: a systematic review with meta-analysis. Codas. 2022;34(3):e20210138. doi: 10.1590/2317-1782/20212021138.
8. Hanna R, Dalvi S, Bensadoun RJ, Benedicenti S. Role of Photobiomodulation Therapy in Modulating Oxidative Stress in Temporomandibular Disorders. A Systematic Review and Meta-Analysis of Human Randomised Controlled Trials. Antioxidants (Basel). 2021;10(7). doi: 10.3390/antiox10071028.
9. Zhang SH, He KX, Lin CJ, Liu XD, Wu L, Chen J, et al. Efficacy of occlusal splints in the treatment of temporomandibular disorders: a systematic review of randomized controlled trials. Acta Odontol Scand. 2020;78(8):580-9. doi: 10.1080/00016357.2020.1759818.
10. Priyadarshini S, Gnanam A, Sasikala B, Elavenil P, Raja Sethupathy Cheeman S, Mrunalini R, et al. Evaluation of prolotherapy in comparison with occlusal splints in treating internal derangement of the temporomandibular joint - A randomized controlled trial. J Craniomaxillofac Surg. 2021;49(1):24-8. doi: 10.1016/j.jcms.2020.11.004.
11. Okeson J. Tratamento dos Distúrbios Temporomandibulares e Oclusão. GEN Guanabara Koogan. 2021.
12. Madani A, Ahrari F, Fallahrastegar A, Daghestani N. A randomized clinical trial comparing the efficacy of low-level laser therapy (LLLT) and laser acupuncture therapy (LAT) in patients with temporomandibular disorders. Lasers Med Sci. 2020;35(1):181-92. doi: 10.1007/s10103-019-02837-x.
13. Borges RMM, Cardoso DS, Flores BC, da Luz RD, Machado CR, Cerveira GP, et

al. Effects of different photobiomodulation dosimetries on temporomandibular dysfunction: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. Lasers Med Sci. 2018;33(9):1859-66. doi: 10.1007/s10103-018-2533-6.
14. Schiffman E, Ohrbach R, Truelove E, Look J, Anderson G, Goulet J-P, et al. Diagnostic criteria for temporomandibular disorders (DC/TMD) for clinical and research applications: recommendations of the International RDC/TMD Consortium Network and Orofacial Pain Special Interest Group. Journal of oral & facial pain and headache. 2014;28(1):6.
15. Carvalho FR, Barros RQ, Goncalves AS, Freitas PM. Photobiomodulation therapy on the palliative care of temporomandibular disorder and orofacial/cervical skull pain: study protocol for a randomized controlled clinical trial. Trials. 2019;20(1):200. doi: 10.1186/s13063-019-3294-7.
16. Gikic M, Vrbanovic E, Zlendic M, Alajbeg IZ. Treatment responses in chronic temporomandibular patients depending on the treatment modalities and frequency of parafunctional behaviour. J Oral Rehabil. 2021;48(7):785-97. doi: 10.1111/joor.13173.
17. Slade GD. Derivation and validation of a short-form oral health impact profile. Community Dent Oral Epidemiol. 1997;25(4):284-90. doi: 10.1111/j.1600-0528.1997.tb00941.x.
18. Ekici Ö, Dündar Ü, Gökay GD, Büyükbosna M. Evaluation of the efficiency of different treatment modalities in individuals with painful temporomandibular joint disc displacement with reduction: a randomised controlled clinical trial. Br J Oral Maxillofac Surg. 2022;60(3):350-6. doi: 10.1016/j.bjoms.2021.08.001.
19. Ferreira LA, de Oliveira RG, Guimarães JP, Carvalho ACP, De Paula MVQ. Laser acupuncture in patients with temporomandibular dysfunction: a randomized controlled trial. Lasers in medical science. 2013;28(6):1549-58.
20. Brochado FT, Jesus LH, Carrard VC, Freddo AL, Chaves KD, Martins MD. Comparative effectiveness of photobiomodulation and manual therapy alone or combined in TMD patients: a randomized clinical trial. Braz Oral Res. 2018;32:e50. doi: 10.1590/1807-3107bor-2018.vol32.0050.
21. Monteiro L, Ferreira R, Resende T, Pacheco JJ, Salazar F. Effectiveness of Photobiomodulation in Temporomandibular Disorder-Related Pain Using a 635 nm Diode Laser: A Randomized, Blinded, and Placebo-Controlled Clinical Trial. Photobiomodul Photomed Laser Surg. 2020;38(5):280-8. doi: 10.1089/photob.2019.4730.
22. de Resende C, de Oliveira Medeiros FGL, de Figueiredo Rêgo CR, Bispo ASL, Barbosa GAS, de Almeida EO. Short-term effectiveness of conservative therapies in pain, quality of life, and sleep in patients with temporomandibular disorders: A randomized clinical trial. Cranio. 2021;39(4):335-43. doi: 10.1080/08869634.2019.1627068.
23. Silva ASd, Rabelo FAW, Thuler E, Kayamori F, Bianchini EMG. Obstructive Sleep Apnea: characterization of the obstructive site and type of collapse. CoDAS: SciELO Brasil; 2022. p. e20210208.
24. Ferrillo M, Ammendolia A, Paduano S, Calafiore D, Marotta N, Migliario M, et al. Efficacy of rehabilitation on reducing pain in muscle-related temporomandibular disorders: A systematic review and meta-analysis of randomized controlled trials. J Back Musculoskelet Rehabil. 2022;35(5):921-36. doi: 10.3233/bmr-210236.
25. Ram HK, Shah DN. Comparative evaluation of occlusal splint therapy and muscle energy technique in the management of temporomandibular disorders: A randomized controlled clinical trial. J Indian Prosthodont Soc. 2021;21(4):356-65. doi: 10.4103/jips.jips_332_21.

26. Zhang Y, Qian Y, Huo K, Liu J, Huang X, Bao J. Efficacy of laser therapy for temporomandibular disorders: A systematic review and meta-analysis. Complementary Therapies in Medicine. 2023:102945.
27. Farshidfar N, Farzinnia G, Samiraninezhad N, Assar S, Firoozi P, Rezazadeh F, et al. The Effect of Photobiomodulation on Temporomandibular Pain and Functions in Patients With Temporomandibular Disorders: An Updated Systematic Review of the Current Randomized Controlled Trials. J Lasers Med Sci. 2023;14:e24. doi: 10.34172/jlms.2023.24.
28. Sayed N, Murugavel C, Gnanam A. Management of Temporomandibular Disorders with Low Level Laser Therapy. J Maxillofac Oral Surg. 2014;13(4):444-50. doi: 10.1007/s12663-013-0544-1.
29. de Castro KCMP, Isoldi MC. Tratamento das disfunções temporomandibulares com estimulação por laser nos pontos de acupuntura: Treatment of temporomandibular disorders with laser stimulation of acupuncture points. Brazilian Journal of Development. 2022:57552-67.
30. Hanna K, Nair R, Amarasena N, Armfield JM, Brennan DS. Temporomandibular dysfunction experience is associated with oral health-related quality of life: an Australian national study. BMC Oral Health. 2021;21:1-13.

4 CONSIDERAÇÕES FINAIS

As terapias conservadoras avaliadas neste estudo foram eficazes no controle da dor, mobilidade mandibular e qualidade de vida relacionada à saúde oral, em pacientes com DTMs musculares.

Tanto o DO quanto a FBM foram eficazes com superioridade da associação de terapias a curto prazo.

Ao final do tratamento, a combinação de terapias não se mostrou superior ao uso isolado de qualquer uma delas.

REFERÊNCIAS

AISAITI, A. *et al.* Effect of photobiomodulation therapy on painful temporomandibular disorders. **Sci Rep,** v. 11, n. 1, p. 9049, 2021.

AKAT, B. *et al.* Ultrasonographic and electromyographic evaluation of three types of occlusal splints on masticatory muscle activity, thickness, and length in patients with bruxism. **Cranio,** v. 41, n. 1, p. 59-68, 2023.

ALAJBEG, I. Z. *et al.* Effect of occlusal splint on oxidative stress markers and psychological aspects of chronic temporomandibular pain: a randomized controlled trial. **Sci Rep,** v. 10, n. 1, p. 10981, 2020.

BORGES, R. M. M. *et al.* Effects of different photobiomodulation dosimetries on temporomandibular dysfunction: a randomized, double-blind, placebo-controlled clinical trial. **Lasers Med Sci,** v. 33, n. 9, p. 1859-1866, 2018.

CARVALHO, F. R. *et al.* Photobiomodulation therapy on the palliative care of temporomandibular disorder and orofacial/cervical skull pain: study protocol for a randomized controlled clinical trial. **Trials,** v. 20, n. 1, p. 200, 2019.

CARVALHO, F. R. *et al.* Photobiomodulation therapy on the palliative care of temporomandibular disorder and orofacial/cervical skull pain: preliminary results from a randomized controlled clinical trial. **Healthcare (Basel),** v. 11, n. 18, 2023.

CONTI, P. C. *et al.* Behavioural changes and occlusal splints are effective in the management of masticatory myofascial pain: a short-term evaluation. **J Oral Rehabil,** v. 39, n. 10, p. 754-60, 2012.

DANTAS, C. M. G. *et al.* The influence of educational measures and low-level laser phototherapy on temporomandibular disorders: Study protocol clinical trial (SPIRIT Compliant). **Medicine (Baltimore),** v. 99, n. 10, p. e19005, 2020.

DE GODOY, C. H. L. *et al.* Effect of low-level laser therapy on adolescents with temporomandibular disorder: a blind randomized controlled pilot study. **Journal of Oral and Maxillofacial Surgery,** v. 73, n. 4, p. 622-629, 2015.

FERNANDES, A. C. *et al.* Acupuncture in temporomandibular disorder myofascial Pain Treatment: A Systematic Review. **J Oral Facial Pain Headache,** v. 31, n. 3, p. 225-232, 2017.

FERREIRA, L. A. *et al.* Laser acupuncture in patients with temporomandibular dysfunction: a randomized controlled trial. **Lasers in Medical Science,** v. 28, n. 6, p. 1549-1558, 2013.

GABARDO, M. C. L.; MOYSÉS, S. T.; MOYSÉS, S. J. Autopercepção de saúde bucal conforme o Perfil de Impacto da Saúde Bucal (OHIP) e fatores associados: revisão sistemática. **Revista Panamericana de Salud Pública,** v. 33, p. 439-445, 2013.

GONÇALVES, D. A. *et al.* Symptoms of temporomandibular disorders in the population: an epidemiological study. **J Orofac Pain,** v. 24, n. 3, p. 270-8, 2010.

HANNA, R. *et al.* Role of photobiomodulation therapy in modulating oxidative stress in temporomandibular disorders. A systematic review and meta-analysis of human randomised controlled trials. **Antioxidants (Basel),** v. 10, n. 7, 2021.

MANFREDINI, D.; LOMBARDO, L.; SICILIANI, G. Temporomandibular disorders and dental occlusion. A systematic review of association studies: end of an era? **J Oral Rehabil,** v. 44, n. 11, p. 908-923, 2017.

MELO, R. A. *et al.* Conservative therapies to treat pain and anxiety associated with temporomandibular disorders: a randomized clinical trial. **Int Dent J,** v. 70, n. 4, p. 245-253, 2020.

MELO, V. *et al.* Prevalence of temporomandibular disorders in the Brazilian population: A systematic review and meta-analysis. **CRANIO®**, p. 1-8, 2023.

MICHELOTTI, A. *et al.* Evaluation of the short-term effectiveness of education versus an occlusal splint for the treatment of myofascial pain of the jaw muscles. **J Am Dent Assoc,** v. 143, n. 1, p. 47-53, 2012.

NIEMELA, K. *et al.* Efficacy of stabilisation splint treatment on temporomandibular disorders. **J Oral Rehabil,** v. 39, n. 11, p. 799-804, 2012.

OKESON, J. **Tratamento dos distúrbios temporomandibulares e oclusão.** Rio de Janeiro: GEN Guanabara Koogan, 2021.

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

SLADE, G. D. Derivation and validation of a short-form oral health impact profile. **Community Dent Oral Epidemiol,** v. 25, n. 4, p. 284-90, 1997.

SLADE, G. D. *et al.* Painful temporomandibular disorder: decade of discovery from OPPERA studies. **J Dent Res,** v. 95, n. 10, p. 1084-92, 2016.

SOBRAL, A. P. T. *et al.* Photomodulation in the treatment of chronic pain in patients with temporomandibular disorder: protocol for cost-effectiveness analysis. **BMJ Open,** v. 8, n. 5, p. e018326, 2018.

SUVINEN, T. I. *et al.* Review of aetiological concepts of temporomandibular pain disorders: towards a biopsychosocial model for integration of physical disorder factors with psychological and psychosocial illness impact factors. **Eur J Pain,** v. 9, n. 6, p. 613-33, 2005.

UEMOTO, L. *et al.* Laser therapy and needling in myofascial trigger point deactivation. **J Oral Sci,** v. 55, n. 2, p. 175-81, 2013.

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

ZHANG, S. H. *et al.* Efficacy of occlusal splints in the treatment of temporomandibular disorders: a systematic review of randomized controlled trials. **Acta Odontol Scand,** v. 78, n. 8, p. 580-589, 2020.

APÊNDICE A – Metodologia detalhada do estudo

Desenho do Estudo

Este estudo clínico cego, controlado e randomizado, com modelo paralelo, foi conduzido de acordo com o protocolo CONSORT (NCT05989217 Clinical Trials Protocol registration) para conduta de estudos clínicos. O Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da UNIFAL-MG aprovou o protocolo do estudo em 07 de fevereiro de 2023 (protocolo nº 66265922.7.0000.5142). Após serem informados sobre todos os detalhes da pesquisa, os participantes assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido, conforme exigência do Conselho Nacional de Saúde.

