

## RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 26/01/2018.

**IGOR MARIOTTO BENETI**

***INFLUÊNCIA DA OCLUSÃO DENTÁRIA EM RATOS  
SUBMETIDOS A REIMPLANTE IMEDIATO. ESTUDO  
HISTOLÓGICO DO PERIODONTO E IMUNO-  
HISTOQUIMÍCO DOS RESTOS EPITELIAIS DE  
MALASSEZ E CÉLULAS CLÁSTICAS.***

**Araçatuba - São Paulo**

**2016**

**IGOR MARIOTTO BENETI**

**INFLUÊNCIA DA OCLUSÃO DENTÁRIA EM RATOS SUBMETIDOS A REIMPLANTE IMEDIATO. ESTUDO HISTOLÓGICO DO PERIODONTO E IMUNO-HISTOQUIMÍCO DOS RESTOS EPITELIAIS DE MALASSEZ E CÉLULAS CLÁSTICAS.**

Tese apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” – UNESP, para obtenção do título de Doutor em Odontologia. Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Orientador: Prof. Adj. Celso Koogi Sonoda

Co-Orientadores:

Professora Assist. Dra Daniela Atili Brandini

Professor Adj. Claudio Aparecido Casatti

Araçatuba - São Paulo

2016

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP)  
Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

B465e Beneti, Igor Mariotto.  
Influência da oclusão dentária em ratos submetidos a  
reimplante imediato. Estudo histológico do periodonto e  
análise imuno-histoquímico dos restos epiteliais de  
malassez e células clásticas / Igor Mariotto Beneti. -  
Araçatuba, 2016

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

Tese (Doutorado) – Universidade Estadual Paulista,  
Faculdade de Odontologia de Araçatuba  
Orientador: Prof. Celso Koogi Sonoda  
Coorientadora: Profa. Daniela Atili Brandini de Weert

1. Reimplante dentário 2. Oclusão dentária traumática  
3. Ligamento periodontal I. T.

Black D7  
CDD 617.64

# **Dedicatórias**

**A Deus,**

**Obrigado, meu pai, por tudo que tem realizado em minha vida. Obrigado por esses 13 anos maravilhosos de aprendizado e realizações em Araçatuba. Só posso agradecer por todas essas bênçãos alcançadas em minha vida nesse período. A fé em sua presença me faz crescer e continuar caminhando.**

**Aos meus Pais Wander e Valdira,**

**Pai e mãe obrigado por todo o amor, alicerce, amizade, incentivo e dedicação na minha formação como pessoa sempre. Só posso agradecer a Deus por colocar vocês em minha vida. Obrigado por tudo que fizeram e fazem por mim. Essa conquista é para vocês também. Amo muito vocês.**

**Ao meu irmão, Ian,**

**Obrigado meu irmão pelos conselhos, amizade e companheirismo. Apesar dos quinhentos quilômetros de distância nunca estamos longe um do outro. Essa conquista tenho de dividir com você que sempre me incentivou também. Amo muito você. Obrigado por fazer parte da minha vida.**

**A minha esposa, meu amor, Aline Leonardi Vieira,**

**Meu amor obrigado por todo apoio, dedicação e sofrimento ao meu lado para que conseguisse chegar em mais essa conquista. Dedico esse trabalho a você que sempre me apoiou e aguentou todo o sofrimento da distância. Obrigado por todo seu amor, o qual realmente me manteve em pé e me reergueu nos momentos que mais precisei. Obrigado Senhor por colocar meu amor na minha vida e agora na minha família.**

**Aos meus Avos Waldemar, Luis e Sebastiana**

**Mesmo hoje vocês não estando aqui presentes de maneira física, estão no meu coração sempre, não tem como não dedicar essa conquista a vocês. Obrigado por todo amor e momentos felizes sempre. Sei que hoje estão mais orgulhosos de mim.**

**À minha avó Ruthe,**

**Minha vizinha, esse dia tão feliz dedico a você também. Obrigado meu pai por permitir dividir essa conquista com minha vó entre nós. Te amo muito minha vó querida.**

**Ao meu tio avô,**

**Tio Wanguimir(Vagner) essa conquista em especial posso dedicar com certeza para você. Tio se não fosse seus conselhos, carinho, amizade e amor por mim e pelo meu irmão. Graças a você tio que pensou em nosso futuro e deu condições de realizarmos nossos sonhos, eu não teria chegado tão longe. Sei que ai do céu hoje o senhor está feliz e muito orgulhoso com mais essa minha conquista.**

**Ao meu Padrinho, Valdemar Mariotto Filho,**

**Tio Mazinho, esse cara que sempre me espelhei dentro da minha profissão. Um dentista humano, dedicado e profissional diferenciado. Dedico ao senhor essa conquista.**

**Aos meus Familiares**

**Aos meus tios e tias Carlos, Izabel, Gilda, Wilson e Silvia e os primos Andressa, Daniel, Daniele e Pedro. Obrigado pela torcida e apoio de vocês sempre.**

**Tia Neusa e Tio Waltinho**

**Deus preferiu que vocês assistissem essa minha conquista ai de cima, sei que estão muito orgulhosos pelo dia de hoje. Obrigado por todo carinho, ensinamentos e amizade. Amo muito vocês.**

