UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
"JÚLIO DE MESQUITA FILHO"
Campus de Araçatuba

VITÓRIA MARQUES GOMES

Influência da suplementação com ácido graxo ômega-3 no processo de reparo após reimplante dentário tardio. Análise histológica em ratos Wistar.

Araçatuba
2023

VITÓRIA MARQUES GOMES

Influência da suplementação com ácido graxo ômega-3 no processo de reparo após reimplante dentário tardio. Análise histológica em ratos Wistar.

Trabalho de Conclusão de curso destinado à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho" – UNESP para obtenção do título de bacharel em Odontologia.

Orientador: Prof. Luciano Tavares Angelo Cintra.

Araçatuba
2023

"Temos que continuar aprendendo. Temos que estar abertos. E temos que estar prontos para espalhar nosso conhecimento a fim de chegar a uma compreensão mais elevada da realidade."

Tich Nhat Hann

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por traçar todos os caminhos que me levaram à Odontologia, e por permitir que conclua esta etapa tão desejada.

À minha mãe, Sandra, que me ensinou a ser forte sem perder a doçura. Sem ela nada disso seria possível, sempre me incentivando e apoiando. Muito obrigada por ser meu porto seguro, por me ouvir e acalmar em momentos difíceis e alegrar meus dias apesar da distância.

À minha tia, Maria Lucia, que esteve comigo desde o momento da inscrição no vestibular, me incentivando e torcendo pela minha vitória, apoiando minhas decisões e me aconselhando.

À todos os meus tios, tias, primos e primas, que sempre vibraram ouvindo minhas histórias e compartilharam minhas alegrias.

Ao meu avô, Joaquim Nonato Marques (*in memorian*), por sempre nos incentivar a estudar em busca do melhor, por todo o amor, carinho e proteção ao longo dos anos. Ele me ensinou a nunca desistir frente às adversidades, a fazer o que deve ser feito, respeitando todos ao ser redor, sem perder a alegria e o otimismo.

Ao meu orientador, professor Luciano Tavares Angelo Cintra, por me ceder a oportunidade de conhecer e participar do meio científico, com muita seriedade e dedicação. Foi uma honra fazer parte de uma equipe com pesquisas tão relevantes e que está sempre em busca de melhorar e se aperfeiçoar.

À Nathalia Evelyn Machado, por ter me convidado à fazer parte da equipe, e por toda ajuda e orientação ao longo desses anos. Muito obrigada por toda a paciência que teve comigo e sempre me ajudar nos momentos de desespero. Fico encantada de ver todo o seu esforço e dedicação.

Ao professor Wirley Gonçalves Assunção, por todo o carinho e paciência ao longo dos laboratórios e clínicas de prótese total e por ter visto em mim um potencial que nem eu mesma acreditava ter. Agradeço também por ter aceitado o convite de fazer parte da banca deste trabalho de conclusão de curso.

A todos do departamento, que sempre estiveram prontos em me ajudar. Agradeço também ao outros alunos de iniciação científica. Em especial à Cristiane Cantiga, Carolina Wajima e Laís Barroti, que foram fundamentais nessa reta final, deixo aqui meu muito obrigada.

À minha família aqui de Araçatuba, Beatriz Marques Pereira, Gabriela Cristina Baccaro e Larissa Albertinazzi, que não só dividiram a casa comigo, mas também a vida ao longo desses 4 anos. Vocês deixaram minha vida mais leve e feliz, obrigada por todo o companheirismo.

Aos amigos que fiz ao longo desses 6 anos de graduação, sem vocês tudo seria muito mais difícil. Em especial à Agatha Bartolomeu, Emanuel Nery, Jhonatan Santos, Leonardo Calore e Pedro Coiado, que estão comigo desde o primeiro ano, dividindo momentos e histórias incríveis, muito obrigada.

À CNPq/PIBIC pela concessão da minha primeira bolsa de iniciação científica (processo: 143442/2020-1), que possibilitou minha inserção no meio científico.

GOMES VM, CINTRA LTA. **Influência da suplementação com ácido graxo ômega-3 no processo de reparo após reimplante dentário tardio. Análise histológica em ratos Wistar.**2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

RESUMO

A avulsão dentária é uma das consequências mais severas causadas por trauma. O reimplante dentário é o tratamento de escolha para tal caso e uma de suas consequências é a possibilidade de anquilose dentária e reabsorção radicular. O objetivo deste trabalho é analisar os efeitos da suplementação com ácido graxo ômega-3 no processo de reparo após reimplante dentário tardio. Para isso, foram utilizados 20 ratos Wistar, onde os mesmos foram submetidos à extração do incisivo superior direito, tratados com o protocolo para reimplante dentário tardio da Associação Internacional de Traumatologia Dentária e divididos em 2 grupos (n=10): Grupo C (controle) e Grupo O (ratos suplementados com ácido graxo ômega-3). A suplementação com ômega-3 foi realizada por meio de gavage, durante 15 dias antes e mais 45 dias após o reimplante dentário, totalizando 60 dias de suplementação. Após 45 dias do reimplante dentário, os animais foram eutanaziados e as hemi-maxilas removidas e processadas para análise histológica em hematoxilina e eosina (HE). Os dados foram analisados por testes estatísticos específicos para cada caso, com o nível de significância de 5% ($p<0,05$). No grupo O foi observado infiltrado inflamatório de intensidade discreta a moderada e menor percentual de reabsorção inflamatória, enquanto no grupo C a inflamação foi de moderada a severa com maior percentual de reabsorção inflamatória ($p<0,05$). Observou-se também melhor organização do ligamento periodontal no grupo O em relação ao grupo C ($p<0,05$). Conclui-se que a suplementação com ômega-3 reduz a resposta inflamatória e reabsortiva de dentes reimplantados tardiamente, além de influenciar positivamente na organização do ligamento periodontal.

