

FERNANDA ASSIS PAIVA SERRA

**REIMPLANTE DENTÁRIO TARDIO APÓS O USO DO
ALENDRONATO DE SÓDIO COMO CURATIVO
ENDODÔNTICO. ESTUDO HISTOLÓGICO E
MORFOMÉTRICO EM DENTES DE RATOS**

**ARAÇATUBA-SP
2012**

FERNANDA ASSIS PAIVA SERRA

**REIMPLANTE DENTÁRIO TARDIO APÓS O USO DO
ALENDRONATO DE SÓDIO COMO CURATIVO
ENDODÔNTICO. ESTUDO HISTOLÓGICO E
MORFOMÉTRICO EM DENTES DE RATOS**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”- UNESP, para obtenção do título de MESTRE em odontologia - Área de concentração em Clínica Integrada.

Orientador: Prof. Adj. Celso Koogi Sonoda

**ARAÇATUBA-SP
2012**

Catalogação na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S487r Serra, Fernanda Assis Paiva.
Reimplante dentário tardio após a obturação do canal com alendronato de sódio como curativo endodôntico. Estudo histológico e morfométrico em dentes de ratos /
Fernanda Assis Paiva Serra. - Araçatuba : [s.n], 2012
68 f. : il. ; tab. + 1 CD-ROM

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

1. Reimplante dentário 2. Bisfosfonatos 3. Alendronato de sódio 4. Hidróxido de cálcio 5. Reabsorção radicular

Black D2
CDD 617.6

Dados Curriculares

Fernanda Assis Paiva Serra

Nascimento: 08.10.1985

Filiação: Edson Paiva Serra
Elaine Meire de Assis

2006/2009: Curso de Graduação em Odontologia pela Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – UNESP – Araçatuba.

2010/2012: Especialização em Ortodontia e Ortopedia facial pela Universidade Estadual Paulista “Julio de Mesquita Filho” – UNESP – Araçatuba.

2010/2012: Curso de Pós-graduação em Clínica Integrada, nível de mestrado, na Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP.



Dedicatória



Dedicatória

À Deus,

Agradeço à Deus pelo presente da vida. Pela terra que piso. Pelo alento que respiro. Pelas pessoas com que convivo. Que minhas atitudes sejam diariamente, o reflexo deste sentimento de gratidão.

Obrigada por me amparar nos momentos difíceis, me dar força interior para superar as dificuldades, mostrar o caminho nas horas incertas e me suprir em todas as minhas necessidades.

Quero agradecer ao senhor por todas as minhas conquistas, pois sem as suas bênçãos eu não poderia alcançar.

Aos meus pais Edson e Elaine,

Vocês são o alicerce para o meu crescimento, tudo que tenho e que sou, recebi de vocês. Que desde o meu nascimento empenharam-se na minha educação e me mostraram o caminho certo a percorrer e por toda a minha vida me apoiaram. Os seus exemplos me fazem uma pessoa melhor. Meu reconhecimento e eterna gratidão pela paciência, compreensão e apoio constante nessa jornada da vida. Muito obrigada por tudo!

As meus avós Sebastião e Elza, Durval e Tereza,

Sempre presentes em minha criação e apoiando minhas conquistas. São exemplos de vida, cumplicidade e força. Passando suas experiências, com toda paciência e boa vontade. Muito Obrigada por tudo!

Aos meus irmãos,

Demonstram toda a confiança e afeto que tem por mim. Estaremos sempre unidos, onde estivermos. Obrigada por tudo, vocês são essenciais em minha vida!



Aradecimentos Especiais



Agradecimentos Especiais

Ao meu Orientador Prof. dr. Celso Koogi Sonoda,

Pelo exemplo de dedicação ao ensino universitário, admirável pela humildade e desprendimento com que transmite os seus valiosos ensinamentos. Não só profissionais, mas também de vida. Com você pude experimentar toda a seriedade com que se deve tratar a pesquisa. Agradeço pela confiança que desde o início depositou em mim. Você é o exemplo da honestidade e da ética. Muito obrigada por ter o privilégio de tê-lo como meu orientador.

Aos professores da Clínica Integrada,

Wilson Roberto Poi, Sônia Regina Panzarini, Celso Koogi Sonoda, Denise Pedrini, Daniela Atilli Brandini e José Carlos Monteiro de Castro,

Pelo exemplo de boa convivência e respeito entre si, uma equipe admirável, sempre pronta a ajudar e orientar. Obrigada pelos conhecimentos, experiências transmitidas e pela oportunidade de convivência.

Aos funcionários do Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP,

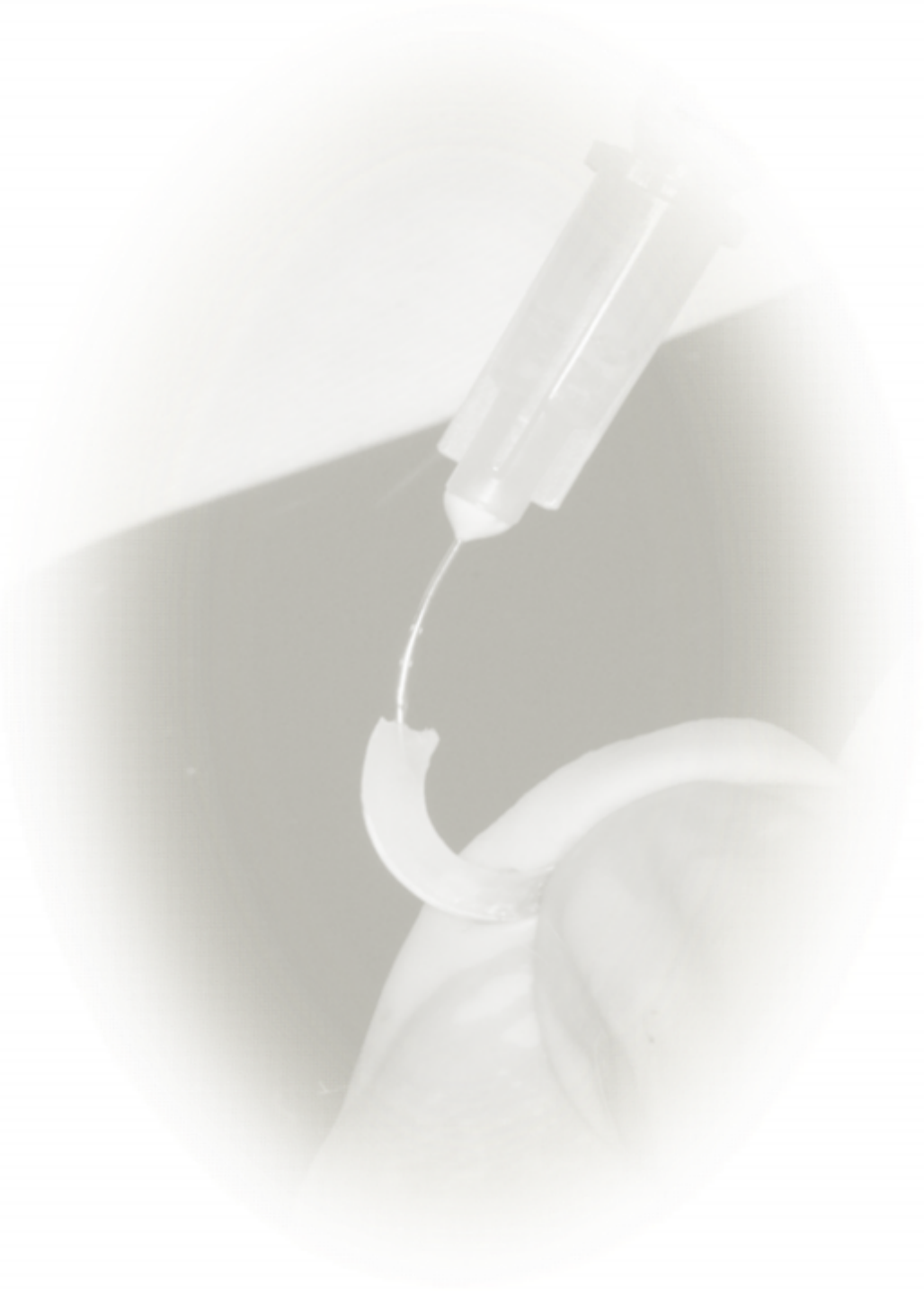
*Gilmar, Antônia, Dirce, Odair e Paulo
Pela dedicação e carinho durante todo esse tempo.*

As companheiras de casa, Ana Paula e Fernanda,

Pela cumplicidade tanto na vida profissional quanto na vida pessoal. Sempre dispostas a ajudar. A alegria, confiança e amizade que vocês sempre transmitiram me ajudaram a superar os grandes desafios dessa fase. Obrigada por tudo!

Aos meus amigos,

A todos que fazem parte da minha vida agora e sempre, agradeço à Deus por tê-los colocados na minha vida, sem todos eles seria muito mais difícil suportar os momentos tristes. Obrigada pela amizade.



Aaradecimentos



Agradecimentos

*À Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP,
Pela oportunidade de realização dos meus estudos.*

*Aos colegas do curso de pós-graduação,
Pela amizade e companheirismo no decorrer dos anos e que, de
maneira direta ou indireta, contribuíram para meu crescimento e a
realização deste trabalho.*

*Aos funcionários da secretaria de Pós-graduação,
Pela presteza e simpatia concedida.*

*Aos funcionários da biblioteca da Faculdade de Odontologia de
Araçatuba-Unesp.*

*Aos funcionários do Setor de Biotério, Camilo e João Batista,
Por abrir as portas e dar todo o apoio para a realização deste
trabalho.*

*A todos que direta ou indiretamente, contribuíram para realização
de mais esta etapa na minha vida.*



Evíarafe



Epígrafe

*“A mente que se
abre a uma nova
idéia jamais voltará
ao seu tamanho
original.”*

Albert Einstein

Resumo

Serra FAP. Reimplante dentário tardio após o uso do alendronato de sódio como curativo endodôntico. Estudo histológico e morfométrico em dentes de ratos. (Dissertação). Araçatuba: Faculdade de Odontologia da Universidade Estadual Paulista; 2012.

O alendronato de sódio, um bifosfonado, tem apresentado resultados promissores quando utilizado no tratamento da superfície radicular nos casos de reimplante dentário tardio. Pensando em uma forma de se prolongar a ação desta droga, foi proposto neste trabalho o seu estudo como curativo de canal em reimplante dentário tardio. Para isso empregou-se 40 ratos, divididos em 4 grupos de 10, que tiveram o incisivo superior direito extraído. No grupo I, os dentes foram reimplantados imediatamente no seu alvéolo de origem. Os demais dentes foram mantidos em meio seco por 60 minutos e depois tiveram o ligamento periodontal removido. A polpa também foi removida por via retrógrada e o canal instrumentado. Os dentes do grupo II tiveram o conduto radicular preenchido com pasta de alendronato. No grupo III utilizou-se a pasta de hidróxido de cálcio, e no grupo IV, utilizou-se a carboximetilcelulose. O forame apical foi selado e os dentes foram reimplantados. Os animais foram sacrificados 60 dias depois e as peças obtidas foram processadas e coradas pela hematoxilina e eosina para análise histológica e morfométrica. Os resultados demonstraram que o uso do alendronato de sódio e do hidróxido de cálcio controlaram a reabsorção radicular de forma semelhante. Porém, a formação do tecido conjuntivo fibroso na superfície radicular foi maior com o uso do alendronato de sódio do que com o uso do hidróxido de cálcio, onde predominaram as áreas de anquilose ($p < 0,05$).

Palavras-chave: reimplante dentário, alendronato de sódio, hidróxido de cálcio, reabsorção radicular.