## **A Faculdade de Odontologia de Araçatuba**

**Querida FOA do meu coração agradeço a cada mestre que passou por minha vida nessa escola. Agradeço aos funcionários, amigos e colegas que fiz aqui. Cheguei um jovem e saio hoje um homem. Após 13 anos nessa escola só posso agradecer por tudo que conquistei nesse período. Graças a você sou um profissional que posso fazer com que as pessoas sorriem. Graças a você posso formar novos profissionais que ajudaram nessa missão de levar saúde para os nossos irmãos que tanto precisam. Sempre levarei as cores e ensinamentos dessa escola por onde eu passar. Obrigado por ter existido em minha vida e um até breve.**

**Ao meu orientador,**

**Professor Celso Koogi Sonoda, obrigado pela dedicação e amizade. Tenho que agradecer o apoio sempre. O senhor é um exemplo de profissional completo. Muito Obrigado**

**Minha Orientadora,**

**Professora Daniela Atili Brandini, ou melhor, Dani, porque assim que chamo a pessoa que além de orientadora é em primeiro lugar uma grande amiga. Obrigado é uma simples palavra que diz muito para mim, ela aqui representa toda minha gratidão por tudo que você fez por mim. Tenho que agradecer por toda a paciência, dedicação, ensinamentos e amizade. Desculpe os momentos de ausências. Obrigado por fazer parte de todo meu crescimento professora. Você é e sempre será uma grande amiga que ganhei e continuarei tendo em minha vida.**

**Ao meu Coorientador,**

**Professor Cláudio Aparecido Casatti, muito obrigado por todos ensinamentos, oportunidades de crescimento e confiança em mim. Tenho em você uma pessoa que me espelho e admiro. Hoje professor além de orientador tenho um amigo. Obrigado por tudo.**

**Ao Professor Idelmo Rangel Garcia Junior,**

**Um cirurgião que tem o dom de operar e um grande mestre que me mostrou como deve ser o papel de professor, sempre estimulando o aluno a pensar. Pessoa mais humana com os pacientes que conheço e de um coração sem tamanho. Professor, muito obrigado pelos ensinamentos nessa caminhada. Tenho no senhor um grande espelho e amigo. Ficam aqui meus eternos agradecimentos pelos ensinamentos.**

**Ao Amigo e Mestre Dr. Elias Naim Kassis**

**Agradeço ao amigo Dr. Elias por todos os conselhos, ensinamentos e amizade sempre. Graças a você realizei o sonho de ser professor e estou crescendo como cirurgião. Muito obrigado por toda confiança depositada em mim. Doutor Elias o senhor foi uma pessoa que mesmo não me conhecendo apostou em mim. Só tenho muita admiração e gratidão por você. Muito obrigado por tudo.**

**A Amiga Professora Dra. Alessandra Marcondes Aranega,**

**Muito obrigado por toda confiança, dedicação, preocupação e orientação desde a época de graduação. Você é um exemplo de dedicação, bondade e luta professora. Obrigado pela sua amizade.**

**Aos meus Orientadores na graduação,**

**Professora Ana Cláudia de Melo Stevanato Nakamune, minha primeira orientadora que mostrou a ciência no primeiro e segundo ano de faculdade.**

**A professora Sandra Maria Herondina Ávila de Aguiar, simplesmente me mostrou no CAOÉ como fazer o bem para o próximo é bom. Com certeza o maior aprendizado que tive na Faculdade de Odontologia de Araçatuba. Obrigado por tudo, professora.**

**A Maria Lúcia Marçal Mazza Sundefeld, obrigado por todos os ensinamentos e dedicação nesse período. A senhora me ensinou como é ser um pesquisador.**

**Ao Professor Éder Ricardo Biasoli, obrigado professor por todos os ensinamentos, pela amizade e crescimento no período que fiquei no COB. Esse período foi de grande aprendizado e evolução como pessoa.**

**Aos Mestres professores da Cirurgia,**

**Professor Titular Michel Saad Neto que simplesmente é um exemplo de carinhoso e dedicação à docência. Obrigado professor por todos ensinamentos, exemplos e conselhos. Tenho o senhor, como o maior exemplo, de o que é ser professor.**

**À Professora Dra. Cristiane Mara Ruiz de Sousa Fattah, que embora não esteja mais presente na Cirurgia, contribuiu imensamente com a minha formação. Obrigado pela dedicação, respeito e pelo carinho que sempre teve com os alunos.**

**Ao Professor Dr. Osvaldo Magro filho, Dinho, obrigado pelos ensinamentos, amizade, e por ser essa pessoa que passa alegria para os alunos.**

**Ao Professor Dr. Tetuo Okamoto in memoriam, pelo exemplo de humildade, competência, caráter e dedicação incansável. A Universidade e a Pós-graduação como um todo (alunos e professores) têm uma imensa gratidão pela contribuição imensurável que o senhor fez por todos nós. Obrigado pelas orientações e sugestões.**

**A Professora Dra. Daniela Ponzoni, obrigado pelo apoio e ensinamentos.**

**A Professora Ana Paula Farnezi Bassi, obrigado por todos os ensinamentos e confiança nos trabalhos. A cirurgia ganhou muito com uma pessoa tão competente como professora.**

**O Professor Francisley Ávila Souza, obrigado pelos ensinamentos.**

**Aos Docentes da Faculdade de Odontologia de Araçatuba-UNESP: Professores (as) Doutores (as) Denise Pedrini Ostini, Wilson Roberto Poi, Sônia Regina Panzarini Barioni, Wirley Gonçalves Assunção, Paulo Henrique dos Santos, Eduardo Passos Rocha, Edilson Ervolino, Alaíde Gonçalves, José Américo de Oliveira, Paulo Roberto Botacin, Roelf Justino Cruz Rizzolo, João César Bedran de Castro, Roberta Okamoto pelos ensinamentos e disponibilidade em ajudar.**

