

SIMONE CARRIJO DAMANTE

“REIMPLANTE DENTÁRIO APÓS A OBTURAÇÃO DO CANAL COM PASTA DE β -GLICEROFOSFATO DE CÁLCIO OU PASTA DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO. ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM RATOS”.



Araçatuba-SP

2013

SIMONE CARRIJO DAMANTE

REIMPLANTE DENTÁRIO APÓS A OBTURAÇÃO DO CANAL COM PASTA DE β -GLICEROFOSFATO DE CÁLCIO OU PASTA DE HIDRÓXIDO DE CÁLCIO. ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO EM RATOS”.

Trabalho de Conclusão de Curso como parte dos requisitos para a obtenção do título de Bacharel em Odontologia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”.

Orientador: Prof. Dr. Celso Koogi Sonoda

Araçatuba-SP

2013

Dedicatória

A meus pais, Nilva e Odair que tanto me incentivaram e motivaram a ingressar na Universidade e buscar o conhecimento.

A meu amigo Fernando, que me escolheu para dar continuidade a essa pesquisa, sem a ajuda dele eu não teria a chance de ser orientada pelo Professor Celso, nem de aprender tanto como aprendi.

Ao Professor Doutor Celso Koogi Sonoda, que me deu a oportunidade de participar da pesquisa, me aceitando com todo carinho, atenção e alegria.

Agradecimentos

À Deus, por me conceder sabedoria para saber aproveitar essa oportunidade de aprendizado.

Ao Professor Celso, minha admiração por tamanha humildade e simplicidade com que transmite o saber, pelo acolhimento, por me proporcionar a oportunidade de iniciar na pesquisa científica e despertar meu interesse para a carreira acadêmica.

Aos funcionários da Disciplina de Clínica Integrada, pela disponibilidade e auxílio indispensável para desenvolvimento do trabalho.

Ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico(CNPq) pela concessão do auxílio no desenvolvimento dessa pesquisa.

À todos que de certa forma contribuíram,para elaboração e conclusão desse trabalho

Epígrafe

Superação é ter a humildade de aprender com o passado, não se conformar com o presente e desafiar o futuro.

(HUGO BETHLEM)

DAMANTE, SC. **Reimplante dentário após a obturação do canal com pasta de β -glicerofosfato de cálcio ou pasta de hidróxido de cálcio. Estudo histomorfométrico em ratos.** (Trabalho de Conclusão de Curso) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2013.

Resumo

A avulsão dentária acomete principalmente pacientes jovens e que possuem dentes com rizogênese incompleta. Nesse caso a necrose pulpar é frequente e a apicificação é prejudicada. O amplo forame dificulta a inserção de curativos de demora e a obturação definitiva do canal. Assim é importante o uso de um curativo de demora para favorecer o controle da reabsorção radicular e a formação de uma barreira de tecido mineralizado permitindo o selamento apical. O hidróxido de cálcio tem sido o material mais utilizado para esse fim, necessitando, porém, de um longo período de trocas. Existem relatos na literatura de que o β -glicerofosfato de cálcio também possui a capacidade de induzir a formação de tecido mineralizado em um período mais curto de tempo. Essa possibilidade justificou a realização deste estudo para analisar histologicamente a ação deste material como curativo de demora em reimplante tardio de dentes ratos. Foram empregados 40 ratos machos divididos em 4 grupos de 10 animais. No Grupo I os dentes foram extraídos e reimplantados imediatamente em seus alvéolos de origem. Nos demais grupos, os dentes extraídos foram mantidos em meio seco por 60 minutos. A papila dentária, o órgão do esmalte e a polpa foram removidos. O ligamento periodontal também foi removido e os dentes foram imersos em solução de fluoreto de sódio fosfato acidulado por 10 minutos. No Grupo II os canais radiculares foram preenchidos com soro fisiológico. No Grupo III, utilizou-se a pasta de hidróxido de cálcio e no Grupo IV utilizou-se a pasta de β -glicerofosfato de cálcio. Os dentes foram reimplantados e a eutanásia dos animais foi realizada 60 dias depois para processamento histológico em H.E. Os resultados demonstraram que os grupos II e IV foram mais comprometidos pela reabsorção radicular inflamatória do que os grupos I e III. O grupo I apresentou menor comprometimento pela reabsorção total do que o grupo II ($p < 0,05$). Em todos os grupos a região periapical era ocupada por um tecido conjuntivo fibroso com a presença de infiltrado inflamatório. Concluiu-se que o β -glicerofosfato de cálcio não foi mais eficiente do que o hidróxido de cálcio no controle da reabsorção radicular e no reparo da região periapical por tecido mineralizado.

Palavras chaves: Reimplante dentário, avulsão dentária, β -glicerofosfato de cálcio, hidróxido de cálcio, reabsorção radicular, tratamento endodôntico .

DAMANTE,SC. **Tooth replantation after root canal filling with paste β -glycerophosphate calcium or calcium hydroxide paste. Histomorphometric study in rats.** (Trabalho de Conclusão de Curso) - Faculdade de Odontologia, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2013.

Abstract

Tooth avulsion occurs mainly young patients who have teeth with incomplete root formation. In this case the pulp necrosis is common and apexification is impaired. The large foramen hinders insertion of dressings and delay final obturation of root canal. Therefore it is important to use a bandage to facilitate the formation of mineralized tissue barrier permitting the apical seal. Calcium hydroxide has been the most used material for this purpose. However require a long period of changes. In the literature was described that calcium β -glycerophosphate has the ability to induce formation of mineralized tissue in a shorter period of time. This possibility justifies this study to analyze histologically the action of this material as intracanal dressing in delayed tooth replantation. In this study 40 male rats were divided into 4 groups of 10 animals. In Group I, the teeth were extracted and replanted immediately into their alveoli source. In the other groups, extracted teeth were kept dry for 60 minutes. The dental papilla, enamel organ and pulp tissue were removed. The periodontal ligament was also removed and the teeth were immersed in a phosphate acidulated sodium fluoride solution, for 10 minutes. In Group II, the root canals were filled with saline. Group III used the calcium hydroxide paste and Group IV used the calcium β -glycerophosphate paste. The teeth were reimplanted and euthanasia was performed 60 days later for histology analysis with HE. The results showed that the groups II and IV were more compromised by inflammatory root resorption than groups I and III. Group I had less involvement by total reabsorption than group II ($p < 0,05$). In all groups the periapical region was occupied by a fibrous connective tissue with inflammatory infiltrate. It is concluded that β -glycerophosphate calcium was not more effective than calcium hydroxide in the control of root resorption and repair of the periapical area of mineralized tissue.