Abstract

Serra FAP. Delayed tooth replantation after the use of alendronate sodium as endodontic dressing. Histological and morphometric study in rat teeth. (Dissertation) Araçatuba: Dentistry School of Estadual Paulista University; 2012

Alendronate sodium, a biphosphonate, has shown promising results when used in the treatment of root surface in cases of delayed tooth replantation. Thinking of a way to prolong the action of this drug was proposed in this work as his study as an intracanal medicament in the root canals in delayed tooth replantation. For this it was used 40 rats divided into 4 groups of 10, who had their upper right incisor extracted. In group I, the teeth were replanted immediately into the source socket. The remaining teeth were kept in dry ambient for 60 minutes and then had the periodontal ligament removed. The pulp was also removed and retrogradely channel instrumented. The teeth in group II had the root canal filled with a paste of alendronate. In Group III used the calcium hydroxide paste and Group IV used in the carboxymethyl cellulose. The apical foramen was sealed and the teeth were replanted. The animals were sacrificed 60 days later and the samples were processed and stained with hematoxylin and eosin for histological analysis. The results showed that the use of alendronate sodium and calcium hydroxide root resorption controlled similarly. However, the formation of fibrous connective tissue in the root surface was higher with the use of alendronate sodium, with the use of calcium hydroxide which prevailed areas of ankylosis ($p < 0.05$).

Keywords: dental replantation, alendronate sodium, calcium hydroxide, root resorption.

Lista de Figuras

Figura 1	Grupo I (reimplante imediato): Aspecto do terço médio da raiz com dentina (D) e cimento (C) íntegros. Ligamento periodontal (LP) com as fibras colágenas inseridas na camada de cimento e osso alveolar (TO). H.E. 100X.	46
Figura 2	Grupo I (reimplante imediato): Área de reabsorção comprometendo a camada superficial da raiz. Dentina reabsorvida e reparada com cimento e reinserção de fibras colágenas do ligamento periodontal (LP). H.E. 400X.	46
Figura 3	Grupo II (Alendronato de sódio): Superfície radicular com cimento (C) e dentina (D) íntegros. Fibras do tecido conjuntivo (LP) dispostas paralelamente à parede óssea alveolar (TO) e superfície radicular. H.E. 100X.	47
Figura 4	Grupo II (Alendronato de sódio): Reabsorção inflamatória comprometendo parte da parede dentinária. Presença de infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo fibroso junto à área reabsorvida. H.E. 100X.	47
Figura 5	Grupo II (Alendronato de sódio): Tecido ósseo alveolar (TO) junto à superfície radicular, ocupando áreas de dentina (D) reabsorvida caracterizando a reabsorção por substituição. H.E. 200X.	48
Figura 6	Grupo III (Hidróxido de cálcio): Reabsorção por substituição comprometendo a camada superficial da raiz, adjacente a áreas de anquilose (seta). H.E. 100X.	48
Figura 7	Grupo III (Hidróxido de cálcio): Porção da raiz com integridade da dentina radicular e a presença do ligamento periodontal rico em vasos sanguíneos, fibroblastos e fibras colágenas. H.E. 100X.	49
Figura 8	Grupo IV (Carboximetilcelulose): Grande porção da dentina (D) comprometida pela reabsorção radicular inflamatória. Presença de clastos (setas) junto às lacunas da dentina indicando a fase ativa da reabsorção. H.E. 100X.	49
Figura 9	Grupo IV (Carboximetilcelulose): Reabsorção de maior profundidade da dentina (D) e reparo por tecido ósseo alveolar. H.E. 100X.	50

Figura 10	Luxação do incisivo superior direito.	52
Figura 11	Extração dentária.	52
Figura 12	Aspecto clínico do incisivo extraído.	52
Figura 13	Dentes mantidos em bancada em meio seco por 60”.	52
Figura 14	Remoção da papila dentária e órgão do esmalte.	52
Figura 15	Remoção do ligamento periodontal por fricção com gaze.	52
Figura 16	Remoção da polpa radicular por via retrógrada.	52
Figura 17	Dente imerso em solução de Fluoreto de Sódio Fosfato Acidulado a 2% pH 5.5.	52
Figura 18	Irrigação com soro fisiológico.	53
Figura 19	Secagem do canal com cone de papel absorvente.	53
Figura 20	Preenchimento do conduto radicular com alendronato de sódio.	53
Figura 21	Pó de óxido de zinco e de cimento de hidróxido de cálcio (Sealapex) para obtenção do cimento obturador apical.	53
Figura 22	Colocando o material selador apical.	53
Figura 23	Reimplante dentário.	53
Figura 24	Dente reimplantado.	53
Figura 25	Mensuração da área total no programa Image J.	54
Figura 26	Mensuração da área total no programa Image J.	54
Figura 27	Delimitação do perímetro da superfície radicular (programa ImageJ).	55
Figura 28	Delimitação da extensão dos pontos de anquilose. (programa ImageJ).	55



Lista de Tabelas

Tabela 1	Teste de Dunn para comparações individuais entre os 4 grupos (reabsorção inflamatória, reabsorção por substituição, reabsorção total, perímetro de ligamento periodontal e anquilose).	31
Tabela de Dados		56



Sumário

1. Introdução	20
2. Proposição	24
3. Material e Métodos	26
3.1 Análise histológica	28
3.2 Análise histométrica	29
4. Resultados	30
4.1 Análise Estatística	33
5. Discussão	34
6. Conclusão	39
7. Bibliografia	41
Figuras	47
Anexo A - Ilustrações do Material e Método	54
Anexo B – Certificado do comitê de ética em experimentação animal (CEEAA)	58
Anexo C - Normas do periódico “Dental Traumatology”	59

Introdução

*1. Introdução**

A Avulsão do dentária é considerada um dos mais severos tipos de trauma por expor a raiz ao meio externo, comprometendo de forma significativa a integridade do ligamento periodontal (1, 2). O tratamento de escolha nesses casos é o reposicionamento do dente avulsionado no alvéolo, ou seja, o reimplante dentário (1). O prognóstico dos dentes reimplantados depende de vários fatores, sendo o período de tempo entre a avulsão e o reimplante, assim como a condição de armazenamento do dente avulsionado, os mais importantes (3,4). Após o reimplante, pode haver anquilose e reabsorção da raiz, consequências indesejáveis que levam frequentemente à perda dentária no período de 4 a 6 anos (5).

A reabsorção radicular pode ser classificada como inflamatória, de superfície e por substituição. As reabsorções dos dentes permanentes devem ser consideradas invariavelmente patológicas, uma vez que se caracterizam pela ausência de renovação dos tecidos dentários mineralizados, ao contrário do que acontece no tecido ósseo, cuja renovação se faz constantemente, ou seja, é fisiológica (6).

Devido à semelhança entre a morfologia, propriedades enzimáticas e as funções das células que reabsorvem a dentina, cemento e osso, pode-se considerar que os processos de reabsorção dentária e óssea são semelhantes (7). Portanto, drogas ou outras substâncias que inibem a reabsorção óssea poderiam ser efetivas também para os casos de reabsorção dentária.

Os bisfosfonatos são agentes de baixo peso molecular formados a partir do ácido bisfosfônico, um análogo do pirofosfato em que dois átomos de fósforo são ligados por um átomo de carbono, que atuam se ligando à superfície do fosfato de cálcio (8). Existe uma grande família de compostos bisfosfonatos (BPs) que vêm sendo usados ou desenvolvidos para o tratamento de doenças ósseas que mostram atividade osteoclástica aumentada, tais como a doença de Paget (9), complicações de metástases ósseas (10) hipercalcemia de malignidade (11), e osteoporose (12,13). Dentre eles, o alendronato tem se mostrado muito eficaz e adicionalmente, tem apresentado elevado efeito inibitório da reabsorção radicular pela inibição dos odontoclastos (14).

* Normatização segundo o periódico Dental Traumatology (Anexo C)

Os efeitos dos bisfosfonatos ocorrem em três níveis: tecidual, celular e molecular (15). No nível tecidual promove a redução do turnover ósseo, como se demonstrou com a utilização de marcadores bioquímicos. Os bisfosfonatos reduzem a extensão das regiões em reabsorção e a profundidade nas áreas erodidas, conforme demonstram Boyce et al. (16) e Ott et al. (17). No nível celular os bisfosfonatos reduzem a atividade osteoclástica: a) pois inibem o recrutamento destas células para a superfície óssea, b) inibe a atividade celular, c) reduz o tempo de vida celular pela indução a apoptose, d) e altera a troca mineral na forma físico-química.

Pode ser administrado pela via sistêmica (18), no entanto, existem relatos de efeitos colaterais (19-23). A administração pela via local é também efetiva e elimina os efeitos colaterais sistêmicos. A afinidade dos bisfosfonatos pelo fosfato de cálcio e sua ligação preferencial com a hidroxiapatita nos ossos e dentes leva a uma rápida absorção pelos tecidos calcificados. A deposição dos bisfosfonatos é liberada de novo apenas após a reabsorção tecidual. Assim, o tratamento tópico com bisfosfonato pode ser efetivo por um longo período de tempo (24). A ação dos bisfosfonatos usados topicamente na raiz já é conhecida em diversos estudos no traumatismo dentário (3) e em outras situações (25-27), e inibem não só a reabsorção óssea, mas também a reabsorção da raiz, uma vez que ligado à superfície pode também inibir a ação dos odontoclastos (24,28).

Soluções contendo diferentes concentrações de alendronato podem inibir a reabsorção óssea, no entanto, acima de 10^{-4}M se apresentam tóxicas, não apenas para os osteoclastos, mas também para outras células no organismo (6). Correia et al. (29) e Kum et al. (30) observaram a sua efetividade na concentração de 10^{-5}M em culturas de células ósseas de esqueletos de ratos e sugeriram o seu uso como agente terapêutico intracanal. Os bisfosfonatos têm sido indicados como medicamentos intracanal, uma vez que, os processos de reabsorção do osso e da raiz são semelhantes. Estes tecidos partilham algumas características morfológicas, propriedades enzimáticas, e funções celulares que conduzem a reabsorção da dentina, cemento e também do osso (5,31-33). Além disso, nos casos de ressecamento do ligamento periodontal, existe a perda dos cementoblastos e posterior substituição pelos osteoblastos predispondo à reabsorção por substituição e anquilose (34).

O conduto radicular poderia representar um reservatório do agente, que por meio da abertura coronária seria renovado periodicamente, oferecendo proteção por

períodos maiores contra a reabsorção da raiz e substituição por osso (8). O medicamento poderia passar do canal radicular para o espaço periodontal por meio dos túbulos dentinários. Como os estudos do alendronato como curativo intracanal em dentes reimplantados ainda são escassos e os resultados divergentes, parece ser oportuno o desenvolvimento deste trabalho.



Proposição

2. Proposição

O objetivo deste estudo foi realizar uma avaliação histológica e morfométrica comparando o efeito da pasta de alendronato de sódio e do hidróxido de cálcio como curativo endodôntico em reimplante tardio de dentes de ratos.



Materiais e Métodos

3. *Materiais e métodos*

Este trabalho teve sua metodologia analisada e aprovada pela Comissão de ética na experimentação animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba UNESP (Protocolo nº 2010-002677).

Para a realização deste trabalho foram utilizados 40 ratos (*Rattus norvegicus Wistar*) machos com peso corporal entre 250 e 300 gramas, divididos em quatro grupos com 10 animais cada. Os animais foram obtidos e mantidos no biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, durante todo o período do experimento, com ração sólida (Mogiana Alimentos S.A.) e água a vontade com exceção das 12 horas pré-operatórias onde o animal permaneceu em jejum. Nos 3 dias pós-operatórios a ração era triturada.

Para o procedimento cirúrgico nos animais, foi administrado por via intramuscular Cloridrato de Xilazina (Anasedan AgriBrands Ltda.) na dosagem de 10mg/Kg de peso corporal para obtenção de relaxamento muscular e de Cloridrato de Ketamina (Dopalen AgriBans Ltda. Paulínia, SP. Brasil) na dosagem de 80mg/Kg de peso corporal para a obtenção do efeito anestésico. Uma vez imobilizado o animal, foi realizada a antisepsia da porção anterior da maxila com polivinilpirrolidona-iodo (Riodeine – Ind. Farmac Rioquímica Ltda.), sindesmotomia, luxação e extração do incisivo superior direito com auxílio de instrumental especialmente adaptado. No Grupo I (imediato), os dentes foram mantidos presos pela coroa em lâminas de cera por 5 minutos e foram reimplantados em seus alvéolos de origem.

