

LAMIS MEORIN NOGUEIRA

**ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO DO PROCESSO DE
REPARO DE INCISIVOS DE RATOS DIABÉTICOS
SUBMETIDOS À LUXAÇÃO EXTRUSIVA.**

ARAÇATUBA - SP
2012

LAMIS MEORIN NOGUEIRA

**ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO DO PROCESSO DE
REPARO DE INCISIVOS DE RATOS DIABÉTICOS
SUBMETIDOS À LUXAÇÃO EXTRUSIVA**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Orientador: Prof. Dr. Celso Koogi Sonoda

Coorientadora: Prof.^a Dr.^a Alessandra M. Aranega

ARAÇATUBA - SP
2012

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

- S251a Nogueira, Lamis Meorin.
Estudo histomorfométrico do processo de reparo de dentes
de ratos diabéticos submetidos à luxação extrusiva / Lamis
Meorin Nogueira. - Araçatuba : [s.n.], 2011
67 f. + 1 CD-ROM
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Celso Koogi Sonoda
Coorientadora: Prf.^a Dr.^a Alessandra M. Aranega
1. Diabetes Mellitus 2. Ligamento periodontal 3. Reabsorção
da raiz

Black D7
CDD 617.64

AGRADECIMENTOS

ESPECIAIS

A **Deus**, por ter me posto no caminho que hoje me encontro, pelas pessoas que Ele colocou neste percurso e pela família a qual pertenço.

Aos meus pais, **Abrahão e Célia**, pela formação que me deram, pela dedicação com que me educaram, pelo investimento que em mim empenharam, por terem tornado minha formação profissional possível, pela compreensão durante esses quatro anos e, principalmente, pela confiança que em mim empregaram. Amo vocês.

Ao meu irmão e familiares, que me incentivam e me apóiam em todas as minhas escolhas de cada dia no decorrer da minha vida.

Aos meus amigos, aqueles que permaneceram e aos novos que conquistei durante esta minha jornada de formação profissional. Estas pessoas especiais que tanto contribuíram para o meu crescimento e que me ajudaram a lapidar a pessoa que sou hoje, agradeço de coração.

Ao **Vinícius**, que acompanhou de perto esta jornada, apoiando e ajudando em todos os momentos que precisei. Obrigada pela compreensão, auxílio e conselhos.

Ao meu Orientador, ***Celso Koogi Sonoda***, pela oportunidade e confiança que me proporcionou ao participar de suas pesquisas. Agradeço por todo o ensinamento em mim investido.

AGRADECIMENTOS

À ***Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP***, por ser o instrumento para a realização da minha formação.

A ***CAPES***, pelo fomento disponibilizado , o qual foi fundamental para a realização deste trabalho.

Ao ***Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada*** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, representado por todos os professores e funcionários, pela oportunidade de cursar o mestrado e pelo convívio com tantas pessoas maravilhosas.

À ***Faculdade de Odontologia de Araraquara - UNESP***, lugar em que dei início à minha jornada na formação profissional, à todos os professores e funcionários com os quais tive contato. Em especial aos professores da disciplina de Cirurgia pelo ano de 2009, período em que realizei meu estágio de atualização, agradeço a oportunidade e atenção que me foi confiada.

Resumo

Nogueira, LM. Estudo Histomorfométrico do Processo de Reparo de incisivos de ratos diabéticos submetidos à Luxação Extrusiva. [dissertação]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP; 2012.

Traumas na região oral ocorrem com frequência e representam 5% de todos os ferimentos em que indivíduos procuram tratamento. A prevalência dos traumas de luxação em crianças e pacientes jovens, desperta uma preocupação com a condição do tecido pulpar desses dentes que geralmente apresentam rizogênese incompleta. Outro fator importante é o aumento da prevalência de indivíduos com alterações sistêmicas, principalmente o Diabetes Mellitus, que pode levar a um atraso na reparação tecidual e predispor o indivíduo a infecções. Portanto o objetivo deste trabalho foi estudar a reparação periodontal e pulpar de ratos diabéticos e normais submetidos à luxação extrusiva do incisivo superior. Para tanto foram utilizados 30 animais divididos em 3 grupos de 10. No grupo I (controle) não foi realizado nenhum procedimento cirúrgico. Para a indução do Diabetes no grupo III, utilizou-se a estreptozotocina diluída em tampão citrato, aplicada na veia peniana. No grupo II utilizou-se apenas o tampão citrato. Constatada a condição de Diabetes no grupo III, realizou-se neste grupo e no grupo II a luxação extrusiva em 2mm do incisivo superior direito. Após 60 dias os animais foram submetidos à eutanásia e perfusão e as peças obtidas, processadas para análise pela Hematoxilina e Eosina. Foi realizada uma análise histomorfométrica dos resultados. Entre os parâmetros analisados, as maiores alterações ocorreram na inserção c epitélio gengival, tecido pulpar e ligamento periodontal, que se apresentaram mais comprometido nos animais diabéticos. De uma forma geral, não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes entre os grupos II e III.

Palavras-chaves: Diabetes Mellitus, reabsorção da raiz, ligamento periodontal.

Abstract

Nogueira LM. Histomorphometric Study of the Repair Process of incisors of diabetic rats under Extrusive Luxation. [dissertation]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP; 2012.

Trauma to the oral region occurs frequently and comprises 5% of all injuries for which people seek treatment. The prevalence of dislocation trauma in children and young patients raises a concern about the condition of the pulp tissue of teeth that generally have incomplete root formation. Another important factor is the increasing prevalence of individuals with systemic conditions, especially diabetes mellitus, which can lead to a delay in tissue repair and predispose individuals to infection. Therefore, the purpose was to study the repair of periodontal and pulp tissue of normal and diabetic rats submitted to extrusive luxation of the maxillary incisor. Therefore, we use 30 animals divided into 3 groups of 10. In group I (control) was not carried out any surgical procedure. For the induction of Diabetes in group III was used the streptozotocin diluted in citrate buffer applied to the penile vein. Group II was used only citrate buffer. Given the condition of diabetes in group III, in this group and group II was performed the extrusive luxation of 2mm in the right maxillary incisor. After 60 days the animals were euthanized and perfusion and the specimens were processed for analysis by hematoxylin and eosin. We performed a histomorphometric analysis of the results. Among the parameters analyzed, the largest changes occurred in the insertion of the gingival epithelium, dental pulp and periodontal ligament, which were more impaired in diabetic animals. Overall, there were no statistically significant differences between groups II and III.

Key-words: *Diabetes Mellitus, root resorption, periodontal ligament.*

Lista de figuras, tabelas e quadros

Figura 1	Injeção de solução de estreptozotocina através da Veia Peniana.	44
Figura 2	Confirmação do estado de Diabetes nos ratos do Grupo III.	44
Figura 3	Luxação do Incisivo Superior Direito nos Grupos II e III.	44
Figura 4	Extrusão de 2mm do Incisivo Superior Direito em relação ao incisivo contralateral.	45
Figura 5	Desgaste Compensatório do bordo incisal com caneta de alta rotação, para manutenção da nova posição.	45
Figura 6	Contenção com fio de seda 4-0 para manutenção da nova posição.	45
Figura 7	Grupo I - Disposição do epitélio do sulco gengival, do tecido conjuntivo fibroso dento gengival e do ligamento periodontal (terço cervical da raiz). H.E. 50x.	27
Figura 8	Grupo I - Aspecto de normalidade do tecido ósseo alveolar, ligamento periodontal, parede dentinária e tecido pulpar. Camada de pré-dentina. H.E. 100x.	27
Figura 9	Grupo I – Tecido pulpar com vários vasos sanguíneos. Camada de odontoblastos junto a parede dentinária do conduto radicular. H.E. 100x.	27
Figura 10	Grupo I – Região apical da raiz com tecido pulpar e Bainha Epitelial de Hertwig. H.E. 50x.	27
Figura 11	Grupo II – Inserção do epitélio do sulco gengival e do tecido conjuntivo fibroso na região cervical da raiz. Ponto de reabsorção de superfície. H.E. 50x.	29
Figura 12	Grupo II – Reinserção das fibras do ligamento periodontal em área de dilaceração da dentina radicular H.E. 100x.	29
Figura 13	Grupo II – Aspecto do conduto radicular (CR) preenchido por diferentes tipos de tecido calcificado. H.E. 50x.	29

Figura 14	Grupo II – Remanescente de tecido pulpar na porção apical da raiz. Alteração da anatomia da parede dentinária, Formação de tecido calcificado no conduto radicular. H.E. 50x.	29
Figura 15	Grupo III – Disposição do epitélio gengival abaixo da crista óssea alveolar alcançando o terço médio da raiz. H.E. 50x.	31
Figura 16	Grupo III – Ligamento periodontal reinserido na superfície radicular. Conduto radicular preenchido por tecido calcificado. H.E. 100x.	31
Figura 17	Grupo III – Terço apical da raiz com remanescente de tecido pulpar com vitalidade e necrosado. Dilaceração da parede dentinária. H.E. 50x.	31
Figura 18	Grupo III – Aspecto do tecido pulpar necrosado no conduto radicular. Epitélio do sulco gengival alcançando o terço médio da raiz. H.E. 100x.	31
Figura 19	Grupo III – Aspecto da dentina reparadora, tecido osteóide e tecido conjuntivo pulpar necrosado. H.E. 400x.	31
Figura 20	Imagem digitalizada e exibida pelo software Image J.	46
Figura 21	Demarcação da câmara pulpar e obtenção da área em pixels.	47
Tabela 1	Média dos escores atribuídos aos parâmetros histomorfológicos para cada grupo experimental.	32
Quadro 1	Quadro de escores do grupo I em relação à ocorrência dos eventos considerados.	48
Quadro 2	Quadro de escores do grupo II em relação à ocorrência dos eventos considerados.	48
Quadro 3	Quadro de escores do grupo III em relação à ocorrência dos eventos considerados.	49

Lista de abreviaturas e síglas

% - Porcentagem

< - Menor

> - Maior

mg - Miligramas

µm – Micrometro

mm – Milímetro

GI – Grupo I

GII – Grupo II

GIII – Grupo III

PVPI – Polivinilpirrolidona iodo

UI – Unidades internacionais

EDTA – Ácido etilenodiaminotetraacético

pH – Potencial hidrogenionico.

Fig. - Figura

Inflam. – Inflamação

Int. – Interna

Ext. – Externa

Prof. - Profundidade

Reab. – Reabsroção

Tec. - Tecido

Sumário

1. Introdução	13
2. Materiais e Métodos	16
3. Resultados	24
4. Discussão	33
5. Conclusão	38
6. Referências	39
Anexos:	
Anexo I – Comitê de ética	43
Anexo II – Material e método	44
Anexo III – Imagens	46
Anexo IV – Normas para publicação	50

Introdução

Traumas na região oral ocorrem com frequência e representam 5% de todos os ferimentos faciais em que indivíduos procuram tratamento. Em crianças pré-escolares a incidência é de 18%, sendo as causas mais comuns as quedas da própria altura e os acidentes envolvendo meios de locomoção (1). Entre todas as lesões faciais, traumatismos dentários são as mais comuns e as fraturas coronárias e luxações ocorrem com maior frequência (2-4). A maior ocorrência de trauma dentário se dá em pacientes com idade de 7 a 12 anos, envolvendo os dentes decíduos e dentes permanentes com rizogênese incompleta (2-4). Neles, a presença de ligamento periodontal menos desenvolvido e raízes incompletamente formadas favorecem o trauma de luxação em detrimento das fraturas coronárias (5).

