

PEDRO IVO SANTOS SILVA

**REIMPLANTE DENTÁRIO APÓS O PREENCHIMENTO DO
CANAL COM PASTA DE β -GLICEROFOSFATO DE
CÁLCIO OU PASTA DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO + MTA.
ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM RATOS.**

ARAÇATUBA
2013

PEDRO IVO SANTOS SILVA

**REIMPLANTE DENTÁRIO APÓS O PREENCHIMENTO DO
CANAL COM PASTA DE β -GLICEROFOSFATO DE
CÁLCIO OU PASTA DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO + MTA.
ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM RATOS.**

Tese 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 DOUTOR, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Orientador: Prof. Dr. Celso Koogi Sonoda

ARAÇATUBA
2013

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S586r

Silva, Pedro Ivo Santos.

Reimplante dentário após a obturação do canal com pasta de β -glicerofosfato de cálcio ou pasta de hidróxido de cálcio : estudo histomorfométrico em ratos / Pedro Ivo Santos Silva . – Araçatuba, 2013

89 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba

Orientador: Prof. Dr. Celso Koogi Sonoda

1. Reimplante dentário 2. Glicerofosfatos 3. Hidróxido de cálcio 4. Reabsorção de dente I. T.

Black D7
CDD 617.64

DADOS CURRICULARES

NASCIMENTO	28/10/1974 – São Paulo – SP
FILIAÇÃO	João Baptista Silva Yorá dos Santos Silva
1997/2001	Graduação Universidade de Mogi das Cruzes
2008/2010	Mestrado em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, nível de Mestrado. Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho.
2011/2013	Pós Graduação em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial, nível de Doutorado. Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho.

DEDICATÓRIAS

Aos meus pais, **João (in memoriam)** e **Yorá**, exemplos de vida e de caráter, os quais doaram suas vidas à formação dos filhos e de uma família. Sou grato a cada minuto dispensado a mim, e a cada gota de suor dispensada; e acredito que a cada conquista alcançada, estou indiretamente agradecendo a vocês.

A cada dia que passa mesmo distante, sinto que minha formação básica, meu caráter e minha obstinação foram herdados de muito zelo e preocupação de vocês. Obrigado!!!!

À minha querida e amada esposa **Karina**, companheira fiel e apaixonada por nossa união, a qual se desdobra e se doa para a concretização do nosso sucesso e que vibra intensamente cada pequena conquista. Sou eternamente grato a você. Essa vitória é tão sua quanto minha. Você não tem medo de romper fronteiras (literalmente) para correr atrás do nosso sucesso. Chegamos em Rondônia juntos e vencemos, um apoiado pelo outro. Amo-te muito!!!!

AGRADECIMENTOS

ESPECIAIS

À **Deus**, o grande arquiteto, por ter me dado o dom da vida e permitir que os meus desejos pudessem ser transformados em realidade.

Ao meu irmão **João Otávio**, também colega de profissão, o qual sempre foi exemplo de carinho e amizade e que muito fez para que esse momento se concretizasse, guiando meus passos desde o início de tudo.

À minha família, **Sr. Roberto, D. Márcia, D. Martha, D. Laís, André, Cinthia, meus sobrinhos Paulinho, Bianca e Beatriz**, pelo apoio diário e carinho sempre dispensado a mim.

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Celso Koogi Sonoda**, exemplo de orientador, educador e docente, além de amigo, por toda sua paciência e disposição para me guiar na concretização dessa etapa. Com certeza fui menos aluno para o senhor do que o senhor foi orientador para mim. Obrigado!

Aos queridos amigos que fiz nessa faculdade, **Jonatas, Fernando e Heloísa**, os quais vou levar comigo por toda a vida, muito obrigado pelas incontáveis horas juntos, ora aproveitando, ora trabalhando, “fosforilando” ou estudando.

Aos queridos **amigos distantes**, obrigado por serem sempre companheiros e estarem sempre a postos para qualquer problema. Sou muito feliz por ter tantos amigos de verdade.

Aos queridos e prezados amigos **Ronnie Higa, Cleimar Bach e Familiares**, por todo apoio sempre dispensado, e por autorizar fazer parte da família da Mundi Odontologia, lugar que tenho orgulho de chamar de “meu consultório”. Obrigado!

Aos queridos amigos que fiz aqui em Rondônia, terra que me recebeu tão bem e que tive oportunidade de conhecer gente tão bacana. Como sempre sou agraciado em conhecer gente bacana. Obrigado.

Aos queridos dentistas da minha família, **Karina, Otávio, D. Márcia Laumer, Carú e Pedro**, os quais compartilham comigo o gosto de praticar a profissão tão amada e preconizada pelo meu saudoso pai; a Odontologia.

Aos meus queridos professores de Pós Graduação **Idelmo Rangel e Osvaldo Magro**, os quais dividiram conosco, muito de suas vidas profissional e particular para que um bem maior fosse alcançado:

nossa formação profissional, humana e ética. Muito obrigado por cada experiência vivida com vocês.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP, na pessoa do seu diretor Profa. Dra. **Ana Maria Pires Soubhia**, por ser o instrumento para realização da minha formação.

À Coordenadora do Curso de Pós-Graduação da Faculdade de Odontologia de Araçatuba– UNESP, programa Odontologia, Prof. Dra. **Maria José Hitomi Nagata**.

À **CAPES**, pelo fomento disponibilizado em parte do tempo, o qual foi fundamental para a realização deste trabalho.

Aos meus colegas de Pós-graduação, pois cada um, em momentos diferentes, dividiu comigo alegrias, tristezas, emoções, cansaço, trabalho árduo, sonhos e desejos.

Ao acadêmico na época, e agora dentista **Fernando “bahia”**, pela ajuda sempre presente na execução do projeto.

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

Aos estimados professores do Departamento de Cirurgia **Tetuo Okamoto, Michel Saad, Idelmo Rangel, Osvaldo Magro,**

Alessandra Aranega, Cristiane Ruiz, Ana Paula Farnezzi Bassi, Daniela Ponzoni e Francisley Ávila, pela incontável doação dia a dia para a maturação de nossa maior paixão: a cirurgia.

Aos professores da disciplina de Clínica integrada **Sônia Regina Panzarini, Wilson Roberto Poi, Denise Pedrini, Daniela Brandini e José Carlos** pelo carinho e prestatividade sempre a mim oferecidos. Obrigado!

À nossa inestimável mãe, amiga, companheira e acolhedora **Cleide**, por ser quem é, e fazer o possível e o impossível para que o barco continue a navegar e que nossos sonhos e anseios sejam sempre realizados.

Aos queridos funcionários do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Dirce, Gilmar, Paulo, Tina e Odair**, os quais sempre com o maior carinho e dedicação sempre se doaram ao nosso auxílio.

Aos cordiais e competentes **funcionários da seção de Pós-graduação** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP: **Valéria, Cristiane e Lilian** que sempre muito simpáticos e atenciosos me ajudaram quando precisei.

Aos ***bibliotecários*** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, pela dedicação, ensinamentos, colaboração e presteza durante todo o período de elaboração deste trabalho.

Àqueles que direta ou indiretamente contribuíram durante essa fase.

EPÍGRAFE

*“É melhor tentar e falhar,
Que preocupar-se e ver a vida passar.
É melhor tentar, ainda que em vão,
Que sentar-se fazendo nada até o final.
Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me
esconder.
Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver...”*

Martin Luther King

Resumo

Silva, P.I.S. Reimplante dentário após a obturação do canal com pasta de β -glicerofosfato de cálcio ou pasta de hidróxido de cálcio. Estudo histomorfométrico em ratos. [tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP; 2013.

A avulsão dentária acomete principalmente pacientes jovens e que possuem dentes com rizogênese incompleta, sendo frequente a necrose pulpar e a apicificação que é prejudicada. O amplo forame dificulta a inserção de curativos de demora. Assim é importante o uso de um curativo de demora a favorecer o controle da reabsorção radicular e a formação de uma barreira de tecido mineralizado permitindo o selamento apical. O hidróxido de cálcio tem sido o material mais utilizado para esse fim.

O objetivo deste trabalho foi estudar o processo de reparo de incisivos de ratos com elementos dentais reimplantados tardiamente após a obturação do canal radicular com pasta de β -glicerofosfato de cálcio ou pasta de hidróxido de cálcio.

Foram empregados 30 ratos machos divididos em 3 grupos de 10 animais. Os elementos dentais foram extraídos e mantidos em meio seco por 60 minutos. Após esse período os elementos dentais sofreram um preparo específico descrito a seguir. No Grupo I os dentes foram preenchidos com soro fisiológico. No Grupo II, utilizou-se a pasta de hidróxido de cálcio no interior do conduto e plug apical de cimento MTA. E, no grupo III utilizou-se a pasta de β -glicerofosfato de cálcio. Os dentes foram reimplantados e a eutanásia dos animais foi realizada 60 dias após para a avaliação histomorfométrica em H.E (Hematoxilina-Eosina). Os resultados demonstraram que os grupos I e III foram mais comprometidos pela reabsorção radicular inflamatória do que o grupo II. O grupo II apresentou menor comprometimento pela reabsorção total do que o grupo II ($p < 0,05$). Nos grupos I e III a região periapical apresentou a maior extensão de tecido conjuntivo fibroso com a presença de infiltrado inflamatório. Conclui-se que o β -glicerofosfato de cálcio não foi mais eficiente do que o hidróxido de cálcio no controle da reabsorção radicular e no reparo da região periapical por tecido mineralizado.

Palavras-chaves: Reimplante dentário, Glicerofosfatos, Hidróxido de cálcio, Reabsorção dental.

Abstract

Silva, P.I.S. Tooth replantation after root canal filling with paste β -glycerophosphate calcium or calcium hydroxide paste. Histomorphometric study in rats. [Thesis]. Araçatuba Dentistry School of Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho - UNESP, 2013.

Tooth avulsion mainly affects young patients who have incomplete root formation, with frequent necrotic pulp and apexification impaired. The large foramen hinders the insertion of dressings delay. The use of a long time fill to facilitate control of formation and resorption of mineralized tissue barrier permitting the apical seal. Calcium hydroxide and MTA has been the most widely used material for this purpose.

The objective of this work is to study the repair process of rat incisors with dental elements reimplanted late after root canal filling with paste β -glycerophosphate calcium or calcium hydroxide paste. Were used 30 male rats were divided into 3 groups of 10 animals. All the teeth were extracted and kept in dry for 60 minutes. In Group I, the root canals were filled with saline. Group II used the paste of calcium hydroxide and finished with a MTA plug and Group III were used β -glycerophosphate calcium paste. The teeth were reimplanted and euthanasia was performed 60 days later for histomorfometric analyse with HE(Hematoxiciline-Eosine). Results showed that the groups I and III were more impaired by inflammatory root resorption than group II. Group II had less involvement by total reabsorption of the group II ($p < 0,05$). In groups I and III, the periapical region showed the greatest extent of fibrous connective tissue with inflammatory infiltrate. It is concluded that β -glycerophosphate calcium were less effective than calcium hydroxide in the control of root resorption and repair of the periapical area of mineralized tissue.