**A funcionária Cleide Lemes da Silva Toquetão pelo carinho, dedicação, preocupação e felicidade que passa para todos. Obrigado**

**Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada, Ciências Básicas: Maria Dirce Colli Boatto, Gilmar Martins de Oliveira, Paulo Roberto Gratão, André Luís Mattos Piedade, Sandra Aparecida dos Santos Pinheiro, Arnaldo César dos Santos agradeço pelos ensinamentos da tese, pela compreensão e Amizade.**

**Aos Funcionários do biotério Seu Camilo, João e Alan. Aos funcionários da Biblioteca da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP (Izamar, Cláudio, Alexandra, Maria Cláudia, Cláudio, Ana Cláudia, Isabel, Ana Paula, Luzia, Fátima Denise, João e Ivone), pela disponibilidade em ajudar sempre e pelo carinho.**

**Aos meus amigos,**

**In Memoriam,**

**Ao meu amigo-irmão Daniel Castro Corbucci. Obrigado pelos momentos de amizade e alegria compartilhados. Sei que você está aí no céu torcendo muito por mim. Meu amigo dedico essa conquista a você também.**

**Sara Vieira Pacanaro, obrigado por toda sua dedicação, amizade e colaboração para realização desse trabalho. Com certeza essa conquista não teria acontecido sem você também. Deus quis que você ficasse feliz hoje a distância, mais uma vez meu muito obrigado.**

**Não posso deixar de agradecer a torcida dos amigos mais próximos Daniel Almeida, Milene Moreira, Renata Reis, Leticia Marcos, Junior Castro, Luana Barbosa, Antônio Ranieri, Guilherme Batistella, Elton Pires, Rubens Pinati, Matheus Gonçalves, Tiago Marciano, Ederson Rizzo, Renato Colenci, Lucas Tabata, Bruno Coelho, Daniel Magosso e Conceição Leonardi.**

**Aos Amigos de pós-graduação Marina, Jéssica, Thallita, Albanir, Marcus, Leonardo, Gabriel, Fernanda, Juliana, Pilar, Rodrigo, Nicolas, Ellen, Elisa, Marcelo, Sabrina e André.**

**Aos amigos em especial Lamis, Pamela, Fernando, Abrahão, Pedro, Rodolfo, Cristiano, Cassiano e Heloísa. Obrigado por todos os momentos de alegria e companheirismo durante esse período.**

**Aos Amigos da Unipós**

**Agradeço aos colegas Rodolfo Anchieta, Marcelo Ramires, Paula Bernardes, Fabio Linhares, Leandro Tempest, Marcelo Rudnick, Vanda Miasaki, Patricia, Andreia, Luciana, Ester, Rolemberg, Roberta, Rafael, Cleber, Éder, Nivaldo de Rio Preto da Unipós por todo apoio, ensinamentos e amizade nessa caminhada.**

**À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior–CAPES, pelo apoio financeiro concedido por meio da Bolsa de Doutorado que contribuiu, sobremaneira, com a realização deste trabalho.**

## **Epígrafe**

**“ Se todos seus esforços forem vistos com indiferença, não desamine, porque o Sol ao nascer dá um espetáculo todo especial, e, no entanto, a maioria da plateia continua dormindo. Assim, é melhor tentar e falhar que se preocupar em ver a vida passar. É melhor tentar, ainda que em vão, que se sentar fazendo nada até o final. Eu prefiro na chuva caminhar que em dias tristes em casa me esconder. Prefiro ser feliz, embora louco, que em conformidade viver”.**

**Martin Luther King**

Beneti, IM. **Influência da oclusão dentária em ratos submetidos a reimplante imediato. Estudo histológico do periodonto e imuno-histoquímico dos restos epiteliais de Malassez e células clásticas.** (Tese de Doutorado). Araçatuba: Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista; 2016.

### **Resumo**

Alguns fatores podem interferir no prognóstico do reimplante imediato, como a fase da rizogênese dentária, o período de tempo no meio extra-alveolar, meios de conservação, contaminação, o uso e tipo de contenção dentária e a oclusão traumática. Este estudo visa avaliar a influência da ausência ou excesso de carga oclusal no processo de reparo do periodonto, com ênfase nas características histológicas, e analisar dos restos epiteliais de Malassez e das células clásticas na raiz mesial do primeiro molar superior de ratos submetidos a reimplante imediato. Foram divididos em grupos controle (GC), infra-oclusão (GIO) e oclusão traumática (GOT) e os períodos experimentais avaliados de 3, 5, 7, 14 e 30 dias. Análises qualitativas e quantitativas foram realizadas em cortes histológicos corados pelo método da hematoxilina e eosina (HE); e células clásticas (fosfatase ácida resistente ao tartarato, TRAP) e os restos epiteliais de malassez (citoqueratina) pela técnica de imuno-histoquímica. Os dados foram submetidos ao teste de Kruskal-Wallis e pós-teste de Dunn, considerando  $p < 0,05$  como significativo. No período de 5 dias, os animais do grupo GIO apresentaram espessura do ligamento periodontal e porcentagem da área de matriz extracelular fibrilar e não fibrilar significativamente menor. No 7º dia, animais do GIO mostraram uma redução significativa da porcentagem da área de matriz extracelular não fibrilar e número de células clástica, sendo o oposto no grupo GOT. Aos 30 dias a porcentagem de matriz extracelular não fibrilar e número de células clástica foram menores, e o número de perfil nuclear foi maior no GIO. A oclusão traumática aumentou significativamente o número de células clásticas, enquanto a ausência de forças oclusais retardou o aparecimento e o número das mesmas. Os restos epiteliais de Malassez foram evidenciados, principalmente presente no período de 3 dias pós-operatório e, raramente visualizados nos demais tempos experimentais. Em conclusão, baseado no modelo experimental adotado, pode ser notado que a carga oclusal imediata deve ser evitada nos dentes submetidos ao reimplante imediato sem contenção.