Os grupos do estudo foram divididos pelas terapias recebidas em cada um deles, em: Grupo DO, este foi o grupo controle e recebeu a terapia convencional com dispositivo oclusal; Grupo L recebeu FBM com laser de baixa intensidade e o Grupo DOL recebeu a associação das terapias (Tabela 1).

Tabela 1: Distribuição dos grupos de estudo.

GRUPO	TERAPIA
DO	Dispositivo Oclusal Misto
L	Laser de baixa intensidade
DOL	Dispositivo Oclusal Misto +Laser

Fonte: Autores, 2024

Participantes

A população do estudo foi composta por participantes apresentando dor nos músculos da mastigação e/ou ATM e Disfunções Temporomandibulares de Origem Muscular segundo o Critério de Diagnóstico em DTM (DC/TMD). Tais participantes foram triados na Clínica de DTM da Faculdade de Odontologia da UNIFAL-MG, onde

foram realizados os procedimentos terapêuticos e coletas de dados. As coletas de dados se deram entre abril e novembro de 2023.

Critérios de Inclusão

Foram incluídos adultos maiores de idade, de ambos os sexos, independente de raça ou classe social, tendo como principal queixa a dor na articulação temporomandibular ou região orofacial, com ou sem limitação de abertura de boca, diagnosticados com DTM muscular por meio do DC/TMD Eixo 1. Os participantes deveriam possuir dentição permanente completa e oclusão funcional.

Critérios de Exclusão

Foram excluídos os participantes nos casos de: problemas congênitos com acometimento da ATM e/ou região orofacial e cervical do crânio; condições neoplásicas; história de trauma recente na região orofacial/cervical do crânio; uso prévio de qualquer tipo de dispositivo de tratamento de DTM; uso atual de aparelhos ortopédicos funcionais ou aparelhos ortodônticos fixos e/ou removíveis; síndromes lábio leporino e/ou palatino; distúrbios psiquiátricos graves; problemas cardíacos graves; uma condição dentária severamente precária, como periodontite e/ou indicação para tratamento endodôntico; os que faziam uso de medicamentos fotossensibilizantes tópicos ou sistêmicos; mulheres grávidas; doenças dermatológicas na região onde seria realizada a irradiação; capacidade cognitiva prejudicada; história de traumatismo craniano relacionado à etiologia da dor orofacial; enxaqueca ou distúrbios intracranianos; que usaram medicamentos para tratar DTM ou problemas musculares; que tiveram outras causas de dor orofacial, como cárie, neuropatias e fibromialgia; impossibilidade de comparecer à clínica durante o período de tratamento prescrito; insistência em tratamentos específicos diferentes dos estudados (por exemplo, ajustes oclusais, medicamentos) e presença de próteses totais ou parciais removíveis com extensão distal.

Intervenções/Terapias

Grupo Dispositivo Oclusal (DO)

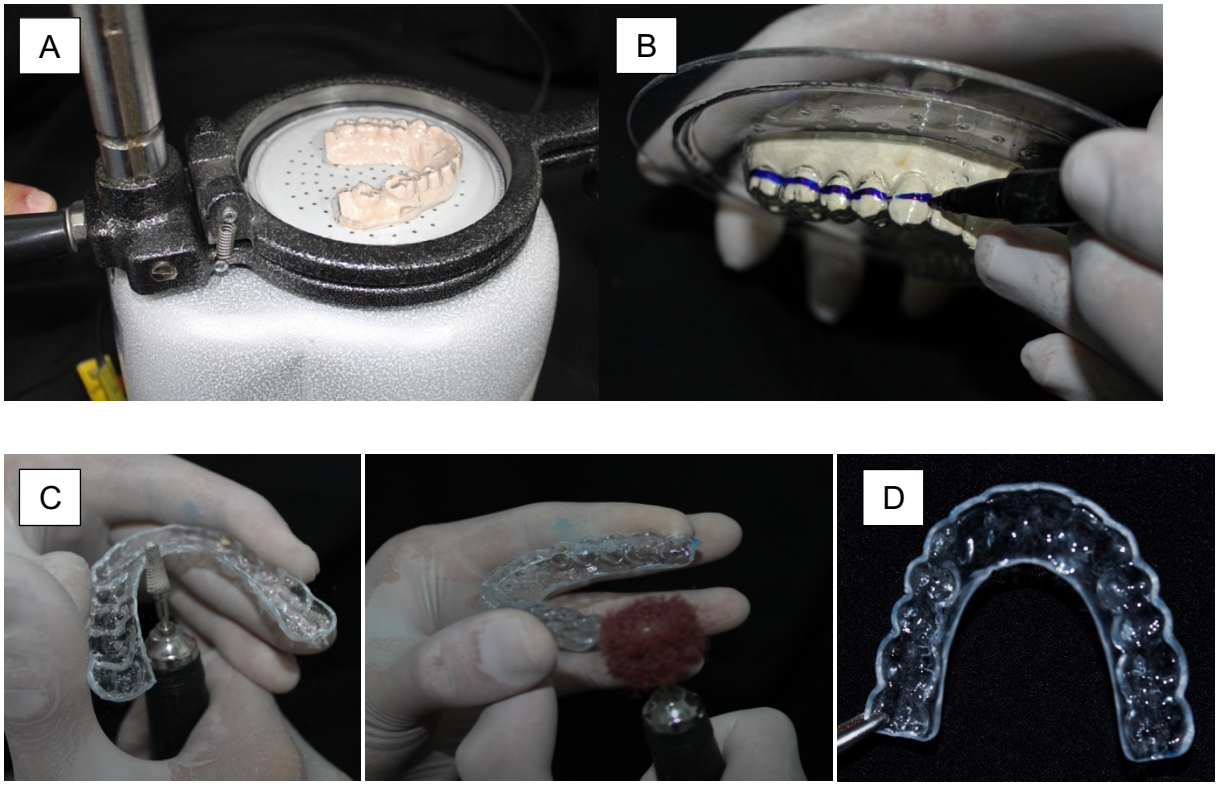
Os participantes alocados neste grupo receberam o DO confeccionado pela técnica simplificada mista modificada. Esta técnica permite ao profissional a confecção e instalação em um curto espaço de tempo, diminuindo etapas laboratoriais e o custo.
Método de confecção:

Materiais:

- Pote Paladon;
- Pote Dappen;
- Pinça Miller;
- Espátula n° 7;
- Esculpidor Lecron;
- Espátula n° 36;
- Tesoura;
- Marcador para retroprojetor;
- Pincel;
- Brocas de acabamento e polimento para peça de mão reta;
- Resina acrílica ativada quimicamente (RAAQ);
- Vaselina;
- Tira de papel carbono;
- Placa de acetato 2 mm.

Etapa laboratorial:

a) Moldagem da arcada superior e obtenção do modelo de gesso. Com uma plastificadora à vácuo, adaptar no modelo uma placa de 2 mm de espessura de resina dura transparente.
b) Demarcar o contorno da placa que deve ser cortada com um disco apropriado ao nível da papila interdental.
c) Alisar qualquer rugosidade dos bordos.
d) Aspecto final.



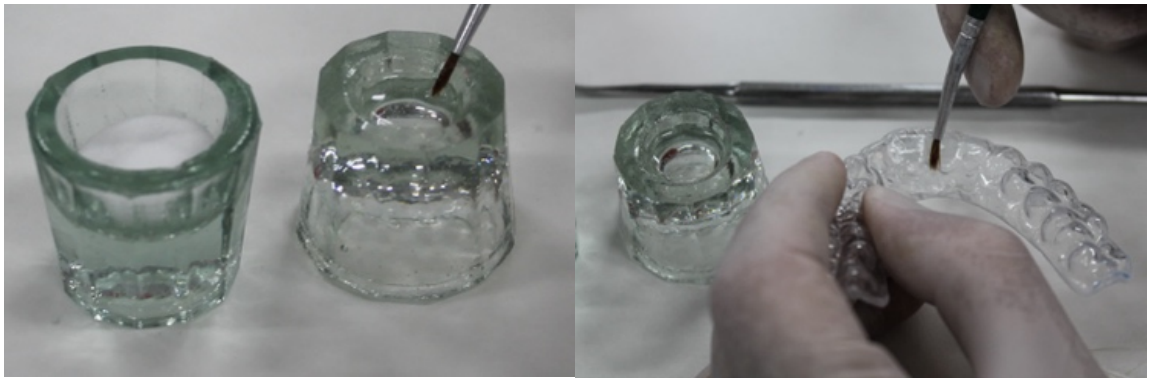
Fonte: Autores, 2024

Etapa clínica:

Encaixar a placa nos dentes superiores e avaliar:

- Deve estar bem encaixada nos dentes superiores, oferecendo retenção e estabilidade adequadas.
- O movimento do lábio e da língua não deve deslocá-la.
- Pressão aplicada a qualquer parte da placa não deve causar báscula ou deslocamento.
- Se os bordos da placa estiverem próximos à junção dos terços médio e incisal na face vestibular dos dentes, existirá retenção adequada.

Em um pote dappen, misturar uma pequena quantidade de resina acrílica autopolimerizável. Enquanto isso, com um pincel, passar o líquido (monômero) sobre a placa.



Fonte: Autores, 2024

À medida que ela se torna mais espessa, adicionar à superfície oclusal da porção anterior da placa. Com a placa em boca, criar um espaço de aproximadamente 4mm deste contato dos dentes anteriores.



Fonte: Autores, 2024

Dica: Inserir um palito na região dos molares e pedir para que o paciente oclua, obtendo a distância necessária entres os dentes anteriores.



Antes que a resina acrílica esquente, tirar a placa da boca do paciente e mergulha-la em uma cubeta com água. Após a polimerização, voltar a placa em boca

e conferir a altura.

Esse acrílico vai agir como um batente anterior. Ele apresenta aproximadamente 4 mm de largura e deve se estender à região onde um incisivo central inferior irá contatar.

Para que a placa estabilizadora tenha eficácia ideal, os côndilos devem estar localizados em sua posição músculo-esqueleticamente mais estável (ME), que é a Relação Cêntrica (RC).

Com a placa em posição e o paciente reclinado, o profissional deve primeiramente localizar a posição ME com a técnica de manipulação bilateral. O profissional deve conduzir o fechamento simultâneo dos dentes e depois pedir ao paciente para ocluir repetidamente nos dentes posteriores. Após alguns fechamentos, o contato marcado no batente anterior deve se tornar reproduzível, refletindo a localização da posição mandibular estável.

Uma vez localizada a posição de RC, o paciente deve se familiarizar com ela através do uso da placa por alguns minutos. São dadas instruções para que se bata de leve no batente anterior.

Quando a posição ME for cuidadosamente localizada pelo paciente, remover a placa da boca.

Vaselinar toda a arcada inferior do paciente.

Em um pote Paladon manipular uma quantidade de resina acrílica conforme o tamanho da placa. Com esse acrílico fazer um incremento único em toda a extensão da placa e solicitar que o paciente oclua até encostar no stop.

Deve-se adicionar resina suficiente para mostrar as endentações de cada dente inferior, e mais resina é adicionada na região vestibular anterior para os caninos inferiores realizarem a futura rampa que servirá de guia.





Fonte: Autores, 2024

Enquanto a resina ainda estiver na fase plástica, remover a placa da boca do paciente e com a tesoura, retirar os excessos.



Fonte: Autores, 2024

A placa deve ser removida bem antes de a resina produzir calor. Ela deve atingir a polimerização final fora da boca.

Dica: Colocar o acrílico em uma cubeta com água pode reduzir a quantidade de bolhas que se desenvolve em uma placa.

Ajustes: Primeiramente, para ajustar a superfície oclusal da placa, marcar a área mais profunda de cada cúspide vestibular inferior e bordo incisal com um lápis. Isso representa os contatos finais em RC que estarão presentes quando a placa estiver finalizada.



Fonte: Autores, 2024

Posteriormente remover o acrílico ao redor das marcas de lápis para que a superfície oclusal relativamente plana permita liberdade durante os movimentos excêntricos.

As únicas áreas preservadas devem ser aquelas anteriores e vestibulares a cada canino inferior. Essas áreas criarão os contatos desejados durante o movimento mandibular.

A resina é desgastada até as marcas de lápis em todas as áreas, exceto na região anterior e vestibular aos caninos. Quando a placa estiver adequadamente lisa, ela é colocada novamente na boca e os contatos em RC são marcados com carbono vermelho quando o paciente fecha a boca.

Todos os contatos, tanto anteriores quanto posteriores, devem ser cuidadosamente refinados para que ocorram em superfícies planas com força oclusal igual. O paciente deve ser capaz de fechar a boca e sentir todos os dentes contatando a placa de maneira igual e simultânea nas superfícies planas.



Fonte: Autores, 2024

Uma vez que a placa estabilizadora foi adequadamente ajustada, ela deve ser alisada e polida. Pedir ao paciente para que verifique com a língua se há alguma área

pontiaguda ou desconfortável.





Fonte: Autores, 2024

Critérios Finais para a Placa Estabilizadora:

1. Estar perfeitamente encaixada nos dentes superiores, com total estabilidade e retenção quando contatada pelos dentes inferiores e quando checada através da palpação digital.
2. Em RC, todas as cúspides vestibulares e bordos incisais inferiores devem fazer contato com as superfícies planas e com força igual.
3. Os dentes posteriores inferiores devem contatar a placa de forma ligeiramente mais forte do que os dentes anteriores durante o fechamento.
4. A superfície oclusal da placa deve ser o mais plana possível, sem marcas para as cúspides inferiores.
5. A placa oclusal deve ser polida para que não irrite os tecidos moles adjacentes.