Keywords: Tooth replantation, Glycerophosphates, Calcium hydroxide,
Tooth resorption

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1. Introdução	29
2. Objetivo	32
3. Materiais e Métodos	34
4. Resultados	39
5. Discussão	51
6. Conclusão	56
7. Referências	58
8. Anexos:	
Anexo I – Comitê de ética	64
Anexo II – Imagens Material e Método	65
Anexo III – Normas para publicação	73

Lista de figuras e tabelas

Figura 1	Grupo I (Soro fisiológico): Amplo comprometimento da dentina (D) pela reabsorção radicular inflamatória. Presença de clastos (setas) junto às lacunas na dentina. H.E. 100X.	39
Figura 2	Grupo I (Soro fisiológico): Reabsorção de maior profundidade da dentina (D) e reparo por tecido ósseo alveolar (TO). H.E. 100X.	39
Figura 3	Grupo I (Soro fisiológico): Região periapical com extensa faixa de tecido conjuntivo fibroso com um infiltrado inflamatório intenso. Área de abscesso junto ao forame (seta). H.E. 50X	40
Figura 4	Grupo II: Tecido ósseo alveolar justaposto à camada de cimento caracterizando a anquilose dento-alveolar (setas). Ponto de reabsorção por substituição (asteriscos). H.E. 63X.	42
Figura 5	Grupo II: Região periapical preenchida por tecido conjuntivo (TC) fibroso. Trabéculas de tecido ósseo neoformado. Fragmentos de tecido ósseo (setas) junto ao plug de MTA. H.E. 50X.	42
Figura 6	Grupo II: Tecido conjuntivo (TC) fibroso ocupando a pequena faixa da região periapical. Trabéculas ósseas (TO) neoformadas no fundo do alvéolo. Fragmento de dentina (D) e de tecido ósseo junto ao MTA. H.E. 50X.	43
Figura 7	Grupo III (Ca-BGP): Fibras colágenas do ligamento periodontal (LP) dispostas paralelamente à superfície radicular. Tecido ósseo alveolar (TO) ocupando parte do espaço do ligamento periodontal. H.E. 100X.	45
Figura 8	Grupo III (Ca-BGP): Tecido conjuntivo fibroso (asterisco) com infiltrado inflamatório ocupando área previamente reabsorvida da dentina (D) (Reabsorção radicular inflamatória). Área de reabsorção por substituição (seta) H.E. 100x.	45
Figura 9	Grupo III (Ca-BGP): Tecido conjuntivo fibroso (TC) ocupando extensa área da região periapical, junto ao Glicerofosfato de cálcio (GF). Tecido ósseo neoformado (TO) no fundo do alvéolo. H.E. 50X.	46
Figura 10	Luxação do Incisivo Superior Direito	65
Figura 11	Extração do elemento dental com fórceps adaptado	65
Figura 12	Elementos dentais mantidos em meio seco	65
Figura 13	Secção da papila dentinária e Orgão do Esmalte	65
Figura 14	Remoção da polpa por via retrógrada com lima tipo Kerr nº35	66
Figura 15	Irrigação do canal radicular com Soro Fisiológico 0,9%	66
Figura 16	Secagem do conduto radicular com cone de papel absorvente	66
Figura 17	Remoção do Ligamento periodontal por fricção de gaze embebida em SF.	66
Figura 18	Manutenção do dente em Solução de Flúor fosfato acidulado 2%	67
Figura 19	Preparo da pasta de β -Glicerofosfato de Cálcio com propilenoglicol	67
Figura 20	Inserção das pastas por via retrógrada	67
Figura 21	Preenchimento do canal radicular com pasta de Hidroxido de Calcio	67
Figura 22	Cimento MTA manipulado com Água Destilada	68
Figura 23	Preenchimento do ápice radicular com MTA	68
Figura 24	Reimplante do elemento dental previamente extraído	68

Figura 25	Vista do elemento dental reimplantado	68
Figura 26	Imagem do instrumento de coleta de dados	69
Figura 27	Imagem da parede dentinária lingual da raíz a ser mensurada	70
Figura 28	Parede dentinaria mesial da raiz delimitada por mensuração (área total)	70
Figura 29	Descrição da parede dentinaria mensurada	71
Figura 30	Área de reabsorção radicular delimitada e mensurada	71
Figura 31	Imagem da região periapical para a mensuração da área do tecido conjuntivo fibroso	72
Figura 32	Área de tecido conjuntivo fibroso da região periapical delimitada e mensurada	72
Tabela 1	Porcentagem média e desvio padrão das áreas (em pixel) de reabsorção inflamatória, reabsorção por substituição, reabsorção total observados nos grupos experimentais	48
Tabela 2	Média e desvio padrão das áreas (em pixel) de tecido conjuntivo fibroso observados na região periapical dos grupos experimentais	48
Tabela 3	Resultado do Teste Estatístico de Dunn para as comparações individuais entre grupos experimentais com base nos parâmetros avaliados ($p < 0,05$)	48

*Lísta 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.

MTA – Mineral Trióxido Agregado

Ca-BGP - β-glicerofosfato de cálcio

HE – Hematoxilina Eosina

H₂CO₃ – Hidróxido de Calcio

1. Introdução

INTRODUÇÃO

Dentre os traumatismos dentários, a avulsão é uma condição clínica que produz maiores consequências à permanência do elemento dentário em longo prazo. O completo rompimento do feixe vâsculo-nervoso determinam a necrose da polpa tornando o tratamento endodôntico um passo fundamental após o reimplante (1,2,3).

O tratamento do canal radicular visa eliminar restos de polpa necrótica, bactérias e toxinas bacterianas que se depositam no canal e no interior dos túbulos dentinários (4). No reimplante dentário, isto é fundamental na prevenção ou controle da reabsorção inflamatória (1).

Por ocorrer principalmente em crianças de 7 a 12 anos de idade, é comum que o dente avulsionado apresente rizogênese incompleta (1). A revascularização pulpar pode ocorrer nesses casos, porém baixos índices têm sido encontrados, mesmo em condições adequadas de reimplante (3). Em tal condição o amplo forame apical dificulta a inserção de materiais para curativo de demora ou obturação (5,6). Assim uma importante função do curativo de demora é favorecer a formação de uma barreira de tecido mineralizado permitindo o selamento apical (7,8).

Um dos materiais mais utilizados para isso tem sido o hidróxido de cálcio. No entanto, apesar do seu alto índice de sucesso, o tempo necessário para a formação dessa barreira é relativamente longo (5 a 20 meses) (9). Em dentes reimplantados, o seu extravasamento para os tecidos periapicais também pode ocorrer, promovendo a irritação dos remanescentes vivos do ligamento periodontal e levar à formação de áreas de anquilose (10). Além disso, recentes pesquisas têm demonstrado que a troca contínua do hidróxido de cálcio pode

levar ao enfraquecimento da dentina radicular, aumentando assim a suscetibilidade a fraturas (11,12).

Existe na literatura o relato de caso clínico (13) e um estudo experimental (14) do uso de um fosfato orgânico para a obtenção de barreira apical de tecido mineralizado em dentes com forame amplo.

Além de íons cálcio, o β -glicerofosfato de cálcio (Ca-BGP) teria a capacidade de liberar íons fosfato quando em contato com os fluidos teciduais no local da aplicação. A hidrólise pela fosfatase alcalina promoveria a liberação desses íons resultando na formação do tecido mineralizado (15). Pode-se observar a formação de hidroxiapatita duas horas após a aplicação do Ca-BGP em capeamento pulpar direto (16). Nenhum estudo pode ser encontrado na literatura empregando-se esse material em dentes reimplantados. Considerando que a ocorrência da avulsão dentária em dentes com rizogênese incompleta é uma realidade na prática clínica, achamos oportuna a realização deste trabalho para se analisar histologicamente o efeito do Ca-BGP como curativo de demora.

2. Objetivo

O objetivo deste trabalho foi avaliar o processo de reparo de incisivos de ratos com elementos dentais reimplantados tardiamente após o preenchimento do canal radicular com pasta de β -glicerofosfato de cálcio ou pasta de hidróxido de cálcio + MTA como curativo de demora.

3. Materiais e Métodos

MATERIAIS E MÉTODOS

Este projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP (Protocolo FOA-9676/10 – anexo I). Neste estudo foram empregados 30 ratos (*Rattus norvegicus* Wistar) com peso corporal de 150 a 200 gramas, todos originários do biotério central da FOA-UNESP.

Para o procedimento cirúrgico, foi administrada, por via intramuscular Cloridrato de Xilazina (Anazedan AgribRANDS Ltda.) na dosagem de 10mg/Kg de peso corporal, para promover o relaxamento muscular. Na sequência, o Cloridrato de Ketamina (Dopalen AgribRANDS Ltda.) na dosagem de 80mg/Kg de peso corporal para indução anestésica. Posteriormente, foram realizadas a sindesmotomia, luxação e extração do incisivo superior direito com auxílio de instrumental especialmente adaptado. Os animais foram divididos em 03 grupos de 10 animais.

Em todos os grupos, os dentes extraídos foram mantidos em meio seco sobre bancada por um período de 60 minutos. Após este período, a papila dentária e o órgão do esmalte foram seccionados com lâmina de bisturi nº 15 (Embramac Exp.e Imp.) e a polpa foi removida por via retrógrada. O canal foi então instrumentado, empregando-se lima tipo Kerr nº 25 (Kerr 25mm – Sybron Kerr) ligeiramente curvada, os canais foram irrigados com soro fisiológico com seringa descartável acoplada em agulha 25 x 6 sendo na seqüência secos com cones de papel absorvente. Concluída a instrumentação endodôntica, foi realizada a remoção mecânica do ligamento periodontal por meio de fricção com gaze embebida em soro fisiológico. A seguir, os dentes foram imersos em 20 ml

de solução de fluoreto de sódio fosfato acidulado a 2% pH 5,5 (Farmácia de manipulação Aphoticário, Araçatuba, Brasil) por 10 minutos.

No Grupo I os canais radiculares foram preenchidos por via retrógrada com soro fisiológico. No Grupo II os canais radiculares foram preenchidos por via retrógrada com pasta de hidróxido de cálcio e propilenoglicol, 4 mm aquém do forame apical, e a seguir preenchidos com cimento MTA (Ângelus produtos odontológicos – PR – Brasil), espatulado que preencheu os 4mm apicais do canal radicular. O cimento foi obtido a partir da mistura de uma medida de pó com uma gota de água destilada, espatulado por 30 segundos até a homogeneização dos componentes, sendo posteriormente levado ao canal com espátula metálica e acamado com a ajuda de condensadores. No Grupo III os canais radiculares foram preenchidos por via retrógrada com a pasta de β -glicerofosfato de cálcio (Ca-BGP) (Synth Laboratórios – SP – Brasil) e soro fisiológico.

Na seqüência os dentes foram reimplantados em seus alvéolos de origem, realizando-se previamente a irrigação desses alvéolos com soro fisiológico. Após o reimplante, todos os animais receberam dose única de 20.000 UI de penicilina G benzatina por via intramuscular. Decorridos 60 dias do ato operatório, os animais sofreram eutanásia por meio de dose excessiva de anestésico. 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 reimplantado. Os espécimes assim obtidos foram fixados em solução de formalina a 10% por 24 horas e descalcificados em solução de EDTA a 4,13% pH 7,0.

Após a descalcificação as peças foram processadas e incluídas em parafina. Nos blocos foram realizados cortes semi-seriados de 6 micrômetros de

espessura, no sentido longitudinal da raiz. Foram selecionadas duas lâminas para cada espécime contendo quatro cortes cada, os quais foram corados pela técnica de Hematoxilina e eosina, para análise histológica e morfométrica.

Análise histométrica

O corte longitudinal foi capturado por meio de uma câmera Axio Cam MRc5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) acoplada a um Estereomicroscópio Stemi 2000 C (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) com um aumento de 1:25, que permitiu 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, Brasil) e utilizada para a quantificação no programa Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD). Para a identificação e seleção das áreas de reabsorção, as imagens digitais obtidas foram comparadas com os cortes histológicos no microscópio.

Para a análise das áreas de reabsorção radicular, inicialmente foi mensurada a área de toda a dentina radicular e em seguida a área de dentina radicular envolvida pela reabsorção inflamatória ou por substituição. Esses valores foram submetidos a uma regra de três para se obter a porcentagem de raiz comprometida pela reabsorção. A partir da porcentagem de cada espécime, foi obtido a média de cada grupo que foi empregado na aplicação de um teste estatístico adequado (Tabela 1).