Palavras-Chave

Ácidos Graxos Ômega-3; Avulsão dentária; Reimplante dentário.

GOMES VM, CINTRA LTA. **The influence of omega-3 fatty acid supplementation on the repair process after late tooth replantation. Histological analisis in Wistar rats.** 2023. Trabalho de Conclusão de Curso (Graduação em Odontologia). Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

ABSTRACT

Tooth avulsion is one of the most severe consequences caused by trauma. Tooth replantation is the treatment of choice for such a case and one of its consequences is the possibility of dental ankylosis and root resorption. This work aimed to analyze the effects of omega-3 fatty acid supplementation on the repair process after late tooth replantation. For this, 20 Wistar rats were used, they were submitted to the extraction of the upper right incisor, treated with the protocol for late tooth replantation of the International Association of Dental Traumatology and divided into 2 groups (n=10): Group C (control) and Group O (rats supplemented with omega-3 fatty acids). Supplementation with omega-3 was performed through gavage for 15 days before and 45 days after tooth replantation, totaling 60 days of supplementation. After 45 days of tooth replantation, the animals were euthanized and the hemi-maxillas removed and processed for histological analysis in hematoxylin and eosin (HE). Data were analyzed by specific statistical tests for each case, with a significance level of 5% ($p<0.05$). In group O, an inflammatory infiltrate of mild to moderate intensity and a lower percentage of inflammatory reabsorption was observed, while in group C, inflammation was moderate to severe with a higher percentage of inflammatory reabsorption ($p<0.05$). A better organization of the periodontal ligament was also observed in group O compared to group C ($p<0.05$). It is concluded that supplementation with omega-3 reduces the inflammatory and resorptive response of late reimplanted teeth, in addition to positively influencing the organization of the periodontal ligament.

Keywords

Omega 3 fatty acids, tooth avulsion, tooth replantation.

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO 7
2 OBJETIVO 9
3 MATERIAIS E MÉTODOS 10
4 RESULTADOS 17
5 DISCUSSÃO 20
6 CONCLUSÃO 22
7 REFERÊNCIAS 23
8 ANEXOS 25

1 INTRODUÇÃO

A avulsão dentária, caracterizada pela remoção completa do dente de seu alvéolo, é uma das lesões mais severas da dentição, sendo frequente em dentes anteriores (Day et al., 2019) e corresponde de 0.5 a 16% das lesões traumáticas na dentição permanente (Roskamp et al., 2010). Na avulsão, diversos tecidos podem estar envolvidos ou danificados, como o ligamento periodontal, osso alveolar, gengiva, lábios e polpa dental. O ligamento periodontal é rompido, prejudicando sua viabilidade. Além disso, os vasos sanguíneos que nutrem a polpa também são rompidos, o que pode levar à necrose na maioria dos casos. (Mori et al., 2013).

Tem maior ocorrência em pessoas de 7 a 14 anos, em uma proporção de 3:1 para o sexo masculino, sendo os incisivos superiores o grupo dentário mais acometido (Mori 2005; Mori et al., 2007; Trope 2011; Bergman et al., 2017). Além disso, é um tipo de traumatismo dentário que acontece com grande frequência, representando cerca de 16 a 25% do total geral de traumatismos em dentes permanentes (Martins et al., 2016).

Para minimizar as chances de perda dentária, anquilose e reabsorção radicular, é de extrema importância que o meio de armazenamento mantenha as células do ligamento periodontal viáveis (Reis et al., 2016). A solução salina balanceada de Hanks (HBSS) e o leite são os meios mais indicados de armazenamento (Andersson et al., 2012).

Além disso, o tempo extra-alveolar é fundamental para garantir a sobrevivência das células (Day et al., 2019). Diante disso, o reimplante dentário imediato é caracterizado pelo reposicionamento do dente em seu alvéolo em até 15 minutos após a avulsão dentária (Andersson & Bodin, 1990; Mori 2005; Mori et al., 2006, 2007, 2009, 2010; Andreasen & Andreasen, 2007; Roskamp et al., 2010; Andersson et al., 2012), sendo este tempo adequado para a manutenção da integridade radicular (Andersson & Bodin, 1990).

Entretanto, devido a falta de conhecimento das pessoas envolvidas com a avulsão dentária, os cuidados emergenciais são realizados de modo equivocado (Trope & Friedman, 1992; Mori et al., 2007; Najeeb et al., 2017). Na maioria dos casos, o reimplante dentário é realizado após tempo extra-alveolar prolongado e com

ausência de viabilidade das células (Mori et al., 2010; Roskamp et al., 2010), sendo chamado de reimplante tardio. Nestes casos deve-se realizar o tratamento da superfície radicular e o tratamento endodôntico, afim de evitar e/ou limitar a ocorrência da anquilose dentária e reabsorção radicular (Mori et al., 2006; Roskamp et al., 2010; Andersson et al., 2012; Najeeb et al., 2017; Al-Musawi et al., 2017).

Os ácidos graxos ômega-3 foram aceitos como terapia coadjuvante no tratamento de doenças inflamatórias crônicas como artrite reumatoide, doenças cardiovasculares e diabetes. Além disso, os ácidos graxos ômega-3 e seus mediadores lipídicos derivados têm importante papel na prevenção da reabsorção óssea patogênica, inibindo a atividade de osteoclastos e promovendo a atividade de osteoblastos, aprimorando a neoformação óssea (Azuma et al., 2017).