Keywords: Tooth replantation, tooth avulsion, β -glycerophosphate, calcium hydroxide, calcium resorption, endodontic treatment.

Lista de figuras

Figura. 1	Grupo I (reimplante imediato): Terço médio da raiz com dentina (D) e cimento (C) íntegros. Fibras do ligamento periodontal (LP) reinseridas na camada de cimento e osso alveolar (TO).H.E. 100X.	16	-
Figura 2	Grupo I (reimplante imediato): Área de dentina reabsorvida e reparada com cimento com reinserção do ligamento periodontal (LP). H.E. 400X	16	
Figura 3	Grupo II (Soro fisiológico): Amplo comprometimento da dentina (D) pela reabsorção radicular inflamatória. Presença de clastos (setas) junto às lacunas na dentina. H.E. 100X.	17	
Figura 4	Grupo II (Soro fisiológico): Reabsorção de maior profundidade da dentina (D) e reparo por tecido ósseo alveolar (TO). H.E. 100X	17	
Figura 5	Grupo II (Soro fisiológico): Região periapical com extensa faixa de tecido conjuntivo fibroso com um infiltrado inflamatório intenso. Área de abscesso junto ao forame (seta). H.E. 50X	17	
Figura 6	Grupo III (Hidróxido de cálcio): Raiz com integridade da dentina. Ligamento periodontal (LP) com fibras colágenas dispostas paralelamente à superfície radicular. H.E. 100X.	18	
Figura 7	Grupo III (Hidróxido de cálcio): Reabsorção da camada superficial da dentina (D) reparada por tecido ósseo (TO). Área de anquilose (seta). H.E. 100X.	18	
Figura 8	Grupo III (Hidróxido de cálcio): Tecido conjuntivo fibroso com infiltrado inflamatório ocupando a maior parte da região periapical. Presença de tecido ósseo neoformado no fundo do alvéolo. HE 50X.	19	
Figura 9	Grupo IV (Ca-BGP): Fibras colágenas do ligamento periodontal (LP) dispostas paralelamente à superfície radicular. Tecido ósseo alveolar (TO) ocupando parte do espaço do ligamento periodontal. H.E. 100X	20	
Figura 10	Grupo IV (Ca-BGP): Tecido conjuntivo fibroso (asterisco) com infiltrado inflamatório ocupando área previamente reabsorvida da dentina (D) (Reabsorção radicular inflamatória). Área de reabsorção por substituição (seta) H.E. 100x.	20	
Figura11	Grupo IV (Ca-BGP): Tecido conjuntivo fibroso (TC) ocupando extensa área da região periapical, junto ao Glicerofosfato de cálcio (GF). Tecido ósseo neoformado (TO) no fundo do alvéolo. H.E. 50X	20	

Lista de tabelas

Tabela 1	Médias e desvio padrão das áreas (em pixel) de tecido conjuntivo fibroso da região periapical.	21
Tabela 2.	Teste de Dunn para comparações entre os grupos, em relação a extensão de tecido conjuntivo mensurado na região periapical.	21
Tabela 3	Frequência dos escores para a ocorrência da reabsorção inflamatória, reabsorção por substituição e reabsorção total entre os grupos.	22
Tabela 4.	Teste de Dunn para comparações entre os grupos, em relação à ocorrência de reabsorção inflamatória, reabsorção por substituição e reabsorção total.	22

Lista de abreviaturas

Ca-BGP = β -glicerofosfato de cálcio

HE = Hematoxilina e Eosina

Sumário

1. Introdução	12
2. Proposição	13
3. Discussão	23
4. Conclusão	26
5. Referências	27
Anexo	31

1 Introdução

Dentre os traumatismos dentários, a avulsão é uma condição clínica que produz maiores consequências à permanência do elemento dentário em longo prazo. O completo rompimento do feixe vâsculo-nervoso determinam a necrose da polpa tornando o tratamento endodôntico um passo fundamental após o reimplante (Andreasen et al. 2007;¹ Peterson et al.1997;² Cvek et al. 1995)³.

O tratamento do canal radicular visa eliminar restos de polpa necrótica, bactérias e toxinas bacterianas que se depositam no canal e no interior dos túbulos dentinários (Mandel & Bourguignon-Adelle, 1996).⁴ No reimplante dentário, isto é fundamental na prevenção ou controle da reabsorção inflamatória (Andreasen et al. 2007).¹

Por ocorrer principalmente em crianças de 7 a 12 anos de idade, é comum que o dente avulsionado apresente rizogênese incompleta (Andreasen et al. 2007).¹ A revascularização pulpar pode ocorrer nesses casos, porém baixos índices tem sido encontrado, mesmo em condições adequadas de reimplante (Cvek et al, 1993).³ Em tal condição o amplo forame apical dificulta a inserção de materiais para curativo de demora ou obturação (Steinig et al. 2003;⁵ Mackie & Hill, 1999)⁶. Assim uma importante função do curativo de demora é favorecer a formação de uma barreira de tecido mineralizado permitindo o selamento apical (Ghose et al. 1987,⁷ Pradhan et al. 2006).⁸

Um dos materiais mais utilizados para isso tem sido o hidróxido de cálcio. No entanto, apesar do seu alto índice de sucesso, o tempo necessário para a formação dessa barreira é relativamente longo (5 a 20 meses) (Sheehy & Roberts, 1997).⁹ Em dentes reimplantados, o seu extravasamento para os tecidos periapicais também pode ocorrer, promovendo a irritação dos remanescentes vivos do ligamento periodontal, levando formação de áreas de anquilose (Andreasen & Kristerson, 1981).¹⁰ Além disso, recentes pesquisas têm demonstrado que a permanência do hidróxido de cálcio por longo tempo pode levar ao enfraquecimento da dentina radicular, aumentando assim a suscetibilidade a fraturas (Hatibovic-Kofman, 2008,¹¹ Andreasen et. Al 2002).¹²

Existe na literatura o relato de caso clínico (Hayashi & Imai, 1995),¹³ e estudo experimental (Vitoria et al. 2000)¹⁴ do uso de um fosfato orgânico para a obtenção de barreira apical de tecido mineralizado em dentes com forame amplo.