Nos demais grupos, os dentes extraídos foram mantidos em meio seco sobre bancada por um período de 60 minutos. Após esse período, os dentes tiveram a superfície radicular friccionada com gaze embebida em soro fisiológico para remoção do ligamento periodontal desvitalizado, e tiveram a papila dentária e o órgão do esmalte seccionados com lâmina de bisturi nº15 (Embramac Esp. e Insp., São Paulo, Brasil). A polpa foi removida então, por via retrógrada e o canal instrumentado, empregando-se lima tipo Kerr nº 25 (Kerr 25 mm – Sybron Kerr) ligeiramente curvada. Os canais foram irrigados com soro fisiológico em seringa Luer descartável acoplada em agulha 25x6 e na sequência foram secos com cones de papel absorvente.

Grupo II: Os canais radiculares foram preenchidos por via retrógrada com alendronato de sódio a $10^{-5}M$, (veiculado em carboximetilcelulose) (Farmácia de manipulação Aphoticário. Araçatuba, SP. Brasil) respeitando-se o limite de 2mm aquém do ápice radicular.

Grupo III: Os canais radiculares foram preenchidos por via retrógrada com pasta de hidróxido de cálcio (5 ml de propilenoglicol, 5g de $Ca(OH)_2$, 2g de óxido de zinco e 0.015g de colofônia) respeitando-se o limite de 2mm aquém do ápice radicular.

Grupo IV: Tiveram os canais radiculares preenchidos por via retrógrada com carboximetilcelulose, respeitando-se o limite de 2mm aquém do ápice radicular.

Nos grupos II, III e IV os curativos foram introduzidos por meio de seringa Luer de 1ml acoplada em agulha 25x6. Após o preenchimento do conduto radicular, o forame apical foi selado com um “plug” obtido da mistura do cimento de óxido de zinco com o cimento de hidróxido de cálcio (Sealapex, Sybron Kerr), que foi homogeneizado e posteriormente levado ao forame apical com espátula metálica e acamado com a ajuda de condensadores.

Previamente ao tratamento endodôntico do grupo III e IV, os dentes foram imersos em 20ml de solução de fluoreto de sódio fostato acidulado a 2%, pH 5,5.

Na sequência, os dentes desses três grupos foram reimplantados em seus alvéolos de origem, realizando-se previamente a irrigação do alvéolo com soro fisiológico (Ariston Indústria Química e Farmacêutica Ltda. São Paulo, Brasil).

Após o reimplante, todos os animais receberam dose única de 20.000 UI de penicilina G benzatina (Fontoura Weyth) por via intramuscular. Decorridos 60 dias do ato operatório, os animais sofreram eutanásia por meio de dose excessiva de anestésico. A maxila direita foi separada da esquerda na linha mediana com emprego de lâmina de bisturi nº 15 (Embramac Exp e Imp.). Um corte com tesoura reta na porção distal do 3º molar possibilitou a obtenção da maxila direita contendo o dente reimplantado.

Os espécimes assim obtidos foram fixados em solução de formalina a 10% por 24 horas e descalcificados em solução de EDTA a 4.13% pH 7.

Após a descalcificação as peças foram processadas e incluídas em parafina. Nos blocos foram realizados cortes semi-seriados de 6 micrômetros de espessura, no sentido longitudinal da raiz. Foram selecionadas duas lâminas para cada

espécime, contendo quatro cortes cada, os quais foram corados pela técnica de hematoxilina e eosina, para análise histológica e morfométrica.

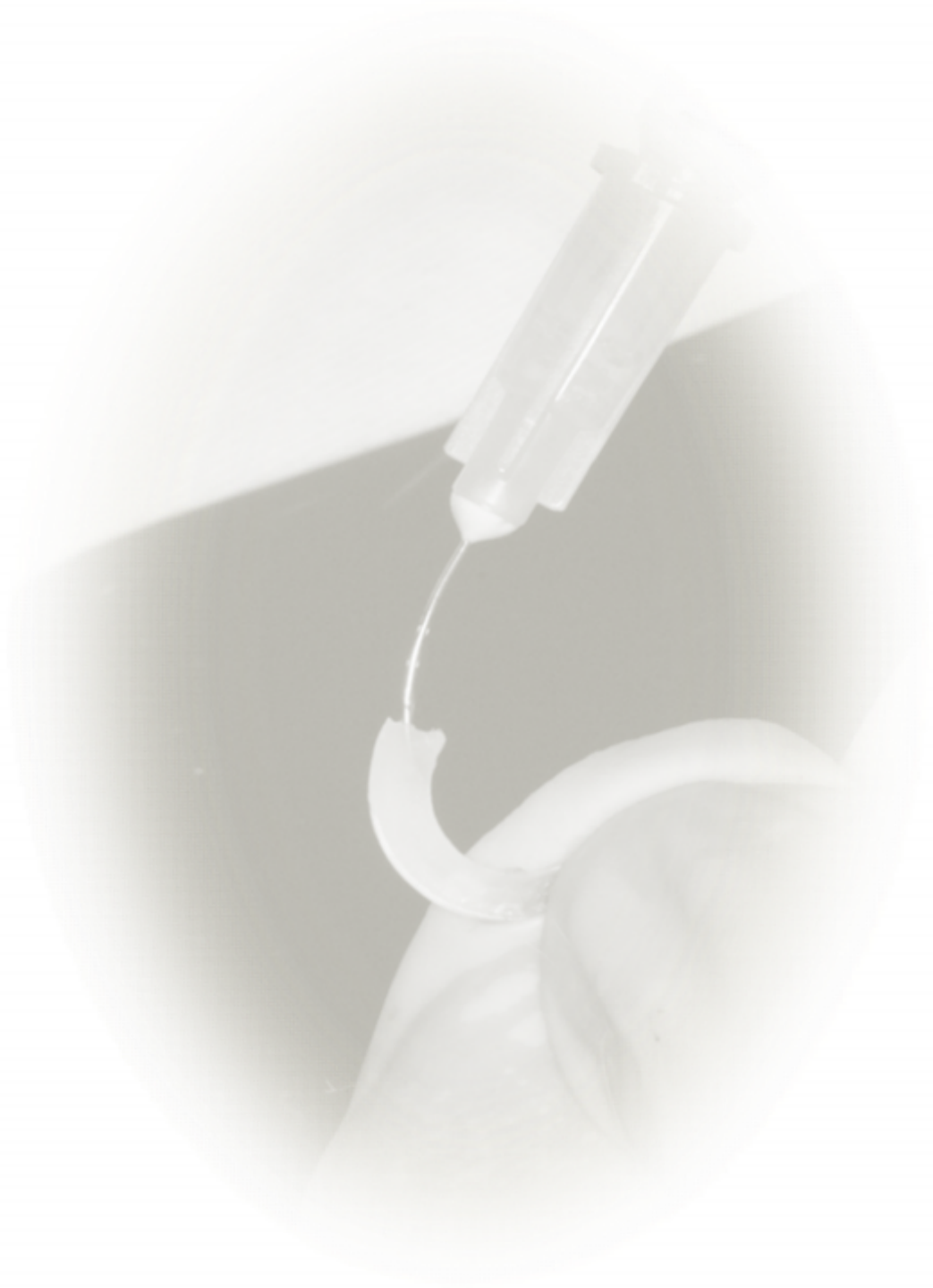
3.1 Análise histológica

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

3.2 Análise histométrica

O corte longitudinal foi capturado por meio de uma câmera Axio Cam MRc5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) acoplada a um Estereomicroscópio Stemi 2000 C (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) com um aumento de 1:25, que permitiu uma visão panorâmica do dente. Essa imagem foi salva como figura no programa Axio Vision 4.5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) e utilizada para a quantificação no programa ImageJ ((National Institutes of Health, Bethesda, MD).

Para a análise das áreas de reabsorção radicular, inicialmente foi mensurada a área de toda a dentina radicular e em seguida a área de dentina radicular envolvida pela reabsorção inflamatória ou por substituição. Esses valores foram submetidos a uma regra de três para se obter a porcentagem de raiz comprometida pela reabsorção. A partir destes valores, foram calculadas as médias de cada grupo e aplicado o teste estatístico. Os pontos de anquilose alvéolo dentárias e de ligamento periodontal foram mensuradas por meio do perímetro da superfície radicular. Inicialmente, foi mensurado o perímetro da face lingual da raiz e depois o perímetro dos pontos acometidos pela anquilose ou que apresentavam ligamento periodontal. A partir de uma regra de três, foi calculado a porcentagem da extensão comprometida e aplicado o teste estatístico. Para a identificação e seleção das áreas de reabsorção, as imagens digitais obtidas foram comparadas com os cortes histológicos no microscópio.



Resultados

4. Resultados

Neste estudo, os animais toleraram os procedimentos experimentais de forma adequada. Os seguintes resultados foram encontrados.

Grupo I (reimplante imediato) – A característica principal deste grupo foi a integridade da superfície radicular em grandes extensões, sendo completa em 7 espécimes. A camada de cimento apresentou-se íntegra em quase toda extensão da raiz, estando recoberta com tecido conjuntivo rico em fibras colágenas, fibroblastos, vasos sanguíneos e cementoblastos. Na maior parte dos casos, as fibras colágenas apresentavam-se dispostas de forma oblíqua, com suas extremidades inseridas na superfície radicular e parede óssea alveolar (Fig. 1). Foi o grupo com o menor índice de reabsorção radicular (média de 5,4%), estando presentes apenas pontos de reabsorção de superfície, os quais se apresentavam reparadas por cimento com reinserção de fibras colágenas (Fig. 2). A reabsorção do tipo inflamatória foi observada em apenas 1 espécime (média de 2,6%). Na área comprometida havia a presença de um infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo fibroso adjacente ao local reabsorvido. A reabsorção por substituição representou uma média de 2,8%, tendo aparecido em 2 espécimes. Nesse caso, as áreas reabsorvidas se apresentavam reparadas por tecido ósseo alveolar. Todos os espécimes apresentaram necrose do tecido pulpar, tendo a região periapical formada por um tecido conjuntivo fibroso que apresentava um infiltrado inflamatório moderado, com histiócitos e linfócitos. Junto ao forame apical, polimorfonucleares neutrófilos também podiam ser encontrados em vários pontos. A parede óssea alveolar se apresentou íntegra em todos os espécimes com a presença de osteoblastos e tecido ósseo neoformado em vários pontos.

Grupo II (Alendronato de sódio) – Além do grupo I, este foi o grupo que apresentou a maior extensão da superfície radicular em condições de integridade. Esse quadro foi encontrado na maior parte dos espécimes (média de 66,66%) e essas áreas estavam recobertas por um tecido conjuntivo rico em fibras colágenas, fibroblastos e vasos sanguíneos. Em poucos pontos, a disposição oblíqua das fibras colágenas em relação à superfície radicular indicava reinserção. Em todos os espécimes, na maior parte da superfície radicular as fibras colágenas apresentavam disposição paralela à superfície radicular (Fig. 3). Em 6 espécimes, uma pequena

proporção das áreas de cimento íntegro encontrava-se recoberta por tecido ósseo alveolar, caracterizando a anquilose alvéolo dentária (média de 5,52%). Comparado aos grupos III e IV, este grupo apresentou o menor comprometimento pela reabsorção radicular (média de 10,97%). A reabsorção inflamatória foi encontrada em 8 espécimes, envolvendo pequenas áreas da dentina (média de 6,81%) (Fig.4). Já a reabsorção por substituição foi encontrada em 6 espécimes em proporções menores (média de 3,91%) (Fig. 5). A parede óssea alveolar apresentou-se íntegra na maior parte dos espécimes com a presença de osteoblastos e tecido ósseo neoformado. Em alguns poucos pontos desse tecido, clastos podiam ser encontrados junto às lacunas de reabsorção.

Grupo III (hidróxido de cálcio) – Áreas com integridade da raiz e com ligamento periodontal representaram uma pequena proporção neste grupo (média de 7,71%), sendo encontrado em apenas dois espécimes. O tecido conjuntivo nessas áreas apresentava-se rico em fibras colágenas, fibroblastos e vasos sanguíneos. Geralmente, as fibras colágenas encontravam-se dispostas paralelamente à superfície radicular (Fig. 6). Diferente dos demais grupos, o tecido ósseo alveolar preenchia o espaço do ligamento periodontal, justapondo-se à camada de cimento, resultando no maior índice para áreas de anquilose (média de 39,24%). Em 3 espécimes isso ocorreu em toda a superfície radicular. O comprometimento pela reabsorção radicular foi próximo ao do grupo II (média de 11,44%). Áreas de reabsorção inflamatória foram encontradas (média de 6,74%) em apenas dois espécimes. A reabsorção por substituição por sua vez foi encontrada em 6 espécimes, comprometendo apenas a camada superficial da raiz (média de 4,70%) (Fig. 7). De forma semelhante ao grupo II, a parede óssea alveolar apresentou-se íntegra na maior parte dos casos.

Grupo IV (carboximetilcelulose) – Neste grupo, a extensão das áreas que apresentavam cimento íntegro e tecido conjuntivo fibroso foi superior ao do grupo III (média de 38,74%). Na maior parte dos casos, as fibras colágenas desse tecido se apresentavam sem uma organização definida e em vários pontos, um infiltrado inflamatório de variava de leve a moderado estava presente. Poucas áreas de anquilose foram encontradas (média de 8,96%) e o comprometimento pela reabsorção radicular foi superior ao observado nos demais grupos (média de 39,54%). Dessas áreas, houve um maior envolvimento pela reabsorção inflamatória sendo encontrada em todos os espécimes (média de 30,63%). As áreas

reabsorvidas alcançavam maior profundidade da dentina e em vários pontos, a presença de clastos junto às áreas reabsorvidas indicava a atividade da reabsorção (Fig. 8). A reabsorção por substituição apresentou menor índice (média de 8,91%) comprometendo em alguns casos maior extensão da dentina (Fig. 9). Pontos de reabsorção foram encontrados na parede óssea alveolar, principalmente próximo às áreas de inflamação do ligamento periodontal. Nas demais áreas, se apresentava íntegra com osteoblastos na sua periferia.

4.1 Análise Estatística

Para análise estatística das áreas de reabsorção, anquilose e ligamento periodontal, uma vez que os parâmetros morfométricos quantificados mostraram grande variabilidade, optou-se pela utilização do teste estatístico não paramétrico. Assim, para a confrontação dos dados pela análise de variância (ANOVA), utilizou-se o teste de Kruskal-Wallis e, quando este indicou diferença estatisticamente significativa ao nível de 5%, utilizou-se do teste de Dunn para comparações individuais. A análise dos dados demonstrou diferença estatisticamente significativa para os casos de reabsorção inflamatória, área total de reabsorção e área de cemento (Tabela 1).

Tabela 1- Teste de Dunn para comparações individuais entre os 4 grupos (reabsorção inflamatória, reabsorção por substituição, reabsorção total, perímetro de ligamento periodontal e anquilose).

EVENTO	G 1 Média (DP)	G 2 Média (DP)	G 3 Média (DP)	G 4 Média (DP)	P
R INF%	2,60 (8,22) ^A	6,81 (8,50) ^{AB}	6,74 (19,95) ^{AC}	30,63 (24,50) ^{BD}	0,0001*
R SUBS%	2,80 (6,20)	3,91 (5,35)	4,70 (8,01)	8,91 (17,14)	0,4892
R TOTAL	5,40 (9,47) ^A	10,97 (9,43) ^{AB}	11,44 (20) ^{AC}	39,54 (20,73) ^{BD}	0,0012*
PLP%	93,60 (11,38) ^A	66,66 (19,59) ^{AB}	7,71 (16,63) ^C	38,74 (27,25) ^{BCD}	P<0.0001*
P ANQ%	0,0 ^A	5,52 (8,34) ^{AB}	39,24 (30,28) ^{BC}	8,96 (8,60) ^{ABCD}	<0.0001*

G1 Imediato; G2 Alendronato de sódio; G3 Hidróxido de cálcio; G4 Carboximetilcelulose; R INF reabsorção inflamatória; R SUBS reabsorção por substituição; PLP perímetro do ligamento periodontal; P ANQ perímetro de anquilose.

*diferença estatisticamente significativa (P< 0,05)



Díscussão

5. *Discussão*

Em reimplante dentário a revascularização da polpa é possível em dentes com ápices abertos que foram reimplantados imediatamente ou mantidos em meios adequados de armazenamento (33,1). Mesmo assim sua ocorrência é pouco comum (35) e pode ser constatada no grupo I deste estudo. Apesar da necrose do tecido pulpar, o grupo apresentou os menores índices de reabsorção radicular onde os espécimes apresentaram a quase totalidade da superfície radicular com cimento íntegro e com reinserção do ligamento periodontal. Uma vez que o cimento se apresenta íntegro, evita-se a contaminação do ligamento periodontal pelas bactérias e suas toxinas, oriundos da polpa necrosada. Isso é possível quando o período extrabucal é pequeno e o trauma mecânico na superfície radicular é mínimo, o que demonstra a viabilidade da técnica de exodontia e reimplante utilizado no trabalho, não interferindo nos resultados observados nos grupos experimentais.

Nos demais grupos, o período extrabucal foi maior, com o objetivo de simular uma condição de reimplante tardio, comum na prática clínica. O prognóstico nesses casos é desfavorável e a principal razão para isso é a morte das células do ligamento periodontal, que estimula uma resposta inflamatória resultando muitas vezes em uma reabsorção radicular externa (3,8).

Observa-se que os procedimentos realizados nos dentes do grupo IV, foram menos eficientes para o controle da reabsorção radicular, notadamente da reabsorção inflamatória que foi encontrada em todos os espécimes. As fontes de contaminação, nesse caso, seriam os remanescentes da polpa que podem ter permanecido nas paredes do conduto radicular. Isso seria observado principalmente em dentes com conduto radicular amplo, onde é maior a dificuldade de limpeza, o que demonstra a importância do tipo de curativo endodôntico empregado (36).

Tanto o hidróxido de cálcio quanto o alendronato de sódio foram eficazes em inibir a inflamação do tecido conjuntivo fibroso da superfície radicular e a reabsorção inflamatória em níveis comparáveis, aspecto esse já visto em outro estudo (37). O menor índice de reabsorção radicular dos grupos II e III enfatiza a característica do alendronato (15,30,38) e do hidróxido de cálcio em limitar o processo de reabsorção (5,39-41).

Uma vez que os dentes em estudo apresentavam forame amplo, o selamento apical se mostrou importante para evitar o extravasamento do curativo. O material empregado como cimento retrobturador se mostrou efetivo, de fácil inserção e biologicamente compatível (42).

O hidróxido de cálcio tem sido a medicação intracanal mais utilizada, pois agrega o maior número de propriedades desejáveis para tal fim (33,43,44). Além de bactericida possui duas significativas propriedades enzimáticas: Inibem as enzimas bacterianas, produzindo um efeito antimicrobiano e ativam enzimas teciduais como a fosfatase alcalina, que favorecem a deposição de tecido mineralizado (33,44).

A reabsorção por substituição também está associada ao reimplante tardio e é uma condição progressiva que resulta na substituição gradual da estrutura da raiz normal por osso. Uma vez que não existem meios eficazes que a elimine por completo, o que se busca atualmente é retardar a sua ocorrência. (8,32,45,46).

A remoção mecânica dos remanescentes do ligamento periodontal e o uso do fluoreto de sódio na superfície radicular se constituem em procedimentos empregados para esse objetivo (47). De fato, o índice de reabsorção por substituição observado no grupo III foi baixo e comparável ao observado no grupo I. No entanto, as áreas de integridade da camada de cimento se apresentaram na quase totalidade, recobertas por osso alveolar formando extensas áreas de anquilose.

A esse respeito, estudos indicam que o hidróxido de cálcio aumenta o risco de anquilose em dentes permanentes com danos severos ao ligamento periodontal (33, 48,49). Seus íons podem se difundir através dos túbulos dentinários expostos aumentando o pH na superfície radicular (44,50), inibindo a ação de células clásticas e criando um ambiente favorável à reparação por tecido mineralizado (37,44,50). Diferente deste grupo, o uso do alendronato de sódio possibilitou a formação de um tecido conjuntivo fibroso na maior parte da superfície radicular. Embora em período mais curto, Choi et al. (13) também encontraram resultado semelhante, após o uso tópico do alendronato em reimplante tardio de molares de ratos.

No entanto, algumas controvérsias são observadas nos estudos que empregaram os bifosfonados como curativo de canal. Em reimplante tardio de dentes de ratos, Mori et al. (5) também observaram um baixo índice de reabsorção radicular, além do predomínio de um tecido conjuntivo fibroso com disposição

paralela à superfície radicular após o uso do alendronato. Porém não encontraram diferenças quando compararam com o uso do hidróxido de cálcio. Acredita-se que, nesse estudo, o uso do hipoclorito de sódio para remoção do ligamento periodontal tenha influenciado nos resultados. Segundo a literatura, o uso dessa substância leva à formação de um tecido conjuntivo denso fibroso semelhante a uma cápsula fibrosa que dificulta a reinserção do ligamento periodontal, igualando o reparo entre os grupos independentemente do tipo de curativo empregado (47). Resultado semelhante foi descrito por Lustosa Pereira et al. (6) que também empregaram o hipoclorito de sódio previamente ao uso tópico do alendronato de sódio. Para os autores, a remoção de grande parte do tecido conjuntivo da superfície radicular, expõe os cristais de hidroxiapatita da raiz, dificultando a formação de um novo tecido conjuntivo fibroso. Deve-se observar também que no trabalho de Mori et al. (5), o conduto radicular permaneceu aberto, e por apresentar forame amplo, pode ter favorecido a saída do seu conteúdo.

Resultado diferente foi encontrado por Thong et al. (8), que observaram menor índice de reabsorção com o uso do hidróxido de cálcio do que com o uso do etidronato, em dentes de macacos. O uso do etidronato resultou também em maior índice de anquilose e de reabsorção por substituição o que, segundo os autores, poderia ser consequente da dificuldade de difusão do material através dos túbulos dentinários. Posteriormente, Choi et al. (13) demonstraram que o etidronato aplicado topicamente, não foi eficaz no controle da inflamação e da reabsorção radicular. Segundo a literatura, o etidronato seria dez vezes menos potente que o alendronato (38).

O mecanismo de ação do alendronato pode ser influenciado pela concentração da droga, podendo apresentar efeitos antagônicos. Na concentração empregada neste estudo, o alendronato de sódio inibe a formação de tecido mineralizado (51), o que permite inferir que o atraso na ocorrência da anquilose permitiria a ocupação pelo tecido conjuntivo fibroso.

Partindo do princípio de que o alendronato incorporado ao tecido ósseo é liberado lentamente durante o *turnover* ósseo, Komatsu et al. (24) acreditam que o mesmo ocorreria no cimento durante a ocorrência da reabsorção radicular e isso perduraria por até 4 meses. Acredita-se assim que, o uso no conduto radicular poderia assim, suprir as necessidades posteriores da droga quando ainda a reabsorção por substituição estaria ativa, visando uma maior sobrevida do dente

reimplantado. Deve-se observar também que, diferente do observado no grupo I, muito poucas áreas de reinserção do tecido conjuntivo fibroso foram encontradas, o que indicaria a sua futura substituição por tecido ósseo. Ainda assim, em razão do tipo de reimplante, tem-se o benefício de um atraso no desenvolvimento da reabsorção por substituição.



Conclusão

6. Conclusão

Diante da metodologia empregada neste estudo, concluiu-se que o uso do alendronato de sódio como curativo endodôntico em reimplante dentário tardio de incisivos de ratos proporcionou uma melhor qualidade do reparo do que o hidróxido de cálcio. Apesar da semelhança quanto ao controle da reabsorção radicular, o alendronato de sódio foi mais efetivo quanto à formação de tecido conjuntivo fibroso na superfície radicular.