Os traumas de luxação se caracterizam por envolver os tecidos periodontais e a superfície radicular merecendo especial atenção uma vez que pode resultar em reabsorção radicular do dente comprometido (5). Entre os tipos de luxação, a concussão e a subluxação demandam menor preocupação clínica uma vez que o comprometimento do periodonto tende a ser menos significativo (6). A luxação extrusiva pode ser definida como o deslocamento parcial de um dente para fora do seu alvéolo. Clinicamente o dente se encontra extruído e com sangramento no sulco gengival. Dentes com luxação extrusiva exibem uma mobilidade anormal e radiograficamente apresentam o espaço do ligamento periodontal aumentado. Na dentição decídua a luxação extrusiva é considerada como o tipo mais comum (38,23%) de traumatismo dentário (7). O tratamento de luxações consiste no reposicionamento do dente deslocado e na sua contenção pelo período de 2 a 3 semanas (2, 8).

A prevalência dos traumas de luxação em crianças e pacientes jovens (9), desperta uma preocupação com a condição do tecido pulpar desses dentes que geralmente apresentam rizogênese incompleta. Isso porque, a necrose pulpar tem sido descrita como a mais comum das complicações após a luxação (5, 7, 10). A possibilidade de revascularização pulpar permitirá que a raiz complete o seu desenvolvimento contribuindo para sua estabilidade funcional. Por outro lado a necrose pulpar pode estimular a reabsorção radicular inflamatória (7, 11).

O tratamento para casos de luxação depende do estágio de rizogênese, do grau de deslocamento, da existência de lesões dento-alveolares concomitantes, do período decorrido entre o trauma e o tratamento e tipo de contenção utilizada. (7, 10, 12, 13,). Influencia também o dano ao ligamento periodontal e ao feixe vâsculo-nervoso da polpa. (7, 14-16)

No tratamento dos dentes luxados pouco se sabe sobre a influência das alterações sistêmicas no processo de reparo. Dentre as patologias existentes encontra-se o diabetes, considerado uma das moléstias mais comuns da população (1, 17). Diabetes Mellitus é uma desordem metabólica caracterizada por hiperglicemia crônica, resultando numa alteração do metabolismo dos carboidratos, proteínas e lipídios, devido a defeitos na secreção e/ou ação da insulina (18-21). Como consequência, a persistência de níveis elevados de glicose no sangue, pode levar ao atraso da cicatrização das feridas (17, 20, 21), inclusive da reparação alveolar (22) e ao aumento da predisposição às infecções (17-21).

O tipo I da doença (insulino-dependente ou diabetes juvenil) constitui de 5% a 10% dos casos, é mais comum em crianças e adolescentes (23, 24) e resulta da destruição auto-imune das células beta do pâncreas produtoras de

insulina, levando a uma deficiência absoluta na produção deste hormônio (17, 18, 24). A doença periodontal é o achado mais comum em pacientes diabéticos, sendo que aproximadamente 75% destes pacientes possuem doença periodontal com aumento de reabsorção alveolar (9, 16, 17, 21, 24).

Com a crescente longevidade, obesidade e o sedentarismo da população, houve o aumento da incidência da doença (24). Sendo assim, a possibilidade de um profissional se deparar com um paciente diabético acometido por um caso de luxação extrusiva é cada vez maior e o conhecimento dessa enfermidade e suas implicações no tratamento odontológico é imprescindível. Por outro lado, a literatura apresenta-se carente de estudos sobre o reparo de dentes luxados em tais condições, o que despertou o interesse para a realização deste estudo. Os conhecimentos obtidos poderão melhor amparar o profissional na elaboração de um plano de tratamento.

Tal preocupação justifica a realização deste trabalho que irá estudar o processo de reparo dos tecidos dentais e periodontais de incisivos de ratos normais e diabéticos submetidos à luxação extrusiva.

Material e Método

Previamente á sua realização, a metodologia foi submetida e aprovada pelo comitê de ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP (protocolo n 2010 – 003484, Anexo I)

Para a realização deste trabalho foi utilizado o incisivo superior direito de 30 ratos (*Rattus norvegicus*, Wistar) machos, adultos, pesando aproximadamente 100 a 200g, adquiridos e mantidos no Biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. Os animais foram divididos em 3 grupos de 10, sendo que no grupo I (controle), nenhum procedimento cirúrgico foi realizado. Nos grupos II e III realizou-se a luxação extrusiva do incisivo, sendo que nos animais do grupo III procedeu-se previamente a indução do Diabetes.

Antes do procedimento cirúrgico e durante a indução diabética, os animais receberam ração sólida (Ração Ativada Produtor-Anderson & Clayton S. A.) e água *ad libitum*. Nos períodos de jejum (14-16horas) que antecederam a administração da estreptozotocina (Sigma-Aldrich Corp., St. Louis, MO, USA), antibiótico empregado para a indução do diabetes e para o procedimento cirúrgico, os animais foram mantidos apenas com água. Após a cirurgia, durante 3 dias, eles foram alimentados com ração triturada.

- Indução à Diabetes

Previamente à administração da estreptozotocina, os ratos receberam por via intramuscular, Cloridrato de Xilazina (Coopazine – Coopers Brasil Ltda, Cotia, SP, Brasil) e Cloridrato de Cetamina (Vetaset - Fort Dodge, São Paulo,

SP, Brasil) nas dosagens de 10mg e 80mg para cada Kg de peso corporal, respectivamente, para a obtenção do efeito anestésico. Os ratos do grupo I e II receberam injeção de tampão citrato 0,01M, pH 4,5 (Farmácia Aphoticário – Araçatuba, SP, Brasil), através da veia peniana (Fig.1). No Grupo III (Diabéticos), foi injetado a estreptozotocina dissolvida em tampão citrato pela mesma via de administração do grupo anterior, na concentração de 35mg/Kg de peso corpóreo. Cinco dias após a indução, foi feita a coleta de sangue pela cauda do animal, para a determinação da glicemia (Fig.2) por meio do sistema de monitorização automática de glicemia (Accu-Chek Advantage Roche Diagnóstico do Brasil Ltda., São Paulo, SP, Brasil).

- Procedimento cirúrgico

No sétimo dia, depois de comprovada a hiperglicemia, para a realização do procedimento cirúrgico, os animais foram novamente anestesiados. Nos grupos II e III, após a anti-sepsia da região anterior da maxila com polivinilpirrolidona-iodo (Riodeine – Ind. Farmac. Rioquímica Ltda.), o incisivo superior direito de cada animal foi luxado e na seqüência extruído em 2mm (Fig.3 e 4). A extensão de dente extruído foi definida por meio de régua milimetrada, levando-se em consideração o bordo incisal do dente adjacente. A porção excedente da coroa foi removida por meio de desgaste compensatório com instrumento de alta rotação e ponta diamantada (KG Sorensen, São Paulo, Brasil) (Fig.5). Para manutenção do incisivo na nova posição foi empregada uma contenção semi-rígida, por meio de amarra com fio de sutura de seda nº 5.0. Para isso confeccionou-se um sulco na porção coronária, onde se posicionou a contenção (Fig.6). A contenção foi removida 3 dias após a sua

colocação. Após o procedimento cirúrgico, os animais receberam dose única de 20.000 UI de penicilina G benzatina por via intramuscular.

-Eutanásia e preparação das peças para análise

Decorridos 60 dias do ato operatório, os animais foram submetidos à eutanásia por meio de perfusão transcardíaca. Para isso os animais foram novamente anestesiados com solução de xilazina e ketamina, para obtenção do acesso cirúrgico ao coração e artéria aorta. Realizou-se a injeção intraventricular de heparina (0,1 ml / 5.000 U.I/ml) e após 10 segundos, realizou-se a perfusão via aorta, com solução salina a 0,9% (100ml), seguido de solução fixadora (400 ml) de paraformaldeído (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) a 4% em tampão fosfato de sódio (PB) (Sigma Chemical Co., St. Louis, MO, USA) a 0,1 M, pH 7,4 a 4°C. Após a perfusão, a maxila direita foi separada da esquerda na linha mediana com emprego de lâmina de bisturi nº 15. Um corte com tesoura reta na porção distal do 3º molar possibilitou a obtenção da maxila direita contendo o dente luxado que foi imediatamente dissecada e pós-fixada na mesma solução fixadora durante 24 horas. Em prosseguimento, os espécimes foram lavados e submetidos à descalcificação em EDTA a 10%, durante 20 dias e lavadas exaustivamente.

Os espécimes foram desidratados em soluções crescentes de alcoóis, diafanizados em xilóis, impregnados em parafina de baixa temperatura de fusão (56-58C) durante 3 horas e incluídos com orientação pré-estabelecida e padronizada. Nos blocos realizou-se cortes semi-seriados de 6 micrômetros de espessura, no sentido longitudinal da raiz, no terço médio (sentido mésio-distal). Foram selecionadas duas lâminas para cada espécime contendo quatro

cortes cada. Os cortes montados sobre lâminas foram corados pela técnica de Hematoxilina e Eosina, para análise histomorfométrica.

- Análise Histológica

A análise histológica foi realizada com auxílio de microscópio óptico (Axiolab – Zeiss, Alemanha). Foram consideradas as características do ligamento periodontal, cemento, dentina, osso alveolar, além da ocorrência de reabsorção e superfície, inflamatória, por substituição e anquilose. Analisaram-se também as características do tecido pulpar, sendo considerada a ocorrência de necrose, inflamação e calcificação.

Para a quantificação das ocorrências histomorfológicas foram atribuídos escores de 1 a 4 aos diferentes eventos abaixo listados, onde 1 corresponde ao melhor resultado e 4 ao pior, ocupando os escores 2 e 3 posições intermediárias (Tabela 2). Os eventos considerados para análise são (25):

1. Inserção Epitelial

- 1 – junção amelo-cementária;
- 2 – ligamento abaixo da junção amelo-cementária;
- 3 – junção amelo-cementária próxima ao terço médio;
- 4 – ausência de epitélio juncional;

2. Processo Inflamatório agudo e crônico próximo ao local da inserção epitelial

2.1) Intensidade do processo inflamatório baseado no critério descrito por Wolfson and Seltzer (26)

- 1 – ausência ou presença ocasional de células inflamatórias;

- 2 – pequeno número de células inflamatórias, Até 10 células/campo (aumento de 40x);
- 3 – moderado número de células inflamatórias. De 11 a 50 células/campo (aumento de 40x);
- 4 – grande número de células inflamatórias. Acima de 50 células/campo (aumento de 40x).

2.2) Extensão do processo inflamatório

- 1 – ausência ou presença ocasional de células inflamatórias;
- 2 – processo inflamatório restrito à lâmina própria da parte interna do epitélio;
- 3 – processo inflamatório estendendo-se apicalmente até a pequena porção do tecido conjuntivo subjacente à lâmina própria da porção interna do epitélio;
- 4 – processo inflamatório atingindo proximidade da crista óssea alveolar;

3. Organização do Ligamento Periodontal

- 1 – fibras periodontais inseridas no tecido ósseo e cimento em toda a extensão do ligamento;
- 2 – fibras periodontais inseridas no tecido ósseo e cimento em 2/3 da extensão do ligamento;
- 3 – fibras periodontais inseridas no tecido ósseo e cimento em 1/3 da extensão do ligamento;
- 4 – ausência de fibras periodontais com inserção no tecido ósseo e cimento.

3.1) Intensidade do processo inflamatório baseado no critério descrito por Wolfson and Seltzer (26) (ver item 2.1)

3.2) Extensão do Processo Inflamatório

- 1 – ausência ou presença ocasional de células inflamatórias;
- 2 – processo inflamatório presente apenas no ligamento periodontal apical ou coronário ou pequena área lateral;
- 3 – processo inflamatório atingindo mais que a metade do ligamento periodontal lateral da raiz do dente;
- 4 – processo inflamatório em todo o ligamento periodontal.