Estudos do nosso grupo de pesquisa demonstraram efeitos positivos após suplementação alimentar com o ácido graxo ômega-3 sobre o desenvolvimento da infecção endodôntica (Azuma et al., 2017, 2018). Ele também vem sendo utilizado de forma coadjuvante no tratamento de doenças orais como periodontite, gengivite, entre outras, uma vez que seus ácidos graxos poliinsaturados têm um papel importante na resposta inflamatória, reduzindo mediadores pró-inflamatórios como o ácido aracdônico. (Azuma et al., 2021).

2 OBJETIVO

Avaliar a influência da suplementação com ácido graxo ômega-3 sobre o processo de reparo após o reimplante dentário tardio em ratos Wistar, em coloração de Hematoxilina e Eosina (H.E.), por meio da análise e quantificação do infiltrado inflamatório, organização do ligamento periodontal, tipos de reabsorção radicular e anquilose dentária.

3 MATERIAIS E MÉTODOS

Foram utilizados 20 ratos Wistar machos, pesando aproximadamente 250g, provenientes do biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP. Os animais foram mantidos em mini-isoladores (Alesco- Monte Mor, São Paulo, Brasil) com temperatura entre 22 e 24ºC com ciclo de luz controlada (12 horas claro e 12 horas escuro), a alimentação ocorreu durante todo o período experimental com dieta sólida e água “ad libitum”, exceto nas primeiras 12 horas antecedentes à intervenção, e após, os animais receberam ração sólida triturada por 7 dias. Os procedimentos experimentais propostos neste estudo foram aprovados pelo comitê de conduta e ética no uso de animais em experimentação (CEUA – FOA/Unesp 00284-2019). Para anestesia dos animais foi utilizado, via intra-muscular, um sedativo a base de xilazina a 2% (Dopasere, Calier S.A - Barcelona, Espanha - 10mg/kg) e um anestésico à base de cloridrato de quetamina a 10% (Vetanarcol, Konig S.A.- Avellaneda, Argentina- 80mg/kg).

Após o reimplante dentário, os animais receberam dose única do antibiótico Sulfato de Gentamicina (Gentatec® Agro-Veterinária Ltda – São Paulo, Brasil - 3,5 mg/Kg) via intramuscular e também o analgésico Dipirona (Medley® Farmacêutica Ltda – Campinas, Brasil - 150mg/kg) via intramuscular, de 12 em 12 horas por 3 dias.

Para eutanásia foi utilizado o Tiopental Sódico (Thiopentax® Cristália – Produtos Químicos Farmacêuticos Ltda – Itapira, SP, Brasil- 150mg/kg) e o anestésico Cloridrato de Lidocaína 20mg/ml (Novafarma Indústria Farmacêutica Ltda – Anápolis, GO, Brasil - 10mg/Kg), ambos pela via intraperitoneal.

- **Suplementação alimentar**

Os ratos (grupo O) receberam, por meio de gavagem, o ácido graxo ômega-3, na proporção de 40mg/kg (60% EPA + 40%DHA), durante 15 dias antes do reimplante dentário e durante 45 dias após, totalizando 60 dias de suplementação (Azuma et al., 2018b).



Figura 1:Suplementação com ômega-3 por meio da gavage.

- **Reimplante dentário**

A metodologia foi baseada nos trabalhos publicados por Mori et al., 2010; Roskamp et al., 2010; Al-Musawi et al., 2017 e Machado et al., 2019 e o tratamento para o reimplante dentário foi baseado no protocolo da Associação Internacional de Traumatologia Dentária, publicado em 2012 (Andersson et al., 2012).

Para a realização das intervenções cirúrgicas, os animais foram anestesiados conforme protocolo já descrito. Após a anestesia, foi realizada a anti-sepsia da porção anterior da maxila com clorexidina a 2% (FGM, Joinville, SC, Brasil), extra-oralmente e 0,12%, intra-oralmente (Colgate-Palmolive Company, São Paulo, SP, Brasil). Em seguida, com o auxílio de instrumentos cirúrgicos foram realizadas a sindesmotomia, a luxação e a extração do incisivo superior direito de cada animal, simulando a avulsão dentária (Figura 2). Após a extração dentária, cada animal recebeu uma identificação para que, posteriormente, os dentes fossem reimplantados em seus respectivos alvéolos.

Os dentes extraídos permaneceram expostos em meio ambiente seco, presos por meio de sua coroa em uma lâmina de cera rosa nº 7, por 60 minutos, simulando as condições na qual a maioria dos dentes chega ao consultório odontológico (Figura 3). Decorrido esse tempo, os dentes obtiveram a papila dentária removida com o auxílio de uma lâmina de bisturi no 11 (Embramac Exportação e Importação, Ribeirão Preto, SP, Brasil) (Figura 4). Uma das funções da remoção da papila dentária é expor o canal radicular e impedir o crescimento contínuo do dente após o reimplante. A seguir, a polpa dentária foi retirada, via retrógrada, utilizando-se uma lima Flexofile no 15, ligeiramente pré-curvada (Dentsply–Maillfer, Ballaigues, Swetrzeland) (Figura 5). A limpeza do canal radicular foi completada empregando-se limas Flexofile #20 e #25. A irrigação do canal foi realizada com hipoclorito de sódio a 1% (Probem Produtos Farmacêuticos e Odontológicos, Catanduva, SP, Brasil) com auxílio de uma seringa descartável (5ml) e cânula de irrigação NaviTip acoplada àquela. Em seguida, as fibras periodontais e células necrosadas remanescentes sobre a raiz foram removidas por meio da fricção de gaze estéril umedecida com solução fisiológico (Darrow Laboratórios S.A., Rio de Janeiro, RJ, Brasil) sobre a superfície radicular; após isso, os dentes foram lavados com solução fisiológico e colocados em um recipiente contendo 20 ml de solução de fluoreto de sódio a 2% pH 5,5 (Drogaderma, Presidente Prudente, SP, Brasil), por 20 minutos (Figura 6).