Após a instalação e ajustes, o participante foi orientado a utilizar o dispositivo todas as noites durante o sono. Foram realizados ajustes semanais por 4 semanas, e nestas sessões coletadas as informações referentes aos parâmetros da pesquisa.

Grupo Laser (L)

O protocolo de aplicação foi baseado no trabalho de Carvalho et al. (2019). Todos os participantes foram examinados e o laser aplicado em pontos pré-determinados e pontos-gatilho específicos de cada paciente identificados durante o exame clínico. A aplicação do foi simétrica, ou seja, nos dois lados da face, com o mesmo número de pontos, independente de ser um “ponto gatilho” ou não.

O equipamento utilizado (Laser Therapy EC, DMC, São Carlos) e os parâmetros para as aplicações possuem as seguintes características: 808 nm de

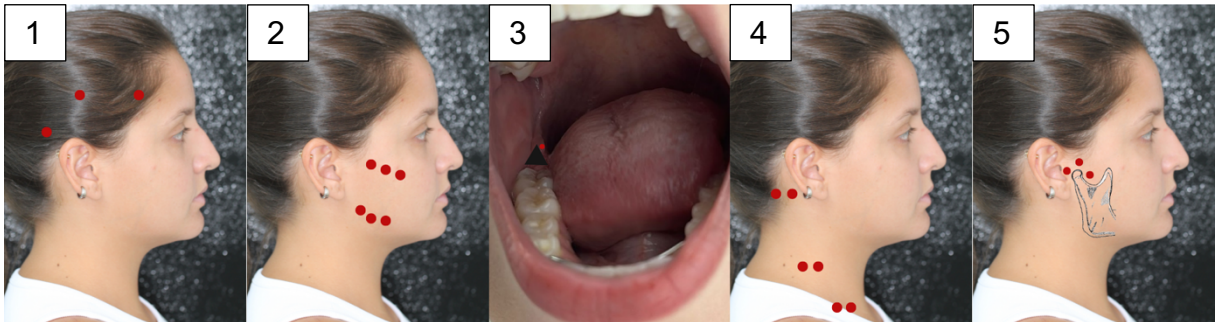
comprimento de onda, 100 mW de Potência útil do emissor, 105 J/cm2 de densidade de energia, área do spot 0.028 cm2, Energia/ponto 3J, 1 aplicação por semana por 4 semanas.



Fonte: Autores, 2024

Áreas predefinidas onde o laser foi aplicado:

1. Músculo temporal, três pontos (um na região anterior do feixe muscular, um no feixe muscular médio e um na região muscular posterior);
2. Músculo masseter, seis pontos (três pontos na origem (arco zigomático) e três pontos na inserção (ângulo mandibular);
3. Músculo pterigóideo medial, um ponto medial localizado atrás o trígono retromolar;
4. Esternocleidomastóideo músculo, seis pontos (dois na origem do músculo, dois na porção média e dois na inserção);
5. ATM, três pontos um ponto na parte mais posterior da região da ATM (a introdução da luz do laser deve ser através da orelha externa posicionando o feixe anteriormente), um na porção mais superior da ATM, e um na parte anterior da ATM).



Fonte: Autores, 2024

Além dos pontos predeterminados, é feita palpação para detecção de pontos-gatilho para dor com posterior aplicação bilateral a cada ponto detectado.

Grupo DO + Laser (DOL)

As terapias foram associadas durante o mesmo período dos demais grupos, assegurando os mesmos protocolos de aplicação e avaliação.

Desfechos

Os participantes do estudo foram avaliados antes e após as terapias nas semanas 0, 2, 4 e 12. As seguintes análises foram realizadas (Quadro 1):

Quadro: Planejamento geral de recrutamento, intervenções e avaliação, de acordo com a declaração do protocolo CONSORT.

	Período do Estudo																	
	Recrutamento	Alocação	Etapas Intervenção / Avaliação															Final
Linha do Tempo (s=semana)	**Março a outubro de 2023**	**0s**	**0s**			**1s**			**2s**			**4s**			**12s**			**Fevereiro de 2024**
A.P.= Antes do Procedimento P.= Procedimento D.P.= Depois do procedimento			AP	P	DP	AP	P	DP	AP	P	DP	AP	P	DP	AP	P	DP	
RECRUTAMENTO																		
Triagem	**X**																	
Consentimento	**X**																	
Alocação		**X**																
INTERVENÇÕES																		
Placa				**X**														
Laser				**X**			**X**			**X**			**X**			**X**		
Placa + Laser				**X**			**X**			**X**			**X**			**X**		
AVALIAÇÕES																		
EVA			**X**		**X**	**X**		**X**	**X**		**X**	**X**		**X**	**X**		**X**	
Abertura Bucal			**X**		**X**	**X**		**X**	**X**		**X**	**X**		**X**	**X**		**X**	
OHIP-14			**X**									**X**					**X**	
Análise Estatística																		**X**

As seguintes análises foram realizadas:

Escala Visual Analógica

A escala visual analógica foi utilizada para quantificar a dor espontânea na ATM e/ou músculos mastigatórios em repouso ou durante a palpação. A EVA é uma linha (régua) de 10 cm de comprimento, com um ponto final esquerdo indicando um estado sem dor e um ponto final direito indicando a maior dor imaginável (EMSHOFF;EMSHOFF;BERTRAM, 2010; GIKIC *et al.*, 2021).

Abertura Bucal sem Dor

A abertura sem dor é definida como a quantidade máxima que um paciente consegue abrir a boca sem sentir dor, medida como a distância entre as bordas incisais dos incisivos centrais superiores e inferiores.

Qualidade de Vida relacionada à saúde oral

O impacto da qualidade de vida relacionada com à saúde oral foi analisada por meio do questionário Oral Health Impact Profile – Short form (OHIP-14) – desenvolvido por Slade (1997), em sua forma já traduzida e validada para o português do Brasil (Almeida; Loureiro; de Araújo, 2004).

Quadro – Versão brasileira do índice OHIP-14 e opções de resposta para fins de cálculo da pontuação total do indivíduo com DTM

Pergunta: ...por causa de problemas com sua disfunção temporomandibular?	Resposta: 0 = nunca; 1 = raramente; 2 = às vezes; 3 = repetidamente; 4 = sempre.
1- Você teve problemas para falar alguma palavra... 2- Você sentiu que o sabor dos alimentos tem piorado ... 3- Você sentiu dores fortes em sua boca? 4- Você tem se sentido incomodado ao comer algum alimento ... 5- Você tem ficado pouco à vontade ... 6- Você se sentiu estressado ... 7- Sua alimentação tem sido prejudicada ... 8- Você teve que parar suas refeições ... 9- Você tem encontrado dificuldade em relaxar ...	

10- Você já se sentiu um pouco envergonhado ... 11- Você tem estado irritado com outras pessoas ... 12- Você teve dificuldade em realizar suas atividades diárias ... 13-Você já sentiu que a vida em geral ficou pior ... 14- Você tem estado sem poder fazer suas atividades diárias ...	

Fonte: Almeida, 2004

A variável primária desse estudo foi a dor espontânea na ATM e/ou músculos mastigatórios avaliada por meio da Escala Visual Analógica de Dor. Os outros parâmetros descritos foram considerados variáveis secundárias.

Randomização

Os participantes (n=99) foram alocados aleatoriamente para um dos três grupos (DO=34; L=32; DOL=33) utilizando um programa de randomização (https://www.sealedenvelope.com). Um pesquisador (MFHD) não envolvido nas etapas clínicas foi responsável pela randomização/alocação dos pacientes nos grupos. Em seguida, envelopes relacionados ao tratamento de cada participante foram montados por um profissional que não realizou a avaliação do paciente ou tratamentos.

Cegamento

Os participantes não foram informados sobre o significado individual de cada envelope. Durante as avaliações e análises estatísticas, os pesquisadores não tiveram acesso aos grupos correspondentes de cada participante. Todas as terapias foram realizadas pela equipe de pesquisa e conduzidas pelo mesmo pesquisador que estava ciente do tratamento alocado para os participantes. Porém, as avaliações foram realizadas por um clínico que foi mantido cego em relação à alocação, para evitar as diferenças na avaliação.

Análise estatística

Os dados obtidos por questionário demográfico, EVA, abertura bucal e OHIP-14 foram submetidos ao teste de Kolmogorov-Smirnov para avaliação de normalidade. Além disso, também foram aplicados testes de homocedasticidade e esfericidade antes da realização da análise de variância. O teste One-Way ANOVA complementado por Tukey foi utilizado para comparar as idades dos participantes, enquanto o teste Binomial Qui-Quadrado foi utilizado para avaliar o sexo dos participantes. O teste Two-Way ANOVA complementado pelo teste de Šídák foi aplicado para comparações intragrupos, enquanto o teste de Tukey foi aplicado para comparações intergrupos. Todos os testes foram aplicados com nível de significância de 5% por meio do software estatístico GraphPad Prism 9.5 (San Diego, EUA).

ANEXO A - Aprovação do Comitê de Ética em Pesquisa (CEP)

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL

PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: Terapias conservadoras no tratamento de Disfunção Temporomandibular: estudo clínico, controlado e randomizado.

Pesquisador: DANIEL AUGUSTO DE FARIA ALMEIDA

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 66265922.7.0000.5142

Instituição Proponente: UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL-MG

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 5.880.476

Apresentação do Projeto:

Versão 1. O presente estudo foi desenhado para comparar os efeitos do dispositivo oclusal misto pela técnica simplificada e o laser de baixa intensidade de forma isolada ou combinada em pacientes com disfunção temporomandibular. Um total de 96 pacientes serão selecionados após o diagnóstico de DTM de acordo com o Diagnóstic Criteria for Temporomandibular Disorder (DC/TMD), eixo I. Os pacientes serão divididos aleatoriamente em três grupos: Dispositivo Oclusal (N=32), Laser (N=32) e Dispositivo Oclusal e Laser (N=32). Os pacientes submetidos a terapia com placa estabilizadora confeccionada pela técnica simplificada serão orientados a utilizar o dispositivo todas as noites durante o sono por quatro semanas. A fotobiomodulacão será aplicada com laser de baixa intensidade em pontos pré-determinados e em pontos-gatilho específicos identificados durante o exame clínico (3 J/cm2) 1 vez por semana por quatro semanas. A intensidade da dor será classificada através da Escala Visual Analógica (EVA). A função da mandíbula será avaliada pela abertura bucal máxima não assistida. Também será avaliado o impacto das terapias na saúde bucal através do instrumento Oral Health Impact Profile (OHIP-14) na forma simplificada. O teste ANOVA será utilizado para comparar os resultados obtidos entre os grupos do estudo, enquanto o teste do Repeated Measurements Anova complementado pelo teste de Tukey será utilizado para avaliação longitudinal dos dados dentro de cada grupo.

Análise CEP:

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Sala O 314 E
Bairro: centro **CEP:** 37.130-001
UF: MG **Município:** ALFENAS
Telefone: (35)3701-9153 **Fax:** (35)3701-9153 **E-mail:** comite.etica@unifal-mg.edu.br

a. Trata-se de uma Dissertação de Mestrado.
b. Apresenta financiamento próprio.
c. Não há indícios de conflitos de interesse.

Objetivo da Pesquisa:

Objetivo Primário:

O presente estudo tem o objetivo de avaliar o uso isolado ou combinado de terapias conservadoras no controle da dor em pacientes com DTMs musculares.

Objetivo Secundário:

O presente estudo tem como objetivos específicos: 1- Verificar se o uso de dispositivo oclusal rígido misto é eficaz no controle da dor em pacientes com DTM; 2- Verificar se a terapia por fotobiomodulação é eficaz no controle da dor em pacientes com DTM; 3- Verificar se a combinação de terapias conservadoras é eficaz no controle da dor em pacientes com DTM. 4- Verificar a duração dos efeitos produzidos por cada terapia. 5- Verificar o impacto na qualidade de vida dos pacientes em cada uma das terapias.

Análise CEP:

a. Claros e bem definidos;
b. Coerentes com a propositura geral do projeto de pesquisa;
c. Exequíveis (considerando tempo, recursos e metodologia).