**Palavras-chaves:** Reimplante dentário, Oclusão dentária traumática, Ligamento periodontal.

Beneti, IM. **Influence of dental occlusion in the periodontium of the teeth rats submitted to immediately replantation. Study of epithelial remains of Malassez and clastic cells.** (Tese de Doutorado). Araçatuba: Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, 2016.

### **Abstract**

Among the factors that can interfere in the immediate tooth replantation prognosis there are the phase of root formation, the extra-alveolar period, storage media, contamination, use and type of dental splint and traumatic occlusion. This study aims to evaluate the influence of absence or excessive occlusal load on periodontal healing process, with emphasis on homeostatic function of epithelial remains of Malassez and clastic cells, dental root of rat molars submitted of immediate replantation. We used 150 male rats , with 5 weeks of life, divided into Control group ( GC ) infra occlusion ( IOG) and traumatic occlusion ( TOG) and the experimental periods evaluated 3, 5, 7, 14 and 30 days. Qualitative and quantitative analyzes were performed on histological sections stained by hematoxylin and eosin (HE); and clastic cells (TRAP) and epithelial remains of Malassez (PAN Cytokeratin) by immunohistochemistry. The data were submitted to the Kruskal-Wallis test post hoc Dunn, the statistical program Graph Prism 6.0 ( $\alpha = 5\%$ ). The epithelial remains of Malassez were present in the 3-day period and absent in other experimental times, in all the groups. In the 5-day period IOG shows thickness of the periodontal ligament and the percentage of fibrillar and non fibrillar extracellular matrix area significantly lower. On the 7th day IOG showed a significant reduction of the percentage of non fibrillar extracellular matrix area and clastic number of cells, and OTG shows the opposite. At 30 days the percentage of non-fibrillar extracellular matrix and the number of clastic cells was lower, and the number of cell profiles was higher in IOG. The traumatic occlusion significantly increases the number of clastic cells, while the absence of occlusal forces retards the onset and the number of them. Early occlusal load should be avoided in the teeth subjected to immediate replantation.

**Key words:** Tooth replantation, Traumatic dental occlusion, Periodontal ligament.

## Lista de Figuras

- Figura 1 Apresentação esquemática da técnica de Kvinnsland ..Página 84  
(1991), para extração de molares de ratos.
- Figura 2 Quantificação no programa ImageJ do perímetro (a), ..Página 85  
área de reabsorção (b), espessura do espaço do  
ligamento periodontal (c), e área de anquilose (d).
- Figura 3 Apresentação do corte longitudinal do ligamento ..Página 86  
periodontal no terço cervical da raiz mesial do primeiro  
molar superior direito. A área avaliada está indicada  
pelo retângulo. Barra= 25µm
- Figura 4 Quantificação no programa ImageJ da área de perfil ..Página 87  
nuclear (a), matriz extracelular (b), substância amorfa  
(c) e vasos sanguíneos (d).
- Figura 5 Fotomicrografia em microscopia de luz de corte ..Página 50  
histológico longitudinal do primeiro molar superior  
direito, corado pelo método da hematoxilina e eosina  
(HE), mostrando os terços cervical (A-C), médio (B-B'')  
e apical (C-C'') do periodonto da raiz mesial dos animais  
dos grupos controle (GC), infra-oclusão (GIO) oclusão  
traumática (GOT) com 3 dias de pós-operatório.

- Figura 6 Fotomicrografia em microscopia de luz de corte ..Página 58  
histológico longitudinal do primeiro molar superior direito, corado pelo método da hematoxilina e eosina (HE), mostrando os terços cervical (A-C), médio (B-B'') e apical (C-C'') do periodonto da raiz mesial dos animais dos grupos controle (GC), infra-oclusão (GIO) oclusão traumática (GOT) com 5 dias de pós-operatório.
- Figura 7 Fotomicrografia em microscopia de luz de corte ..Página 60  
histológico longitudinal do primeiro molar superior direito, corado pelo método da hematoxilina e eosina (HE), mostrando os terços cervical (A-C), médio (B-B'') e apical (C-C'') do periodonto da raiz mesial dos animais dos grupos controle (GC), infra-oclusão (GIO) oclusão traumática (GOT) com 7 dias de pós-operatório.
- Figura 8 Fotomicrografia em microscopia de luz de corte ..Página 62  
histológico longitudinal do primeiro molar superior direito, corado pelo método da hematoxilina e eosina (HE), mostrando os terços cervical (A-C), médio (B-B'') e apical (C-C'') do periodonto da raiz mesial dos animais dos grupos controle (GC), infra-oclusão (GIO) oclusão traumática (GOT) com 14 dias de pós-operatório.
- Figura 9 Fotomicrografia em microscopia de luz de corte ..Página 64  
histológico longitudinal do primeiro molar superior direito, corado pelo método da hematoxilina e eosina (HE), mostrando os terços cervical (A-C), médio (B-B'')

e apical (C-C'') do periodonto da raiz mesial dos animais dos grupos controle (GC), infra-oclusão (GIO) oclusão traumática (GOT) com 30 dias de pós-operatório.