Após a conclusão do tratamento de superfície radicular, os canais radiculares foram irrigados com soro fisiológico, secos com cones de papel esterilizados (Tanariman Industrial Ltda, Manacapuru, AM, Brasil) e preenchidos com pasta de hidróxido de cálcio (Biodinâmica, Lobato, PR, Brasil) e propilenoglicol (Drogaderma, Presidente Prudente, SP, Brasil), na proporção de 1g/0,5ml (Figura 7). A seguir, os alvéolos dentários também foram irrigados com solução fisiológica e, com o auxílio de uma pinça hemostática curva, os dentes foram reimplantados em seus respectivos alvéolos (Figura 8).



Figura 2:Exodontia simulando avulsão dentária

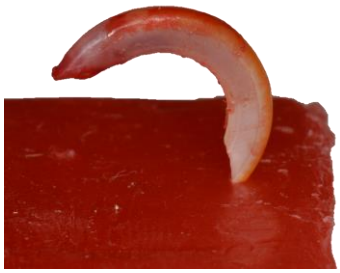


Figura 3. Dente avulsionado preso em lâmina de cera.



Figura 4. Remoção da papila dentária

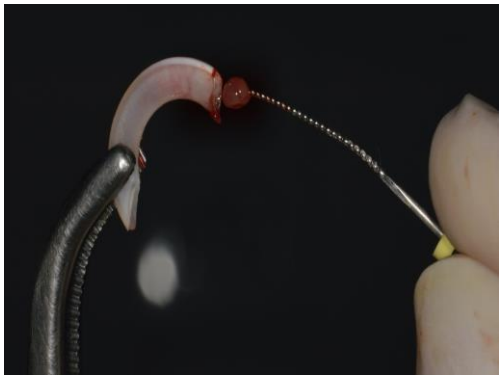


Figura 5. Extirpação pulpar

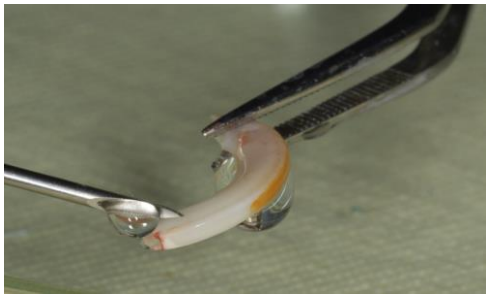


Figura 6. Tratamento da superfície radicular



Figura 7. Colocação da medicação intracanal



Figura 8. Reimplante dentário

- **Divisão em grupos**

Os 20 ratos em estudo foram divididos em dois grupos experimentais, contendo 10 animais cada grupo, assim compostos:

- Grupo C: ratos controle;
- Grupo O: ratos suplementados com ácidos graxos ômega-3.

- **Coleta de material para análise**

Após 45 dias do reimplante dentário os animais foram sacrificados com dose excessiva de anestésico. Após isso, foi realizado a dissecação da maxila do animal. Em seguida, a maxila direita foi separada da esquerda, em nível da linha mediana, com o emprego de uma lâmina de bisturi nº 15. Um corte com tesoura reta na região do 3º molar possibilitou a obtenção da hemimaxila, contendo o dente reimplantado.

As peças obtidas foram fixadas em formol neutro a 10% (Merck, São Paulo, SP, Brasil) por 24 horas. Após isso, lavadas por 12 horas em água corrente e desmineralizadas em solução de EDTA (Titriplex III - Merck (108418), São Paulo, SP, Brasil) a 4,13%, pH 7. Esta solução foi trocada semanalmente, até que uma agulha fina pudesse ser introduzida na mesma sem algum tipo de resistência. Após isso, as peças foram submetidas aos processos histotécnicos e incluídas em parafina, sendo que para cada peça obtiveram-se três blocos, um contendo o terço cervical da raiz, outro contendo o terço médio e outro contendo o terço apical.

- **Análise microscópica**

Para a descrição dos processos e células, um avaliador cego e experiente utilizou um microscópio biológico binocular Leica DM750 (Leica Mikrosysteme Vertrieb GMBH – DSA, Alemanha) e analisou, em diferentes aumentos os eventos histológicos considerando as faces mesial, distal e lingual da raiz, bem como os tecidos adjacentes; a face vestibular foi excluída da análise, pois anatomicamente, é diferente do humano, sendo totalmente recoberta por esmalte.

Os cortes histológicos corados com hematoxilina e eosina foram analisados microscopicamente observando os seguintes aspectos: quantificação de células presentes por campo para descrição dos escores quanto ao infiltrado inflamatório

presente, organização do ligamento periodontal, extensão e quantificação de reabsorção inflamatória e por substituição e anquilose dentária.

Os escores que dizem respeito à intensidade do infiltrado inflamatório variam de zero a três, sendo que 0 corresponde à células inflamatórias ausentes ou em número desprezível; 1 corresponde à Infiltrado inflamatório leve; 2 corresponde à Infiltrado inflamatório moderado e 3 corresponde à Infiltrado inflamatório forte.

Os escores correspondentes à porcentagem de organização do ligamento periodontal também variam de zero à três, sendo que 0 são valores maiores que 75%; 1 são valores entre 50% e 75%; 2 valores entre 25% e 50% e 3 são valores menores que 25%.

Já os escores relacionados com a porcentagem de reabsorção inflamatória, por substituição e à anquilose são os seguintes: 0 se apresenta ausente; 1 são valores menores que 25%; 2 são valores entre 25% e 50% e 3 valores maiores que 50%.