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Riscos:

Riscos e Medidas minimizadoras: Durante a execução do protocolo de pesquisa poderão ocorrer riscos que seguem descritos. Dos procedimentos de confecção das placas: os riscos envolvem desconfortos com a utilização de um dispositivo intraoral que pode causar aumento ou diminuição da salivação no início do seu uso, o que se extingue conforme o participante se adequa ao uso; uma pequena parte da população pode ter algum tipo de reação alérgica aos materiais da placa, o que é raro, sendo dado assistência pela equipe de pesquisa se ocorrer; riscos das etapas de confecção da placa como pequenas lacerações dos tecidos bucais, compressão dos elementos dentais e tecidos intraorais, serão minimizados pela equipe capacitada e treinada que irá explicar o passo a passo do procedimento ao participante para que este não realize movimentos bruscos e também fará uso de equipamentos que minimizam essa probabilidade de risco. Dos procedimentos de aplicação do laser: pode ocorrer risco de desconforto no local de aplicação do

laser, minimizado com uma pequena alteração do local de aplicação; quanto ao risco de danos aos olhos do participante, este será prevenido pelo uso dos óculos de proteção específicos para laser. Durante a execução da pesquisa ainda poderão ocorrer riscos mínimos como desconforto, constrangimento ou cansaço durante aplicação dos questionários e interferência na rotina do participante. Tais riscos serão minimizados através de profissionais capacitados e treinados para realizar os procedimentos, de um ambiente que proporcione privacidade durante a coleta de dados, abordagem humanizada e acolhimento. Uso de EPIs (máscara, face shield, luvas, desinfecção com álcool gel entre os procedimentos), presença de apenas a equipe de pesquisadores em contato com o participante, sigilo nas respostas e agendamento de horários que não prejudiquem suas atividades de vida diárias. Será obrigatório o uso de óculos de proteção ocular para voluntário e pesquisador. No caso de dores, lesões, desconfortos físicos e hematomas, o participante será devidamente informado sobre o tempo de duração destes riscos ou danos e lhes será dado toda a assistência necessária pela equipe de pesquisa. Garantimos que o estudo será suspenso imediatamente ao perceber algum risco ou danos à saúde do participante da pesquisa, não previsto no termo de consentimento. Quando da utilização dos dados para a confecção do trabalho de pesquisa e dos possíveis relatos de casos, ainda pode apresentar riscos mínimos como: divulgação de informações, invasão de privacidade, divulgação de dados confidenciais, consideramos riscos relacionados à divulgação de imagem e registros fotográficos relacionados aos
casos clínicos, estes registros fotográficos, por se tratarem de imagens da face do participante podem permitir a sua identificação. Portanto, os riscos são inerentes à divulgação dos trabalhos, através do TCC/Dissertação, Congressos e revistas científicas. Riscos do armazenamento de dados e imagens utilizadas no preparo do projeto e dos casos. Riscos estes que serão minimizados por ações tais como: a garantia do zelo pelo sigilo dos dados fornecidos e pela guarda adequada das informações coletadas, o compromisso de não publicar o nome do participante (nem mesmo as iniciais). Os pesquisadores comprometem-se com a confidencialidade dos dados e uso das imagens com intuito estritamente acadêmico e científico. Prezando pela proteção do participante.

Benefícios:
Ao participar desse trabalho o participante terá o benefício da terapia a ser aplicada durante esse estudo e acompanhamento, podendo ter suas dores diminuídas o que afeta diretamente a melhoria da qualidade de vida deste participante. Contribuirá na formação dos discentes e construção do conhecimento, contribuirá para a disseminação do conhecimento acerca dos

achados do presente protocolo. A publicação do protocolo e seus resultados como dissertação e posterior publicação trazem para os acadêmicos novos conhecimentos e experiências que não poderiam ser vivenciadas durante seus respectivos cursos.

Análise CEP:
a. Os riscos de execução da pesquisa são bem descritos e avaliados;
b. Os benefícios oriundos da execução da pesquisa são bem descritos e justificam os riscos;
c. Para cada risco apresentado foram descritas as medidas minimizadoras adequadas.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:
Análise CEP:
a. Metodologia da pesquisa: adequada aos objetivos e atualizada;
b. Referencial teórico: atualizado e suficiente para aquilo que se propõe;
c. Cronograma de execução da pesquisa está adequado.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:
Análise CEP:
a. Termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE): Presente e adequado;
b. Termo de assentimento (TA): Não se aplica;
c. Termo de assentimento esclarecido (TAE): Não se aplica;
d. Termo de Anuência Institucional (TAI): Presente e adequado.
e. Folha de rosto: Presente e adequada;
f. Projeto de pesquisa: Presente e adequado.
g. Termo de compromisso para a utilização de dados e prontuários (TCUD): Presente e adequado;
h. Declaração de compromisso: Presente e adequada;
i. Termo de doação: Não se aplica.

Recomendações:
Não há.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:
Recomenda-se a aprovação.

Considerações Finais a critério do CEP:
Este CEP emite parecer após reunião remota ordinária.

UNIVERSIDADE FEDERAL DE ALFENAS - UNIFAL



Continuação do Parecer: 5.880.476

Este parecer foi elaborado baseado nos documentos abaixo relacionados:

Tipo Documento	Arquivo	Postagem	Autor	Situação
Informações Básicas do Projeto	PB_INFORMAÇÕES_BÁSICAS_DO_PROJETO_2068658.pdf	21/12/2022 15:49:08		Aceito
Projeto Detalhado / Brochura Investigador	Projeto_Mestrado_DTM_Leticia.pdf	21/12/2022 15:47:44	DANIEL AUGUSTO DE FARIA ALMEIDA	Aceito
TCLE / Termos de Assentimento / Justificativa de Ausência	TCLE_Termo_de_Consentimento_Livre_Esclarecido_Participante_mestrado_Leticia.docx	21/12/2022 15:01:22	DANIEL AUGUSTO DE FARIA ALMEIDA	Aceito
Declaração de Pesquisadores	Declaracao_Compromisso_CEP_UNIFAL_Daniel.pdf	21/12/2022 14:59:43	DANIEL AUGUSTO DE FARIA ALMEIDA	Aceito
Outros	TCUD_Leandro.pdf	21/12/2022 14:59:23	DANIEL AUGUSTO DE FARIA ALMEIDA	Aceito
Declaração de Instituição e Infraestrutura	TAI_Leandro.pdf	21/12/2022 14:58:43	DANIEL AUGUSTO DE FARIA ALMEIDA	Aceito
Folha de Rosto	Folha_de_Rosto_Leandro_ass.pdf	21/12/2022 14:00:20	DANIEL AUGUSTO DE FARIA ALMEIDA	Aceito

Situação do Parecer:
Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:
Não

ALFENAS, 07 de Fevereiro de 2023

Assinado por:
CARLA HELENA FERNANDES
(Coordenador(a))

Endereço: Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700 - Sala O 314 E
Bairro: centro **CEP:** 37.130-001
UF: MG **Município:** ALFENAS
Telefone: (35)3701-9153 **Fax:** (35)3701-9153 **E-mail:** comite.etica@unifal-mg.edu.br

ANEXO B - Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (TCLE)

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UNIFAL-MG
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Sala 314 E - Alfenas/MG- CEP 37130-000
Fone: (35) 3701 9153

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO - TCLE
-Participante da Pesquisa-

Dados de Identificação

Título da pesquisa: Terapias conservadoras no tratamento de Disfunção Temporomandibular: estudo clínico, controlado e randomizado

Pesquisador responsável: Daniel Augusto de Faria Almeida

Pesquisadores participantes: Letícia da Costa Siqueira, Mariana Nunes, Marcela Filiè Haddad Danziger, Guilherme Ferreira Bento.

Nome do participante: _____

Data de nascimento: ____/____/_____ **CPF:** _____

Você está sendo convidado (a) para participar, como voluntário (a), do projeto de pesquisa Terapias conservadoras no tratamento de Disfunção Temporomandibular: estudo clínico, controlado e randomizado, de responsabilidade do pesquisador Daniel Augusto de Faria Almeida. Leia cuidadosamente o que segue e me pergunte sobre qualquer dúvida que você tiver. Após ser esclarecido sobre as informações a seguir, caso aceite fazer parte do nosso estudo, assine ao final deste documento que consta em duas vias. Uma via pertence a você e a outra ao pesquisador responsável. Sua participação não é obrigatória, e, a qualquer momento, você poderá desistir de participar e retirar seu consentimento. Sua recusa não trará nenhum prejuízo em sua relação com o pesquisador ou com a instituição. Em caso de recusa você não sofrerá nenhuma penalidade.

Ao ler os itens abaixo, você deve declarar se foi suficientemente esclarecido(a) sobre as etapas da pesquisa ao final desse documento.

1. Esta pesquisa tem por objetivo avaliar o uso isolado ou combinado de terapias conservadoras no controle da dor em pacientes com Disfunções Temporomandibulares musculares. Tais disfunções se apresentam na região orofacial e cabeça e podem ser acompanhadas de dores na região.

2. A sua participação nesta pesquisa consistirá, após serem analisados os critérios de inclusão/exclusão e sua anuência, em fazer parte de um dos grupos terapêuticos propostos. Será feita uma etapa de recrutamento e avaliação para diagnóstico através de um exame e instrumentos de pesquisa. Os participantes serão alocados em grupos terapêuticos após a randomização realizada por um pesquisador membro da equipe, ou seja, os grupos serão compostos de maneira aleatória, inclusive a sua participação. As terapias propostas serão: dispositivos oclusais imediatos (plaquinha), laser de baixa intensidade e a associação das duas terapias. Você receberá o tratamento para a DTM diagnosticada conforme os protocolos a serem desenvolvidos nessa pesquisa, sendo atendido na clínica de Prótese da Faculdade de Odontologia da UNIFAL-MG, por um período de aproximadamente 3 meses com atendimentos semanais no início e posteriormente mensais. Em cada atendimento, a depender da etapa, acontecerão os procedimentos de cada terapia e as avaliações estudadas, que serão efetivadas através de questionários (instrumentos) de qualidade de vida, aferições de abertura de boca e a avaliação da dor relatada pelo participante. Serão feitas as aplicações de laser, para os grupos pertencentes e serão realizados os passos clínicos e ajustes da confecção das plaquinhas. O aparelho de laser se assemelha a uma pistola de onde é disparada a luz do equipamento na região a ser tratada, o participante e a equipe estarão protegidos por óculos específicos para a utilização nessa terapia. As plaquinhas serão confeccionadas e instaladas durante o atendimento e esta requer ajustes extraorais e intraorais a depender da fase. Todos os procedimentos serão realizados por pesquisadores membros da equipe de pesquisa. Cada atendimento terá duração aproximada de uma hora. Os dados obtidos das avaliações comporão os resultados da pesquisa que será conduzida em nossa Faculdade. Poderão acontecer registros dos passos de cada terapia conduzida e dos resultados obtidos, por meio de fotografias e vídeos, estes serão utlizados para a confecção dos artigos e trabalhos finais para a divulgação desta pesquisa.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UNIFAL-MG
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Sala 314 E - Alfenas/MG- CEP 37130-000
Fone: (35) 3701 9153

3. Durante a execução do protocolo de pesquisa poderão ocorrer riscos que seguem descritos. Dos procedimentos de confecção das placas: os riscos envolvem desconfortos com a utilização de um dispositivo intraoral que pode causar aumento ou diminuição da salivação no início do seu uso, o que se extingue conforme o participante se adequa ao uso; uma pequena parte da população pode ter algum tipo de reação alérgica aos materiais da placa, o que é raro, sendo dado assistência pela equipe de pesquisa se ocorrer; riscos das etapas de confecção da placa como pequenas lacerações dos tecidos bucais, compressão dos elementos dentais e tecidos intraorais, serão minimizados pela equipe que irá explicar o passo a passo do procedimento ao participante para que este não realize movimentos bruscos e também fará uso de equipamentos que minimizam essa probabilidade de risco. Dos procedimentos de aplicação do laser: pode ocorrer risco de desconforto no local de aplicação do laser, minimizado com uma pequena alteração do local de aplicação; quanto ao risco de danos aos olhos do participante, este será prevenido pelo uso dos óculos de proteção específicos para laser. Durante a execução da pesquisa ainda poderão ocorrer riscos mínimos como desconforto, constrangimento ou cansaço durante aplicação dos questionários e interferência na rotina do participante. Tais riscos serão minimizados através de profissionais capacitados e treinados para realizar os procedimentos, de um ambiente que proporcione privacidade durante a coleta de dados, abordagem humanizada e acolhimento. Uso de EPIs (máscara, face shield, luvas, desinfecção com álcool gel entre os procedimentos), presença de apenas a equipe de pesquisadores em contato com o participante, sigilo nas respostas e agendamento de horários que não prejudiquem suas atividades de vida diárias. Será obrigatório o uso de óculos de proteção ocular para voluntário e pesquisador. No caso de dores, lesões, desconfortos físicos e hematomas, o participante será devidamente informado sobre o tempo de duração destes riscos ou danos e lhes será dado toda a assistência necessária pela equipe de pesquisa. Garantimos que o estudo será suspenso imediatamente ao perceber algum risco ou danos à saúde do participante da pesquisa, não previsto no termo de consentimento. Quando da utilização dos dados para a confecção do trabalho de pesquisa e dos possíveis relatos de casos, ainda pode apresentar riscos mínimos como: divulgação de informações, invasão de privacidade, divulgação de dados confidenciais, consideramos riscos relacionados à divulgação de imagem e registros fotográficos relacionados aos casos clínicos, estes registros fotográficos, por se tratarem de imagens da face do participante podem permitir a sua identificação. Portanto, os riscos são inerentes à divulgação dos trabalhos, através do TCC/Dissertação, Congressos e revistas científicas. Riscos do armazenamento de dados e imagens utilizadas no preparo do projeto e dos casos. Riscos estes que serão minimizados por ações tais como: a garantia do zelo pelo sigilo dos dados fornecidos e pela guarda adequada das informações coletadas, o compromisso de não publicar o nome do participante (nem mesmo as iniciais). Os pesquisadores comprometem-se com a confidencialidade dos dados e uso das imagens com intuito estritamente acadêmico e científico. Prezando pela proteção do participante.

4. Ao participar desse trabalho você terá o benefício da terapia a ser aplicada durante esse estudo e acompanhamento, podendo ter suas dores diminuídas o que afeta diretamente a melhoria da qualidade de vida. Contribuirá na formação dos discentes e construção do conhecimento, contribuirá para a disseminação do conhecimento acerca dos achados do presente protocolo. A publicação do protocolo e seus resultados como dissertação e posterior publicação trazem para os acadêmicos novos conhecimentos e experiências que não poderiam ser vivenciadas durante seus respectivos cursos.

5. Sua participação neste projeto terá a duração de aproximadamente 3 meses com atendimentos semanais no início e posteriormente mensais na clínica de Prótese da Faculdade de Odontologia da UNIFAL-MG. Cada atendimento terá duração aproximada de uma hora.