Além de íons cálcio o β -glicerofosfato de cálcio (Ca-BGP) teria a capacidade de liberar íons fosfato quando em contato com os fluidos teciduais no local da aplicação. A

hidrólise pela fosfatase alcalina promoveria a liberação desses íons resultando na formação do tecido mineralizado (Ali et al., 1984).¹⁵ Pode-se observar a formação de hidroxiapatita duas horas após a aplicação do Ca-BGP em capeamento pulpar direto (Imai & Hayashi, 1993).¹⁶ Nenhum estudo pode ser encontrado na literatura empregando-se esse material em dentes reimplantados. Considerando que a ocorrência da avulsão dentária em dentes com rizogênese incompleta é uma realidade na prática clínica, achamos oportuna a realização deste trabalho para se analisar histologicamente o efeito do Ca-BGP como curativo de demora.

2 Objetivo

O objetivo de trabalho é estudar o processo de reparo de incisivos de ratos reimplantados tardiamente após a obturação do canal radicular com pasta de β -glicerofosfato de cálcio ou pasta de hidróxido de cálcio.

3 Materiais e métodos

Este projeto de pesquisa foi submetido e aprovado pelo comitê de ética em experimentação animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP (Protocolo FOA-9676/10). Neste estudo serão empregados 40 ratos (*Rattus norvegicus* Wistar) com peso corporal de 150 a 200 gramas de peso corporal.

Para o procedimento cirúrgico, foi administrada, por via intramuscular Cloridrato de Xilazina (Anazedan Agribrands Ltda) na dosagem de 10mg/Kg de peso corporal, para promover o relaxamento muscular. Na sequência, o Cloridrato de Ketamina (Dopalen AgriBans Ltda) na dosagem de 80mg/Kg de peso corporal para indução anestésica.. Posteriormente, foram realizadas a sindesmotomia, luxação e extração do incisivo superior direito com auxílio de instrumental especialmente adaptado. Os animais foram divididos em 4 grupos de 10 sendo que no Grupo I os dentes foram reimplantados imediatamente 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 este período, a papila dentária e o órgão do esmalte foram seccionados com lâmina de bisturi nº 15 (Embramac Exp.e Imp.) e a polpa foi removida por via retrógrada. O tecido pulpar foi então removido, empregando-se lima tipo Kerr nº 25 (Kerr 25mm – Sybron Kerr) ligeiramente curvada, em seguida os canais foram irrigados com soro fisiológico com seringa descartável acoplada em agulha 25 x 6. A remoção mecânica do ligamento periodontal foi realizada por meio de fricção com gaze embebida em soro fisiológico. A seguir, os dentes foram imersos em 20 ml de solução de fluoreto de sódio

fosfato acidulado a 2% pH 5,5 (Farmácia de manipulação Aphoticário, Araçatuba, Brasil) por 10 minutos.

Os canais radiculares foram secos com cones de papel absorvente, no Grupo II foram preenchidos por via retrógrada com soro fisiológico. No Grupo III os canais radiculares foram preenchidos por via retrógrada com pasta de hidróxido de cálcio e propilenoglicol. No Grupo IV os canais radiculares foram preenchidos por via retrógrada com a pasta de Ca-BGP e soro fisiológico.

Na seqüência os dentes foram reimplantados em seus alvéolos de origem, realizando-se previamente a irrigação desses alvéolos com soro fisiológico. Após o reimplante, todos os animais receberam dose única de 20.000 UI de penicilina G benzatina 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. 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 10% pH 7,0.

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

4 Análise histométrica

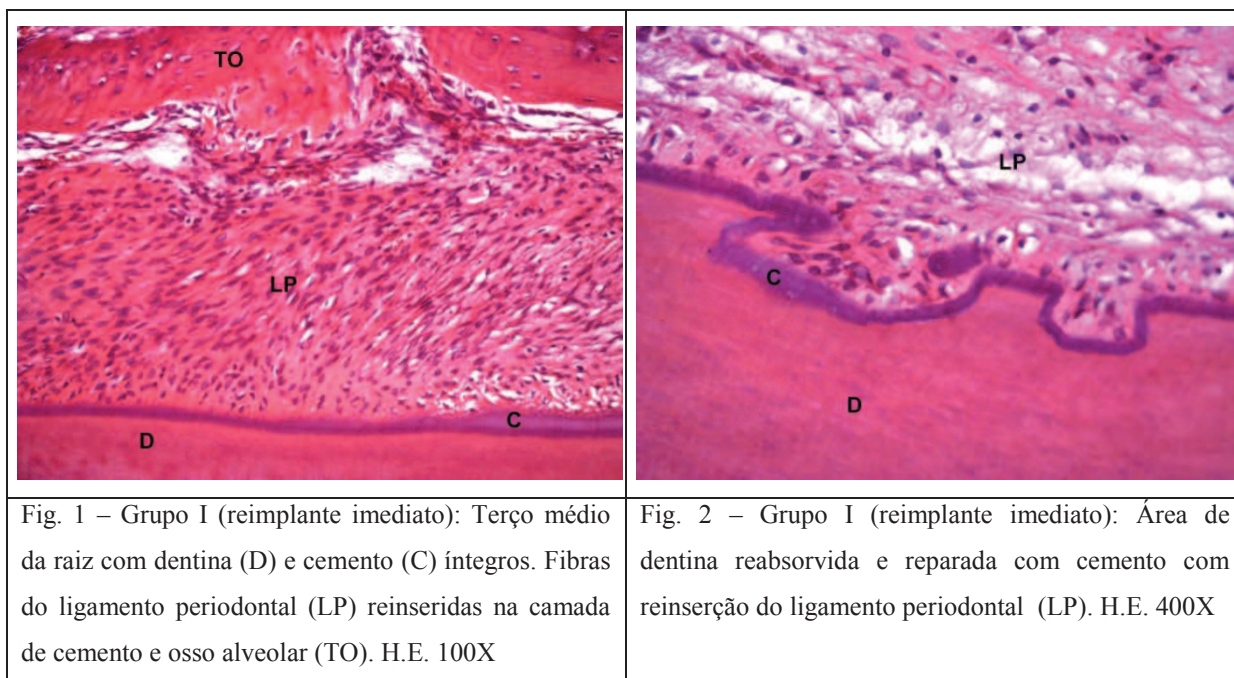
O corte longitudinal foi capturado por meio de uma câmera Axio Cam MRc5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) acoplada a um Estereomicroscópio Stemi 2000 C (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) com um aumento de 1:25, que permitiu uma visão panorâmica do dente. Essa imagem 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 Image J (National Institutes of Health, Bethesda, MD). Para a análise do reparo da região periapical por tecido ósseo, considerou-se a extensão de tecido conjuntivo fibroso presente na área. Essa área foi delimitada e mensurada para obtenção do valor em pixel. A partir da medida de cada espécime obteve-se uma média de cada grupo que foi utilizada para a aplicação de um teste estatístico adequado.