- **Análise estatística**

A análise estatística foi realizada por meio do programa SigmaPlot 12.0™ (Chicago, IL, USA). A verificação da distribuição não-normal das variáveis contínuas quantitativas foi feita pelo teste de Mann- Whitney (Siegel et al., 1956). Os resultados foram considerados estatisticamente significativos quando a probabilidade foi menor 5% ($p<0,05$).

4 RESULTADOS

As imagens histológicas nos diferentes grupos experimentais são apresentadas na Figura 9. Pode-se observar que houve uma maior quantidade de infiltrado inflamatório no grupo C, sendo classificado em maior quantidade o seu escore como severo, 45 dias após o reimplante dentário, em decorrência da grande quantidade de células inflamatórias no campo estudado, enquanto o grupo O apresentou-se com maior quantificação o escore leve, com a presença de pequena quantidade de células inflamatórias no mesmo tempo experimental. ($P<0,05$) (Tabela 1).

Quando analisou a organização do ligamento periodontal, o mesmo se apresentou em menor quantidade, ou seja, menos que 25% de organização no grupo C, caracterizando como escore 3. Já no grupo O, o mesmo se apresentou com uma porcentagem maior que 50% e menor que 75%, sendo caracterizado como escore 1. Com relação à reabsorção inflamatória, a mesma também se apresentou com diferença estatisticamente significante entre os grupos, pois o grupo C apresentou percentual da mesma maior que 50%, sendo quantificado como escore 3, já o grupo O se apresentou com escore 1, ou seja, o mesmo evento histológico foi quantificado nesse grupo com um percentual menor que 25% ($P<0,05$) (Tabela 1) (Figura 4a1).

Já na análise da reabsorção por substituição e anquilose dentária constatou-se que não houve diferença estatisticamente significante entre os grupos, visto que os eventos apresentaram na maioria dos espécimes como ausente ($P>0,05$) (Tabela 1).

Os resultados do presente estudo comprovam a influência positiva da suplementação com ácido graxo ômega-3 sobre o processo de reparo tecidual após o reimplante dentário tardio, visto que os animais suplementados com ômega-3 apresentaram menor infiltrado inflamatório, maior organização do ligamento periodontal e menor reabsorção inflamatória superficial quando comparados aos ratos do grupo controle ($p<0,05$).

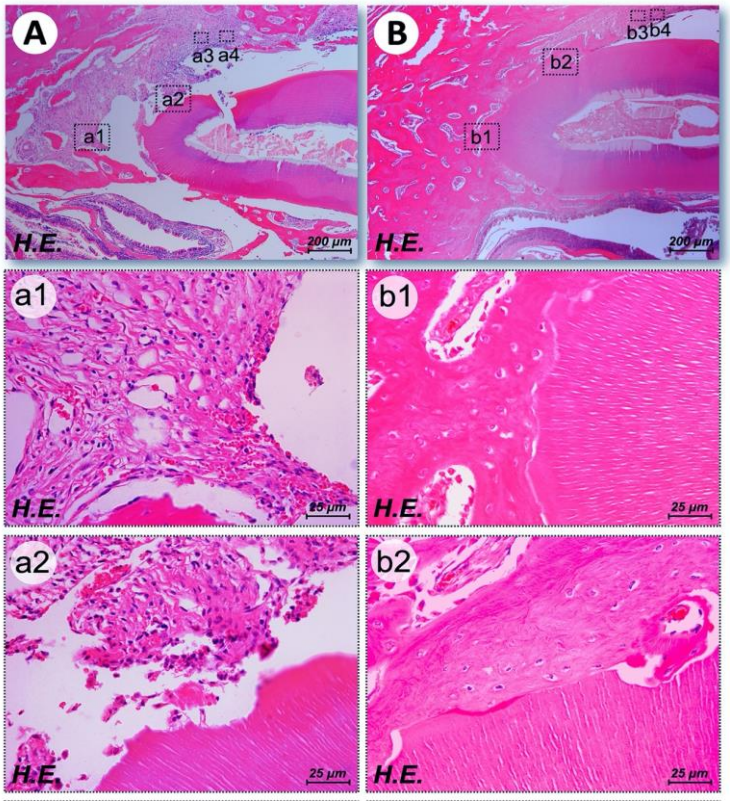


Figura 9.Imagens representativas da **c**oloração de H.E.em aumentos de 50x (A-grupo controle, B-grupo ômega) e 400x (a1,a2,b1,b2).

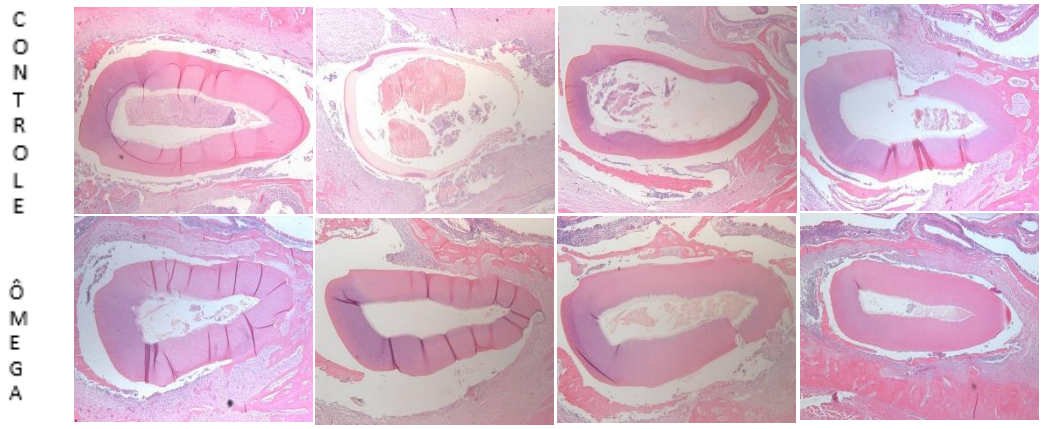


Figura 10. Imagens histológicas representativas dos grupos controle e ômega-3. (H.E.50x)

Tabela 1. Escores, Mediana e Valor-p dos grupos controle (C) e Ômega-3 (O).