6. Você não terá nenhuma despesa por sua participação na pesquisa, consultas/exames/tratamentos/etc. totalmente gratuitos; e deixará de participar ou retirar seu consentimento a qualquer momento, sem precisar justificar, e não sofrerá qualquer prejuízo.

7. Você foi informado e está ciente de que não há nenhum valor econômico, a receber ou a pagar, por sua participação, no entanto, caso tenha qualquer despesa decorrente da participação na pesquisa, terá direito à buscar ressarcimento.

8. Caso ocorra algum dano, previsto ou não, decorrente da sua participação no estudo, você terá direito a assistência integral e imediata, de forma gratuita (pelo patrocinador e/ou pesquisador responsável), pelo tempo que for necessário; e terá o direito a buscar indenização.

MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
Universidade Federal de Alfenas - UNIFAL-MG
Comitê de Ética em Pesquisa – CEP/UNIFAL-MG
Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Sala 314 E - Alfenas/MG- CEP 37130-000
Fone: (35) 3701 9153

9. Será assegurada a sua privacidade, ou seja, seu nome ou qualquer outro dado ou elemento que possa, de qualquer forma, identificá-lo, será mantido em sigilo. Caso você deseje, poderá ter livre acesso a todas as informações e esclarecimentos adicionais sobre o estudo e suas consequências, enfim, tudo o que você queira saber antes, durante e depois da sua participação.

10. Você foi informado que os dados coletados serão utilizados, única e exclusivamente, para fins desta pesquisa, e que os resultados da pesquisa, poderão ser publicados/divulgados através de trabalhos acadêmicos ou artigos científicos por profissionais da área.

11. Conforme o item III.2, inciso (i) da Resolução CNS 466/2012 e o Artigo 3°, inciso IX, da Resolução CNS 510/2016, é compromisso de todas as pessoas envolvidas na pesquisa de não criar, manter ou ampliar as situações de risco ou vulnerabilidade para os indivíduos e coletividades, nem acentuar o estigma, o preconceito ou a discriminação.

Por esses motivos,

AUTORIZO ( ) / NÃO AUTORIZO ( )

a coleta e divulgação de imagens/fotografias/vídeos/som de voz para a presente pesquisa.

12. Você poderá consultar o pesquisador Daniel Augusto de Faria, no seguinte telefone +55(35)99959-3069 ou email daniel.faria@unifal-mg.edu.br e/ou o Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alfenas (CEP/UNIFAL-MG*), com endereço na Rua Gabriel Monteiro da Silva, 700, Centro, Cep - 37130-000, Fone: (35) 3701 9153, no e-mail: comite.etica@unifal-mg.edu.br sempre que entender necessário obter informações ou esclarecimentos sobre o projeto de pesquisa e sua participação.

**O Comitê de Ética em Pesquisa da Universidade Federal de Alfenas (CEP/UNIFAL-MG) é um colegiado composto por membros de várias áreas do conhecimento científico da UNIFAL-MG e membros da nossa comunidade, com o dever de defender os interesses dos participantes da pesquisa em sua integridade e dignidade e para contribuir no desenvolvimento científico dentro de padrões éticos.*

Eu, _____, CPF nº _____, declaro ter sido informado (a) e concordo em participar, como voluntário, do projeto de pesquisa acima descrito.

Alfenas, de de 2023

.....
(Assinatura do participante da pesquisa)

.....
(Assinatura do pesquisador responsável / pesquisador participante)

ANEXO B – Normas da Revista Lasers in Medical Science

Instructions for Authors

Types of papers

- Original Article – limited to 4000 words, 45 references, no more than 5 figures
- Review Article – limited to 5000 words, 50 references, no more than 5 figures
- Brief Report - limited to 2000 words, 25 references, no more than 4 figures - Case Reports will not be accepted!
- Letter to the Editor – up to 600 words

Manuscript Submission

Submission of a manuscript implies: that the work described has not been published before; that it is not under consideration for publication anywhere else; that its publication has been approved by all co-authors, if any, as well as by the responsible authorities – tacitly or explicitly – at the institute where the work has been carried out. The publisher will not be held legally responsible should there be any claims for compensation.

Permissions

Authors wishing to include figures, tables, or text passages that have already been published elsewhere are required to obtain permission from the copyright owner(s) for both the print and online format and to include evidence that such permission has been granted when submitting their papers. Any material received without such evidence will be assumed to originate from the authors.

Online Submission

Please follow the hyperlink “Submit manuscript” and upload all of your manuscript files following the instructions given on the screen.

Source Files

Please ensure you provide all relevant editable source files at every submission and

revision. Failing to submit a complete set of editable source files will result in your article not being considered for review. For your manuscript text please always submit in common word processing formats such as .docx or LaTeX.

Editorial Procedure

Double-blind peer review

This journal follows a double-blind reviewing procedure. Authors are therefore requested to submit:

A blinded manuscript without any author names and affiliations in the text or on the title page. Self-identifying citations and references in the article text should be avoided.

A separate title page, containing title, all author names, affiliations, and the contact information of the corresponding author. Any acknowledgements, disclosures, or funding information should also be included on this page.

Title Page

Please make sure your title page contains the following information.

Title

The title should be concise and informative.

Author information

- The name(s) of the author(s)
- The affiliation(s) of the author(s), i.e. institution, (department), city, (state), country
- A clear indication and an active e-mail address of the corresponding author
- If available, the 16-digit ORCID of the author(s)

If address information is provided with the affiliation(s) it will also be published.

For authors that are (temporarily) unaffiliated we will only capture their city and country of residence, not their e-mail address unless specifically requested.

Large Language Models (LLMs), such as ChatGPT, do not currently satisfy our authorship criteria. Notably an attribution of authorship carries with it accountability for the work, which cannot be effectively applied to LLMs. Use of an LLM should be properly documented in the Methods section (and if a Methods section is not available, in a suitable alternative part) of the manuscript.

Abstract

Please provide a structured abstract of 150 to 250 words which should be divided into the following sections:

- Purpose (stating the main purposes and research question)
- Methods
- Results
- Conclusion

For life science journals only (when applicable)

- Trial registration number and date of registration for prospectively registered trials
- Trial registration number and date of registration followed by “retrospectively registered”, for retrospectively registered trials

Keywords

Please provide 4 to 6 keywords which can be used for indexing purposes.

Statements and Declarations

The following statements should be included under the heading "Statements and Declarations" for inclusion in the published paper. Please note that submissions that do not include relevant declarations will be returned as incomplete.

- **Competing Interests:** Authors are required to disclose financial or non-financial interests that are directly or indirectly related to the work submitted for publication. Please refer to “Competing Interests and Funding” below for more information on how to complete this section.

Please see the relevant sections in the submission guidelines for further information as well as various examples of wording. Please revise/customize the sample statements according to your own needs.

Text

Text Formatting

Manuscripts should be submitted in Word.

- Use a normal, plain font (e.g., 10-point Times Roman) for text.
- Use italics for emphasis.
- Use the automatic page numbering function to number the pages.
- Do not use field functions.
- Use tab stops or other commands for indents, not the space bar.
- Use the table function, not spreadsheets, to make tables.
- Use the equation editor or MathType for equations.
- Save your file in docx format (Word 2007 or higher) or doc format (older Word versions).

Manuscripts with mathematical content can also be submitted in LaTeX. We recommend using Springer Nature’s LaTeX template.

Headings

Please use no more than three levels of displayed headings.

Abbreviations

Abbreviations should be defined at first mention and used consistently thereafter.

Footnotes

Footnotes can be used to give additional information, which may include the citation of

a reference included in the reference list. They should not consist solely of a reference citation, and they should never include the bibliographic details of a reference. They should also not contain any figures or tables.

Footnotes to the text are numbered consecutively; those to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data). Footnotes to the title or the authors of the article are not given reference symbols.

Always use footnotes instead of endnotes.

Acknowledgments

Acknowledgments of people, grants, funds, etc. should be placed in a separate section on the title page. The names of funding organizations should be written in full.

Scientific style

Generic names of drugs and pesticides are preferred; if trade names are used, the generic name should be given at first mention.

Units and abbreviations

- Please adhere to internationally agreed standards such as those adopted by the commission of the International Union of Pure and Applied Physics (IUPAP) or defined by the International Organization of Standardization (ISO). Metric SI units should be used throughout except where non-SI units are more common [e.g. litre (l) for volume].
- Abbreviations (not standardized) should be defined at first mention in the abstract and again in the main body of the text and used consistently thereafter.

Drugs

- When drugs are mentioned, the international (generic) name should be used. The proprietary name, chemical composition, and manufacturer should be stated in full in Materials and methods.

References

Citation

Reference citations in the text should be identified by numbers in square brackets. Some examples:

1. Negotiation research spans many disciplines [3].

2. This result was later contradicted by Becker and Seligman [5].

3. This effect has been widely studied [1-3, 7].

Reference list

The list of references should only include works that are cited in the text and that have been published or accepted for publication. Personal communications and unpublished works should only be mentioned in the text.

The entries in the list should be numbered consecutively.

If available, please always include DOIs as full DOI links in your reference list (e.g. “https://doi.org/abc”).

- Journal article

Gamelin FX, Baquet G, Berthoin S, Thevenet D, Nourry C, Nottin S, Bosquet L (2009) Effect of high intensity intermittent training on heart rate variability in prepubescent children. Eur J Appl Physiol 105:731-738. https://doi.org/10.1007/s00421-008-0955-8

Ideally, the names of all authors should be provided, but the usage of “et al” in long author lists will also be accepted:

Smith J, Jones M Jr, Houghton L et al (1999) Future of health insurance. N Engl J Med

965:325–329

- Article by DOI

Slifka MK, Whitton JL (2000) Clinical implications of dysregulated cytokine production. J Mol Med. https://doi.org/10.1007/s001090000086

- Book

South J, Blass B (2001) The future of modern genomics. Blackwell, London

- Book chapter

Brown B, Aaron M (2001) The politics of nature. In: Smith J (ed) The rise of modern genomics, 3rd edn. Wiley, New York, pp 230-257

- Online document

Cartwright J (2007) Big stars have weather too. IOP Publishing PhysicsWeb. http://physicsweb.org/articles/news/11/6/16/1. Accessed 26 June 2007

- Dissertation

Trent JW (1975) Experimental acute renal failure. Dissertation, University of California Always use the standard abbreviation of a journal's name according to the ISSN List of Title Word Abbreviations, see

ISSN.org LTWA

If you are unsure, please use the full journal title.

Authors preparing their manuscript in LaTeX can use the bibliography style file sn-basic.bst which is included in the Springer Nature Article Template.

Tables

- All tables are to be numbered using Arabic numerals.
- Tables should always be cited in text in consecutive numerical order.
- For each table, please supply a table caption (title) explaining the components of the table.

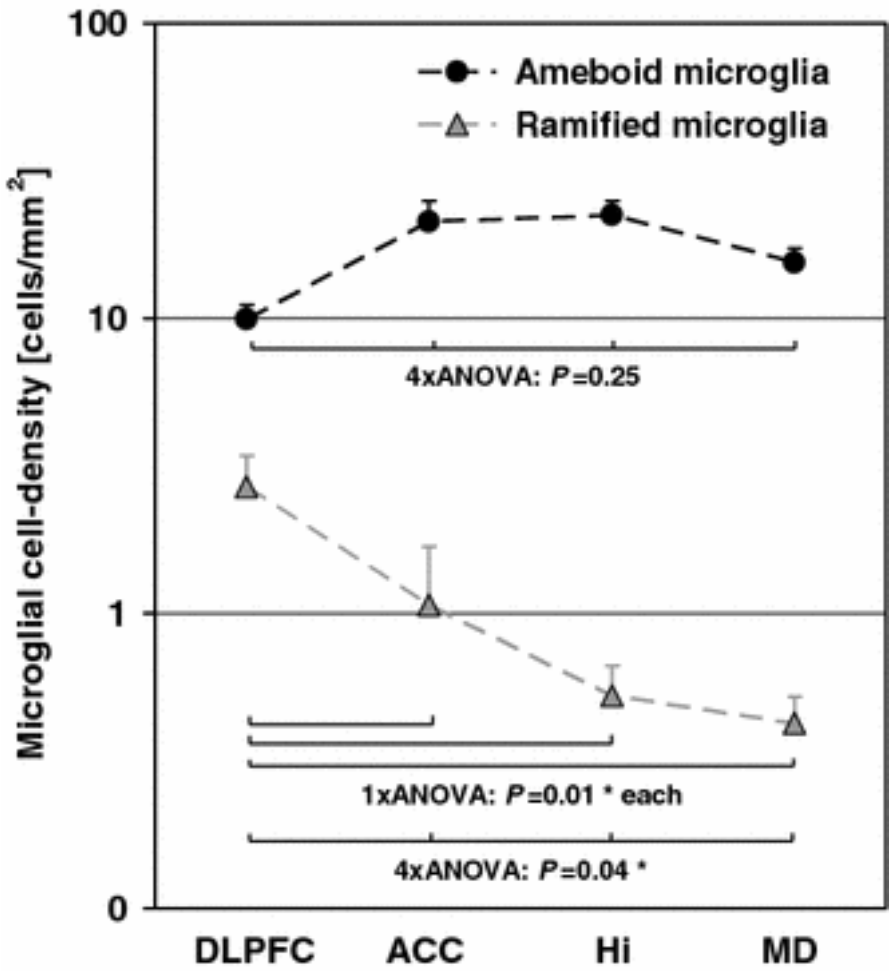
- Identify any previously published material by giving the original source in the form of a reference at the end of the table caption.
- Footnotes to tables should be indicated by superscript lower-case letters (or asterisks for significance values and other statistical data) and included beneath the table body.