4. Reabsorção Radicular

- 1 – ausência ou reabsorção envolvendo até 25% da profundidade da raiz;
- 2 – reabsorção envolvendo de 25,1% a 50% da profundidade da raiz;
- 3 – reabsorção envolvendo de 50,1 % a 75% da profundidade da raiz;
- 4 – reabsorção envolvendo de 75,1% a 100% da profundidade da raiz.

5. Anquilose

- 1 – ausência de anquilose;
- 2 – pequenos pontos de anquilose;
- 3 – um terço da raiz apresenta anquilose;
- 4 – mais de um terço da raiz apresenta anquilose.

6. Organização do Tecido Pulpar

- 1 – presença de tecido pulpar em 75,1% a 100% da extensão da raiz;

- 2 – presença de tecido pulpar em 50,1% a 75% da extensão da raiz;
- 3 – presença de tecido pulpar em 25,1% a 50% da extensão da raiz;
- 4 – presença de tecido pulpar em 0% a 25% da extensão da raiz.

6.1) Intensidade do processo inflamatório baseado no critério descrito por Wolfson and Seltzer (26) (ver item 2.1)

6.2) Extensão do Processo Inflamatório

- 1 – ausência ou presença ocasional de células inflamatórias;
- 2 – processo inflamatório presente apenas no tecido pulpar apical ou coronário ou pequena área lateral;
- 3 – processo inflamatório atingindo mais que a metade da extensão do tecido pulpar;
- 4 – processo inflamatório em todo o tecido pulpar.

7. Reabsorção Ativa e Inativa do Tecido Ósseo

- 1 – ausência de reabsorção;
- 2 – presença de áreas de reabsorção inativa (ausência de células clásticas);
- 3 – presença de pequenas áreas de reabsorção ativa;
- 4 – presença de extensas áreas de reabsorção ativa.

- Análise Histométrica

O corte longitudinal foi capturado por meio de uma câmera Axio Cam MRc5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) acoplada a um Estereomicroscópio Stemi 2000 C (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro,

RJ, Brasil) com um aumento de 10x que permite uma visão panorâmica do dente. Essa imagem foi salva como figura no programa Axio Vision 4.5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e utilizada para a quantificação no programa ImageJ (National Institutes of Health, EUA). Neste programa, as áreas em estudo foram delimitadas e demarcadas para obtenção de sua extensão (em pixel).

Para análise da condição do tecido pulpar, foi mensurada a área de toda a câmara pulpar e em seguida as áreas ocupadas por polpa normal, necrosada, inflamada ou calcificada. Esses valores foram submetidos a uma regra de três para quantificar a porcentagem da ocorrência de cada um deles. A partir destes valores foram calculadas as médias de cada grupo e aplicado o teste estatístico.

No grupo I foi realizada a mensuração de toda a extensão do tecido pulpar normal. A média dessas medidas foi considerada na análise das alterações pulpares que ocorrerem nos dentes tratados.

- Análise Estatística

Como os parâmetros morfométricos apresentaram grande variabilidade, optou-se pelos testes estatísticos não paramétricos. Assim, para a confrontação dos dados pela análise de variância usou-se o teste de Kruskal-Wallis e quando este indicou diferença estatisticamente significativa, utilizou-se o teste de Dunn para as comparações individuais. O nível de significância de 5% foi considerado para esta análise estatística.

Resultados

Os animais empregados suportaram de forma adequada os procedimentos experimentais realizados neste estudo. Durante a confirmação do diabetes foi possível observar que todos os animais que receberam estreptozotocina apresentaram a glicemia acima de 300mg/dL. Além disso, outros aspectos clínicos como poliúria, polidipsia e polifagia foram também detectados nesses animais.

Grupo I (controle)

Nesse grupo, em todos os espécimes a inserção epitelial encontra-se no limite amelo-cementário. O tecido conjuntivo subjacente é rico em fibras colágenas, fibroblastos e vasos sanguíneos (Fig.7).

A superfície radicular apresenta-se íntegra em toda extensão e recoberta pelo ligamento periodontal, bem vascularizado, rico em fibras colágenas e fibroblastos. As fibras colágenas estão dispostas de forma oblíqua em relação à superfície radicular com suas extremidades inseridas na superfície cementária e na parede óssea alveolar (Fig.8). Em toda extensão da raiz, junto ao cimento, pode-se encontrar a camada de cementoblastos. A parede óssea alveolar é formada por tecido ósseo maduro e em algumas áreas vários osteoblastos podem ser encontrados em sua periferia.

No conduto radicular de todos os espécimes havia a presença de tecido pulpar com características de normalidade. Era formado por um tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado e entre os elementos celulares observados destacavam-se os fibroblastos, alguns com formato fusiforme, mas

a maioria deles com formato estrelado em meio a uma abundante matriz extracelular. As fibras colágenas eram delgadas e estavam dispostas de forma irregular.

Na região periférica da polpa, junto à parede dentinária, observava-se a camada de odontoblastos (Fig.9). Essas células, na porção mais incisal, se apresentavam em maior número, eram cilíndricas e alongadas e se dispunham em camadas. Na porção mais apical da raiz se apresentavam em menor número, eram mais curtas e estavam justapostas lado a lado na forma de coluna. Na região do forame apical essas células se dispunham em duas camadas formando a bainha epitelial de Hertwig (Fig.10).

Entre a camada de odontoblastos e a dentina podia-se observar a camada de pré-dentina (Fig.9), caracterizada por uma pequena faixa de tecido dentinário de coloração menos intensa presente em toda extensão da parede do canal. Este tecido se encontrava protegido por paredes dentinárias dispostas paralelamente entre si da porção apical à porção incisal. O forame apical era amplo e os vasos sanguíneos calibrosos e em grande número, estavam dispostos longitudinalmente às paredes dentinárias, se estendendo por todo o comprimento da polpa.

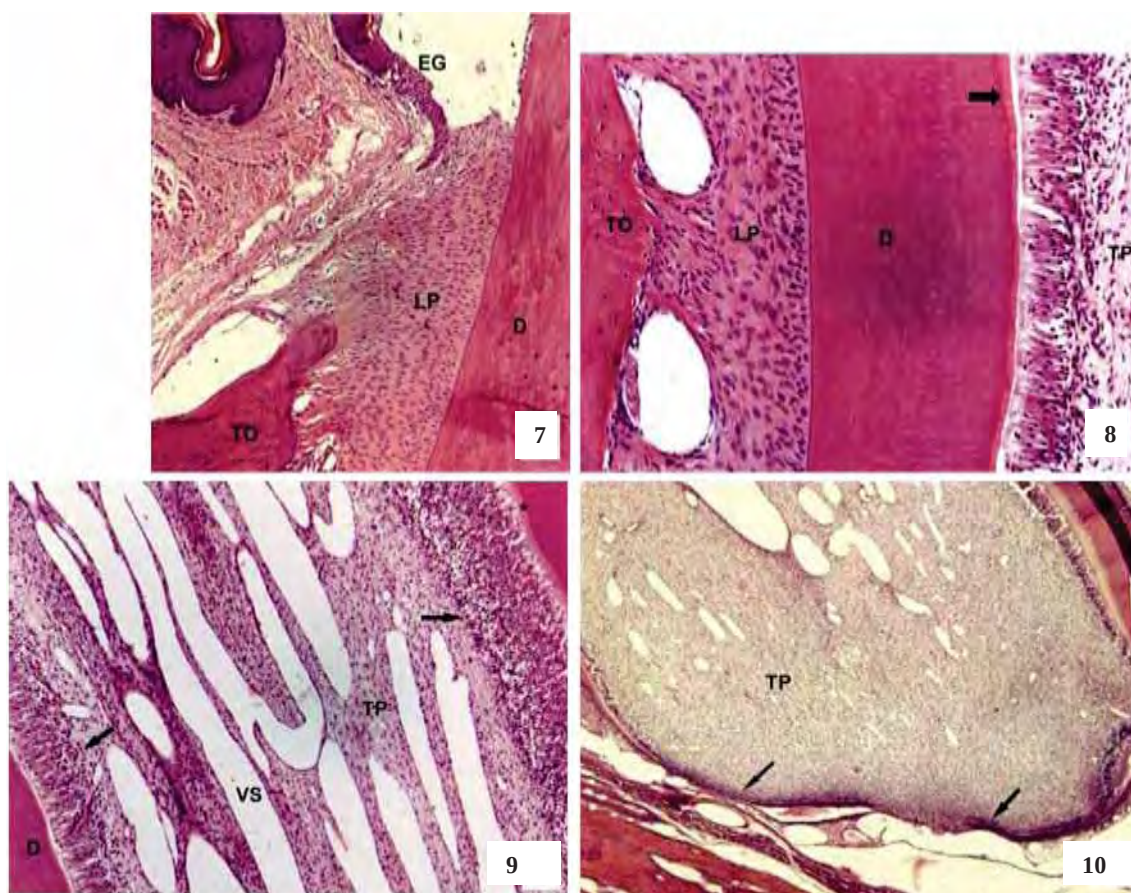


Fig 7 – Disposição do epitélio do sulco gengival (EG), do tecido conjuntivo fibroso dento gengival e do ligamento periodontal (LP) (terço cervical da raiz) (EG). H.E. 50x. **Fig. 8** – Aspecto de normalidade do tecido ósseo alveolar (TO), ligamento periodontal (LP), parede dentinária (D) e tecido pulpar. Camada de pré-dentina (seta) H.E. 100x.; **Fig. 9** – Tecido pulpar (TP) com vários vasos sanguíneos (VS). Camada de odontoblastos (setas) junto à parede dentinária (D) do conduto radicular (terço coronário) H.E. 100x; **Fig. 10** – Região apical da raiz com tecido pulpar (TP) e Bainha Epitelial de Hertwig (setas) H.E. 50x.

Grupo II – (Luxação extrusiva não diabéticos).

Neste grupo a inserção epitelial localizava-se na altura do limite esmalte-cimento em 6 espécimes. O tecido conjuntivo fibroso subjacente ao epitélio inseria-se na superfície cementária apresentava-se rico em fibras colágenas, fibroblastos e vasos sanguíneos (Fig.11). Eventuais células inflamatórias com histiócitos e linfócitos podiam ser encontrados. Em 3 espécimes essa inserção localizava-se apicalmente alcançando 20% da extensão da superfície radicular. Em outro, esta profundidade era maior, alcançando o terço apical da raiz.

Neste espécime o ligamento periodontal recobria apenas o terço apical da raiz. Em outros 3 espécimes, este tecido recobria 80% da superfície radicular enquanto nos demais, isso ocorria em toda a raiz.

O ligamento periodontal apresentava-se rico em fibras colágenas, fibroblastos e vasos sangüíneos. A disposição oblíqua dessas fibras, inseridas na superfície cementária e parede óssea alveolar, indicavam a reinserção. Na superfície radicular poucos pontos de reabsorção de superfície foram encontrados, prevalecendo a integridade do cimento na maior parte dos casos (Fig.12).

A maior parte do conduto radicular estava preenchida por dentina reparadora que se caracterizava pela presença de túbulos dentinários irregularmente dispostos, com eventuais inclusões celulares. Em menor proporção, áreas de tecido osteóide também estavam presentes (Fig.13). No conduto radicular de 9 espécimes (média de 26,22%), pôde-se encontrar diferentes proporções de tecido pulpar com características de normalidade. Essas áreas se localizavam principalmente no terço apical da raiz e foram inferiores ao do grupo controle e superiores ao do grupo III (Fig.14). Este tecido apresentou-se necrosado em dois espécimes, comprometendo toda a polpa em um deles e uma pequena porção em outro. Era formado por remanescentes de fibras colágenas e células em decomposição em meio a um exudato abundante.

