

Célia Tomiko Matida Hamata Saito

Análise da ação do laser em baixa
intensidade sobre o processo de reparo
após reimplante dentário: estudo
histomorfométrico e imunoistoquímico

Araçatuba – SP

2008

Célia Tomiko Matida Hamata Saïto

Análise da ação do laser em baixa
intensidade sobre o processo de reparo
após reimplante dentário: estudo
histomorfométrico e imunoistoquímico

Tese de Doutorado apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, para obtenção do Grau de “Doutor em Odontologia” – Área de concentração em Clínica Integrada.

Orientadora: Profa. Adjunto Sônia Regina Panzarini Barioni

Araçatuba – SP

2008

Catálogo-na-Publicação

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S158a

Saito, Célia Tomiko Matida Hamata

Análise da ação do laser em baixa intensidade sobre o processo de reparo após reimplante dentário: estudo histomorfométrico e imunoistoquímico / Célia Tomiko Matida Hamata

Saito. - Araçatuba : [s.n.], 2008

100 f. : il. ; tab.

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2008

Orientador: Profa. Dra. Sônia Regina Panzarini Barioni

1. Avulsão dentária 2. Reimplante dentário 3. Cicatrização de feridas 4. Terapia a laser de baixa intensidade 5. Terapia a laser 6. Imunoistoquímica

Black D2
CDD 617.6

Dedicatória

*Ao meu marido Ricardo e aos meus queridos
filhos, Crísthiana e Fernando,*

*Que com amor, carinho e compreensão me deram
todo suporte para realização deste trabalho.*

Agradecimentos Especiais

Aos meus pais Sataro e Nobuko,

Aos meus irmãos, Pedro, Roberto e Marcelo;

Aos meus sogros Hélio e Alice;

Aos meus cunhados Cláudia, Gláucia, Miriam,

Nobuaki, Oscar e Zilda;

Aos meus sobrinhos Amanda, Gabriela, Guilherme,

João Pedro, João Vitor, Leandro, Matheus e Rodrigo;

Pelo apoio e carinho.

À Profa. Sônia Regina Panzarini Barioni,

Agradeço o privilégio de tê-la como orientadora.

Obrigada pela orientação deste, de muitos outros trabalhos, pela amizade, pelo carinho e oportunidade de trabalhar numa área que tanto me identifiquei: a Clínica Integrada.

Minha profunda admiração pelo seu profissionalismo, serenidade e organização.

Ao Prof. Valdir Gouveia Garcia,

Pela participação na concepção e realização deste trabalho, pelos ensinamentos, respeito e carinho.

Ao Prof. Tetuo Okamoto,

Pela participação e inestimável contribuição em várias fases deste trabalho, pelo incentivo e amizade.

À Profa. Roberta Okamoto

*Pela contribuição em várias etapas deste trabalho.
Minha eterna gratidão, admiração e respeito.*

Aos professores da disciplina de Clínica Integrada:

Prof. Celso Koogi Sonoda,

Profa. Daniela Atili Brandini,

Profa. Denise Pedrini,

Prof. José Carlos Monteiro de Castro,

Prof. Wilson Roberto Poí

Pela acolhida carinhosa.

Minha admiração por estarem sempre dispostos a participar e ajudar, fazendo algo mais para tornar o mundo um lugar melhor para todos.

Agradecimentos

À Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba - UNESP, nas pessoas do Diretor Prof. Dr. Pedro Felício Estrada Bernabé e Vice-Diretora Profa. Dra. Ana Maria Pires Soubhía, pelas condições oferecidas para a realização deste trabalho.

Ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, em especial ao seu coordenador, Prof. Dr. Idelmo Rangel Garcia Júnior e todo corpo docente, pela dedicação e empenho com que conduzem todas as suas atividades.

Às companheiras de trabalho Cláudia Mísue Kanno e Margarete Romão Gobetti, pela amizade e por tornarem possível o desenvolvimento deste trabalho.

À amiga Jéssica Lemos Gulinelli, pelo apoio, amizade, companheirismo e colaboração nos diversos projetos que participamos juntas.

À minha parceira Cláudia Letícia, pelo apoio, amizade, companheirismo, pelos conselhos e auxílio sempre.

Ao Prof. Dr. João Eduardo Gomes Filho, pela colaboração em momentos importantes deste trabalho.

À amiga Simone Watanabe, pela amizade e auxílio essenciais neste trabalho.

À amiga Sueli Satomi Murata, pela amizade e colaboração sempre.

À Profa. Maria Lúcia Marçal Mazza Sundfeld, pela orientação na análise estatística deste trabalho.

Aos estagiários do Laboratório de Imunoistoquímica coordenado pela Profa. Roberta Okamoto, pelo auxílio na realização das reações imunoistoquímicas deste trabalho.

Às colegas da Pós-Graduação em Clínica Integrada: Carolina, Daniele, Daniela, Elizane, Eloá, Lithiene, Luciene, Márcia, Milena e Thaís, pelo companheirismo e amizade compartilhados.

Aos colegas de Pós-Graduação em Cirurgia, Implantodontia, Estomatologia, Ortodontia e Prótese, pelos momentos agradáveis e troca de experiências.

A todos os funcionários da Seção Técnica de Triagem, Emergência e Documentação, pela amizade e apoio.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, em especial: Antonia, Bernadete, Claudiomiro, Cleide, Dirce, Gilmar, Odaír e Paulo, pela amizade e colaboração na realização deste trabalho.

A todos os funcionários do Biotério Central da Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba - UNESP, pelo auxílio no manuseio dos animais deste trabalho.

Ao Departamento de Patologia e Propedêutica Clínica e ao Departamento de Morfologia da Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba - UNESP; por estarem sempre de portas abertas e pelo carinho com que todos os seus integrantes me receberam e me auxiliaram em todos os momentos.

Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia do Câmpus de Araçatuba - UNESP, pela gentileza e presteza com que sempre me auxiliaram.

Aos funcionários da Seção de Pós-Graduação, pelas orientações e pela simpatia.

Aos animais, por contribuírem para o desenvolvimento da ciência.

A todos os que colaboraram direta e indiretamente na execução deste trabalho.

Epígrafe

“EU APRENDI

Que a melhor sala de aula do mundo está aos pés de uma pessoa mais velha;

Que ser gentil é mais importante do que estar certo;

*Que não importa quanta seriedade a vida exija de você,
cada um de nós precisa de um amigo brincalhão para se divertir
junto;*

*Que algumas vezes tudo o que precisamos é de
uma mão para segurar e um coração para nos entender;*

*Que deveríamos ser gratos a Deus por não nos dar tudo que lhe
pedimos;*

*Que quando você planeja se nivelar com alguém,
apenas está permitindo que essa pessoa continue a magoar você;*

Que o AMOR, e não o TEMPO, é que cura todas as feridas;

Que a vida é dura, mas eu sou mais ainda;

Que um sorriso é a maneira mais barata de melhorar sua aparência;

*Que todos querem viver no topo da montanha, mas toda felicidade e
crescimento ocorre quando você está escalando-a;*

Que só se deve dar conselho em duas ocasiões:

quando é pedido ou quando é caso de vida ou morte;

Que quanto menos tempo tenho, mais coisas consigo fazer...

*Ao refletir sobre isto, aprendi que tenho muito a aprender, e que se
alguém pensa saber tudo, é porque não aprendeu como convém saber!!”*

William Shakespeare



Resumo

Saito CTMH. Análise da ação do laser em baixa intensidade sobre o processo de reparo após reimplante dentário: estudo histomorfométrico e imunoistoquímico [tese]. Araçatuba: Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista; 2008.

O sucesso do reimplante dentário, mesmo nos dias atuais, é limitado, pois grande parte dos dentes é perdida devido à reabsorção radicular progressiva, justificando a busca de novas estratégias que possam controlar esse problema. Assim, foi objetivo deste estudo, avaliar por meio de análise histomorfométrica e imunoistoquímica, a ação do laser em baixa intensidade (LLLT) sobre o processo de reparo após reimplante dentário em ratos. Sessenta ratos (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) tiveram seus incisivos superiores direitos extraídos e foram aleatoriamente divididos em seis grupos: C0, C30 e C45 considerados controles, onde o reimplante dentário foi realizado imediatamente, trinta e quarenta e cinco minutos após a exodontia respectivamente, sem nenhum tratamento do ligamento periodontal remanescente e L0, L30 e L45, onde o reimplante foi realizado nos mesmos tempos extra-alveolares dos controles, porém a superfície radicular e alvéolo, com remanescentes do ligamento periodontal, foram tratados com LLLT (Arseneto de Gálio e Alumínio) antes do reimplante. Os animais foram eutanasiados após 60 dias. Os resultados evidenciaram reabsorções radiculares externas por substituição e inflamatória em todos os grupos, não apresentando diferença significativa entre o grupo controle e tratado em cada período de tempo extra-alveolar ($P > 0,05$). A anquilose, porém, foi maior no grupo L30 em comparação com o C30 ($P < 0,05$). Na análise imunoistoquímica houve predominância da proteína RANKL sobre a RANK e OPG no reimplante imediato ($p < 0,05$). No período extra-alveolar de 45 minutos houve predominância da RANK sobre a RANKL ($p < 0,05$). A proteína TRAP foi predominante nos grupos tratados com LLLT no reimplante imediato e com 30 minutos de tempo extra-alveolar ($p < 0,05$). Esses resultados levaram a concluir que o tratamento da superfície radicular e alvéolo com LLLT, nas especificações

deste estudo, não favoreceu o processo de reparo após reimplante dentário em ratos e que outros estudos, utilizando diferentes parâmetros, são necessários para melhor avaliar a efetividade do LLLT no reimplante dentário.

Palavras Chave: Avulsão dentária. Reimplante dentário. Cicatrização de feridas. Terapia a Laser de Baixa Intensidade. Terapia a Laser. Imunoistoquímica



Abstract

Saito CTMH. Effect of low-level laser therapy on healing of replanted teeth: histomorphometric and immunohistochemical analysis [thesis]. Araçatuba: Dentistry School of SP State University; 2008.

The success of the replanted tooth, nowadays, still tends to be limited because great amount of teeth are lost because of progressive root resorption, justifying the search of new strategies that can control this problem. This study investigates by histomorphometric and immunohistochemical analysis the of low-level laser therapy (LLLT) influence on in the control of root resorption on the healing process after tooth replantation. Sixty Wistar rats were submitted to extraction of their upper right incisor and randomly were allocated to one of six experimental groups. The groups: C0, C30 and C45 had been considered controls, where the teeth were replanted immediately, thirty and forty five minutes after the tooth extraction respectively, without any treatment of the remaining periodontal ligament. In the groups L0, L30 and L45, the teeth were replanted immediately, thirty and forty five minutes after tooth extraction respectively; however the root surface and dental sockets with remainders of the periodontal ligament had been treated with LLLT (gallium-aluminium-arsinide). The animals were euthanasied after 60 days. The comparative analysis did not reveal statistically significant differences in external root resorption ($P>0.05$) between the treatment modalities when used for tooth replantation in each extra-alveolar period, but ankylosis was bigger in L30 ($P<0.05$) comparing to C30. Immunohistochemical analysis showed predominant expression of RANKL on RANK and OPG in the immediate replant ($p<0.05$). At 45 minutes extra-alveolar time, there was predominant expression of RANKL on RANK ($p<0.05$). TRAP protein showed predominant expression in the LLLT groups in immediate replant and 30 minutes extra-alveolar time ($P<0.05$). These results suggest that the treatment of root surface and dental sockets with LLLT, in this study specification, were not able to prevent root resorption in tooth replantation in rats and that more studies, using other

specifications, must be done for better investigate LLLT effect in tooth replant.

Keywords: Tooth avulsion. Tooth replantation. Wound healing. Laser therapy, low-level. Laser therapy. Immunohistochemistry.



Lista de Figuras

- Figura 1 - Grupo C0 – Parede óssea alveolar (O) apresentando discreta neoformação óssea (setas) não comprometendo o espaço do ligamento periodontal (LP) preenchido por tecido conjuntivo com disposição oblíqua das fibras com relação à superfície radicular. Dentina (D). H.E., original 160x. 66
- Figura 2 - Grupo C0 – Áreas com reabsorção do cimento e da dentina (D) reparados por cimento neoformado (setas). H.E., original 160x. 66
- Figura 3 - Grupo C0 – Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x. 67
- Figura 4 - Grupo L0 – Ligamento periodontal (LP) apresentando numerosas células inflamatórias (setas). H.E., original 160x. 68
- Figura 5 - Grupo L0 – Áreas de reabsorção radicular por substituição. Dentina (D); tecido ósseo (O). H.E., original 160x. 68
- Figura 6 - Grupo L0 – Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x. 69
- Figura 7 - Grupo C30 – Áreas de reabsorção radicular por substituição. Pontos de anquilose (seta). Tecido ósseo (O) neoformado preenchendo totalmente o espaço do ligamento periodontal Dentina (D); tecido ósseo (O). H.E., original 160x. 70
- Figura 8 - Grupo C30 – Áreas de reabsorção radicular inflamatória com presença de numerosas células inflamatórias (setas). Dentina (D). H.E., original 160x. 70
- Figura 9 - Grupo C30 – Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x. 71

Figura 10 -	Grupo L30 - Área onde o espaço do ligamento periodontal, encontra-se preenchido por tecido ósseo (O) neoformado. O cimento (setas) em alguns pontos encontra-se justaposto ao tecido ósseo (O), em outras sofreu reabsorção por substituição juntamente com a dentina (D). H.E., original 160x.	72
Figura 11 -	Grupo L30 - Áreas de dentina (D) exibindo reabsorção inflamatória. Células multinucleadas (setas). H.E., original 160x.	72
Figura 12 -	Grupo L30 - Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x.	73
Figura 13 -	Grupo C45 - Extensas áreas de cimento e dentina (D) reabsorvidos sendo substituídos por tecido ósseo (O). H.E., original 63x.	74
Figura 14 -	Grupo C45 - Área onde o espaço do ligamento periodontal encontra-se preenchido por tecido ósseo (O). Dentina (D); cimento (setas). H.E., original 63x.	74
Figura 15 -	Grupo C45 - Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo. Original 100x.	75
Figura 16 -	Grupo L45 - Áreas onde o espaço do ligamento periodontal encontra-se preenchido por tecido ósseo. Tecido ósseo (O). Dentina (D). H.E., original 63x.	76
Figura 17 -	Grupo L45 - Áreas da superfície radicular exibindo reabsorção de cimento e dentina (D), com neoformação de tecido ósseo (O). H.E., original 63x.	76
Figura 18 -	Grupo L45 - Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x.	77
Figura 19 -	Animais acondicionados em gaiolas no Biotério e Centro Cirúrgico “Ilídio Teodoro”.	92
Figura 20 -	Anestésicos utilizados: Dopalen (Cloridrato de Ketamina) e Dopaser (Cloridrato de Xilazina).	92
Figura 21 -	Luxação do incisivo superior direito.	92

Figura 22 -	Exodontia do incisivo superior direito.	92
Figura 23 -	Dente mantido em recipiente com soro fisiológico.	92
Figura 24 -	Remoção da papila dental e órgão do esmalte com lâmina de bisturi nº15.	92
Figura 25 -	Pulpectomia por via retrógrada	92
Figura 26 -	Irrigação com soro fisiológico.	92
Figura 27 -	Secagem do canal radicular com cone de papel absorvente.	93
Figura 28 -	Preenchimento do canal radicular com pasta de hidróxido de cálcio e propilenoglicol.	93
Figura 29 -	Irrigação do alvéolo com soro fisiológico.	93
Figura 30 -	Reimplante dentário.	93
Figura 31-	Aparelho de laser em baixa intensidade utilizado.	93
Figura 32 -	Aplicação do laser, luz visível com movimento de varredura na superfície lingual do dente.	93
Figura 33 -	Aplicação do laser em baixa intensidade, luz infravermelha no alvéolo.	93
Figura 34 -	Antibiótico utilizado: Pentabiótico pequeno porte.	93
Figura 35 -	Câmera digital (JVC TK-1270 Color Vídeo Câmera) acoplada ao microscópio Carl Zeiss (Axiolab).	94
Figura 36 -	Visualização das imagens no Programa Image Lab. Demarcação da área total.	94
Figura 37-	Planilha de resultado - Image Lab. Área total.	95
Figura 38 -	Visualização da demarcação do perímetro total - Image Lab.	95
Figura 39 -	Visualização da demarcação da anquilose (seta) - Image Lab.	96
Figura 40 -	Visualização da demarcação da área de reabsorção inflamatória - Image Lab.	96



Lista de Tabelas

Tabela 1 -	Grupos Experimentais	31
Tabela 2 -	Valores dos escores atribuídos aos eventos histológicos de acordo com cada grupo experimental.	42
Tabela 3 -	Valores de significâncias (p) e de Mann-Whitney U nos eventos de reparo tecidual frente ao reimplante dentário comparando os grupos controle e tratado em cada tempo extra-alveolar.	42
Tabela 4 -	Valores dos escores atribuídos às marcações imunoistoquímicas para cada proteína de acordo com cada grupo experimental.	43
Tabela 5 -	Valores de significâncias (p) e de Mann-Whitney U para cada proteína confrontando os grupos controles e tratados e cada período de tempo extra-alveolar.	44
Tabela 6 -	Valores de significâncias (p) e de Kruskal-Wallis (KW) para cada período extra-alveolar avaliando as proteínas OPG, RANK e RANKL.	45
Tabela 7 -	Valores obtidos após a quantificação das áreas de reabsorções e anquilose utilizando o programa ImageLab 2001 (Diracom 3).	97
Tabela 8 -	Escores atribuídos para distribuição das imunomarcações presentes para as proteínas OPG, RANK, RANKL e TRAP.	99



Lista de Gráficos

Gráfico 1 -	Resultados das imunomarcações para cada proteína nos grupos controles (C0, C30, C45).	44
Gráfico 2 -	Resultados das imunomarcações para cada proteína nos grupos tratados com Laser (L0, L30, L45).	45
Gráfico 3-	Valores médios de anquilose de cada grupo.	98
Gráfico 4 -	Valores médios de reabsorção por substituição de cada grupo.	98
Gráfico 5 -	Valores médios de reabsorção inflamatória de cada grupo.	98
Gráfico 6 -	Valores médios do grupo C0 e L0 avaliando as proteínas OPG, RANK, RANKL e TRAP.	100
Gráfico 7 -	Valores médios do grupo C30 e L30 avaliando as proteínas OPG, RANK, RANKL e TRAP.	100
Gráfico 8 -	Valores médios do grupo C45 e L45 avaliando as proteínas OPG, RANK, RANKL e TRAP.	100



Lista de Abreviaturas

LASER =	do inglês light amplification by stimulated emission of radiation
HILT =	do inglês high-intensity laser therapy
LLLT =	do inglês low-level laser therapy
CO ₂ =	dióxido de carbono
Nd: YAG =	neodímio ítrio-alumínio em forma de granada
He-Ne =	hélio-neônio
AsGa =	arseneto de gálio
AsGaAl =	arseneto de gálio e alumínio
TNF =	fator de necrose tumoral
RANK =	receptor ativado do fator nuclear kappa b
RANKL =	ligante do receptor ativado do fator nuclear kappa b
ODF =	fator de diferenciação dos osteoclastos
OPGL =	ligante da osteoprotegerina
TRANCE =	fator de necrose tumoral relacionado à ativação induzida das citocinas
OPG =	osteoprotegerina
OCIF =	fator inibitório da osteoclastogênese
TRAP =	fosfatase ácida resistente ao tartarato
EDTA =	ácido etilenodiaminotetracético
H. E. =	técnica da hematoxilina e eosina
InGaAlP =	fosfato de índio gálio e alumínio
ATP =	adenosina trifosfato



Lista de Anexos

Anexo A - Certificado da Comissão de Ética na Experimentação Animal	79
Anexo B - Normas para publicação – Dental Traumatology	80
Anexo C - Imagens material e método	92
Anexo D - Dados complementares da análise histomorfométrica	97
Anexo E - Dados complementares da análise imunoistoquímica	99



Sumário

1	Introdução	22
2	Proposição	26
3	Material e Método	28
4	Resultados	37
5	Discussão	46
6	Conclusão	51
	Referências	53
	Figuras	65
	Anexos	78



Introdução



1 Introdução^{*}

A perda precoce de elementos dentários em decorrência de trauma compromete a manutenção da integridade da dentição natural. Desta forma, quando um dente sofre avulsão, os esforços devem ser direcionados no sentido de reimplantá-lo imediatamente para favorecer ao máximo o processo de reparo na tentativa de retardar ou evitar a sua perda (1-3).

Caso o reimplante imediato não seja possível, o prognóstico do tratamento dependerá da observância de diversos fatores, como o tempo extrabucal, o meio de armazenamento, a viabilidade do ligamento periodontal e grau de contaminação da superfície dentária (1, 4-6).

Várias estratégias buscaram melhorar o prognóstico dos dentes reimplantados procurando formas de favorecer o reparo do ligamento periodontal visando a manutenção do dente por um período mais longo (7-9). Mesmo assim, o prognóstico da maioria dos dentes reimplantados é duvidoso devido à reabsorção radicular externa (3,10). Por este motivo, novas estratégias merecem ser investigadas com o objetivo de favorecer ou minimizar os danos decorrentes do reimplante dentário.