Bibliografía

7. Bibliografia

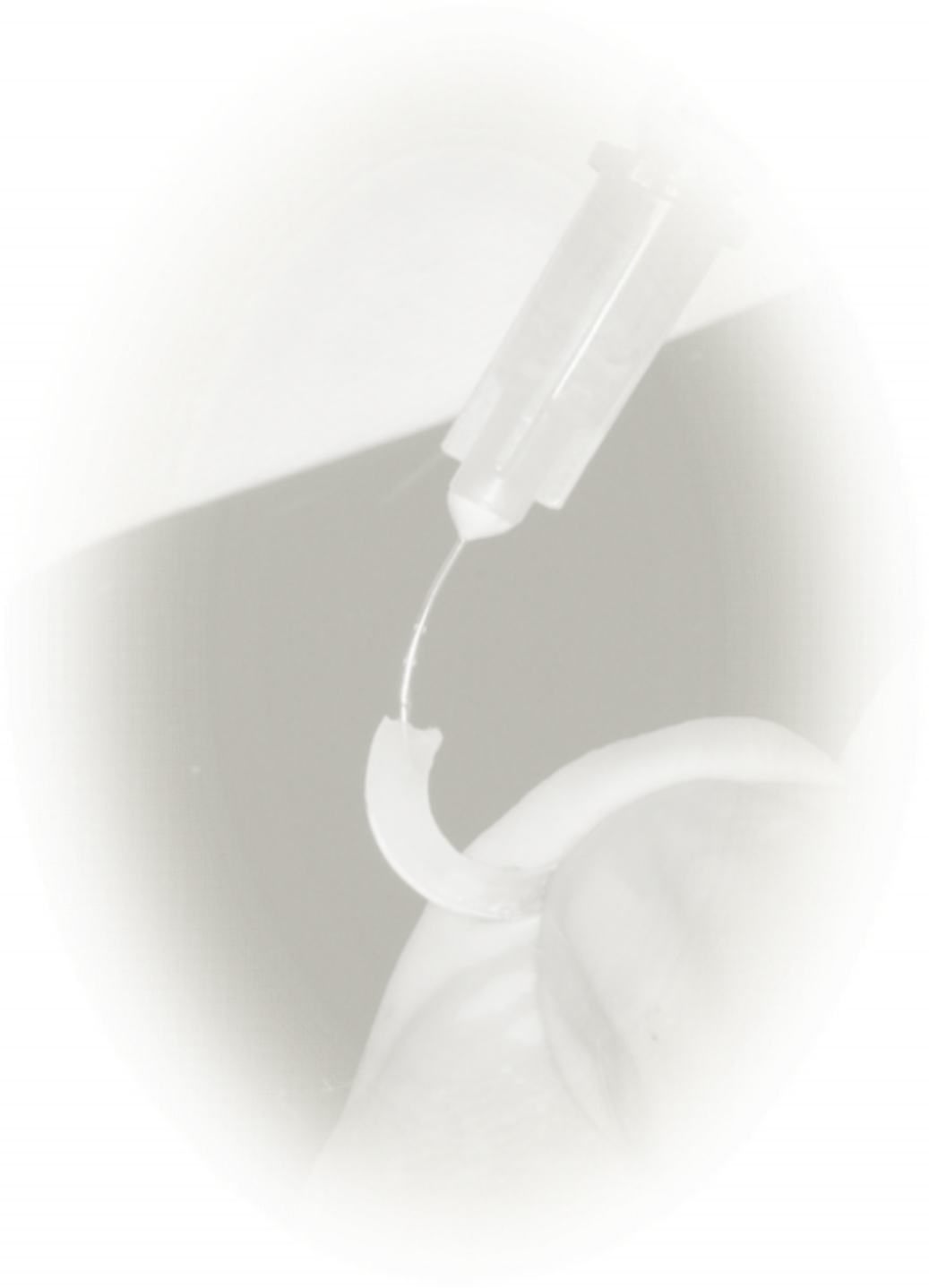
1. Andersson L, Andreasen JO, Day P, Heithersay G, Trope M, DiAngelis AJ, Kenny DJ, Sigurdsson A, Bourguignon C, Flores MT, Hicks ML, Lenzi AR, Malmgren B, Moule AJ, Tsukiboshi M. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. *Dental Traumatology* 2012; 28: 88–96.
2. Andreasen JO, Andreasen FM. Avulsions. In: Andreasen JO, Andreasen FM, Andersson L, editors. *Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth*, 4th edn. Oxford, UK: Wiley- Blackwell; 2007. p. 444–88.
3. Levin L, Bryson EC, Caplan D, Trope M. Effect of topical alendronate on root resorption of dried replanted dog teeth. *Dent Traumatol* 2001; 17: 120–6.
4. 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.
5. 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.
6. 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.
7. Rodan GA, Martin TJ. Role of the osteoblast in hormonal control of bone resorption – a hypothesis. *Calcif Tissue Res*. 1981;33:349-51.
8. Thong YL, Messer HH, Zain RB, Saw LH, Yoong LT. Intracanal bisphosphonate does not inhibit replacement resorption associated with delayed replantation of monkey incisors. *Dent Traumatol* 2009;25:386–93.
9. Kotowicz MA. Paget disease of bone. Diagnosis and indications for treatment. *Aust Fam Physician*. 2004 Mar;33(3):127-31.
10. Keizman D, Ish-Shalom M, Pili R, Hammers H, Eisenberger MA, Sinibaldi V et al. Bisphosphonates combined with sunitinib may improve the response rate, progression free survival and overall survival of patients with bone metastases from renal cell carcinoma. *Eur J Cancer*. 2012 May;48(7):1031-7.
11. Auron A, Tal L, Srivastava T, Alon US. Reversal of hypercalcemic acute kidney injury by treatment with intravenous bisphosphonates. *Pediatr Nephrol*. 2009 Mar;24(3):613-7.

- 12.** Khosla S, Bilezikian JP, Dempster DW, Lewiecki EM, Miller PD, Neer RM et al. Benefits and Risks of Bisphosphonate Therapy for Osteoporosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2012 Apr 20.
- 13.** Choi SC, Kwon YD, Kim KC, Kim GT. The effects of topical application of bisphosphonates on replanted rat molars. *Dent Traumatol.* 2010; 26: 476–80.
- 14.** Keller RK, Fliesler SJ. Mechanism of aminophosphonate action: characterization of alendronate inhibition of the isoprenoid pathway. *Biochem Biophys Res Commun.* 1999; 266:560-3.
- 15.** Rodan GA, Martin TJ. Mechanisms of action of biphosphonates. *Annu Rev Pharmacol Toxicol.*1998; 38: 375-88.
- 16.** Boyce RW et al. The effects of risedronate on canine cancellous bone remodeling: three-dimensional Kinetic reconstruction of the remodeling site. *J Bone Minerv Res.* 1995; 10:211-21.
- 17.** Ott SM. Clinical effects of bisphosphonates in involutinal osteoporosis. *J Bone Miner.* 1993; res8 suppl.2: 597-606.
- 18.** Yun MH, Kwon KI. High-performance liquid chromatography method for determining alendronate sodium in human plasma by detecting fluorescence: application to a pharmacokinetic study in humans. *J Pharm Biomed.* 2006;40(1):168–172. 2006.
- 19.** Twiss IM, Burggraaf J, Schoemaker RC, van Elburg RM, den Hartigh J, Cohen AF, Vermeij P The sugar absorption test in the evaluation of the gastrointestinal intolerance to bisphosphonates: studies with oral pamidronate. *Clin. Pharmacol. Ther.*2001;69:431-37.
- 20.** Reddy, G.T.; Kumar, T.M.; Veena. Formulation and evaluation of alendronate sodium gel for treatment of bone resorptive lesions in peridontitis. *Drug Del.* 2005;12:217-22.
- 21.** Parfitt, J. M.; Driman, D.K. Phathological effects of drugs on the gastrointestinal tract: a review. *Hum. Pathol.* 2007;38:527-36.
- 22.** Patel V, McLeod NM, Rogers SN, Brennan PA. Bisphosphonate osteonecrosis of the jaw-a literature review of UK policies versus international policies on bisphosphonates, risk factors and prevention. *Br J Oral Maxillofac Surg* 2010;48.doi 10.1016/j.bjoms.2010.05.007.
- 23.** Yin G, Bai Y, Luo E. Angiogenic suppression of osteoclasts may play a role in developing bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw. *Med Hypotheses.* 2011;76 (3) 347–49.
- 24.** Komatsu K, Shimada A, Shibata T, Shimoda S, Oida S, Kawasaki K et al. Long-term effects of local pretreatment with alendronate on healing of replanted rat teeth. *J Periodontal Res.* 2008;43:194–200

- 25.** Shibata T, Komatsu K, Shimada A et al. Effects of alendronate on restoration of biomechanical properties of periodontium in replanted rat molars. *J Periodont Res.*2004; 39:405–414.
- 26.** Igarashi K, Adachi H, Mitani H, Shinoda H. Inhibitory effect of the topical administration of a bisphosphonate (risedronate) on root resorption incident to orthodontic tooth movement in rats. *J Dent Res* 1996;75:1644–1649.
- 27.** Liu L, Igarashi K, Haruyama N, Saeki S, Shinoda H, Mitani H. Effects of local administration of clodronate on orthodontic tooth movement and root resorption in rats. *Eur J Orthod* 2004;26:469–473.
- 28.** Sato M, Grasser W, Endo N et al. Bisphosphonate action. Alendronate localization in rat bone and effects on osteoclast ultrastructure. *J Clin Invest* 1991;88:2095–2105.
- 29.** Correia VFP, Caldeira CL, Marques MM. Citotoxicity evaluation of sodium alendronate on cultured human periodontal ligament fibroblasts. *Dent Traumatol.* 2006; 22: 312-7.
- 30.** Kum KY et al. The inhibitory effect of alendronate and taurine on osteoclast differentiation mediated by *Porphyromonas gingivalis sonicates* in vitro. *J Endod.* 2003;29: 28-30.
- 31.** Mori GG, Garcia RB, Moraes IG, Bramante CM, Bernardineli N. Morphometric and microscopic evaluation of the effect of gallium nitrate as root canal dressing in rat teeth submitted to late replantation. *J Appl Oral Sci* 2006;14:405–9.
- 32.** Mori GG, Garcia RB, Moraes IG. Morphometric and microscopic evaluation of the effect of solution of acetazolamide as an intracanal therapeutic agent in late replantation rat teeth. *Dent Traumatol* 2006;22:36–40.
- 33.** Panzarini SR, Trevisan CL, Brandini DA, Poi WR, Sonoda CK, Luvizuto ER, dos Santos CLV. Intracanal dressing and root canal filling materials in tooth replantation: a literature review. *Dent Traumatol.* 2012; 28(1): 42–8.
- 34.** Pierce, AM. Experimental basis for the management of dental resorption. *Endod. Dental Traumatol.* 1989;5(6):255-65.
- 35.** Cvek M, Cleaton-Jones P, Austin J, Kling M, Lownie J, Fatti P. Effect of topical application of doxycycline on pulp revascularization and periodontal healing in reimplanted monkey incisors. *Endod. Dent. Traumatol.* 1990;6:170-6.
- 36.** Cvek M, Granath LE, Hollender L. Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide III. Variation of occurrence of ankylosis of replanted teeth with duration of extra alveolar period and storage environment.. *Odontol. Revy.* 1974;25:43-56.

- 37.** Thong YL, Messer HH, Siar CH, Saw LH. Periodontal response to two intracanal medicaments in replanted monkey incisors. *Dent Traumatol* 2001; 17: 254–259.
- 38.** Tenenbaum HC, Shelemay A, Girard B, Zohar R, Fritz PC. Bisphosphonates and periodontics potential applications for regulation of bone mass in the periodontium and other therapeutic/diagnostic uses. *J Periodontol*.2002;.73:813-22.
- 39.** Hammarstrom L, Blomlof L, Feiglin B, Lindskog S. Effect of calcium hydroxide treatment on periodontal repair and root resorption. *Endod Dent Traumatol* 1986;2:184–9.
- 40.** Vanderas AP. Effects of intracanal medicaments on inflammatory resorption or occurrence of ankylosis in mature traumatized teeth: a review. *Endod Dent Traumatol* 1993;9:175–84.
- 41.** Gregoriou AP, Jeansonne BG, Musselman RJ. Timing of calcium hydroxide therapy in the treatment of root resorption in replanted teeth in dogs. *Endod Dent Traumatol*.1994; 10:268–75.
- 42.** Estrela C, Estrada-Bernabé PF, de Almeida-Decurcio D, Almeida-Silva J, Rodrigues-Araújo-Estrela C, Poli-Figueiredo JA. Microbial leakage of MTA, Portland cement, Sealapex and zinc oxide-eugenol as root-end filling materials. *Med Oral Patol Oral Cir Bucal*. 2011;16 (3):418-24.
- 43.** Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. *J Endod* 1993;19:76–8.
- 44.** Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Júnior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. *Braz Dent J* 1995;6:85–90.
- 45.** Campbell KM, Casas MJ, Kenny DJ. Ankylosis of traumatized permanent incisors: pathogenesis and current approaches to diagnosis and management. *J Can Dent Assoc* 2005; 71:763–8.
- 46.** Levin L, Bryson EC, Caplan D, Trope M. Effect of topical alendronate on root resorption of dried replanted dog teeth. *Dent Traumatol* 2001;17:120–6.
- 47.** Sottovia AD, Sonoda CK, Poi WR, Panzarini SR, Lauris JR Delayed tooth replantation after root surface treatment with sodium hypochlorite and sodium fluoride: histomorphometric analysis in rats. *J Appl Oral Sci*. 2006 Apr;14(2):93-9..
- 48.** Andreasen J, Kristerson L. The effect of extra-alveolar rootfilling with calcium hydroxide on periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod* 1981;7:349–54.
- 49.** Lengheden A, Blomlof L, Lindskog S. Effect of immediate calcium hydroxide treatment and permanent root-filling on periodontal healing in contaminated replanted teeth. *Scand J Dent Res* 1991;99:139–46.

- 50.** Tronstad L, Andreasen JO, Hasselgren G, Kristerson L, Riis I. pH changes in dental tissues after root canal filling with calcium hydroxide. *J Endod* 1981;7:17–21.
- 51.** Still K, Phipps RJ, Scutt A. Effects of risedronate, alendronate, and etidronate on the viability and activity of rat bone marrow stromal cells in vitro. *Calcif Tissue Int* 2003; 72:143–150.



Fíauras

FIGURAS

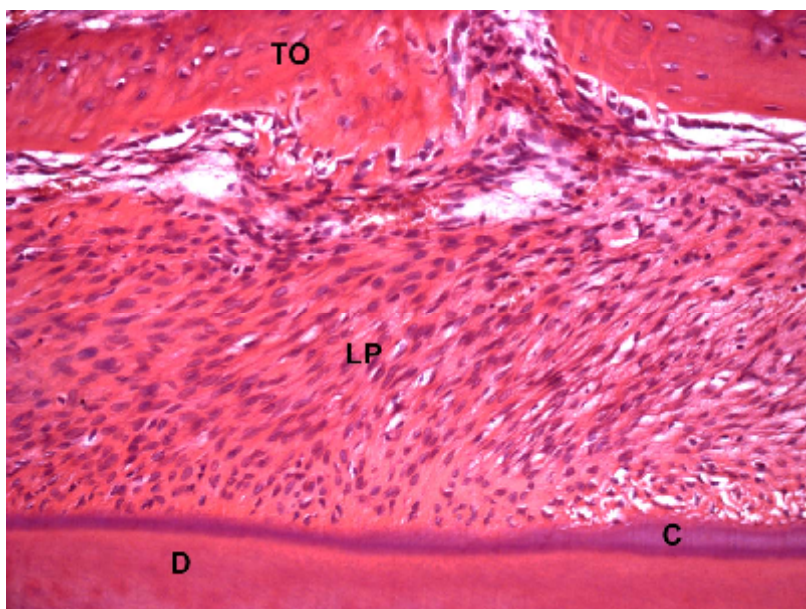


Fig. 1 – Grupo I (reimplante imediato): Aspecto do terço médio da raiz com dentina (D) e cimento (C) íntegros. Ligamento periodontal (LP) com as fibras colágenas inseridas na camada de cimento e osso alveolar (TO). H.E. 100X.

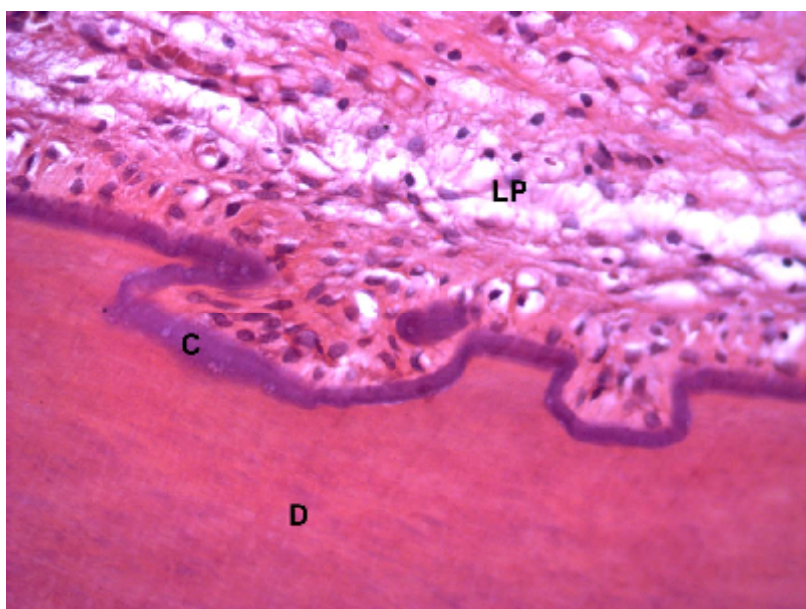


Fig. 2 – Grupo I (reimplante imediato): Área de reabsorção comprometendo a camada superficial da raiz. Dentina reabsorvida e reparada com cimento e reinserção de fibras colágenas do ligamento periodontal (LP). H.E. 400X.

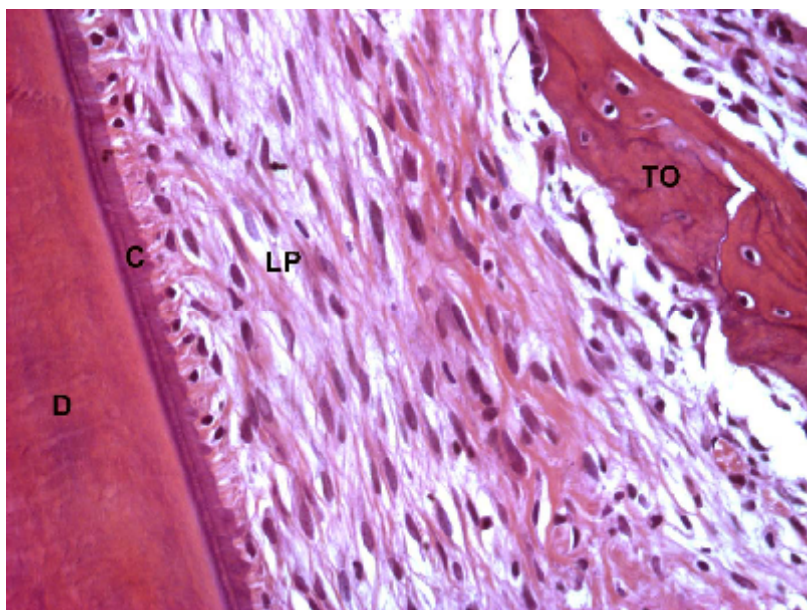


Fig. 3 – Grupo II (Alendronato de sódio): Superfície radicular com cimento (C) e dentina (D) íntegros. Fibras do tecido conjuntivo (LP) dispostas paralelamente à parede óssea alveolar (TO) e superfície radicular. H.E. 100X.

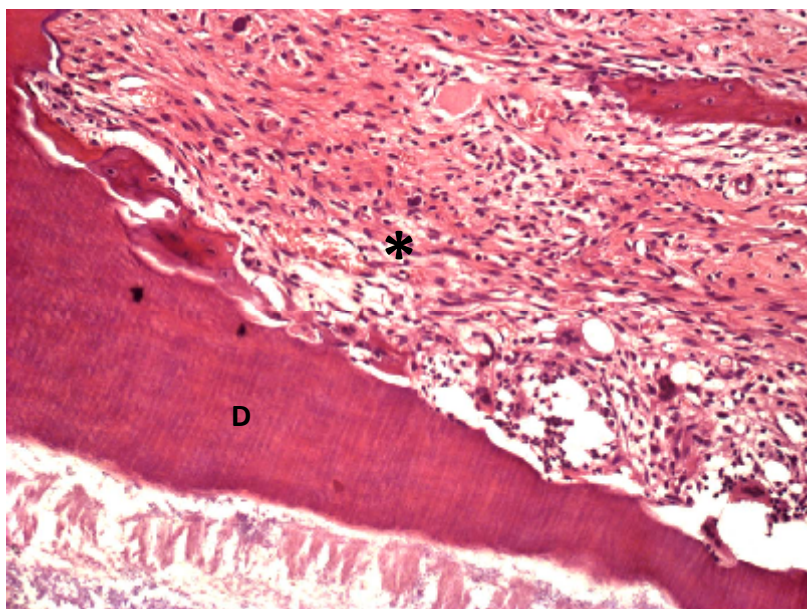


Fig. 4 – Grupo II (Alendronato de sódio): Reabsorção inflamatória comprometendo parte da parede dentinária (D). Presença de infiltrado inflamatório (*) no tecido conjuntivo fibroso junto à área reabsorvida. H.E. 100X.

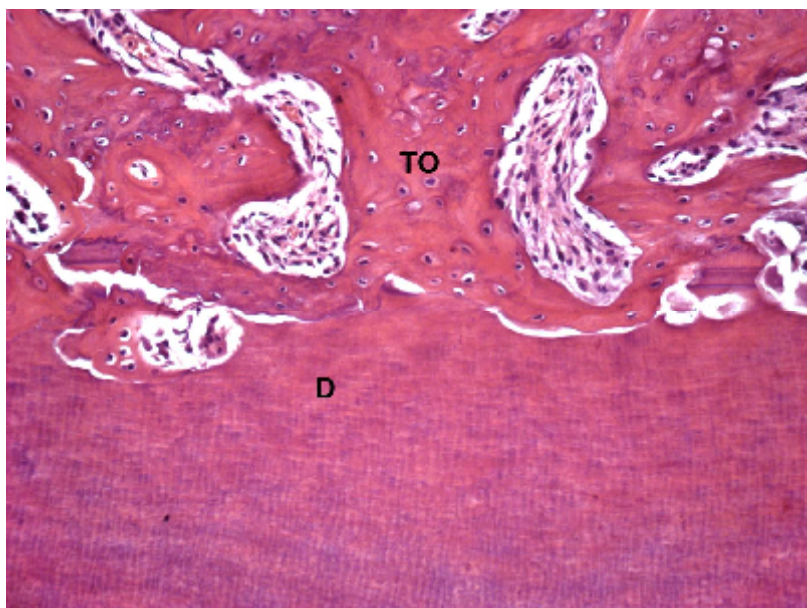


Fig. 5 – Grupo II (Alendronato de sódio): Tecido ósseo alveolar (TO) junto à superfície radicular, ocupando áreas de dentina (D) reabsorvida caracterizando a reabsorção por substituição. H.E. 200X.

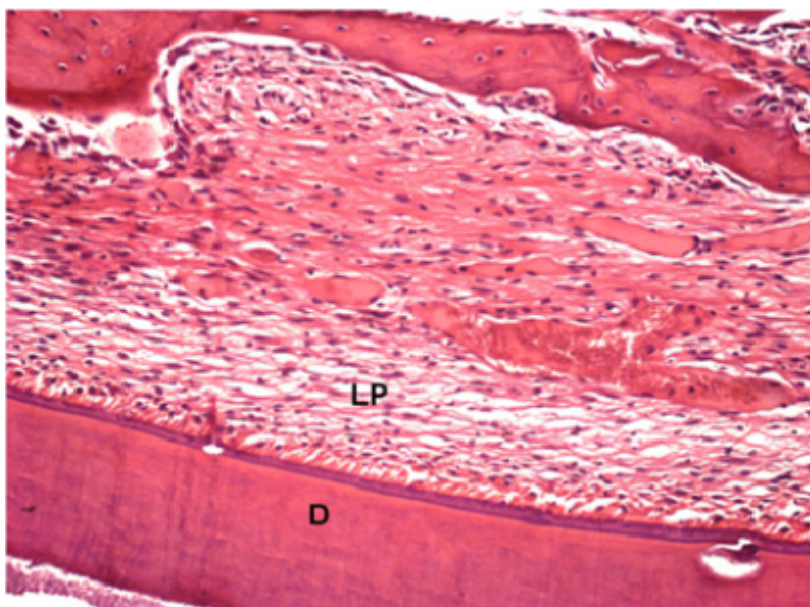


Fig. 6 – Grupo III (Hidróxido de cálcio): Porção da raiz com integridade da dentina radicular e a presença do ligamento periodontal rico em vasos sanguíneos, fibroblastos e fibras colágenas. H.E. 100X.

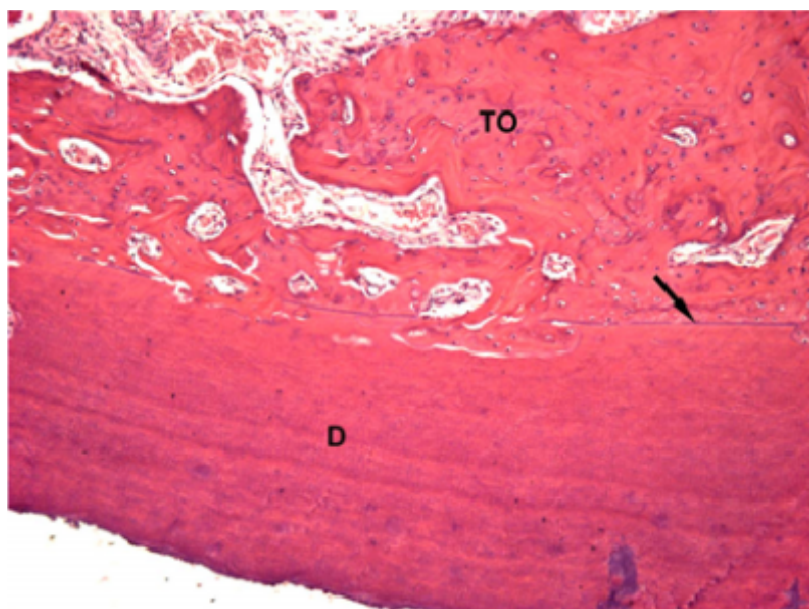


Fig. 7 – Grupo III (Hidróxido de cálcio): Reabsorção por substituição comprometendo a camada superficial da raiz, adjacente a áreas de anquilose (seta). H.E. 100X.

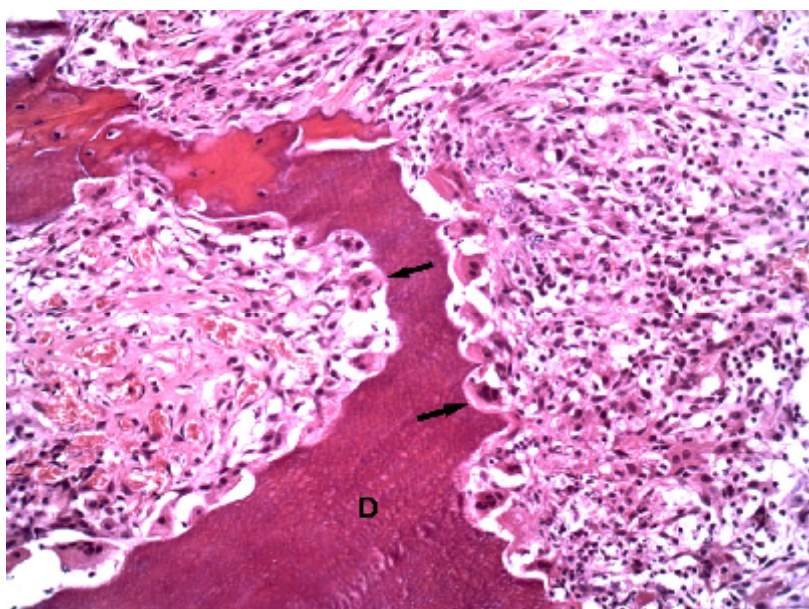


Fig. 8 – Grupo IV (Carboximetilcelulose): Grande porção da dentina (D) comprometida pela reabsorção radicular inflamatória. Presença de clastos (setas) junto às lacunas da dentina indicando a fase ativa da reabsorção. H.E. 100X.

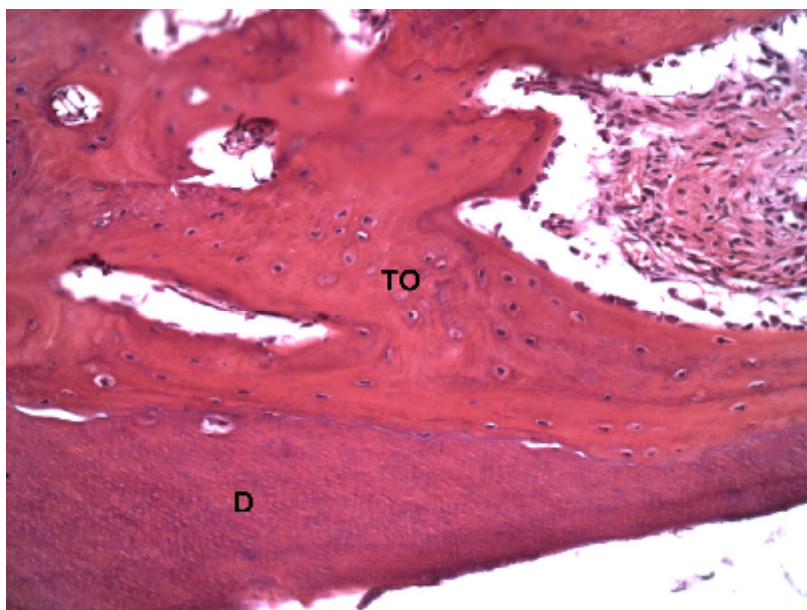


Fig. 9 – Grupo IV (Carboximetilcelulose): Reabsorção de maior profundidade da dentina (D) e reparo por tecido ósseo alveolar. H.E. 100X.



Anexos

Anexo A – Ilustração do material e método



Fig. 10 - Luxação do incisivo superior direito



Fig. 11 - Extração dentária.



Fig. 12 - Aspecto clínico do incisivo extraído

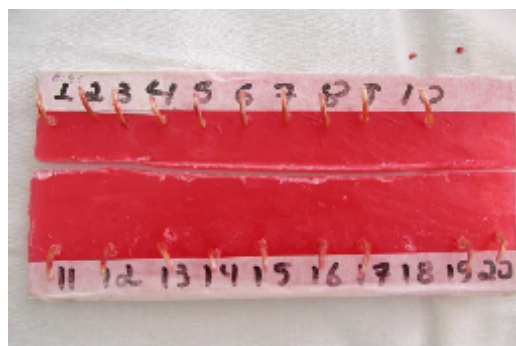


Fig. 13 - Dentes mantidos em bancada em meio seco por 60'.



Fig. 14 - Remoção da papila dentária e órgão do esmalte.



Fig. 15 - Remoção do ligamento periodontal por fricção com gaze.



Fig. 16 - Remoção da polpa radicular por via retrógrada.



Fig. 17. Dente imerso em solução de Fluoreto de Sódio Fosfato Acidulado a 2% pH 5.5.

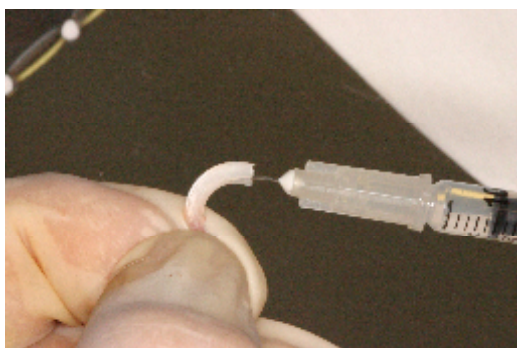


Fig. 18 - Irrigação com soro fisiológico.



Fig. 19 - Secagem do canal com cone de papel absorvente.



Fig. 20 - Preenchimento do conduto radicular com alendronato de sódio.

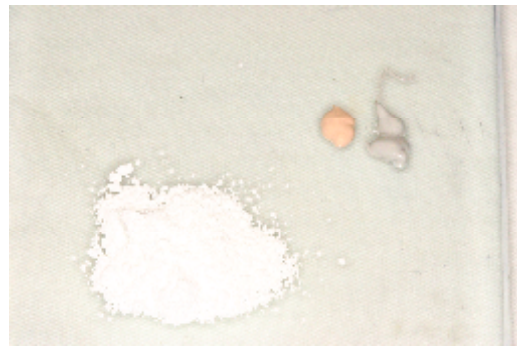


Fig. 21 - Pó de óxido de zinco e de cimento de hidróxido de cálcio (Sealapex) para obtenção do cimento obturador apical.



Fig. 22 - Colocando o material selador apical.

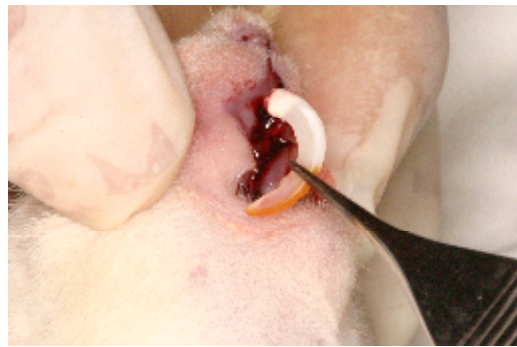


Fig. 23 - Reimplante dentário.



Fig. 24 - Dente reimplantado.

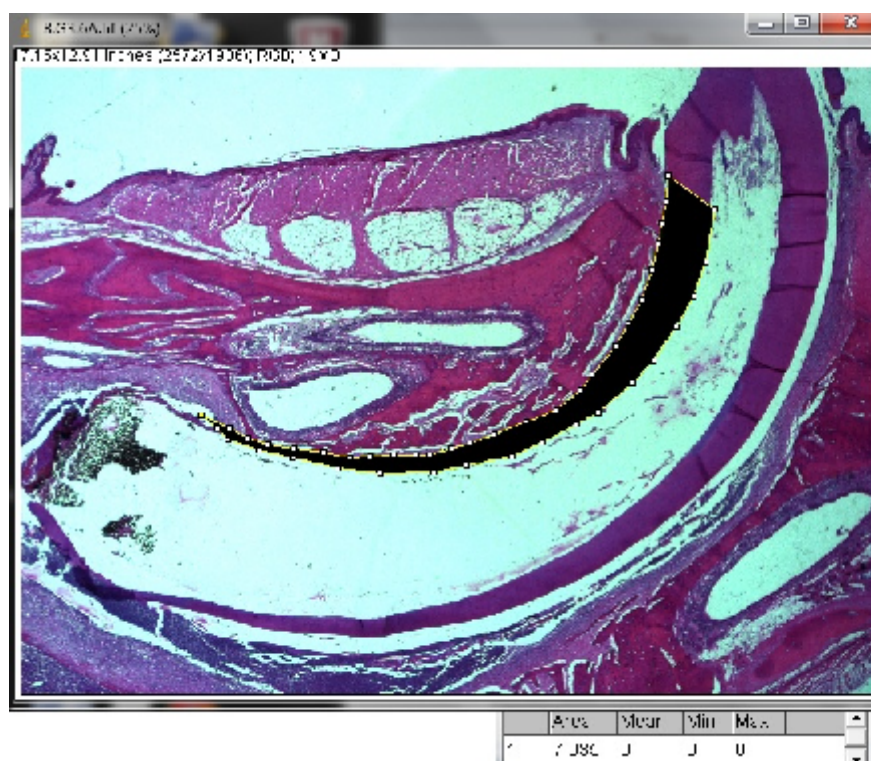


Fig. 25 – Imagem da área delineada para mensuração da extensão do tecido dentinário (programa ImageJ).

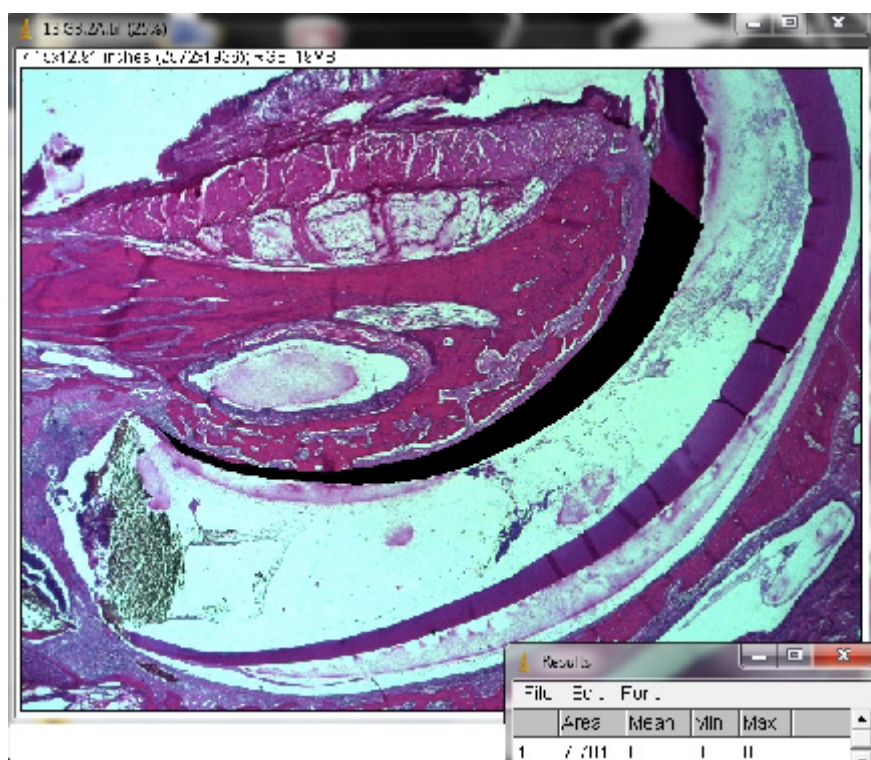


Fig. 26 – Delimitação da área previamente delineada para mensuração da extensão do tecido dentinário (programa ImageJ).

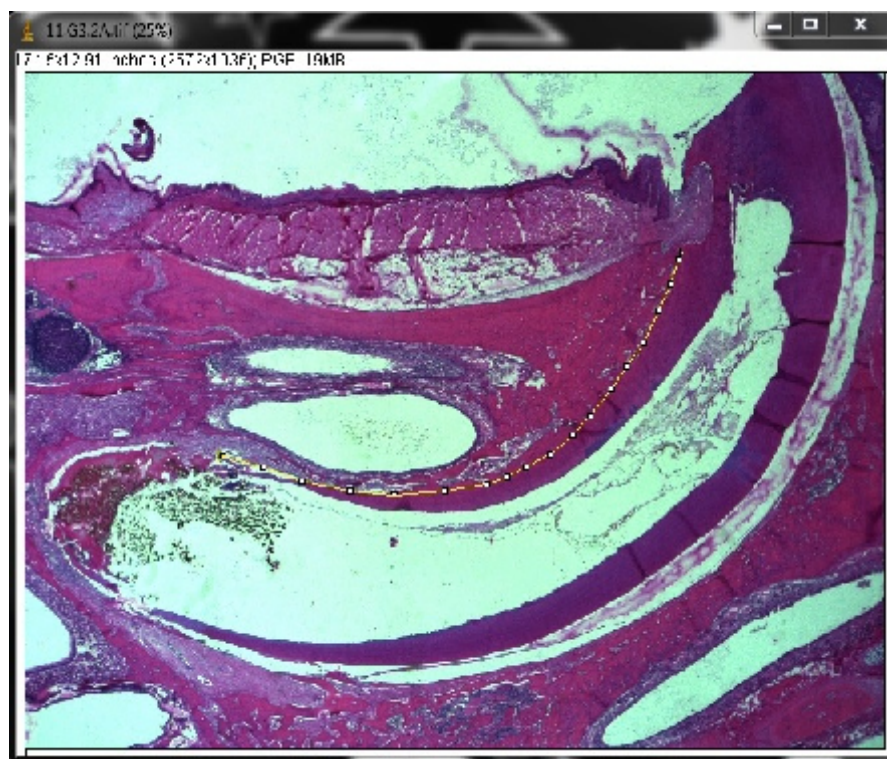


Fig. 27 – Delimitação do perímetro da superfície radicular (programa ImageJ).



Fig. 28 – Delimitação da extensão dos pontos de anquiose. (programa ImageJ).

Tabela de Dados

	DEN. TOT	R. INF	%	R. SUBST	%	R. TOTAL	%	P. TOTAL	P. LP	%	P. ANQ	%
1.G1.1	3.905	0	0	0	0	0	0	10.749	10.749	100	0	0
2.G1.2	4.465	0	0	0	0	0	0	11.658	11.658	100	0	0
3.G1.3	7.395	0	0	0	0	0	0	11.887	11.887	100	0	0
4.G1.4	5.466	1.421	26	0	0	1.421	26	11.560	8.092	70	0	0
5.G1.5	7.405	0	0	1.332	18	1.332	18	12.143	9.228	76	0	0
6.G1.6	4.864	0	0	0.486	10	0.486	10	11.102	9.991	90	0	0
7.G1.7	4.602	0	0	0	0	0	0	11.658	11.658	100	0	0
8.G1.8 j	7.003	0	0	0	0	0	0	13.009	13.009	100	0	0
9.G1.9 j	5.636	0	0	0	0	0	0	12.170	12.170	100	0	0
10.G1.10j	6.329	0	0	0	0	0	0	11.948	11.948	100	0	0
MÉDIA1	5.707	0.142	2,6	0.18	2,8	0,32	5,4	11.788	2.731	93,6	0	0
1.G2.6A	5.483	1.325	24,16	0.050	0,91	1.376	25,09	11.581	7.906	68,26	0	0
2.G2.2A	3.903	0.188	4,81	0.531	13,6	0.812	20,8	10.749	6.068	56,45	1.459	13,57
4.G2.6A	3.662	0	0	0	0	0	0	9.755	9.755	100	0	0
5.G2.4A	6.184	1.276	20,63	0	0	1.276	20,63	8.787	4.690	47,92	0	0
6.G2.2A	4.765	0.234	4,91	0.379	7,95	0.614	12,88	10.286	3.144	30,56	0.312	3,03
7.G2.2A	10.034	0.521	5,19	0	0	0.521	5,19	11.946	9.447	79,08	0	0
8.G2.2A	4.861	0	0	0.133	2,73	0.133	2,73	11.121	9.246	83,14	0.025	0,22
9.G2.4A	6.806	0.333	4,89	0.839	12,32	1.173	17,23	12.411	9.593	77,29	0.478	3,85
10.G2.6A	7.405	0.202	2,72	0.116	1,56	0.318	4,29	14.480	8.975	61,98	1.344	9,28
12.G2.6A	4.681	0.039	0,83	0	0	0.039	0,83	11.998	7.435	61,96	3.029	25,24
MEDIA2	5.778	0.411	6.814	0.204	3,91	0.626	10,97	11.311	7.626	66,66	0.664	5,52
1.G3.4A	7.834	0	0	0.546	6,96	0.546	6,96	13.208	0	0	9.272	70,19
2.G3.2A	7.395	0.297	4,01	0.688	9,3	0.985	13,31	11.890	0	0	2.486	21
3.G3.2A	8.263	5.239	63,4	0	0	5.239	63,4	11.810	3.679	31,15	0	0
7.G3.2A	9.251	0	0	0.023	0,24	0.023	0,24	13.096	0	0	6.622	50,56
8.G3.6A	7.129	0	0	0.212	2,97	0.212	2,97	14.132	0	0	3.462	24,49
9.G3.2A	5.110	0	0	0	0	0	0	10.952	0	0	1.677	15,31
10.G3.2A	5.441	0	0	0	0	0	0	10.445	0	0	10.110	96,79
11.G3.2A	6.069	0	0	0	0	0	0	11.649	0	0	7.660	65,75
12.G3.4A	5.689	0	0	1.451	25,5	1.452	25,5	13.147	0	0	3.707	28,19
13.G3.2A	7.672	0	0	0.154	2	0.154	2	14.036	6.455	45,98	2.818	20,07
MEDIA3	6.980	0.553	6,74	0.307	4,70	0.861	11,44	12.436	1.013	7,71	4.781	39,24
1.G4.2A	5.722	3.363	58,7	0	0	3.363	58,7	12.588	5.827	46,29	0	0
2.G4.2A	5.636	3.267	57,9	0	0	3.267	57,9	12.077	7.367	61	2.715	22,48
3.G4.2A	4.602	0.265	5,75	0.468	10,16	0.734	15,94	9.528	0	0	2.168	22,75
4.G4.4A	5.669	3.171	55,93	0.173	3,05	3.345	59	12.785	0	0	0.762	5,96
5.G4.4A	4.644	0.279	6	0.357	7,69	0.636	13,69	11.858	6.117	51,58	1.044	8,8
7.G4.6A	6.034	2.155	35,71	0	0	2.155	35,71	10.487	2.602	24,81	0	0
8.G4.4A	6.688	1.119	16,73	0	0	1.119	16,73	11.072	9.796	88,47	0	0
9.G4.6A	4.886	0.451	9,23	0.604	12,36	1.055	21,5	11.114	3.892	35,01	1.237	11,13
10.G4.2A	7.021	0.310	4,41	3.922	55,8	4.232	60,27	13.229	3.741	28,27	1.792	13,54
11.G4.2A	7.140	3.996	55,98	0	0	3.996	55,98	12.648	6.573	51,96	0.624	4,9
MEDIA4	5.804	1.837	30,63	0.552	8,91	2.390	39,54	11.738	4.590	38,74	1.034	8,96

G1 - Reimplante Imediato; G2 - Alendronato de Sódio; G3 - Hidróxido de Cálcio; G4 - Carboximetilcelulose.

Anexo B – Certificado do comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEA)



COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL (CEEA)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto ***“REIMPLANTE DENTÁRIO TARDIO APÓS O USO DO ALENDRONATO DE SÓDIO COMO CURATIVO DE CANAL. ESTUDO HISTOLÓGICO E MORFOMÉTRICO EM DENTES DE RATO”*** sob responsabilidade da **Prof. Dr. Celso Koogi Sonoda** e colaboração de **Graziela Garrido Mori** está de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal (COBEA) foi aprovado pela CEEA em 21/06/2010 de acordo com os protocolos 2010-002677.

Araçatuba, 21 de Junho de 2010

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

Anexo C – Normas do periódico “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: 28 / 2012

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

Impact Factor: 1.268

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: Copyright Transfer Agreement

Useful Websites: Submission Site, Articles published in Dental Traumatology, Author Services, Wiley-Blackwell'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.

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 (version, 2008 <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. In the online submission process we also require that all authors submitting manuscripts to *Dental Traumatology* online must answer in the affirmative to a statement 'confirming that all research has been carried out in accordance with legal requirements of the study country such as approval of ethical committees for human and/or animal research or other legislation where applicable.' Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

2.3 Clinical Trials

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

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

2.4 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations

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

2.5 Conflict of Interest

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

2.6 Appeal of Decision

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

2.7 Permissions

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

2.8 Copyright Assignment

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

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

Angelo Morales
Production Editor
Wiley Services Singapore Pte Ltd
1 Fusionopolis Walk, #07-01 Solaris South Tower,
Singapore 138628

Alternatively a scanned version of the form can be emailed to amorales@wiley.com or faxed to ++65 6643 8599. For questions concerning copyright, please visit [Wiley-Blackwell's Copyright FAQ](#)

2.9 OnlineOpen

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive.

For the full list of terms and conditions, see http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms.

Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at:

https://authorservices.wiley.com/bauthor/onlineopen_order.asp

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

For questions concerning copyright, please visit [Wiley-Blackwell'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.'

3.2. Submitting Your Manuscript

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

3.3. Manuscript Files Accepted

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

3.4. Blinded Review

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

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

Please upload:

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

should be uploaded under the file designation 'title page'

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

3.5. Suggest a Reviewer

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

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

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

3.7. E-mail Confirmation of Submission

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

3.8. Manuscript Status

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

3.9. Submission of Revised Manuscripts

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

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

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

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

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

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

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

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

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

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

Meetings: advance information about and reports from international meetings are welcome, but should not be submitted via the online submission site, but send directly to the journal administrator Karin Andersson at 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 http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

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

1975.

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

5.2. Structure

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

Title Page: should be uploaded as a separate document in the submission process under the file designation 'Title Page' to allow blinded review. It should include: Full title of the manuscript, author(s)' full names (Family names should be underlined) 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 250 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 (version, 2008 <http://www.wma.net/en/30publications/10policies/b3/index.html>) 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