Para a análise do reparo da região periapical por tecido ósseo, considerou-se a extensão de tecido conjuntivo fibroso presente na área. Nesse caso quanto maior a extensão desse tecido, pior a qualidade do reparo. Essa área foi delimitada e mensurada para obtenção do valor em pixel. A partir da

medida de cada espécime obteve-se uma média de cada grupo que foi utilizada para a aplicação de um teste estatístico adequado (Tabela 2). E os Resultados estatísticos se darão pelas comparações individuais entre grupos experimentais (tabela 3).

4. Resultados

Resultados:

Neste estudo, os animais toleraram os procedimentos experimentais de forma adequada. Foram excluídos dois espécimes do grupo I e III devido à fratura do incisivo durante a exodontia. Os seguintes resultados foram encontrados.

Grupo I (Soro Fisiológico) n=8

Neste grupo, foram encontradas várias áreas que apresentavam cimento íntegro e tecido conjuntivo fibroso. Na maior parte dos casos, as fibras colágenas desse tecido se apresentavam sem uma organização definida e em vários pontos, um infiltrado inflamatório de variava de leve a moderado estava presente. Poucas áreas de anquilose foram encontradas e as áreas de reabsorção radicular foram encontradas em todos os espécimes. Dessas áreas, houve um maior envolvimento pela reabsorção do tipo inflamatória sendo encontrada em todos os espécimes. As áreas reabsorvidas alcançavam maior profundidade da dentina e em vários pontos, a presença de clastos junto às áreas reabsorvidas indicava a atividade da reabsorção (Fig. 1). A reabsorção por substituição também apresentou comprometimento em profundidade em alguns espécimes. (Fig. 2). Pontos de reabsorção foram encontrados na parede óssea alveolar, principalmente próximo às áreas de inflamação do ligamento periodontal. Nas demais áreas, se apresentava íntegra com osteoblastos na sua periferia. Em todos os espécimes, a região periapical é ocupada por uma extensa faixa de tecido conjuntivo fibroso que apresenta em muitos pontos, um

infiltrado inflamatório crônico moderado. Próximo ao forame, áreas de abscesso podem ser encontradas onde existe o predomínio de neutrófilos (Fig. 3).

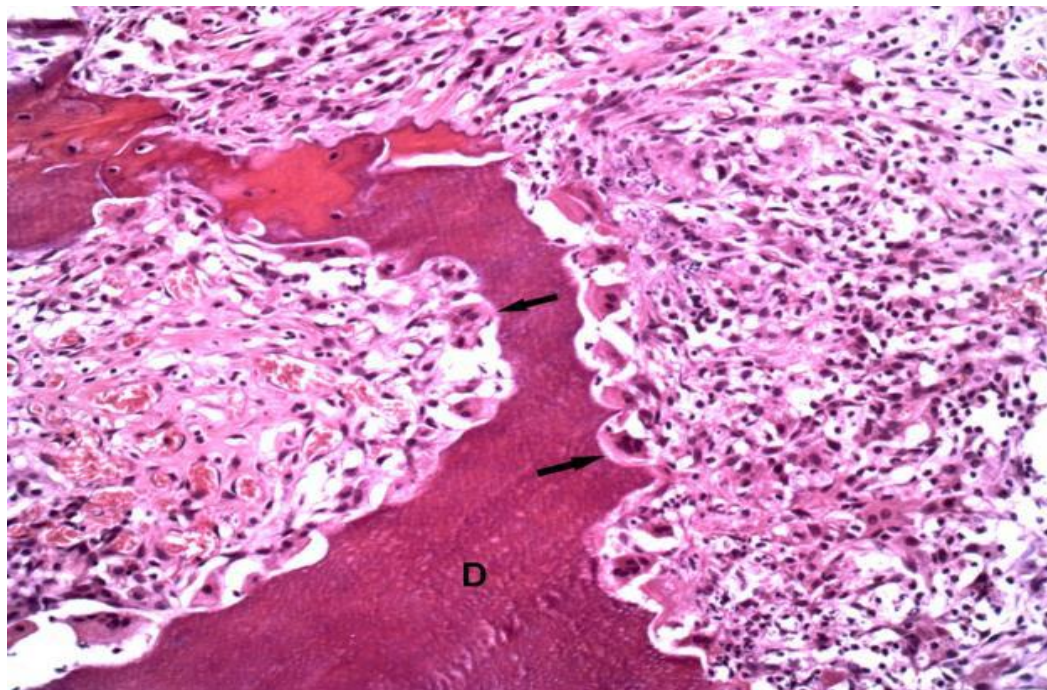


Fig. 1 – Grupo I (Soro fisiológico): Amplo comprometimento da dentina (D) pela reabsorção radicular inflamatória. Presença de clastos (setas) junto às lacunas na dentina. H.E. 100X.

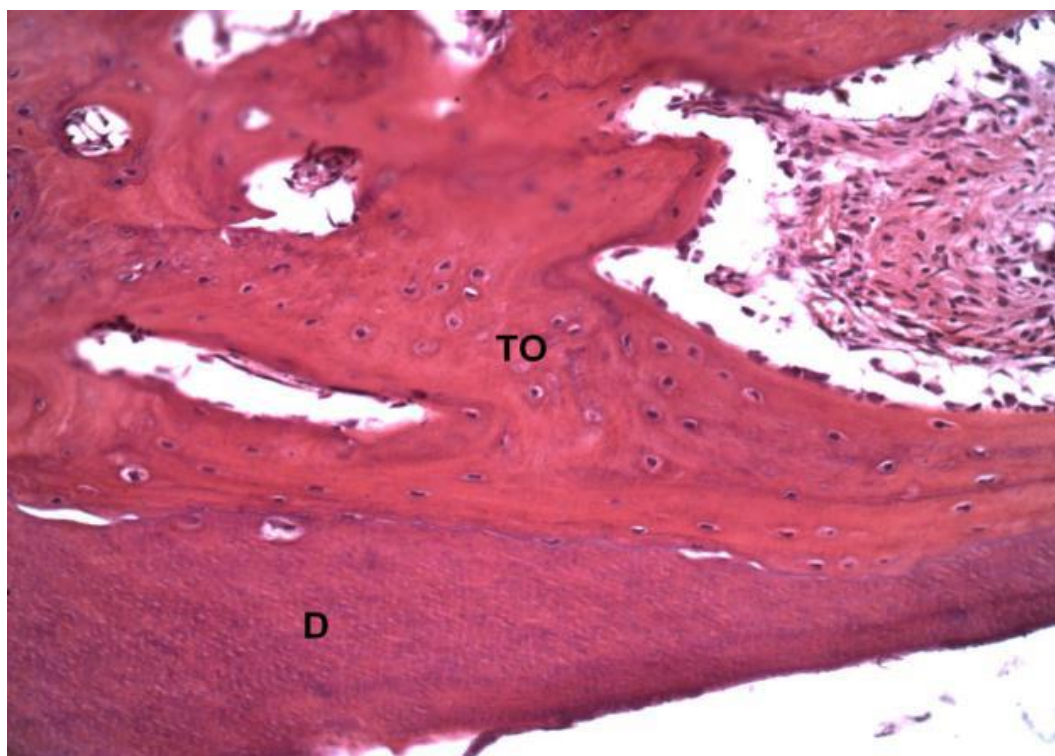


Fig. 2 – Grupo I (Soro fisiológico): Reabsorção de maior profundidade da dentina (D) e reparo por tecido ósseo alveolar (por substituição) (TO). H.E. 100x.

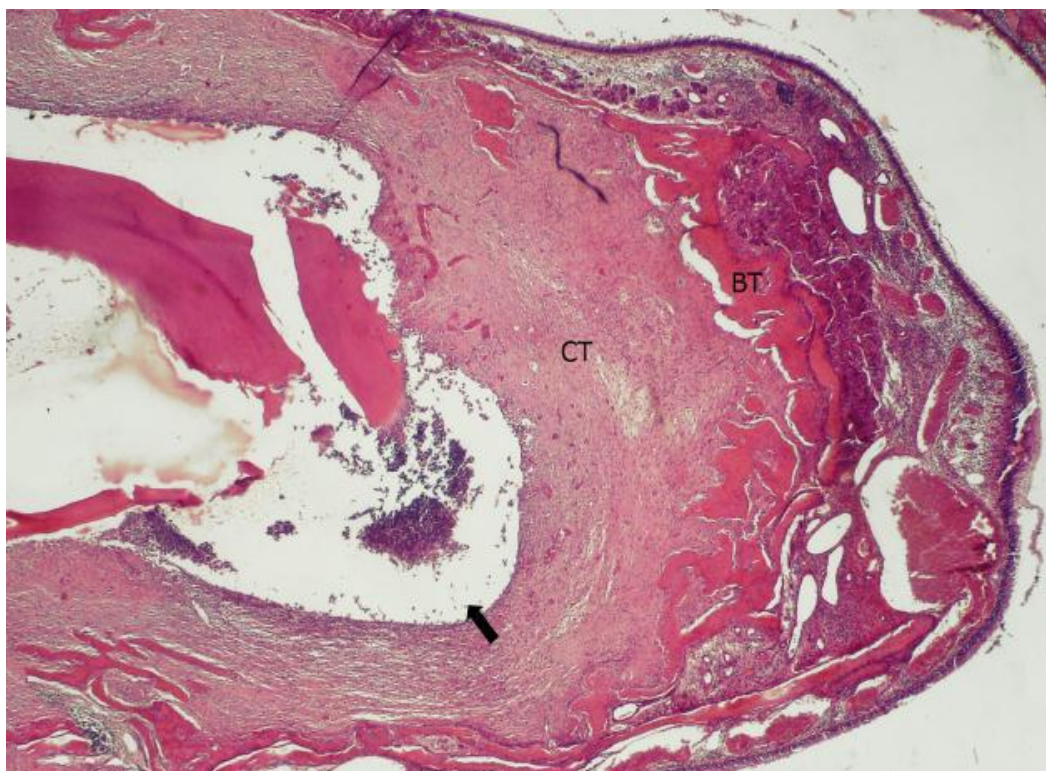


Fig. 3 – Grupo I (Soro fisiológico): Região periapical com extensa faixa de tecido conjuntivo fibroso com um infiltrado inflamatório intenso. Área de abscesso junto ao forame (seta). H.E. 50X

Grupo II (Hidróxido de Cálcio e MTA) n=10

Em todos os espécimes deste grupo o espaço de ligação periodontal foi substituída por tecido ósseo alveolar. Pequenas áreas de tecido conjuntivo fibroso foram encontradas em 6 espécimes. O índice de reabsorção radicular foi inferior aos grupos I e III. Áreas de integridade do cimento estavam presentes em todos os espécimes, com maiores proporções em seis deles. Nesses locais o tecido ósseo alveolar se encontrava justaposto à sua superfície (Fig 4).

Nas demais áreas a reabsorção por substituição envolvia, na maior parte dos casos, somente a camada mais superficial da raiz. Nessas áreas a dentina reabsorvida é substituída por tecido ósseo alveolar. Um índice muito pequeno de reabsorção inflamatória foi encontrado em dois espécimes deste grupo. Pontos de reabsorção ativa foram encontrados em alguns locais em três espécimes. Em dois deles um infiltrado inflamatório composto por linfócitos e histiócitos ocupava pequenas áreas próximas ao forame. No tecido ósseo alveolar, poucos pontos de reabsorção inativa foram encontrados em três espécimes. Na região periapical, a qualidade do reparo por tecido ósseo alveolar foi melhor neste grupo, principalmente em 7 espécimes. Neles, pode ser observada também uma camada de tecido mineralizado promovendo o selamento do forame apical. Esse selamento foi mais extenso em sete espécimes (figura 5, 6) e menor ou ausente em três deles.

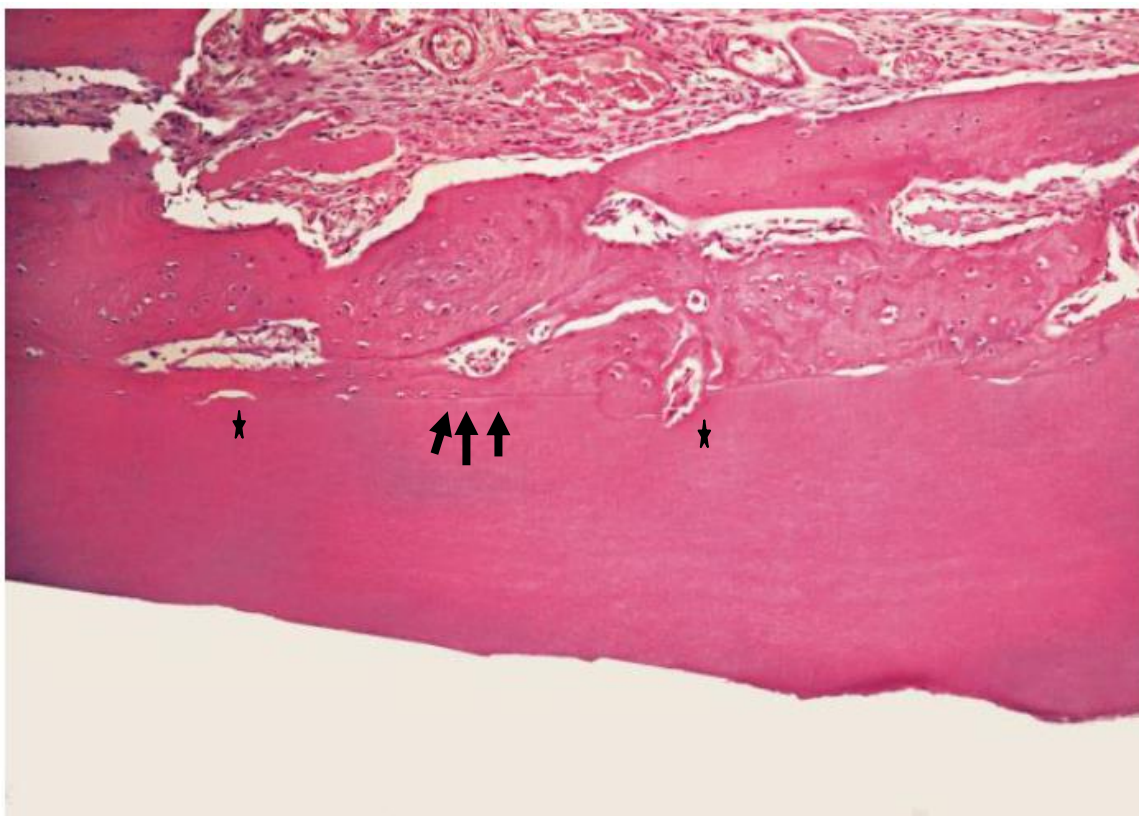


Fig. 4 - Grupo II: Tecido ósseo alveolar justaposto à camada de cimento caracterizando a anquilose dento-alveolar (setas). Ponto de reabsorção por substituição (asteriscos). H.E. 63X.

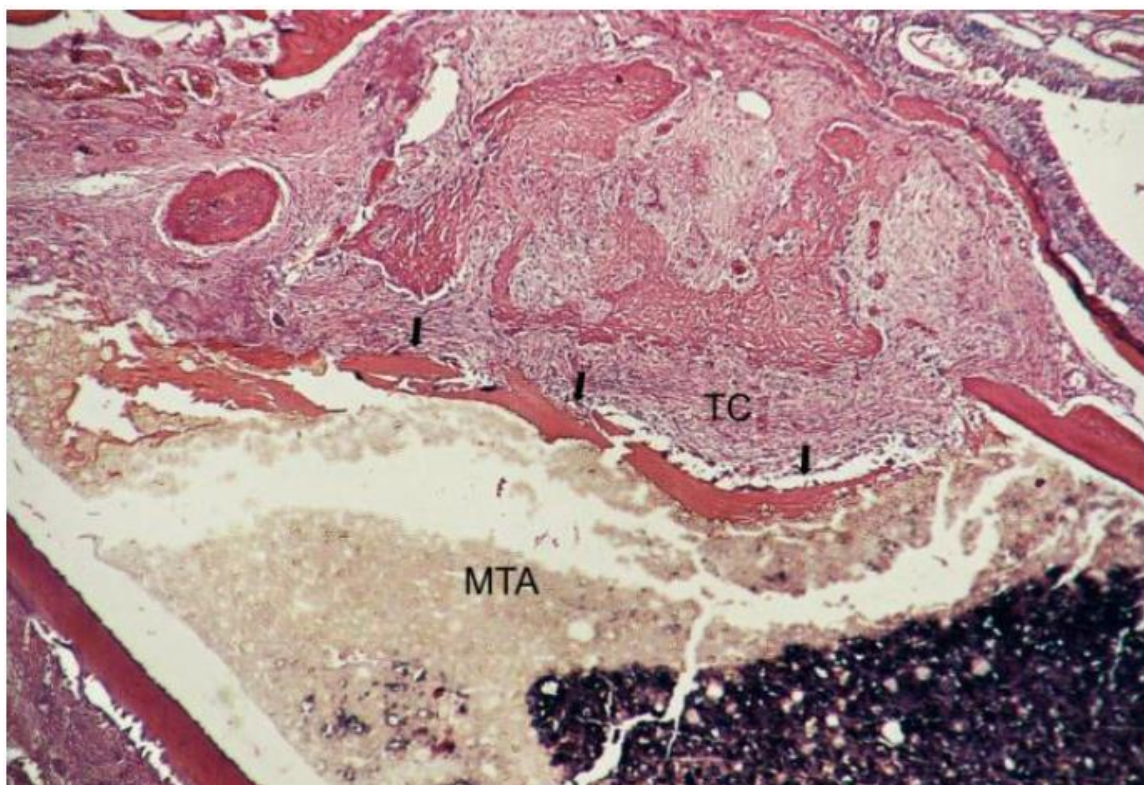


Fig. 5 - Grupo II: Região periapical preenchida por tecido conjuntivo (TC) fibroso. Trabéculas de tecido ósseo neoformado. Fragmentos de tecido ósseo (setas) junto ao plug de MTA. H.E. 50X.

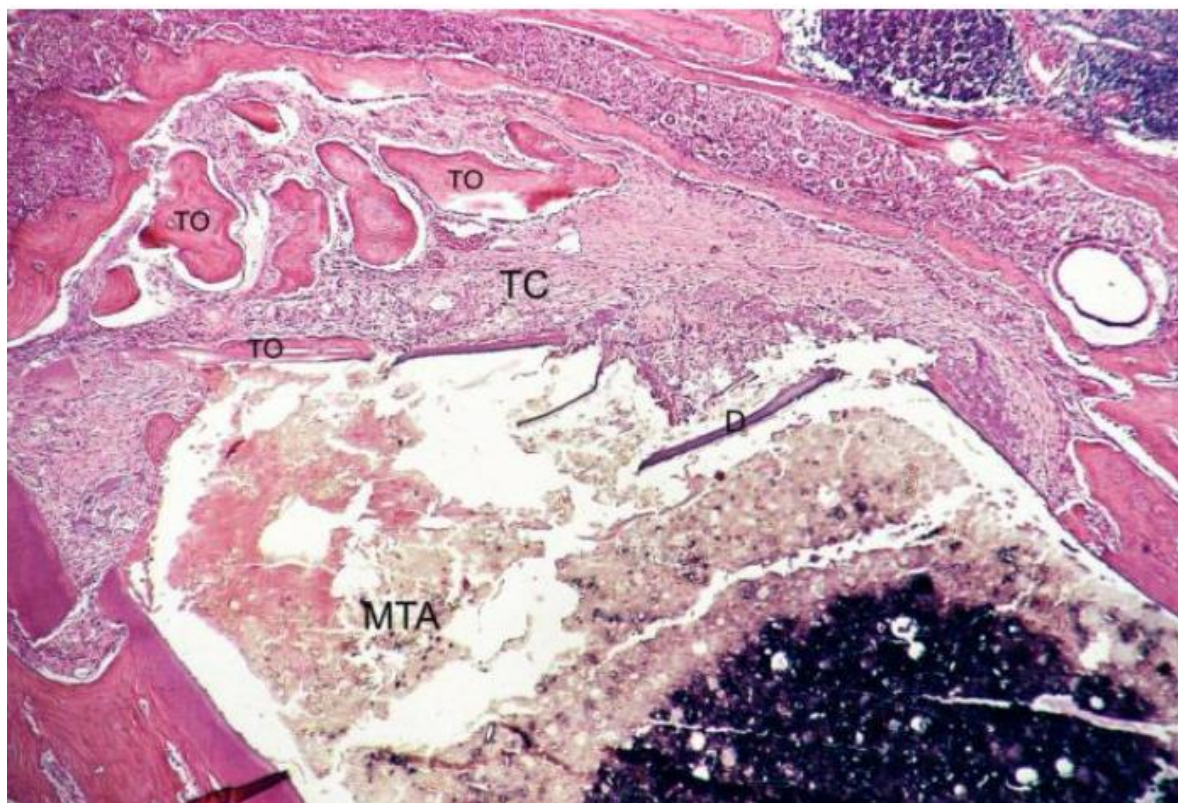


Fig. 6 - Grupo II: Tecido conjuntivo (TC) fibroso ocupando a pequena faixa da região periapical. Trabéculas ósseas (TO) neoformadas no fundo do alvéolo. Fragmento de dentina (D) e de tecido ósseo junto ao MTA. H.E. 50X.

Grupo III (β -glicerofosfato de cálcio) n=8

Neste grupo, várias áreas de tecido conjuntivo fibroso foram encontradas na superfície radicular de todos os espécimes. Se apresentavam mais extensas em 6 espécimes, sendo que em 5 deles, essa faixa de tecido conjuntivo se apresentava mais estreita devido à presença de tecido ósseo neoformado que ocupava a maior parte do espaço do ligamento periodontal. Poucas áreas de anquilose foram encontradas em 4 espécimes. O tecido conjuntivo fibroso desses espécimes se apresentava rico em fibras colágenas e fibroblastos e com muitos vasos sanguíneos. As fibras colágenas, na maior parte dos casos, apresentavam-se disposta paralelamente à superfície radicular.

Em vários pontos, um infiltrado inflamatório de linfócitos e plasmócitos podiam ser observados (Fig. 7). O comprometimento pela reabsorção radicular foi semelhante ao observado no grupo II. As áreas de reabsorção inflamatória foram encontradas em 7 espécimes com envolvimento semelhante ao do grupo II (Fig. 8). Pequenas áreas de reabsorção por substituição foram encontradas em 7 espécimes. A maior parte da região periapical era ocupada por tecido conjuntivo fibroso com poucas áreas de neoformação de tecido ósseo. Um infiltrado inflamatório crônico intenso ocupava a maior parte deste tecido conjuntivo. Em alguns pontos, o infiltrado de neutrófilos era encontrado em alguns espécimes junto ao forame apical (Fig. 9).

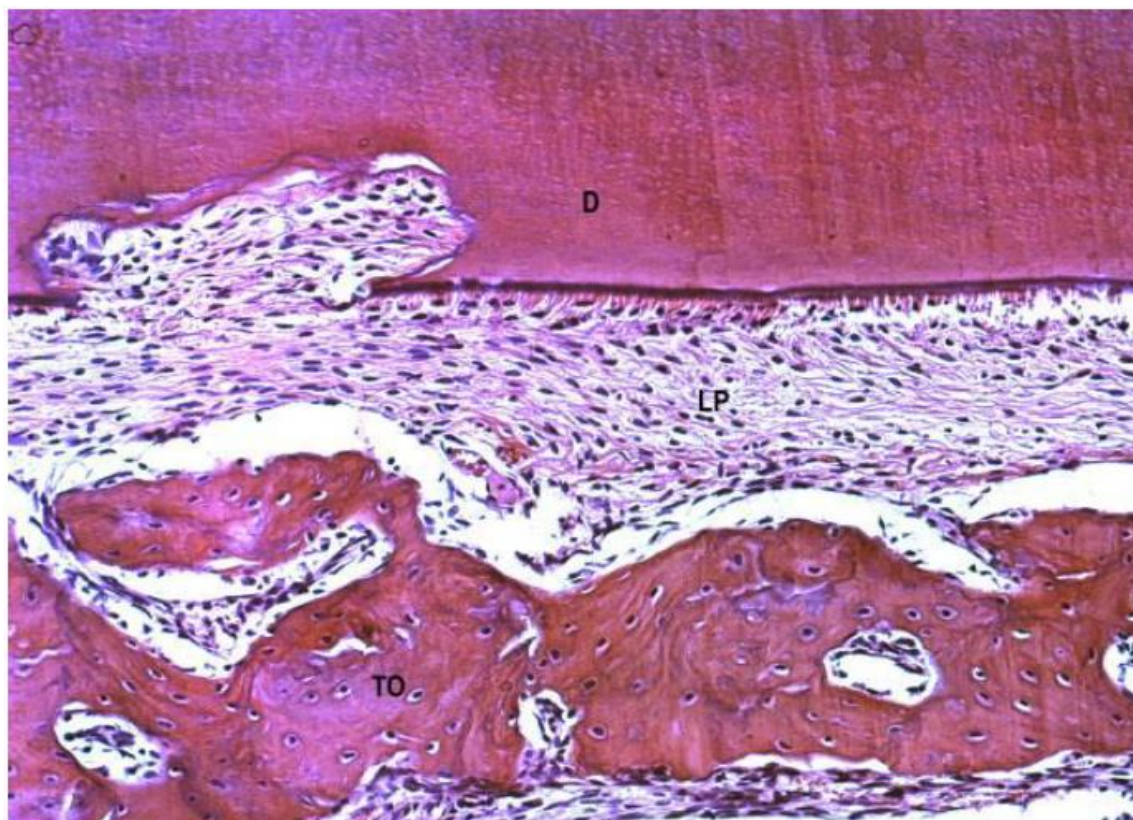


Fig. 7 – Grupo III (Ca-BGP): Fibras colágenas do ligamento periodontal (LP) dispostas paralelamente à superfície radicular. Tecido ósseo alveolar (TO) ocupando parte do espaço do ligamento periodontal. H.E. 100X.

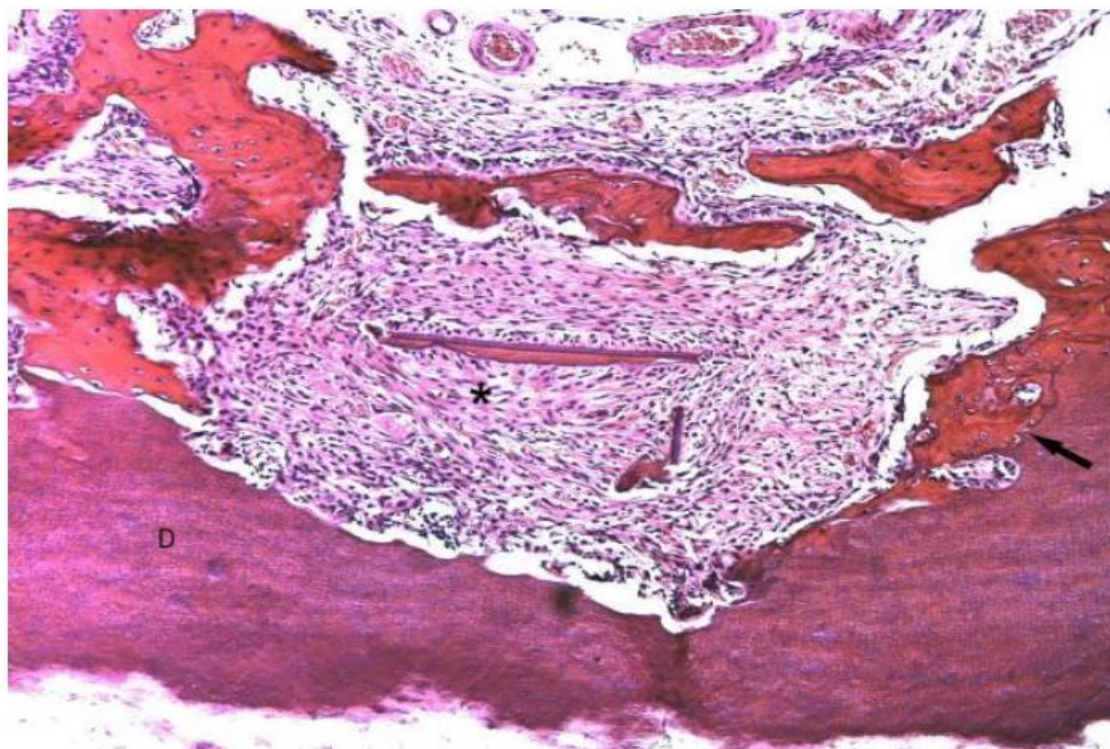


Fig. 8 – Grupo III (Ca-BGP): Tecido conjuntivo fibroso (asterisco) com infiltrado inflamatório ocupando área previamente reabsorvida da dentina (D) (Reabsorção radicular inflamatória). Área de reabsorção por substituição (seta) H.E. 100x.

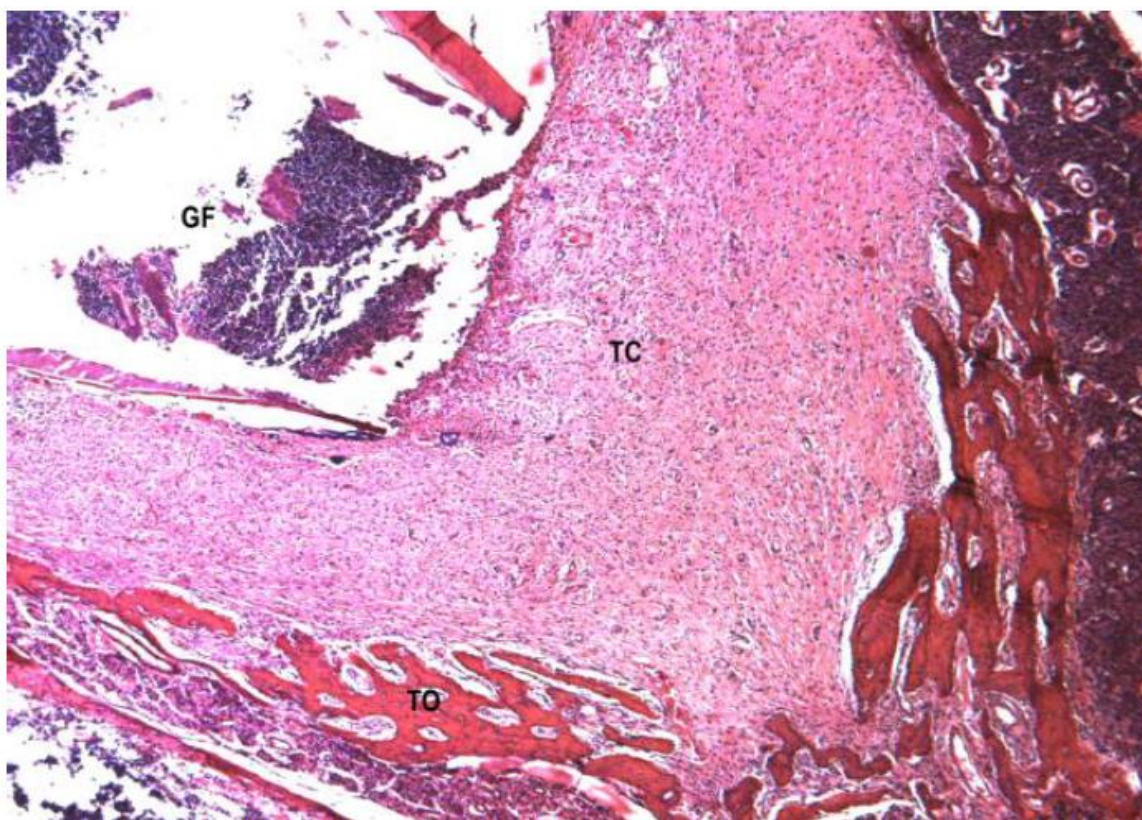


Fig. 9 – Grupo III (Ca-BGP): Tecido conjuntivo fibroso (TC) ocupando extensa área da região periapical, junto ao Glicerofosfato de cálcio (GF). Tecido ósseo neoformado (TO) no fundo do alvéolo. H.E. 50X.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística das áreas de reabsorção e reparo por tecido ósseo periapical, uma vez que os parâmetros morfométricos quantificados mostraram grande variabilidade, optou-se pela utilização do teste estatístico não paramétrico. Assim, para a confrontação dos dados pela análise de variância (ANOVA), utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis e, quando este indicou diferença estatisticamente significativa ao nível de 5%, utilizou-se do teste de Dunn para comparações individuais (Tabela 3).

Tabela 1- Porcentagem média e desvio padrão das áreas (em pixel) de reabsorção inflamatória, reabsorção por substituição, reabsorção total observados nos grupos experimentais.

	R. Infl.	R. Subst.	R. Total	Repar. Periap.
Grupo I (n=8)	38,99 ± 24,07	7,27 ± 9,48	46,27 ± 23,63	4,691 ± 23,63
Grupo II (n=10)	0,46 ± 1,06	2,79 ± 1,29	3,25 ± 1,43	1,802 ± 0,933
Grupo III (n=8)	7,59 ± 6,51	4,05 ± 4,39	12,99 ± 4,70	5,633 ± 2,02

Grupo I (Soro Fisiológico), Grupo II (Ca(OH)-MTA), Grupo III (Ca-BGP)

Tabela 2- Média e desvio padrão das áreas (em pixel) de tecido conjuntivo fibroso observados na região periapical dos grupos experimentais.

	Repar. Periap.
Grupo I (n=8)	4,691 ± 23,63
Grupo II (n=10)	1,802 ± 0,933
Grupo III (n=8)	5,633 ± 2,02

Tabela 3- Resultado do Teste Estatístico de Dunn para as comparações individuais entre grupos experimentais com base nos parâmetros avaliados ($p < 0,05$)

	R. Infl.	R. Total	Repar. Periap
Grupo I x Grupo II	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$P < 0,01$
Grupo I x Grupo III	$P < 0,001$	$P < 0,001$	$p > 0,05$
Grupo II x Grupo III	$p > 0,05$	$p > 0,05$	$p < 0,001$

A análise dos dados demonstrou que o grupo II apresentou menor comprometimento pela reabsorção inflamatória e reabsorção total do que o grupo III. O grupo II apresentou menor extensão de tecido conjuntivo fibroso na região periapical do que o grupo I e III (tabela 3).

5. Discussão

DISCUSSÃO:

A manutenção dos dentes avulsionados em meio seco por 60 minutos teve como objetivo, simular uma condição de reimplante que comumente ocorre na prática clínica (18). Nesse caso, a remoção do ligamento periodontal por meio da fricção com gaze e a imersão em solução de fluoreto de sódio foram realizados por se tratar de um tratamento de superfície radicular indicado para esse tipo de reimplante (19). A antibioticoterapia sistêmica, por sua vez, tem sido indicada para o controle da contaminação da superfície radicular e do interior do alvéolo, principalmente quando é grande o período extra-alveolar (20). Essas medidas visam o controle da reabsorção inflamatória.

A condição do tecido pulpar também é importante para o desenvolvimento desse tipo de reabsorção. Em virtude de se constituírem dentes de crescimento contínuo, o forame do incisivo de rato é naturalmente amplo, assemelhando-se aos incisivos imaturos de humanos. A revascularização pulpar é especialmente observada em dentes com rizogênese incompleta, uma vez que a maior abertura do ápice radicular facilita a migração de capilares sanguíneos para o interior do canal radicular. (17). No entanto, essa ocorrência nem sempre é observada, mesmo quando a condição de reimplante é adequada.

O completo rompimento do feixe vículo-nervoso determina a sua necrose tornando o tratamento endodôntico um passo fundamental após o reimplante (21,22).

Em dentes com forame amplo existe a dificuldade de obturação do canal radicular, e a indução da uma barreira apical de tecido mineralizado favoreceria a condensação do material obturador (23,8).

O Grupo I, onde o canal radicular foi preenchido com uma substância inerte (Solução Fisiológica 0,9%), foi o mais comprometido pela reabsorção inflamatória. A reabsorção inflamatória é o resultado direto da resposta do organismo frente à contaminação bacteriana presente no interior dos túbulos dentinários, superfície radicular e à somatória de lesões teciduais inerentes ao próprio trauma, especialmente ao ligamento periodontal. Quando há permanência de bactérias e restos necróticos no canal radicular, a reabsorção progride até que toda a parede dentinária seja reabsorvida (24).

Os resultados encontrados demonstraram que o β -glicerofosfato de cálcio foi menos efetivo do que o hidróxido de cálcio no controle desse tipo de reabsorção. Apesar de apresentar valor médio próximo, houve comprometimento de seis dos oito espécimes desse grupo, ao passo que no grupo II (hidróxido de cálcio-MTA), apenas dois espécimes apresentaram reabsorção inflamatória. A literatura apresenta grande número de trabalhos clínicos e experimentais demonstrando a eficiência do hidróxido de cálcio no tratamento endodôntico de dentes reimplantados (24,25,26,10). Seu pH alcalino exerce uma ação antimicrobiana no conduto radicular e impede a evolução de processos infecciosos, adicionalmente as toxinas produzidas pelas bactérias são desnaturadas pela ação dos íons hidroxila (27,28,29). A somatória desses efeitos produz o saneamento do conduto radicular e contribui para o controle da reabsorção inflamatória (30).

Com propriedades semelhantes ao hidróxido de cálcio, o MTA também tem mostrado resultados favoráveis no controle da reabsorção inflamatória (31) e no reparo da região periapical por tecido mineralizado de dentes reimplantados (32). De acordo com Torabinejad, (33) o MTA apresenta fases específicas após a reação com a água destilada. O MTA possui óxido de cálcio e fosfato de cálcio

nesta formulação. O óxido de cálcio pode reagir com a água dos fluidos teciduais formando hidróxido de cálcio. Este por sua vez, em contato com a água, se dissocia em íons cálcio e íons hidroxila. Este material apresenta ainda a propriedade de adquirir rigidez com a presa, permitindo a sua manutenção por um período maior. Essas evidências reforçam a capacidade que os íons hidroxila possuem no controle da reabsorção inflamatória e na obtenção de um ambiente favorável ao reparo da região periapical por tecido mineralizado em dentes reimplantados.

No grupo III, onde o Ca-BGP foi empregado não se observou um resultado superior ao encontrado no grupo II. Segundo a literatura, a introdução do Ca-BGP em meio de cultura de células da polpa proporcionou na formação de nódulos mineralizados semelhantes à dentina (34). Mesmo in vivo, foi demonstrado que havia a formação de cristais mineralizados na região periapical de raízes que simulavam dentes com forame amplo, 3 dias após a colocação deste material no conduto radicular (14).

Para alguns autores, o Ca-BGP quando em contato com os tecidos periodontais, seria hidrolisado pela fosfatase alcalina local resultando na liberação de íons fosfato e íons cálcio, elementos que participam na formação do tecido mineralizado (15). No entanto, acreditamos que a condição dos tecidos periodontais em que o material foi exposto possa ter influído no resultado encontrado.

Nas avulsões dentárias, ligamento periodontal, cementoblastos, cimento e osso alveolar podem ser lesados. Soma-se a isso a contaminação da superfície radicular e do alvéolo devido à manipulação da raiz e do contato com a saliva o qual contribui para a ocorrência de um processo inflamatório. Além disso, é maior a dificuldade de remoção dos remanescentes do tecido pulpar em

dentos com conduto radicular amplo, o que torna mais importante a ação do tipo de curativo endodôntico (24). Esses fatores, muitas vezes inexistentes em outras condições clínicas ou em estudos in vitro, poderiam interferir na ação do material estudado, em favorecer a formação de tecido mineralizado. Obstante o uso da medicação sistêmica com antibiótico, o resultado deste estudo sugere que o tipo de curativo endodôntico possui grande importância no controle da reabsorção inflamatória e no reparo da região periapical. Apesar de sua indicação nos protocolos de tratamentos, os autores têm sugerido novos estudos para a comprovação da eficácia da antibioticoterapia sistêmica no traumatismo dentário (19). No traumatismo dentário, a eficiência com o uso de associações de antibiótico no controle da contaminação endodôntica, nas técnicas de regeneração de tecido pulpar, tem sido demonstrada apenas em relatos de casos clínicos (35,36).

Dessa forma, esse parece ser um dos aspectos em que novos estudos poderão contribuir para respaldar a melhor conduta a ser seguida quando da realização de um reimplante dentário.

6. Conclusão

CONCLUSÃO

O uso do Ca-BGP como curativo de demora em incisivos de ratos reimplantados tardiamente, foi menos efetivo do que o hidróxido de cálcio associado ao plug de MTA no controle da reabsorção radicular não favorece no reparo da região periapical por tecido mineralizado.

7. Referencias

REFERENCIAS

1. Andreasen JO, Andreasen FM, Andersson L. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth, 4th ed. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2007, 770p.
2. Petersson EE, Andersson L, Sorensen S. Traumatic oral vs non-oral injuries. *Swed Dent J* 1997;21:55–68.
3. Cvek M, Cleaton-Jones P, Austin J, Lowne J, Kling M, Patti P. Effect of topical application of doxycycline on pulp revascularization and periodontal healing in reimplanted monkey incisors. *Endod Dent Traumatol* 1995, v.6, n.4, p.170-176.
4. Mandel E, Bourguignon-Adelle C. Endodontic retreatment: a rational approach to non-surgical root canal therapy of immature teeth. *Endod Dent Traumatol* 1996;12:246-53.
5. Steinig TH, Regan JD, Gutmann JL. The use and predictable placement of Mineral Trioxide Aggregate in one-visit apexification cases. *Aust Endod J* 2003;29:34-42.
6. Mackie IC, Hill FJ. A clinical guide to the endodontic treatment of non-vital immature permanent teeth. *Br Dent J* 1999;186:54-8.
7. Ghose LJ, Baghdady VS, Hikmart BYM. Apexification of immature apices of pulpless permanent anterior teeth with calcium hydroxide. *J Endod* 1987;13:285-90.
8. Pradhan DP, Chawla HS, Gauba K, Goyal A. Comparative evaluation of endodontic management of teeth with unformed apices with mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide. *J Dent Child* 2006;73:79-85.

9. Sheehy EC, Roberts GJ. Use of calcium hydroxide for apical barrier formation and healing in non-vital immature permanent teeth: a review. *Br Dent J* 1997;183:241–6.
10. Andreasen JO, Kristerson L. The effect of extra-alveolar root filling with calcium hydroxide on periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod* 1981;7:349-54.
11. Hatibovic-Kofman S, Raimundo L, Zheng L, Chong L, Friedman M, Andreasen JO. Fracture resistance of immature teeth treated with mineral trioxide aggregate. *Dent Traumatol* 2008;24:272-6.
12. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dent Traumatol* 2002;18:134-7.
13. Hayashi Y, Imai M, Application of calcium- β -glycerophosphate for artificial apical barrier formation. 1995; v.21, n.4, p.205-7.
14. Vilorio IL, Yanagiguchi K, Yoshihiko H. Structure and chemical composition of an experimentally formed apical barrier after the application of calcium-glycerophosphate. *Journal of Endod* 2000; v.25, n.10, p.605-9.
15. Ali SY, Evans L, Griffiths S. Mechanism of physiological and pathological calcification. In: Cohn DV, Potts JT, Fujita T eds. *Endocrine control of bone and calcium metabolism*. Amsterdam: Elsevier, 1984:406–9.
16. Imai M, Hayashi Y. Ultrastructure of wound healing following direct pulp capping with calcium- β -glycerophosphate (Ca-BGP) *J. Oral Pathol Med* 1993;22: 411–7.

17. Cohen S, Burns RC. Pathways of the pulp. 9th ed. Saint Louis: Mosby, 2006, 780p
18. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. Factors related to periodontal ligament healing. *Endod Dent Traumatol* 1995; 11:76-89.
19. Andersson L, Andreasen JO, Day P, Heithersay G, Trope M, DiAngelis AJ, Kenny DJ, Sigurdsson A, Bourguignon C, Flores MT, Hicks ML, Lenzi AR, Malmgren B, Moule AJ, Tsukiboshi M. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. *Dental Traumatology* 2012; 28: 88–96.
20. Hammarstrom L, Blomlof L, Feiglin B, Andersson L, Lindskog S. Replantation of teeth and antibiotic treatment. *Endod Dent Traumatol* 2006;2:51-7.
21. Andreasen JO. The effect of pulp extirpation or root canal treatment on periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod* 1981;7:245-52.
22. Andreassen JO. Relationship between surface and inflammatory resorption and changes in the pulp after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod* 1981;7:294-301.
23. Ghose LJ, Baghdady VS, Hikmart BYM. Apexification of immature apices of pulpless permanent anterior teeth with calcium hydroxide. *J Endod* 1987;13:285-90.
24. Cvek M, Granath LE, Hollender L. Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. 3. Variation of occurrence of ankylosis of reimplanted

teeth with duration of extra-alveolar period and storage environment. *Odontol Revy* 1974;25:43-56.

25. Andreasen JO, Kristerson L. The effect of extra-alveolar root filling with calcium hydroxide on periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod* 1981;7:349-54.

26. Trope M, Moshonov J, Nissan R, Buxt P, Yesilsoy C. Short vs. long-term calcium hydroxide treatment of established inflammatory root resorption in replanted dog teeth. *Endod Dent Trumatol* 1995;11:124-8.

27. Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J Endod* 1993;19:76-8.

28. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Junior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J* 1995;6:85-90.

29. Estrela C, Pesce HF. Chemical analysis of the liberation of calcium and hydroxyl ions from calcium hydroxide pastes in connective tissue in the dog – Part I. *Braz Dent J* 1996;7:41-6.

30. Estrela C, Holland R. Calcium hydroxide: study based on scientific evidences. *J Appl Oral Science* 2003;11:269-82

31. Marão HF, Panzarini SR, Aranega AM, Sonoda CK, Poi WR, Esteves JC, Silva PI. Periapical tissue reactions to calcium hydroxide and MTA after external root resorption as a sequela of delayed tooth replantation. *Dental Traumatol*, 28:306-13, 2012.

32. Esteves JC. Reimplante dentário após obturação do canal com pasta de hidróxido de cálcio associado ao plug apical de MTA : Estudo histomorfométrico

em ratos. Dissertação (Mestrado) – 101f., Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2010.

33. Torabinejad M, Hong CU, McDonald F, Pitt Ford TR. Physical and chemical properties of a new root end filling material. *J Endod* 1995;21:349-53.

34. About I, Bottero MJ, Denato P, Camps J, Franquin JC, Mitsiadis TA. Human dentin production in vitro. *Experimental Cell Research* 2000, v.258, p.33-41.

35. Akgun OM, Altun C, Guven G. Use of triple antibiotic paste as a disinfectant for a traumatized immature tooth with a periapical lesion: A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2009, v108, p.62-65.

36. Dabbagh B, Alvaro E, Vu D-D, Rizkallah J, Schwartz S. Clinical Complications in the Revascularization of Immature Necrotic Permanent Teeth. *Pediatric Dentistry* 2012, v.34, p.414-417.

8. Anexos

Anexo I – Comitê de ética



CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "Reimplante dentário após a obturação do canal com pasta de hidróxido de cálcio. MTA ou fosfato de cálcio. Estudo histológico em ratos", sob a responsabilidade de CELSO KOOGI SONODA e o colaborador Pedro Ivo Santos Silva, está de acordo com os Princípios Éticos em Uso de Animais e foi aprovado em reunião realizada em 16/12/2010, de acordo com o Protocolo FOA-9676/10.

Araçatuba, 09 de fevereiro de 2011.


Fabiano Antonio Cadioli
Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA

mfsr.

*Faculdade de Odontologia e Faculdade de Medicina Veterinária – Seção Técnica Acadêmica
Rua José Bonifácio, 1193 CEP 16015-050 - Araçatuba - SP
Tel (18) 3636-3225 E-mail: cep@foa.unesp.br*

Anexo II – Imagens Metodologia



Fig. 10 – Luxação do Incisivo Superior Direito



Fig. 11 – Exodontia do elemento dental com fórceps adaptado

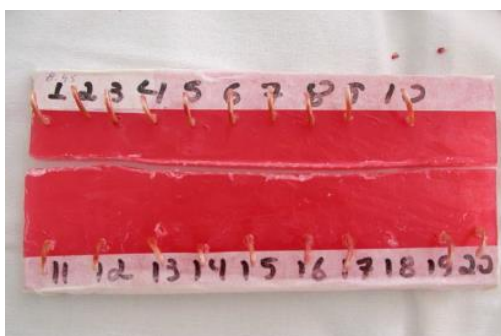


Fig. 12 - Elementos dentais extraídos e mantidos em meio seco



Fig. 13 – Secção da papila dentinaria e Orgão do Esmalte



Fig. 14 – Remoção da polpa por via retrograda com lima tipo Kerr nº35



Fig. 15 – Irrigação do canal radicular com Soro Fisiológico 0,9%



Fig. 16 – Secagem do conduto radicular com cones de papel absorventes



Fig. 17 – Remoção do Ligamento Periodontal por fricção de gaze embebida em solução de Soro Fisiológico 0,9%



Fig. 18 – Manutenção dos dentes Solução de Flúor fosfato acidulado a 2%

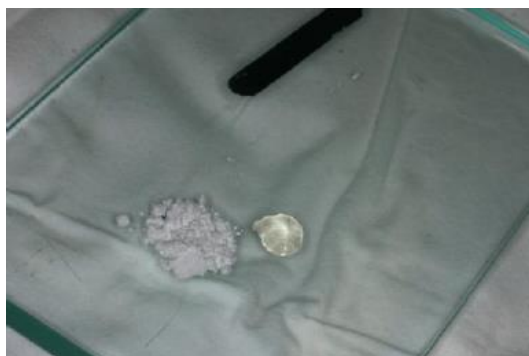


Fig. 19 – Espatulação da paste de β -glicerofosfato de sódio com soro



Fig. 20 – Inserção das pastas por via retrograda



Fig. 21 – Preenchimento dos canais radiculares com pasta de Hidróxido de Calcio



Fig. 22 – Espatulação do Cimento MTA com Água Destilada



Fig. 23 – Preenchimento do ápice do canal radicular com MTA(plug)



Fig. 24 – Reimplante do elemento dental



Fig. 25 – Vista do dente já reimplantado

Grupo	Den. Total	R. Inf.	%	R. subst.	%	R. Total	%	Periápice
1.MTA.3.1	2.486	0	0	0.120	4.82	0.120	4.82	2.651
2.MTA1.2	3.625	0	0	0.093	2.56	0.093	2.56	2.398
3.MTA6.1	2.016	0.065	3.22	0.043	2.13	0.108	5.35	1.516
4.MTA2.1	2.463	0	0	0.066	2.67	0.066	2.67	2.385
5.MTA2.1	2.328	0	0	0.035	1.50	0.035	1.50	1.814
6.MTA4.1	2.892	0	0	0.101	3.49	0.101	3.49	2.967
7.MTA7.1	2.763	0	0	0.091	3.29	0.091	3.29	1.183
8.MTA3.1	4.862	0	0	0.042	0.86	0.042	0.86	0.180
9.MTA4.1	2.642	0	0	0.124	4.69	0.124	4.69	2.397
10.MTA.3.1	3.688	0.050	1.36	0.073	1.97	0.123	3.33	0.527
MÉDIA1	2.977		0.45	0.090	2.80	0.090	3.25	2.164
Glicerof.	Den. Total	R. Inf.	%	R. subst.	%	R. Total	%	
1GPO	4.289	0.326	8	0.189	4,4	0.515	12	2.315
2GPO	5.158	0.660	1,6	0.011	0,21	0.671	13	3.238
3GPO	3.708	0.075	2	0.060	1,61	0.135	3,64	7.451
4GPO	4.288	0.00	0	0.595	13,87	0.595	13,87	8.153
5GPO	4.224	0.260	6,15	0.215	5,08	0.475	11,24	6.475
6GPO	3.730	0.639	17,13		0	0.639	17,13	6.558
7GPO	4.029	0.656	16,28	0.140	3,47	0.796	19,75	5.951
8GPO	4.704	0.45	9,56	0.177	3,76	0.627	13,32	4.919
Média	4.266		7,58		4,05		12,99	5.633
	Den. Total	R. Inf.	%	R. subst.	%	R. Total	%	periápice
1.Soro	3.476	0.617	17.75	0.841	24.19	1.458	41.94	3.370
2.Soro	2.725	0.516	18.93	0.107	3.92	0.623	22.86	3.636
3.Soro	3.637	0.842	23.15	0	0	0.842	23.15	4.027
4.Soro	3.430	2.026	59.06	0	0	2.026	59.06	4.266
5.Soro	3.255	2.815	86.48	0	0	2.815	86.48	5.661
6.Soro	2.976	1.545	51.91	0.432	14.51	1.977	66.43	6.654
7.Soro	3.657	0.786	21.49	0	0	0.786	21.49	4.123
8.Soro	4.122	1.367	33.16	0.641	15.55	2.008	48.71	5.789
Média	3.410	1.314	38.99	0.253	7.27	1.567	46.26	4.691

Fig.26 – Instrumento de coleta de dados relativos aos grupos analisados

Método de mensuração das áreas de reabsorção radicular com o programa Image J.

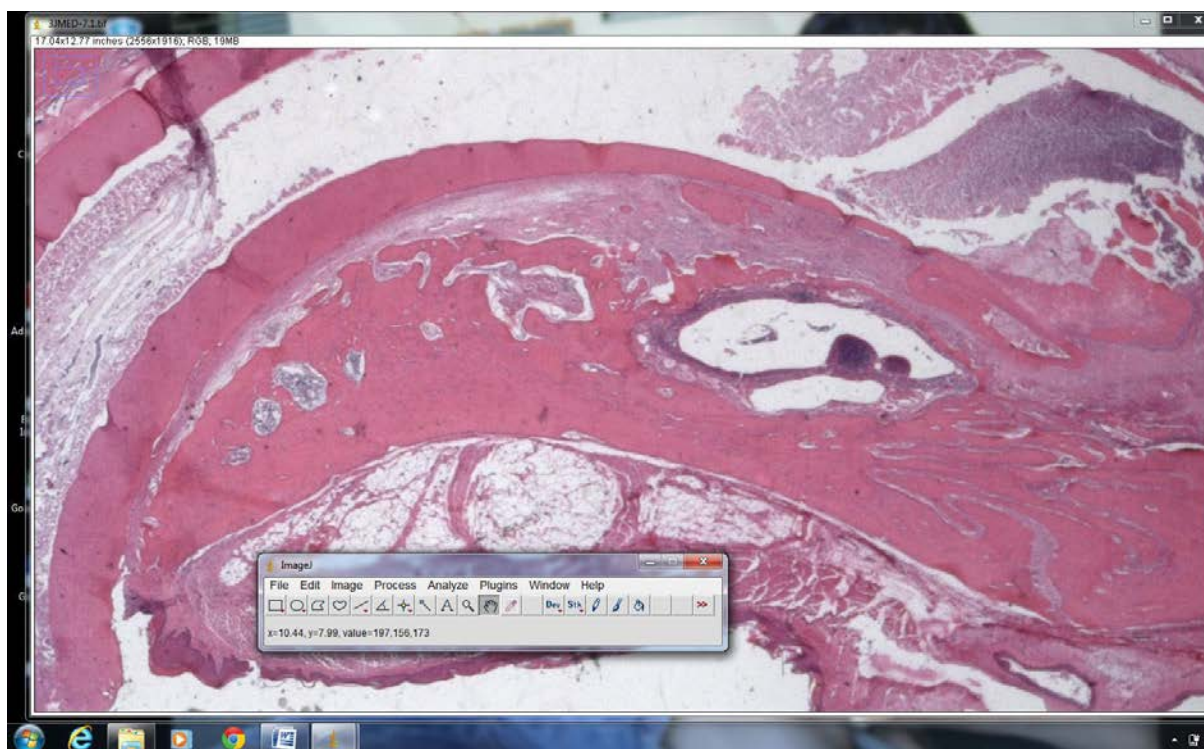


Fig.27 - Imagem da parede dentinária lingual da raiz a ser mensurada.

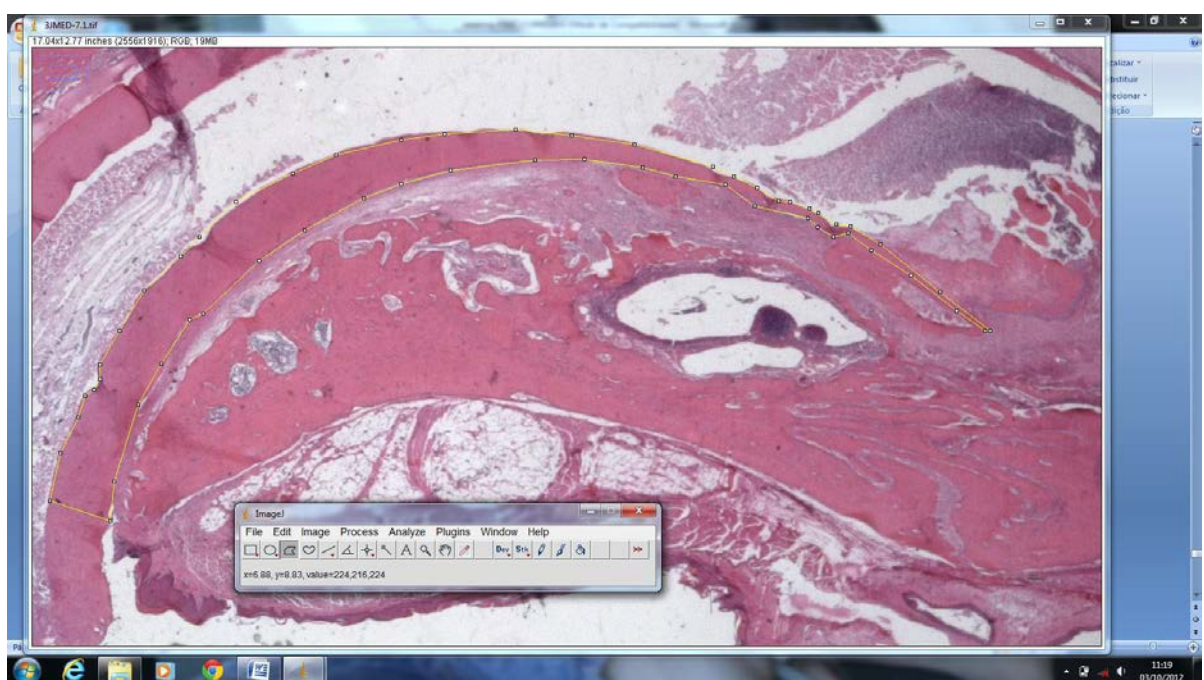


Fig. 28 - Parede dentinária mesial da raiz delimitada para mensuração (dentina total).

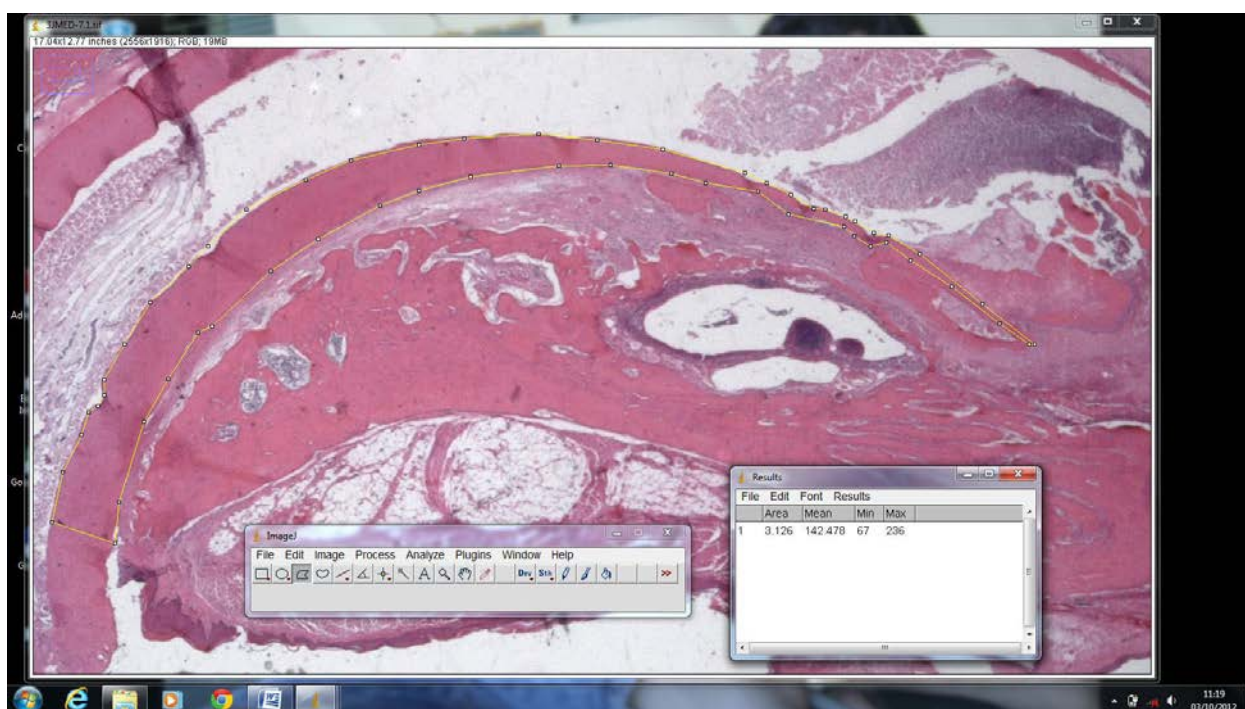


Fig. 29 - Descrição da área da parede dentinária mensurada.

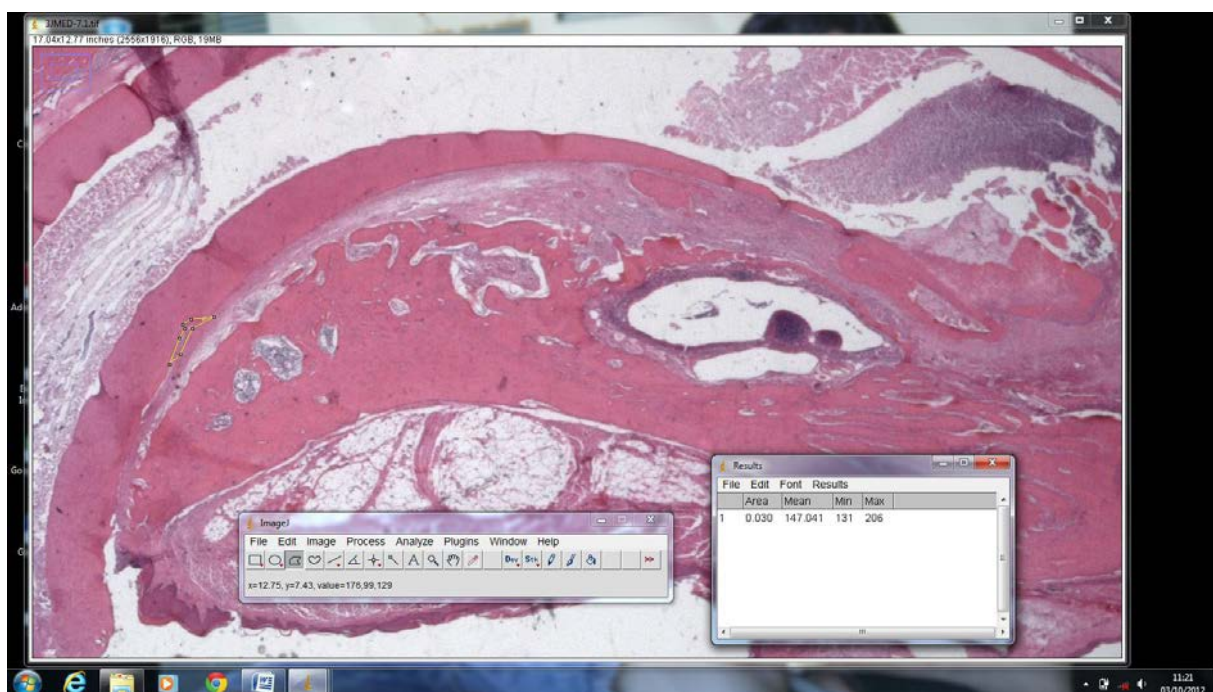


Fig. 30 - Área de reabsorção radicular delimitada e mensurada.

Método de mensuração das áreas de tecido conjuntivo fibroso na região periapical com o programa Image J.

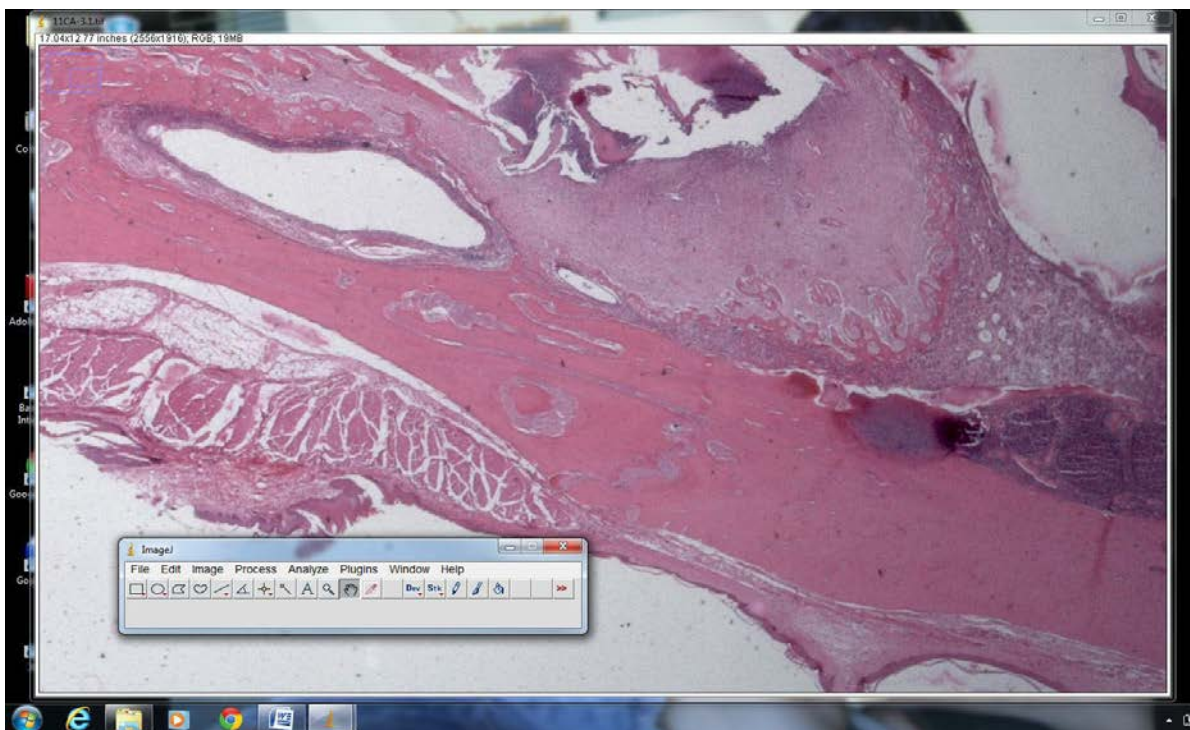


Fig. 31 - Imagem da região periapical para mensuração da área de tecido conjuntivo fibroso.

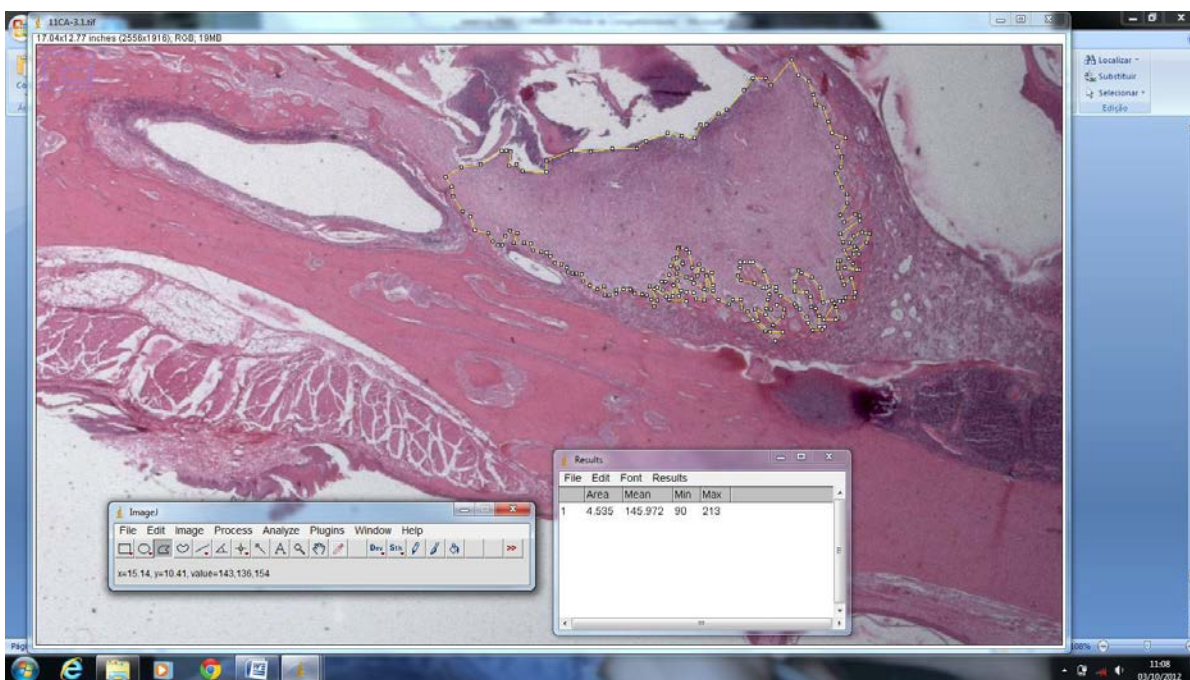


Fig. 32 - Área de tecido conjuntivo fibroso da região periapical, delimitada e mensurada

Anexo III - Normas para publicação

Dental Traumatology

Official Publication of the International Association for Dental Traumatology and the International Academy of Sports Dentistry

Edited by: Lars Andersson

Print ISSN: 1600-4469

Online ISSN: 1600-9657

Frequency: Bi-monthly

Current Volume: 28 / 2012

ISI Journal Citation Reports® Ranking:2010: Dentistry, Oral Surgery & Medicine: 44 / 74

Impact Factor: 1.268

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 labelled 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.