Artwork and Illustrations Guidelines

Electronic Figure Submission

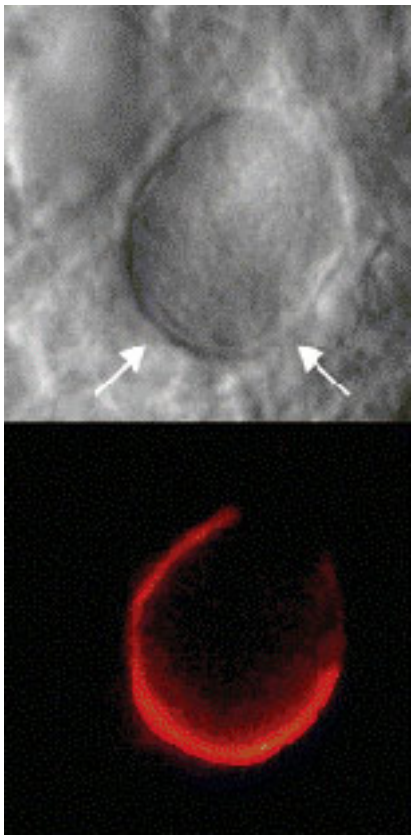
- Supply all figures electronically.
- Indicate what graphics program was used to create the artwork.
- For vector graphics, the preferred format is EPS; for halftones, please use TIFF format. MSOffice files are also acceptable.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.
- Name your figure files with "Fig" and the figure number, e.g., Fig1.eps.

Line Art



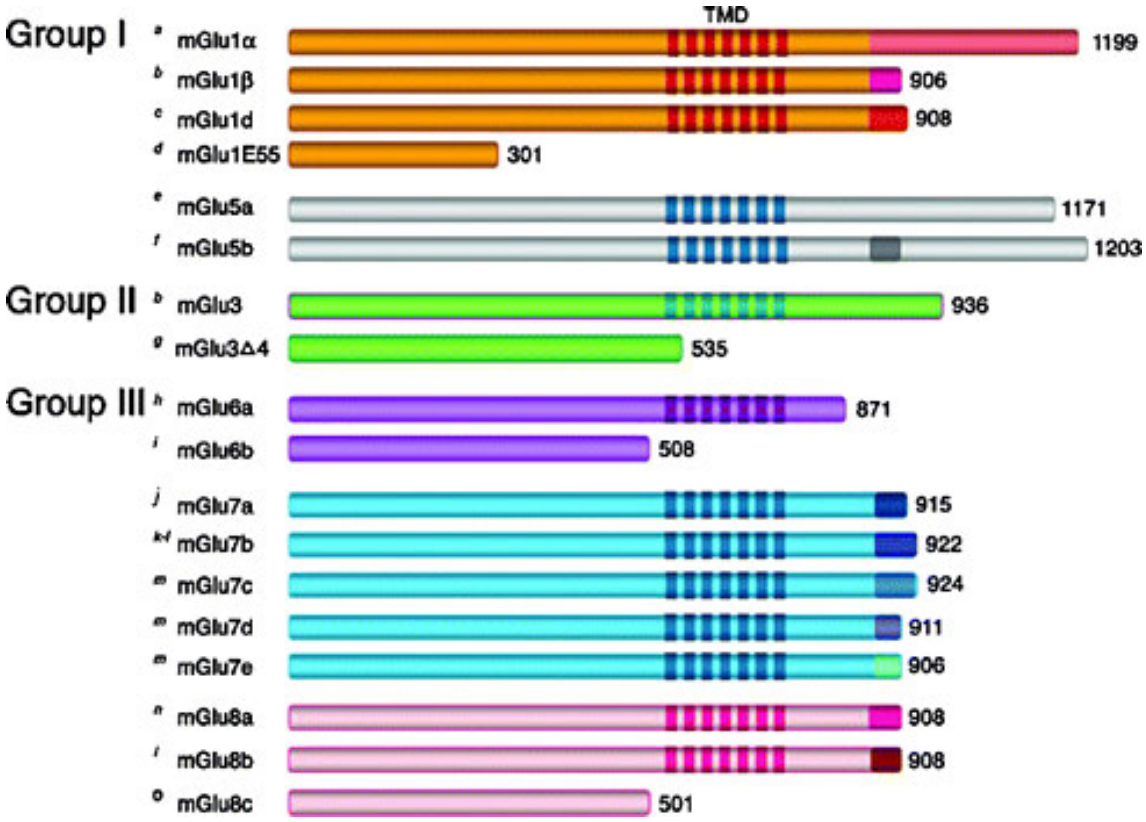
- Definition: Black and white graphic with no shading.
- Do not use faint lines and/or lettering and check that all lines and lettering within the figures are legible at final size.
- All lines should be at least 0.1 mm (0.3 pt) wide.
- Scanned line drawings and line drawings in bitmap format should have a minimum resolution of 1200 dpi.
- Vector graphics containing fonts must have the fonts embedded in the files.

Halftone Art



- Definition: Photographs, drawings, or paintings with fine shading, etc.
- If any magnification is used in the photographs, indicate this by using scale bars within the figures themselves.
- Halftones should have a minimum resolution of 300 dpi.

Combination Art



- Definition: a combination of halftone and line art, e.g., halftones containing line drawing, extensive lettering, color diagrams, etc.
- Combination artwork should have a minimum resolution of 600 dpi.

Color Art

- Color illustrations should be submitted as RGB (8 bits per channel).

Figure Lettering

- To add lettering, it is best to use Helvetica or Arial (sans serif fonts).
- Keep lettering consistently sized throughout your final-sized artwork, usually about 2–3 mm (8–12 pt).
- Variance of type size within an illustration should be minimal, e.g., do not use 8-pt type on an axis and 20-pt type for the axis label.
- Avoid effects such as shading, outline letters, etc.
- Do not include titles or captions within your illustrations.

Figure Numbering

- All figures are to be numbered using Arabic numerals.
- Figures should always be cited in text in consecutive numerical order.

- Figure parts should be denoted by lowercase letters (a, b, c, etc.).
- If an appendix appears in your article and it contains one or more figures, continue the consecutive numbering of the main text. Do not number the appendix figures,"A1, A2, A3, etc." Figures in online appendices [Supplementary Information (SI)] should, however, be numbered separately.

Figure Captions

- Each figure should have a concise caption describing accurately what the figure depicts. Include the captions in the text file of the manuscript, not in the figure file.
- Figure captions begin with the term Fig. in bold type, followed by the figure number, also in bold type.
- No punctuation is to be included after the number, nor is any punctuation to be placed at the end of the caption.
- Identify all elements found in the figure in the figure caption; and use boxes, circles, etc., as coordinate points in graphs.
- Identify previously published material by giving the original source in the form of a reference citation at the end of the figure caption.

Figure Placement and Size

- Figures should be submitted within the body of the text. Only if the file size of the manuscript causes problems in uploading it, the large figures should be submitted separately from the text.

Permissions

If you include figures that have already been published elsewhere, you must obtain permission from the copyright owner(s). Please be aware that some publishers do not grant electronic rights for free and that Springer will not be able to refund any costs that may have occurred to receive these permissions. In such cases, material from other sources should be used.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your figures, please make sure that

- All figures have descriptive captions (blind users could then use a text-to-speech software or a text-to-Braille hardware)

- Patterns are used instead of or in addition to colors for conveying information (colorblind users would then be able to distinguish the visual elements)
- Any figure lettering has a contrast ratio of at least 4.5:1

Generative AI Images

Please check Springer's policy on generative AI images and make sure your work adheres to the principles described therein.

Supplementary Information (SI)

Springer accepts electronic multimedia files (animations, movies, audio, etc.) and other supplementary files to be published online along with an article or a book chapter. This feature can add dimension to the author's article, as certain information cannot be printed or is more convenient in electronic form.

Before submitting research datasets as Supplementary Information, authors should read the journal's Research data policy. We encourage research data to be archived in data repositories wherever possible.

Submission

- Supply all supplementary material in standard file formats.
- Please include in each file the following information: article title, journal name, author names; affiliation and e-mail address of the corresponding author.
- To accommodate user downloads, please keep in mind that larger-sized files may require very long download times and that some users may experience other problems during downloading.
- High resolution (streamable quality) videos can be submitted up to a maximum of 25GB; low resolution videos should not be larger than 5GB.

Audio, Video, and Animations

- Aspect ratio: 16:9 or 4:3
- Maximum file size: 25 GB for high resolution files; 5 GB for low resolution files
- Minimum video duration: 1 sec
- Supported file formats: avi, wmv, mp4, mov, m2p, mp2, mpg, mpeg, flv, mxf, mts, m4v, 3gp

Text and Presentations

- Submit your material in PDF format; .doc or .ppt files are not suitable for long-term viability.
- A collection of figures may also be combined in a PDF file.

Spreadsheets

- Spreadsheets should be submitted as .csv or .xlsx files (MS Excel).

Specialized Formats

- Specialized format such as .pdb (chemical), .wrl (VRML), .nb (Mathematica notebook), and .tex can also be supplied.

Collecting Multiple Files

- It is possible to collect multiple files in a .zip or .gz file.

Numbering

- If supplying any supplementary material, the text must make specific mention of the material as a citation, similar to that of figures and tables.
- Refer to the supplementary files as “Online Resource”, e.g., "... as shown in the animation (Online Resource 3)", “... additional data are given in Online Resource 4”.
- Name the files consecutively, e.g. “ESM_3.mpg”, “ESM_4.pdf”.

Captions

- For each supplementary material, please supply a concise caption describing the content of the file.

Processing of supplementary files

- Supplementary Information (SI) will be published as received from the author without any conversion, editing, or reformatting.

Accessibility

In order to give people of all abilities and disabilities access to the content of your supplementary files, please make sure that

- The manuscript contains a descriptive caption for each supplementary material

- Video files do not contain anything that flashes more than three times per second (so that users prone to seizures caused by such effects are not put at risk)

Generative AI Images

Please check Springer's policy on generative AI images and make sure your work adheres to the principles described therein.

Ethical Responsibilities of Authors

This journal is committed to upholding the integrity of the scientific record. As a member of the Committee on Publication Ethics (COPE) the journal will follow the COPE guidelines on how to deal with potential acts of misconduct.

Authors should refrain from misrepresenting research results which could damage the trust in the journal, the professionalism of scientific authorship, and ultimately the entire scientific endeavour. Maintaining integrity of the research and its presentation is helped by following the rules of good scientific practice, which include*:

- The manuscript should not be submitted to more than one journal for simultaneous consideration.
- The submitted work should be original and should not have been published elsewhere in any form or language (partially or in full), unless the new work concerns an expansion of previous work. (Please provide transparency on the re-use of material to avoid the concerns about text-recycling ('self-plagiarism').
- A single study should not be split up into several parts to increase the quantity of submissions and submitted to various journals or to one journal over time (i.e. 'salami-slicing/publishing').
- Concurrent or secondary publication is sometimes justifiable, provided certain conditions are met. Examples include: translations or a manuscript that is intended for a different group of readers.
- Results should be presented clearly, honestly, and without fabrication, falsification or inappropriate data manipulation (including image based manipulation). Authors should adhere to discipline-specific rules for acquiring, selecting and processing data.
- No data, text, or theories by others are presented as if they were the author's own ('plagiarism'). Proper acknowledgements to other works must be given (this includes material that is closely copied (near verbatim), summarized and/or paraphrased), quotation marks (to indicate words taken from another source) are used for verbatim copying of material, and permissions secured for material that is copyrighted.

Important note: the journal may use software to screen for plagiarism.

- Authors should make sure they have permissions for the use of software, questionnaires/(web) surveys and scales in their studies (if appropriate).
- Research articles and non-research articles (e.g. Opinion, Review, and Commentary articles) must cite appropriate and relevant literature in support of the claims made. Excessive and inappropriate self-citation or coordinated efforts among several authors to collectively self-cite is strongly discouraged.
- Authors should avoid untrue statements about an entity (who can be an individual person or a company) or descriptions of their behavior or actions that could potentially be seen as personal attacks or allegations about that person.
- Research that may be misapplied to pose a threat to public health or national security should be clearly identified in the manuscript (e.g. dual use of research). Examples include creation of harmful consequences of biological agents or toxins, disruption of immunity of vaccines, unusual hazards in the use of chemicals, weaponization of research/technology (amongst others).
- Authors are strongly advised to ensure the author group, the Corresponding Author, and the order of authors are all correct at submission. Adding and/or deleting authors during the revision stages is generally not permitted, but in some cases may be warranted. Reasons for changes in authorship should be explained in detail. Please note that changes to authorship cannot be made after acceptance of a manuscript.

*All of the above are guidelines and authors need to make sure to respect third parties rights such as copyright and/or moral rights.

Upon request authors should be prepared to send relevant documentation or data in order to verify the validity of the results presented. This could be in the form of raw data, samples, records, etc. Sensitive information in the form of confidential or proprietary data is excluded.

If there is suspicion of misbehavior or alleged fraud the Journal and/or Publisher will carry out an investigation following COPE guidelines. If, after investigation, there are valid concerns, the author(s) concerned will be contacted under their given e-mail address and given an opportunity to address the issue. Depending on the situation, this may result in the Journal's and/or Publisher's implementation of the following measures, including, but not limited to:

- If the manuscript is still under consideration, it may be rejected and returned to the author.

- If the article has already been published online, depending on the nature and severity of the infraction:

- an erratum/correction may be placed with the article

- an expression of concern may be placed with the article

- or in severe cases retraction of the article may occur.

The reason will be given in the published erratum/correction, expression of concern or retraction note. Please note that retraction means that the article is **maintained on the platform**, watermarked “retracted” and the explanation for the retraction is provided in a note linked to the watermarked article.