A bainha epitelial de Hertwig estava presente somente nos dentes que apresentavam polpa íntegra. Pôde-se observar neste grupo uma grande variação na anatomia das paredes dentinárias, notadamente do terço apical da raiz. Em um deles toda a extensão da raiz se apresentou irregular (Fig.14).

Na parede óssea alveolar, na região cervical, era possível observar alguns pontos reabsorvidos. Em alguns deles, osteoclastos também estavam presentes. Já nas demais áreas, esse tecido apresentava-se reparado com a presença de tecido osteóide e osteoblastos.

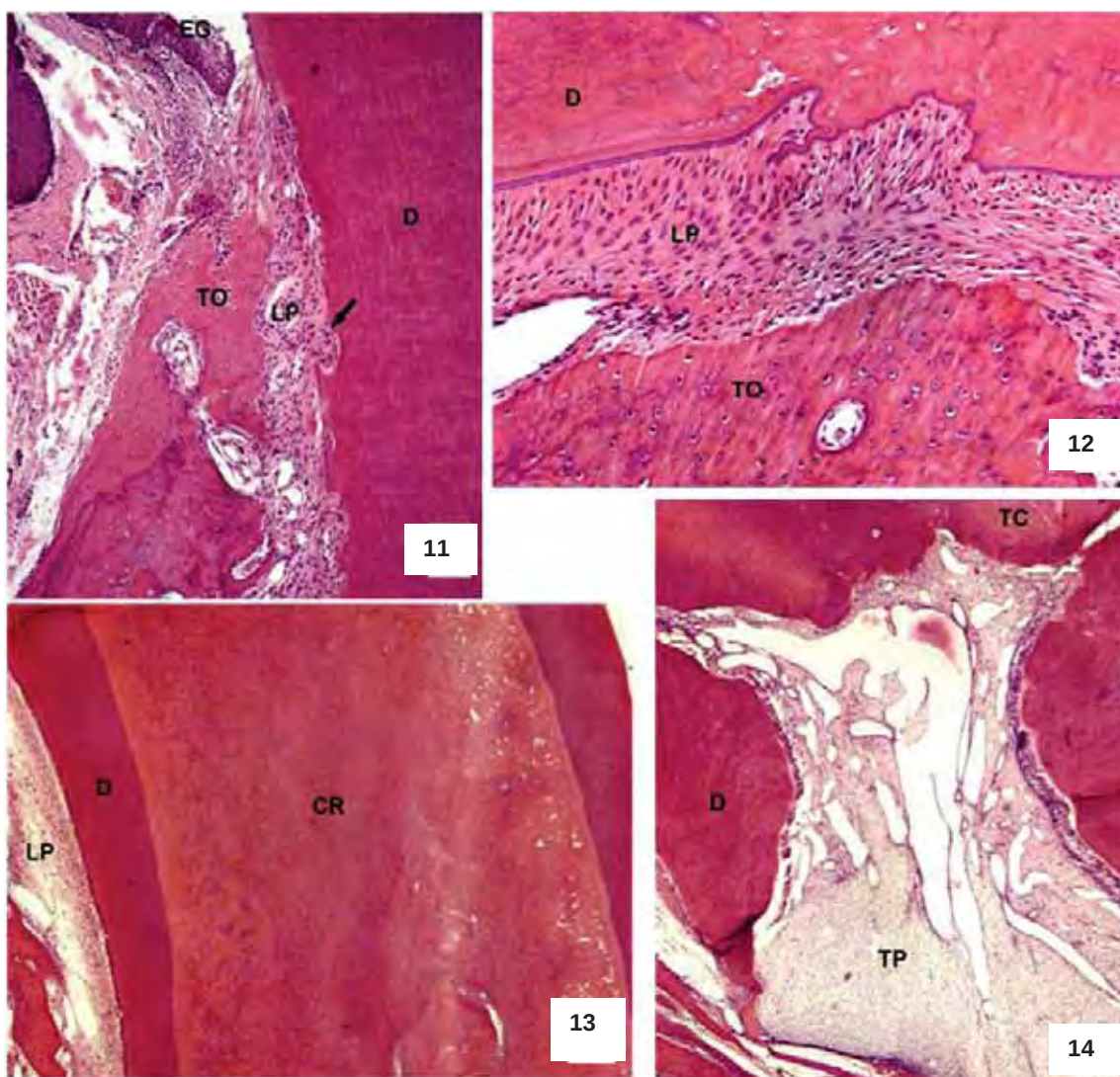


Fig. 11 – Ligamento periodontal (LP) inserido na parede dentinária (D) e na parede do tecido ósseo (TO). Ponto de reabsorção de superfície (seta). H.E. 50x.; **Fig. 12**- Reinserção das fibras do ligamento periodontal (LP) em área de variação anatômica da dentina radicular, reparada por cimento H.E. 100x.; **Fig. 13** – Aspecto do conduto radicular (CR) preenchido por tecido calcificado H.E. 50x.; **Fig. 14** – Remanescente de tecido pulpar (TC) na porção apical da raiz. Alteração da anatomia da parede dentinária (D), Formação de tecido calcificado (TC) no conduto radicular. H.E. 50x.

Grupo III– (Luxação extrusiva ratos diabéticos).

A localização da inserção epitelial no limite amelo-cementário ocorreu em apenas 2 espécime neste grupo. Em outros 2 espécimes essa inserção se localizava abaixo da crista óssea alveolar alcançando 30% e 50% da extensão da raiz. Nos demais, essa estrutura estava localizada mais apicalmente, expondo mais de 70% da raiz, com a formação de uma bolsa infra-óssea (Fig.15).

Diferente do grupo anterior, no tecido conjuntivo subjacente ao epitélio desses espécimes, um infiltrado inflamatório crônico moderado ocupava áreas mais extensas. A presença de neutrófilos também foi mais freqüente, ocupando áreas maiores. Próximo a essa estrutura, pontos de reabsorção na parede óssea alveolar com a presença de osteoclastos também foram mais freqüentes, nas demais áreas apresentava-se reparado com osteoblastos na sua periferia.

Por conta da posição da inserção epitelial, em 6 espécimes deste grupo, menos de 50% da superfície radicular apresentou-se recoberta por ligamento periodontal. Nos outros 4, essa estrutura estava presente em mais de 70% da superfície radicular e apresentava-se rico em vasos sanguíneos, fibroblastos e fibras colágenas (Fig.16). Inseridas na parede óssea alveolar e na camada de cimento, a disposição dessas fibras caracterizava a reinserção. Em 9 espécimes, era possível observar neste tecido um infiltrado inflamatório crônico moderado, sendo que em 7 deles, algumas áreas com neutrófilos também podiam ser encontradas. Da mesma forma que no grupo anterior, a camada de cimento se apresentou íntegra na maior parte dos casos, com exceção de alguns pontos de reabsorção de superfície.

Tecido pulpar com vitalidade pôde ser encontrado em 5 espécimes (média de 16,93%). Em apenas 1 espécime ocupava quase todo o conduto radicular e nos outros, localizava-se principalmente na porção apical da raiz (Fig.17). Diferente do grupo anterior, em todos os espécimes pôde-se encontrar áreas de necrose do tecido pulpar em diferentes proporções. Em 3 deles toda a polpa estava comprometida e em outros 3 esse índice foi superior a 90% da área analisada (Fig.19). As demais áreas do conduto radicular estavam preenchidas por tecido mineralizado (semelhante à dentina reacionária ou tecido ósseo) (Fig.19).

Alterações anatômicas da porção apical também ocorreram neste grupo (Fig.17), sendo que em 4 espécimes toda a extensão da raiz se mostrou modificada anatomicamente. A bainha epitelial de Hertwig pôde ser encontrada somente nos espécimes que apresentam tecido pulpar com vitalidade.

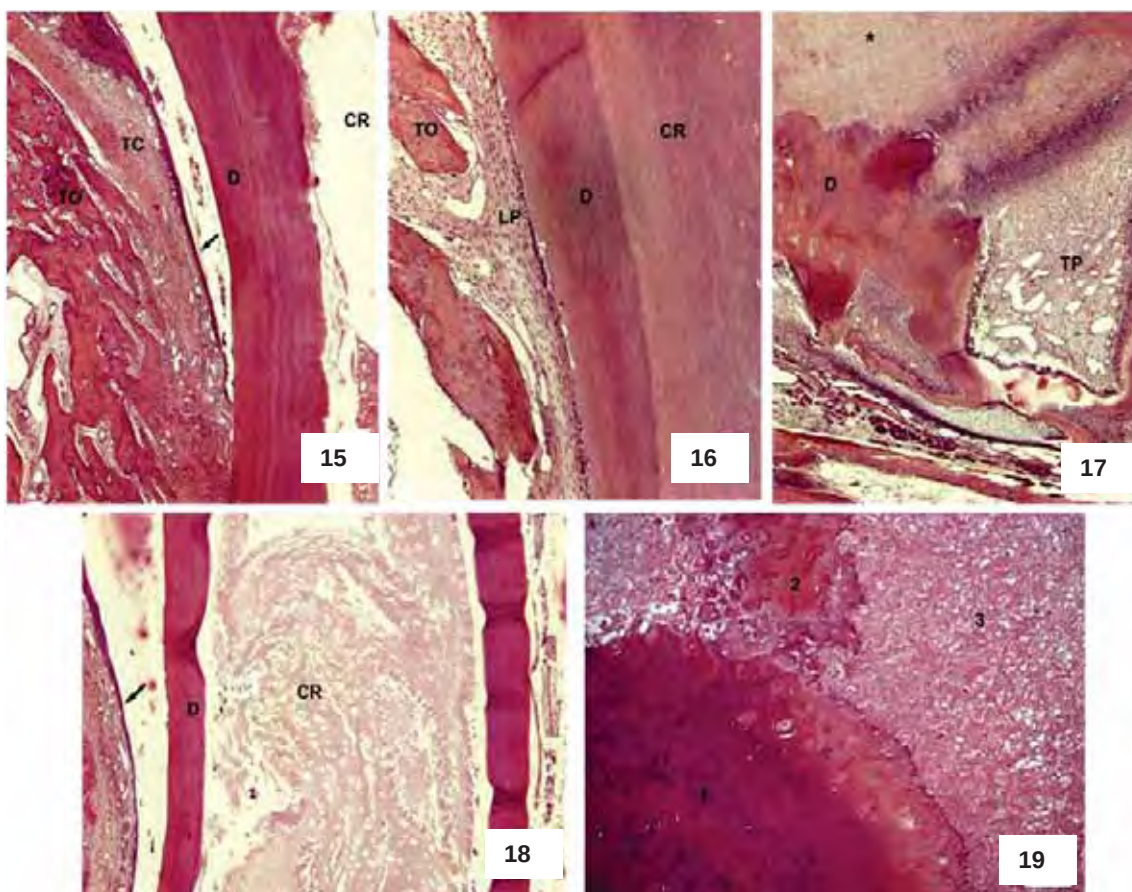


Fig. 15 – Disposição do epitélio gengival (EG) (seta) abaixo da crista óssea alveolar (TO) alcançando o terço médio da raiz. H.E. 50x.; **Fig. 16** – Ligamento periodontal (LP) reinserido na superfície radicular. Conduto radicular (CR) preenchido por tecido calcificado. H.E. 100x.; **Fig. 17** – Terço apical da raiz com remanescente de tecido pulpar com vitalidade (TP) e necrosado (asterisco). Variação anatômica da parede dentinária (D). H.E. 50x.; **Fig. 18** – Aspecto do tecido pulpar necrosado no conduto radicular. Epitélio do sulco gengival alcançando o terço médio da raiz (seta). H.E. 100x.; **Fig. 19** – Aspecto da dentina reparadora (1), tecido osteóide (2) e tecido conjuntivo pulpar necrosado. H.E. 400x.