Analysis Parameters		Groups		p Value
		C	O	
Inflammatory Infiltrate	**0 - Absent**	0/10	0/10	*Mann-Whitney p = 0.003*
	1 - Mild	1/10	7/10	
	2 - Moderate	4/10	3/10	
	3 - Severe	5/10	0/10	
	Median*	2.5[a]	1[b]	
Periodontal Ligament Organization	**0 - >75%**	0/10	0/10	*Mann-Whitney p = 0.001*
	1 - >50% and <75%	1/10	8/10	
	2 - >25% and <50%	4/10	2/10	
	3 - <25%	5/10	0/10	
	Median*	2.5[a]	1[b]	
Inflammatory resorption	**0 - Absent**	0/10	1/10	*Mann-Whitney p = 0.006*
	1 - <25%	2/10	6/10	
	2 - >25% and <50%	2/10	3/10	
	3 - >50%	6/10	0/10	
	Median*	3[a]	1[b]	
Replacement resorption	**0 - Absent**	5/10	6/10	*Mann-Whitney p = 0.769*
	1 - <25%	3/10	2/10	
	2 - >25% and <50%	2/10	2/10	
	3 - >50%	0/10	0/10	
	Median*	0.5[a]	0[a]	
Ankylosis	**0 - Absent**	7/10	4/10	*Mann-Whitney p = 0.269*
	1 - <25%	2/10	5/10	
	2 - >25% and <50%	1/10	1/10	
	3 - >50%	0/10	0/10	
	Median*	0[a]	1[a]	

*Diferentes letras sobrescritas indicam que houve diferença estatística entre os grupos. P < 0,05.

5 DISCUSSÃO

Este estudo investigou a influência da suplementação com ácido graxo ômega-3 no processo de reparo após reimplante dentário tardio. Os resultados demonstraram que o ômega-3 tem influência positiva no reparo, uma vez que reduziu a resposta inflamatória e aumentou a organização do ligamento periodontal, comprovando a hipótese inicial.

O ômega-3 tem sido aceito como terapia coadjuvante no tratamento de diversas doenças inflamatórias crônicas, como por exemplo a artrite reumatoide, doenças cardiovasculares e diabetes (Akbar et al., 2017) e também no tratamento de doenças orais como gengivite, periodontite e estomatite aftosa recorrente (Azuma et al., 2018), uma vez que seus ácidos graxos poli-insaturados têm um papel importante na resposta inflamatória, reduzindo mediadores pró-inflamatórios como o ácido araquidônico (Azuma et al., 2020). Considerando que o reimplante dentário tardio pode levar à um processo inflamatório, tendo como consequência a reabsorção radicular e anquilose, fez-se necessário avaliar o potencial anti-inflamatório do ômega-3 no processo de reparo após reimplante tardio (Mori et al., 2013; Roskamp et al., 2010; Najeeb et al., 2017; Machado et al., 2019).

Com relação ao infiltrado inflamatório, ao final dos 45 dias do reimplante, foi possível observar que o grupo suplementado com ômega-3 apresentou em sua grande maioria, um infiltrado leve, enquanto que o grupo controle apresentou infiltrado severo, demonstrando uma redução significativa na inflamação. Esta pode ser explicada pelo potencial anti-inflamatório do ômega-3, uma vez que ele inibe a produção de metabólitos do ácido araquidônico pelas vias da cicloxigenase 2 e da lipoxigenase, reduzindo assim, a resposta inflamatória (Azuma et al., 2018).

No quesito organização do ligamento periodontal, o grupo suplementado com ômega-3 apresentou maior organização quando comparado ao controle, o que pode ser explicado pelo aumento da expressão de MMPs-1 e TIMP pela dieta terapêutica com ômega-3 (Nicolai et al., 2017). As MMPs são moléculas que atuam na degradação de matriz extracelular e estão presentes nas doenças periodontais. Um desequilíbrio entre MMPs e TIMPs pode levar a destruição dos tecidos periodontais (Azuma et al., 2020), e isso tem uma ligação quando analisa-se a suplementação em casos de reimplante dentário tardio, visto que o processo de destruição óssea estão interligados.

A reabsorção inflamatória também apresentou diferenças significantes entre os grupos, uma vez que o grupo C apresentou um percentual maior (escore 3) que o grupo O (escore 1). Este tipo de reabsorção é um resultado da combinação da contaminação bacteriana juntamente com o cemento danificado. Uma vez que o processo reabsortivo se inicia, a dentina é exposta, desencadeando processos que liberam fatores inflamatórios pró-absortivos e aumentam a atividade dos osteoclastos, levando à reabsorção óssea inflamatória (Najeeb et al., 2016). Estudos demonstraram que a suplementação com ômega-3 inibe a ação de osteoclastos e aumenta a atividade dos osteoblastos, levando à remodelação óssea (Azuma et al., 2017), o que justifica o menor percentual de reabsorção inflamatória no grupo O.

Os parâmetros de reabsorção por substituição e anquilose não apresentaram diferenças estatisticamente significante entre os grupos, uma vez se apresentaram ausentes na maioria dos casos.

