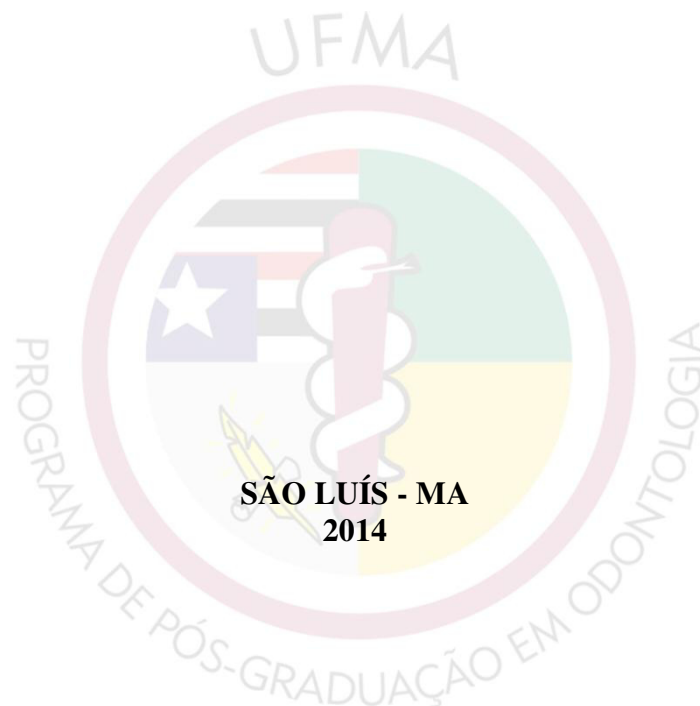




UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO



LUANA MARTINS CANTANHEDE
LUXAÇÃO EXTRUSIVA EM PRIMEIROS MOLARES DE
RATOS: DESENVOLVIMENTO DE MODELO
EXPERIMENTAL



SÃO LUÍS - MA
2014



LUANA MARTINS CANTANHEDE



**LUXAÇÃO EXTRUSIVA EM PRIMEIROS MOLARES DE RATOS:
DESENVOLVIMENTO DE MODELO EXPERIMENTAL**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia como parte dos requisitos para a obtenção do título de Mestre em Odontologia.

Orientador: Alex Luiz Pozzobon Pereira

**SÃO LUÍS
2014**

Cantanhede, Luana Martins

Luxação extrusiva em primeiros molares de ratos:
Desenvolvimento de modelo experimental / Luana Martins
Cantanhede. – São Luís, 2014

51 f.

Impresso por computador

Orientador: Alex Luís Pozzobon Pereira

Dissertação (Mestrado em Odontologia) – Universidade Federal do
Maranhão, UFMA, 2014.

1. Traumatismos Dentários. 2. Modelos Animais. 3. Histologia. 4. Análise Qualitativa. Luxação extrusiva em primeiros molares de ratos: desenvolvimento de modelo experimental

CDU 616.314 – 001.4

LUANA MARTINS CANTANHEDE

**LUXAÇÃO EXTRUSIVA EM PRIMEIROS MOLARES DE RATOS:
DESENVOLVIMENTO DE MODELO EXPERIMENTAL**

A Comissão julgadora da Defesa do Trabalho Final de Mestrado em Odontologia, em sessão pública realizada no dia / / , considerou a candidato(a).

() APROVADO

() REPROVADO

1) Examinador: _____

2) Examinador: _____

3) Presidente (Orientador): Prof. Dr. Alex Luiz Pozzobon Pereira

*Dedicado à Maria José dos Santos Martins:
mulher, guerreira, lavadeira, esposa, mãe de
todos e avó de muitos. Única para mim.*

AGRADECIMENTOS ESPECIAIS

Agradeço à Deus Pai, todo poderoso, o Meu tudo, que concedeu a todos nós o dom da vida e concedeu a mim uma fé que me faz confiar tudo em Suas mãos. Se eu cheguei até aqui foi graças a Ele. Agradeço também à Nossa Senhora da Conceição e a todo *Orum* que me acompanha nessa caminhada e me ajuda a vencer cada desafio imposto nessa vida. *Adupé*, imensamente... *Adupé*... A todos.

Aos meus pais, Luzia Martins e Aniceto Cantanhede, que são meus escudos, meus amparos e minhas alavancas. Tudo o que sou, e tudo o que eu pretendo ser, eu devo a vocês. Vocês são: meus espelhos, meus exemplos e meus maiores amores... Muito obrigada! E também à minha família inteira, em especial à Maria José dos Santos Martins... por quem sempre terei orgulho.

À minha mãe Venina Carneiro, pelo apoio e pelo conhecimento transmitido, pela dedicação, pelo amparo, pela paciência... Não tenho palavras... Obrigada, *Yá*.