- The author’s institution may be informed
- A notice of suspected transgression of ethical standards in the peer review system may be included as part of the author’s and article’s bibliographic record.

Fundamental errors

Authors have an obligation to correct mistakes once they discover a significant error or inaccuracy in their published article. The author(s) is/are requested to contact the journal and explain in what sense the error is impacting the article. A decision on how to correct the literature will depend on the nature of the error. This may be a correction or retraction. The retraction note should provide transparency which parts of the article are impacted by the error.

Suggesting / excluding reviewers

Authors are welcome to suggest suitable reviewers and/or request the exclusion of certain individuals when they submit their manuscripts. When suggesting reviewers, authors should make sure they are totally independent and not connected to the work in any way. It is strongly recommended to suggest a mix of reviewers from different countries and different institutions. When suggesting reviewers, the Corresponding Author must provide an institutional email address for each suggested reviewer, or, if this is not possible to include other means of verifying the identity such as a link to a personal homepage, a link to the publication record or a researcher or author ID in the

submission letter. Please note that the Journal may not use the suggestions, but suggestions are appreciated and may help facilitate the peer review process.

Authorship principles

These guidelines describe authorship principles and good authorship practices to which prospective authors should adhere to.

Authorship clarified

The Journal and Publisher assume all authors agreed with the content and that all gave explicit consent to submit and that they obtained consent from the responsible authorities at the institute/organization where the work has been carried out, **before** the work is submitted.

The Publisher does not prescribe the kinds of contributions that warrant authorship. It is recommended that authors adhere to the guidelines for authorship that are applicable in their specific research field. In absence of specific guidelines it is recommended to adhere to the following guidelines*:

All authors whose names appear on the submission

1) made substantial contributions to the conception or design of the work; or the acquisition, analysis, or interpretation of data; or the creation of new software used in the work;

2) drafted the work or revised it critically for important intellectual content;

3) approved the version to be published; and

4) agree to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

* Based on/adapted from:

ICMJE, Defining the Role of Authors and Contributors,

Transparency in authors' contributions and responsibilities to promote integrity in scientific publication, McNutt at all, PNAS February 27, 2018

Disclosures and declarations

All authors are requested to include information regarding sources of funding, financial or non-financial interests, study-specific approval by the appropriate ethics committee for research involving humans and/or animals, informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals (as appropriate).

The decision whether such information should be included is not only dependent on the scope of the journal, but also the scope of the article. Work submitted for publication may have implications for public health or general welfare and in those cases it is the responsibility of all authors to include the appropriate disclosures and declarations.

Data transparency

All authors are requested to make sure that all data and materials as well as software application or custom code support their published claims and comply with field standards. Please note that journals may have individual policies on (sharing) research data in concordance with disciplinary norms and expectations.

Role of the Corresponding Author

One author is assigned as Corresponding Author and acts on behalf of all co-authors and ensures that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately addressed.

The Corresponding Author is responsible for the following requirements:

- ensuring that all listed authors have approved the manuscript before submission, including the names and order of authors;
- managing all communication between the Journal and all co-authors, before and after publication;*
- providing transparency on re-use of material and mention any unpublished material (for example manuscripts in press) included in the manuscript in a cover letter to the Editor;
- making sure disclosures, declarations and transparency on data statements from all authors are included in the manuscript as appropriate (see above).

* The requirement of managing all communication between the journal and all co-authors during submission and proofing may be delegated to a Contact or Submitting Author. In this case please make sure the Corresponding Author is clearly indicated in the manuscript.

Author contributions

In absence of specific instructions and in research fields where it is possible to describe discrete efforts, the Publisher recommends authors to include contribution statements in the work that specifies the contribution of every author in order to promote transparency. These contributions should be listed at the separate title page.

Examples of such statement(s) are shown below:

• Free text:

All authors contributed to the study conception and design. Material preparation, data collection and analysis were performed by [full name], [full name] and [full name]. The first draft of the manuscript was written by [full name] and all authors commented on previous versions of the manuscript. All authors read and approved the final manuscript.

Example: CRediT taxonomy:

• Conceptualization: [full name], …; Methodology: [full name], …; Formal analysis and investigation: [full name], …; Writing - original draft preparation: [full name, …]; Writing - review and editing: [full name], …; Funding acquisition: [full name], …; Resources: [full name], …; Supervision: [full name],….

For **review articles** where discrete statements are less applicable a statement should be included who had the idea for the article, who performed the literature search and data analysis, and who drafted and/or critically revised the work.

For articles that are based primarily on the **student's dissertation or thesis**, it is recommended that the student is usually listed as principal author:

A Graduate Student's Guide to Determining Authorship Credit and Authorship Order, APA Science Student Council 2006

Affiliation

The primary affiliation for each author should be the institution where the majority of their work was done. If an author has subsequently moved, the current address may additionally be stated. Addresses will not be updated or changed after publication of the article.

Changes to authorship

Authors are strongly advised to ensure the correct author group, the Corresponding Author, and the order of authors at submission. Changes of authorship by adding or deleting authors, and/or changes in Corresponding Author, and/or changes in the sequence of authors are **not** accepted **after acceptance** of a manuscript.

- **Please note that author names will be published exactly as they appear on the accepted submission!**

Please make sure that the names of all authors are present and correctly spelled, and that addresses and affiliations are current.

Adding and/or deleting authors at revision stage are generally not permitted, but in some cases it may be warranted. Reasons for these changes in authorship should be explained. Approval of the change during revision is at the discretion of the Editor-in-Chief. Please note that journals may have individual policies on adding and/or deleting authors during revision stage.

Author identification

Authors are recommended to use their ORCID ID when submitting an article for consideration or acquire an ORCID ID via the submission process.

Deceased or incapacitated authors

For cases in which a co-author dies or is incapacitated during the writing, submission, or peer-review process, and the co-authors feel it is appropriate to include the author, co-authors should obtain approval from a (legal) representative which could be a direct relative.

Authorship issues or disputes

In the case of an authorship dispute during peer review or after acceptance and publication, the Journal will not be in a position to investigate or adjudicate. Authors will be asked to resolve the dispute themselves. If they are unable the Journal reserves the right to withdraw a manuscript from the editorial process or in case of a published paper raise the issue with the authors' institution(s) and abide by its guidelines.

Confidentiality

Authors should treat all communication with the Journal as confidential which includes correspondence with direct representatives from the Journal such as Editors-in-Chief and/or Handling Editors and reviewers' reports unless explicit consent has been received to share information.

Compliance with Ethical Standards

To ensure objectivity and transparency in research and to ensure that accepted principles of ethical and professional conduct have been followed, authors should include information regarding sources of funding, potential conflicts of interest (financial or non-financial), informed consent if the research involved human participants, and a statement on welfare of animals if the research involved animals.

Authors should include the following statements (if applicable) in a separate section entitled “Compliance with Ethical Standards” when submitting a paper:

- Disclosure of potential conflicts of interest
- Research involving Human Participants and/or Animals
- Informed consent

Please note that standards could vary slightly per journal dependent on their peer review policies (i.e. single or double blind peer review) as well as per journal subject discipline. Before submitting your article check the instructions following this section carefully.

The corresponding author should be prepared to collect documentation of compliance with ethical standards and send if requested during peer review or after publication.

The Editors reserve the right to reject manuscripts that do not comply with the above-mentioned guidelines. The author will be held responsible for false statements or failure to fulfill the above-mentioned guidelines.

Competing Interests

Authors are requested to disclose interests that are directly or indirectly related to the work submitted for publication. Interests within the last 3 years of beginning the work (conducting the research and preparing the work for submission) should be reported. Interests outside the 3-year time frame must be disclosed if they could reasonably be perceived as influencing the submitted work. Disclosure of interests provides a complete and transparent process and helps readers form their own judgments of potential bias. This is not meant to imply that a financial relationship with an organization that sponsored the research or compensation received for consultancy

work is inappropriate.

Editorial Board Members and Editors are required to declare any competing interests and may be excluded from the peer review process if a competing interest exists. In addition, they should exclude themselves from handling manuscripts in cases where there is a competing interest. This may include – but is not limited to – having previously published with one or more of the authors, and sharing the same institution as one or more of the authors. Where an Editor or Editorial Board Member is on the author list we recommend they declare this in the competing interests section on the submitted manuscript. If they are an author or have any other competing interest regarding a specific manuscript, another Editor or member of the Editorial Board will be assigned to assume responsibility for overseeing peer review. These submissions are subject to the exact same review process as any other manuscript. Editorial Board Members are welcome to submit papers to the journal. These submissions are not given any priority over other manuscripts, and Editorial Board Member status has no bearing on editorial consideration.

Interests that should be considered and disclosed but are not limited to the following:

Funding: Research grants from funding agencies (please give the research funder and the grant number) and/or research support (including salaries, equipment, supplies, reimbursement for attending symposia, and other expenses) by organizations that may gain or lose financially through publication of this manuscript.

Employment: Recent (while engaged in the research project), present or anticipated employment by any organization that may gain or lose financially through publication of this manuscript. This includes multiple affiliations (if applicable).

Financial interests: Stocks or shares in companies (including holdings of spouse and/or children) that may gain or lose financially through publication of this manuscript; consultation fees or other forms of remuneration from organizations that may gain or lose financially; patents or patent applications whose value may be affected by publication of this manuscript.

It is difficult to specify a threshold at which a financial interest becomes significant, any such figure is necessarily arbitrary, so one possible practical guideline is the following: "Any undeclared financial interest that could embarrass the author were it to become publicly known after the work was published."

Non-financial interests: In addition, authors are requested to disclose interests that go beyond financial interests that could impart bias on the work submitted for publication such as professional interests, personal relationships or personal beliefs (amongst others). Examples include, but are not limited to: position on editorial board, advisory board or board of directors or other type of management relationships; writing and/or consulting for educational purposes; expert witness; mentoring relations; and so forth.

Primary research articles require a disclosure statement. Review articles present an expert synthesis of evidence and may be treated as an authoritative work on a subject. Review articles therefore require a disclosure statement. Other article types such as editorials, book reviews, comments (amongst others) may, dependent on their content, require a disclosure statement. If you are unclear whether your article type requires a disclosure statement, please contact the Editor-in-Chief.

Please note that, in addition to the above requirements, funding information (given that funding is a potential competing interest (as mentioned above)) needs to be disclosed upon submission of the manuscript in the peer review system. This information will automatically be added to the Record of CrossMark, however it is **not added** to the manuscript itself. Under ‘summary of requirements’ (see below) funding information should be included in the ‘**Declarations**’ section.

Summary of requirements

The above should be summarized in a statement and placed in a ‘Declarations’ section before the reference list under a heading of ‘Funding’ and/or ‘Competing interests’. Other declarations include Ethics approval, Consent, Data, Material and/or Code availability and Authors’ contribution statements.

Please see the various examples of wording below and revise/customize the sample statements according to your own needs.

When all authors have the same (or no) conflicts and/or funding it is sufficient to use one blanket statement.

Examples of statements to be used when funding has been received:

- Partial financial support was received from [...]
- The research leading to these results received funding from […] under Grant Agreement No[…].
- This study was funded by […]
- This work was supported by […] (Grant numbers […] and […]

Examples of statements to be used when there is no funding:

- The authors did not receive support from any organization for the submitted work.
- No funding was received to assist with the preparation of this manuscript.
- No funding was received for conducting this study.
- No funds, grants, or other support was received.

Examples of statements to be used when there are interests to declare:

- **Financial interests:** Author A has received research support from Company A. Author B has received a speaker honorarium from Company W and owns stock in Company X. Author C is consultant to company Y.

Non-financial interests: Author C is an unpaid member of committee Z.

- **Financial interests:** The authors declare they have no financial interests.

Non-financial interests: Author A is on the board of directors of Y and receives no compensation as member of the board of directors.

- **Financial interests:** Author A received a speaking fee from Y for Z. Author B receives a salary from association X. X where s/he is the Executive Director.

Non-financial interests: none.

- **Financial interests:** Author A and B declare they have no financial interests. Author C has received speaker and consultant honoraria from Company M and Company N. Dr. C has received speaker honorarium and research funding from Company M and Company O. Author D has received travel support from Company O.

Non-financial interests: Author D has served on advisory boards for Company M, Company N and Company O.

Examples of statements to be used when authors have nothing to declare:

- The authors have no relevant financial or non-financial interests to disclose.
- The authors have no competing interests to declare that are relevant to the content of this article.
- All authors certify that they have no affiliations with or involvement in any organization or entity with any financial interest or non-financial interest in the subject matter or materials discussed in this manuscript.
- The authors have no financial or proprietary interests in any material discussed in this article.

Authors are responsible for correctness of the statements provided in the manuscript. See also Authorship Principles. The Editor-in-Chief reserves the right to reject submissions that do not meet the guidelines described in this section.

Research involving human participants, their data or biological material

Ethics approval

When reporting a study that involved human participants, their data or biological material, authors should include a statement that confirms that the study was approved (or granted exemption) by the appropriate institutional and/or national research ethics committee (including the name of the ethics committee) and certify that the study was performed in accordance with the ethical standards as laid down in the 1964 Declaration of Helsinki and its later amendments or comparable ethical standards. If doubt exists whether the research was conducted in accordance with the 1964 Helsinki Declaration or comparable standards, the authors must explain the reasons for their approach, and demonstrate that an independent ethics committee or institutional review board explicitly approved the doubtful aspects of the study. If a study was granted exemption from requiring ethics approval, this should also be detailed in the manuscript (including the reasons for the exemption).