- Análise Estatística

Os resultados demonstraram que houve diferenças estatisticamente significantes ($p < 0,05$) entre os grupos I e II, e entre os grupos I e III. As médias dos escores dos grupos analisados estão apresentadas na tabela 1.

Tabela 1 – Média dos escores atribuídos aos parâmetros histomorfológicos para cada grupo experimental.

Parâmetros histomorfológicos	Grupos experimentais		
	Grupo I	Grupo II	Grupo III
Inserção epitelial	1,0	2,3	3,02
Ligamento periodontal	1,0	1,32	2,68
Tecido pulpar	1,0	1,74	3,12
Superfície radicular	1,0	1,0	1,0
Tecido ósseo	1,0	2,4	3,3
Média	1,0 ^a	1,75 ^b	2,62 ^b

*Letras diferentes mostram diferenças estatísticas ($p < 0,05$)

Discussão

Considerando que a ocorrência dos traumas de luxação envolve pacientes jovens e que apresentam dentes com rizogênese incompleta, optou-se pelo emprego de incisivo de rato por também apresentar esse tipo de rizogênese. A viabilidade deste tipo de animal tem sido relatada em outros trabalhos envolvendo trauma de luxação e as alterações que este provoca no dente de rato, como a interrupção do crescimento contínuo (12, 27).

A escolha da luxação extrusiva em 2 mm visa o deslocamento dental pouco aparente, simulando uma situação em que o paciente não procuraria tratamento profissional imediatamente. O fato da modificação da ração triturada no terceiro dia pós-operatório para ração sólida visa observar o dente em função.

Uma das consequências da luxação extrusiva é a necrose do tecido pulpar (7, 8, 10, 14, 15, 27, 28). O atraso ou ausência do tratamento pode resultar também no mau posicionamento dental (29). Muitas vezes o paciente, ou até mesmo o profissional negligenciam o tratamento, porque o deslocamento dental não é tão aparente e a sintomatologia é pouco significativa (8, 10). Tendo em vista os parâmetros histológicos analisados neste estudo observou-se que, em dentes com rizogênese incompleta este tipo de trauma promove várias alterações da normalidade, as quais são bastante definidas na literatura (2, 8, 10, 27, 28).

Apesar de não diferirem estatisticamente no conjunto, algumas alterações se mostraram mais acentuadas nos animais diabéticos e poderiam representar um comprometimento da sobrevida do dente luxado. Dentre elas o

posicionamento da inserção epitelial do sulco gengival se apresentou mais apical, com a formação de bolsa infra-óssea com índices maiores quanto à intensidade e extensão do infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo fibroso subjacente. Paralelamente a esse parâmetro observou-se também uma menor área de inserção do ligamento periodontal.

Segundo a literatura o Diabetes causa uma redução na secreção salivar levando à secura da boca, o que resulta no acúmulo de placa aumentando o risco de infecções e inflamação na mucosa gengival, representando um risco bem conhecido para a saúde dental (30). Os componentes naturais de defesa da cavidade bucal estão comprometidos por causa da redução ou falta de proteínas e enzimas que inibem a formação do biofilme e adesão de bactérias aos substratos bucais (30).

A susceptibilidade a infecções bucais, como a candidíase é favorecida pela presença de hiperglicemia, diminuição do fluxo salivar e alterações na composição da saliva. Existe também uma maior tendência a outros tipos de infecções, pois a função do sistema imunológico é prejudicada, em outras palavras, a quimiotaxia é menor, assim como a fagocitose. Ambas as situações levam a uma redução da ação dos neutrófilos polimorfonucleares (PMN) sobre as bactérias (20). Esta predisposição é causada por uma desordem circulatória generalizada, resultado de uma redução do suprimento sanguíneo na região da ferida (18), isso porque, as complicações do diabetes que contribuem para uma morbidade ou mortalidade incluem alterações microvasculares, macrovasculares (principalmente alterações cardiovasculares), como redução da difusão do oxigênio através da parede capilar (18) que pode resultar em infecções anaeróbicas, e doenças orais (18, 24).

Os vasos sanguíneos são danificados pelo depósito de ateroma no seu interior. Especialmente os capilares que desenvolvem uma membrana basal espessa, prejudicando a resposta leucocitária, com diminuição na capacidade de ação dos PMNs. A hiperglicemia resulta na formação avançada de produtos finais de glicação e glicohemoglobina. Os produtos finais de glicação avançada resultam no espessamento da membrana basal dos vasos sanguíneos e capilares, prejudicando o transporte dos componentes humoral e celular do sistema imunológico. Além disso, a hemoglobina glicosilada (HgbA1c) é menos eficaz no transporte de oxigênio que a hemoglobina (18). Essas alterações contribuiriam então, para um aumento das taxas de periodontite moderada e grave (30).

Os traumas de luxação têm sido relacionados em maior ou menor grau à ocorrência de necrose pulpar (10). Diversos estudos demonstram esta relação (7, 10, 14, 20, 28), que pode ser originária da diminuição do fluxo sanguíneo pulpar (FSP) que o dente apresenta quando é acometido por um trauma (7). O estágio de formação de raízes é significativo para cada categoria de deslocamento, assim, a necrose pulpar está relacionada ao dano inicial do suprimento de sanguíneo (tipo de luxação) e ao potencial de reparação (fase de formação radicular) (10).

Em dentes com rizogênese incompleta o potencial de reparação é maior, uma vez que o ápice radicular é amplo favorecendo a anastomose com os vasos sanguíneos do alvéolo (10, 14, 28). Como visto nos resultados, apesar da diminuição na área de tecido pulpar com vitalidade (média de 26,22%), houve revascularização em 9 espécimes do grupo II, uma vez que apresentavam algum remanescente deste tecido. Observou-se que, essa redução foi consequência da substituição do tecido pulpar por tecido

calcificado. Esse tipo de ocorrência é observado em dentes submetidos a um trauma e que sofrem a degeneração dos odontoblastos. Haveria uma diferenciação das células mesenquimais da polpa em células semelhantes à odontoblastos e que teriam a capacidade de produzir dentina terciária ou reparadora. A formação dessa dentina peritubular seria uma forma de defesa da polpa aos agentes agressores (12, 31). O trauma poderia levar também à formação de trombos nos vasos e à morte celular, os quais sofreriam a deposição de cálcio resultando nas massas de tecido osteóide (31).

Nos animais diabéticos as áreas de polpa com vitalidade foram menores (média de 16,93%). Diferente do grupo II, as áreas de necrose do tecido pulpar foram mais extensas, ocorrendo em mais de 90% do conduto radicular em 6 espécimes. Em 3 deles toda a polpa estava comprometida o que sugere que não houve revascularização.

Segundo a literatura o diabetes também induz a expressão de mediadores inflamatórios e pode causar modificações nos componentes estruturais da polpa dentária (19, 32, 33). Haveria uma redução na concentração de colágeno e um aumento na atividade da fosfatase alcalina, o que poderia estar relacionado a danos irreversíveis na polpa dental levando à necrose (32). No entanto como essas alterações estão relacionadas a períodos longos da doença (32), é mais provável que áreas de necrose do tecido pulpar estejam relacionadas com as alterações vasculares decorrentes do Diabetes. A proximidade com a única fonte de nutrição do tecido pulpar, os vasos da região periapical, e o fato da formação do tecido mineralizado presente no conduto radicular ocorrer do ápice para a coroa pode ter contribuído para a localização mais apical das áreas de polpa viva e mais coronária das áreas de necrose.

Também foi possível observar que no grupo II e III, ocorreram alterações anatômicas da parede dentinária da raiz, diferenciando de forma acentuada da anatomia normal. Esse fenômeno parece ser característico de dentes com rizogênese incompleta por conta do comprometimento da Bainha epitelial de Hertwig pelo trauma (28). Outro aspecto comum aos dois grupos foi a integridade da superfície radicular em todos os espécimes. É comum que nos casos de luxação grave, como na avulsão e na intrusão, onde o esmagamento ou outros danos ao ligamento periodontal ocorrem, apareça a reabsorção radicular (15, 34). Quando ocorre a necrose pulpar, pode haver a sua contaminação bacteriana. A combinação de bactérias no canal radicular e os danos ao cemento na superfície radicular externa podem resultar em reabsorção radicular externa inflamatória (15, 34).

Neste caso específico, a baixa intensidade do trauma de luxação extrusiva (2mm), a reabsorção radicular torna-se rara, sendo a incidência de reabsorção inflamatória inferior a 5% (15).

Os achados deste estudo demonstram que, apesar de se constituir em um trauma de pouca intensidade, a ocorrência da luxação extrusiva em diabéticos não controlados merece algum cuidado. A realização de novos estudos deve ser considerada para se estabelecer condutas mais adequadas para esses casos. Devem-se considerar também as diferenças inerentes dos dentes do tipo de animal empregado neste estudo.

Conclusões

Baseado no modelo experimental empregado neste estudo pôde-se concluir que não houve diferenças estatísticas significativas quanto aos parâmetros histológicos analisados nos dentes submetidos à luxação extrusiva em ratos diabéticos e não diabéticos.

Referencias

1. Anderson L, Trauma in a global health perspective. Editorial. Letters to editor. Dental Traumatology 2008; 24:267.
2. Flores MT, Andersson L, Andreasen JO, Bakland LK, Malmgren B, Barnett F, et al. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. I. Fractures and luxations of permanent teeth. Endodontic Topics 2007; 7(23):66-71.
3. Flores MT, Andersson L, Andreasen JO, Bakland LK, Malmgren B, Barnett F, et al. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. II. Avulsion of permanent teeth. Dental Traumatology 2007; 23(3):130-136.
4. Flores MT, Andersson L, Andreasen JO, Bakland LK, Malmgren B, Barnett F, et al. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. III. Primary teeth. Dental Traumatology 2007; 23(4):196-202.
5. Kristerson L, Andreasen JO. Influence of root development on periodontal and pulpal healing after replantation of incisors in monkeys. Int J Oral Surg. 1984 Aug; 13(4):313-23.
6. Andreasen JO; Andreasen FM. Texto e Atlas Colorido de Traumatismo Dental. 3 ed.Porto Alegre:Artmed. 2001.
7. Strobl H, Moschen I, Emshoff I, Emshoff R; Effect of luxation type on pulpal blood flow measurements: a long-term follow-up of luxated permanent maxillary incisors. Journal of Oral Rehabilitation 2005; 32:260-2.
8. Andreasen FM, Andreasen JO. Diagnosis of luxation injuries: the importance of standardized clinical, radiographic and photographic techniques in clinical investigations. Endod Dent Traumatol. 1985 Oct; 1(5):160-9.