O laser (light amplification by stimulated emission of radiation) em baixa intensidade é uma das estratégias que merece ser considerada, pois tem potencial de bioestimulação (11) que poderia ter efeitos reparadores favoráveis no reimplante dentário. O laser foi desenvolvido por Theodore Maiman em 1960 (11, 12) e ainda na década de 60, iniciaram-se os estudos de sua aplicação na odontologia (13). Os primeiros resultados, entretanto, não despertaram muito interesse e o estudo sobre a utilização do laser foi inexpressivo até a década de 80, quando um grande número de pesquisas passou a ser realizada, vindo a culminar com os tempos atuais, onde o uso do laser deixou de ser uma teoria e se tornou uma realidade. A principal

^{*} Normalização segundo a Revista Dental Traumatology (Anexo B)

classificação do laser utilizado em odontologia divide-os em laser em alta intensidade ou HILT (high-intensity laser therapy) cujos principais representantes são o laser de argônio, CO₂ (dióxido de carbono) e Nd: YAG (neodímio-ítrio-alumínio em forma de granada) e o laser em baixa intensidade ou LLLT (low-level laser therapy) cujos principais representantes são o laser de He-Ne (hélio-neônio) e AsGa (arseneto de gálio) e AsGaAl (arseneto de gálio e alumínio) (14).

Atualmente, a eficácia e aceitação do laser em alta intensidade (HILT) têm sido demonstradas por proporcionar dentre as qualidades uma excelente hemostasia e visualização do campo operatório com redução microbiana, redução do edema e dor pós-operatórios, redução da possibilidade de difusão de células anormais, e pouca formação de cicatrizes (15). Por outro lado a literatura mostra uma ampla variação na utilização do laser em baixa intensidade (LLLT).

Em odontologia o uso do laser (LLLT) tem sido estudado em várias situações como: no tratamento de herpes simples recorrente (16), como adjunto na terapia de periodontite (17, 18), no tratamento de hipersensibilidade dentinária (19, 20) e na recuperação das estruturas dentárias envolvidas na preparação da cavidade (21), na prevenção e tratamento de mucosite (22-25), no alívio de dor de disfunção temporomandibular (26-29), na aceleração do movimento ortodôntico (30, 31), no processo de reparo pós-exodontia (32-34), no tratamento de alveolite (35) e na aceleração do reparo ósseo após instalação de implante ósseo-integrado (36, 37).

Apesar do grande número de trabalhos mostrando efetividade do laser (LLLT), seu efeito ainda é motivo de controvérsias. Por este motivo, a literatura defende a necessidade de mais estudos sobre esta terapia, pois ainda existem vários questionamentos sobre sua ação e seus reais benefícios (38, 39-41).

Desta forma, o efeito fotobioestimulador do laser (LLLT) favorecendo a cicatrização, agindo como antiinflamatório e analgésico (42) poderia ter efeitos benéficos no processo de reparo após reimplante dentário, merecendo ser investigado.

Para estudar os mecanismos envolvidos no reparo celular em reimplante dentário, como a atuação do laser (LLLT), a imunoistoquímica é uma ferramenta metodológica que pode auxiliar na compreensão e justificativa de fatos que até então foram evidenciados com maior frequência por meio da análise histomorfométrica (8, 43-49).

As proteínas pertencentes à família do Fator de Necrose Tumoral (TNF): OPG (osteoprotegerina) (50); RANK (receptor ativado do fator nuclear kappa B) (51); RANKL (ligante do receptor ativado do fator nuclear kappa B) (52) estão intimamente ligadas à dinâmica dos processos de reabsorção e remodelação do tecido ósseo (53-55). A ação destas proteínas ocorre da seguinte forma: a ligação das proteínas RANK-RANKL estimula a diferenciação dos pré-osteoclastos em osteoclastos ativos estimulando o processo de reabsorção óssea (56,57). A OPG, molécula de superfície sintetizada por osteoblastos e por células do estroma, modera a osteoclastogênese, atuando como receptor chamariz, ligando-se a RANKL e impedindo a sua ligação à RANK (57,58). Assim, o balanço entre a expressão das proteínas do sistema RANK/RANKL/OPG fornece informações importantes sobre metabolismo ósseo (59-62), pois tem participação na dinâmica e homeostasia do tecido ósseo.

A proteína TRAP (fosfatase ácida resistente ao tartarato) também tem um papel importante no processo de reabsorção, pois atua como um marcador da enzima que evidencia a atividade osteoclástica (63, 64).

Os experimentos de imunomarcacão associando a imunomarcacão para as proteínas RANK, RANKL, OPG e TRAP podem possibilitar a realizacão de uma análise da dinâmica dos tecidos periodontais durante o processo de reparo após o reimplante dentário.

Assim, embora a açã do laser em baixa intensidade (LLLT) sobre os tecidos biológicos já seja um assunto amplamente investigado, existe escassez de estudos avaliando a sua açã sobre o reparo em dentes reimplantados, principalmente associando análise histomorfométrica e imunoistoquímica, tornando esta pesquisa relevante.



Proposição



2 *Proposição*

A proposta deste trabalho foi avaliar por meio de análise histomorfométrica e imunoistoquímica a ação do laser em baixa intensidade no processo de reparo após reimplante dentário em ratos.



Material e Método



3 *Material e Método*

Previamente à sua realização, a metodologia empregada no trabalho foi submetida e aprovada pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP (protocolo nº 19/06, Anexo A).

Modelo Experimental

Para realização deste estudo, foram utilizados 60 ratos (*Rattus norvegicus albinus*, variedade Wistar), machos, com peso corporal variando entre 250 a 300 gramas, em bom estado de saúde, provenientes do Biotério da Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP. Os animais foram alimentados com ração sólida triturada (Guabi Nutrilabor, Mogiana Alimentos SA, Campinas, SP, Brasil), durante todo o período experimental, exceto no período das 12 horas antecedentes ao ato cirúrgico e água *ad libitum*.

Etapa Cirúrgica

Foi administrado, por via intramuscular, cloridrato de xilazina (Dopaser, Laboratório Calier do Brasil. Ltda, Osasco, SP, Brasil) na dosagem de 0,6 mg para cada 100g de peso corporal, para promover um relaxamento muscular. Na seqüência, o cloridrato de ketamina (Dopalen AgriBands Ltda., Paulínea, SP, Brasil) na dosagem de 7 mg para cada 100g de peso corporal para a obtenção do efeito anestésico.

Após a anestesia do animal, foi realizada a antissepsia da porção anterior da maxila com polivinilpirrolidona iodada a 10% (Riodeine – Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP, Brasil). Procedeu-se a sindesmotomia, luxação e exodontia do incisivo superior direito, com instrumental especialmente adaptado para este fim (65). Em seguida, os animais foram divididos aleatoriamente em 6 grupos experimentais com 10 animais cada, a saber:

- **Grupo C0:** Após a exodontia os dentes permaneceram 4 minutos em meio ambiente, que foi o tempo necessário para a aplicação do laser no grupo tratado. Logo após foi realizada a antissepsia da porção anterior da maxila com polivinilpirrolidona iodada a 10% (Riodeine – Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP, Brasil) e os dentes foram reimplantados, sem qualquer tipo de tratamento na superfície radicular e alvéolo, com remanescentes do ligamento periodontal.
- **Grupo C30:** Os dentes foram mantidos em soro fisiológico, por um período de 30 minutos. Após este período, a papila dentária e o órgão do esmalte foram seccionados e removidos com lâmina de bisturi nº 15 (Wuxi Xinda Medical Device Co Ltd., Zhanging Town, Xishan City, China), e a polpa removida por via retrógrada, empregando-se lima tipo Kerr nº 35 (Kerr 25 mm - Sybron Kerr, Guarulhos, SP, Brasil) ligeiramente curvada. Os canais foram irrigados com soro fisiológico, secos com cones de papel e preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio (Biodinâmica Química e Farmacêutica Ltda., Ibiporã, PR, Brasil) e propileno glicol (Manipullis, Araçatuba, SP, Brasil) com auxílio de uma agulha hipodérmica 28X8 mm acoplada a uma seringa de insulina (Injex Indústrias Cirúrgicas Ltda., Ourinhos, SP, Brasil). Após esses procedimentos, foi realizada a antissepsia da porção anterior da maxila com polivinilpirrolidona iodada a 10% (Riodeine – Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP, Brasil) e em seguida, os dentes foram reimplantados em seus respectivos alvéolos sem qualquer tipo de tratamento na superfície radicular e alvéolo.
- **Grupo C45:** Os dentes receberam os mesmos procedimentos realizados no Grupo C30, com exceção do tempo extra-alveolar, que neste grupo foi de 45 minutos.
- **Grupo L0:** Após a exodontia, os dentes, em sua superfície lingual, receberam a aplicação do laser de diodo semiconductor de Arseneto de Gálio e Alumínio, luz visível (660 nm), por 2 minutos e 13 segundos e os alvéolos uma aplicação de laser infravermelho (830 nm) por mais 1 minuto e 40 segundos totalizado um tempo extra-alveolar de aproximadamente 4 minutos, em seguida foi realizada a antissepsia da porção anterior da maxila com polivinilpirrolidona iodada a 10% (Riodeine – Indústria Farmacêutica Rioquímica Ltda., São José do Rio Preto, SP, Brasil) e os dentes foram reimplantados em seus respectivos alvéolos.

- **Grupo L30:** Os dentes receberam os mesmos procedimentos realizados no Grupo C30 até o momento anterior ao reimplante, quando os dentes receberam a aplicação do laser em baixa intensidade nas mesmas especificações do Grupo L0, sendo, em seguida foram reimplantados em seus respectivos alvéolos.
- **Grupo L45:** Os dentes receberam os mesmos procedimentos realizados no Grupo L30, com exceção do tempo extra-alveolar, que neste grupo foi de 45 minutos.

Após o reimplante, todos os animais receberam uma dose única de 24.000 UI de Pentabiótico pequeno porte (Benzilpenicilina benzatina-12.000 UI, Benzilpenicilina procaína- 6.000 UI, Benzilpenicilina potássica- 6.000 UI, Sulfato de Diidroestreptomicina- 5 mg, Sulfato de Estreptomicina- 5 mg) (Fort Dodge Saúde Animal Ltda., Campinas, SP, Brasil), por via intramuscular.

Tabela 1. Grupos Experimentais

Grupo	Laser	Tempo extra-alveolar	Amostra	Avaliação
C0	Não	4 min.	n = 10	60 dias
C30	Não	30 min.	n = 10	60 dias
C45	Não	45 min.	n = 10	60 dias
L0	Sim	4 min.	n = 10	60 dias
L30	Sim	30 min.	n = 10	60 dias
L45	Sim	45 min.	n = 10	60 dias

Especificações do Laser

O laser utilizado no presente estudo apresentou as seguintes características:

- Equipamento laser: BioWave LLLT (Kondortech Equipamentos Odontológicos Ltda., São Carlos, SP, Brasil);
- Meio ativo: Diodo de Arseneto de Gálio e Alumínio (AsGaAl);
- Comprimento de onda: 660 nm (visível) e 830 nm (infravermelho);
- Potência de saída: 30 mW (660 nm) e 40 mW (830 nm);
- Modo de operação: contínuo ou modulado até 1 kHz;
- Polarização do feixe: randômica;
- Diâmetro do feixe na ponteira: 3 mm;

- Área do feixe de laser: 0,07 cm²;
- Divergência dos feixes: 20 graus;
- Comprimento do cabo da ponteira: 1,5 metros.

Protocolo de tratamento com laser em baixa intensidade

- **Na superfície dentária:** o laser em baixa intensidade foi utilizado diretamente na superfície lingual dos incisivos superiores extraídos, seguindo o seguinte protocolo de tratamento:
 - Comprimento de onda: 660 nm, laser visível;
 - Potência de saída: 30 mW;
 - Modo de emissão: laser contínuo;
 - Modo de aplicação: laser contato, varredura;
 - Número de aplicação: aplicação única;
 - Área de aplicação do Laser: A irradiação do laser foi realizada com a ponteira direcionada em contato direto com a superfície lingual dos incisivos superiores, realizando movimentos curtos de varredura no sentido longitudinal;
 - Energia: 4 J;
 - Tempo de exposição pontual: 133 s;
 - Fluência (Densidade Energética): 57,14 J/cm².
- **No alvéolo cirúrgico:** após o tratamento da radicular, o alvéolo dentário foi submetido também ao LLLT, com os seguintes parâmetros:
 - Comprimento de onda: 830 nm, laser infravermelho;
 - Potência de saída: 40 mW;
 - Modo de emissão: laser contínuo;
 - Modo de aplicação: laser contato, pontual;
 - Número de aplicação: aplicação única;
 - Área de aplicação do Laser: a irradiação do laser foi realizada com a ponteira em contato direto com a superfície lingual dos alvéolos, na altura do terço médio alveolar;
 - Energia: 4 J;
 - Tempo de exposição pontual: 100 s;
 - Fluência (Densidade Energética): 57,14 J/cm².

Processamento Laboratorial

Os animais foram eutanasiados 60 dias após o reimplante por meio de dose excessiva do anestésico. A maxila direita foi separada da esquerda na linha mediana com o emprego uma lâmina de bisturi nº 15 (Wuxi Xinda Medical Device Co Ltd., Zhanging Town, Xishan City, China). Um corte com tesoura reta, tangenciando a face distal dos molares, possibilitou a obtenção da hemi-maxila direita contendo o alvéolo dentário com o dente reimplantado.

As peças obtidas foram fixadas em solução de formalina a 10% e na seqüência foram descalcificadas em solução de EDTA a 20 %, pH 7,0, desidratadas, clarificadas e incluídas em parafina, permitindo cortes histológicos do alvéolo no sentido longitudinal.

Os cortes semi-seriados obtidos, com 6 µm de espessura, foram divididos em duas metades sendo parte deles corados pela técnica da Hematoxilina e Eosina (H. E.) para a análise histológica e histomorfométrica e a outra parte submetida às reações imunoistoquímicas para análise específica.

Análise histológica

A análise histológica foi realizada com auxílio de microscópio de luz, onde somente a face lingual da raiz foi considerada, pois o dente do rato apresenta ligamento periodontal apenas nesta face. Foram analisadas as características do ligamento periodontal, osso alveolar, cemento, dentina além da ocorrência de reabsorção inflamatória, por substituição e anquilose.

Análise histomorfométrica

O corte longitudinal da raiz foi capturado por meio de uma câmera Axio Cam MRc5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) acoplada a um Estereomicroscópio Stemi 2000 – C (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) com um aumento de 1:20 que permitia uma visão panorâmica do dente. Essa imagem foi salva como figura no programa Axio Vision 4.5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, RJ, Brasil) e utilizada para a quantificação no programa

ImageLab 2000 (Laboratório de Informática Dedicado à Odontologia, LIDO, USP, SP, Brasil).

De posse dessas imagens, a área correspondente à face lingual de cada raiz foi selecionada, recortada e quantificada, obtendo-se, dessa maneira, a área total de dentina radicular. Esses dados foram armazenados em planilhas. Posteriormente, as áreas de reabsorção inflamatória e reabsorção por substituição foram selecionadas e quantificadas e os dados armazenados nas mesmas planilhas (Anexo C).

Os valores da área de dentina total e da área de dentina reabsorvida foram submetidos a uma regra de três para verificar que porcentagem da raiz estava comprometida pela reabsorção inflamatória e pela reabsorção por substituição. A partir desses valores foram atribuídos escores para a aplicação do teste estatístico (Anexo D).

A anquilose foi mensurada por meio do perímetro, sendo inicialmente mensurado o perímetro total da face lingual de cada raiz e depois o perímetro da anquilose. Esses valores armazenados em planilhas foram também submetidos a uma regra de três para verificar que porcentagem da raiz estava comprometida pela anquilose. Entende-se por anquilose as áreas cujo tecido ósseo está justaposto ao cimento. De maneira semelhante às reabsorções, foram atribuídos escores para aplicação do teste estatístico.

Para a identificação e seleção de áreas de reabsorção e anquilose, as imagens digitais foram comparadas com os cortes histológicos no microscópio.

Os valores numéricos absolutos, transformados em porcentagens foram classificados de acordo com o seguinte escore (43,49):

Reabsorção inflamatória e por substituição:

- 1 - Ausência de reabsorção.
- 2 - de 0,1% a 50% da área com reabsorção.
- 3 - de 51% a 99 % da área com reabsorção.
- 4 - 100% da área com reabsorção.

Anquilose

- 1 - Ausência de anquilose.
- 2 - de 0,1% a 50% da área com anquilose.
- 3 - de 51% a 99 % da área com anquilose.
- 4 - 100% da área com anquilose.

Análise imunoistoquímica

Com o objetivo de identificar se a aplicação do laser em baixa intensidade promove a ativação de fibroblastos do ligamento periodontal, foi utilizada a técnica imunoistoquímica com método de detecção por imunoperoxidase (66, 67).

A análise a ser realizada através da imunoistoquímica consistiu na avaliação da expressão das proteínas OPG, RANK, RANKL e TRAP durante o processo de reparo após reimplante nos tempos extra-alveolares de 4, 30 e 45 minutos.

Com relação aos anticorpos contra as proteínas RANK, OPG, RANKL e TRAP, os anticorpos primários foram respectivamente o anti RANK (goat anti RANK polyclonal, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA), o anti OPG (goat anti OPG polyclonal, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA), anti RANKL (goat anti RANKL polyclonal, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA) e anti TRAP (goat anti TRAP polyclonal, Santa Cruz Biotechnology, Inc., Santa Cruz, CA, USA), todos produzidos em cabras. O secundário foi o anticorpo biotinilado anticabras produzido em coelhos, (Pierce Biotechnology Inc., Rockford, IL, USA.), utilizou-se o kit Streptavidina e Biotina (Dako, Carpinteria, CA, EUA) para amplificar o sinal e a diaminobenzidina (Dako, Carpinteria, CA, EUA) como cromógeno. Na seqüência, os cortes receberam a contra-coloração por hematoxilina de Harris.

Um controle negativo foi preparado para cada espécime analisado usando procedimento similar com exclusão do anticorpo primário.

Cada espécime foi mensurado por um examinador calibrado usando um método semi-quantitativo para avaliar a distribuição das marcações presentes classificando todos os casos em categorias (61): (-) ausência ou marcação desprezível, (+) marcação leve, (++) marcação moderada, (+++) marcação severa. Para facilitar a comparação entre os grupos, os escores foram convertidos em: 1 para ausência ou marcação desprezível (-), 2 para marcação leve (+), 3 para marcação moderada (++) e 4 para marcação severa (+++). O avaliador desconhecia o grupo pertencente a cada imagem, para evitar tendenciosidade durante a análise.

Análise estatística

Na avaliação histomorfométrica, para a comparação entre os resultados obtidos na forma de escore correspondente à porcentagem de reabsorção inflamatória, por substituição e anquilose entre o grupo controle e tratado em cada período de tempo extra-alveolar utilizou-se o teste não paramétrico de Mann-Whitney, ao nível de significância de 5%.

Para análise imunoistoquímica, os resultados também, na forma de escores, foram submetidos ao teste não-paramétrico de Mann-Whitney para avaliar duas amostras e de Kruskal-Wallis para mais de duas amostras de dados independentes, ao nível de significância de 5%. Foram realizados os cruzamentos de cada uma das variáveis proteínas RANK, RANKL, OPG e TRAP entre o grupo controle e tratado em cada período extra-alveolar e das proteínas RANK, RANKL e OPG em cada grupo.



Resultados



4 Resultados

A nálise histológica

Os resultados obtidos foram descritos, após análise das seguintes estruturas: mucosa gengival, ligamento periodontal, cimento, dentina e parede alveolar após 60 dias do reimplante.

Em todos os grupos estudados a reinserção epitelial ocorreu no nível da junção cimento-esmalte e o tecido conjuntivo subjacente exibiu poucas células inflamatórias.

Grupo C0 (controle imediato)

O ligamento periodontal, na maioria dos espécimes, exibiu fibras com disposição oblíqua à superfície radicular, notando-se, além disso, a ausência de células inflamatórias (Fig. 1).

O cimento e a dentina, em alguns pontos da raiz, encontraram-se reabsorvidos e reparados por cimento neoformado (Fig. 2).

A parede óssea alveolar apresentou discreta neoformação óssea que não compromete o espaço do ligamento periodontal (Fig. 1).

Grupo L0 (Laser imediato)

O ligamento periodontal mostrou, em alguns espécimes, a presença de numerosas células inflamatórias (Fig. 4).

O cimento e a dentina apresentaram áreas de reabsorção por substituição (Fig. 5) e inflamatória.

Observou-se aposição óssea na parede alveolar ocasionando o estreitamento do espaço do ligamento periodontal.

Grupo C30 (controle - 30 minutos extra-alveolar)

O espaço do ligamento periodontal em algumas áreas encontrou-se completamente preenchido por tecido ósseo (Fig. 7) e, em outras, o tecido conjuntivo presente exibiu fibras cuja direção é paralela à superfície radicular.

O cimento e a dentina apresentaram áreas de reabsorção inflamatória (Fig. 8) e por substituição.

Foram poucos os pontos de anquilose alvéolo-dentária (Fig. 7).

A parede óssea alveolar exibiu em alguns pontos, neoformação óssea ocasionando o estreitamento do espaço do ligamento periodontal. Em outros, o tecido neoformado preencheu totalmente o espaço do ligamento periodontal (Fig. 7).

Grupo L30 (Laser - 30 minutos extra-alveolar)

O espaço do ligamento periodontal, na maioria dos espécimes, encontrou-se preenchido por tecido ósseo, ao longo dos três terços radiculares, caracterizando a neoformação óssea da parede alveolar (Fig. 10).

O cimento encontrou-se justaposto ao tecido ósseo em vários pontos ao longo de toda a superfície radicular (Fig. 10).

A dentina exibiu reabsorção de superfície, inflamatória (Fig. 11) e por substituição (Fig. 10).

Grupo C45 (controle - 45 minutos extra-alveolar)

O espaço do ligamento periodontal encontrou-se em grande parte da raiz preenchido por tecido ósseo (Fig. 13).

Extensas áreas de anquilose puderam ser observadas ao longo dos três terços radiculares (Fig. 14).

O cimento e a dentina encontraram-se reabsorvidos com presença de células inflamatórias ou substituídos por tecido ósseo (Fig.13).

A parede alveolar exibiu neoformação óssea causando o estreitamento e em algumas áreas, preencheu o espaço do ligamento periodontal.

Grupo L45 (Laser - 45 minutos extra-alveolar)

O espaço do ligamento periodontal encontrou-se em quase toda a extensão da raiz preenchido por tecido ósseo (Fig. 16).

As fibras do ligamento periodontal mostraram disposição paralela com relação à superfície radicular.

Extensas áreas da superfície radicular exibiram reabsorção de cemento e dentina (Fig. 17).

A parede alveolar apresentou aposição óssea ocasionando o estreitamento do espaço do ligamento periodontal.

Análise imunoistoquímica

Foram realizadas reações imunoistoquímicas utilizando-se anticorpos primários contra as proteínas OPG, RANK, RANKL e TRAP analisadas no período de 60 dias após a realização do reimplante dentário.

Considerando-se cada grupo experimental, os seguintes resultados foram observados:

Grupo C0 (controle imediato)

Observou-se ausência de marcações positivas para a proteína OPG e RANK (Fig. 3a e 3b). Uma marcação moderada para a proteína RANKL foi observada em osteócitos e na matriz extracelular dos fibroblastos (Fig. 3c). A marcação observada para a proteína TRAP foi leve, evidenciando poucos osteoclastos (Fig. 3d).

Grupo L0 (Laser imediato)

A maioria dos espécimes apresentou marcação leve para a proteína OPG localizadas na matriz extracelular dos fibroblastos (Fig. 6a) e marcação desprezível ou ausente para a proteína RANK (Fig. 6b). Observou-se marcação severa para a proteína RANKL em osteócitos e na matriz extracelular dos fibroblastos (Fig. 6c). Observou-se marcação moderada para a proteína TRAP (Fig. 6d).

Grupo C30 (controle - 30 minutos extra-alveolar)

Na maioria dos espécimes, marcações severas foram observadas para a proteína OPG (Fig. 9a) e marcações moderadas para a proteína RANK, ambas localizadas em osteócitos (Fig. 9b). As marcações para a proteína RANKL foram moderadas localizadas em osteócitos e na matriz extracelular dos osteócitos (Fig. 9c). Evidenciou-se marcação leve para a proteína TRAP (Fig. 9d).

Grupo L30 (Laser - 30 minutos extra-alveolar)

Observou-se predominância de marcação moderada para a proteína OPG localizadas em osteócitos (Fig. 12a). As marcações para as proteínas RANK e RANKL localizadas em osteócitos e pré-osteócitos sofreram variação de leve a moderada (Fig. 12b e 12c). As marcações para a proteína TRAP demarcando os osteoclastos variaram de leve a moderada (Fig. 12d).

Grupo C45 (controle - 45 minutos extra-alveolar)

Na maioria dos espécimes observaram-se marcações moderadas para as proteínas OPG e RANKL localizada em osteócitos (Fig. 15a e 15b). As marcações para a proteína RANK foram observadas em osteócitos variando de moderada a severa (Fig. 15c). As marcações para a proteína TRAP variaram de leve a moderada (Fig. 15d).

Grupo L45 (Laser - 45 minutos extra-alveolar)

Marcações variando de leve a moderada foram observadas para a proteína OPG, localizadas em osteócitos e na matriz extracelular de fibroblastos (Fig. 18a) e para a proteína RANKL em osteócitos (Fig. 18c). A proteína RANK apresentou marcação moderada localizada em osteócitos (Fig. 18b). A proteína TRAP apresentou uma marcação leve localizada em osteoclastos (Fig. 18d).

Análise estatística

Na análise histomorfométrica, os eventos de reabsorção inflamatória, por substituição e anquilose foram analisados comparando o grupo controle e tratado em cada período de tempo extra-alveolar (Tabela 2) utilizando o teste estatístico não paramétrico de Mann-Whitney, onde não houve diferença estatisticamente significativa ($p>0,05$) quanto à reabsorção inflamatória e por substituição (Tabela 3), porém a presença de áreas de anquilose foi maior grupo tratado com laser no reimplante após 30 minutos de tempo extra-alveolar ($p<0,05$) (Tabela 3).

Tabela 2. Valores dos escores atribuídos aos eventos histológicos de acordo com cada grupo experimental.

Eventos Histológicos	Escores	4 minutos		30 minutos		45 minutos	
		C0	L0	C30	L30	C45	L45
Reabsorção por Substituição	1- Ausente	7/10	3/8	1/10	1/8	1/8	0/9
	2- 0,1% a 50%	3/10	5/8	9/10	7/8	7/8	8/9
	3- 51% a 99 %	0/10	0/8	0/10	0/8	0/8	1/9
	4- 100%	0/10	0/8	0/10	0/8	0/8	0/9
Reabsorção Inflamatória	1- Ausente	6/10	3/8	6/10	4/8	2/8	5/9
	2- 0,1% a 50%	4/10	5/8	4/10	4/8	6/8	4/9
	3- 51% a 99 %	0/10	0/8	0/10	0/8	0/8	0/9
	4- 100%	0/10	0/8	0/10	0/8	0/8	0/9
Anquilose	1- Ausente	9/10	5/8	4/10	0/8	1/8	1/9
	2- 0,1% a 50%	1/10	3/8	6/10	7/8	6/8	8/9
	3- 51% a 99 %	0/10	0/8	0/10	1/8	1/8	0/9
	4- 100%	0/10	0/8	0/10	0/8	0/8	0/9

Tabela 3. Valores de significâncias (p) e de Mann-Whitney U nos eventos de reparo tecidual frente ao reimplante dentário comparando os grupos controle e tratado em cada tempo extra-alveolar.

Eventos Histológicos	Tempo extra-alveolar	P valor	Mann-Whitney U
Anquilose	4 min.	0,1958	29,00
	30 min.	0,0359 *	21,00
	45 min.	0,6638	32,50
Reabsorção por substituição	4 min.	0,1976	27,00
	30 min.	0,9654	39,00
	45 min.	0,1976	28,00
Reabsorção Inflamatória	4 min.	0,3839	31,00
	30 min.	0,7618	36,00
	45 min.	0,2367	25,00

* Diferença estatística significativa entre o grupo controle e tratado.

Na análise imunoistoquímica, os valores dos escores atribuídos às imunomarcações para cada proteína (Tabela 4) foram analisados. Considerando cada proteína analisada isoladamente em cada período extra-alveolar confrontando o grupo controle e tratado, a presença de imunomarcações positivas para proteína OPG foi significativamente maior no grupo tratado com laser no período de 4 minutos ($p < 0,05$, Tabela 5, Gráfico 1 e 2). As imunomarcações para a proteína RANK estiveram presentes em maior quantidade no grupo controle dos períodos extra-alveolares de 30 e 45 minutos ($p < 0,05$, Tabela 5, Gráfico 1 e 2). A proteína RANKL teve uma marcação semelhante nos grupos controles e tratados com laser nos três períodos de tempo extra-alveolar ($p > 0,05$, Tabela 5, Gráfico 1 e 2). A proteína TRAP foi observada em maior quantidade no grupo tratado com laser nos casos de reimplante imediato e tempo extra-alveolar de 30 minutos ($p < 0,05$, Tabela 5, Gráfico 1 e 2).

Tabela 4. Valores dos escores atribuídos às marcações imunoistoquímicas para cada proteína de acordo com cada grupo experimental.

Proteína	Escore	4 minutos		30 minutos		45 minutos	
		C0	L0	C30	L30	C45	L45
OPG	1- Ausente	9/10	2/8	0/10	0/8	0/8	0/9
	2- Leve	1/10	4/8	5/10	1/8	1/8	4/9
	3- Moderada	0/10	2/8	1/10	6/8	7/8	4/9
	4- Severa	0/10	0/8	4/10	1/8	0/8	1/9
RANK	1- Ausente	9/10	6/8	0/10	0/8	0/8	0/9
	2- Leve	1/10	2/8	0/10	5/8	0/8	1/9
	3- Moderada	0/10	0/8	9/10	3/8	4/8	8/9
	4- Severa	0/10	0/8	1/10	0/8	4/8	0/9
RANKL	1- Ausente	0/10	0/8	0/10	0/8	0/8	0/9
	2- Leve	2/10	0/8	1/10	4/8	3/8	7/9
	3- Moderada	4/10	2/8	9/10	3/8	4/8	2/9
	4- Severa	4/10	6/8	0/10	1/8	1/8	0/9
TRAP	1- Ausente	0/10	0/8	1/10	0/8	0/8	0/9
	2- Leve	9/10	0/8	9/10	5/8	5/8	8/9
	3- Moderada	1/10	6/8	0/10	2/8	3/8	1/9
	4- Severa	0/10	2/8	0/10	1/8	0/8	0/9

* Diferença estatística significativa entre o grupo controle e tratado.

Tabela 5. Valores de significâncias (p) e de Mann-Whitney U para cada proteína confrontando os grupos controles e tratados e cada período de tempo extra-alveolar.

Proteína	Tempo extra-alveolar	P valor	Mann-Whitney U
OPG	4 min.	0,0066 *	13,00
	30 min.	0,7770	36,50
	45 min.	0,3904	28,00
RANK	4 min.	0,4497	34,00
	30 min.	0,0059 *	13,50
	45 min.	0,0188 *	16,00
RANKL	4 min.	0,1219	24,00
	30 min.	0,2374	28,50
	45 min.	0,0967	20,50
TRAP	4 min.	0,0003 *	3,000
	30 min.	0,0381 *	22,50
	45 min.	0,2393	26,50

* Diferença estatística significativa entre o grupo controle e tratado.

Gráfico 1. Resultados das imunomarcações para cada proteína nos grupos controles (C0, C30, C45).

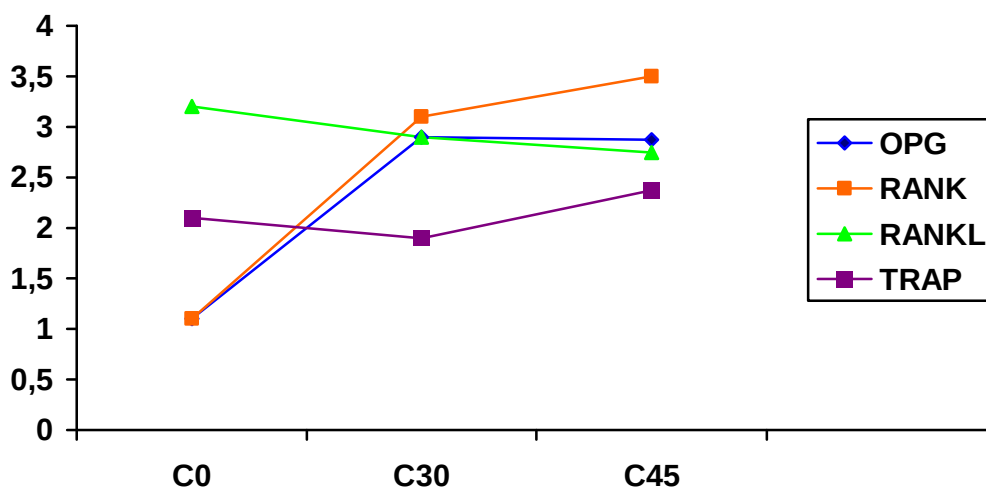
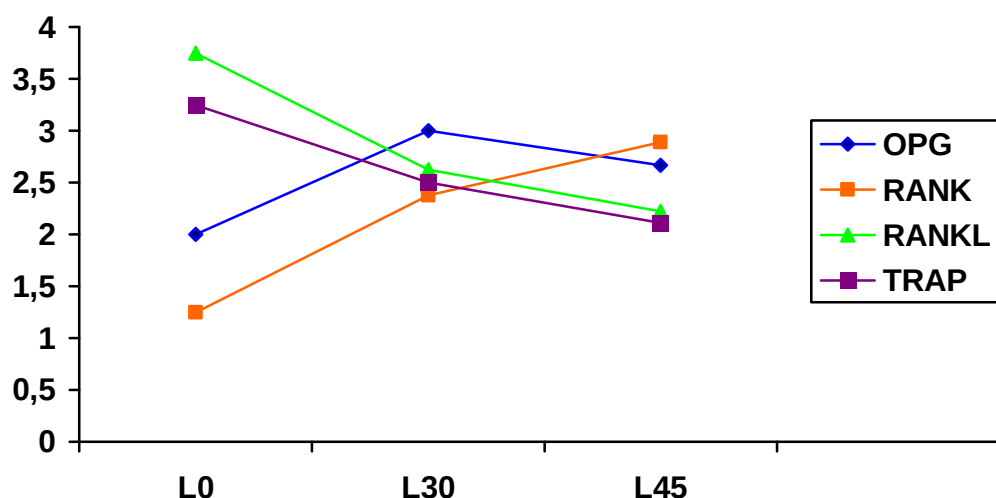


Gráfico 2. Resultados das imunomarcações para cada proteína nos grupos tratados com Laser (L0, L30, L45).



Analizando as proteínas OPG, RANK e RANKL em cada período extra-alveolar, houve predominância da RANKL sobre a RANK e OPG com diferença estatística significativa no reimplante imediato tanto no grupo controle como no grupo tratado ($p < 0,05$, Tabela 5). No período extra-alveolar de 30 minutos houve equilíbrio entre as proteínas em ambos os grupos, controle e tratado com laser ($p > 0,05$, Tabela 5). No período extra-alveolar de 45 minutos houve predominância da RANK sobre a RANKL em ambos os grupos ($p < 0,05$, Tabela 5).

Tabela 6. Valores de significâncias (p) e de Kruskal-Wallis (KW) para cada período extra-alveolar avaliando as proteínas OPG, RANK e RANKL.

Tempo extra-alveolar	Grupo	OPG	RANK	RANKL	p	KW
4 min.	C0	a	a	b*	< 0.0001*	27,67
	L0	a	a	b*	0,0002 *	17,47
30 min.	C30	a	a	a	0,6820	0,7654
	L30	a	a	a	0,1247	4,163
45 min.	C45	a, b	a*	b	0,0356 *	6,673
	L45	a, b	a*	b	0,0299 *	7,019

* Diferença estatística significativa. Grupos com a mesma letra (a) ou (b), em cada grupo, não possuem diferença estatisticamente significante entre si.



Discussão



4 *Discussão*

A literatura mostra que, mesmo nos dias atuais, o sucesso do reimplante dentário é limitado, pois grande parte dos dentes é perdida devido à reabsorção radicular progressiva (68-70), justificando a busca de novas estratégias para controlar este problema.

O modelo experimental escolhido para esta análise foi o rato, pelo baixo custo, fácil acesso e existência de uma metodologia definida para reproduzir o trauma dentário a ser estudado (43-49).

A maioria dos trabalhos utilizou métodos histológicos e histomorfométricos para avaliar o processo de reparo no reimplante dentário (43-47, 49). Este trabalho demonstrou que a análise imunoistoquímica pode ser considerada uma importante ferramenta de estudo, eficaz para fornecer uma avaliação diferenciada da expressão e da localização de cada proteína envolvida no processo de reparo do reimplante dentário, fornecendo informações complementares às obtidas na análise histomorfométrica. Além disso, confirmou os relatos de Manfrin et al. 2007 (71), quanto à participação do sistema RANK-RANKL-OPG no processo de reparo após reimplante dentário.

Os tempos extra-alveolares de 4, 30 e 45 minutos em soro fisiológico foram estipulados baseando-se nas propriedades de bioestimulação do laser (LLL), uma vez que a literatura mostra que nesses períodos, há células do ligamento periodontal viáveis (72,73). Um tempo extra-alveolar inferior a 30 minutos apresenta um prognóstico melhor, com possibilidade de reabsorção de em torno de 10%, de 30 a 90 minutos 57% e além de 90 minutos pode ser superior a 90% (72). Com a variação do tempo extra-alveolar foi possível avaliar a atuação do laser em diferentes quantidades de células viáveis do ligamento periodontal.

O tratamento endodôntico foi instituído somente nos dentes que permaneceram por 30 e 45 minutos extra-alveolares. O objetivo deste procedimento foi evitar a ação de produtos teciduais nocivos resultantes da necrose pulpar que

poderiam favorecer a reabsorção do tipo inflamatória (4, 10, 74).

No reimplante imediato (4 minutos), esse tratamento não foi instituído pela possibilidade de revascularização pulpar, já que o dente de rato apresenta um amplo forame apical, o que se confirmou na análise histológica. Apesar da mudança na metodologia, o objetivo foi alcançado, evitando-se a interferência da necrose pulpar no processo de reparo em todos os grupos.

O hidróxido de cálcio foi o material utilizado como curativo de demora nos dentes reimplantados com tempo extra-alveolar de 30 e 45 minutos, devido à sua boa capacidade de prevenir e/ou controlar a progressão da reabsorção inflamatória (74,75) porque além da ação antimicrobiana, neutraliza toxinas e promove o reparo (76-80).

Ainda na tentativa de controlar interferências que pudessem contribuir para a contaminação nos casos de reimplante dentário e conseqüentemente atuar na reabsorção radicular foi instituída a antibioticoterapia sistêmica (3, 72, 81) utilizando antibiótico a base de penicilina em todos os grupos.

A estratégia investigada neste trabalho foi o efeito bioestimulador do laser em baixa intensidade que pode ser obtido utilizando-se diferentes equipamentos. O primeiro laser estudado com este efeito foi o laser de rubi (694nm), em seguida vieram os de He-Ne (632,8 nm), AsGa (904nm), AsGaAl (780 a 890nm) e o InGaAlP (fosfato de índio gálio e alumínio, 630 a 700nm) (11). O laser utilizado neste trabalho foi AsGaAl que tem como propriedades: potencial de penetração profunda é portátil, de fácil utilização e de baixo custo (42).

A despeito da escassez de pesquisas com objetivo semelhante, a determinação dos parâmetros do laser utilizada nessa pesquisa, baseou-se inicialmente em características inerentes ao equipamento escolhido no que diz respeito ao meio ativo, comprimento do cabo da ponteira, polarização, diâmetro, área e divergência do feixe de laser. O comprimento de onda, por sua vez, baseou-se no tecido alvo, ou seja, o ligamento periodontal remanescente. Desta forma, para a parte do ligamento remanescente aderida ao dente, a luz visível (630 nm) foi utilizada por penetrar menos nos tecidos sendo indicada nas lesões superficiais, enquanto que, o infravermelho (830 nm) por ser mais penetrante, podendo atingir os tecidos profundos, foi utilizada no ligamento periodontal remanescente na parede do alvéolo (82, 83).

Apesar da absorção da luz visível e infravermelha ocorrer de maneira diferente, a primeira sendo absorvida pela cadeia respiratória que acontece nas mitocôndrias (84) e a outra atuando na membrana celular (85), o resultado dessas interações é semelhante conduzindo ao aumento da atividade enzimática, transporte aumentado de elétron e produção aumentada de adenosina trifosfato (ATP) podendo, desta forma, favorecer várias reações do metabolismo celular durante um processo de reparo (85-89). Os resultados dessa pesquisa, no entanto, não demonstraram que os potenciais efeitos do laser em baixa intensidade na cicatrização (90-92), estimulação da proliferação celular (93-95) e vascular (96, 97), efeito antiinflamatório (98-101), analgésico (97) e bioestimulador da remodelação óssea (36, 37, 102, 103) foram benefícios ao processo de reparo após o reimplante dentário.

A avaliação histomorfométrica não mostrou diferença significativa entre os grupos controles e tratados nos diferentes períodos de tempo extra-alveolar quanto à reabsorção inflamatória e por substituição. Este resultado foi confirmado na análise imunoistoquímica mostrando equivalência no sistema RANK, RANKL e OPG entre os grupos controles e tratados em cada período de tempo extra-alveolar.

A predominância de anquilose no reimplante com tempo extra-alveolar de 30 minutos no grupo tratado com laser foi decorrente de uma deposição mais precoce de tecido ósseo neste grupo. Uma possível explicação para este evento foi a aplicação do laser no alvéolo, concordando com relatos anteriores que afirmaram que o laser aplicado neste ambiente, favorece a neoformação óssea alveolar (32, 33, 35). O objetivo principal desta manobra foi estimular as células do ligamento periodontal remanescentes no alvéolo, entretanto, os resultados obtidos indicam que houve maior estimulação de células ósseas, provavelmente devido à pequena quantidade de células do ligamento periodontal presentes no momento da bioestimulação.

É importante ressaltar que a formação irregular do osso primário ou imaturo nos reimplantes dentários sobre as áreas desprotegidas da superfície radicular que caracteriza o quadro de anquilose alvéolo-dentária primária poderá ser de caráter transitório ou evoluir para uma reabsorção por substituição, dependendo principalmente da viabilidade do ligamento periodontal (47).

Nos traumatismos e reimplantes dentários existem áreas de necrose, formação de coágulo e exsudato inflamatório no espaço e ligamento periodontal.

Nessas áreas, nas primeiras horas, acontece a migração celular e diferenciação de células osteoblásticas que imediata e aceleradamente depositam matriz óssea desorganizada típica do osso imaturo, inclusive sobre áreas da superfície radicular desprotegida pela perda de cementoblastos e pré-cimento em decorrência da lesão provocada (72, 104). Dessa forma, como a atuação do laser na proliferação celular dos osteoblastos, fibroblastos, macrófagos, linfócitos, auxiliando ainda na diferenciação e ativação dos osteoclastos (93-95, 105-108) justifica uma resposta acelerada. A predominância da proteína TRAP nos tempos extra-alveolares de 4 e 30 minutos no grupo do laser confirmam uma aceleração no processo de reparo nesses grupos determinada pela sua ação na proliferação celular, pois quanto maior o número de células viáveis maiores foram as diferenças observadas para esta proteína.

É necessário ressaltar que cada um dos parâmetros do laser utilizado, ou seja, o comprimento de onda, a potência de saída, modo de emissão, modo de aplicação, número de aplicações, área de aplicação, energia, tempo de exposição; densidade energética de radiação tem um papel importante no resultado obtido com o uso do LLLT (105-107). Além disso, pesquisas mostram que sua associação com drogas específicas ou fotossensibilizadores também podem modificar os resultados (101, 109-112). Assim, a ação do laser (LLLT) para a área de traumatismo dentário ainda necessita de uma ampla investigação pela grande quantidade de variáveis que podem alterar a resposta obtida e o presente resultado deve ser interpretado como um dos parâmetros iniciais.

Quanto ao reimplante dentário, muitos não acreditam no procedimento pelo grande número de insucessos que observaram. Esses insucessos não advêm de limitação biológica e sim de limitações técnicas e das condições em que chegam os dentes a serem reimplantados. Portanto, o processo de reparo do reimplante deve ser visto de maneira semelhante ao da cárie dentária e doença periodontal onde a prevenção e a educação à população e aos profissionais são fundamentais para um controle eficiente (72).



Conclusão



6 Conclusão

A partir da análise dos resultados obtidos foi possível concluir que:

- a ação do laser em baixa intensidade, nas especificações deste estudo, não favoreceu o processo de reparo após reimplante dentário em ratos;
- outros estudos, utilizando diferentes parâmetros de aplicação, são necessários para melhor avaliar a efetividade do LLLT no reimplante dentário.



Referências



Referências*

1. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 4. Factors related to periodontal ligament healing. *Endod Dent Traumatol* 1995;11:76-89.
2. Layug ML, Barrett EJ, Kenny DJ. Interim storage of avulsed permanent teeth. *J Can Dent Assoc* 1998;64:357-63, 365-9.
3. Trope M. Clinical management of the avulsed tooth: present strategies and future directions. *Dent Traumatol* 2002;18:1-11.
4. 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;10:43-53.
5. Hammarström L, Pierce A, Blomlöf L, Feiglin B, Lindskog S. Tooth avulsion and replantation - a review. *Endod Dent Traumatol* 1986;2:1-8.
6. Andreasen JO, Andreasen FM. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth, 3th ed. Copenhagen: Munksgaard;1994.
7. Filippi A, Pohl Y, von Arx T. Treatment of replacement resorption with Emdogain - a prospective clinical study. *Dent Traumatol* 2002;18:138-43.
8. Loo WT, Dou YD, Chou WK, Wang M. Thymosin alpha 1 provides short-term and long-term benefits in the reimplantation of avulsed teeth: a double-blind randomized control pilot study. *Am J Emerg Med* 2008;26:574-7.
9. Lam K, Sae-Lim V. The effect of Emdogain gel on periodontal healing in replanted monkeys' teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2004;97:100-7.
10. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 1. Diagnosis of healing complications. *Endod Dent Traumatol* 1995;11:51-8.

* Normalização segundo a Revista Dental Traumatology (Anexo B)

11. Sun G, Tunér J. Low-level laser therapy in dentistry. *Dent Clin North Am* 2004;48:1061-76.
12. Khadra M, Ronold HJ, Lyngstadaas SP, Ellingsen JE, Haanaes HR. Low-level laser therapy stimulates bone-implant interaction: an experimental study in rabbits. *Clin Oral Implants Res* 2004;15:325-32.
13. Goldman L, Hornby P, Meyer R, Goldman B. Impact of the laser on dental caries. *Nature* 1964;203:417.
14. Midda M, Renton-Harper P. Lasers in dentistry. *Br Dent J* 1991;170:343-6.
15. Miller M, Truhe T. Lasers in dentistry: an overview. *J Am Dent Assoc* 1993;124:32-5.
16. Schindl A, Neumann R. Low-intensity laser therapy is an effective treatment for recurrent herpes simplex infection. Results from a randomized double-blind placebo-controlled study. *J Invest Dermatol* 1999;113:221-3.
17. Amorim JC, de Sousa GR, de Barros Silveira L, Prates RA, Pinotti M, Ribeiro MS. Clinical study of the gingiva healing after gingivectomy and low-level laser therapy. *Photomed Laser Surg*. 2006 Oct;24(5):588-94.
18. Lai SM, Zee KY, Lai MK, Corbet EF. Clinical and radiographic investigation of the adjunctive effects of a low-power He-Ne laser in the treatment of moderate to advanced periodontal disease: A pilot study. *Photomed Laser Surg*. In press 2008.
19. Ladalardo TC, Pinheiro A, Campos RA, Brugnera Júnior A, Zanin F, Albernaz PL, Weckx LL. Laser therapy in the treatment of dentine hypersensitivity. *Braz Dent J* 2004;15:144-50.
20. Kimura Y, Wilder-Smith P, Yonaga K, Matsumoto K. Treatment of dentine hypersensitivity by laser; a review. *J Clin Periodontol* 2000; 27: 715-721.
21. Godoy BM, Arana-Chavez VE, Núñez SC, Ribeiro MS. Effects of low-power red laser on dentine-pulp interface after cavity preparation. An ultrastructural study. *Arch Oral Biol* 2007;52:899-903.
22. Abramoff MM, Lopes NN, Lopes LA, Dib LL, Guilherme A, Caran EM et al. Low-level laser therapy in the prevention and treatment of chemotherapy-induced oral mucositis in young patients. *Photomed Laser Surg* 2008;26:393-400.

23. Arora H, Pai KM, Maiya A, Vidyasagar MS, Rajeev A. Efficacy of He-Ne Laser in the prevention and treatment of radiotherapy-induced oral mucositis in oral cancer patients. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:180-6.
24. Jaguar GC, Prado JD, Nishimoto IN, Pinheiro MC, de Castro DO Jr, da Cruz Perez DE et al. Low-energy laser therapy for prevention of oral mucositis in hematopoietic stem cell transplantation. *Oral Dis* 2007;13:538-43.
25. Cruz LB, Ribeiro AS, Rech A, Rosa LG, Castro CG Jr, Brunetto AL. Influence of low-energy laser in the prevention of oral mucositis in children with cancer receiving chemotherapy. *Pediatr Blood Cancer* 2007;48:435-40.
26. Fikácková H, Dostálová T, Navrátil L, Klaschka J. Effectiveness of low-level laser therapy in temporomandibular joint disorders: a placebo-controlled study. *Photomed Laser Surg* 2007;25:297-303.
27. Mazzetto MO, Carrasco TG, Bidinelo EF, de Andrade Pizzo RC, Mazzetto RG. Low intensity laser application in temporomandibular disorders: a phase I double-blind study. *Cranio* 2007;25:186-92.
28. da Cunha LA, Firoozmand LM, da Silva AP, Esteves SA, Oliveira W. Efficacy of low-level laser therapy in the treatment of temporomandibular disorder. *Int Dent J* 2008;58:213-7.
29. Emshoff R, Bösch R, Pümpel E, Schöning H, Strobl H. Low-level laser therapy for treatment of temporomandibular joint pain: a double-blind and placebo-controlled trial. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2008;105:452-6.
30. Youssef M, Ashkar S, Hamade E, Gutknecht N, Lampert F, Mir M. The effect of low-level laser therapy during orthodontic movement: a preliminary study. *Lasers Med Sci* 2008;23:27-33.
31. Seifi M, Shafeei HA, Daneshdoost S, Mir M. Effects of two types of low-level laser wave lengths (850 and 630 nm) on the orthodontic tooth movements in rabbits. *Lasers Med Sci* 2007;22:261-4.
32. Garcia VG, Okamoto T, Kina JR, Fonseca RG, Theodoro LH. Reparação de feridas de extração dental submetidas ao tratamento com raio laser. *Rev Fac Odont Lins* 1996;9:33-42.

33. Verplanken M. Stimulation of wound healing after tooth extraction using low-intensity laser therapy. *Rev Belge Med Dent* 1987;42:134-8.
34. Takeda Y. Irradiation effect of low-energy laser on alveolar bone after tooth extraction. Experimental study in rats. *Int J Oral Maxillofac Surg* 1988;176:388-91.
35. Lopes Junior W, Garcia VG, Okamoto T, Theodoro LH, Eduardo CP. Repairing process in infected wounds dental extraction, treated with protosensitizer drug, associated or no the low intensity laser: histological study in mice. *Journal Of Oral Laser Applications* 2001;1:49-49.
36. Kim YD, Kim SS, Hwang DS, Kim SG, Kwon YH, Shin SH et al. Effect of low-level laser treatment after installation of dental titanium implant-immunohistochemical study of RANKL, RANK, OPG: an experimental study in rats. *Lasers Surg Med* 2007;39:441-50.
37. Jakse N, Payer M, Tangl S, Berghold A, Kirmeier R, Lorenzoni M. Influence of low-level laser treatment on bone regeneration and osseointegration of dental implants following sinus augmentation. An experimental study on sheep. *Clin Oral Implants Res* 2007;18:517-24.
38. Demidova-Rice TN, Salomatina EV, Yaroslavsky AN, Herman IM, Hamblin MR. Low-level light stimulates excisional wound healing in mice. *Lasers Surg Med* 2007;39:706-15.
39. Conlan MJ, Rapley JW, Cobb CM. Biostimulation of wound healing by low-energy laser irradiation: a review. *J Clin Periodontol* 1996;23:492-6.
40. Posten W, Wrone DA, Dover JS, Arndt KA, Silapunt S, Alam M. Low-level laser therapy for wound healing: mechanism and efficacy. *Dermatol Surg* 2005;31:334-40.
41. Walsh LJ. The current status of low level laser therapy in dentistry. Part 1. Soft tissue applications. *Aust Dent J* 1997;42:247-54.
42. Parker S. Low-level laser use in dentistry. *Br Dent J* 2007;202:131-8.
43. Gulinelli JL, Panzarini SR, Fattah CM, Poi WR, Sonoda CK, Negri MR et al. Effect of root surface treatment with propolis and fluoride in delayed tooth replantation in rats. *Dent Traumatol*. In press 2008.
44. Lustosa-Pereira A, Garcia RB, de Moraes IG, Bernardineli N, Bramante CM, Bortoluzzi EA. Evaluation of the topical effect of alendronate on the

- root surface of extracted and replanted teeth. Microscopic analysis on rats' teeth. *Dent Traumatol* 2006;22:30-5.
45. Panzarini SR, Perri de Carvalho AC, Poi WR, Sonoda CK. Use of vitamin C in delayed tooth replantation. *Braz Dent J* 2005;16:17-22.
46. Mori GG, Garcia RB, Gomes de Moraes I, Bramante CM, Bernardineli N. Morphometric and microscopic evaluation of the effect of a solution of alendronate as an intracanal therapeutic agent in rat teeth submitted to late reimplantation. *Dent Traumatol* 2007;23:218-21.
47. Poi WR, Carvalho RM, Panzarini SR, Sonoda CK, Manfrin TM, Rodrigues TS. Influence of enamel matrix derivative (Emdogain) and sodium fluoride on the healing process in delayed tooth replantation: histologic and histometric analysis in rats. *Dent Traumatol* 2007;23:35-41.
48. Zanetta-Barbosa D, de Carvalho AC. Effect of brief storage in ATP solution on periodontal healing after replantation of teeth in rats. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:193-9.
49. Negri MR, Panzarini SR, Poi WR, Sonoda CK, Gulinelli JL, Saito CT. Analysis of the healing process in delayed tooth replantation after root canal filling with calcium hydroxide, Sealapex and Endofill: a microscopic study in rats. *Dent Traumatol* 2008;24:645-50.
50. Lacey DL, Timms E, Tan HL, Kelley MJ, Dunstan CR, Burgess T et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-76.
51. Anderson DM, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tomestko ME, Roux ER et al. A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature* 1997;390:175-9.
52. Kartsogianinnis V, Zhou H, Horwood NJ, Thomas RJ, Hards DK, Quinn JM et al. Localization of RANKL (receptor activator of NF kappa B ligand) mRNA and protein in skeletal and extraskeletal tissues. *Bone* 1999;25:525-34.
53. Buckley KA, Fraser WD. Receptor activator for nuclear factor kappa B ligand and osteoprotegerin: regulators of bone physiology and immune responses/potential therapeutic agents and biochemical markers. *Ann Clin Biochem* 2002;39:551-6.

54. Schwartz EM, O Keefe RJ. Breakthrough in bone: the molecular mechanism of osteoclast/osteoblast coupling revealed. *Cur Opin Orthopaedics* 2000;11:329-35.
55. Ohazama A, Courtney JM, Sharpe PT. Opg, Rank, and Rankl in tooth development: co-ordination of odontogenesis and osteogenesis. *J Dent Res* 2004;83:241-4.
56. Khosla S. Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology* 2001;142:5050-5.
57. Stejskal D, Bartek J, Patorkova R, Ruzcka V, Oral L, Horalic D. osteoprotegerin, RANK, RANKL. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub* 2001;145:61-4.
58. Aubin JE, Bonnelye E. Osteoprotegerin and its ligand: a new paradigm for regulation osteoclastogenesis and bone resorption. *Osteoporos Int* 2000;11:905-13.
59. Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000;289:1504-8.
60. de Amorim FP, Ornelas SS, Diniz SF, Batista AC, da Silva TA. Imbalance of RANK, RANKL and OPG expression during tibial fracture repair in diabetic rats. *J Mol Histol* 2008;39:401-8.
61. Heymann MF, Riet A, Le Goff B, Battaglia S, Paineau J, Heymann D. OPG, RANK and RANK ligand expression in thyroid lesions. *Regul Pept* 2008;148:46-53.
62. Boyce BF, Xing L. Functions of RANKL/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Arch Biochem Biophys* 2008;473:139-46.
63. Halleen JM, Tiitinen SL, Ylipahkala H, Fagerlund KM, Väänänen HK. Tartrate-resistant acid phosphatase 5b (TRACP 5b) as a marker of bone resorption. *Clin Lab* 2006;52:499-509.
64. Halleen JM, Hentunen TA, Karp M, Käkönen SM, Pettersson K, Väänänen HK. Characterization of serum tartrate-resistant acid phosphatase and development of a direct two-site immunoassay. *J Bone Miner Res* 1998;13:683-7.
65. Okamoto T, Russo MC. Wound healing following tooth extraction: histochemical study in rats. *Rev Fac Odontol Araçatuba* 1973;2:153-69.

-
66. Avrameas S, Uriel J. Méthode de marquage d'antigènes et d'anticorps avec de enzymes et son application en immudiffusion. C R Acad Sci Hebd Seances Acad Sci D 1966;262:2543-5.
 67. Nakane PK, Pierce GB Jr. Enzyme-labeled antibodies: preparation and application for the localization of antigens. J Histochem Cytochem 1966;14:929-31.
 68. Soares A de J, Gomes BP, Zaia AA, Ferraz CC, de Souza-Filho FJ. Relationship between clinical-radiographic evaluation and outcome of teeth replantation. Dent Traumatol 2008;24:183-8.
 69. Kenny DJ, Barrett EJ. Pre-replantation storage of avulsed teeth: fact and fiction. J Calif Dent Assoc 2001;29:275-81.
 70. Layug ML, Barrett EJ, Kenny DJ. Interim storage of avulsed permanent teeth. J Can Dent Assoc 1998;64:357-63, 365-9.
 71. Manfrin TM. Imunomarcações das proteínas OPG, RANK e RANKL em dentes reimplantados de rato [tese]. Araçatuba, São Paulo: Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho; 2007, 73p.
 72. Consolaro A, org. Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas. 2. ed. Maringá: Dental Press, 2005.
 73. Blomlöf L, Andersson L, Lindskog S, Hedström KG, Hammarström L. Periodontal healing of replanted monkey teeth prevented from drying. Acta Odontol Scand 1983;41:117-23.
 74. Blomlöf L, Lencheden A, Lindskog S. Endodontic infection and calcium hydroxide-treatment. Effects on periodontal healing in mature and immature replanted monkey teeth. J Clin Periodontol 1992;19:652-8.
 75. Lencheden A, Blomlöf L, Lindskog S. Effect of delayed calcium hydroxide treatment on periodontal healing in contaminated replanted teeth. Scand J Dent Res 1991;99:147-53.
 76. Sjogren U, Figdor D, Spangberg L, Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. Int Endod J 1991;24:119-25.
 77. Bystrom A, Claesson R, Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. Endod Dent Traumatol

- 1985;1:170-5.
78. 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.
 79. Estrela C, Pesce HF. Chemical analysis of the liberation of calcium and hydroxyl ions from calcium hydroxide pastes in connective tissue in the dog-Part I. *Braz Dent J* 1996;7:41-6.
 80. Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J Endod* 1993;19:76-8.
 81. Flores MT, Andreasen JO, Bakland LK, Feiglin B, Gultmann JL, Oikarinen K et al. Guidelines for the evaluation and management of traumatic dental injuries. *Dent Traumatol* 2001;17:193-8.
 82. Brugnera Júnior A, Villa RG, Genovese WJ. *Laser na Odontologia*. 1. ed. São Paulo: Pancast, 1991.
 83. Genovese WJ. *Laser de baixa intensidade: aplicações terapêuticas em odontologia*. 1. ed. São Paulo: Lovise, 2000.
 84. Karu TI. Molecular mechanism of the therapeutic effect of low-intensity laser radiation. *Lasers Life Sci* 1988;2:53-74.
 85. Passarella S, Casamassima E, Molinari S, Pastore D, Quagliariello E, Catalano IM, Cingolani A. Increase of proton electrochemical potential and ATP synthesis in rat liver mitochondria irradiated in vitro by helium-neon laser. *FEBS Lett* 1984 ;175:95-9.
 86. Pastore D, Greco M, Petragallo VA, Passarella S. Increase in $\Delta\psi$ ratio of the cytochrome c oxidase reaction in mitochondria irradiated with helium-neon laser. *Biochem Mol Biol Int* 1994;34:817-26.
 87. Karu T, Pyatibrat L, Kalendo G. Irradiation with He-Ne laser increases ATP level in cells cultivated in vitro. *J Photochem Photobiol B* 1995;27(3):219-23.
 88. Pastore D, Di Martino C, Bosco G, Passarella S. Stimulation of ATP synthesis via oxidative phosphorylation in wheat mitochondria irradiated with helium-neon laser. *Biochem Mol Biol Int* 1996;39:149-57.
 89. Tafur J, Mills PJ. Low-intensity light therapy: exploring the role of redox mechanisms. *Photomed Laser Surg* 2008;26:323-8.

90. Rezende SB, Ribeiro MS, Núñez SC, Garcia VG, Maldonado EP. Effects of a single near-infrared laser treatment on cutaneous wound healing: biometrical and histological study in rats. *J Photochem Photobiol B* 2007;87:145-53.
91. Al-Watban FA, Zhang XY, Andres BL. Low-level laser therapy enhances wound healing in diabetic rats: a comparison of different lasers. *Photomed Laser Surg* 2007;25:72-7.
92. Al-Watban FA, Zhang XY, Andres BL, Al-Anize A. Visible lasers were better than invisible lasers in accelerating burn healing on diabetic rats. *Photomed Laser Surg*. In press 2008.
93. Chen CH, Hung HS, Hsu SH. Low-energy laser irradiation increases endothelial cell proliferation, migration, and eNOS gene expression possibly via PI3K signal pathway. *Lasers Surg Med* 2008;40:46-54.
94. Mirzaei M, Bayat M, Mosafa N, Mohsenifar Z, Piryaei A, Farokhi B et al. Effect of low-level laser therapy on skin fibroblasts of streptozotocin-diabetic rats. *Photomed Laser Surg* 2007;25:519-25.
95. Pires Oliveira DA, de Oliveira RF, Zangaro RA, Soares CP. Evaluation of low-level laser therapy of osteoblastic cells. *Photomed Laser Surg* 2008;26:401-4.
96. Bossini PS, Fangel R, Habenschus RM, Renno AC, Benze B, Zuanon JÁ et al. Low-level laser therapy (670 nm) on viability of random skin flap in rats. *Lasers Med Sci*. In press 2008.
97. Schindl L, Schindl M, Polo L, Jori G, Perl S, Schindl A. Effects of low power laser-irradiation on differential blood count and body temperature in endotoxin-preimmunized rabbits. *Life Sci* 1997;60:1669–77.
98. Albertini R, Villaverde AB, Aimbire F, Salgado MA, Bjordal JM, Alves LP et al. Anti-inflammatory effects of low-level laser therapy (LLLT) with two different red wavelengths (660 nm and 684 nm) in carrageenan-induced rat paw edema. *J Photochem Photobiol B* 2007;89:50-5.
99. Boschi ES, Leite CE, Saciura VC, Caberlon E, Lunardelli A, Bitencourt S et al. Anti-Inflammatory effects of low-level laser therapy (660 nm) in the early phase in carrageenan-induced pleurisy in rat. *Lasers Surg Med* 2008;40:500-8.

100. Bortone F, Santos HA, Albertini R, Pesquero JB, Costa MS, Silva JA Jr. Low level laser therapy modulates kinin receptors mRNA expression in the subplantar muscle of rat paw subjected to carrageenan-induced inflammation. *Int Immunopharmacol* 2008;8:206-10.
101. Viegas VN, Abreu ME, Viezzer C, Machado DC, Filho MS, Silva DN et al. Effect of low-level laser therapy on inflammatory reactions during wound healing: comparison with meloxicam. *Photomed Laser Surg* 2007;25:467-73.
102. Pretel H, Lizarelli RF, Ramalho LT. Effect of low-level laser therapy on bone repair: histological study in rats. *Lasers Surg Med* 2007;39:788-96.
103. Liu X, Lyon R, Meier HT, Thometz J, Haworth ST. Effect of lower-level laser therapy on rabbit tibial fracture. *Photomed Laser Surg* 2007;25:487-94.
104. Hammarström L, Blomlöf L, Lindskog S. Dynamics of dentoalveolar ankylosis and associated root resorption. *Endod Dent Traumatol* 1989;5:163-75.
105. Correa F, Lopes Martins RA, Correa JC, Iversen VV, Joenson J, Bjordal JM. Low-level laser therapy (GaAs $\lambda = 904$ nm) reduces inflammatory cell migration in mice with lipopolysaccharide-induced peritonitis. *Photomed Laser Surg* 2007;25:245-9.
106. Houreld NN, Abrahamse H. Effectiveness of helium-neon laser irradiation on viability and cytotoxicity of diabetic-wounded fibroblast cells. *Photomed Laser Surg* 2007;25:474-81.
107. Vladimirov YA, Osipov AN, Klebanov GI. Photobiological principles of therapeutic applications of laser radiation. *Biochemistry (Mosc)* 2004;69:81-90.
108. Dube A, Bansal H, Gupta PK. Modulation of macrophage structure and function by low level He-Ne laser irradiation. *Photochem Photobiol Sci* 2003;2:851-5.
109. Diniz JS, Nicolau RA, de Melo Ocarino N, do Carmo Magalhães F, de Oliveira Pereira RD, Serakides R. Effect of low-power gallium-aluminum-arsenium laser therapy (830 nm) in combination with bisphosphonate treatment on osteopenic bone structure: an experimental animal study. *Lasers Med Sci*. In press 2008.

110. de Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, Garcia VG. Influence of photodynamic therapy on the development of ligature-induced periodontitis in rats. *J Periodontol* 2007;78:566-75.
111. Al-Watban FA, Andres BL. Effect of HeNe laser (632.8 nm) and Polygen on CHO cells. *J Clin Laser Surg Med* 2000;18:145-50.
112. de Almeida JM, Theodoro LH, Bosco AF, Nagata MJ, Oshiiwa M, Garcia VG. In vivo effect of photodynamic therapy on periodontal bone loss in dental furcations. *J Periodontol* 2008;79:1081-8.



Figuras

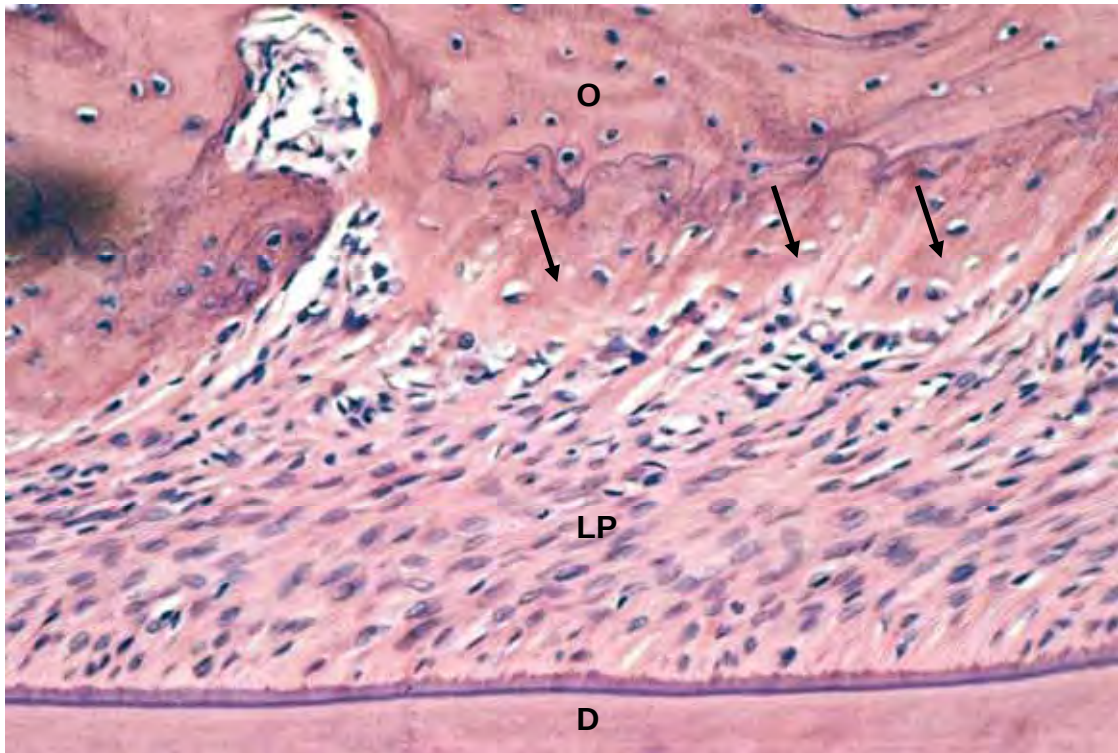


Fig. 1. Grupo C0 – Parede óssea alveolar (O) apresentando discreta neoformação óssea (setas) não comprometendo o espaço do ligamento periodontal (LP) preenchido por tecido conjuntivo com disposição oblíqua das fibras com relação à superfície radicular. Dentina (D). H.E., original 160x.

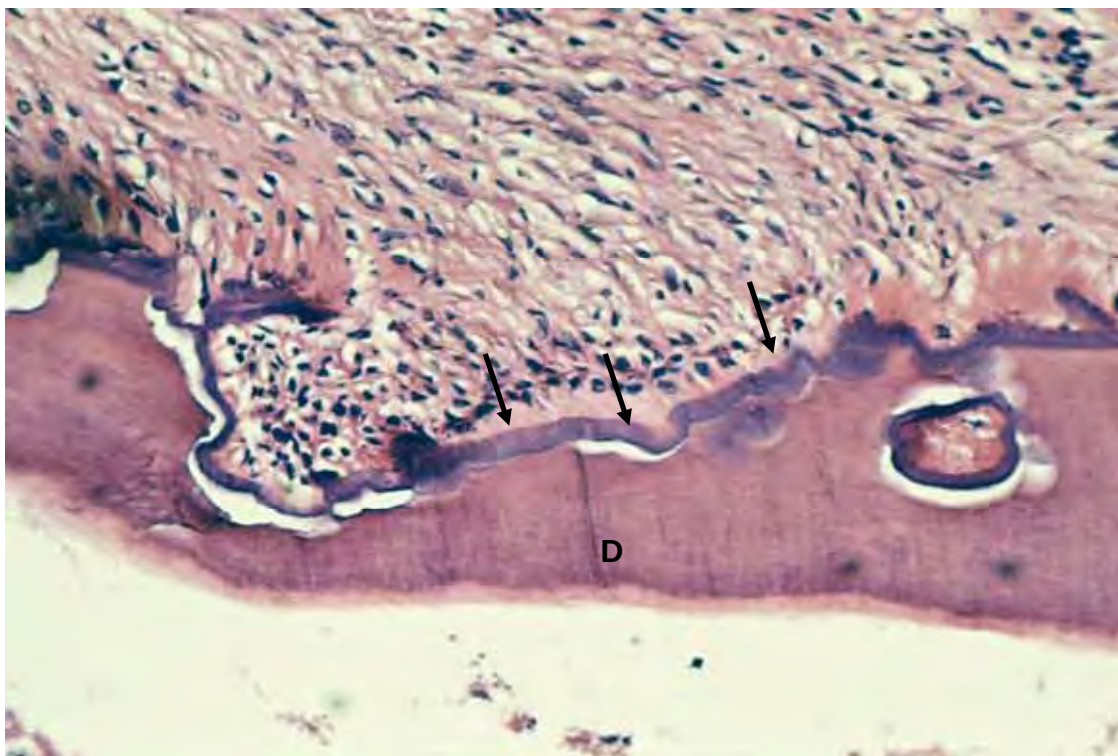


Fig. 2. Grupo C0 – Áreas com reabsorção do cimento e da dentina (D) reparados por cimento neoformado (setas). H.E., original 160x.

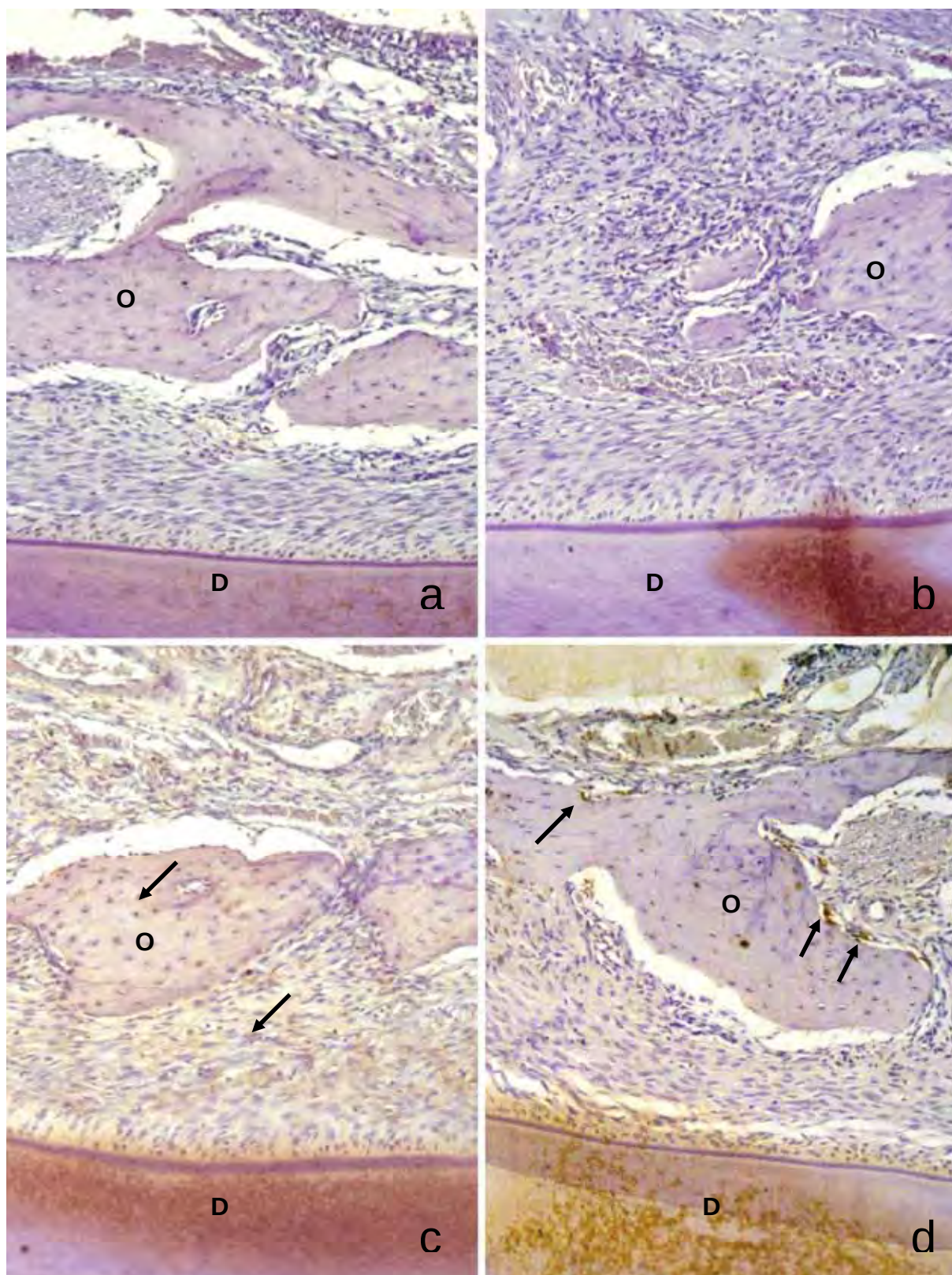


Fig. 3. Grupo C0 – Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x.

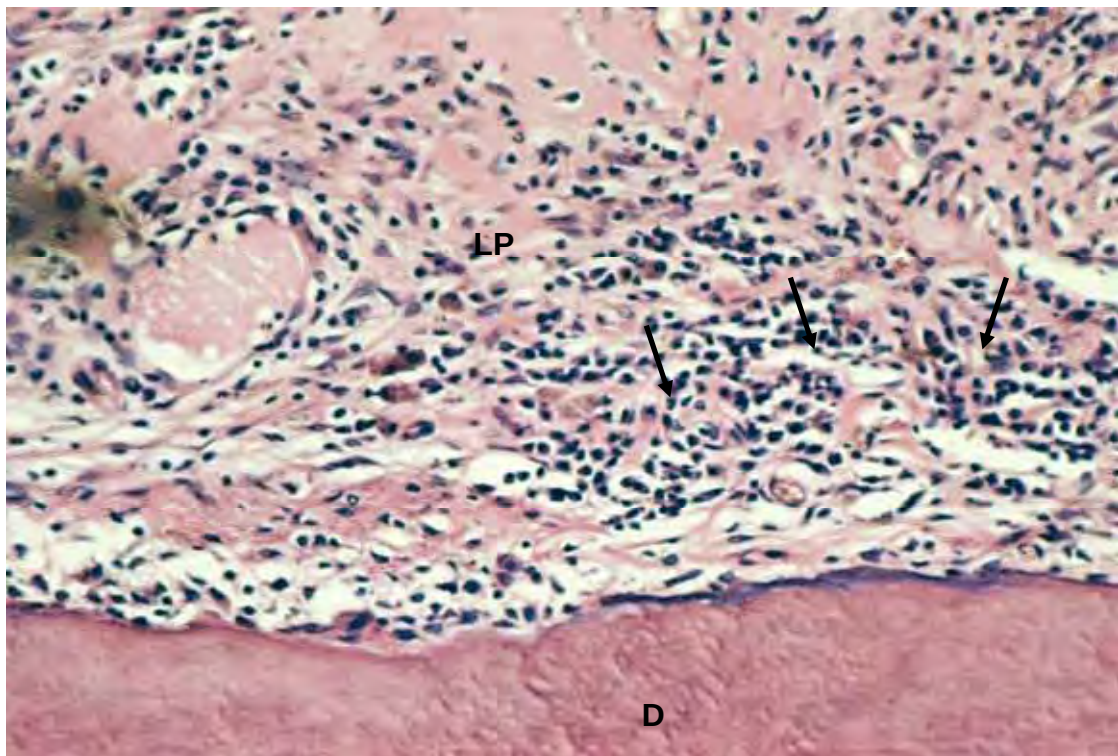


Fig. 4. Grupo L0 – Ligamento periodontal (LP) apresentando numerosas células inflamatórias (setas). H.E., original 160x.

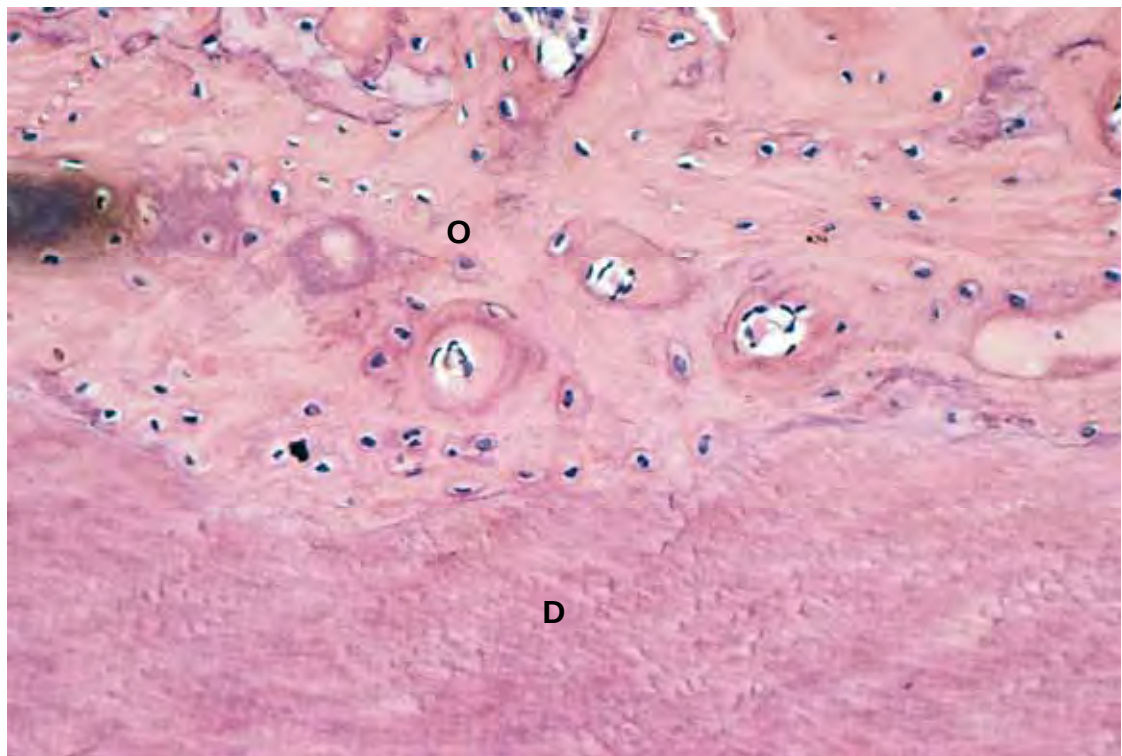


Fig. 5. Grupo L0 – Áreas de reabsorção radicular por substituição. Dentina (D); tecido ósseo (O). H.E., original 160x.

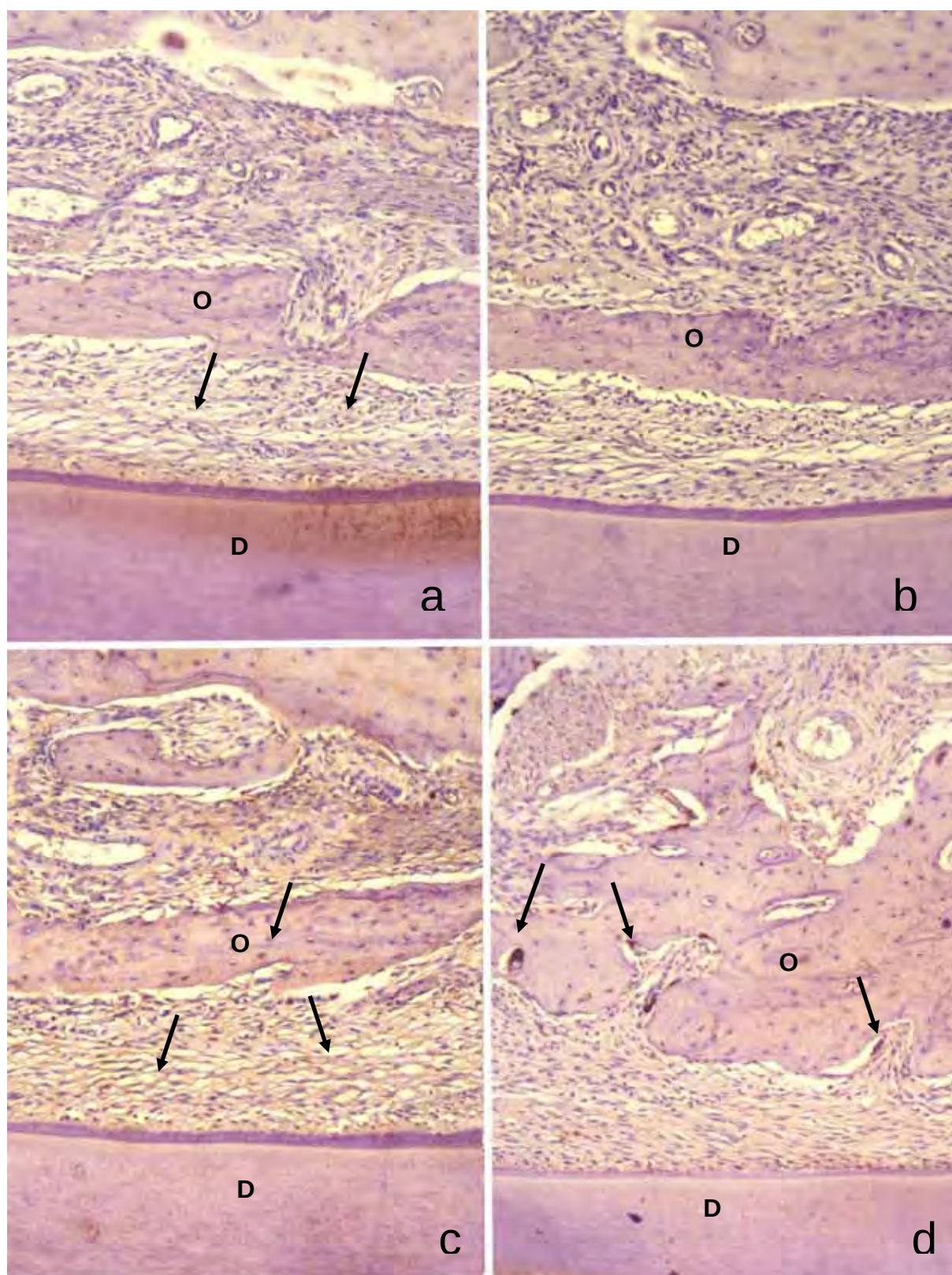


Fig. 6. Grupo L0 – Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x.



Fig. 7. Grupo C30 – Áreas de reabsorção radicular por substituição. Pontos de anquilose (seta). Tecido ósseo (O) neoformado preenchendo totalmente o espaço do ligamento periodontal Dentina (D); tecido ósseo (O). H.E., original 160x.

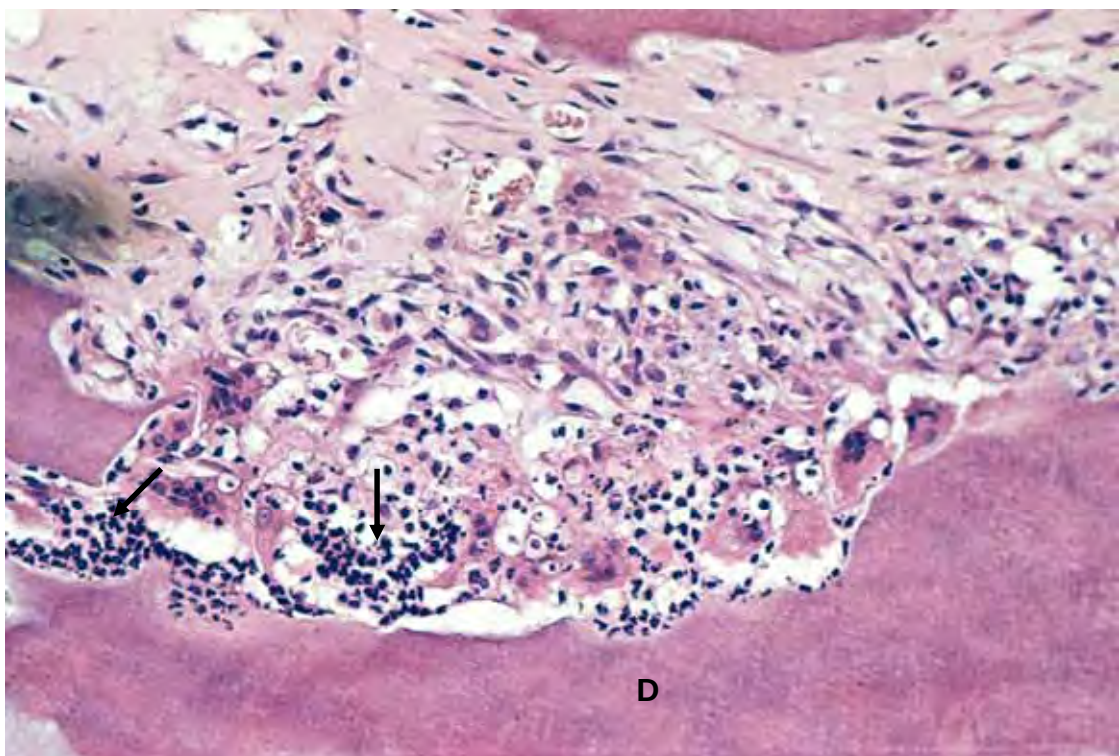


Fig. 8. Grupo C30 – Áreas de reabsorção radicular inflamatória com presença de numerosas células inflamatórias (setas). Dentina (D). H.E., original 160x.

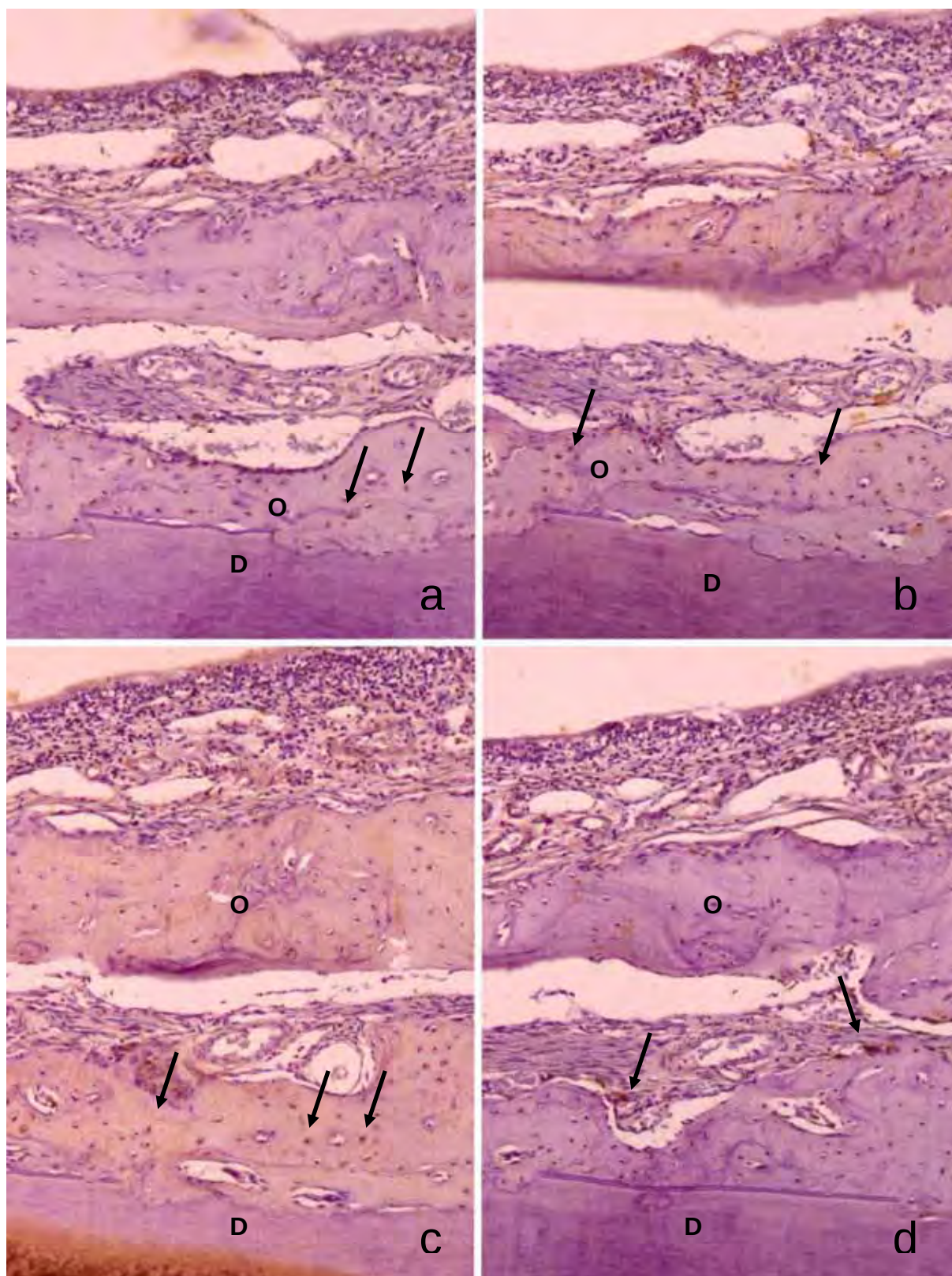


Fig. 9. Grupo C30 – Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x.

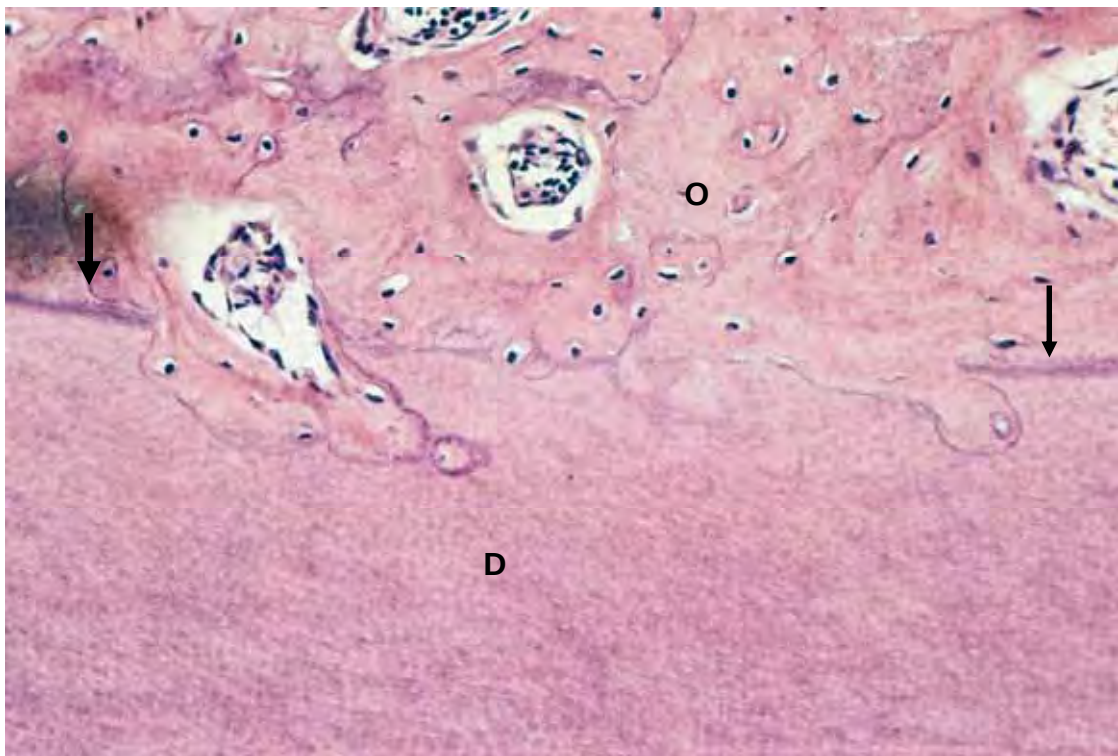


Fig. 10. Grupo L30 – Área onde o espaço do ligamento periodontal, encontra-se preenchido por tecido ósseo (O) neoformado. O cimento (setas) em alguns pontos encontra-se justaposto ao tecido ósseo (O), em outras sofreu reabsorção por substituição juntamente com a dentina (D). H.E., original 160x.

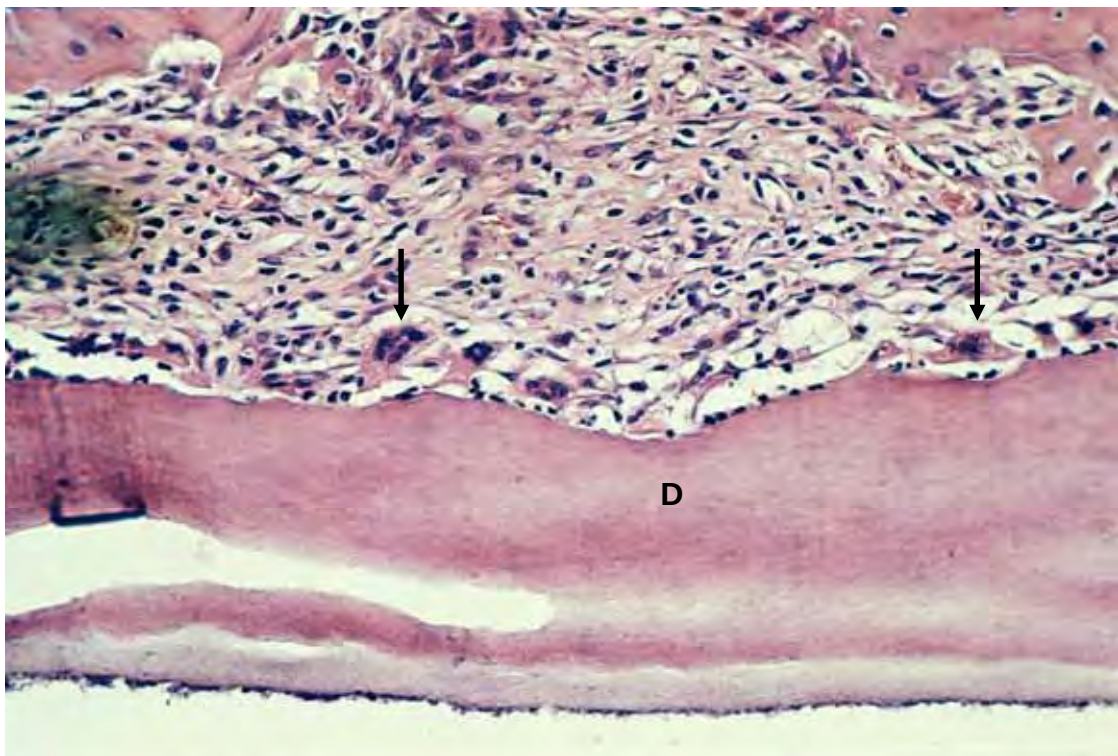


Fig. 11. Grupo L30 Áreas de dentina (D) exibindo reabsorção inflamatória. Células multinucleadas (setas). H.E., original 160x.

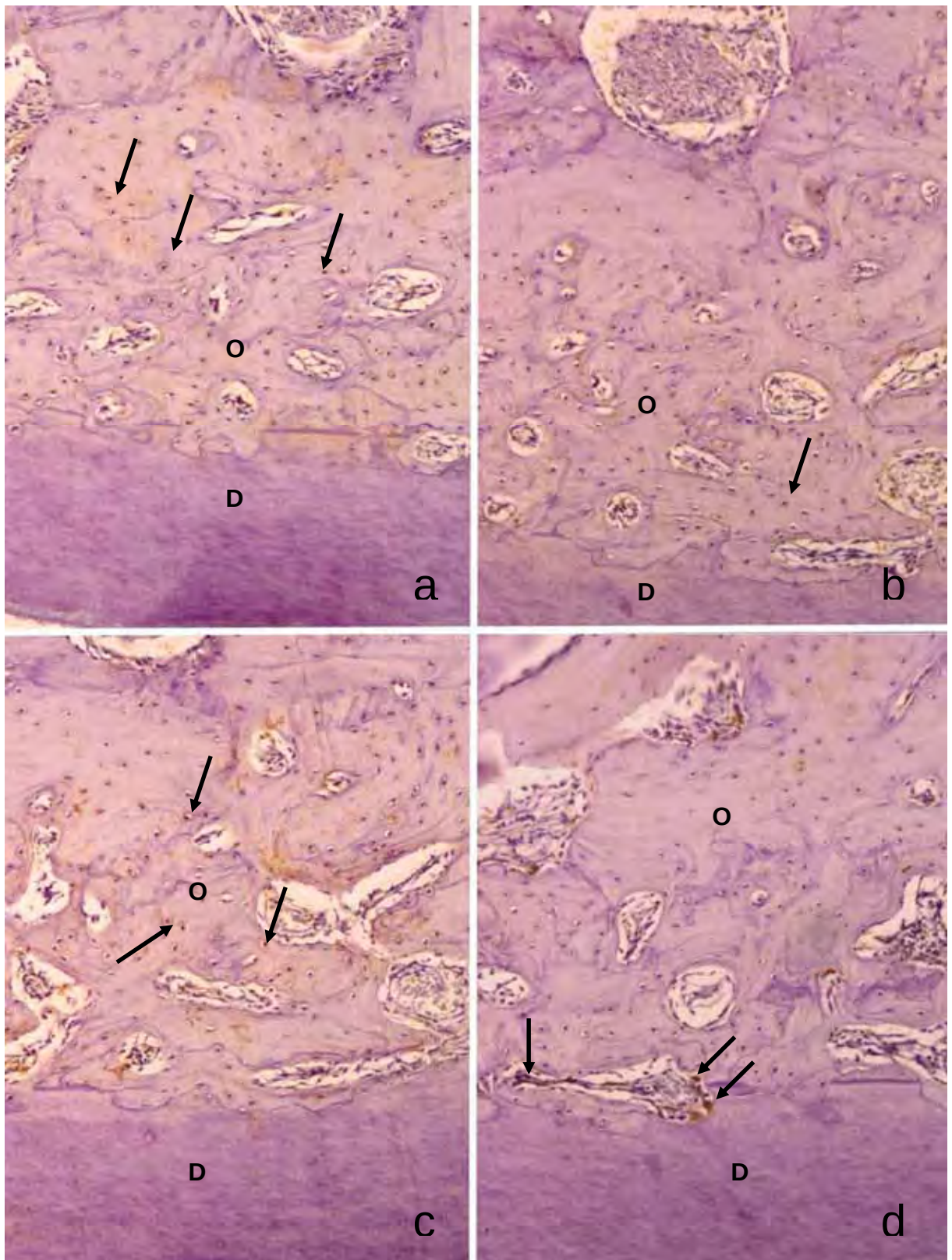


Fig. 12. Grupo L30 – Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x.

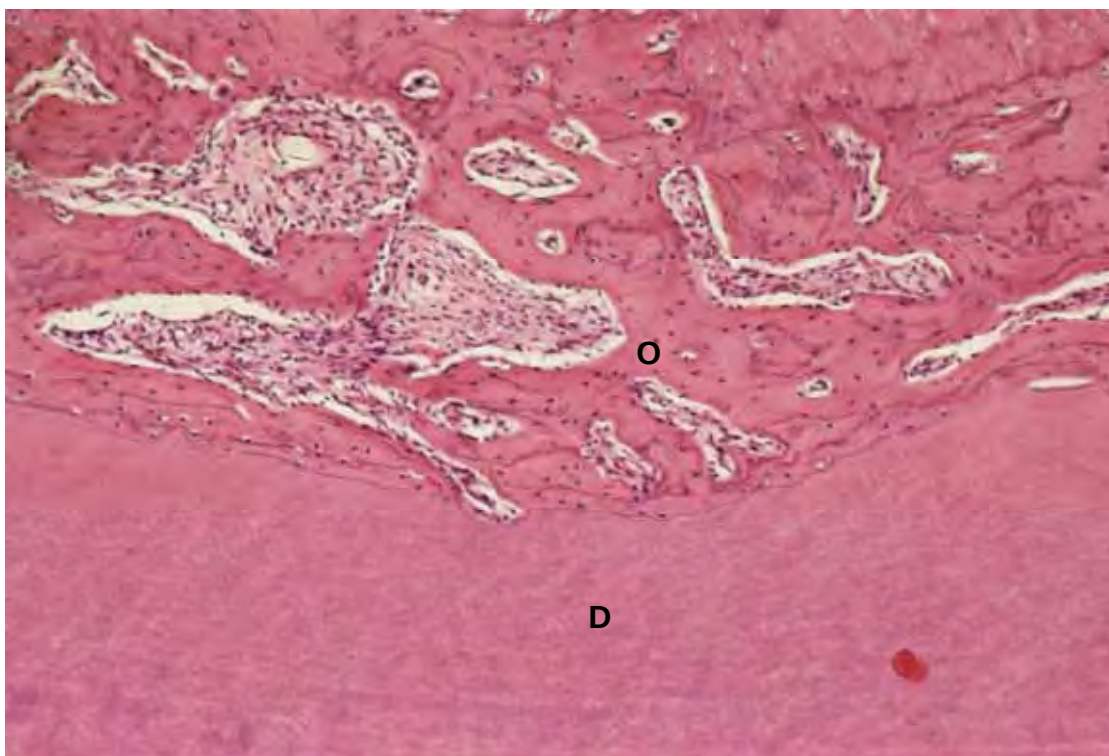


Fig. 13. Grupo C45 – Extensas áreas de cimento e dentina (D) reabsorvidos sendo substituídos por tecido ósseo (O). H.E., original 63x.

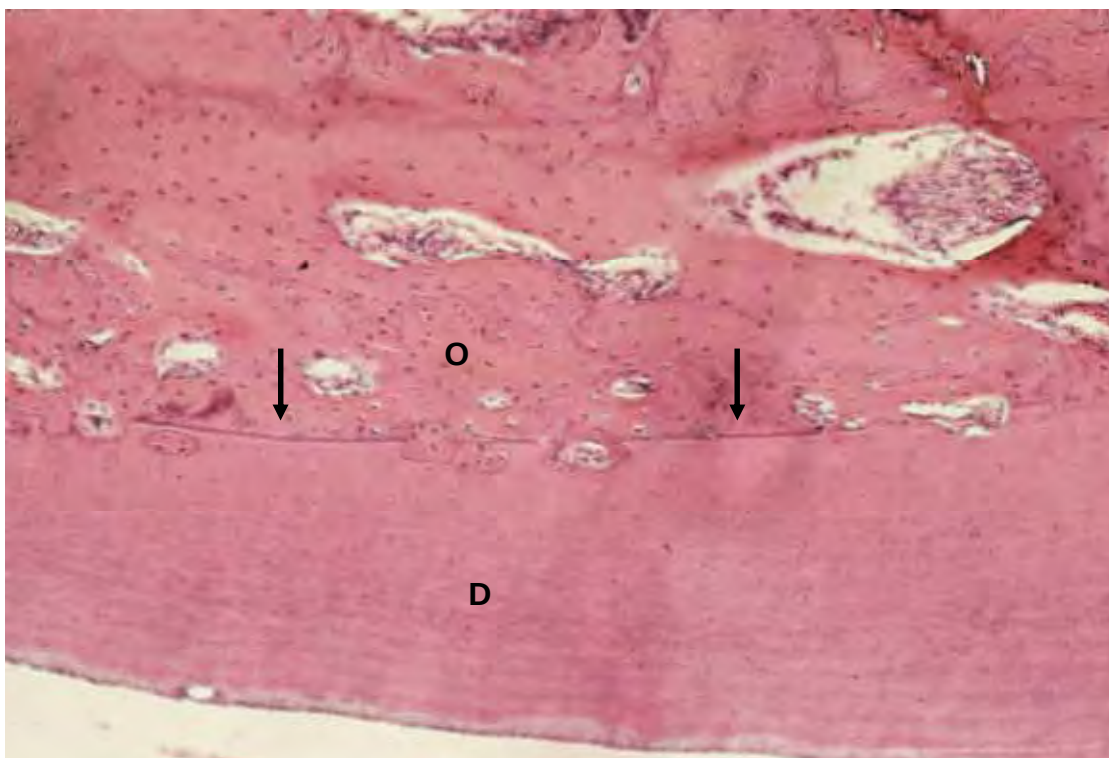


Fig. 14. Grupo C45 – Área onde o espaço do ligamento periodontal encontra-se preenchido por tecido ósseo (O). Dentina (D); cimento (setas). H.E., original 63x.

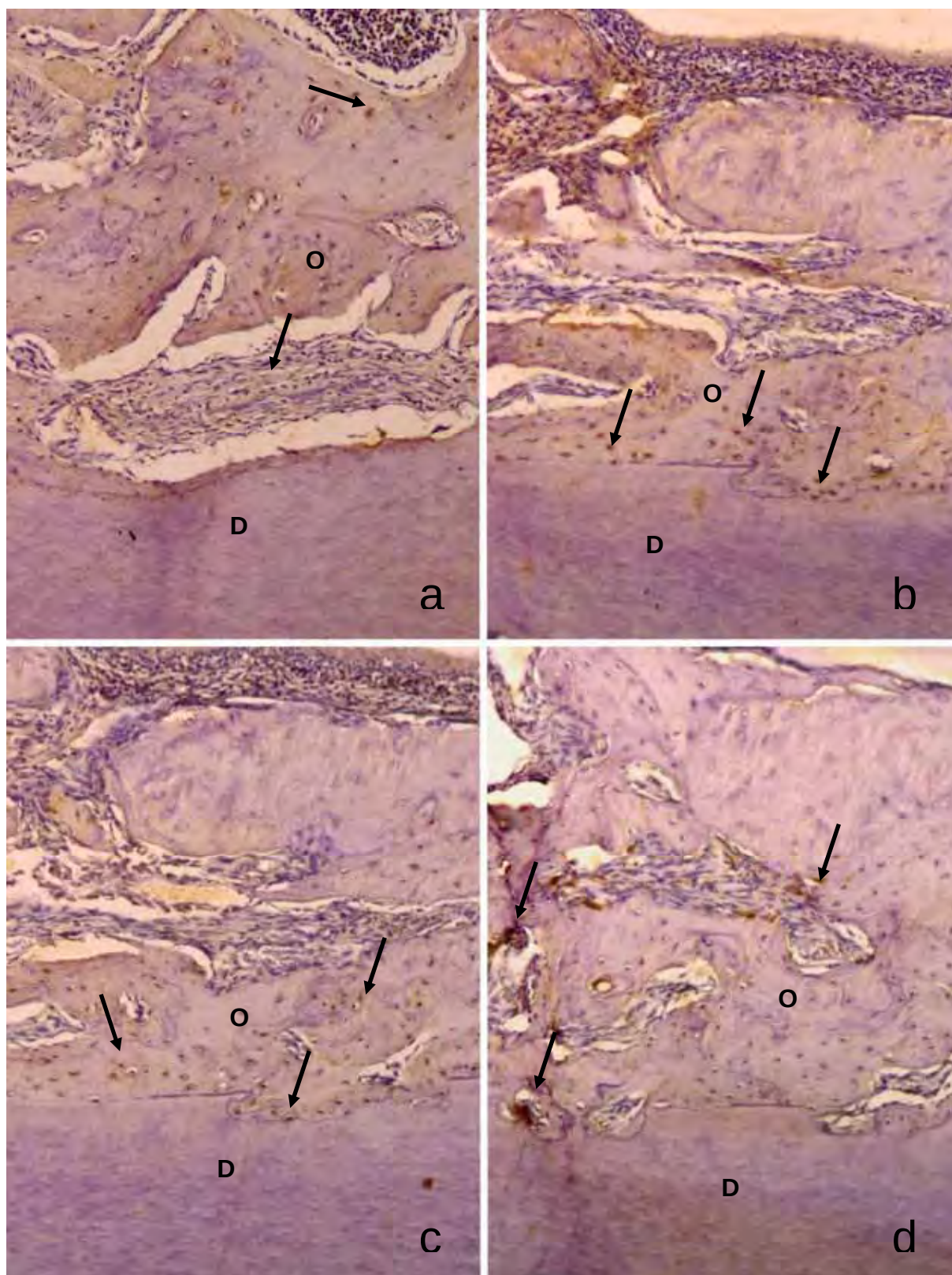


Fig. 15. Grupo C45 – Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x.

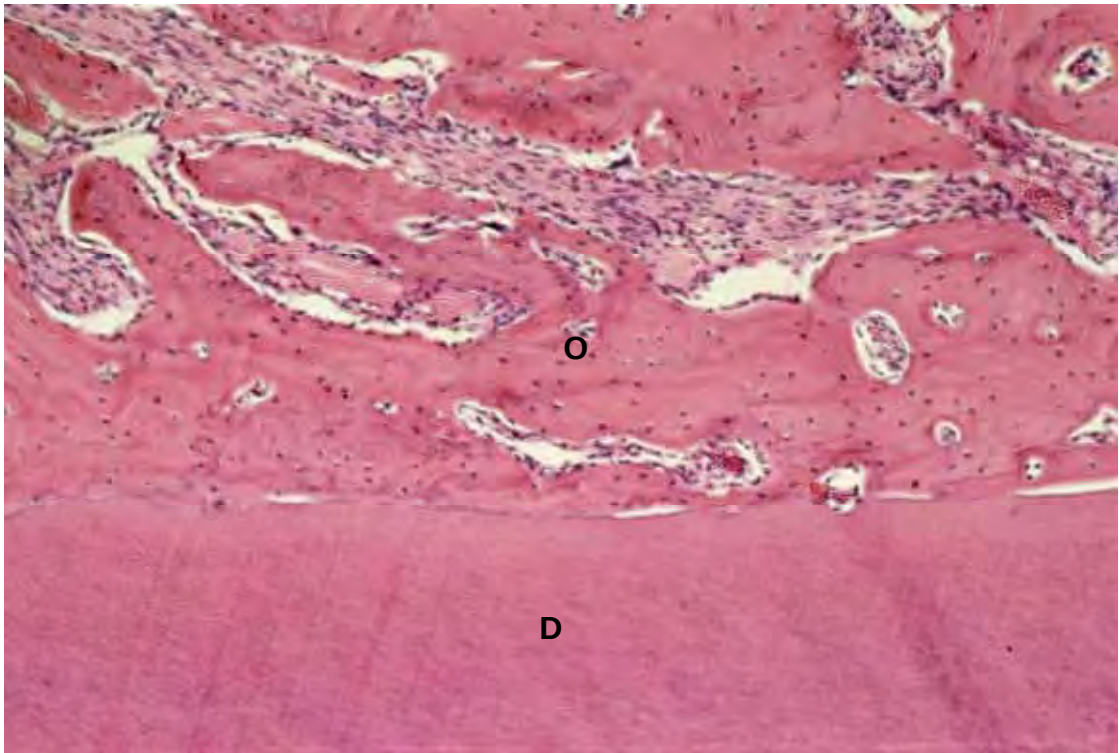


Fig. 16. Grupo L45 – Áreas onde o espaço do ligamento periodontal encontra-se preenchido por tecido ósseo. Tecido ósseo (O). Dentina (D). H.E., original 63x.

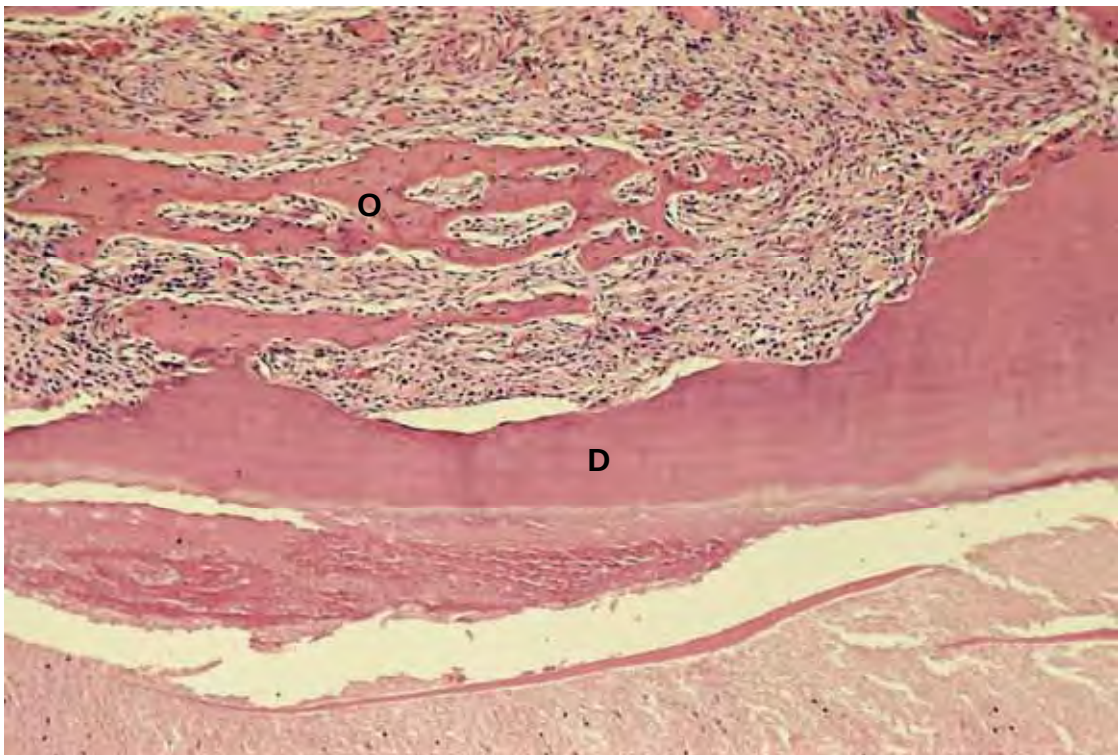


Fig. 17. Grupo L45 – Áreas da superfície radicular exibindo reabsorção de cimento e dentina (D), com neoformação de tecido ósseo (O). H.E., original 63x.

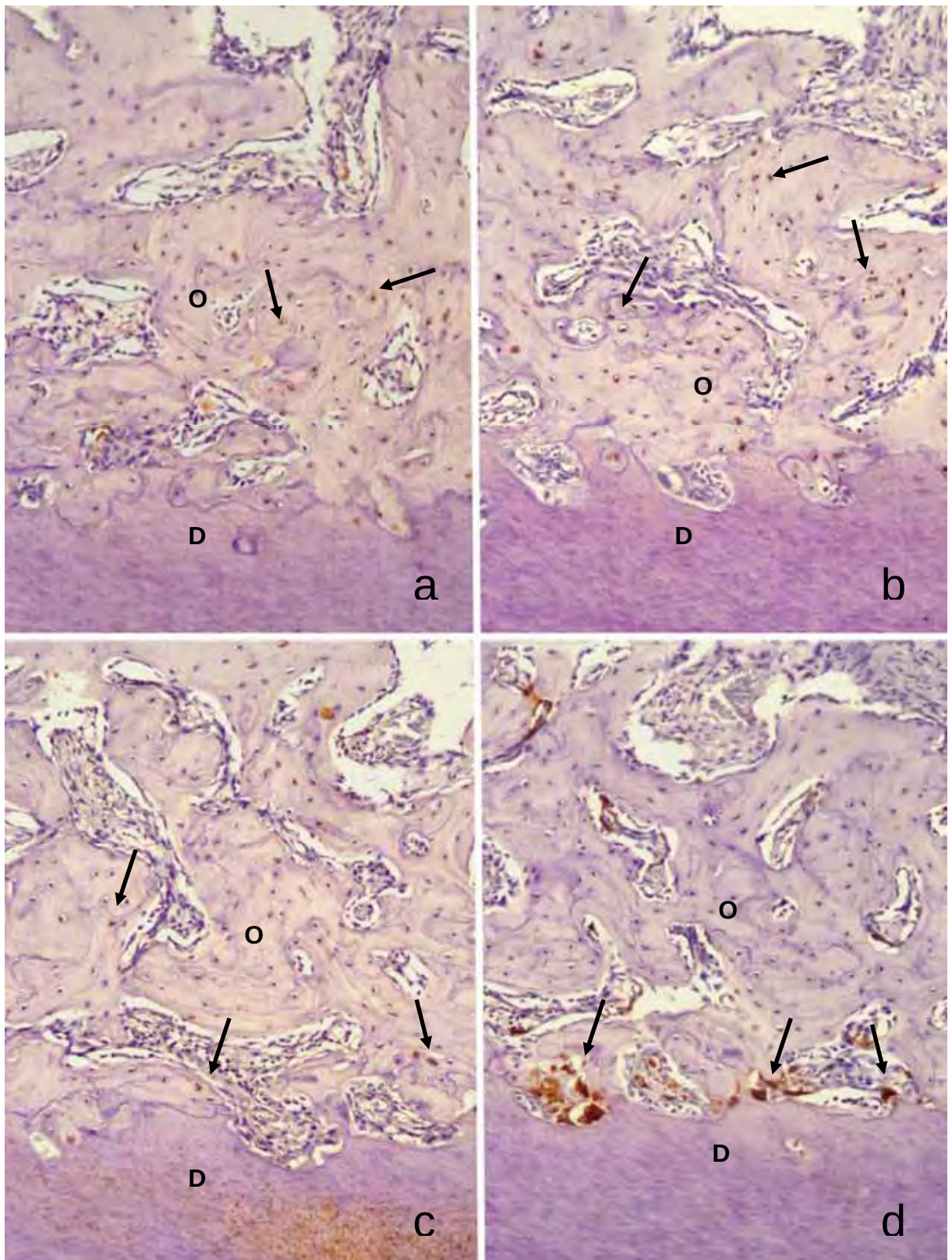


Fig. 18. Grupo L45 – Imunoistoquímica das proteínas OPG (a), RANK (b), RANKL (c) e TRAP (d). Imunomarcações positivas (setas). Dentina (D); tecido ósseo (O). Original 100x.



Anexos

UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"Júlio de Mesquita Filho"
Campus de Araçatuba

COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEAA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto "ANÁLISE HISTOMORFOMÉTRICA E IMUNOISTOQUÍMICA DA AÇÃO DO LASER EM BAIXA INTENSIDADE SOBRE O LIGAMENTO PERIODONTAL E OSSO ALVEOLAR EM REIMPLANTES DE DENTES DE RATO" sob responsabilidade de SÔNIA REGINA PANZARINI BARIONI e CÉLIA TOMIKO MATIDA HAMATA SAITO está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal adotado pelo Colégio Brasileiro de Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEAA em reunião ordinária de 28 de abril de 2006, de acordo com o protocolo nº 19/06.

Araçatuba, 28 de abril de 2006.


Prof.ª Ass. Dr.ª Maria Gisela Laranjeira
Presidente

Instructions to Authors – Dental Traumatology

Dental Traumatology

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

Edited by:

Lars Andersson

Print ISSN: 1600-4469

Online ISSN: 1600-9657

Frequency: Bi-monthly

Current Volume: 24 / 2008

ISI Journal Citation Reports® Ranking: 2007: 37/51 (Dentistry, Oral Surgery & Medicine)

Impact Factor: 1.093

Top Author Guidelines

Content of Author Guidelines: 1. General, 2. Ethical Guidelines, 3. Submission of Manuscripts, 4. Manuscript Types Accepted, 5. Manuscript Format and Structure, 6. After Acceptance

Relevant Documents: Exclusive Licence Form

Useful Websites: Submission Site, Articles published in Dental Traumatology, Author Services, Blackwell Publishing's Ethical Guidelines, Guidelines for Figures

1. GENERAL

Dental Traumatology is an international journal which aims to convey scientific and clinical progress in all areas related to adult and pediatric dental traumatology. It aims to promote communication among clinicians, educators, researchers, administrators and others interested in dental traumatology. The journal publishes original scientific articles, review articles in the form of comprehensive reviews or mini reviews of a smaller area, short communication about clinical methods and techniques and case reports. The journal focuses on the following areas related to dental trauma: Epidemiology and Social Aspects Tissue, Periodontal, and Endodontic Considerations Pediatrics and Orthodontics Oral and Maxillofacial Surgery / Transplants/Implants Esthetics / Restorations / Prosthetics Prevention and Sports Dentistry. Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Dental Traumatology*. Authors are encouraged to visit Blackwell Publishing Author Services for further information on the preparation and submission of articles and figures.

2. ETHICAL GUIDELINES

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

2.1. Authorship and Acknowledgements

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

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

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

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

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

2.2. Ethical Approvals

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

2.3 Clinical Trials

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

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

2.4 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations

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

2.5 Conflict of Interest

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

2.6 Appeal of Decision

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

2.7 Permissions

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

2.8 Copyright Assignment

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

Upon acceptance of a paper, authors are required to assign the exclusive licence to publish their paper to Blackwell Publishing. Assignment of the exclusive licence is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless licence has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement; however, the form still has to be signed). A completed Exclusive Licence Form must be sent to the address specified on the Exclusive Licence Form, before any manuscript can be published. Authors must send the completed original Exclusive Licence Form by regular mail upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the Exclusive Licence form at submission. Faxing or e-mailing the Exclusive Licence Form does not meet requirements.

For questions concerning copyright, please visit [Blackwell Publishing's Copyright FAQ](#)

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

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

3.1. Getting Started

- Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 6 or higher, Netscape 7.0, 7.1, or 7.2, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/dt>
- Log-in or click the "Create Account" option if you are a first-time user.
- If you are creating a new account.
 - After clicking on "Create Account", enter your name and e-mail information and click "Next". Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click "Next."
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as

your user ID), and then select your area of expertise. Click "Finish".

- If you have an account, but have forgotten your log in details, go to Password Help on the journals online submission system <http://mc.manuscriptcentral.com/dt> and enter your e-mail address. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select "Author Centre (enter correct name, different name might be used by some online systems)."

3.2. Submitting Your Manuscript

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

3.3. Manuscript Files Accepted

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

3.4. Blinded Review

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

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

Please upload:

- Your manuscript without title page under the file designation "main document"
- Figure files under the file designation "figures"
- The title page, Acknowledgements and Conflict of Interest Statement where applicable, should be uploaded under the file designation "title page"

All documents uploaded under the file designation "title page" will not be viewable in the html and pdf format you are asked to review in the end of the submission process. The files viewable in the html and pdf format are the files available to the reviewer in the review process.

3.5. Suggest a Reviewer

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

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

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

3.7. E-mail Confirmation of Submission

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

3.8. Manuscript Status

You can access Manuscript Central any time to check your "Author Center" for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made.

3.9. Submission of Revised Manuscripts

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

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Original Research Articles in all areas related to adult and pediatric dental traumatology are of interest to *Dental Traumatology*. Examples of such areas are Epidemiology and Social Aspects, Tissue, Periodontal, and Endodontic Considerations, Pediatrics and Orthodontics,

Oral and Maxillofacial Surgery/ Transplants / Implants, Esthetics / Restorations / Prosthetics and Prevention and Sports Dentistry.

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

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

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

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

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

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

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

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

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Format

Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language must have their manuscript professionally edited by an English speaking person before submission to make sure the English is of high quality. It is preferred that manuscript is professionally edited. A list of independent suppliers of editing services can be found at www.blackwellpublishing.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: Abbreviations should be kept to a minimum, particularly those that are not standard. Non-standard abbreviations must be used three or

more times and written out completely in the text when first used. Consult the following sources for additional abbreviations: 1) CBE Style Manual Committee. Scientific style and format: the CBE manual for authors, editors, and publishers. 6th ed. Cambridge: Cambridge University Press; 1994; and 2) O'Connor M, Woodford FP. Writing scientific papers in English: an ELSE-Ciba Foundation guide for authors. Amsterdam: Elsevier-Excerpta Medica; 1975.

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

5.2. Structure

All papers submitted to *Dental Traumatology* should include: Title Page, Abstract, Main text, References and Tables, Figures, Figure Legends, Conflict of Interest Statement and Acknowledgements where appropriate. Title page, Conflict of Interest Statement and any Acknowledgements must be submitted as separate files and uploaded under the file designation Title Page to allow blinded review. Manuscripts must conform to the journal style. Manuscripts not complying with the journal style will be returned to the author(s).

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

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

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

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

Materials and Methods must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced. As a

condition of publication, authors are required to make materials and methods used freely available to academic researchers for their own use. Describe your selection of observational or experimental participants clearly. Identify the method, apparatus and procedures in sufficient detail. Give references to established methods, including statistical methods, describe new or modify methods. Identify precisely all drugs used including generic names and route of administration.

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

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

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

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

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

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

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

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

5.3. References

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

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

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

Try to avoid using abstracts of articles as references. "Unpublished observations", "personal communications", and "unaccepted papers" may not be used as references, although references to written, not verbal, communications may be inserted (in parentheses) in the text. Examples of correct forms of references are given below.

Journals:

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

Examples:

Andreasen JO, Hjørting-Hansen E. Replantation of teeth. I. Radiographic and clinical study of 100 human teeth. Acta Odontol Scand 1966;24:263-86.

Corporate author:

American Association of Endodontists. Recommended guidelines for treatment of the avulsed tooth. J Endod 1983;9:571.

Books and other monographs:

Examples:

Personal author(s) Grossman LI. Endodontic practice. 10th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1981. p. 176-9.

Chapter in book: Sanders B, Brady FA, Johnson R. Injuries. In: Sanders B, editor. Pediatric oral and maxillofacial surgery. St. Louis: Mosby; 1979. p. 330-400.

5.4. Tables, Figures and Figure Legends

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

Figures: All graphs, drawings and photographs are considered figures and should be numbered in sequence with Arabic numerals and abbreviated Fig(s). Each figure should have a legend and all legends should be numbered correspondingly and included at the end of the manuscript. Text on the figures should be in capitals. Figures should be planned to fit the proportions of the printed page.

All figures and artwork must be provided in electronic format. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Postscript Format (EPS) and bitmap files (e.g. half-tones) or clinical or in vitro pictures in Tagged Image Format (TIFF). JPEG files are also acceptable. Detailed information on our digital illustration standards can be found at www.blackwellpublishing.com/bauthor/illustration.asp

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

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

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

Further information can be obtained at Blackwell Publishing's guidelines for figures: www.blackwellpublishing.com/bauthor/illustration.asp.

Check your electronic artwork before submitting it:
www.blackwellpublishing.com/bauthor/eachecklist.asp

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

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

5.5. Supplementary Material

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

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

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

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

6. AFTER ACCEPTANCE

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

6.1 Proof Corrections

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

6.2 OnlineEarly (Publication Prior to Print)

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

6.3 Author Services

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

For more substantial information on the services provided for authors, please see [Blackwell Publishing Author Services](#)

6.4 Author Material Archive Policy

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

6.5 Offprints and Extra Copies

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

6.6 Note to NIH Grantees

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate



Fig. 19. Animais acondicionados em gaiolas no Biotério e Centro Cirúrgico "Ilídio Teodoro".



Fig. 20. Anestésicos utilizados: Dopalen (Cloridrato de Ketamina) e Dopaser (Cloridrato de Xilazina).



Fig. 21. Luxação do incisivo superior direito.



Fig. 22. Exodontia do incisivo superior direito.



Fig. 23. Dente mantido em recipiente com soro fisiológico.



Fig. 24. Remoção da papila dental e órgão do esmalte com lâmina de bisturi nº15.



Fig. 25. Pulpectomia por via retrógrada



Fig. 26. Irrigação com soro fisiológico.



Fig. 27. Secagem do canal radicular com cone de papel absorvente.



Fig. 28. Preenchimento do canal radicular com pasta de hidróxido de cálcio e propilenoglicol.



Fig. 29. Irrigação do alvéolo com soro fisiológico.



Fig. 30. Reimplante dentário.



Fig. 31. Aparelho de laser em baixa intensidade utilizado.



Fig. 32. Aplicação do laser, luz visível com movimento de varredura na superfície lingual do dente.



Fig. 33. Aplicação do laser em baixa intensidade, luz infravermelha no alvéolo.



Fig. 34. Antibiótico utilizado: Pentabiótico pequeno porte.



Fig. 35. Câmera digital (JVC TK-1270 Color Vídeo Câmera) acoplada ao microscópio Carl Zeiss (Axiolab).

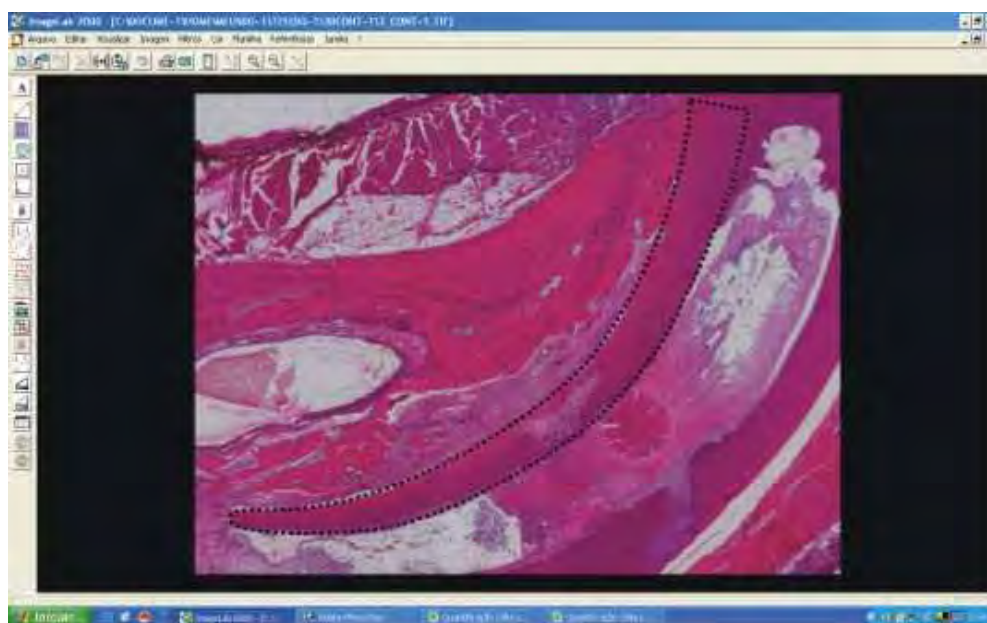


Fig. 36. Visualização das imagens no Programa Image Lab. Demarcação da área total.

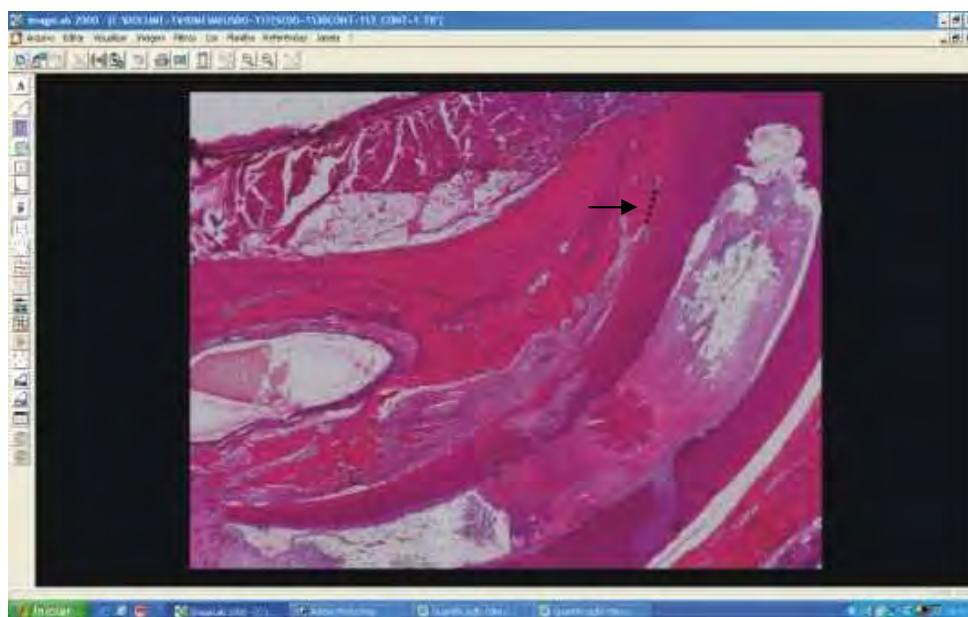


Fig. 39. Visualização da demarcação da anquilose (seta) - Image Lab.

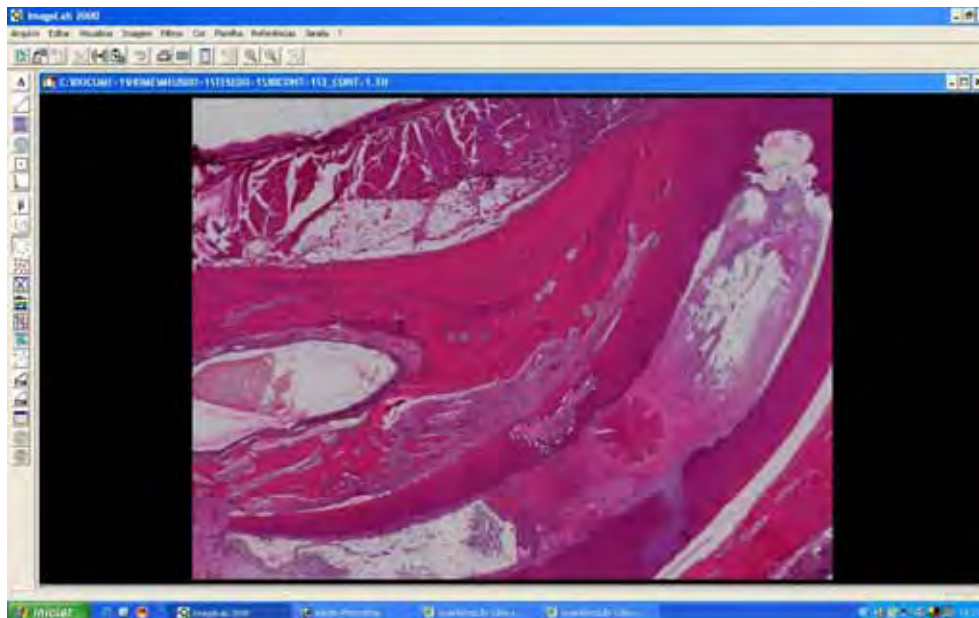


Fig. 40. Visualização da demarcação da área de reabsorção inflamatória - Image Lab.

Tabela 7. Valores obtidos após a quantificação das áreas de reabsorções e anquilose utilizando o programa ImageLab 2001 (Diracom 3).

Dentina Total		Reabsorção por substituição			Reabsorção inflamatória			Anquilose			
lâmina	Soma	Soma	%	escore	Soma	%	escore	Total	Soma	%	escore
C0 -1	344378,5	0,0	0,00	1	0,0	0,00	1	2749,6	0,0	0,00	1
C0 -2	382248,5	0,0	0,00	1	0,0	0,00	1	2940,5	0,0	0,00	1
C0 -3	484008,0	0,0	0,00	1	0,0	0,00	1	2835,5	0,0	0,00	1
C0 -4	460722,0	0,0	0,00	1	0,0	0,00	1	2558,8	0,0	0,00	1
C0 -5	458825,0	17716,5	3,86	2	7431,0	1,62	2	3129,1	0,0	0,00	1
C0 -6	419755,5	37473,0	8,93	2	1552,5	0,37	2	2987,3	55,3	1,85	2
C0 -7	462467,0	0,0	0,00	1	0,0	0,00	1	3029,9	0,0	0,00	1
C0 -8	333596,0	46878,0	14,05	2	9967,0	2,99	2	2767,6	0,0	0,00	1
C0 -9	249770,5	0,0	0,00	1	0,0	0,00	1	2704,6	0,0	0,00	1
C0 -10	292760,5	0,0	0,00	1	7358,5	2,51	2	2727,2	0,0	0,00	1
C30-1	544894,5	2978,5	0,55	2	0,0	0,00	1	2669,8	347,0	13,00	2
C30-2	247012,5	0,0	0,00	1	94826,0	38,39	2	2751,4	0,0	0,00	1
C30-3	440682,0	4221,5	0,96	2	31300,5	7,10	2	2799,6	120,0	4,29	2
C30-4	224701,5	11193,0	4,98	2	0,0	0,00	1	2441,9	0,0	0,00	1
C30-5	439947,5	71018,0	16,14	2	0,0	0,00	1	3049,0	396,7	13,01	2
C30-6	442400,5	30891,0	6,98	2	0,0	0,00	1	2847,2	0,0	0,00	1
C30-7	350243,0	14884,1	4,25	2	0,0	0,00	1	3177,7	84,5	2,66	2
C30-8	443869,0	27952,5	6,30	2	6772,0	1,53	2	3192,2	292,1	9,15	2
C30-9	290223,0	7936,1	2,73	2	0,0	0,00	1	3013,8	0,0	0,00	1
C30-10	392129,5	38664,0	9,86	2	57330,0	14,62	2	2727,2	277,4	10,17	2
C45-1	354320,5	0,0	0,00	1	0,0	0,00	1	3155,1	23,4	0,74	2
C45-2	426618,5	38421,6	9,00	2	15973,5	3,74	2	3086,9	672,8	21,80	2
C45-3	504186,0	25136,0	4,98	2	7343,0	1,46	2	3317,5	365,6	11,02	2
C45-4	381188,5	11673,0	3,06	2	2769,0	0,73	2	3121,0	401,7	12,87	2
C45-5	511715,0	73853,0	14,43	2	33933,5	6,63	2	3190,6	157,2	4,93	2
C45-6	349527,0	70760,0	20,24	2	38561,0	11,03	2	2587,6	0,0	0,00	1
C45-7	369652,0	60349,0	16,32	2	56053,0	15,16	2	2500,7	231,5	9,26	2
C45-8	452766,0	8898,0	1,96	2	0,0	0,00	1	3290,7	1770,1	53,79	3
L0-1	385099,0	0,0	0,00	1	0,0	0,00	1	2832,0	0,0	0,00	1
L0-2	379078,0	8153,5	2,15	2	4971,0	1,31	2	3353,3	0,0	0,00	1
L0-3	338054,5	34159,4	10,10	2	43116,8	12,75	2	3048,5	1400,3	45,94	2
L0-4	328834,0	11264,5	3,42	2	0,0	0,00	1	2902,5	137,3	4,73	2
L0-5	310230,0	0,0	0,00	1	550,5	0,18	2	2717,0	0,0	0,00	1
L0-6	332731,5	0,0	0,00	1	0,0	0,00	1	2352,2	0,0	0,00	1
L0-7	435354,5	12002,0	2,76	2	23987,5	5,64	2	2370,5	0,0	0,00	1
L0-8	454963,5	6506,5	1,43	2	2832,5	0,62	2	3423,6	439,5	12,84	2
L30-1	923043,0	61814,0	6,70	2	0,0	0,00	1	3011,7	82,8	2,75	2
L30-2	326724,0	74288,0	22,74	2	51124,0	15,65	2	2882,0	18,0	0,62	2
L30-3	390315,5	56790,0	14,55	2	2916,0	0,75	2	2728,5	311,2	11,41	2
L30-4	470324,0	21166,5	2,50	2	0,0	0,00	1	3073,8	757,0	24,63	2
L30-5	367961,0	34495,0	9,37	2	5514,0	1,50	2	3161,3	74,3	2,35	2
L30-6	343746,5	46897,0	13,64	2	7051,5	2,05	2	2942,0	645,8	21,95	2
L30-7	557573,0	0,0	0,00	1	0,0	0,00	1	3177,6	1616,0	50,85	3
L30-8	483527,5	25299,0	5,23	2	0,0	0,00	1	3205,1	652,0	20,34	2
L45-1	387574,0	161417,0	41,64	2	0,0	0,00	1	2522,0	0,0	0,00	1
L45-2	362706,0	54394,5	14,99	2	19607,0	5,41	2	2818,0	546,7	19,40	2
L45-3	322612,0	51330,5	15,91	2	33502,0	10,38	2	2493,5	63,0	2,53	2
L45-4	414511,0	11545,6	2,78	2	0,0	0,00	1	3022,7	350,0	11,58	2
L45-5	473480,5	35712,0	7,54	2	0,0	0,00	1	3052,5	83,0	2,72	2
L45-6	382939,5	36729,5	9,59	2	14879,0	3,89	2	2982,9	32,6	1,09	2
L45-7	559906,5	49202,0	8,79	2	55679,0	9,94	2	3220,8	477,8	14,83	2
L45-8	494634,5	253224,0	51,19	3	0,0	0,00	1	2940,7	472,9	16,08	2
L45-9	374761,5	67369,0	17,98	2	0,0	0,00	1	2798,0	206,6	7,39	2

Gráfico 3. Valores médios de anquilose de cada grupo.

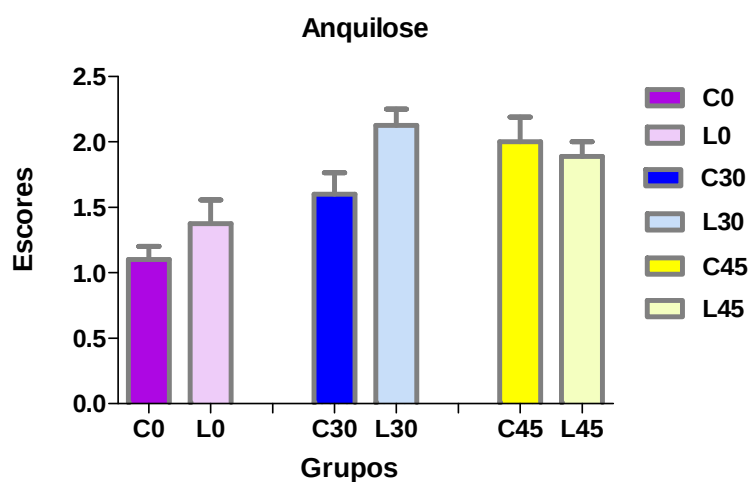


Gráfico 4. Valores médios de reabsorção por substituição de cada grupo.

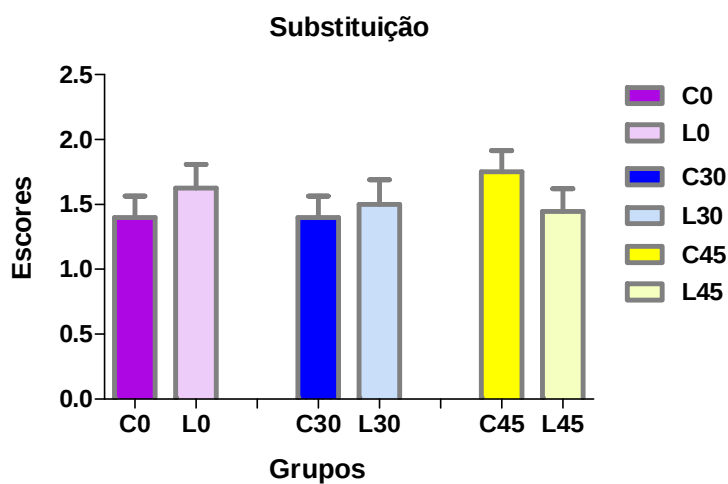


Gráfico 5. Valores médios de reabsorção inflamatória de cada grupo.

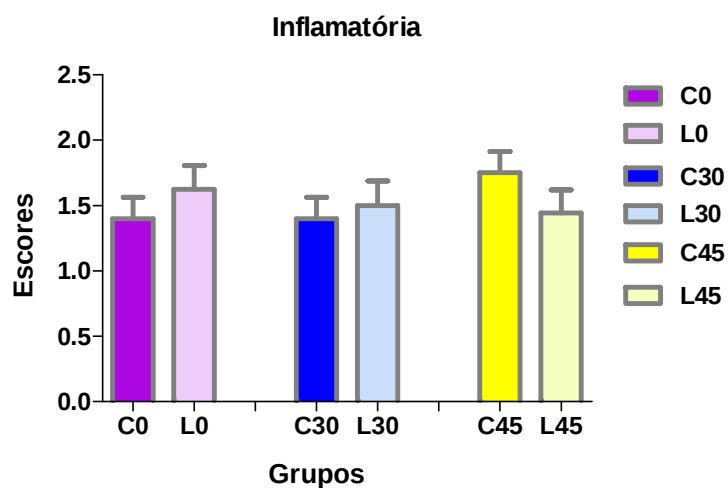


Tabela 8. Escores atribuídos para distribuição das imunomarcações presentes para as proteínas OPG, RANK, RANKL e TRAP.

Espécime	Controle	RANK	RANKL	OPG	TRAP
C0 -1	1	1	4	1	2
C0 -2	1	1	4	1	2
C0 -3	1	1	2	1	2
C0 -4	1	1	3	1	2
C0 -5	1	1	3	1	2
C0 -6	1	1	4	1	2
C0 -7	1	1	4	1	2
C0 -8	1	1	2	1	2
C0 -9	1	2	3	1	2
C0 -10	1	1	3	2	3
C30-1	1	3	2	4	2
C30-2	1	3	3	2	2
C30-3	1	3	3	4	2
C30-4	1	3	3	2	2
C30-5	1	4	3	3	1
C30-6	1	3	3	2	2
C30-7	1	3	3	4	2
C30-8	1	3	3	2	2
C30-9	1	3	3	4	2
C30-10	1	3	3	2	2
C45-1	1	3	3	3	2
C45-2	1	3	2	3	3
C45-3	1	4	3	3	2
C45-4	1	3	2	3	3
C45-5	1	4	4	3	2
C45-6	1	4	3	3	2
C45-7	1	4	3	3	2
C45-8	2	3	2	2	3
L0-1	1	2	3	2	3
L0-2	1	1	4	3	4
L0-3	1	1	4	1	3
L0-4	1	1	4	2	3
L0-5	1	1	4	2	3
L0-6	1	2	3	2	3
L0-7	1	1	4	3	4
L0-8	1	1	4	1	3
L30-1	1	2	2	3	4
L30-2	1	3	3	3	2
L30-3	1	2	2	4	2
L30-4	1	3	3	3	2
L30-5	1	2	4	2	2
L30-6	1	2	2	3	3
L30-7	1	2	2	3	3
L30-8	1	3	3	3	2
L45-1	1	3	2	2	3
L45-2	1	3	2	3	2
L45-3	1	2	2	2	2
L45-4	2	3	2	3	2
L45-5	2	3	3	3	2
L45-6	1	3	2	2	2
L45-7	1	3	3	4	2
L45-8	1	3	2	2	2
L45-9	1	3	2	3	2

Gráfico 6. Valores médios do grupo C0 e L0 avaliando as proteínas OPG, RANK, RANKL e TRAP.

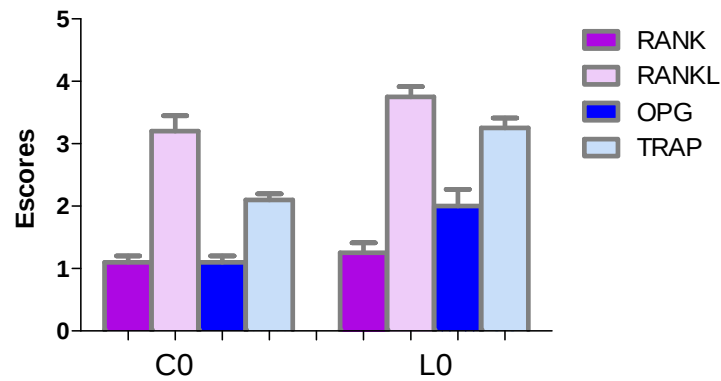


Gráfico 7. Valores médios do grupo C30 e L30 avaliando as proteínas OPG, RANK, RANKL e TRAP.

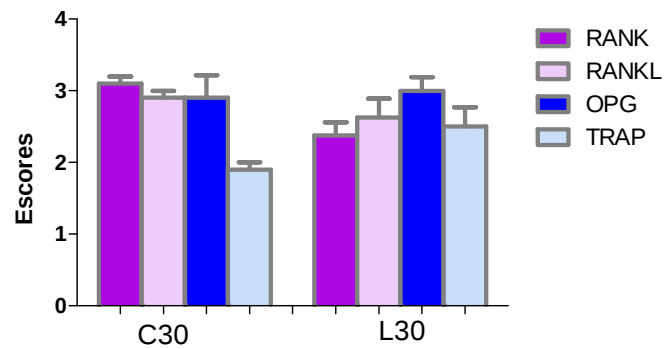


Gráfico 8. Valores médios do grupo C45 e L45 avaliando as proteínas OPG, RANK, RANKL e TRAP.