Figura 10 Fotomicrografia em microscopia de luz de corte ..Página 67

histológico longitudinal do primeiro molar superior de animal do grupo controle (3 dias de pós-operatório), submetido à identificação da proteína TRAP através do método da imunoperoxidase indireta e contra-corado com hematoxilina. Em A observar uma vista panorâmica do primeiro molar superior exibindo a raiz mesial (fase distal) com suas subdivisões em terços. Em B-D são mostradas as células da linhagem osteoclásticas (macrófagos clásticos – células mononucleadas, setas em B; osteoclastos - células gigantes multinucleadas, setas em C-D). Notar que as imunomarcações são específicas e estrita ao citoplasma das células clásticas. Abreviaturas: LP, ligamento periodontal; OA, osso alveolar; VS, vasos sanguíneos.

Figura 11 Fotomicrografia em microscopia de luz de corte ..Página 68

histológico longitudinal do primeiro molar superior (raiz mesial – face distal) dos animais dos grupos controle (GC), infra-oclusão (GIO) e oclusão traumática (GOT) nos períodos experimentais de 3, 5 e 7 dias de pós-operatório, submetido à identificação da proteína TRAP

em osteoclastos (setas) através do método da imunoperoxidase indireta e contra-corado com hematoxilina. Notar que a quantidade de osteoclastos mostra um claro aumento (setas) nos animais dos grupos GC e GOT com 5 dias de pós-operatório. Além disso, os animais do grupo GOT mostra uma preponderância destas células em todos os períodos pós-operatórios. Abreviaturas: LP, ligamento periodontal; OA, osso alveolar; RD, raiz dentária mesial do primeiro molar superior.

Figura 12 Fotomicrografia em microscopia de luz de corte ..Página 69

histológico longitudinal do primeiro molar superior (raiz mesial – face distal) dos animais dos grupos controle (GC), infra-oclusão (GIO) e oclusão traumática (GOT) nos períodos experimentais de 14 e 30 dias de pós-operatório, submetido à identificação da proteína TRAP em osteoclastos (setas) através do método da imunoperoxidase indireta e contra-corado com hematoxilina. Notar que a quantidade de osteoclastos mostra uma clara diminuição nos grupos experimentais, persistindo (setas) no terço apical radicular dos grupos GC e GOT com 5 dias de pós-operatório. Abreviaturas: OA, osso alveolar; RD, raiz dentária mesial do primeiro molar superior; ta, terço apical; tm, terço médio.

Figura 13 Fotomicrografia em microscopia de luz de corte ..Página 71

histológico longitudinal do segundo molar superior de animal do grupo controle (GC), submetido à identificação da proteína citoqueratina (pan-queratina) (setas) através do método da imunoperoxidase indireta e contra-corado com hematoxilina. Notar que a imunorreatividade é citosólica e específica (setas). Em A é mostrada a imunomarcação do epitélio gengival; em B é mostrado o epitélio juncional (seta maior) e os restos epiteliais de Mallassez na junção dento-gengival (setas menores); em C é D são mostrados os restos epiteliais de Mallassez no ligamento periodontal (setas). Abreviaturas: EG, epitélio gengival; IC, inserção conjuntiva da junção dentogengival; LP, ligamento periodontal; OA, osso alveolar; RD, raiz dentária.

Figura 14 Fotomicrografia em microscopia de luz de corte ..Página 72

histológico longitudinal do primeiro molar superior de animais dos grupos controle (GC, A) e infra-oclusão (GIO, B) com 3 dias de pós-operatório e, grupo GC com 14 dias de pós-operatório (C), submetido à identificação da proteína citoqueratina (pan-queratina) (setas) através do método da imunoperoxidase indireta e contra-corado com hematoxilina. Notar em A (setas), a

presença de restos celulares apresentando imunorreatividade para citoqueratina; enquanto em B é possível observar alguns restos epiteliais de Mallassez exibindo discreta imunorreatividade (setas). Em C é mostrado alguns raros restos epiteliais de Mallassez, também exibindo discreta imunorreatividade granular citosólica (setas). Abreviaturas: LP, ligamento periodontal; RD, raiz dentária.

## Lista de tabelas

- Tabela 1 Avaliação da espessura do ligamento periodontal. ....Página 51
- Tabela 2 Avaliação da porcentagem de área de matriz extracelular fibrilar. ....Página 52
- Tabela 3 Avaliação da porcentagem de área de matriz extracelular não fibrilar. ....Página 53
- Tabela 4 Avaliação da porcentagem de área de Vasos Sanguíneos. ....Página 54
- Tabela 5 Avaliação da quantidade de perfil nuclear. ....Página 55
- Tabela 6 Avaliação da quantidade de células clásticas. ....Página 56

## Lista de Abreviaturas

GC- Grupo controle

GIO- Grupo infra-oclusão

GOT- Grupo oclusão traumática

VIP- Peptídeo intestinal vasoativo

TRAP- Fosfatase Ácida Resistente ao Tartarato

EGF- Fatores de crescimento epidermal

PBS- Tampão fosfato de sódio

EDTA- Ácido etilenodiamino tetra-acético

HE- Hematoxilina e eosina

EP- Erro padrão

# Sumário

1. Introdução.....	33
2. Proposição.....	37
3. Material e Método.....	38
3.1 Animais .....	38
3.2 Grupos experimentais.....	39
3.3 Procedimentos cirúrgicos.....	40
3.4 Perfusão transcardíaca e processamento histológico.....	42
3.5 Imuno-histoquímica para identificação da TRAP e citoqueratina.....	44
3.6 Forma de análise dos resultados.....	46
3.6.1 Análise histológica.....	46
3.6.2 Análise histológica qualitativa e quantitativa.....	46
3.6.3 Análise histométrica – imunohistoquímica.....	47
3.6.4 Análise Estatística.....	47
4. Resultados.....	48
5. Discussão.....	73
6. Conclusão.....	77
7. Referências Bibliográficas.....	78
8. Anexos.....	84