9. Ramsay DS, Artun J, Martinen SS. Reliability of pulpal blood flow measurements utilizing Laser Doppler Flowmetry. *Journal Dentistry Research*. 1991; 70:1427-1430.
10. Andreasen FM, Petersen BV. Prognosis of luxated permanent teeth – the development of pulpal necrosis. *Endodontic Dental Traumatology* 1985; 1:207-220.
11. Andreasen JO. Luxation of permanent teeth due to trauma. A clinical and radiographic follow-up study of 189 injured teeth. *Scandinavian Journal Dent Research* 1970; 78:273-286.
12. Aguiar MC, Arana-Chavez VE. Ultrastructural and immunocytochemical analyses of osteopontin in reactionary and reparative dentine formed after extrusion of upper rat incisors. *J. Anat.* 2007; 418–427.
13. Andreasen FM. Pulpal healing after luxation injuries and root fracture in the permanent dentition. *Endodontics and Dental Traumatology* 1989; 5(3):111-131.
14. Emshoff R, Moschen I, Strobl H. Treatment outcomes of dental injury diagnoses as related to blood flow measurements from teeth. *Journal of Oral Rehabilitation* 2008; 35:209–217.
15. Finucane D, Kinirons MJ. External inflammatory and replacement resorption of luxated, and avulsed replanted permanent incisors: a review and case presentation. *Dent. Traumatol.* 2003; 19:170-174.
16. Kapellas K, Slade G. The relationship between diabetes and oral health among Australian adults. *Australian Dental Journal*. 2008; 53:93-96.
17. Barasch A, Safford MM, Litaker MS, Gilbert GH. Risk factors for oral postoperative infection in patients with diabetes. *Space Care Dentist*. 2008; 28(4):159-166.
18. Bender IB, Bender AB. Diabetes Mellitus and the dental pulp. *Journal of Endodontics*. June 2003; 29 (6):383-389.

19. Catanzaro O, Dziubecki D, Lauria LC, Ceron CM, Rodriguez RR. Diabetes and its effects on dental pulp. *Journal of oral science*. 2006; 48(4):195-199.
20. Negrato CA, Tarzia O. Buccal alterations in diabetes mellitus. *Diabetology and Metabolic Syndrome*. 2010; 2:3.
21. Sonis ST, Fazio RC, Fang L. *Princípios e Prática de Medicina Oral* 2ª ed. Guanabara Koogan. 1996; 4(14):115-127.
22. Andreasen JO, Kristerson L, Andreasen FM. Damage of the Hertwig's epithelial root sheath: effect upon root growth after autotransplantation of teeth in monkeys. *Endod Dent Traumatol*. 1988 Aug;4(4):145-51.
23. McKenna SJ. Dental Management of Patients with Diabetes. *Dent Clin N Am*. 2006; 50:591-606.
24. Scamagas M, Breen TL, LeRoith D. Update on diabetes mellitus prevention, treatment, and association with oral diseases. *Oral Diseases*. 2008; 14: 05-114.
25. Holland R, Mazuqueli L, Souza V, Murata SS, Dezan Júnior E, Suzuki P. Influence of the type of vehicle and limit of obturation on apical and periapical tissue response in dogs teeth after root canal filling with mineral trioxide aggregate. *J Endod* 2007;33:693-7
26. Wolfson EM, Seltzer S. Reaction of rat connective tissue to some guttapercha formulations. *J Endod* 1975;1:395-402
27. Shibue T, Taniguchi K, Motokawa W. Pulp and root development after partial extrusion in immature rat molars: a histopathological study. *Endod Dent Traumatol*. 1998 Aug;14(4):174-81.
28. Andreasen JO, Andreasen FM, Skeie A, Hjrting - Hansen E, Schwartz O. Effect of treatment delay upon pulp and periodontal healing of traumatic dental injuries. A review article. *Dent Traumatol*. 2002; 18:116-128.

29. Subay RK, Kayatas M, Caniklioglu C. Delayed multidisciplinary management of an extrusively luxated maxillary central incisor. *Dental Traumatology* 2007; 23: 82–84.
30. Montaldo L, Montaldo P, Papa A, et al. Effects of saliva substitutes on oral status patients with type 2 diabetes. *Diabet. Med.* 2010; 27: 1280–1283.
31. Cohen S, Burns RC. *Caminhos da polpa*. 7ªed. Guanabara Koogan. Pag. 390.
32. Leite MF, Ganzerla E, Marques MM, Nicolau J. Diabetes Induces Metabolic Alterations in Dental Pulp. *J Endod* 2008; 34: 1211–1214.
33. Caplan D. Diabetes may decrease success of endodontic treatment in infected teeth. *J Evid Base Dent Pract* 2003; 3(4): 218–20.
34. Andreasen JO, Andreasen FM, Bakland LK, Flores MT. *Traumatic dental injuries - a manual*. Copenhagen: Munksgaard 1999; 9-11.

Anexos

Anexo I

Comitê de ética



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JULIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Aracatuba

COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEa)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO DO PROCESSO DE REPARO DE DENTES DE RATOS DIABÉTICOS SUBMETIDOS À LUXAÇÃO EXTRUSIVA"** sob responsabilidade do Prof. Adj. Celso Koogi Sonoda e colaboração de Profa. Dra. Renata Callestini Felipini está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) foi aprovado pela CEEa em 21/06/2010 de acordo com os protocolos 2010-003484.

Aracatuba, 21 de Junho de 2010



Prof.ª Adj Tereza Cristina Cardoso da Silva
Presidente da CEEa- FOA/UNESP

Faculdade de Odontologia e Curso de Medicina Veterinária – Departamento de Apoio, Produção e Saúde Animal, Rua Clóvis Pestana, 733 CEP 15080-480 Aracatuba – SP
Tel (15) 3635- 1350 Fax (15) 3635- 1352 E-mail: depar@foms.unesp.br

Anexo II

Material e Método



FIG. 01 – Injeção de solução de estreptozotocina através da Veia Peniana



FIG. 02 – Confirmação do Diabetes nos ratos do Grupo III



FIG. 03 - Luxação do Incisivo Superior Direito



FIG. 04 - Extrusão de 2mm do Incisivo Superior Direito em relação ao incisivo contralateral



FIG.05 – Desgaste compensatório do bordo incisal com caneta de alta rotação, para manutenção da nova posição

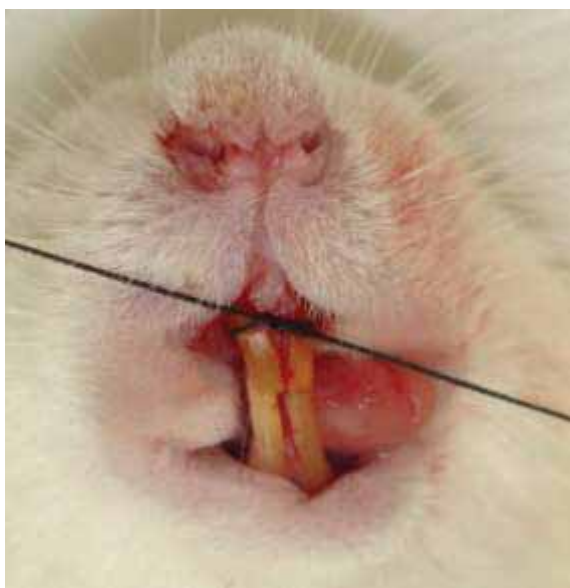


FIG. 06 - Contenção com fio seda 4-0 para manutenção da nova posição

Anexo III – Imagens

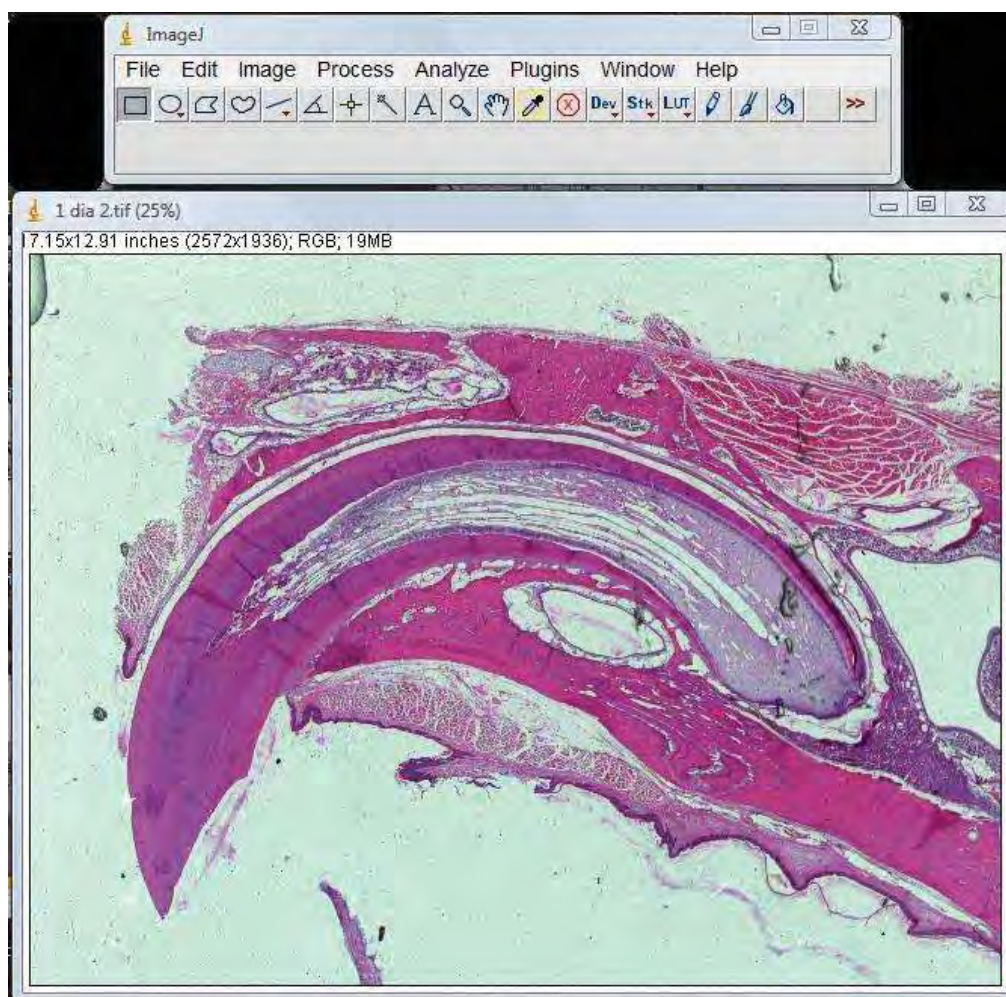


Figura 20 – Imagem digitalizada e exibida pelo software Image J.