Para a identificação e seleção das áreas de reabsorção, as imagens digitais obtidas foram comparadas com os cortes histológicos no microscópio. 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. Por conta da ausência de alguns tipos de reabsorção em alguns espécimes, foi conferido valor zero em várias situações. Para permitir a aplicação de um teste estatístico adequado, houve a necessidade de transformação dessas médias em escores de 1 a 4. Sendo assim, o escore 1 foi dado para os casos de ausência de reabsorção. O escore 2 para os casos em que 0,1% a 50% da superfície radicular estava comprometida por reabsorção. O escore 3 quando esse comprometimento era de 50% a 99% e o escore 4 quando 100% da superfície radicular estava comprometida pela reabsorção.

5 Resultados: Neste estudo, os animais toleraram os procedimentos experimentais de forma adequada. Foram excluídos dois espécimes do grupo IV devido à fratura do incisivo durante a exodontia. Os seguintes resultados foram encontrados.

Grupo I (reimplante imediato) n=10 – 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). Neste grupo foram encontradas 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. Na área comprometida havia a presença de um infiltrado inflamatório no tecido conjuntivo fibroso adjacente ao local reabsorvido. A reabsorção por substituição foi observada 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 ocupada por uma faixa de tecido conjuntivo fibroso que se apresentava mais estreita em 5 deles. Neste tecido foi possível observar um infiltrado inflamatório moderado, com histiócitos e linfócitos. Junto ao forame apical, polimorfonucleares neutrófilos também podiam ser encontrados em

alguns 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 (soro fisiológico) n=10 – Neste grupo, foram encontradas várias áreas que apresentavam cimento íntegro e tecido conjuntivo fibroso. Na maior parte dos casos, as fibras colágenas desse tecido se apresentavam sem uma organização definida e em vários pontos, um infiltrado inflamatório de variação de leve a moderado estava presente. Poucas áreas de anquilose foram encontradas e as áreas de reabsorção radicular foram encontradas em todos os espécimes. Dessas áreas, houve um maior envolvimento pela reabsorção do tipo inflamatória sendo encontrada em todos os espécimes. 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. 3). A reabsorção por substituição também apresentou comprometimento em profundidade em alguns espécimes. (Fig. 4). 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. Em todos os espécimes, a região periapical é ocupada por uma extensa faixa de tecido conjuntivo fibroso que apresenta em muitos pontos, um infiltrado

inflamatório crônico moderado. Próximo ao forame, áreas de abscesso podem ser encontradas onde existe o predomínio de neutrófilos (Fig. 5).

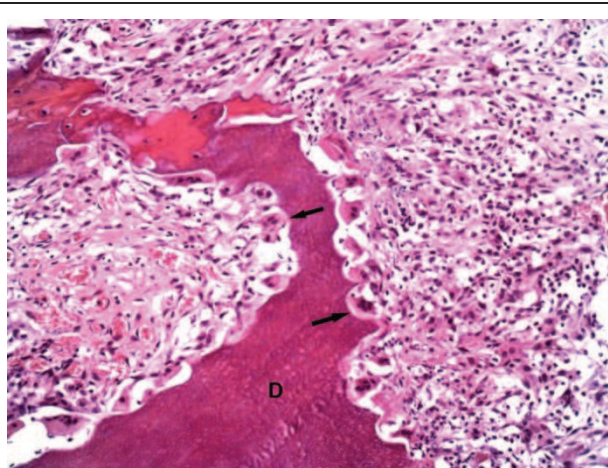


Fig. 3 – Grupo II (Soro fisiológico): Amplo comprometimento da dentina (D) pela reabsorção radicular inflamatória. Presença de clastos (setas) junto às lacunas na dentina. H.E. 100X.

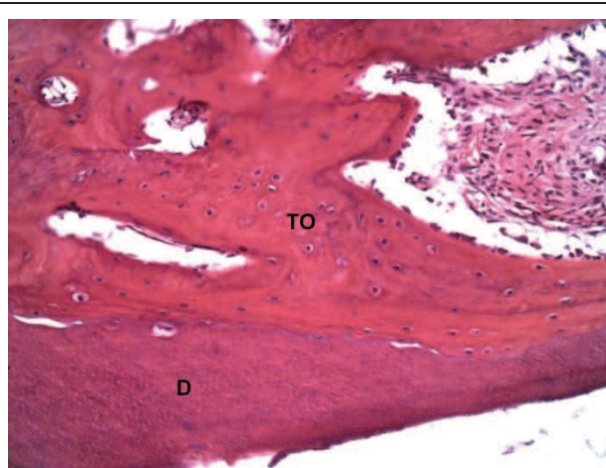


Fig. 4 – Grupo II (Soro fisiológico): Reabsorção de maior profundidade da dentina (D) e reparo por tecido ósseo alveolar (TO). H.E. 100X



Fig. 5 – Grupo II (Soro fisiológico): Região periapical com extensa faixa de tecido conjuntivo fibroso com um infiltrado inflamatório intenso. Área de abscesso junto ao forame (seta). H.E. 50X

Grupo III (hidróxido de cálcio) n=10 – Áreas com integridade da raiz e presença do espaço do ligamento periodontal representaram uma pequena proporção neste grupo, sendo

encontrado em apenas dois espécimes. O tecido conjuntivo que ocupava o espaço do ligamento periodontal 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 cemento, resultando muitas áreas de anquilose. Em 3 espécimes isso ocorreu em toda a superfície radicular. Áreas de reabsorção radicular foram encontradas em todos os espécimes com comprometimento de menor extensão e profundidade. A reabsorção inflamatória foi encontrada em apenas dois espécimes. A reabsorção por substituição por sua vez foi encontrada em 6 espécimes, comprometendo apenas a camada superficial da raiz (Fig. 7). De forma semelhante ao grupo II, a parede óssea alveolar apresentou-se íntegra na maior parte dos casos. Na região periapical predomina um tecido conjuntivo fibroso com a presença de um infiltrado inflamatório crônico em todos os espécimes. Junto ao curativo de hidróxido de cálcio, esse infiltrado se apresenta mais intenso. Áreas de tecido ósseo neoformado foram observadas no fundo do alvéolo (Fig. 8).



Fig. 6 – Grupo III (Hidróxido de cálcio): Raiz com integridade da dentina. Espaço do ligamento periodontal (LP) preenchido por tecido conjuntivo com fibras colágenas dispostas paralelamente à superfície radicular. H.E. 100X.



Fig. 7 – Grupo III (Hidróxido de cálcio): Reabsorção da camada superficial da dentina (D) reparada por tecido ósseo (TO). Reabsorção por substituição e área de anquilose (seta). H.E. 100X.

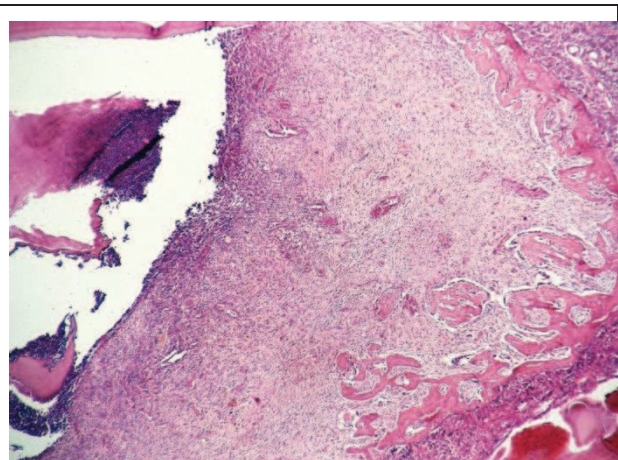


Fig. 8 – Grupo III (Hidróxido de cálcio): Tecido conjuntivo fibroso com infiltrado inflamatório ocupando a maior parte da região periapical. Presença de tecido ósseo neoformado no fundo do alvéolo. HE 50X.

Grupo IV (β -glicerofosfato de cálcio) n=8- Neste grupo, várias áreas de tecido conjuntivo fibroso foram encontradas na superfície radicular de todos os espécimes. Se apresentavam mais extensas em 6 espécimes, sendo que em 5 deles, essa faixa de tecido conjuntivo se apresentava mais estreita devido à presença de tecido ósseo neoformado que ocupava a maior parte do espaço do ligamento periodontal. Poucas áreas de anquilose foram encontradas em 4 espécimes. O tecido conjuntivo fibroso desses espécimes se apresentava rico em fibras colágenas e fibroblastos e com muitos vasos sanguíneos. As fibras colágenas, na maior parte dos casos, apresentavam-se disposta paralelamente à superfície radicular (Fig 9). Em vários pontos, um infiltrado inflamatório de linfócitos e plasmócitos podiam ser observados. O comprometimento pela reabsorção radicular foi semelhante ao observado no grupo II. As áreas de reabsorção inflamatória foram encontradas em 7 espécimes com envolvimento semelhante ao do grupo II (Fig. 10). Pequenas áreas de reabsorção por substituição foram encontradas em 7 espécimes. A maior parte da região periapical era ocupada por tecido conjuntivo fibroso com poucas áreas de neoformação de tecido ósseo. Um infiltrado inflamatório crônico intenso ocupava a maior parte deste tecido conjuntivo. Em alguns pontos, o infiltrado de neutrófilos era encontrado em alguns espécimes junto ao forame apical (Fig 11).

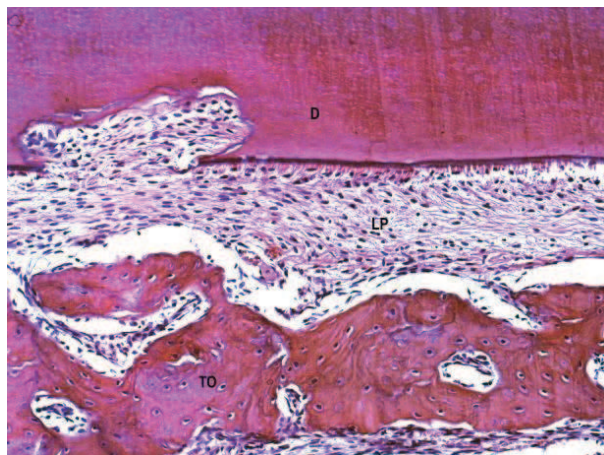


Fig. 9 – Grupo IV (Ca-BGP): Fibras colágenas do ligamento periodontal (LP) dispostas paralelamente à superfície radicular. Tecido ósseo alveolar (TO) ocupando parte do espaço do ligamento periodontal. H.E. 100X

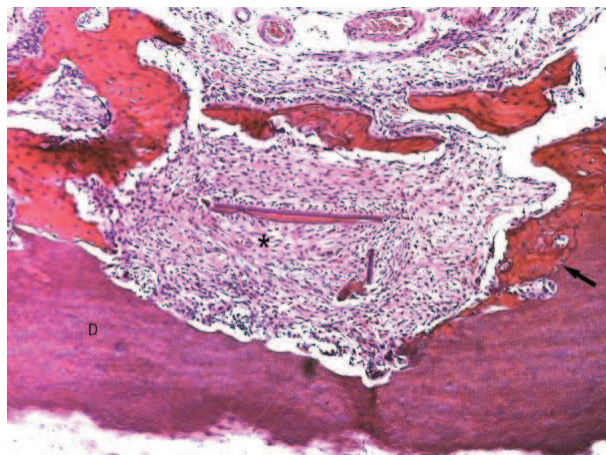


Fig. 10 – Grupo IV (Ca-BGP): Tecido conjuntivo fibroso (asterisco) com infiltrado inflamatório ocupando área previamente reabsorvida da dentina (D) (Reabsorção radicular inflamatória). Área de reabsorção por substituição (seta) H.E. 100x.

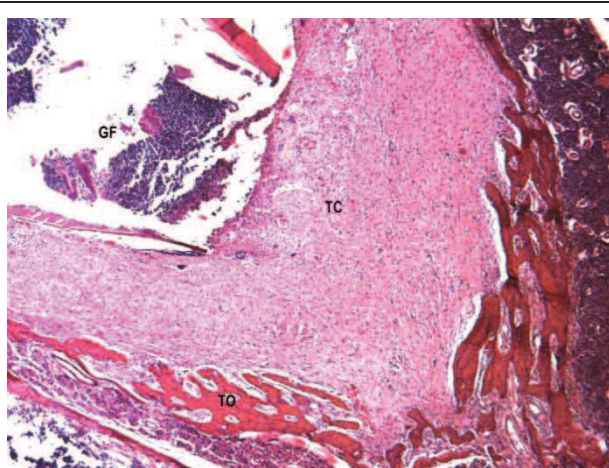


Fig. 11 – Grupo IV (Ca-BGP): Tecido conjuntivo fibroso (TC) ocupando extensa área da região periapical, junto ao Glicerofosfato de cálcio (GF). Tecido ósseo neoformado (TO) no fundo do alvéolo. H.E. 50X

6 Análise Estatística

Para análise estatística das áreas de reabsorção e reparo por tecido ósseo periapical, uma vez que os parâmetros morfométricos quantificados mostraram grande variabilidade, optou-se pela utilização do teste estatístico não paramétrico. Assim, 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.