## 1. Introdução

Os traumatismos dento-alveolares representam até 16% dentre os traumas faciais, sendo que a avulsão dentária acomete até 3% deste total (1-4). A avulsão dentária é o traumatismo mais grave que pode acometer o elemento dentário. A etiologia das avulsões são as práticas desportivas, acidentes ciclísticos, quedas da própria altura, agressão física, acidentes automobilísticos e perda de consciência (5-10). O melhor tratamento é o reimplante imediato; entretanto, quando a reimplantação do dente é realizada de forma tardia as chances de sucesso diminuem, devido a morte das células do ligamento periodontal. Portanto, o reimplante deve ser realizado imediatamente após o trauma, pelo próprio acidentado ou acompanhante, no local do acidente (7,11,12). Fatores como outros traumas corporais ou faciais e falta de acesso imediato ao cirurgião dentista podem limitar o protocolo de atendimento clínico ideal (11,12).

Dentre os fatores que podem interferir no prognóstico do reimplante imediato temos a fase de rizogênese dental, o período extra-alveolar, os meios de conservação, o tipo de manipulação dental, a contaminação, o uso e o tipo de contenção dental realizado (10,13,14) e a oclusão traumática.

A oclusão traumática pode estar relacionada nesses casos a fatores já existentes anteriormente a avulsão ou esse passa a ocorrer em decorrência de fatores relacionados ao acidente. O contato prematuro, bruxismo, apertamento dental e a oclusão deficiente, destacando-se a presença de contatos prematuros, são considerados os fatores preexistentes mais comuns encontrados. Dentre os fatores relacionados ao traumatismo dento-facial que podem alterar a oclusão, destaca-se, o incorreto posicionamento do dente no alvéolo, mal posicionamento após o deslocamento dos ossos faciais nos casos de fraturas, luxações dos côndilos,

deslocamento patológico do disco ou edema das articulações temporomandibulares (15).

O ligamento periodontal é responsável pela homeostase do periodonto, uma vez que exerce as funções de suporte dental, propriocepção, nutrição, além das propriedades regenerativas. As funções de homeostasia e reparo são as mais significantes no processo de reimplante dental, que ocorrem através da regulação de fatores de crescimento e diferenciação celular (16,17). A regeneração através da proliferação e apoptose celular ocorre em diferentes padrões e tempos para o restabelecimento do espaço do ligamento periodontal após o reimplante (18).

O estímulo oclusal é importante fator para remodelação óssea e estabelecimento do espaço do ligamento periodontal, através da interação entre diferentes células (16,19,20,21). A função oclusal favorável é considerada um estímulo necessário para a manutenção da homeostasia dos tecidos periodontais, através da sua estimulação mecânica (22,23). Já a falta ou o excesso de forças oclusais resultam na desarmonia do funcionamento dos tecidos periodontais (23).

O excesso de carga oclusal ocasiona alterações morfofuncionais como a desorientação e a diminuição das fibras colágenas (24,25), a alteração no alinhamento das fibras periodontais (26,27), o aumento do número de fibroblastos (24), o aumento da atividade osteoclástica e a reorganização do osso alveolar (14-16), a trombose venosa (24) e a necrose do ligamento periodontal (26). Estudos demonstraram que a oclusão traumática em ratos resulta em um aumento da pressão do fluido intersticial do ligamento periodontal (48 horas após a indução do trauma) (24), diminuição do espaço do ligamento periodontal até o 5º dia, tendo sua espessura regularizada no 7º dia (28), provavelmente em virtude da perda óssea necessária para esse processo de remodelação (22).

Estudos que compararam grupos com contato dental sem alteração oclusal e sem contato dental após transplante (29) ou reimplante dental (17,30) mostraram que a ausência de contato dental provoca anquilose (15 dias) (29,30), diminuição do espaço do ligamento periodontal (29-31), diminuição na formação de osteoclastos e aumento de osteoblastos e (17); diminuição da presença do peptídeo intestinal vasoativo (VIP) (17), redução no fator de crescimento de fibroblastos (30) e redução na expressão de periostina (23).

Para estudar os mecanismos dinâmicos envolvidos no processo de reparo celular do reimplante dentário, como a influência da carga oclusal, a técnica de imuno-histoquímica é uma ferramenta metodológica que pode auxiliar na compreensão e justificativa dos fatos evidenciados. O complexo mecanismo para regular a regeneração e homeostasia do ligamento periodontal, provavelmente deve conseguir explicar dois tipos diferentes de mecanismos regulatórios; sendo o mecanismo de calcificação para produção de osso e outro de não calcificação para manter um espaço fixo do ligamento periodontal (16). A proteína fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP) também tem um papel importante no processo de avaliação da dinâmica de remodelação óssea e reabsorção, sendo um excelente marcador das células da linhagem osteoclástica (32,33). A avaliação dos restos epiteliais de Malassez também é importante, uma vez que são responsáveis pela formação manutenção da formação de cemento acelular e pela constante liberação de fatores de crescimento epidermal (EGF), que, por proximidade, induzem a reabsorção da superfície óssea alveolar periodontal, mantendo o espaço periodontal humano com medidas que variam entre 0,20 e 0,40mm de espessura (34-39). Deste modo, o estudo imuno-histoquímico do efeito da oclusão traumática no processo de

reparo de reimplantes imediatos mostra-se complementar às avaliações histológicas de rotina.