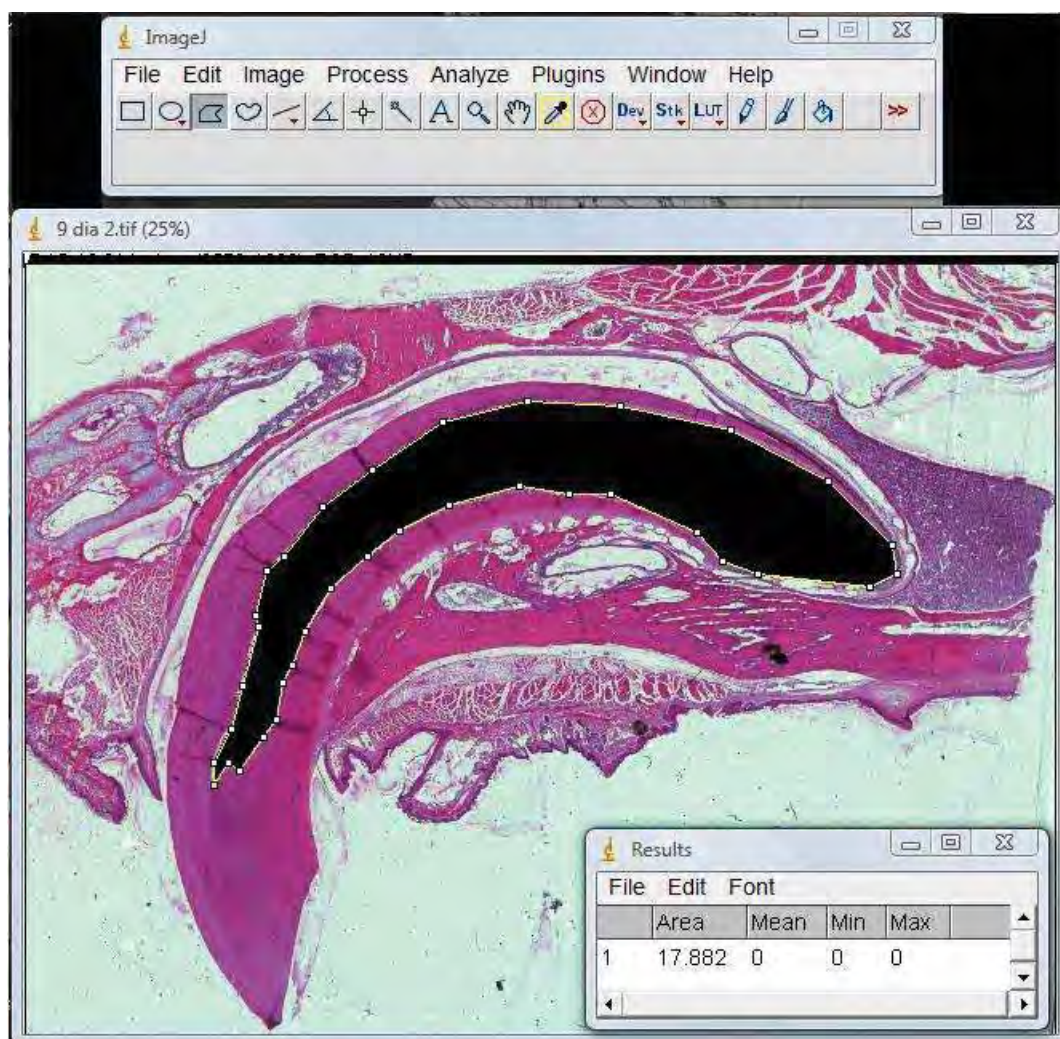


Figura 21 – Demarcação da câmara pulpar e obtenção da área em pixels.

Quadro 1 – Quadro de escores do grupo I em relação à ocorrência dos eventos considerados.

Controle				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10		Média
Inserção epitelial.	Local			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
	Inflam.	Aguda	Int.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0	
		Crônica	Int.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
Ligamento Periodontal	Organização			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
	Inflam.	Aguda	Int.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
		Crônica	Int.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
Tecido pulpar	Organização			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
	Inflam.	Aguda	Int.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
		Crônica	Int.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
Superfície radicular	Reab.		Prof.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
	Anquilose		Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
Tecido ósseo	Reab.			1	1	1	1	1	1	1	1	1	1		1,0
Média final															1,0

Quadro 2 – Quadro de escores do grupo II em relação à ocorrência dos eventos considerados.

Espécimes – Luxação extrusiva				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Média
Inserção epitelial.	Local			1	1	1	2	3	2	1	1	1	4	2,2
	Inflam.	Aguda	Int.	1	3	1	1	4	4	1	1	1	4	2,1
			Ext.	1	4	1	1	4	4	1	1	1	4	2,2
		Crônica	Int.	1	3	1	3	4	4	1	3	1	4	2,5
			Ext.	1	4	1	3	4	4	1	2	1	4	2,5
Ligamento Periodontal	Organização			1	1	1	2	2	2	1	1	1	4	1,6
	Inflam.	Aguda	Int.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1,2
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	3	1,2
		Crônica	Int.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	1,3
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	1,3
Tecido pulpar	Organização			4	3	2	4	4	3	4	4	3	4	3,5
	Inflam.	Aguda	Int.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	1,3
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	1,3
		Crônica	Int.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	1,3
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	4	1,3
Superfície radicular	Reab.		Prof.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0
	Anquilose		Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0
Tec. ósseo	Reab.			1	3	1	4	4	4	1	1	1	4	2,4
Média final				1,15	1,73	1,05	1,73	2,15	2,10	1,15	1,31	1,10	3,42	1,66

Quadro 3 – Quadro de escores do grupo III em relação à ocorrência dos eventos considerados.

Espécimes – Luxação + Diabetes				1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	Média	
Inserção epitelial.	Local			1	3	4	3	1	2	3	3	3	4	3,2	
	Inflam.	Aguda	Int.	1	4	4	3	1	3	4	2	4	4	3,0	
			Ext.	1	4	1	2	1	2	4	2	4	4	2,5	
		Crônica	Int.	1	4	3	3	3	3	4	4	4	4	4	3,3
			Ext.	1	4	1	4	3	2	4	4	4	4	4	3,1
Ligamento Periodontal	Organização			2	3	4	3	1	1	2	3	3	4	2,6	
	Inflam.	Aguda	Int.	1	3	4	4	1	1	4	4	2	4	2,8	
			Ext.	1	3	2	2	1	1	1	3	4	4	2,2	
		Crônica	Int.	3	3	4	3	1	3	4	4	2	4	3,1	
			Ext.	1	3	4	2	1	3	2	3	4	4	2,7	
Tecido pulpar	Organização			4	3	4	4	4	4	2	3	4	4	3,7	
	Inflam.	Aguda	Int.	1	1	4	4	4	4	1	4	4	4	3,1	
			Ext.	1	1	2	4	2	4	1	4	4	4	2,7	
		Crônica	Int.	1	1	3	4	4	4	2	4	4	4	3,1	
			Ext.	1	1	4	4	2	4	2	4	4	4	3,0	
Superfície radicular	Reab.		Prof.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	
			Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	
	Anquilose		Ext.	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1	1,0	
Tec. ósseo	Reab.			1	4	4	3	2	4	3	4	4	4	3,3	
Média final				1,31	2,57	2,89	2,94	1,84	2,52	2,47	3,10	3,26	3,52	2,65	

Anexo IV

Normas para publicação

DENTAL TRAUMATOLOGY

1. GENERAL

Dental Traumatology is an international journal which aims to convey scientific and clinical progress in all areas related to adult and pediatric dental traumatology. It aims to promote communication among clinicians, educators, researchers, administrators and others interested in dental traumatology. The journal publishes original scientific articles, review articles in the form of comprehensive reviews or mini reviews of a smaller area, short communication about clinical methods and techniques and case reports. The journal focuses on the following areas related to dental trauma:

Epidemiology and Social Aspects Tissue, Periodontal, and Endodontic Considerations Pediatrics and Orthodontics Oral and Maxillofacial Surgery/ Transplants/ Implants Esthetics/ Restorations/ Prosthetics Prevention and Sports Dentistry. Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Dental Traumatology*. Authors are encouraged to visit Wiley-Blackwell Author Services for further information on the preparation and submission of articles and figures.

2. ETHICAL GUIDELINES

Dental Traumatology adheres to the below ethical guidelines for publication and research.

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal. ALL named authors must have made an active contribution

to the conception and design and/or analysis and interpretation of the data and/or the drafting of the paper and ALL must have critically reviewed its content and have approved the final version submitted for publication. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship.

Dental Traumatology adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3.

It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited.

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version, 2002 www.wma.net/e/policy/b3.htm) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. In the online submission process we also require that all authors submitting manuscripts to *Dental Traumatology* online must answer in the affirmative to a statement 'confirming that all research has been carried out in accordance with legal requirements of the study country such as approval of ethical committees for human and/or animal research or other legislation where applicable.' Editors reserve the right to reject papers if there are

doubts as to whether appropriate procedures have been used.

2.3 Clinical Trials

Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A CONSORT checklist should also be included in the submission material.

All manuscripts reporting results from a clinical trial must indicate that the trial was fully registered at a readily accessible website, e.g., www.clinicaltrials.gov.

2.4 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations

Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly.

2.5 Conflict of Interest

Dental Traumatology requires that sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential grant holders should be listed. Acknowledgements should be brief and should not include thanks to anonymous referees and editors. The Conflict of Interest Statement should be included as a separate document uploaded under the file designation 'Title Page' to allow blinded review.

2.6 Appeal of Decision

The decision on a paper is final and cannot be appealed.

2.7 Permissions

If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

2.8 Copyright Assignment

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere. The submission of the manuscript by the authors means that the authors automatically agree to assign exclusive copyright to Blackwell Publishing if and when the manuscript is accepted for publication. The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the publisher. The articles published in this journal are protected by copyright, which covers translation rights and the exclusive right to reproduce and distribute all of the articles printed in the journal. No material published in the journal may be stored on microfilm or videocassettes or in electronic database and the like or reproduced photographically without the prior written permission of the publisher.

Upon acceptance of a paper, authors are required to assign the copyright to publish their paper to Blackwell Publishing. Assignment of the copyright is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement; however, the form still has to be signed). A completed Copyright Transfer Agreement must be sent before any manuscript can be published. Authors must send the completed Copyright Transfer Agreement upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the Copyright Transfer Agreement at submission. Please return your completed form to:

Poh Hoon TENG

Production Editor

Wiley Services Singapore Pte Ltd

600 North Bridge Road, #05-01 Parkview Square

Singapore 188778

Alternatively a scanned version of the form can be emailed to phteng@wiley.com or

faxed to +65 6295 6202. For questions concerning copyright, please visit Blackwell Publishing's Copyright FAQ

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/dt>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from Editorial Assistant Karin Andersson at dtooffice@qualitynet.net.

3.1. Getting Started•

Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 6 or higher, Netscape 7.0, 7.1, or 7.2, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/dt>

- Log-in or click the 'Create Account' option if you are a first-time user.
- If you are creating a new account.
 - After clicking on 'Create Account', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next.'
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click 'Finish'.
- If you have an account, but have forgotten your log in details, go to Password Help on the journals online submission system <http://mc.manuscriptcentral.com/dt> and enter your e-mail address. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select 'Author Centre.'

3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged into your 'Author Centre', submit your manuscript by clicking the submission link under 'Author Resources'.
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.
 - Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
 - Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button.
 - When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- To allow double blinded review, please submit (upload) your main manuscript and title page as separate files. Please upload:
 - Your manuscript without title page under the file designation 'main document' - Figure files under the file designation 'figures'.
 - The title page, Acknowledgements and Conflict of Interest Statement where applicable, should be uploaded under the file designation 'title page'
- Review your submission (in HTML and PDF format) before completing your submission by sending it to the Journal. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing. All documents uploaded under the file designation 'title page' will not be viewable in the html and pdf format you are asked to review in the end of the submission process. The files viewable in the html and pdf format are the files available to the reviewer in the review process.

3.3. Manuscript Files Accepted

Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files uploaded as main manuscript documents will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The files uploaded as title page will be blinded from review and not converted into HTML and PDF. The main manuscript document file must contain the entire manuscript including abstract, text, references, tables, and figure legends, but *no* embedded figures. In the text, please reference figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below. Please note that any manuscripts uploaded as Word 2007 (.docx) will be automatically rejected. Please save any .docx file as .doc before uploading.

3.4. Blinded Review

All manuscripts submitted to *Dental Traumatology* will be reviewed by two experts in the field. *Dental Traumatology* uses double blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper and the name(s) of the author(s) will not be disclosed to the reviewers.

To allow double blinded review, please submit (upload) your main manuscript and title page as separate files. Please upload:

- Your manuscript without title page under the file designation 'main document'
 - Figure files under the file designation 'figures'
 - The title page, Acknowledgements and Conflict of Interest Statement where applicable, should be uploaded under the file designation 'title page'
- All documents uploaded under the file designation 'title page' will not be viewable in the html and pdf format you are asked to review in the end of the submission process. The files viewable in the html and pdf format are the files available to the reviewer in the review process.