Na tabela 1 estão descritos as médias e desvio padrão das áreas de tecido conjuntivo fibroso encontrado na região periapical nos grupos analisados.

Tabela 1- Médias e desvio padrão das áreas (em pixel) de tecido conjuntivo fibroso da região periapical.

Grupos	Extensão de tecido conjuntivo
Grupo I (n=10)	3,721± (1,008)
Grupo II (n=10)	5,695 ± (1,288)
Grupo III (n=10)	4,189 ± (0,556)
Grupo IV (n=8)	5,633 ± (2,02)

Grupo I: Reimplante imediato, Grupo II: Soro fisiológico, Grupo III: Hidróxido de cálcio, Grupo IV: Ca-BGP

A análise dos dados demonstrou que o grupo I apresentou menor extensão de tecido conjuntivo fibroso na região periapical do que o grupo II (tabela 2).

Tabela 2. Teste de Dunn para comparações entre os grupos, em relação a extensão de tecido conjuntivo mensurado na região periapical.

Comparações entre os grupos	Extensão de tecido conjuntivo fibroso (p)
Grupo I x Grupo II	p< 0.05*
Grupo I x Grupo III	p>0.05
Grupo I x Grupo IV	p>0.05
Grupo II x Grupo III	p >0.05
Grupo II x Grupo IV	p>0.05
Grupo III x Grupo IV	p> 0.05

estatisticamente significativa (p<0,05) .

Na tabela 3 está descrito a frequência dos escores atribuídos aos diferentes tipos de reabsorção radicular encontrado nos grupos. A análise dos dados demonstrou que o grupo I

apresentou menor índice de reabsorção inflamatória do que o grupo II; o grupo III apresentou menor índice de reabsorção inflamatória do que o grupo II e IV. Quanto à reabsorção total, o grupo I apresentou menor comprometimento do que o grupo II. (Tabela 4).

Tabela 3- Frequência dos escores para a ocorrência da reabsorção inflamatória, reabsorção por substituição e reabsorção total entre os grupos.

Escore	Reabsorção inflamatória				Reabsorção por substituição				Reabsorção total			
	GI	GII	GIII	GIV	GI	GII	GIII	GIV	GI	GII	GIII	GIV
1	9	1	8	1	6	1	4	5	7	-	3	-
2	1	7	1	6	2	7	6	4	3	8	6	5
3	-	-	1	3	1	-	-	1	-	-	1	5
4	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
N	10	8	10	10	10	8	10	10	10	8	10	10

Grupo I: Reimplante imediato, Grupo II: Soro fisiológico, Grupo III: Hidróxido de cálcio, Grupo IV: Ca-BGP

Tabela 4. Teste de Dunn para comparações entre os grupos, em relação à ocorrência de reabsorção inflamatória, reabsorção por substituição e reabsorção total.

Comparações entre os grupos	Reabsorção inflamatória (p)	Reabsorção por substituição (p)	Reabsorção total (p)
Grupo I x Grupo II	p< 0.01**	p>0.05	p < 0.01**
Grupo I x Grupo III	p>0.05	p>0.05	p>0.05
Grupo I x Grupo IV	p>0,05	p>0.05	p>0.05
Grupo II x Grupo III	P < 0.001***	p>0.05	p>0.05
Grupo II x Grupo IV	p>0.05	p>0.05	p>0.05
Grupo III x Grupo IV	p< 0.05*	p>0.05	p>0.05

*estatisticamente significante (p<0,05).

7 Discussão

Neste estudo o padrão de reparo do Grupo I, caracterizada pela integridade da superfície radicular na maior parte dos espécimes demonstra que os procedimentos realizados para extração e reimplante não produziram traumas adicionais que pudessem interferir nos resultados. Isso demonstra a viabilidade da técnica empregada para esse tipo de estudo.

Em virtude de se constituírem dentes de crescimento contínuo, o forame do incisivo de rato é naturalmente amplo, assemelhando-se aos incisivos imaturos de humanos. A revascularização pulpar é especialmente observada em dentes com rizogênese incompleta, uma vez que a maior abertura do ápice radicular facilita a migração de capilares sanguíneos para o interior do canal radicular (Cohen & Burns, 2006)¹⁷. No entanto, como observado no grupo I deste estudo, essa ocorrência não é comum, mesmo quando a condição de reimplante é adequada. Mesmo assim, foi o grupo que apresentou a menor extensão de tecido conjuntivo na região periapical quando comparado ao grupo II. Em se tratando de reimplante imediato é possível que a manutenção da vitalidade do ligamento periodontal e o curto período extrabucal tenham contribuído para uma menor contaminação da superfície radicular e do periápice. No grupo II, a manutenção em meio seco por 60 minutos e a perda de vitalidade do ligamento periodontal, pode ter favorecido ainda mais a contaminação, resultando numa maior extensão de tecido conjuntivo nessa área, inclusive com a presença de pontos de abscesso em alguns espécimes.

A manutenção em meio seco por 60 minutos teve o objetivo de simular uma condição de reimplante que comumente ocorre na prática clínica (Andreasen e cols., 1995)¹⁸. Nesse caso, a remoção do ligamento periodontal por meio da fricção com gaze e a imersão em solução de fluoreto de sódio foram realizados por se tratar de um tratamento de superfície radicular indicado para esse tipo de reimplante (Andersson e cols., 2012)¹⁹. A antibioticoterapia sistêmica, por sua vez, contribui para o controle da contaminação da superfície radicular e do interior do alvéolo, principalmente quando é grande o período extra-alveolar (Hammarström e cols., 2006)²⁰. Juntas, essas medidas visam o controle da reabsorção inflamatória.

A condição do tecido pulpar também é importante para o desenvolvimento desse tipo de reabsorção. Quando a raiz está formada, o completo rompimento do feixe vâsculo-nervoso determina a sua necrose tornando o tratamento endodôntico um passo fundamental após o reimplante (Andreasen, 1981).^{21,22} No grupo I, obstando a necrose do tecido pulpar, a

integridade da camada de cimento evitou a difusão das bactérias e seus subprodutos para a superfície radicular, prevenindo o desenvolvimento de reabsorções mais extensas na raiz (Andreasen, 1981).²²

Em dentes com forame amplo existe a dificuldade de obturação do canal radicular, e a indução da uma barreira apical de tecido mineralizado favoreceria a condensação do material obturador (Ghose e cols., 1987;²³ Pradhan e cols., 2006).⁸

No Grupo II, onde o canal radicular foi preenchido com uma substância inerte (Solução Fisiológica 0,9%), a incidência de reabsorção inflamatória foi a maior entre todos os grupos. A reabsorção inflamatória é o resultado direto da resposta do organismo frente à contaminação bacteriana presente no interior dos túbulos dentinários, superfície radicular e à somatória de lesões teciduais inerentes ao próprio trauma, especialmente ao ligamento periodontal. Quando há permanência de bactérias e restos necróticos no canal radicular, a reabsorção progride até que toda a parede dentinária seja reabsorvida (Cvek e cols., 1974).²⁴

Os resultados encontrados demonstraram que o β -glicerofosfato de cálcio foi menos efetivo do que o hidróxido de cálcio no controle desse tipo de reabsorção. Apesar de apresentar valor médio próximo, houve comprometimento de seis dos oito espécimes desse grupo, ao passo que no grupo III (hidróxido de cálcio), apenas dois espécimes apresentaram reabsorção inflamatória. A literatura apresenta grande número de trabalhos clínicos e experimentais demonstrando a eficiência do hidróxido de cálcio no tratamento endodôntico de dentes reimplantados (Cvek e cols., 1974;²⁴ Andreasen & Kristerson, 1981;^{10,25} Trope e cols., 1995).²⁷ Seu pH alcalino exerce uma ação antimicrobiana no conduto radicular e impede a evolução de processos infecciosos, adicionalmente as toxinas produzidas pelas bactérias são desnaturadas pela ação dos íons hidroxila (Safavi & Nichols, 1993;²⁷ Estrela e cols., 1995;²⁸ Estrela & Pesce, 1996).²⁹ A somatória desses efeitos produz o saneamento do conduto radicular e contribui para o controle da reabsorção inflamatória (Estrela & Holland, 2003).³⁰

Apesar da propriedade do hidróxido de cálcio de favorecer o reparo por tecido mineralizado, a região periapical dos espécimes do grupo III se caracterizou pela presença de um tecido conjuntivo fibroso ocupando boa parte deste local. Neste tecido, um infiltrado inflamatório também foi observado junto ao forame apical.

É provável que tal ocorrência esteja associada à diminuição da efetividade da pasta de hidróxido de cálcio, que se inicia 10 dias após a sua colocação (Trope e cols., 1995;²⁶ Estrela & Pesce, 1996).²⁹ Uma vez que não se procedeu a troca do curativo, pode-se sugerir que a

dificuldade de manutenção do pH decorrente da solubilização da pasta que permaneceu em contato direto com fluidos tissulares periapicais através de um forame apical amplo, podem ter contribuído para a redução na eficiência para o reparo nesta área. Segundo a literatura, para a formação do tecido mineralizado nessa região, com o hidróxido de cálcio, trocas sucessivas e por longo período de tempo (5 a 20 meses) seriam necessárias (Pradhan e cols, 2006).⁸

No grupo IV, onde o Ca-BGP foi empregado não se observou um resultado superior ao encontrado no grupo III. Segundo a literatura, a introdução do Ca-BGP em meio de cultura de células da polpa proporcionou a formação de nódulos mineralizados semelhantes à dentina (About e cols. 2000).³¹ Mesmo in vivo, foi demonstrado que havia a formação de cristais mineralizados na região periapical de raízes que simulavam dentes com forame amplo, 3 dias após a colocação deste material no conduto radicular (Viloria et al., 2000).¹⁴

Para alguns autores, o Ca-BGP quando em contato com os tecidos periodontais, seria hidrolisado pela fosfatase alcalina local resultando na liberação de íons fosfato e íons cálcio, elementos que participam na formação do tecido mineralizado (Ali et al., 1984)¹⁵. No entanto, acreditamos que a condição dos tecidos periodontais em que o material foi exposto possa ter influenciado no resultado encontrado, uma vez que quanto maior a extensão desse tecido, pior a qualidade do reparo. Além disso, o Ca-BGP não exerce ação antimicrobiana, uma vez que não possui em sua composição íons hidroxila como o hidróxido de cálcio, para inibir a atividade da célula bacteriana. No tipo de trauma analisado neste estudo, existe a lesão dos diferentes componentes teciduais do periodonto por conta do ato de extração e do reimplante. Soma-se a isso a contaminação da superfície radicular e do alvéolo devido à manipulação da raiz e do contato com a saliva o qual resultaria na manutenção de um processo inflamatório crônico. Esses fatores, muitas vezes inexistentes em estudos in vitro ou mesmo in vivo, poderiam interferir na ação do material estudado, em favorecer a formação de tecido mineralizado.

8 Conclusão

Considerando a metodologia empregada neste estudo pode-se concluir que o uso do Ca-BGP como curativo de canal em incisivos de ratos reimplantados tardiamente, foi menos efetivo que o hidróxido de cálcio no controle da reabsorção inflamatória. O reparo da região periapical por tecido mineralizado foi semelhante ao encontrado com o uso do hidróxido de cálcio.

REFERÊNCIAS

1. Andreasen, J.O.; Andreasen, F.M.; Andersson L. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth, 4th ed. Oxford: Blackwell Munksgaard; 2007, 770p.
2. Petersson, E.E., Andersson L, Sorensen, S. Traumatic oral vs non-oral injuries. *Swed Dent J* 1997; 21:55–68.
3. Cvek, M. et al. Effect of topical application of doxycycline on pulp revascularization and periodontal healing in reimplanted monkey incisors. *Endod Dent Traumatol*, v.6, n.4, p.170-176, aug. 1995.
4. Mandel E, Bourguignon-Adelle C. Endodontic retreatment: a rational approach to non-surgical root canal therapy of immature teeth. *Endod Dent Traumatol*;v.12, n.5, p.246-53. oct. 1996.
5. Steinig TH, Regan JD, Gutmann JL. The use and predictable placement of Mineral Trioxide Aggregate in one-visit apexification cases. *Aust Endod J*. v.29. n.1. p.34-42. apr. 2003.
6. Mackie IC, Hill FJ. A clinical guide to the endodontic treatment of non-vital immature permanent teeth. *Br Dent J*. v.23,n.2, p.54-8, jan.1999.
7. Ghose LJ, Baghdady VS, Hikmart BYM. Apexification of immature apices of pulpless permanent anterior teeth with calcium hydroxide. *J Endod*; v.23,n.6,p.285-90. jun.1987.
8. Pradhan DP, Chawla HS, Gauba K, Goyal A. Comparative evaluation of endodontic management of teeth with unformed apices with mineral trioxide aggregate and calcium hydroxide. *J Dent Child* . v.73,n.2, p.79-85. may –aug. 2006.
9. Sheehy EC, Roberts GJ. Use of calcium hydroxide for apical barrier formation and healing in non-vital immature permanent teeth: a review. *Br Dent J*; v. 11, n.7, p.241–6. oct. 1997
10. Andreasen JO, Kristerson L. The effect of extra-alveolar root filling with calcium hydroxide on periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod*;v.7,n. 8, p.349-54. aug. 1981.
11. Hatibovic-Kofman S. et.al. Fracture resistance of immature teeth treated with mineral trioxide aggregate. *Dent Traumatol*, v.24, n.3, p.272-6. jun. 2008.

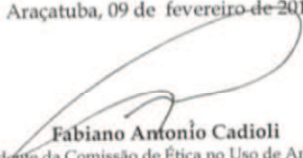
12. Andreasen JO, Farik B, Munksgaard EC. Long-term calcium hydroxide as a root canal dressing may increase risk of root fracture. *Dent Traumatol*, v.18, n.3, p.134-7. jun.2002.
13. Hayashi Y, Imai M, Application of calcium- β -glycerophosphate for artificial apical barrier formation.; v.21, n.4, p.205-7. apr. 1995.
14. Viloria IL, Yanagiguchi K, Yoshihiko H. Structure and chemical composition of an experimentally formed apical barrier after the application of calcium-glycerophosphate. *Journal of Endod*; v.25, n.10, p.605-9. oct. 2000.
15. Ali SY, Evans L, Griffiths S. Mechanism of physiological and pathological calcification. In: Cohn DV, Potts JT, Fujita T eds. *Endocrine control of bone and calcium metabolism*. Amsterdam: Elsevier, 1984:406–9.
16. Imai M, Hayashi Y. Ultrastructure of wound healing following direct pulp capping with calcium- β -glycerophosphate (Ca-BGP). *J. Oral Pathol Med*. v.22. n. 9. p. 411–7. oct 1993
17. Cohen S, Burns RC. *Pathways of the pulp*. 9th ed. Saint Louis: Mosby/Elsevier. 2006 780 p.
18. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. Factors related to periodontal ligament healing. *Endod Dent Traumatol*.v. 11. n.2. p.76-89. apr.1995
19. Andersson L, et.al. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. *Dental Traumatology*. v. 28. n. 2. p. 88–96. apr.2012
20. Hammarstrom, L.et.al. Replantation of teeth and antibiotic treatment. *Endod Dent Traumatol*. v.2.n. 2. p51-7. apr.2006.
21. Andreasen JO. The effect of pulp extirpation or root canal treatment on periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod*.. v.7. n.6. p.245-52. jun 1981.
22. Andreasen JO. Relationship between surface and inflammatory resorption and changes in the pulp after replantation of permanent incisors in monkeys. *J Endod*. v.7. n.7. p.294-301. jul.1981.

23. Ghose LJ, Baghdady VS, Hikmart BYM. Apexification of immature apices of pulpless permanent anterior teeth with calcium hydroxide. J Endod. v.13. n. 6. p.285-90. jun.1987
24. Cvek M, Granath LE, Hollender L. Treatment of non-vital permanent incisors with calcium hydroxide. 3. Variation of occurrence of ankylosis of reimplanted teeth with duration of extra-alveolar period and storage environment. Odontol Revy .v.25. p.43-56. 1974.
25. Andreasen JO, Kristerson L. The effect of extra-alveolar root filling with calcium hydroxide on periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. J Endod.. v.7. n.8. p.349-54. aug.1981
26. Trope,M. et.al.. Short vs. long-term calcium hydroxide treatment of established inflammatory root resorption in replanted dog teeth. Endod Dent Trumatol. v.11. n.3 . p.124-8. jun.1995
27. Safavi KE, Nichols FC. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. J Endod.v.19. n.2. p.76-8. feb.1993
28. Estrela C, Sydney GB, Bammann LL, Felipe Junior O. Mechanism of action of calcium and hydroxyl ions of calcium hydroxide on tissue and bacteria. Braz Dent J. v.6. n.2 . p.85-90. jul-dez.1995
29. Estrela C, Pesce HF. Chemical analysis of the liberation of calcium and hydroxyl ions from calcium hydroxide pastes in connective tissue in the dog – Part I. Braz Dent J. v.7. n.1. p.41-6. jan-jul.1996
30. Estrela C, Holland R. Calcium hydroxide: study based on scientific evidences. J Appl Oral Science. v.11. n.4. p.269-82.2003
31. About I, Bottero MJ, Denato P, Camps J, Franquin JC, Mitsiadis TA. Human dentin production in vitro. Experimental Cell Research. v.258. n.1. p.33-41. jul.2000.
32. Marão, H.F.et.al. Periapical tissue reactions to calcium hydroxide and MTA after external root resorption as a sequela of delayed tooth replantation. Dental Traumatol, v.28. n.4. p.306-13. aug.2012.
33. Esteves JC. Reimplante dentário após obturação do canal com pasta de hidróxido de cálcio associado ao plug apical de MTA : Estudo histomorfométrico em ratos. 2010. 101f Dissertação (Mestrado)- Faculdade de Odontologia, Araçatuba Universidade Estadual Paulista, Araçatuba,2004

Anexo A- Certificado da Aprovação da Comissão de Ética na Experimentação Animal**CERTIFICADO**

Certificamos que o Projeto "Reimplante dentário após a obturação do canal com pasta de hidróxido de cálcio. MTA ou fosfato de cálcio. Estudo histológico em ratos", sob a responsabilidade de CELSO KOOGI SONODA e o colaborador Pedro Ivo Santos Silva, está de acordo com os Princípios Éticos em Uso de Animais e foi aprovado em reunião realizada em 16/12/2010, de acordo com o Protocolo FOA-9676/10.

Aracatuba, 09 de fevereiro de 2011.


Fabiano Antonio Cadioli

Vice-Presidente da Comissão de Ética no Uso de Animais - CEUA

mfsr.

*Faculdade de Odontologia e Faculdade de Medicina Veterinária - Setor Técnico Acadêmico
Rua José Bonifácio, 1193 CEP 16015-050 - Aracatuba - SP
Tel (18) 3636-3225 E-mail: cep@foa.unesp.br*