## 6. Conclusão

Baseado neste modelo experimental de reimplante imediato de molares de ratos jovens, sem contenção, podemos concluir que:

1. A ausência de contato oclusal nos períodos iniciais aceleraram o processo de reparo do ligamento periodontal, favoreceu a permanência dos restos epiteliais de Malassez até 14 dias e diminuiu da presença de células clásticas durante o período estudado.
2. O excesso de carga oclusal resulta em desaparecimento dos restos epiteliais de Malassez por volta do terceiro dia de experimento e aumento de células clásticas influenciando desfavoravelmente o processo de reparo do periodonto.
3. O terço apical das raízes apresentou maior quantidade de processo inflamatório e conseqüente reabsorção radicular.

## 7. Referências Bibliográficas

1. Diangelis AJ, Andreasen JO, Ebeleseder KA, Kenny DJ, Trope M, Sigurdsson A, Andersson L, Bourguignon C, Flores MT, Hicks MI, Lenzi AR, Malmgren B, Moule AJ, Pohl Y, Tsukiboshi M; International Association of Dental Traumatology. [International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. Hebrew edition]. Refuat Hapeh Vehashinayim (1993). 2014 ;31(2):57-68, 90.
2. Andreasen JO, Lauridsen E, Gerds TA, Ahrensburg SS. Dental Trauma Guide: a source of evidence-based treatment guidelines for dental trauma. Dent Traumatol 2012;28(5):345-50.
3. Andersson L, Andreasen JO, Day P, Heithersay G, Trope M, Diangelis AJ, Kenny DJ, Sigurdsson A, Bourguignon C, Flores MT, Hicks ML, Lenzi AR, Malmgren B, Moule AJ, Tsukiboshi M; International Association of Dental Traumatology. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. Dent Traumatol 2012 28(2):88-96.
4. Andreasen JO, Lauridsen E, Gerds TA, Ahrensburg SS. Dental Trauma Guide: a source of evidence-based treatment guidelines for dental trauma. Dent Traumatol 2012 ;28(2):142-147.
5. Andreasen JO, Andreasen FM, Bakland LK, Flores MT. Traumatic dental injuries – a manual Oxford, UK: Blackwell Munksgaard; 2003.
6. Glendor U, Marcenes W, Andreasen JO. Classification, epidemiology and etiology. In: Andreasen JO, Andreasen FM, Andersson L, editor. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth, 4th edn. Odder: Blackwell Munksgaard; 2007. p. 217–54.

7. Ritwik P, Massey C, Hagan J. Epidemiology and outcomes of dental trauma cases from an urban pediatric emergency department. *Dent Traumatol* 2015 ;31(2):97-102.
8. Vasconcelos BCE, Fernandes BC, Aguiar ERB. - Reimplante dental. *Rev. Cir. Traumat. Buco-Maxilo-Facial* 2001; 1(2):45-51.
9. Andreassen JO, Andreasen FM, Andersson L. Textbook and colors atlas of traumatic injuries to the teeth. 4<sup>th</sup> ed. Oxford: Blackwell; 2007,770 pag.
10. Petrovic B, Marković D, Peric T, Blagojevic D. Factors related to treatment and outcomes of avulsed teeth. *Dent Traumatol* 2010;26(1):52-9.
11. Poi WR, Salineiro SL, Miziara FV, Miziara EV. A educação como forma de favorecer o prognóstico do reimplante dental. *Revista da APCD* 1999; 53(6):474-479.
12. Soares IL, Soares, IJ. Técnica do reimplante dentário – Tratamento dos dentes traumatizados e conduta clínica para reimplantação. *RGO* 1998; 36(5):331-336.
13. Trope M. Clinical management of the avulsed tooth: present strategies and future directions. *Dent Traumatol* 2002; 18:1-11.
14. Gulinelli JL, Saito CT, Garcia-Júnior IR, Panzarini SR, Poi WR, Sonoda CK, Jardim EC, Faverani LP. Occurrence of tooth injuries in patients treated in hospital environment in the region of Araçatuba, Brazil during a 6-year period. *Dent Traumatol* 2008; 24(6):640-644.
15. Haralabakis NB, Sifakakis IB, Papadakis G. Etiology and management of posttraumatic malocclusions *World J Orthod.* 2007;8(4):335-43.
16. Shimono M, Ishikawa T, Ishikawa H, Matsuzaki H, Hashimoto S, Muramatsu T, Shima K, Matsuzaka K, Inoue T. Regulatory mechanisms of periodontal regeneration. *Microsc Res Tech* 2003;60(5):491-502.

17. Hamilton DW. Functional role of periostin in development and wound repair: implications for connective tissue disease J Cell Commun Signal. 2008; 2(1-2):9-17.
18. Sato K, Muramatsu T, Tsuchiya Y, Masaoka T, Enokiya Y, Hashimoto S, Shimono M. Proliferation, migration and apoptosis of periodontal ligament cells after tooth replantation Oral Dis 2010; 16:263-8.
19. Termsuknirandorn S, Hosomichi J, Soma K. Occlusal stimuli influence on the expression of IGF-1 and the IGF-1 receptor in the rat periodontal ligament. Angle Orthod 2008;78(4):610-6
20. Barros I, Muramoto T, Soma K. Effects of occlusal loading on alveolar bone remodeling and changes in the distribution of neuropeptides after tooth replantation in rats. J Med Dent Sci 2007; 54(1):49-56.
21. Rios HF, Ma D, Xie Y, Giannobile WV, Bonewald LF, Conway SJ, Feng JQ. Periostin is essential for the integrity and function of the periodontal ligament during occlusal loading in mice. J Periodontol 2008; 79(8):1480-90.
22. Glickman I. Role of occlusion in the etiology and treatment of periodontal disease. J Dent Res 1971; 50(2):199-204.
23. Motokawa M, Kaku M, Matsuda Y, Kojima S, Sumi C, Kimura A, Tanimoto K. Effects of occlusal hypofunction and its recovery on PDL structure and expression of VEGF and bFGF in rats. Clin Oral Investig 2015; 19(4):929-35.
24. Palcanis KG. Effect of occlusal trauma on interstitial pressure in the periodontal ligament. J Dent Res 1973; 52(5):903-10.
25. Biancu S, Ericsson I, Lindhe J. Periodontal ligament tissue reactions to trauma and gingival inflammation. An experimental study in the beagle dog J Clin Periodontol. 1995.

26. Glickman I. Inflammation and trauma from occlusion: co-destructive factors in chronic periodontal disease. *J Periodontol* 1963; 34:5-10.
27. Jabôr GM, Suchard CA, Martins Filho CM, Tames DR. Efeitos do Trauma Oclusal no ligamento periodontal de Molares de ratos restaurados em resina composta e amálgama. *J. Bras. oclusão ATM dor orofac* 2003; 3(10): 154-7.
28. Kaku M, Uoshima K, Yamashita Y, Miura H. Investigation of periodontal ligament reaction upon excessive occlusal load--osteopontin induction among periodontal ligament cells. *J Periodontal Res* 2005; 40(1):59-66.
29. Chen CC, Kanno Z, Soma K. Occlusal forces promote periodontal healing of transplanted teeth with enhanced nitric oxide synthesis. *J Med Dent Sci* 2005; 52(1):59-64.
30. Hu FW, Hosomichi J, Kanno Z, Soma K. The influence of occlusal stimuli on basic fibroblast growth factor expression in the periodontal healing of replanted teeth. *J Med Dent Sci* 2008; 55(1):129-35.
31. ElDeeb ME, Andreasen JO. Histometric study of the effect of occlusal alteration on periodontal tissue healing after surgical injury. *Endod Dent Traumatol* 1991; 7(4):158-63.
32. 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.
33. Faloni AP, Sasso-Cerri E, Katchburian E, Cerri PS. Decrease in the number and apoptosis of alveolar bone osteoclasts in estrogen-treated rats. *J Periodontal Res* 2007; 42(3):193-201.

34. Consolaro A, Consolaro MF. ERM functions, EGF and orthodontic movement or Why doesn't orthodontic movement cause alveolodental ankylosis?. *Dental Press J. Orthod* [online]. 2010; 15(2):24-32.
35. Yang Z, Li Y, Ma X, Shen L, Zhao Z, Jin F. Role of the Epithelial Cell Rests of Malassez in Periodontal Homeostasis and Regeneration - A Review. *Curr Stem Cell Res Ther* 2015;10(5):398-404.
36. Xiong J, Gronthos S, Bartold PM. Role of the epithelial cell rests of Malassez in the development, maintenance and regeneration of periodontal ligament tissues. *Periodontol 2000* 2013;63(1):217-33.
37. Talic NF, Evans CA, Daniel JC, Zaki AE. Proliferation of epithelial rests of Malassez during experimental tooth movement. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2003; 123(5):527-33.
38. Heal MB, Abd-Elmotelb, NH Sarhan, NB Nagy. Putative role of epithelial rests of Malassez in alleviation of traumatic occlusion. *Tanta Dental Journal* 2015; (12) 292-301.
39. Keinan D, Cohen RE. The significance of epithelial rests of Malassez in the periodontal ligament. *J Endod* 2013; 39(5):582-7.
40. Kvinnsland S, Kristiansen AB, Kvinnsland I, Heeyraas KJ. Effect of experimental traumatic occlusion on periodontal and pulpal blood flow. *Acta Odontol Scand* 1992; 50(4):211-9.
41. Andreasen FM. Pulp healing after luxation injuries and root fracture in the permanent dentition. *Endod Dent Traumatol* 1989; 5:111–31.
42. Oikarinen KS. Splinting of traumatized teeth. In: Andreasen JO, Andreasen FM, Andersson L, eds. *Textbook and Color Atlas of Traumatic Injuries to the Teeth*. 4th edn. Copenhagen: Blackwell Publishing, 2007:842–851.

43. Kahler B, Heithersay GS. An evidence-based appraisal of splinting luxated, avulsed and root-fractured teeth. *Dent Traumatol* 2008; 24(1):2–10.
44. Trepe M. Clinical management of the avulsed tooth: present strategies and future directions. *Dent Traumatol*. 2002; 18: 1-11.
45. Andreasen JO, Andreasen FM. *Texto and atlas colorido de trauma dental*, 3rd edn. Porto Alegre: Artmed; 2001.
46. Tronstad L. Root resorption - etiology, terminology and clinical manifestations. *EndodDentTraumatol* 1988; 4:241-51.
47. Nakatsu S, Yoshinaga Y, Kuramoto A, Nagano F, Ichimura I, Oshino K, Yoshimura A, Yano Y, Hara Y. Occlusal trauma accelerates attachment loss at the onset of experimental periodontitis in rats. *J Periodontal Res* 2014; 49(3):314-22.
48. Ritwik P, Massey C, Hagan J. Epidemiology and outcomes of dental trauma cases from an urban pediatric emergency department. *Dent Traumatol* 2015; 31(2):97-102.