Retrospective ethics approval

If a study has not been granted ethics committee approval prior to commencing, retrospective ethics approval usually cannot be obtained and it may not be possible to consider the manuscript for peer review. The decision on whether to proceed to peer review in such cases is at the Editor's discretion.

Ethics approval for retrospective studies

Although retrospective studies are conducted on already available data or biological material (for which formal consent may not be needed or is difficult to obtain) ethics approval may be required dependent on the law and the national ethical guidelines of a country. Authors should check with their institution to make sure they are complying with the specific requirements of their country.

Ethics approval for case studies

Case reports require ethics approval. Most institutions will have specific policies on this subject. Authors should check with their institution to make sure they are complying with the specific requirements of their institution and seek ethics approval where needed. Authors should be aware to secure informed consent from the individual (or parent or guardian if the participant is a minor or incapable) See also section on **Informed Consent**.

Cell lines

If human cells are used, authors must declare in the manuscript: what cell lines were used by describing the source of the cell line, including when and from where it was obtained, whether the cell line has recently been authenticated and by what method. If cells were bought from a life science company the following need to be given in the manuscript: name of company (that provided the cells), cell type, number of cell line, and batch of cells.

It is recommended that authors check the NCBI database for misidentification and

contamination of human cell lines. This step will alert authors to possible problems with the cell line and may save considerable time and effort.

Further information is available from the International Cell Line Authentication Committee (ICLAC).

Authors should include a statement that confirms that an institutional or independent ethics committee (including the name of the ethics committee) approved the study and that informed consent was obtained from the donor or next of kin.

Research Resource Identifiers (RRID)

Research Resource Identifiers (RRID) are persistent unique identifiers (effectively similar to a DOI) for research resources. This journal encourages authors to adopt RRIDs when reporting key biological resources (antibodies, cell lines, model organisms and tools) in their manuscripts.

Examples:

Organism: *Filip1*$^{tm1a(KOMP)Wtsi}$ **RRID:MMRRC_055641-UCD**

Cell Line: RST307 cell line **RRID:CVCL_C321**

Antibody: Luciferase antibody DSHB Cat# LUC-3, **RRID:AB_2722109**

Plasmid: mRuby3 plasmid **RRID:Addgene_104005**

Software: ImageJ Version 1.2.4 **RRID:SCR_003070**

RRIDs are provided by the Resource Identification Portal. Many commonly used research resources already have designated RRIDs. The portal also provides authors links so that they can quickly register a new resource and obtain an RRID.

Clinical Trial Registration

The World Health Organization (WHO) definition of a clinical trial is "any research study that prospectively assigns human participants or groups of humans to one or more health-related interventions to evaluate the effects on health outcomes". The WHO defines health interventions as “A health intervention is an act performed for, with or on behalf of a person or population whose purpose is to assess, improve, maintain, promote or modify health, functioning or health conditions” and a health-related outcome is generally defined as a change in the health of a person or population as a result of an intervention.

To ensure the integrity of the reporting of patient-centered trials, authors must register prospective clinical trials (phase II to IV trials) in suitable publicly available repositories. For example www.clinicaltrials.gov or any of the primary registries that participate in the WHO International Clinical Trials Registry Platform.

The trial registration number (TRN) and date of registration should be included as the last line of the manuscript abstract.

For clinical trials that have not been registered prospectively, authors are encouraged to register retrospectively to ensure the complete publication of all results. The trial registration number (TRN), date of registration and the words 'retrospectively registered’ should be included as the last line of the manuscript abstract.

Standards of reporting

Springer Nature advocates complete and transparent reporting of biomedical and biological research and research with biological applications. Authors are recommended to adhere to the minimum reporting guidelines hosted by the EQUATOR Network when preparing their manuscript.

Exact requirements may vary depending on the journal; please refer to the journal’s Instructions for Authors.

Checklists are available for a number of study designs, including:

Randomised trials (CONSORT) and Study protocols (SPIRIT)

Observational studies (STROBE)

Systematic reviews and meta-analyses (PRISMA) and protocols (Prisma-P)

Diagnostic/prognostic studies (STARD) and (TRIPOD)

Case reports (CARE)

Clinical practice guidelines (AGREE) and (RIGHT)

Qualitative research (SRQR) and (COREQ)

Animal pre-clinical studies (ARRIVE)

Quality improvement studies (SQUIRE)

Economic evaluations (CHEERS)

Summary of requirements

The above should be summarized in a statement and placed in a ‘Declarations’ section before the reference list under a heading of ‘Ethics approval’.

Examples of statements to be used when ethics approval has been obtained:

• All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical

standards. The study was approved by the Bioethics Committee of the Medical University of A (No. ...).

• This study was performed in line with the principles of the Declaration of Helsinki. Approval was granted by the Ethics Committee of University B (Date.../No. ...).

• Approval was obtained from the ethics committee of University C. The procedures used in this study adhere to the tenets of the Declaration of Helsinki.

• The questionnaire and methodology for this study was approved by the Human Research Ethics committee of the University of D (Ethics approval number: ...).

Examples of statements to be used for a retrospective study:

• Ethical approval was waived by the local Ethics Committee of University A in view of the retrospective nature of the study and all the procedures being performed were part of the routine care.

• This research study was conducted retrospectively from data obtained for clinical purposes. We consulted extensively with the IRB of XYZ who determined that our study did not need ethical approval. An IRB official waiver of ethical approval was granted from the IRB of XYZ.

• This retrospective chart review study involving human participants was in accordance with the ethical standards of the institutional and national research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards. The Human Investigation Committee (IRB) of University B approved this study.

Examples of statements to be used when no ethical approval is required/exemption granted:

• This is an observational study. The XYZ Research Ethics Committee has confirmed that no ethical approval is required.

• The data reproduced from Article X utilized human tissue that was procured via our Biobank AB, which provides de-identified samples. This study was reviewed and deemed exempt by our XYZ Institutional Review Board. The BioBank protocols are in accordance with the ethical standards of our institution and with the 1964 Helsinki declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Authors are responsible for correctness of the statements provided in the manuscript. See also Authorship Principles. The Editor-in-Chief reserves the right to reject submissions that do not meet the guidelines described in this section.

Informed consent

All individuals have individual rights that are not to be infringed. Individual participants in studies have, for example, the right to decide what happens to the (identifiable) personal data gathered, to what they have said during a study or an interview, as well as to any photograph that was taken. This is especially true concerning images of vulnerable people (e.g. minors, patients, refugees, etc) or the use of images in sensitive contexts. In many instances authors will need to secure written consent before including images.

Identifying details (names, dates of birth, identity numbers, biometrical characteristics (such as facial features, fingerprint, writing style, voice pattern, DNA or other distinguishing characteristic) and other information) of the participants that were studied should not be published in written descriptions, photographs, and genetic profiles unless the information is essential for scholarly purposes and the participant (or parent/guardian if the participant is a minor or incapable or legal representative) gave written informed consent for publication. Complete anonymity is difficult to achieve in some cases. Detailed descriptions of individual participants, whether of their whole bodies or of body sections, may lead to disclosure of their identity. Under certain circumstances consent is not required as long as information is anonymized and the submission does not include images that may identify the person.

Informed consent for publication should be obtained if there is any doubt. For example, masking the eye region in photographs of participants is inadequate protection of anonymity. If identifying characteristics are altered to protect anonymity, such as in genetic profiles, authors should provide assurance that alterations do not distort meaning.

Exceptions where it is not necessary to obtain consent:

• Images such as x rays, laparoscopic images, ultrasound images, brain scans, pathology slides unless there is a concern about identifying information in which case, authors should ensure that consent is obtained.

• Reuse of images: If images are being reused from prior publications, the Publisher will assume that the prior publication obtained the relevant information regarding consent. Authors should provide the appropriate attribution for republished images.

Consent and already available data and/or biologic material

Regardless of whether material is collected from living or dead patients, they (family or guardian if the deceased has not made a pre-mortem decision) must have given prior written consent. The aspect of confidentiality as well as any wishes from the deceased should be respected.

Data protection, confidentiality and privacy

When biological material is donated for or data is generated as part of a research project authors should ensure, as part of the informed consent procedure, that the participants are made aware what kind of (personal) data will be processed, how it will be used and for what purpose. In case of data acquired via a biobank/biorepository, it is possible they apply a broad consent which allows research participants to consent to a broad range of uses of their data and samples which is regarded by research ethics committees as specific enough to be considered “informed”. However, authors

should always check the specific biobank/biorepository policies or any other type of data provider policies (in case of non-bio research) to be sure that this is the case.

Consent to Participate

For all research involving human subjects, freely-given, informed consent to participate in the study must be obtained from participants (or their parent or legal guardian in the case of children under 16) and a statement to this effect should appear in the manuscript. In the case of articles describing human transplantation studies, authors must include a statement declaring that no organs/tissues were obtained from prisoners and must also name the institution(s)/clinic(s)/department(s) via which organs/tissues were obtained. For manuscripts reporting studies involving vulnerable groups where there is the potential for coercion or where consent may not have been fully informed, extra care will be taken by the editor and may be referred to the Springer Nature Research Integrity Group.

Consent to Publish

Individuals may consent to participate in a study, but object to having their data published in a journal article. Authors should make sure to also seek consent from individuals to publish their data prior to submitting their paper to a journal. This is in particular applicable to case studies. A consent to publish form can be found

here. (Download docx, 36 kB)

Summary of requirements

The above should be summarized in a statement and placed in a ‘Declarations’ section before the reference list under a heading of ‘Consent to participate’ and/or ‘Consent to publish’. Other declarations include Funding, Competing interests, Ethics approval, Consent, Data and/or Code availability and Authors’ contribution statements.

Please see the various examples of wording below and revise/customize the sample statements according to your own needs.

Sample statements for **"Consent to participate"**:

Informed consent was obtained from all individual participants included in the study.

Informed consent was obtained from legal guardians.

Written informed consent was obtained from the parents.

Verbal informed consent was obtained prior to the interview.

Sample statements for **“Consent to publish”**:

The authors affirm that human research participants provided informed consent for publication of the images in Figure(s) 1a, 1b and 1c.

The participant has consented to the submission of the case report to the journal.

Patients signed informed consent regarding publishing their data and photographs.

Sample statements if identifying information about participants is available in the article:

Additional informed consent was obtained from all individual participants for whom identifying information is included in this article.

Authors are responsible for correctness of the statements provided in the manuscript. See also Authorship Principles. The Editor-in-Chief reserves the right to reject submissions that do not meet the guidelines described in this section.

Images will be removed from publication if authors have not obtained informed consent or the paper may be removed and replaced with a notice explaining the reason for removal.

Research Data Policy

This journal operates a type 1 research data policy. The journal encourages authors, where possible and applicable, to deposit data that support the findings of their research in a public repository. Authors and editors who do not have a preferred repository should consult Springer Nature's list of repositories and research data policy.

List of Repositories

Research Data Policy

General repositories - for all types of research data - such as figshare and Dryad may also be used.

Datasets that are assigned digital object identifiers (DOIs) by a data repository may be cited in the reference list. Data citations should include the minimum information recommended by DataCite: authors, title, publisher (repository name), identifier.

DataCite

If the journal that you're submitting to uses double-blind peer review and you are providing reviewers with access to your data (for example via a repository link, supplementary information or data on request), it is strongly suggested that the authorship in the data is also blinded. There are data repositories that can assist with this and/or will create a link to mask the authorship of your data.

Authors who need help understanding our data sharing policies, help finding a suitable data repository, or help organising and sharing research data can access our Author Support portal for additional guidance.

After acceptance

Upon acceptance, your article will be exported to Production to undergo typesetting. Shortly after this you will receive two e-mails. One contains a request to confirm your affiliation, choose the publishing model for your article, as well as to arrange rights and payment of any associated publication cost. A second e-mail containing a link to your article's proofs will be sent once typesetting is completed.

Article publishing agreement

Depending on the ownership of the journal and its policies, you will either grant the Publisher an exclusive licence to publish the article or will be asked to transfer copyright of the article to the Publisher.

Offprints

Offprints can be ordered by the corresponding author.

Color illustrations

Publication of color illustrations is free of charge.

Proof reading

The purpose of the proof is to check for typesetting or conversion errors and the completeness and accuracy of the text, tables and figures. Substantial changes in content, e.g., new results, corrected values, title and authorship, are not allowed without the approval of the Editor.

After online publication, further changes can only be made in the form of an Erratum, which will be hyperlinked to the article.

Open Choice

Open Choice allows you to publish open access in more than 1850 Springer Nature journals, making your research more visible and accessible immediately on publication.

Article processing charges (APCs) vary by journal – view the full list

Benefits:

- Increased researcher engagement: Open Choice enables access by anyone with an internet connection, immediately on publication.
- Higher visibility and impact: In Springer hybrid journals, OA articles are accessed 4 times more often on average, and cited 1.7 more times on average*.
- Easy compliance with funder and institutional mandates: Many funders require open access publishing, and some take compliance into account when assessing future grant applications.

It is easy to find funding to support open access – please see our funding and support pages for more information.

*) Within the first three years of publication. Springer Nature hybrid journal OA impact analysis, 2018.

Open Choice

Funding and Support pages

Copyright and license term – CC BY

Open Choice articles do not require transfer of copyright as the copyright remains with the author. In opting for open access, the author(s) agree to publish the article under the Creative Commons Attribution License.

Find more about the license agreement

Editing Services

English

How can you help improve your manuscript for publication?

Presenting your work in a well-structured manuscript and in well-written English gives it its best chance for editors and reviewers to understand it and evaluate it fairly. Many researchers find that getting some independent support helps them present their results in the best possible light. The experts at Springer Nature Author Services can help you with manuscript preparation—including **English language editing, developmental comments, manuscript formatting, figure preparation, translation**, and more.