3.5. Suggest a Reviewer

Dental Traumatology attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the names and current email addresses of a potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript. In addition to your choice the journal editor will choose one or two reviewers as well. When the review is done you will be notified under 'Manuscripts with decision' and through e-mail.

3.6. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process

You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to.

3.7. E-mail Confirmation of Submission

After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation e-mail after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our e-mail server (uranus.scholarone.com) to their whitelist.

3.8. Manuscript Status

You can access ScholarOne Manuscripts (formerly known as Manuscript Central) any time to check your 'Author Center' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

To submit a revised manuscript, locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision'. Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript. Please also remember to upload your manuscript document separate from your title page.

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Original Research Articles in all areas related to adult and pediatric dental traumatology are of interest to *Dental Traumatology*. Examples of such areas are Epidemiology and Social Aspects, Tissue, Periodontal, and Endodontic Considerations, Pediatrics and Orthodontics, Oral and Maxillofacial Surgery/ Transplants / Implants, Esthetics / Restorations / Prosthetics and Prevention and Sports Dentistry.

Review Papers: *Dental Traumatology* commissions review papers of comprehensive areas and mini reviews of small areas. The journal also welcomes uninvited reviews. Reviews should be submitted via the online submission site and are subject to peer-review.

Comprehensive Reviews should be a complete coverage of a subject discussed with the Editor in Chief prior to preparation and submission. Comprehensive review articles should include a description of search strategy of relevant literature, inclusion criteria, evaluation of papers and level of evidence.

Mini Reviews are covering a smaller area and may be written in a more free format.

Case Reports: *Dental Traumatology* accepts Case Reports but these will only be published online and will not be included in the printed version unless specifically requested by the Editor-in-Chief.

Case Reports illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable, but their merit needs to provide high priority for publication in the journal. They should be kept within 3-4 printed pages and need not follow the usual division into material and methods etc, but should have an abstract. The introduction should be kept short. Thereafter the case is described followed by a discussion.

Short Communications of 1-2 pages are accepted for quick publication. These papers need not follow the usual division into Material and Methods, etc., but should have an abstract. They should contain important new information to warrant publication and may reflect improvements in clinical practice such as introduction of new technology or practical approaches. They should conform to a high scientific and a high clinical practice standard.

Letters to the Editor, if of broad interest, are encouraged. They may deal with material in papers published in *Dental Traumatology* or they may raise new issues, but should have important implications.

Meetings: advance information about and reports from international meetings are welcome, but should not be submitted via the online submission site, but send directly to the journal administrator Karin Andersson at dtooffice@qualitynet.net

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language must have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. It is preferred that manuscript is professionally edited. A list of independent suppliers of editing services can be found at:

http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: Abbreviations should be kept to a minimum, particularly those that are not standard. Non-standard abbreviations must be used three or more times and written out completely in the text when first used. Consult the following sources for additional abbreviations: 1) CBE Style Manual Committee. Scientific style and format: the CBE manual for authors, editors, and publishers. 6th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1994; and 2) O'Connor M, Woodford FP. Writing scientific papers in English: an ELSE-Ciba Foundation guide for authors. Amsterdam: Elsevier-Excerpta Medica; 1975.

Font: When preparing your file, please use only standard fonts such as Times, Times New Roman or Arial for text, and Symbol font for Greek letters, to avoid inadvertent character substitutions. In particular, please do not use Japanese or other Asian fonts. Do not use automated or manual hyphenation. Use double spacing when writing.

5.2. Structure

All papers submitted to *Dental Traumatology* should include: Title Page, Abstract, Main text, References and Tables, Figures, Figure Legends, Conflict of Interest Statement and Acknowledgements where appropriate. Title page, Conflict of Interest

Statement and any Acknowledgements must be submitted as separate files and uploaded under the file designation Title Page to allow blinded review. Manuscripts must conform to the journal style. Manuscripts not complying with the journal style will be returned to the author(s).

Title Page: should be uploaded as a separate document in the submission process under the file designation 'Title Page' to allow blinded review. It should include: Full title of the manuscript, author(s)' full names and institutional affiliations including city, country, and the name and address of the corresponding author. If the author does not want the e-mail address to be published this must be clearly indicated. The title page should also include a running title of no more than 60 characters and 3-6 keywords.

Abstract is limited to 300 words in length and should contain no abbreviations. The abstract should be included in the manuscript document uploaded for review as well as inserted separately where specified in the submission process. The abstract should convey the essential purpose and message of the paper in an abbreviated form. For original articles the abstract should be structured with the following headings: Background/Aim, Material and Methods, Results and Conclusions. For other article types, please choose headings appropriate for the article.

Main Text of Original Articles should be divided into Introduction, Material and Methods, Results and Discussion. During the editorial process reviewers and editors frequently need to refer to specific portions of the manuscript, which is difficult unless the pages are numbered. Authors should number all of the pages consecutively.

Introduction should be focused, outlining the historical or logical origins of the study and not summarize the results; exhaustive literature reviews are inappropriate. Give only strict and pertinent references and do not include data or conclusions from the work being reported. The introduction should close with the explicit statement of the specific aims of the investigation or hypothesis tested.

Materials and Methods must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced. As a condition of publication, authors are required to make materials and methods used freely available to academic researchers for their own use. Describe your selection of

observational or experimental participants clearly. Identify the method, apparatus and procedures in sufficient detail. Give references to established methods, including statistical methods, describe new or modify methods. Identify precisely all drugs used including generic names and route of administration.

(i) *Clinical trials* should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A CONSORT checklist should also be included in the submission material. All manuscripts reporting results from a clinical trial must indicate that the trial was fully registered at a readily accessible website, e.g., www.clinicaltrials.gov.

(ii) *Experimental subjects*: experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration of Helsinki (version, 2002 www.wma.net/e/policy/b3.htm) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

(iii) *Suppliers of materials* should be named and their location (town, state/county, country) included.

Results should present the observations with minimal reference to earlier literature or to possible interpretations. Present your results in logical sequence in the text, tables and illustrations giving the main or most important findings first. Do not duplicate data in graphs and tables.

Discussion may usually start with a brief summary of the major findings, but repetition of parts of the Introduction or of the Results sections should be avoided. The section should end with a brief conclusion and a comment on the potential clinical relevance of the findings. Link the conclusions to the aim of the study. Statements and interpretation of the data should be appropriately supported by original references.

Main Text of Review Articles comprises an introduction and a running text structured in a suitable way according to the subject treated. A final section with conclusions may be added.

Acknowledgements: Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited. Acknowledgements should be brief and should not include thanks to anonymous referees and editors.

Conflict of Interest Statement: All sources of institutional, private and corporate financial support for the work within the manuscript must be fully acknowledged, and any potential grant holders should be listed. The Conflict of Interest Statement should be included as a separate document uploaded under the file designation 'Title Page' to allow blinded review.

5.3. References

As the Journal follows the Vancouver system for biomedical manuscripts, the author is referred to the publication of the International Committee of Medical Journal Editors: Uniform requirements for manuscripts submitted to biomedical journals. *Ann Int Med* 1997;126:36-47.

Number references consecutively in the order in which they are first mentioned in the text. Identify references in texts, tables, and legends by Arabic numerals (in parentheses). Use the style of the examples below, which are based on the format used by the US National Library of Medicine in Index Medicus. For abbreviations of journals, consult the 'List of the Journals Indexed' printed annually in the January issue of Index Medicus.

We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting. EndNote reference styles can be searched for here: www.endnote.com/support/enstyles.asp. Reference Manager reference styles can be searched for here: www.refman.com/support/rmstyles.asp

Try to avoid using abstracts of articles as references. 'Unpublished observations', 'personal communications', and 'unaccepted papers' may not be used as references, although references to written, not verbal, communications may be inserted (in

parentheses) in the text. Examples of correct forms of references are given below.

Journals:

Standard journal article - list all authors when six or fewer; when seven or more, list first six authors and add et al.

Examples:

Andreasen JO, Hjørting-Hansen E. Replantation of teeth. I. Radiographic and clinical study of 100 human teeth. *Acta Odontol Scand* 1966;24:263-86.
Corporate author: American Association of Endodontists. Recommended guidelines for treatment of the avulsed tooth. *J Endod* 1983;9:571.

Books and other monographs:

Examples:

Personal author(s) Grossman LI. Endodontic practice. 10th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1981. p. 176-9. Chapter in book: Sanders B, Brady FA, Johnson R. Injuries. In: Sanders B, editor. *Pediatric oral and maxillofacial surgery*. St. Louis: Mosby; 1979. p. 330-400.

5.4. Tables, Figures and Figure Legends

Tables should only be used to clarify important points. Tables must, as far as possible, be self-explanatory. The tables should be numbered consecutively with Arabic numerals.

Figures: All graphs, drawings and photographs are considered figures and should be numbered in sequence with Arabic numerals and abbreviated Fig(s). Each figure should have a legend and all legends should be numbered correspondingly and included at the end of the manuscript. Text on the figures should be in capitals. Figures should be planned to fit the proportions of the printed page. All figures and artwork must be provided in electronic format. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Postscript Format (EPS) and bitmap files (e.g. half-tones) or clinical or in vitro pictures in Tagged Image Format (TIFF). JPEG files are also acceptable. Detailed

information on our digital illustration standards can be found at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

Unnecessary figures and parts (panels) of figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected

Figures divided into parts should be labeled with a lower-case, boldface, roman letter, a, b, and so on, in the same type size as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and unit, and follow SI nomenclature common to a particular field. Unusual units and abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc)

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Blackwell Publishing's guidelines for figures: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

Check your electronic artwork before submitting it:
<http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>

Permissions: If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

Figure Legends should be a separate section of the manuscript, and should begin with a brief title for the whole figure and continue with a short description of each panel and the symbols used: they should not contain any details of methods

5.5. Supporting Material

Publication in electronic formats has created opportunities for adding details or whole sections in the electronic version only. Authors need to work closely with the editors in developing or using such new publication formats.

Supporting Material, such as data sets or additional figures or tables, that will not be published in the print edition of the journal, but which will be viewable via the online edition, can be submitted. It should be clearly stated at the time of submission that the Supporting Material is intended to be made available through the online edition. If the size or format of the Supporting Material is such that it cannot be accommodated on the journal's Web site, the author agrees to make the Supporting Material available free of charge on a permanent Web site, to which links will be set up from the journal's website. The author must advise Blackwell Publishing if the URL of the website where the Supporting Material is located changes. The content of the Supporting Material must not be altered after the paper has been accepted for publication.

The availability of Supporting Material should be indicated in the main manuscript by a paragraph, to appear after the References, headed 'Supporting Material' and providing titles of figures, tables, etc. In order to protect reviewer anonymity, material posted on the authors Web site cannot be reviewed. The Supporting Material is an integral part of the article and will be reviewed accordingly.

Extra issues - Larger papers or monographs may be published as additional issues (numbered as the ordinary issues), the full cost being paid by the author. Further information may be obtained from the editor.

6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

6.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working e-mail address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. This will enable the file to be opened, read on screen and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof.

6.2 Early View (Publication Prior to Print)

Dental Traumatology is covered by Blackwell Publishing's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

6.3 Author Services

Online production tracking is available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.\

For more substantial information on the services provided for authors, please see Wiley-Blackwell Author Services

6.4 Author Material Archive Policy

Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible.

6.5 Offprints and Extra Copies

A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields: Offprint Cosprinters. If you have queries about offprints please email offprint@cosprinters.com

6.6 Note to NIH Grantees

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This

accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate