

WILLIAN RICARDO PIRES

**REIMPLANTE DENTÁRIO TARDIO APÓS O USO DE CURATIVO
ENDODÔNTICO COM MELATONINA:
ESTUDO HISTOMÉTRICO EM RATOS PINEALECTOMIZADOS**

ARAÇATUBA

2019

WILLIAN RICARDO PIRES

REIMPLANTE DENTÁRIO TARDIO APÓS O USO DE CURATIVO

ENDODÔNTICO COM MELATONINA:

ESTUDO HISTOMÉTRICO EM RATOS PINEALECTOMIZADOS

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” - UNESP, para obtenção do título de DOUTOR em odontologia - Área de Cirurgia e Traumatologia Buco-Maxilo-Facial.

Orientador – Celso Koogi Sonoda

ARAÇATUBA

2019

Catálogo na Publicação (CIP)
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

P667r Pires, Willian Ricardo.
Reimplante dentário tardio após o uso de curativo endodôntico com melatonina : estudo histométrico em ratos pinealectomizados / Willian Ricardo Pires. - Araçatuba, 2019
86 f. : il.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Celso Koogi Sonoda

1. Reimplante dentário 2. Glândula pineal 3. Melatonina
I. T.

Black D7
CDD 617.64

Claudio Hideo Matsumoto – CRB-8/5550

Dedicatória

Dedico esta Tese...

Ao meu pai José Aparecido Pires (in memoriam), que sempre me apoiou e nunca perdeu a fé nos meus sonhos e à minha mãe Carmen Lúcia da Silva Pires, que, sem medir esforços para me ajudar, segue esta caminhada junto comigo. O amor de uma mãe e de um pai é o combustível que capacita um ser humano comum a fazer o impossível.

Agradecimentos Especiais

Agradeço a Deus, que me protege e ilumina meu caminho sempre. O Senhor é meu pastor, nada me faltará.

Ao meu irmão Robson e minha cunhada Débora que me ajudam nas horas mais difíceis e me apoiam nas minhas escolhas.

Aos meus amigos e familiares que me acompanham e torcem pelo meu sucesso.

Ao meu querido orientador, Prof. Dr. Celso Koogi Sonoda. Obrigado pela oportunidade e confiança que me proporcionou ao aceitar-me como orientando. O senhor é um exemplo de professor. Agradeço a paciência, ensinamentos, respeito e amizade.

Agradecimentos

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

À PAZEOS, 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 doutorado, além do convívio com pessoas incríveis.

Aos colegas da pós-graduação que foram tão companheiros durante esses anos de aprendizados, plantões e aulas. Que tenhamos muito sucesso em nossas vidas. Obrigada pelo carinho de sempre!

À minha Orientadora de Mestrado, Profa. Dra. Sônia Regina Lanzarini, uma pessoa e professora exemplar. Você é uma inspiração que tento seguir na carreira.

À minha amiga e sócia Bruna Barcelos, amiga de todas as horas. Obrigado pelo seu companheirismo e amizade. Te amo.

À Universidade Estadual do Norte do Paraná - UENP, onde iniciei minha primeira experiência docente. A experiência na UENP foi incrível. Agradeço todos os professores e funcionários com quem tive contato e aprendi a ser um professor melhor.

À Universidade Estadual de Londrina -UEL, lugar em que dei início à minha jornada na formação profissional e atualmente atuo como professor.

Aos professores e colegas do Módulo de

Diagnóstico Bucal da UEL, Fabio, Ademar, Jeferson, Evelise e Elisa, professores que admirava quando aluno. Muito obrigado por compartilhar o conhecimento. É uma realização profissional atuar com vocês.

Aos professores da UEL que foram muito especiais e fiz amizades que tenho certeza que serão eternas.

Mariana, Gabriela, Sibelli, Andrés, Heliton, Fernandão e Bruna. Muitas saudades da convivência semanal. Obrigado pela amizade queridos.

RESUMO

Pires, WR. Reimplante dentário tardio após o uso da melatonina como curativo endodôntico: estudo histológico e morfométrico em ratos pinealectomizados. [Tese]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP; 2019.

Dentre os vários tipos de traumas, a avulsão dentária representa uma condição crítica por deslocar o dente de seu ambiente natural, expondo-o a um meio externo seco e contaminado, resultando na reabsorção da raiz que pode ser parcial ou total. Pouco tem sido estudado sobre os fatores sistêmicos no processo de reparo em traumatismo dentário. Uma dessas condições é a deficiência da melatonina, que pode ocorrer em pessoas com hábitos noturnos. A sua deficiência tem sido relacionada a prejuízo no reparo de diversos tipos de tecidos, mas não existem estudos desta condição nos casos de traumas dentários. Assim o objetivo deste trabalho foi avaliar a influência da melatonina no processo de reparo em reimplante dentário. Para isso estudou-se o emprego de um curativo endodôntico à base de melatonina (M) ou corticosteroide e antibiótico (CA) no reimplante tardio de incisivos de ratos, pinealectomizados (PNX) ou não. Foram utilizados 40 ratos divididos em 4 grupos de 10 animais. Em 2 desses grupos (PNX-M e PNX-CA), a glândula pineal foi removida cirurgicamente. Trinta dias depois, o incisivo superior direito desses animais foi extraído, a polpa radicular foi removida, os canais foram limpos, irrigados e secos. Na sequência, nos Grupos PNX-M e M, os canais foram preenchidos com curativo a base de melatonina a 3%. Nos grupos PNX-CA e CA os canais foram preenchidos com curativo à base de Doxiciclina e Triancinolona. O ápice foi selado com um plug de MTA e os dentes foram reimplantados nos alvéolos de origem. O período extrabucal em meio seco foi de 20 minutos. Os animais receberam dose única de penicilina G Benzatina por via intramuscular. A eutanásia foi realizada 45 dias depois e as peças contendo os dentes foram processadas para obtenção de lâminas que foram coradas em hematoxilina e eosina para análise histológica e morfométrica. Os resultados demonstraram que o grupo PNX-M foi mais comprometido pela reabsorção radicular do que os grupos PNX-CA e CA. Quando analisado somente o tipo de reabsorção, a reabsorção inflamatória foi a que predominou ($p < 0,05$). Pode-se concluir que o curativo endodôntico com melatonina a 3% proporcionou reparo semelhante ao do curativo com corticosteroide antibiótico nos dentes reimplantados em animais não pinealectomizados. Nos animais pinealectomizados o curativo com a melatonina a 3% foi menos efetivo no controle da reabsorção radicular, principalmente a reabsorção inflamatória.

Palavras-chave: Reimplante dentário. Glândula pineal. Melatonina.

ABSTRACT

Pires, WR. Late dental replantation after the use of melatonin as an endodontic dressing: histological and morphometric study in pinealectomized rats. [Thesis]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP; 2019.

Among the various types of trauma, tooth avulsion is a critical condition for displacing the tooth from its natural environment, exposing it to a dry and contaminated external environment, resulting in partial or total root resorption. Little has been studied about the systemic factors in the process of dental trauma repair. One such condition is melatonin deficiency, which can occur in people with nocturnal habits. Its deficiency has been related to impairment in the repair of various tissue types, but there are no studies of this condition in cases of dental trauma. Thus, the objective of this study was to evaluate the influence of melatonin on the repair process in dental replantation. For this purpose, we studied the use of a melatonin-based endodontic dressing in late reimplantation of rat incisors, pinealectomized or not. Forty rats divided into 4 groups of 10 animals were used. In 2 of these groups (PNX-M and PNX-CA), the pineal gland was surgically removed. Thirty days later, the right upper incisor of these animals was extracted, the root pulp was removed, the canals were cleaned, irrigated and dried. Then, in the PNX-M and M Groups, the channels were filled with a 3% melatonin-based dressing. In the PNX-CA and CA groups, the channels were filled with Doxycycline and Triamcinolone dressing. The apex was sealed with an MTA plug and the teeth were reimplanted into the original alveoli. The extraoral period in dry medium was 20 minutes. The animals received a single dose of intramuscular penicillin G benzathine. Euthanasia was performed 45 days later and the teeth containing parts were processed to obtain slides that were stained with hematoxylin and eosin for histological and morphometric analysis. The results showed that the PNX-M group was more affected by root resorption than the PNX-CA and CA groups. When analyzing only the type of resorption, inflammatory resorption predominated ($p < 0.05$). It can be concluded that the 3% melatonin endodontic dressing provided similar repair to the antibiotic corticosteroid dressing on the reimplanted teeth in non-pinealectomized animals. In pinealectomized animals the dressing with 3% melatonin was less effective in controlling root resorption, especially inflammatory resorption.

Keywords: Tooth Replantation. Pineal Gland. Melatonin.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 Grupo PNX-CA: Localização da inserção epitelial (seta) do sulco gengival no terço cervical da raiz. Aspecto de normalidade do tecido ósseo alveolar (TO). HE 25x. pg. 33
- Figura 2 Grupo PNX-CA: Ligamento periodontal (LP) com as fibras colágenas inseridas no tecido ósseo alveolar (TO) e no cemento (C), caracterizando a reinserção HE 100x. pg. 33
- Figura 3 Grupo CA: Tecido ósseo ocupando o espaço do ligamento periodontal e justaposto à camada de cimento, caracterizando a anquilose HE 100x. pg. 33
- Figura 4 Grupo CA: Área de reabsorção do cimento e da camada superficial da dentina (seta) reparada por tecido conjuntivo fibroso. Fibras colágenas do ligamento periodontal dispostas paralelamente à superfície radicular HE. 200x. pg. 33
- Figura 5 Grupo M: Inserção epitelial da gengiva marginal localizada abaixo da crista óssea alveolar (TO), no terço cervical da raiz HE 25x. pg. 35
- Figura 6 Grupo M: Ligamento periodontal (LP) com fibras colágenas dispostas de forma desorganizada. Clastos junto à área de pg. 35

reabsorção da camada superficial da dentina (seta) HE. 100x.

- Figura 7 Grupo PNX-M: Área de reabsorção inflamatória comprometendo porção mais profunda da dentina com a presença de clastos (seta). Presença de infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo adjacente à dentina reabsorvida. HE. 200x. pg. 35
- Figura 8 Grupo PNX- M: Tecido ósseo alveolar (TO) ocupando o espaço do ligamento periodontal (LP) e reparando a área reabsorvida da dentina, caracterizando a reabsorção por substituição HE 100x. pg. 35
- Figura 9 Calota craniana exposta (região do lambda) para acesso ao cérebro. pg. 81
- Figura 10 Osteosecção da calota por meio de broca trefina montada em baixa rotação, para remoção de fragment ósseo. pg. 81
- Figura 11 Glândula pineal sendo removida com pinça clínica após acesso ao seio venoso (região de intersecção do seio venoso sagittal e transversal). pg. 81
- Figura 12 Fragmento ósseo reposicionado após retirada da glândula pineal. pg. 81
- Figura 13 Pele suturada com fio de sutura de seda e agulha montada 5-0. pg. 81

Figura 14	Sindesmotomia do incisivo superior direito.	pg. 82
Figura 15	Luxação com instrumental adaptado.	pg. 82
Figura 16	Extração dentária.	pg. 82
Figura 17	Remoção da polpa radicular por via retrógrada com auxílio de lima.	pg. 82
Figura 18	Irrigação do canal radicular com soro fisiológico 0,9%.	pg. 82
Figura 19	Secagem do líquido intracanal com cone de papel absorvente.	pg. 82
Figura 20	Preenchimento do canal com curativo endodôntico acondicionado em tubete.	pg. 83
Figura 21	Selagem do forame apical com MTA.	pg. 83
Figura 22	Reimplante do dente no alvéolo de origem	pg. 83
Figura 23	Reimplante do dente concluído.	pg. 83

LISTA DE TABELAS

- Tabela 1 Frequência dos escores das características histológicas consideradas para a inserção epitelial. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para análise estatística ($p < 0,05$). O teste de Dunn foi utilizado para comparações entre os grupos. pg. 36
- Tabela 2 Frequência dos escores das características histológicas consideradas para o ligamento periodontal. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para a análise estatística ($p < 0,05$). O teste de Dunn foi utilizado para comparações entre os grupos. pg. 37
- Tabela 3 Média em porcentagem e desvio padrão da extensão de ligamento periodontal (LP) e anquilose (A) nos grupos estudados. pg. 37
- Tabela 4 Média em porcentagem e desvio padrão das áreas de reabsorção inflamatória (RI), reabsorção por substituição (RS) e reabsorção total (RT) nos grupos estudados. pg. 38

LISTA DE ABREVIATURAS, SIGLAS E SÍMBOLOS

%	= Porcentagem
CA	= Grupo corticosteróide e antibiótico
D	= Dentina
EDTA	= Ácido etilenodiaminotetraacético
et al.	= E outros
Fig.	= Figura
i.m.	= Via intramuscular
kg	= Quilograma
LP	= Ligamento periodontal
LTDA	= sociedade empresarial de responsabilidade limitada
M	= Grupo Melatonina
mg	= Miligramas
ml	= Mililitros
mm	= Milímetros
MTA	= Trióxido mineral agregado

n° = Número

PNX-CA = Grupo pinealectomia –
corticosteróide e antibiótico

PNX-M = Grupo pinealectomia - melatonina

qsq = Quantidade suficiente para

S.A. = Sociedade anônima

TO = Tecido ósseo alveolar

UI = Unidades internacionais

UNESP = Universidade Estadual Paulista

USP = Universidade de São Paulo

VEGF = Fator de crescimento vascular endotelial

X = Vezes

SUMÁRIO

1. Introdução	pg. 16-19
2. Proposição	pg. 21
3. Materiais e Métodos	pg. 23-29
4. Resultados	pg. 31-38
5. Discussão	pg. 40-44
6. Conclusão	pg. 46
7. Referências	pg. 47-54
ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética no Uso de Animais.	pg. 55
ANEXO B – Normas para publicação do periódico “Dental Traumatology”.	pg. 56-80
Anexo C - Ilustração dos Materiais e Métodos.	pg. 81-83

Introdução

INTRODUÇÃO

A avulsão dentária, resultante de traumatismo, desperta atenção especial na odontologia, devido ao comprometimento estético e funcional, principalmente em crianças e adolescentes que, por estarem em fase de crescimento, torna o tratamento protético limitado, mesmo com a evolução dos implantes osseointegráveis, fazendo com que o reimplante continue ocupando um lugar de destaque no meio clínico e científico¹.

Dentre os vários tipos de traumas, a avulsão dentária representa uma condição crítica por deslocar o dente de seu ambiente natural, expondo-o a um meio externo seco e contaminado². Quando o dente é avulsionado, vários tipos de tecidos como ligamento periodontal, cemento, osso alveolar, tecido gengival e polpa dental são danificados. Esses danos incluem ruptura do epitélio gengival, ruptura do ligamento periodontal, injúrias ao cemento e osso alveolar e rompimento do feixe vaso-nervoso da polpa dental. Dessa forma, o reparo de um dente reimplantado se constitui em um processo complexo que depende do potencial de reconstituição dos vários tipos celulares envolvidos e da proporção com a qual cada uma ocorre³.

Após a avulsão dentária, parte das fibras do ligamento periodontal permanece aderida ao cemento e parte fica aderida à parede alveolar⁴. A vitalidade da porção cementária do ligamento periodontal é de fundamental importância para o reparo do dente reimplantado⁵⁻⁷.

O reimplante do dente avulsionado deve ser o tratamento de escolha, apesar das suas limitações, porque o tempo de permanência do dente na arcada do paciente pode ser suficiente para suprir algumas de suas necessidades tais como: evitar a atrofia do rebordo alveolar, permitir que o paciente assimile melhor a perda do dente e até protelar a confecção de uma prótese⁸⁻¹¹.

Após o reimplante, existe a formação de um coágulo sanguíneo entre a porção alveolar e cementária do ligamento periodontal.^{12,13} Quando o ligamento periodontal cementário remanescente ainda apresenta vitalidade, esse coágulo pode se organizar em um tecido de granulação o qual terá grande chance de restituir a reinserção¹².

Por outro lado, quando a vitalidade é perdida, este tecido de granulação pode ser substituído por tecido ósseo^{7,12} ou dar início a um processo de reabsorção o que retardará ou impedirá a reinserção^{14,15}. Fatores locais como o tipo e o tempo de uso da contenção, a antibioticoterapia sistêmica, o tratamento da superfície radicular e o tratamento endodôntico interferem no processo de reparo. A partir da compreensão da influência desses fatores, estabeleceu-se um protocolo para a realização do reimplante em condições favoráveis e desfavoráveis de conservação do dente avulsionado¹⁶. No entanto, muito pouco é conhecido sobre a influência dos fatores sistêmicos no processo de reparo.

Existem condições sistêmicas resultantes de padrões comportamentais que também podem influir no processo de reparo. Estudos demonstram que pessoas que trabalham no turno da noite possuem deficiência na capacidade de liberação circadiana de melatonina via pineal, pois este hormônio só é liberado por meio desta glândula no escuro e durante o sono¹⁷⁻¹⁹. Essas pessoas apresentam aumento da ocorrência de disfunções cardiovasculares, gastrointestinais, reprodutivas, de câncer, de distúrbios de sono e alerta, este último levando naturalmente a uma maior incidência de acidentes com estes trabalhadores e possivelmente riscos para toda a sociedade. Estes trabalhadores noturnos também estão sujeitos mais frequentemente a problemas psicológicos, sociais e familiares. Tais efeitos são resultados da interferência de suas atividades com o ciclo circadiano normal. Em particular, a temperatura corpórea e a secreção de melatonina parecem ser os responsáveis pela variação do estado de alerta¹⁸.

A melatonina (N-acetil-5-metoxi-triptamina) é uma molécula amplamente presente na natureza, em organismos unicelulares, plantas, fungos e animais. Na maioria dos vertebrados,

incluindo os homens, a melatonina é sintetizada primariamente na glândula pineal, durante o período escuro do ciclo circadiano¹⁹.

Além do controle do ciclo circadiano, a melatonina vem sendo atrelada com diversas funções específicas, estando relacionada ao envelhecimento, à obesidade, à sensibilidade à insulina, à maturação sexual, às ações antidepressivas, ao controle das secreções de hormônio (do crescimento, hormônios adrenais e tireoideanos), e como agente antioxidante, substância oncoestática, substâncias cardioprotetoras, mediador inflamatório e substância osteogênica¹⁹⁻²¹.

Na Odontologia, os efeitos benéficos da melatonina já vêm sendo avaliados em alguns estudos. A melatonina apresentou-se como um possível recurso contra a doença periodontal, graças às suas atividades anti-inflamatórias, antioxidantes, e estimulantes da proliferação de fibroblastos e da remodelação óssea.^{22,23} Demonstrou-se que a aplicação de melatonina em alvéolos após a exodontia, diminuiria as complicações causadas pelo estresse oxidativo favorecendo o reparo²⁴. Em outro trabalho, Cutando *et al.*,²⁵ relacionam os graus severos de periodontite com a diminuição dos níveis salivares de melatonina, indicando que a melatonina age na proteção do organismo, contra agressões bacterianas externas. Em dentes reimplantados, seu uso sistêmico se mostrou efetivo no controle da reabsorção radicular e na reparação do ligamento periodontal.²⁶

Como revisto, a melatonina pode interferir no processo de reparo tecidual de diversas formas, tanto pela modulação de processos inflamatórios, pela formação de fibrilas colágenas, pelo tempo de diferenciação dos osteoblastos, como por meio do estresse oxidativo. O conduto radicular poderia representar um reservatório do agente, que por meio da abertura coronária seria renovado periodicamente, podendo melhorar o padrão de reparo. O medicamento poderia passar do canal radicular para o espaço periodontal por meio dos túbulos dentinários. Não

existem estudos utilizando a melatonina como curativo intracanal em dentes reimplantados, justificando a realização do presente trabalho.

Proposição

PROPOSIÇÃO

Avaliar a influência da melatonina como curativo endodôntico no processo de reparo em reimplante de incisivo superior de ratos, pinealectomizados ou não.

Materiais e Métodos

MATERIAIS E MÉTODOS

Este estudo foi submetido à avaliação da Comissão de Ética no Uso de Animais da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP (Processo FOA nº 00434-2017) (Anexo A). Para esse estudo, foram utilizados 40 animais (*Rattus Norvegicus*, Wistar), machos, pesando 300 gramas, divididos em 4 grupos de 10 ratos. Os ratos foram obtidos no Biotério Central da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP e mantidos no Biotério do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada da mesma unidade. Os animais foram mantidos em ambiente de 12/12 horas de claro e escuro (período claro iniciado às 7:00 horas da manhã) e temperatura de 23°C (variação de $\pm 2^\circ\text{C}$). Os ratos receberam ração sólida balanceada e água de torneira *ad libitum*.

Procedimento de pinealectomia

Os ratos foram anestesiados com cloridrato de quetamina (80 mg/kg p.c., i.m.) e xilazina (10 mg/kg p.c., i.m.) e adaptados a um aparelho estereotáxico. Com auxílio de duas barras auriculares, a cabeça de cada animal foi colocada em posição fixa. Após a remoção do pelo sobre o escalpo e assepsia da pele da cabeça com solução de polivinilpirrolidona-iodo, foi feita uma incisão longitudinal e o tecido subcutâneo foi afastado para a visualização da região do lambda. Desta região foram removidos 4,5 mm de diâmetro de calota craniana, com uma broca tipo trefina (Neodent, Curitiba, Paraná, Brasil) acoplada a um motor de baixa rotação. Após a retirada deste fragmento de osso, o seio venoso (região de intersecção do seio venoso sagital e transversal) foi visualizado e com uma pinça será retirada (Grupos PNX-CA e PNX-M) a glândula pineal, que se localiza logo abaixo deste seio. Após a retirada desta glândula, o fragmento de osso retirado foi recolocado na sua posição inicial, e o animal retirado do aparelho

estereotáxico. Após a hemostasia, a pele foi suturada com fio de seda 5.0 (Ethicon, Johnson&Johnson, São Paulo, Brasil). Como medida profilática, após a cirurgia, foi injetada por via intramuscular 20.000 U.I. de penicilina G benzatina (Fontoura Wyeth S.A., São Bernardo do Campo, São Paulo, Brasil). Após a cirurgia, os ratos foram mantidos nas condições anteriormente citadas, por um período de 30 dias antes da realização da exodontia e reimplante dentário (Anexo C).

Exodontia e reimplante dentário

Para o segundo procedimento cirúrgico, os animais foram novamente anestesiados. Foi realizada a antissepsia da porção anterior da maxila, com solução de polivinilpirrolidona-iodo, sindesmotomia, luxação e extração do incisivo superior direito com auxílio de instrumental especialmente adaptado. Após a extração os dentes foram mantidos sobre bancada, em meio seco por 20 minutos. Na sequência, foi removida a papila dental e o órgão do esmalte com lâmina de bisturi nº15 (Maxicor, Pinhais, Paraná, Brasil). A polpa foi removida por via retrógrada e o canal instrumentado, empregando-se lima tipo Kerr nº 25, ligeiramente curvada. Os canais foram irrigados com soro fisiológico e o líquido intracanal aspirado com seringa Luer Look acoplada em agulha 25X6 (Injex, Ourilhos, São Paulo, Brasil) e secos com cones de papel absorvente (Dentsply, Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil). Na sequência, no grupo PNX-M e M, os canais foram preenchidos com pasta à base de melatonina (Sigma-Aldrich, St. Louis, MO, USA) a 3%, veiculada com carboximetilcelulose (Farmácia Aphoticário, Araçatuba, SP, Brazil). Nos grupos PNX-CA e CA, foram utilizadas uma associação de corticosteróide e antibiótico (Triancinolona – 10mg, doxiciclina-30mg, sulfato de sódio-3mg e pomada macrogol- qsp 5g) (Farmácia Aphoticário, Araçatuba, SP, Brazil), por via retrógrada, com auxílio de broca lentulo (Dentsply, Petrópolis, Rio de Janeiro, Brasil) montada em baixa

rotação. Os curativos foram posicionados respeitando-se o limite de 4 mm aquém do ápice radicular. Na porção apical do canal e sobre os curativos utilizados, foi confeccionado um “plug” com cimento MTA (Angelus, Londrina, Paraná, Brasil) que preencheu os 4 mm 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. Após este procedimento, os dentes foram reimplantados em seus respectivos alvéolos com preparo prévio do mesmo, por meio de limpeza cirúrgica com auxílio de uma cureta e irrigação com soro fisiológico (Anexo C). Após o reimplante, todos os animais receberam dose única de 20.000 U.I. de penicilina G benzatina (Fontoura Wyeth S.A., São Bernardo do Campo, São Paulo, Brasil) por via intramuscular. Além disso, nos três primeiros dias após o reimplante, os ratos receberam ração triturada.

Após 45 dias do reimplante, os animais foram eutanasiados por dose excessiva de anestésico. A maxila direita, contendo o dente reimplantado, foi separada ao nível da linha mediana com o emprego de uma lâmina de bisturi nº 15 (Maxicor, Pinhais, Paraná, Brasil). Um corte com tesoura reta ao nível da porção distal do 3º molar possibilitou a obtenção de maxila direita contendo o dente reimplantado. Os espécimes assim obtidos foram fixados em solução 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.

Forma de análise dos resultados

ANÁLISE HISTOLÓGICA

Esta análise foi realizada com auxílio de microscópio óptico (Axiolab – Zeiss, Alemanha), e em função da anatomia, somente a face lingual da raiz foi considerada. Foram analisadas as características do ligamento periodontal, cemento e dentina, além da ocorrência de reabsorção inflamatória, reabsorção por substituição e anquilose ao longo de toda superfície radicular.

ANÁLISE HISTOMÉTRICA:

A imagem do corte longitudinal foi capturada por meio de uma câmera Axio Cam MRc5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil). 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 (Laboratório de Informática Dedicado à Odontologia, LIDO, USP, São Paulo, Brasil). Para análise histométrica das áreas de reabsorção radicular, inicialmente foi mensurada a área total de dentina radicular e em seguida a área de dentina radicular reabsorvida. O valor da área de dentina total e da área de dentina reabsorvida foi submetido a uma regra de três para quantificar a porcentagem de raiz comprometida pela reabsorção. As áreas de anquilose e reparo por ligamento periodontal foram mensurados por meio da medida do perímetro da superfície radicular, sendo inicialmente mensurado o perímetro total da raiz e depois o perímetro onde o cemento encontra-se recoberto por tecido ósseo ou por ligamento periodontal. Da mesma forma que para a reabsorção, foi calculada a porcentagem da raiz comprometida pela anquilose ou reparada por ligamento periodontal. Baseado no método empregado por Corrêa et al.²⁷, para a quantificação da inserção epitelial e das áreas de inflamação do tecido conjuntivo da inserção epitelial e do ligamento periodontal foram

atribuídos escores de 1 a 4 aos diferentes eventos abaixo listados, em que 1 corresponde ao melhor resultado e 4 ao pior, ocupando os escores 2 e 3 posições intermediárias.

Eventos considerados para a análise dos resultados:

1) Local da inserção epitelial

- 1- Junção cimento-esmalte;
- 2- Abaixo da junção cimento-esmalte;
- 3 - Muito abaixo da junção cimento-esmalte (perto do terço médio);
- 4 - Ausência do epitélio juncional.

2) Processo inflamatório agudo e crônico próximo do local da inserção epitelial.

2.1) Intensidade do processo inflamatório.

- 1 - Ausência ou presença ocasional de células inflamatórias;
- 2 - Pequeno número de células inflamatórias. Até 10 células por campo com aumento de 400X;
- 3 - Moderado número de células inflamatórias. De 11 a 50 células por campo com aumento de 400X;
- 4 - Grande número de células inflamatórias. Acima de 50 células inflamatórias por campo com aumento de 400X.

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 apicalmente até a pequena porção do tecido conjuntivo subjacente à lâmina própria da porção interna do epitélio gengival;

4 - Processo inflamatório atingindo proximidade da crista óssea alveolar.

3) Ligamento Periodontal

3.1) Intensidade do processo inflamatório agudo e crônico no espaço do ligamento periodontal.

- 1 - Ausência ou presença ocasional de células inflamatórias;
- 2 - Pequeno número de células inflamatórias. Até 10 células por campo com aumento de 400X;
- 3 - Moderado número de células inflamatórias. De 11 a 50 células por campo com aumento de 400X;
- 4 - Grande número de células inflamatórias. Acima de 50 células inflamatórias por campo com aumento de 400X.

3.3) Extensão do processo inflamatório agudo e crônico no espaço do ligamento periodontal.

- 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 ligamento periodontal.

Análise estatística

Os valores absolutos e dos escores foram submetidos à análise estatística, cujos cálculos foram realizados pelo software GraphPad Prism 3.0 (GraphPad Softwares Incorporated, San Diego, USA). Inicialmente, os dados foram submetidos ao teste de normalidade e

homogeneidade. O teste de Kruskal-Wallis, para comparações múltiplas de dados não-paramétricos, foi utilizado para comparação das amostras com nível de significância $p < 5\%$. Quando evidenciada diferença estatisticamente significativa, o teste de Dunn foi utilizado para comparações individuais. A frequência dos escores relacionados à inserção epitelial e ligamento periodontal (inflamação crônica e aguda) estão descritos nas tabelas 1 e 2 respectivamente. A média e desvio padrão relacionados à extensão do ligamento periodontal e anquilose estão relacionados na tabela 3. A média e desvio padrão relacionados à reabsorção radicular total, reabsorção inflamatória e reabsorção por substituição estão relacionados na tabela 4.

Resultados

RESULTADOS

Todo o procedimento experimental deste estudo seguiu as normas e recomendações propostas pelo Comitê de Ética no Uso de Animais. Foram descartados 2 animais dos grupos PNX-M e PNX-CA e 1 animal do grupo CA por conta de fratura da raiz durante a exodontia.

Análise histológica:

Grupos PNX-CA e CA: Nesses grupos, com exceção de dois espécimes do grupo PNX-CA e 1 do grupo CA, a inserção epitelial estava localizada na junção amelocementária (Fig. 1). Em 4 espécime do grupo PNX-CA e em 5 do grupo CA, o tecido conjuntivo fibroso próximo a essa área apresentou um infiltrado inflamatório crônico moderado, formado por linfócitos e histiócitos. Nos demais espécimes, esse infiltrado apresentava-se leve ou ausente. O ligamento periodontal foi encontrado em todos os espécimes de ambos os grupos ocupando grandes extensões da superfície radicular. Em 5 espécimes de cada grupo essa extensão foi superior a 70% da superfície radicular. Esse tecido apresentava-se rico em fibras colágenas, fibroblastos e vasos sanguíneos. Em alguns pontos as fibras colágenas apresentavam-se inseridas no tecido ósseo alveolar e no cimento caracterizando a reinserção (Fig. 2), Na maior parte dos casos elas se apresentavam desorganizadas ou dispostas paralelamente à superfície radicular. Um infiltrado inflamatório crônico moderado foi encontrado em 3 espécimes do grupo PNX-CA e em 4 espécimes do grupo CA ocupando pequenas extensões. Infiltrado inflamatório agudo foi observado em pequenas extensões de 3 espécimes do grupo PNX-CA e em 4 espécimes do grupo CA. Eram caracterizados pela presença de polimorfonucleares neutrófilos e se localizavam principalmente no terço apical da raiz. Áreas de anquilose foram encontradas em 3 espécime do grupo PNX-CA e em 6 do grupo CA. Essas áreas eram caracterizadas pela presença de tecido ósseo alveolar ocupando o espaço do ligamento periodontal, justapondo-se à camada de cimento (Fig. 3). Reabsorção inflamatória foi encontrado em 2 espécimes de cada

grupo enquanto a reabsorção por substituição foi encontrada em 2 espécimes do grupo PNX-CA e em 1 do grupo CA. Nesses espécimes o total de dentina reabsorvida correspondeu a menos de 3% da área analisada. Geralmente a reabsorção comprometia apenas a camada superficial da raiz e se apresentava cessada e repara por tecido conjuntivo fibroso (Fig. 4).

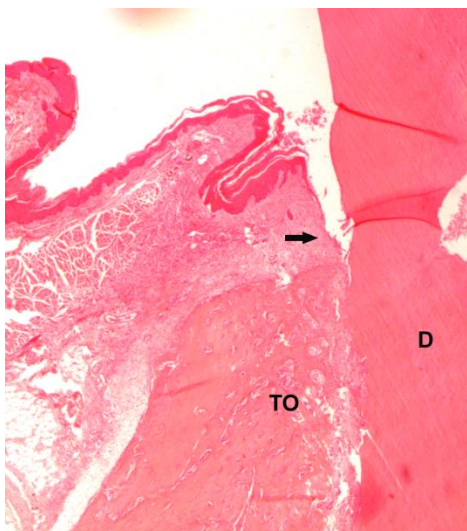


Fig. 1 - Grupo PNX-CA: Localização da inserção epitelial (seta) do sulco gengival no terço cervical da raiz. Aspecto de normalidade do tecido ósseo alveolar (TO). HE 25x.

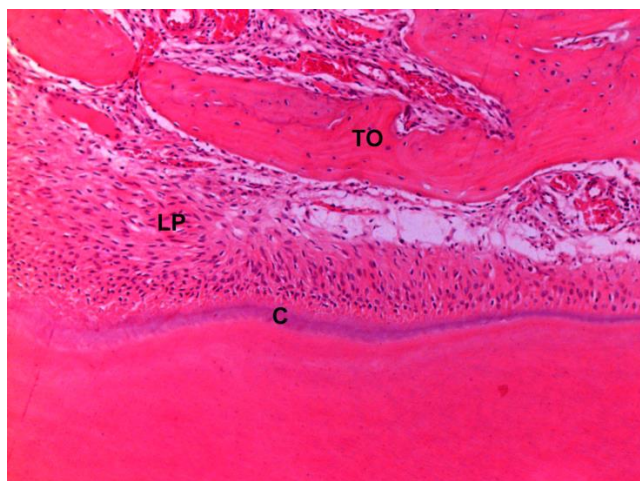


Fig. 2 - Grupo PNX-CA: Ligamento periodontal (LP) com as fibras colágenas inseridas no tecido ósseo alveolar (TO) e no cimento (C), caracterizando a reinserção HE 100x.

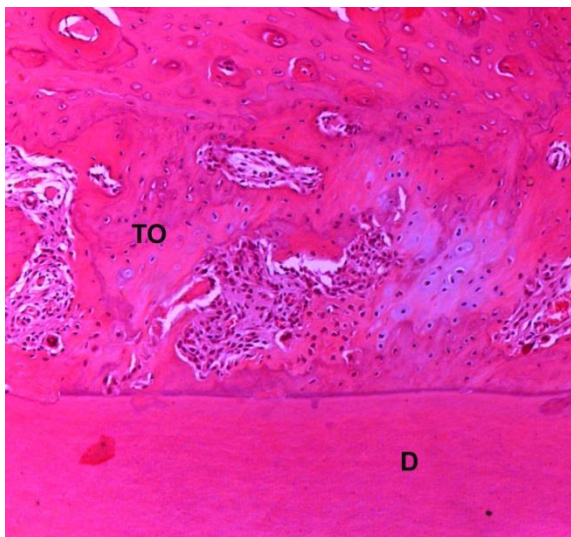


Fig. 3 - Grupo CA: Tecido ósseo ocupando o espaço do ligamento periodontal e justaposto à camada de cimento, caracterizando a anquilose HE 100x.

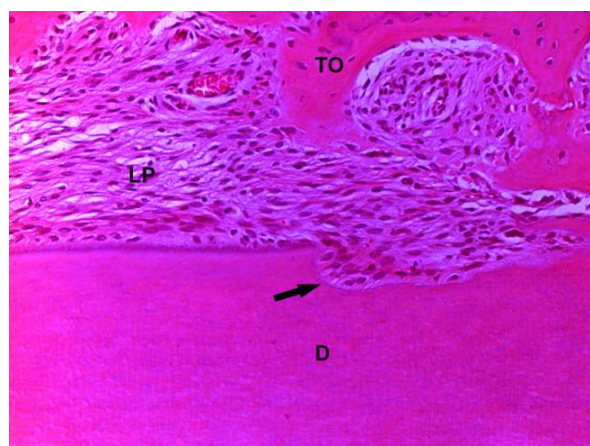


Fig. 4 - Grupo CA: Área de reabsorção do cimento e da camada superficial da dentina (seta) reparada por tecido conjuntivo fibroso. Fibras colágenas do ligamento periodontal dispostas paralelamente à superfície radicular HE. 200x.

Grupos PNX-M e M: Em 3 espécimes do grupo M, a inserção epitelial estava localizada abaixo do limite amelocementário, sem, no entanto, alcançar o terço médio da raiz (Fig. 5). De forma semelhante aos grupos anteriores (tabela 1), o tecido conjuntivo fibroso próximo à inserção epitelial apresentou pequenas extensões de infiltrado inflamatório crônico moderado. Isso foi observado em 7 espécimes de cada grupo. Nos demais, o infiltrado era leve ou ausente. Pequenas extensões com infiltrado inflamatório agudo foram encontradas em 4 espécimes de cada grupo. O ligamento periodontal de ambos os grupos apresentou as mesmas características histológicas que os grupos anteriores (Fig. 6) (tabela 2 e 3). Sua extensão foi superior a 60% da superfície radicular em 4 espécimes do grupo PNX-M e em 3 do grupo M. Nesse tecido, infiltrado inflamatório crônico moderado foi encontrado em pequenas extensões de 4 espécimes do grupo PNX-M e em 7 do grupo M. Já o infiltrado inflamatório agudo ocupava pequenas extensões de 3 espécime do grupo PNX-M e 6 do grupo M. Áreas de reabsorção radicular foram encontradas em 7 espécimes do grupo PNX-M e em 6 espécimes do grupo M. Em 3 espécimes do grupo PNX-M essas áreas comprometiam mais de 37% da área analisada, enquanto nos espécimes do grupo M, foram inferiores a 11% . Quando comparado aos demais grupos, o grupo PNX-M teve maior comprometimento do que os grupos PNX-CA e CA ($p < 0,05$). Quando analisado somente a reabsorção inflamatória, observou-se que ela foi superior no grupo PNX-M quando comparado ao grupo PNX-CA e CA ($p < 0,05$), (Fig. 7) (tabela 4). Áreas de reabsorção por substituição foram observadas em 4 espécimes do grupo PNX-M e em 6 espécimes do grupo CA. Em ambos os grupos comprometiam menos de 13% da área analisada (Fig 8).



Fig. 5 - Grupo M: Inserção epitelial da gengiva marginal localizada abaixo da crista óssea alveolar (TO), no terço cervical da raiz HE 25x.



Fig. 6 - Grupo M: Ligamento periodontal (LP) com fibras colágenas dispostas de forma desorganizada. Clastos junto à área de reabsorção da camada superficial da dentina (seta) HE. 100x.

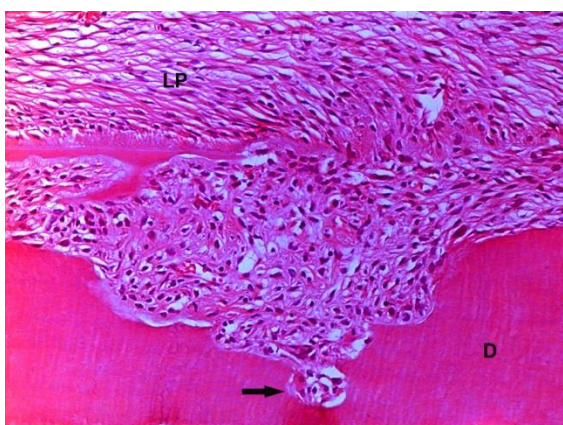


Fig. 7 - Grupo PNx-M: Área de reabsorção inflamatória comprometendo porção mais profunda da dentina com a presença de clastos (seta). Presença de infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo adjacente à dentina reabsorvida. HE. 200x.

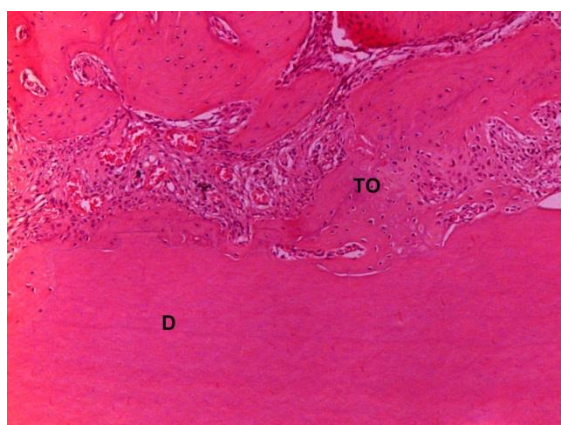


Fig. 8 - Grupo PNx- M: Tecido ósseo alveolar (TO) ocupando o espaço do ligamento periodontal (LP) e reparando a área reabsorvida da dentina, caracterizando a reabsorção por substituição HE 100x.

Tabela 1- Frequência dos escores das características histológicas consideradas para a inserção epitelial. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para análise estatística ($p < 0,05$). O teste de Dunn foi utilizado para comparações entre os grupos.

Escore	Localização				Inflamação crônica				Inflamação crônica				Inflamação aguda				Inflamação aguda			
					Intensidade				Extensão				Intensidade				Extensão			
	PNX-M	PNX-CA	M	CA	PNX-M	PNX-CA	M	CA	PNX-M	PNX-CA	M	CA	PNX-M	PNX-CA	M	CA	PNX-M	PNX-CA	M	CA
1	5/8	7/8	5/10	8/9	1/8	1/8	3/10	0/9	2/8	2/8	4/10	2/9	4/8	5/8	6/10	9/9	5/8	6/8	8/10	9/9
2	3/8	1/8	4/10	1/9	6/8	3/8	1/10	4/9	4/8	4/8	3/10	7/9	3/8	1/8	3/10	0/9	3/8	2/8	1/10	0/9
3	0/8	0/8	1/10	0/9	1/8	3/8	6/10	5/9	2/8	2/8	3/10	0/9	1/8	2/8	1/10	0/9	2/8	0/8	1/10	0/9
4	0/8	0/8	0/10	0/9	0/8	1/8	0/10	0/9	0/8	0/8	0/10	0/9	0/8	0/8	0/10	0/9	0/8	0/8	0/10	0/9
*	a	a	a	A	a	a	a	A	A	a	a	A	a	a	A	A	a	A	a	a

Tabela 2- Frequência dos escores das características histológicas consideradas para o ligamento periodontal. Foi utilizado o teste de Kruskal-Wallis para a análise estatística ($p < 0,05$). O teste de Dunn foi utilizado para comparações entre os grupos.

Escore	Inflamação crônica				Inflamação crônica				Inflamação aguda				Inflamação aguda			
	Intensidade				Extensão				Intensidade				Extensão			
	PNX-M	PNX-CA	M	CA	PNX-M	PNX-CA	M	CA	PNX-M	PNX-CA	M	CA	PNX-M	PNX-CA	M	CA
1	1/8	0/8	0/10	0/9	3/8	1/8	2/10	0/9	5/8	2/8	2/10	4/9	5/8	6/8	3/10	6/9
2	3/8	2/8	3/10	5/9	2/8	4/8	3/10	7/9	3/8	3/8	2/10	3/9	2/8	2/8	7/10	3/9
3	4/8	6/8	7/10	4/9	3/8	3/8	5/10	2/9	0/8	3/8	6/10	0/9	1/8	0/8	0/10	0/9
4	0/8	0/8	0/10	0/9	0/8	0/8	0/10	0/9	0/8	0/8	0/10	2/9	0/8	0/8	0/10	0/9
*	a	a	a	A	a	a	a	a	a	A	a	a	A	a	a	A

Tabela 3 - Média em porcentagem e desvio padrão da extensão de ligamento periodontal (LP) e anquilose (A) nos grupos estudados.

Evento	PNX-M	PNX-CA	M	CA	Valor de p
LP	53,24 ($\pm 18,29$)a	62,65 ($\pm 19,92$)a	52,58 ($\pm 13,67$)a	67,87 ($\pm 21,98$)a	0,1552
A	7,16 ($\pm 13,45$)a	10,26 ($\pm 16,6$)a	10,02 ($\pm 11,8$)a	7,88 ($\pm 6,61$)a	0,8172
n	8	8	10	9	

Teste de Dunn para comparação entre os grupos. *Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. n (número de espécimes por grupo).

Tabela 4 - Média em porcentagem e desvio padrão das áreas de reabsorção inflamatória (RI), reabsorção por substituição (RS) e reabsorção total (RT) nos grupos estudados.

Evento	PNX-M	PNX-CA	M	CA	Valor de p
RI	24,3 (\pm 25,28)a	0,35(\pm 0,68)b	3,58 (\pm 4,07)ab	0,62(\pm 1,23)b	0,0068*
RS	4,02(\pm 5,35)a	0,31(\pm 0,65)a	0,69 (\pm 1,59)a	0,07 (\pm 23)a	0,1554
RT	26,1(\pm 24,14)a	0,66(\pm 0,8)b	4,28(\pm 4,24)ab	0,7(\pm 1,21)b	0,0019*
n	8	8	10	9	

Teste de Dunn para comparação entre os grupos. *Letras diferentes indicam diferença estatisticamente significativa. n (número de espécimes por grupo).

Discussão

DISCUSSÃO

Nesse estudo, optou-se pelo rato como modelo animal por ser possível a realização do reimplante dentário²⁸ e também por permitir a remoção da glândula pineal para a supressão da melatonina.^{28, 29} O rato é um animal de pequeno porte, de fácil manipulação e onde se consegue um padrão de peso e tamanho. Mesmo considerando as diferenças no reparo desses animais em relação aos seres humanos, os resultados desses estudos são aceitos.²⁹⁻³¹

Os dentes extraídos foram mantidos por um período extrabucal de 20 minutos por conta da necessidade de realizar o tratamento endodôntico. Neste período os danos ao ligamento periodontal são parciais sendo possível analisar a influência da melatonina no reparo do dente reimplantado. Períodos superiores a 60 minutos em meio seco resultam em grande destruição do ligamento periodontal, redução significativa da capacidade de reparo, com grande ocorrência de reabsorção radicular tornando difícil a análise do tratamento.^{7,16} No reimplante imediato onde o período extrabucal é inferior a 5 minutos, o tratamento endodôntico é realizado posteriormente e o reparo do ligamento periodontal geralmente tende a ser favorável, dispensando tratamentos,¹⁶ o que também poderia dificultar uma análise adequada. Apesar de ideal, o reimplante imediato é pouco comum na prática clínica por conta da falta de conhecimento da população sobre a sua execução, receio em manipular uma área lesada, necessidade de se protelar o reimplante por conta do risco de vida do paciente nos casos de acidentes de maior risco. Tal quadro reforça a necessidade de se estudar novas estratégias que possam melhorar o reparo do dente reimplantado em condições desfavoráveis.

Uma das formas de tratamento de um dente reimplantado visando a melhora no reparo é por meio da aplicação direta das drogas na superfície radicular. Outra forma seria por meio do conduto radicular.^{14,16} Na primeira condição existe o contato direto da droga com o ligamento periodontal. No tratamento por meio do conduto radicular com o emprego de curativos, espera-se que a droga seja difundida pelos túbulos dentinários para a superfície radicular para entrar em contato com o ligamento periodontal.^{32,33} Essa forma de tratamento possibilitaria uma ação prolongada da droga uma vez que o conduto radicular serviria como seu reservatório, podendo agir em períodos posteriores do reparo, quando não é possível o tratamento de superfície. Numa terapia endodôntica convencional a região periapical constitui no principal alvo do tratamento,^{34,35} enquanto no dente traumatizado existe também o comprometimento do ligamento periodontal e a ação na superfície radicular se torna importante. Alguns estudos já demonstraram a efetividade dessa forma de tratamento em dentes reimplantados.^{32,36}

Neste estudo, os resultados demonstraram que em animais submetidos à pinealectomia, o curativo de melatonina foi menos efetivo do que o curativo de corticosteroide e antibiótico ao reparo dos dentes reimplantados. Os espécimes do grupo PNX-M apresentaram maior comprometimento pela reabsorção radicular, particularmente pela reabsorção inflamatória.

A contaminação do ligamento periodontal após avulsão foi demonstrada em alguns estudos e tem se constituído em um dos principais fatores para o desenvolvimento da reabsorção inflamatória. A exposição do alvéolo e da superfície radicular à saliva e a manipulação do dente após a avulsão contribuem para isso.^{37,38} Além disso, o dano mecânico à superfície radicular decorrente do trauma ou até mesmo do movimento para exodontia também lesaria suas fibras e representaria outro inconveniente ao reparo.³⁸ Em

tais condições a associação do corticosteroide e antibiótico tem se mostrado efetiva como curativo endodôntico.¹⁶ Sua ação antiinflamatória e antimicrobiana contribuiria para o controle da contaminação e da inflamação do ligamento periodontal.^{40, 41}

Houve diferença significativa entre os grupos M e PNX-M. Esse resultado sugere que, nos animais em que a glândula pineal não foi removida, a melatonina exógena pode proporcionar efeito favorável ao processo de reparo.

A literatura demonstra que a melatonina exógena, quando empregada em diferentes condições, apresenta uma série de propriedades que poderiam beneficiar o reparo de um dente reimplantado. Tem sido observado que a melatonina inibe as enzimas ciclooxigenases, ligando-se aos sítios ativos de COX-1 e COX-2, atuando como inibidor endógeno da inflamação.⁴² A melatonina também suprime fortemente a interleucina-6 induzida por lipopolissacarídeo em macrófagos.⁴³ Sua ação antioxidante também teria grande importância no reparo do periodonto. A melatonina pode reduzir a resposta inflamatória na gengiva e periodonto, contribuindo para a preservação e promoção do crescimento ósseo alveolar.⁴⁴ A melatonina também seria capaz de promover a redução dos níveis de óxido nítrico e do ânion peróxido nítrico, por inibir a ativação de óxido nítrico sintetase induzível.⁴³ A melatonina apresentaria também, *in vitro*, ação bactericida para microorganismos gram negativos.⁴⁵

Os benefícios da melatonina também foram observados quando utilizada na forma tópica. Resultados favoráveis foram observados utilizando melatonina sobre a superfície de implantes favorecendo a osseointegração.⁴⁶ Observou-se a diminuição da reabsorção óssea após a aplicação da melatonina em enxertos para obtenção de leito para implantes.⁴⁷ O reparo alveolar foi favorecido com o uso tópico de 2 mg de melatonina após exodontia. O reparo seria favorecido por meio da redução das complicações causadas pelo estresse oxidativo. A ação direta da melatonina como agente antioxidante se daria durante sua metabolização, a

qual ocorreria com o consumo de radicais livres e esta ação seria complementada indiretamente com a estimulação de enzimas antioxidantes como: glutatona peroxidase, redutase, superóxido dismutase e catalase.²⁴ O uso tópico de um gel de 5mg de melatonina favoreceu a cicatrização de feridas cutâneas em pele de ratos.⁴⁸ A aplicação tópica de melatonina (creme oralbase a 1%) por 20 dias em pacientes diabéticos com periodontite promoveu a redução nas medidas de profundidade de bolsa e níveis de inflamação gengival.⁴⁹

Assim, considerando as propriedades da melatonina, é possível que a pinealectomia tenha influenciado os resultados encontrados no grupo PNX-M. Estudos demonstram que em ratos, a deficiência da melatonina resultante da pinealectomia influenciaria significativamente o ciclo circadiano do metabolismo ósseo. Envolveria o hormônio calcitrocófico, o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-I), corticosteróides e a concentração do T3⁵⁰, levaria a um comprometimento do sistema imune, com influência no baço, timo e células de defesa.⁵¹ Poderia levar também a um atraso no reparo de feridas cutâneas pelo stress oxidativo e pela deficiência na formação de colágeno.⁴⁸ Em alguns casos, esse quadro pode ser revertido por meio da suplementação desta droga.^{26,51} Em estudo prévio, foi observada a redução na ocorrência de reabsorção inflamatória, reabsorção total além de maior extensão de ligamento periodontal em reimplante dentário em ratos com suplementação sistêmica com melatonina.²⁶

No entanto, isso não foi observado no grupo PNX-M onde o curativo foi empregado. Nesse caso, a falta de efetividade poderia estar relacionada ao preparo e a forma de ação do curativo de canal. Na sua obtenção, o tipo de veículo deve ser adequado para permitir a difusão da droga pelos canalículos dentinários.⁵² A carboximetilcelulose constitui uma das indicações para esse fim⁵² e os resultados encontrados no grupo M demonstraram isso. Para

Bulbulla *et al.*⁵³ além do tipo de tecido onde será empregado, um dos aspectos a ser observado no uso da melatonina exógena é a sua concentração. Assim, é possível que uma concentração maior da droga poderia levar a resultados mais satisfatórios, tendo em vista que seu nível sistêmico estaria diminuído. A necessidade de atravessar os túbulos dentinários para alcançar a superfície radicular representaria também uma dificuldade adicional. Como a reabsorção inflamatória tem início aos 7 dias após o replante, sua ação não ocorreria em momento adequado. O aumento da concentração poderia minimizar esse inconveniente. Tais suposições demandariam novos estudos para confirmação.

Conclusão

CONCLUSÃO

Considerando a metodologia empregada neste estudo pode-se concluir que o curativo endodôntico com melatonina a 3% proporcionou reparo semelhante ao do curativo com corticosteroide antibiótico nos dentes reimplantados em animais não pinealectomizados. Nos animais pinealectomizados o curativo com a melatonina a 3% foi menos efetivo no controle da reabsorção radicular, principalmente a reabsorção inflamatória.

Referências

REFERÊNCIAS

1. Panzarini SR, Sonoda CK, Saito CT, Hamanaka EF, Poi WR. Delayed tooth replantation: MTA as root canal filling. *Braz Oral Res.* 2014;28:1-7.
2. dos Santos CL, Sonoda CK, Poi WR, Panzarini SR, Sundefeld ML, Negri MR. Delayed replantation of rat teeth after use of reconstituted powdered milk as a storage medium. *Dent Traumatol.* 2009 Feb;25(1):51-7.
3. Andreasen JO. Challenges in clinical dental traumatology. *Endod Dent Traumatol.* 1985 Apr;1(2):45-55.
4. Proye MP, Polson AM. Repair in different zones of the periodontium after tooth reimplantation. *J Periodontol.* 1982 Jun;53(6):379-89.
5. Andreasen JO. Effect of extra-alveolar period and storage media upon periodontal and pulpal healing after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *Int J Oral Surg.* 1981 Feb;10(1):43-53.
6. Andreasen JO. Relationship between surface and inflammatory resorption and changes in the pulp after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod.* 1981 Jul;7(7):294-301.
7. Andreasen JO, Kristerson L. The effect of limited drying or removal of the periodontal ligament. Periodontal healing after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *Acta Odontol Scand.* 1981;39(1):1-13.
8. Andreasen JO. A time related study of periodontal healing and root resorption activity after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *Swed Dent J* 1980;4:101-10.

9. Andreasen JO. Effect of extra alveolar period and storage media upon periodontal and pulpal health after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *Int J Oral Surg* 1981;10:43-53.
10. Andreasen JO, Andreasen FM, Andersson L. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth. 4th ed. Oxford: Blackwell; 2007, 770p.
11. Trope M. Clinical management of the avulsed tooth: present strategies and future directions. *Dent Traumatol* 2002;18:1-11.
12. Loe H, Waerhaug J. Experimental replantation of teeth in dogs and monkeys. *Arch Oral Biol*. 1961 Apr;3:176-84.
13. Hammarström L, Blomlöf L, Feiglin B, Andersson L, Lindskog S. Replantation of teeth and antibiotic treatment. *Endod Dent Traumatol*. 1986 Apr;2(2):51-7.
14. Andreasen JO. The effect of pulp extirpation or root canal treatment on periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod*. 1981 Jun;7(6):245-52.
15. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 1. Diagnosis of healing complications. *Endod Dent Traumatol*. 1995 Apr;11(2):51-8.
16. Flores MT, Andersson L, Andreasen JO, Bakland LK, Malmgren B, Barnett F, Bourguignon C, DiAngelis A, Hicks L, Sigurdsson A, Trope M, Tsukiboshi M, von Arx T; International Association of Dental Traumatology. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. II. Avulsion of permanent teeth. *Dent Traumatol*. 2007 Jun;23(3):130-6.

17. Sack RL, Lewy AJ. Melatonin as a chronobiotic: treatment of circadian desynchrony in night workers and the blind. *J Biol Rhythms*. 1997 Dec;12(6):595-603.
18. Gooley JJ. Treatment of circadian rhythm sleep disorders with light. *Ann Acad Med Singapore*. 2008 Aug;37(8):669-76.
19. Pandi-Perumal SR, Srinivasan V, Maestroni GJ, Cardinali DP, Poeggeler B, Hardeland R. Melatonin: Nature's most versatile biological signal? *FEBS J*. 2006 Jul;273(13):2813-38.
20. Lima FB, Matsushita DH, Hell NS, Dolnikoff MS, Okamoto MM, Cipolla Neto J. The regulation of insulin action in isolated adipocytes. Role of the periodicity of food intake, time of day and melatonin. *Braz J Med Biol Res*. 1994 Apr;27(4):995-1000.
21. Lima FB, Machado UF, Bartol I, Seraphim PM, Sumida DH, Moraes SM, Hell NS, Okamoto MM, Saad MJ, Carvalho CR, Cipolla-Neto J. Pinealectomy causes glucose intolerance and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. *Am J Physiol*. 1998 Dec;275(6 Pt 1):E934-41.
22. Cutando A, Gómez-Moreno G, Arana C, Acuña-Castroviejo D, Reiter RJ. Melatonin: potential functions in the oral cavity. *J Periodontol*. 2007 Jun;78(6):1094-102.
23. Virto L, Cano P, Jiménez-Ortega V, Fernández-Mateos P, González J, Haugen HJ, Esquifino AI, Sanz M. Melatonin as adjunctive therapy in the treatment of periodontitis Associated with obesity. *J Clin Periodontol*. 2018 Nov; 45(11): 1336-1346.
24. Cutando A, Arana C, Gómez-Moreno G, Escames G, López A, Ferrera MJ, Reiter RJ, Acuña-Castroviejo D. Local application of melatonin into alveolar sockets of beagle dogs reduces tooth removal-induced oxidative stress. *J Periodontol*. 2007 Mar;78(3):576-83.

25. Cutando A, Gómez-Moreno G, Villalba J, Ferrera MJ, Escames G, Acuña-Castroviejo D. Relationship between salivary melatonin levels and periodontal status in diabetic patients. *J Pineal Res.* 2003 Nov;35(4):239-44.
26. Dias Ribeiro, E. Efeito da reposição com melatonina no processo de reparo após reimplante dentário em ratos pinealectomizados: Análise histomorfométrica. Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Araçatuba. P.77. 2015.
27. Corrêa APS, Ferreira PHS, Panzarini SR, Sonoda CK, Caliente EA, Poi WR. Histomorphometric analysis of the healing process after the replantation of rat teeth maintained in bovine milk whey and whole milk. *Dent Traumatol.* 2017 Dec;33(6):472-481.
28. Esteves JC, Marão HF, Silva PIS, Poi WR, Panzarini SR, Aranega AM, Ribeiro ED, Sonoda CK. Delayed tooth replantation following root canal filling with calcium hydroxide and MTA: Histomorphometric study in rats. *Arch Oral Biol.* 2015 Sep;60(9):1254-62.
29. Lima FB, Machado UF, Bartol I, Seraphim PM, Sumida DH, Moraes SM, Hell NS, Okamoto MM, Saad MJ, Carvalho CR, Cipolla-Neto J. Pinealectomy causes glucose intolerance and decreases adipose cell responsiveness to insulin in rats. *Am J Physiol.* 1998 Dec;275(6 Pt 1):E934-41.
30. Maganhin CC, Simões RS, Fuchs LF, Oliveira-Filho RM, Simões Mde J, Evêncio Neto J, Baracat EC, Soares JM Jr. Rat pinealectomy: a modified direct visual approach. *Acta Cir Bras.* 2009 Jul-Aug;24(4):321-4.
31. Ricieri CB, Sonoda CK, Aranega AM, Panzarini SR, Poi WR, Sundefeld ML, Okamoto T. Healing process of incisor teeth of diabetic rats replanted after storage in milk. *Dent Traumatol.* 2009 Jun;25(3):284-9.

32. Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endod* 1981;7:17–21.
33. Lengheden A, Blomlof L, Lindskog S. Effect of immediate calcium hydroxide treatment and permanent root-filling on periodontal healing in contaminated replanted teeth. *Scand J Dent Res* 1991; 99:139–46.
34. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Júnior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J* 1995; 6:85–90.
35. 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
36. Mori GG, Garcia RB, Moraes IG. Morphometric and microscopic evaluation of the effect of solution of acetazolamide as an intracanal therapeutic agent in late replantation rat teeth. *Dent Traumatol* 2006; 22:36–40.
37. Nishioka M, Shiiya T, Ueno K, Suda H. Tooth replantation in germ-free and conventional rats. *Endod Dent Traumatol* 1998;14:163–73
38. Blomlöf, L.; Lindskog, S.; Hammarström, L. Periodontal healing of exarticulated monkey teeth stored in milk or saliva. *Scand. J. Dent. Res.*, Copenhagen, v. 89, n. 3, p. 251-259, Jun. 1981.
39. Andreasen, J. O. Analysis of topography of surface and inflammatory root resorption after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *Swed. Dent. J.*, v. 4, n. 4, p. 135-144, 1980.

40. Bryson EC, Levin L, Banchs F, Abbott PV, Trope M. Effect of immediate intracanal placement of Ledermix Paste(R) on healing of replanted dog teeth after extended dry times. *Dent Traumatol.* 2002 Dec;18(6):316-21.
41. Chen H, Teixeira FB, Ritter AL, Levin L, Trope M. The effect of intracanal anti-inflammatory medicaments on external root resorption of replanted dog teeth after extended extra-oral dry time. *Dent Traumatol.* 2008 Feb;24(1):74-8.
42. de la Rocha N, Rotelli A, Aguilar CF, Pelzer L. Structural basis of the anti-inflammatory activity of melatonin. *Arzneimittelforschung.* 2007;57(12):782-6.
43. Choi EY, Jin JY, Lee JY, Choi JI, Choi IS, Kim SJ. Melatonin inhibits *Prevotella intermedia* lipopolysaccharide-induced production of nitric oxide and interleukin-6 in murine macrophages by suppressing NF- κ B and STAT1 activity. *J Pineal Res.* 2011 Mar;50(2):197-206.
44. Reiter RJ, Rosales-Corral SA, Liu XY, Acuna-Castroviejo D, Escames G, Tan DX. Melatonin in the oral cavity: physiological and pathological implications. *J Periodontal Res.* 2015 Feb;50(1):9-17.
45. Tekbas OF, Ogur R, Korkmaz A, Kilic A, Reiter RJ. Melatonin as an antibiotic: new insights into the actions of this ubiquitous molecule. *J Pineal Res.* 2008 Mar;44(2):222-6.
46. Guardia J; Gómez-Moreno G; Ferrera MJ; Cutando A, Evaluation of effects of topic melatonin on implant surface at 5 and 8 weeks in beagle dog. *Clinical Implant Dentistry and Related Research*, Volume 13, Number 4, 2011
47. Hazzaa HHA, El-Kilani NS, Elsayed SA, Abd El Massieh PM. Evaluation of Immediate Implants Augmented with Autogenous Bone/Melatonin Composite Graft in the Esthetic Zone: A Randomized Controlled Trial. *J Prosthodont.* 2019 Feb;28(2):e637-e642.

48. Ozler M, Simsek K, Ozkan C, Akgul EO, Topal T, Oter S, Korkmaz A. Comparison of the effect of topical and systemic melatonin administration on delayed wound healing in rats that underwent pinealectomy. *Scand J Clin Lab Invest*. 2010 Oct;70(6):447-52.
49. Montero, J., Lopez-Valverde, N., Ferrera, M. J., & Lopez-Valverde, A. (2017). Changes in crevicular cytokines after application of melatonin in patients with periodontal disease. *Journal of Clinical and Experimental Dentistry*, 9, e1081–e1087.
50. Ostrowska Z, Kos-Kudla B, Nowak M, Swietochowska E, Marek B, Gorski J, Kajdaniuk D, Wolkowska K. The relationship between bone metabolism, melatonin and other hormones in sham-operated and pinealectomized rats. *Endocr Regul*. 2003 Dec;37(4):211-24.
51. Carrillo-Vico A, Guerrero JM, Lardone PJ and Reiter RJ. A Review of the Multiple Actions of Melatonin on the Immune System. *Endocrine*, vol. 27, no. 2, 189–200, July 2005
52. Fava LRG, Saunders WP. Calcium hydroxide pastes: classification and clinical indications (Review). *International Endodontic Journal*, 32, 257±282, 1999.
- 53- Bulbuller N, Dogru O, Yekeler H, Cetinkaya Z, Ilhan N, and Kirkil C. Effect of melatonin on wound healing in normal and pinealectomized rats. *Journal of Surgical Research* 123, 3–7 (2005)

ANEXO A – Certificado do Comitê de Ética no Uso de Animais.



**UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"**



**CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA**

**CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
CEUA - Ethics Committee on the Use of Animals**

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Uso tópico da melatonina no reimplante dentário. Estudo histométrico em ratos"**, Processo FOA nº 00434-2018, sob responsabilidade de Celso Koogi Sonoda apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 20 de Julho de 2018.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 21 de Novembro de 2019.

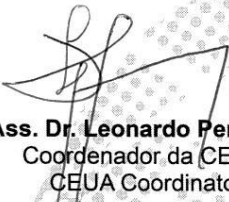
DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 21 de Dezembro de 2019.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Topical use of melatonin in tooth replantation. Histometric study on rat"**, Protocol FOA nº 00434-2018, under the supervision of Celso Koogi Sonoda presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on July 20, 2018.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: November 21, 2019.

DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: December 21, 2019.


Prof. Ass. Dr. Leonardo Perez Faverani
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

CEUA - Comissão de Ética no Uso de Animais
Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Faculdade de Medicina Veterinária de Araçatuba
Rua José Bonifácio, 1193 – Vila Mendonça - CEP: 16015-050 – ARAÇATUBA – SP
Fone (18) 3636-3234 Email CEUA: ceua@foa.unesp.br

ANEXO B – Normas para publicação do periódico “Dental Traumatology”.

Dental Traumatology

Author Guidelines

Sections: 1. Submission; 2. Aims and Scope; 3. Manuscript Categories and Requirements; 4. Preparing the Submission; 5. Editorial Policies and Ethical Considerations; 6. Author Licensing; 7. Publication Process After Acceptance; 8. Post Publication; 9. Editorial Office Contact Details

1. SUBMISSION

Authors should kindly note that submission implies that the content has not been published or submitted for publication elsewhere except as a brief abstract in the proceedings of a scientific meeting or symposium.

Data protection

By submitting a manuscript to or reviewing for this publication, your name, email address, and affiliation, and other contact details the publication might require, will be used for the regular operations of the publication, including, when necessary, sharing with the publisher (Wiley) and partners for production and publication. The publication and the publisher

recognize the importance of protecting the personal information collected from users in the operation of these services, and have practices in place to ensure that steps are taken to maintain the security, integrity, and privacy of the personal data collected and processed.

2. AIMS AND SCOPE

Dental Traumatology is an international peer-reviewed 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 or techniques, Letters to the Editor and case reports. The journal focuses on the following areas *as they relate to dental trauma*:

- Epidemiology and Social Aspects
- Periodontal and Soft Tissue Aspects
- Endodontic Aspects
- Pediatric and Orthodontic Aspects
- Oral and Maxillofacial Surgery / Transplants/ Implants
- Esthetics / Restorations / Prosthetic Aspects
- Prevention and Sports Dentistry
- Epidemiology, Social Aspects, Education and Diagnostic Aspects.

3. MANUSCRIPT CATEGORIES AND REQUIREMENTS

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, Periodontal and Soft Tissue Aspects, Endodontic Aspects, Pediatric and Orthodontic Aspects, Oral and Maxillofacial Surgery/Transplants/Implants, Esthetics/Restorations/Prosthetic Aspects, Prevention and Sports Dentistry, Epidemiology, Social Aspects, Education and Diagnostic Aspects.

Review Papers: *Dental Traumatology* commissions specific topical review papers and mini reviews of small areas of interest. 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 submission. Comprehensive review articles should include a description of the search strategy of the relevant literature, the inclusion criteria, exclusion criteria, method for evaluation of papers, level of evidence, etc.

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

Case Reports: Dental Traumatology may accept Case Reports that illustrate unusual and clinically relevant observations or management. Case reports should demonstrate something new or unique, and they should not present common clinical scenarios. Case reports should be kept brief (within 3-4 printed pages) and need not follow the usual division into Material

and Methods etc. There should be an Abstract written as a short paragraph. The Abstract should not be structured with specific sections (i.e. do not use aims, methods, results, conclusions). The Introduction should be kept short. Thereafter the case is described followed by a short Discussion. Case reports should have adequate follow-up to demonstrate the outcome of the treatment provided or the long-term prognosis of the presented problem. Typically, cases with treatment should have at least 4-5 years follow-up radiographs, photographs, etc. to show the outcome. Case reports are subject to peer review.

Short Communications of 1-2 pages may be accepted for 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 high scientific and high clinical practice standards. Short communications are subject to peer review.

Letters to the Editor may be considered for publication if they are of broad interest to dental traumatology. They may deal with material in papers already published in Dental Traumatology or they may raise new issues, but they should have important implications for dental traumatology.

Meetings: advance information about and reports from international meetings are welcome, but should not be submitted via the online submission site – these should be sent directly to the Editorial Office: **EDToffice@wiley.com**

4. PREPARING THE SUBMISSION

Cover Letters

Cover letters are not mandatory; however, they may be supplied at the author's discretion.

Parts of the Manuscript

The manuscript should be submitted in separate files: title page; main text file; figures.

Title Page

The title page should contain:

1. A short informative title containing the major key words. The title should not contain abbreviations (see Wiley's best practice SEO tips) and should not be a question about the aim. The title should not be a statement of the results or conclusions;
2. A short running title of less than 60 characters;
3. The full names of the authors;
4. The author's institutional affiliations where the work was conducted, with a footnote for the author's present address if different from where the work was conducted;
5. Acknowledgments.

Authorship

Please refer to the journal's authorship policy the **Editorial Policies and Ethical Considerations section** for details on eligibility for author listing.

Acknowledgments

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section. Financial and material support should also be mentioned. Thanks to anonymous reviewers are not appropriate.

Conflict of Interest Statement

Authors will be asked to provide a conflict of interest statement during the submission process. For details on what to include in this section, see the section 'Conflict of Interest' in the **Editorial Policies and Ethical Considerations section** below. Submitting authors should ensure they liaise with all co-authors to confirm agreement with the final statement.

Main Text File

As papers are double-blind peer reviewed, the main text file should not include any information that might identify the authors.

The main text file should be presented in the following order:

1. Title, abstract, and key words;
2. Main text;
3. References;
4. Tables (each table complete with title and footnotes);
5. Figure legends.

Do not use any sub-headings within the above sections.

The text in the main document should be double-spaced.

Figures and supporting information should be supplied as separate files.

Abstract

The 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 a brief background statement plus the essential purpose and message of the paper in an abbreviated form. For Original Scientific Articles, the abstract should be structured with the following headings: Background/Aim, Material and Methods, Results, and Conclusions. For other article types (e.g. Case Reports, Reviews Papers, Short Communications) headings are not required and the Abstract should be in the form of a paragraph that briefly summarizes the paper.

Keywords

Please provide 3-6 keywords. Keywords should be carefully chosen to ensure they reflect the content of the manuscript.

Main Text of Original Articles

- As papers are double-blind peer reviewed, the main text file should not include any information that might identify the authors.
- The main text should be divided into the following sections: Introduction, Material and Methods, Results and Discussion.

- **Introduction:** This section should be focused, outlining the historical or logical origins of the study. It should not summarize the results and 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 an explicit, but brief, statement of the specific aims of the investigation or hypothesis tested. Do not include details of the methods in the statement of the aims.
- **Materials and Methods:** This section 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 modified methods. Identify precisely all drugs used by their generic names and route of administration. If a method or tool is introduced in the study, including software, questionnaires, and scales, the author should state the license this is available under and any requirement for permission for use. If an existing method or tool is used in the research, the authors are responsible for checking the license and obtaining the permission. If permission was required, a statement confirming permission should be included in the Methods and Materials section.
- **Results** should clearly and simply present the observations/results without reference to other literature and without any interpretation of the data. Present

the results in a 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** usually starts with a brief summary of the major findings. Repetition of parts of the Introduction or of the Results sections should be avoided. Statements and interpretation of the data should be appropriately supported by original references. A comment on the potential clinical relevance of the findings should be included. The Discussion section should end with a brief conclusion, but the conclusion should not be a repeat of the results and it should not extrapolate beyond the findings of the study. Link the conclusions to the aim of the study. Do not use sub-headings in the Discussion section, The Discussion should flow from one paragraph to the next in a cohesive and logical manner.

Main Text of Review Articles

- As papers are double-blind peer reviewed, the main text file should not include any information that might identify the authors.
- The main text should comprise an introduction and a running text structured in a suitable way according to the subject treated. A final section with conclusions may be added.
- The main text should be double-spaced.

References

All references should be numbered consecutively in order of appearance and should be as complete as possible. In text citations should be superscript numbers. Journal titles must be abbreviated; correct abbreviations may be found in the following: **MEDLINE**, **Index Medicus**, or **CalTech Library**.

Submissions are not required to reflect the precise reference formatting of the journal (use of italics, use of capital letters, bold etc.). However it is important that all key elements of each reference are included. Please see below for examples of reference content requirements.

Journal Articles

Lam R, Abbott PV, Lloyd C, Lloyd CA, Kruger E, Tennant M. Dental trauma in an Australian Rural Centre. *Dent Traumatol* 2008; 24: 663-70.

Text book chapters

Andreasen J, Andreasen F. Classification, etiology and epidemiology. IN: Andreasen JO, Andreasen FM, eds. *Textbook and Color Atlas of Traumatic Injuries to the Teeth*. 3rd Edn. Munksgaard, Copenhagen. 1994;151-80.

Thesis or Dissertation

Lauridsen, E. Dental trauma – combination injuries. Injury pattern and pulp prognosis for permanent incisors with luxation injuries and concomitant crown fractures. Denmark: The University of Copenhagen. 2011. PhD Thesis.

Corporate Author

European Society of Endodontology. Quality guidelines for endodontic treatment: consensus report of the European Society of Endodontology. *Int Endod J* 2006;39:921-30.

American Association of Endodontists. The treatment of traumatic dental injuries. Available at: URL:

‘http://www.aae.org/uploadedfiles/publications_and_research/newsletters/endodontics_colleagues_for_excellence_newsletter/ecfe_summer2014%20final.pdf’. Accessed September 2015.

Tables

Tables should be self-contained and complement, not duplicate, information contained in the text. They should be supplied as editable files, not pasted as images. Legends should be concise but comprehensive – the table, legend, and footnotes must be understandable without reference to the text. All abbreviations must be defined in footnotes. Footnote symbols: †, ‡, §, ¶, should be used (in that order) and *, **, *** should be reserved for P-values. Statistical measures such as SD or SEM should be identified in the headings.

Figure Legends

Legends should be concise but comprehensive – the figure and its legend must be understandable without reference to the text. Include definitions of any symbols used and define/explain all abbreviations and units of measurement.

Figures

Although authors are encouraged to send the highest-quality figures possible, for peer-review purposes, a wide variety of formats, sizes, and resolutions are accepted.

Click here for the basic figure requirements for figures submitted with manuscripts for initial peer review, as well as the more detailed post-acceptance figure requirements.

Color Figures. Figures submitted in color will be reproduced in colour online. Please note, however, that it is preferable that line figures (e.g. graphs and charts) are supplied in black and white so that they are legible if printed by a reader in black and white.

Data Citation

Please review **Wiley's data citation policy**.

Additional Files

Appendices

The journal does not publish material such as Appendices. They should be submitted as Figures or Tables.

Supporting Information

Supporting information is information that is not essential to the article, but provides greater depth and background. Supporting information or Appendices may be hosted online and appear without editing or typesetting. It may include tables, figures, videos, datasets, etc.

General Style Points

The following points provide general advice on formatting and style.

- **Use double spacing for all text.**
- **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 – otherwise they should not be used. The full words should be written out completely in the text when first used, followed by the abbreviation in parentheses. 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.
- As *Dental Traumatology* is an international journal with wide readership from all parts of the world, the **FDI Tooth Numbering system** MUST be used. This system uses two digits to identify teeth according to quadrant and tooth type. The first digit refers to the quadrant and the second digit refers to the tooth type – for example: tooth 11 is the maxillary right central incisor and tooth 36 is the mandibular left first molar. Alternatively, the tooth can be described in words. Other tooth numbering systems will not be accepted.
- **Numbers:** Numbers under 10 are spelt out as words, and not shown as numerals, except for: measurements with a unit (8mmol/l); age (6 weeks old), or lists with other numbers (11 dogs, 9 cats, 4 gerbils).

- **When referring to a figure**, spell the word out (e.g. Figure 2 shows the patient's injuries on initial presentation). When referring to a figure at the end of a sentence, enclose it in parentheses - e.g. *The patient's maxillary central incisor was repositioned and splinted* (Figure 5).
- **Page numbering:** 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. Hence, authors should number all of the pages consecutively at the bottom of the page.
- Scientific papers should not be written in the 1st person – that is, avoid using “we”, “our”, etc. As examples, use words such as the ‘current study’, “the results”, “samples were tested”, instead of “our study”, “our results”, “we tested”, etc.
- Care must be taken with the use of tense (usually the past tense is the most appropriate).
- Care must be taken with the use of singular and plural words.
- **Trade Names:** Chemical substances should be referred to by the generic name only. Trade names should not be used. Drugs should be referred to by their generic names. If proprietary drugs have been used in the study, refer to these by their generic name, mentioning the proprietary name and the name and location of the manufacturer in parentheses.

Reproduction of Copyright Material

If excerpts from copyrighted works owned by third parties are included, credit must be shown in the contribution. It is the author's responsibility to also obtain written permission for reproduction from the copyright owners. For more information visit Wiley's Copyright

Terms & Conditions FAQ at http://exchanges.wiley.com/authors/faqs---copyright-terms--conditions_301.html

Wiley Author Resources

Manuscript Preparation Tips: Wiley has a range of resources for authors preparing manuscripts for submission available **here**. In particular, authors may benefit from referring to Wiley's best practice tips on **Writing for Search Engine Optimization**.

Editing, Translation, and Formatting Support: **Wiley Editing Services** can greatly improve the chances of a manuscript being accepted. Offering expert help in English language editing, translation, manuscript formatting, and figure preparation, Wiley Editing Services ensures that the manuscript is ready for submission.

Video Abstracts: A video abstract can be a quick way to make the message of your research accessible to a much larger audience. Wiley and its partner Research Square offer a service of professionally produced video abstracts, available to authors of articles accepted in this journal. You can learn more about it by **clicking here**. If you have any questions, please direct them to videoabstracts@wiley.com.

5. EDITORIAL POLICIES AND ETHICAL CONSIDERATIONS

Peer Review and Acceptance

The acceptance criteria for all papers are the quality and originality of the research and its significance to journal readership. Manuscripts are double-blind peer reviewed, hence, the names of the reviewers will not be disclosed to the author(s) who have submitted the 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.

Papers will only be sent to review if the Editor-in-Chief determines that the paper meets the appropriate quality and relevance requirements.

Wiley's policy on the confidentiality of the review process is **available here**.

Appeal of Decision

The Editor-in-Chief's decision to accept, reject or require revision of a paper is final and it cannot be appealed.

Human Studies and Subjects

For manuscripts reporting studies that involve human participants, a statement identifying the ethics committee that approved the study and confirmation that the study conforms to recognized standards is required, for example: **Declaration of Helsinki; US Federal Policy for the Protection of Human Subjects; or European Medicines Agency Guidelines for Good Clinical Practice**. It should also state clearly in the text that all persons gave their informed consent prior to their inclusion in the study. These statements must be included in the Methods section of the manuscript.

Patient anonymity should be preserved. When detailed descriptions, photographs, or videos of faces or identifiable body parts are used that may allow identification, authors should

obtain the individual's free prior informed consent. Authors do not need to provide a copy of the consent form to the publisher; however, in signing the author license to publish, authors are required to confirm that consent has been obtained. Wiley has a **standard patient consent form** available for use. Where photographs are used they need to be cropped sufficiently to prevent human subjects being recognized; black eye bars should not be used as they do not sufficiently protect an individual's identity.

Animal Studies

A statement indicating that the protocol and procedures employed were ethically reviewed and approved, as well as the name of the body giving approval, must be included in the Methods section of the manuscript. Authors are encouraged to adhere to animal research reporting standards, for example the **ARRIVE guidelines** for reporting study design and statistical analysis; experimental procedures; experimental animals and housing and husbandry. Authors should also state whether experiments were performed in accordance with relevant institutional and national guidelines for the care and use of laboratory animals:

- US authors should cite compliance with the US National Research Council's Guide for the Care and Use of Laboratory Animals, the US Public Health Service's Policy on Humane Care and Use of Laboratory Animals, and Guide for the Care and Use of Laboratory Animals.
- UK authors should conform to UK legislation under the Animals (Scientific Procedures) Act 1986 Amendment Regulations (SI 2012/3039).
- European authors outside the UK should conform to Directive 2010/63/EU.

Clinical Trial Registration

The journal requires that clinical trials are prospectively registered in a publicly accessible database and clinical trial registration numbers should be included in all papers that report their results. Authors are asked to include the name of the trial register and the clinical trial registration number at the end of the abstract. If the trial is not registered, or was registered retrospectively, the reasons for this should be explained.

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.

Suppliers of materials

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

Guidelines on Publishing and Research Ethics in Journal Articles

Please review **Wiley's policies surrounding human studies, animal studies, clinical trial registration, biosecurity, and research reporting guidelines.**

Sequence Data

Nucleotide sequence data can be submitted in electronic form to any of the three major collaborative databases: DDBJ, EMBL, or GenBank. It is only necessary to submit to one database as data are exchanged between DDBJ, EMBL, and GenBank on a daily basis. The

suggested wording for referring to accession-number information is: 'These sequence data have been submitted to the DDBJ/EMBL/GenBank databases under accession number U12345'. Addresses are as follows:

- DNA Data Bank of Japan (DDBJ): www.ddbj.nig.ac.jp
- EMBL Nucleotide Archive: ebi.ac.uk/ena
- GenBank: www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank

Proteins sequence data should be submitted to either of the following repositories:

- Protein Information Resource (PIR): pir.georgetown.edu
- SWISS-PROT: expasy.ch/sprot/sprot-top

Conflict of Interest

The journal requires that all authors disclose any potential sources of conflict of interest. Any interest or relationship, financial or otherwise that might be perceived as influencing an author's objectivity is considered a potential source of conflict of interest. These must be disclosed when directly relevant or directly related to the work that the authors describe in their manuscript. Potential sources of conflict of interest include, but are not limited to: patent or stock ownership, membership of a company board of directors, membership of an advisory board or committee for a company, and consultancy for or receipt of speaker's fees from a company. The existence of a conflict of interest does not preclude publication. If the authors have no conflict of interest to declare, they must also state this at submission. It is the responsibility of the corresponding author to review this policy with all authors and

collectively to disclose with the submission ALL pertinent commercial and other relationships.

Funding

Authors should list all funding sources in the Acknowledgments section. Authors are responsible for the accuracy of their funder designation. If in doubt, please check the Open Funder Registry for the correct nomenclature: <https://www.crossref.org/services/funder-registry/>

Authorship

The list of authors should accurately illustrate who contributed to the work and how. All those listed as authors should qualify for authorship according to the following criteria:

1. Have made substantial contributions to conception and design, or acquisition of data, or analysis and interpretation of data; and
2. Been involved in drafting the manuscript or revising it critically for important intellectual content; and
3. Given final approval of the version to be published. Each author should have participated sufficiently in the work to take public responsibility for appropriate portions of the content; and
4. Agreed to be accountable for all aspects of the work in ensuring that questions related to the accuracy or integrity of any part of the work are appropriately investigated and resolved.

Contributions from anyone who does not meet the criteria for authorship should be listed, with permission from the contributor, in an Acknowledgments section (for example, to recognize contributions from people who provided technical help, collation of data, writing assistance, acquisition of funding, or a department chairperson who provided general

support). Prior to submitting the article all authors should agree on the order in which their names will be listed in the manuscript.

Additional Authorship Options. Joint first or senior authorship: In the case of joint first authorship, a footnote should be added to the author listing, e.g. ‘X and Y should be considered joint first author’ or ‘X and Y should be considered joint senior author.’

Data Sharing and Data Accessibility

The journal encourages authors to share the data and other artefacts supporting the results in the paper by archiving it in an appropriate public repository. Authors should include a data accessibility statement, including a link to the repository they have used, in order that this statement can be published alongside their paper.

Publication Ethics

This journal is a member of the **Committee on Publication Ethics (COPE)**. Note this journal uses iThenticate’s CrossCheck software to detect instances of overlapping and similar text in submitted manuscripts. Read Wiley's Top 10 Publishing Ethics Tips for Authors **here**. Wiley’s Publication Ethics Guidelines can be found **here**.

ORCID

As part of the journal’s commitment to supporting authors at every step of the publishing process, the journal requires the submitting author (only) to provide an ORCID iD when submitting a manuscript. This takes around 2 minutes to complete. **Find more information here.**

6. AUTHOR LICENSING

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author will receive an email prompting them to log in to Author Services, where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be required to complete a copyright license agreement on behalf of all authors of the paper.

Authors may choose to publish under the terms of the journal's standard copyright agreement, or **OnlineOpen** under the terms of a Creative Commons License.

General information regarding licensing and copyright is available **here**. To review the Creative Commons License options offered under OnlineOpen, please **click here**. (Note that certain funders mandate that a particular type of CC license has to be used; to check this please click **here**.)

Self-Archiving definitions and policies. Note that the journal's standard copyright agreement allows for self-archiving of different versions of the article under specific conditions. Please **click here** for more detailed information about self-archiving definitions and policies.

Open Access fees: If you choose to publish using OnlineOpen you will be charged a fee. A list of Article Publication Charges for Wiley journals is available **here**.

Funder Open Access: Please click **here** for more information on Wiley's compliance with specific Funder Open Access Policies.

7. PUBLICATION PROCESS AFTER ACCEPTANCE

Accepted article received in production

When an accepted article is received by Wiley's production team, the corresponding author will receive an email asking them to login or register with **Wiley Author Services**. The author will be asked to sign a publication license at this point.

Accepted Articles

The journal offers Wiley's Accepted Articles service for all manuscripts. This service ensures that accepted 'in press' manuscripts are published online shortly after acceptance, prior to copy-editing or typesetting. Accepted Articles are published online a few days after final acceptance and appear in PDF format only. They are given a Digital Object Identifier (DOI), which allows them to be cited and tracked and are indexed by PubMed. After the final version article is published (the article of record), the DOI remains valid and can still be used to cite and access the article.

Accepted Articles will be indexed by PubMed; submitting authors should therefore carefully check the names and affiliations of all authors provided in the cover page of the manuscript so it is accurate for indexing. Subsequently, the final copyedited and proofed articles will appear in an issue on Wiley Online Library; the link to the article in PubMed will update automatically.

Proofs

Once the paper is typeset, the author will receive an email notification with full instructions on how to provide proof corrections.

Please note that the author is responsible for all statements made in their work, including changes made during the editorial process – authors should check proofs carefully. Note that proofs should be returned within 48 hours from receipt of first proof.

Early View

The journal offers rapid speed to publication via Wiley's Early View service. **Early View** (Online Version of Record) articles are published on Wiley Online Library before inclusion in an issue. Note there may be a delay after corrections are received before the article appears online, as Editors also need to review proofs. Once the article is published on Early View, no further changes to the article are possible. The Early View article is fully citable and carries an online publication date and DOI for citations.

8. POST PUBLICATION

Access and sharing

When the article is published online:

- The author receives an email alert (if requested).
- The link to the published article can be shared through social media.
- The author will have free access to the paper (after accepting the Terms & Conditions of use, they can view the article).
- The corresponding author and co-authors can nominate up to ten colleagues to receive a publication alert and free online access to the article.

Promoting the Article

To find out how to best promote an article.

Measuring the Impact of an Article

Wiley also helps authors measure the impact of their research through specialist partnerships with **Kudos** and **Altmetric**.

Archiving Services

Portico and CLOCKSS are digital archiving/preservation services we use to ensure that Wiley content will be accessible to customers in the event of a catastrophic event such as Wiley going out of business or the platform not being accessible for a significant period of time. Member libraries participating in these services will be able to access content after such an event. Wiley has licenses with both Portico and CLOCKSS, and all journal content gets delivered to both services as it is published on Wiley Online Library. Depending on their integration mechanisms, and volume loads, there is always a delay between content being delivered and showing as “preserved” in these products.

9. EDITORIAL OFFICE CONTACT DETAILS

For queries about submissions, please contact **EDToffice@wiley.com**

Author Guidelines Updated 22 February 2019

ANEXO C – Ilustração dos Materiais e Métodos

Pinealectomia.



Fig. 9 – Calota craniana exposta (região do lambda) para acesso ao cérebro.



Fig. 10 – Osteosecção da calota por meio de broca trefina montada em baixa rotação, para remoção de fragmento ósseo.

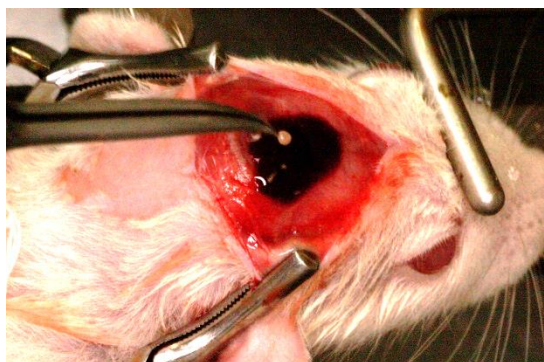


Fig. 11 – Glândula pineal sendo removida com pinça clínica após acesso ao seio venoso (região de intersecção do seio venoso sagital e transversal).

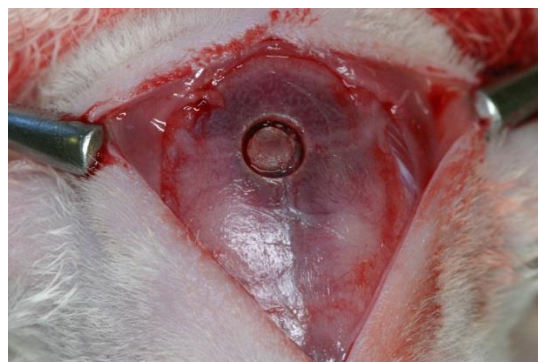


Fig. 12 – Fragmento ósseo reposicionado após a retirada da glândula pineal.



Fig. 13 – Pele suturada com fio de sutura com fio de seda e agulha montada 5-0.

Exodontia e Reimplante :



Fig. 14 – Síndesmotomia do incisivo superior direito.

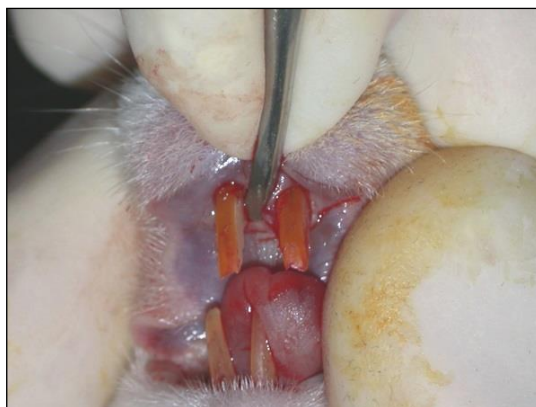


Fig. 15 – Luxação com instrumental adaptado.



Fig. 16 – Extração dentária.

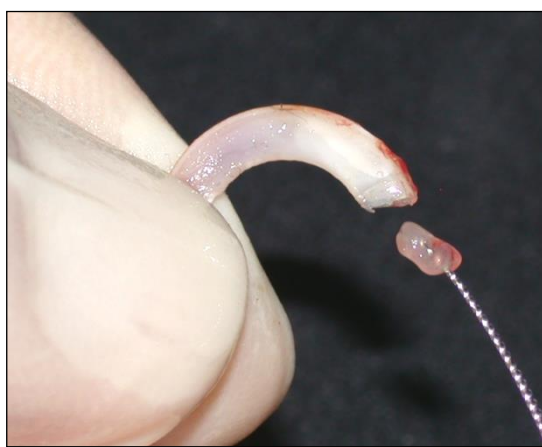


Fig. 17 – Remoção da polpa radicular por via retrógrada com auxílio de lima.



Fig. 18 – Irrigação do canal radicular com soro fisiológico.



Fig. 19 – Secagem do líquido intracanal com cone de papel absorvente.

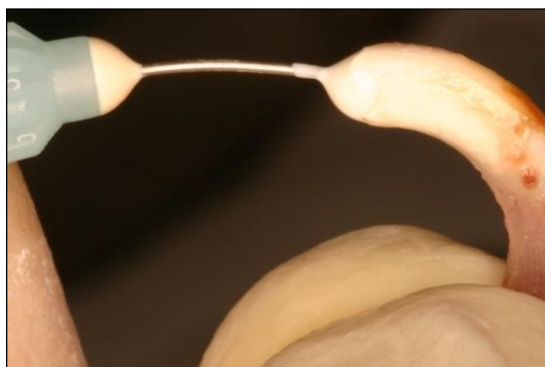


Fig. 20 – Preenchimento do canal com curativo endodôntico acondicionado em tubete.



Fig. 21 – Selamento do forame apical com MTA.



Fig. 22 – Reimplante do dente no alvéolo de origem.



Fig. 23 – Reimplante dentário concluído.