6 CONCLUSÃO

Consideramos que a suplementação com o ácido graxo ômega-3 pode influenciar no processo de reparo após reimplante dentário tardio, reduzindo o infiltrado inflamatório, aumentando a organização do ligamento periodontal e reduzindo a reabsorção inflamatória. Desta forma, este tipo de evidência colabora para a utilização desta substância na odontologia, em casos de reimplante dentário tardio.

Diante do exposto, conclui-se que a suplementação com ômega-3 reduz a resposta inflamatória e reabsortiva de dentes reimplantados tardiamente, além de induzir a maturação colágena influenciando positivamente na organização do ligamento periodontal.

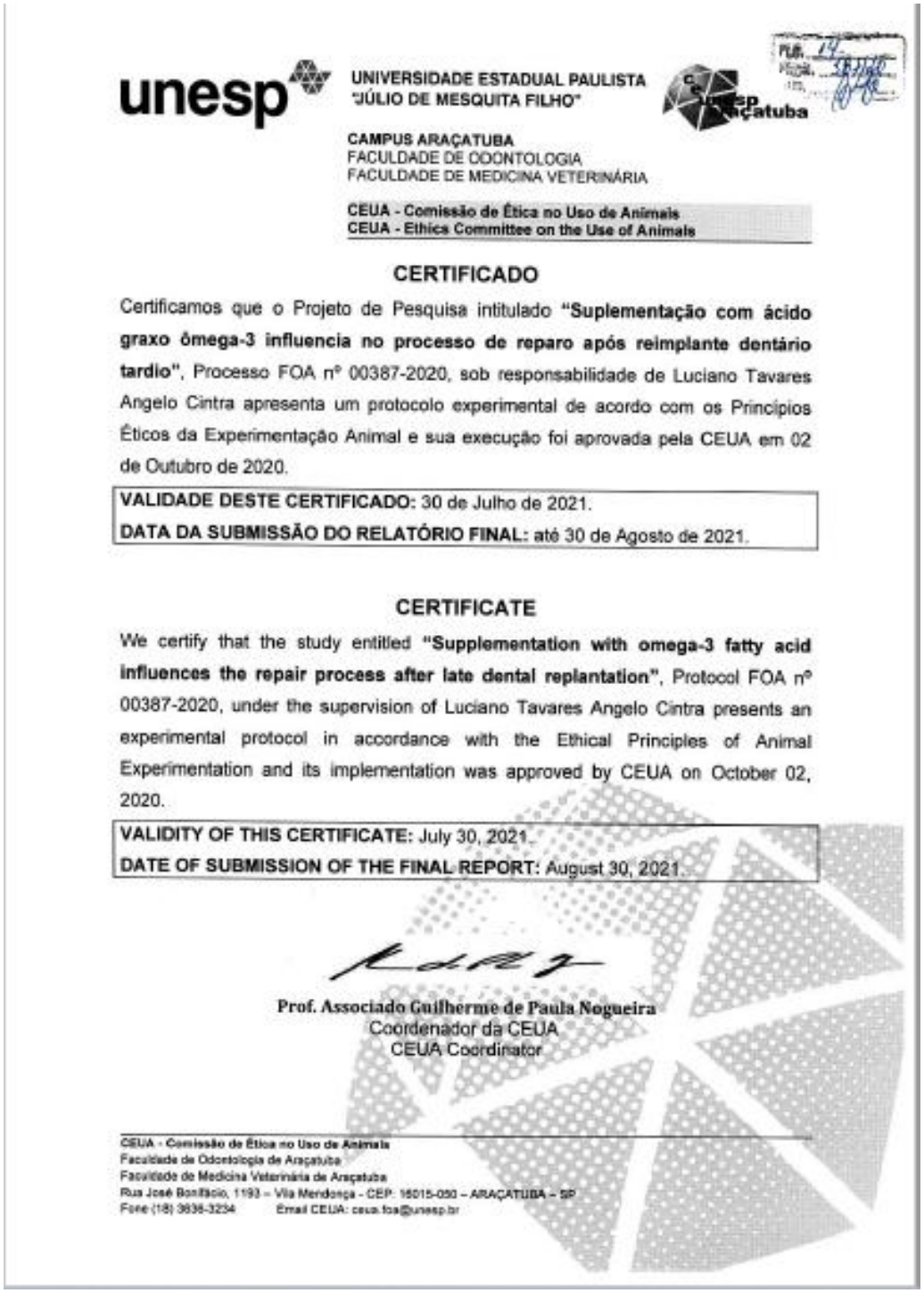
REFERÊNCIAS

1. Akbar, U., Yang, M., Kurian, D., & Mohan, C. (2017). Omega-3 fatty acids in rheumatic diseases: A critical review. Journal of Clinical Rheumatology, 23(6), 330–339. https://doi.org/10.1097/rhu.00000 00000000563.
2. Al-Musawi A, Al-Sane M, Andersson L. Smartphone App as an aid in the emergency management of avulsed teeth. Dent Traumatol 2017 Feb;33(1):13-18.
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 guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanente teeth. Dental Traumatology 2012; 28(1): 88-96.
4. Andersson L, Bodin I. Avulsed human teeth replanted within 15 minutes – a long-term clinical follow-up study. Endod Dent Traumatol 1990; 6(1): 37-42.
5.Andreasen JO, Andreasen FM. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth. Copenhagen: Blackwell Munksgaard; 2007.
6. Azuma MM, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Pipa CB, Cardoso CBM, Andrada AC, Karvai T, Cintra LTA. Omega 3 fatty acids reduce bone resorption while promoting bone generation in rat apical periodontitis. J Endod 2017 Jun; 43(6): 970-6.
7. Azuma MM, Gomes-Filho JE, Ervolino E, Cardoso CBM, Pipa CB, Kawai T. Omega-3 Fatty Acids Reduce Inflammation in Rat Apical Periodontitis. J Endo. 2018b; 44(4):604-608.
8.Azuma MM, Cardoso CBM, Cantiga-Silva C, Oliveira PHC, Jacinto RC, Andrada AC, Cintra LTA. The use of omega-3 fatty acids in the treatment of oral diseases. Oral Diseases. 2020; 00:1–11.
9. Bergman L, Milardovic Ortolan S, Zarkovic D, Viskic J, Jokic D, Mehulic K. Prevalence of dental trauma and use of mouthguards in professional handball players. Dental Traumatology 2017; 00: 1-6.
10. Day PF, Duggal M, Nazzal H. Interventions for treating traumatised permanent front teeth: avulsed (knocked out) and replanted. Cochrane Database of Systematic Reviews 2019, Issue 2. Art. No.: CD006542.
11. Machado NES, Banci HA, Silva LD, Santinoni CS, Oliveira DL, Ervolino E, Prado RL, Mori GG. Influence of anti-allergic drugs used systemically on the process of root resorption during delayed tooth replantation: A study in rats. Dental Traumatology. 2019;00:1–8.
12. Martins CM, Hamanaka EF, Hoshida TY, Sell AM, Hidalgo MM, Silveira CS, Poi WR. Dragon's Blood Sap (Croton Lechleri) as Storage medium for avulsed teeth: in vitro study of cell viability. Brazilian Dental Journal 2016; 27 (6):751– 56.
13. Mori GG. Estudo microscópico e morfométrico do efeito de substâncias anti-reabsortivas usadas como medicação intracanal em dentes de ratos avulsionados e reimplantados tardiamente [tese]. Bauru: Universidade de São Paulo; 2005.
14. Mori GG, Garcia RB, de Moraes IG. Morphometric and microscopic evalution of the effect of solution of acetazolamide as an intracanal therapeutic agent in late reimplanted rat teeth. Dental Traumatology 2006 ; 22(1):36- 40.
15. Mori GG, Poi WR, Castilho LR. Evaluation of the anti-resorptive ability of na experimental acetazolamide paste for the treatment of late replanted teeth: a study in rats. Dental Traumatology 2013; 29(1): 34-40.

16. Mori GG, Janjácomo DMM, Castilho LR, Poi WR. Evaluating the knowledge of sports participants regarding dental emergency procedures. Dental Traumatology 2009; 25(1): 305-08.
17.Mori GG, Nunes DC, Castilho LR, Moraes IG, Poi WR. Propolis as storage media for avulsed teeth: microscopic and morphometric analysis in rats. Dental Traumatology 2010; 26:80-5.
18. Mori GG, Turcio KHL, Boro VPB, Mariusso AM. Evaluation of the knowledge of tooth avulsion of school professional from Adamantina, São Paulo, Brazil. Dental Traumatology 2007; 23(1): 2-5.
19.Najeeb S, Siddiqui F, Khurshid Z, Zohaib S, Zafar MS, Ansari AS. Effect of bisphosphonates on root resorption after tooth replantation – a systematic review. Dental Traumatology 2017; 33(1): 77-83.
20. Nicolai E, Sinibaldi F, Sannino G, Laganà G, Basoli F, Licoccia S, Cozza P, Santucci R, Piro MC. Omega-3 and Omega-6 Fatty Acids Act as Inhibitors of the Matrix Metalloproteinase-2 and Matrix Metalloproteinase-9 Activity. Protein J. 2017 Aug;36(4):278-285.
21. Reis MVP, Souza GL, Moura CCG, Soares PBF, Soares CJ. Effect of diferente storage media on root dentine composition and viability of fibroblastos evaluated by several assay methods. International Endodontic Journal 2016.
22. Roskamp L, Westphalen VD, Carneiro E, Fariniuk LF, Silva Neto UX, Westphalen FH. Relationship Between Extra-Alveolar Time and Atopy in the Prognosis of the Replantation of Avulsed Teeth. J Trauma 2010; 69(6):E79-81.
23. Trope M, Friedman S. Periodontal healing of replanted dog teeth stored in Viaspan, milk and Hank's balanced salt solution. Endod Dent Traumatol 1992; 8: 183-188.
24.Trope M. Avulsion of permanent teeth: theory to practice. Dental Traumatology 2011; 27(1): 281–294.

7 ANEXOS

ANEXO A – Comitê de Ética



unesp UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA "JÚLIO DE MESQUITA FILHO"

CAMPUS ARAÇATUBA
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
FACULDADE DE MEDICINA VETERINÁRIA

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

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto de Pesquisa intitulado **"Suplementação com ácido graxo ômega-3 influencia no processo de reparo após reimplante dentário tardio"**, Processo FOA nº 00387-2020, sob responsabilidade de Luciano Tavares Angelo Cintra apresenta um protocolo experimental de acordo com os Princípios Éticos da Experimentação Animal e sua execução foi aprovada pela CEUA em 02 de Outubro de 2020.

VALIDADE DESTE CERTIFICADO: 30 de Julho de 2021.
DATA DA SUBMISSÃO DO RELATÓRIO FINAL: até 30 de Agosto de 2021.

CERTIFICATE

We certify that the study entitled **"Supplementation with omega-3 fatty acid influences the repair process after late dental replantation"**, Protocol FOA nº 00387-2020, under the supervision of Luciano Tavares Angelo Cintra presents an experimental protocol in accordance with the Ethical Principles of Animal Experimentation and its implementation was approved by CEUA on October 02, 2020.

VALIDITY OF THIS CERTIFICATE: July 30, 2021.
DATE OF SUBMISSION OF THE FINAL REPORT: August 30, 2021.

Prof. Associado Guilherme de Paula Nogueira
Coordenador da CEUA
CEUA Coordinator

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