Aos meus amigos queridos que conseguem me fazer ver a vida de uma forma mais leve, mais humana e mais alegre. Em especial ao *TATCLAT*, que são as melhores amigas que alguém pode desejar... Obrigada!

Àos meus amigos de mestrado: Halinnna de Carvalho, Camila Simas, Flávia Paixão, Nayra Vasconcelos e Michael Garcia por fazerem esses dois anos muito mais agradáveis!

Aos meus professores: Áurea Ferreira, Elizabeth Costa, Deco Ferreira, Carmen Nogueira, Darlon Martins, Soraia de Carvalho, Cecília Ribeiro, Cláudia Coelho e Maria Luiza. Que sempre me apoiaram na caminhada à docência. Vocês são grandes exemplos!

À Profa Dra. Érica Pereira. “Pensamentos bons, atraem pessoas boas”... Agradeço a Deus por ter colocado a senhora em meu caminho! Obrigada por TUDO!

A Luciana Artioli pela ajuda constante durante todo o mestrado. Muito obrigada!

Em especial, gostaria de prestar meus sinceros agradecimentos ao meu orientador, Prof. Dr. Alex Luiz Pozzobon Pereira, que para mim é um dos maiores exemplos profissionais! Muitos conseguem ser bons professores apenas com inteligência e boas publicações, mas poucos conseguem entender que a excelência profissional, no caminho da docência, vai muito além disso! Obrigada por tudo!

AGRADECIMENTOS

A Universidade Federal do Maranhão pela contribuição para minha construção profissional desde a graduação.

Ao Programa de Pós Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão – PPGO/UFMA (Corpo docente) – pela formação e aprendizado inestimável concedido ao longo desses dois anos.

À Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – CAPES e ao Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico – CNPq pela concessão da bolsa de estudos.

À Fundação de Amparo a Pesquisa e Desenvolvimento Científico e Tecnológico do Maranhão – FAPEMA pelo financiamento do projeto de pesquisa desenvolvido.

Ao Biotério do Centro Universitário do Maranhão (CEUMA), em nome do Seu Sampaio pelo amparo e auxílio constante no desenvolvimento do experimento.

A Cláudio Vanucci pela disponibilidade e auxílio constante na confecção das lâminas histológicas.

Aos colegas da turma 1 do doutorado: Profa Sandra Leite, Pierre Adriano, Karina Kato, Daniele Conde, Adriana, Aparecida Costa e Vandilson Rodrigues, vocês são excepcionais!

A Annagese de Carvalho e Josinéia Coelho que me concederam todo o suporte e auxílio possível quando necessitei! Meninas, vocês são maravilhosas!

À Seu Ivaldo pela paciência, disponibilidade e ensinamentos transmitidos.

À Ana Clea Pestana pela disponibilidade, e pelo modo prazeroso de transmitir seus conhecimentos durante a preparação das lâminas histológicas.

À Cléo pelo apoio e empenho no auxílio da reativação do laboratório de patologia da PPGO-UFMA.

E a todos que diretamente ou indiretamente contribuíram para a busca da finalização dessa etapa.

“Eu caminhei essa longa estrada para a liberdade. Mas eu descobri que depois de escalar uma grande montanha, há outras montanhas a serem vencidas. Eu descansei por um instante para apreciar a incrível vista que me cercava. Olhei para trás e vi a distância que percorri. Mas só posso descansar por um momento. Porque com a liberdade vêm outras responsabilidades. E sequer me atrevo a demorar a continuar. A minha caminhada ainda não terminou”.

Nelson Mandela, 1994

RESUMO

Introdução/objetivo: Estudos experimentais em ratos podem ser úteis para o entendimento do processo de reparo de dentes com rizogênese completa que sofreram luxação extrusiva. O objetivo da pesquisa foi estabelecer um método experimental replicável, com padronização da direção e intensidade da força, capaz de produzir alterações clínicas e histológicas compatíveis com a luxação extrusiva em murinos. Método: Dez ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), adultos do sexo masculino (20 dentes), foram distribuídos em grupo controle (4 dentes) e grupo experimental (N=16 dentes; 4 dentes em cada subgrupo). Os animais do grupo controle não foram submetido ao trauma. Cada subgrupo experimental foi submetido a um trauma de luxação extrusiva com diferente intensidade (grupo 1: 700 cN, grupo 2: 1000 cN; grupo 3: 1300 cN e grupo 4: 1600 cN), padronizadas através do tensiômetro. Realizou-se análise microscópica descritiva do primeiro molar superior e também análise histométrica da furca. Resultados: As forças de 700 e 1000 cN apresentaram características clínicas e histológicas de subluxação, enquanto a força de 1300cN apresentou características clínicas e histológicas compatíveis com a luxação extrusiva. A força de 1600 cN não apresentou replicabilidade. Na análise histométrica os grupos apresentaram as seguintes médias: grupo controle- 138,38 nm ($\pm 23,84$), o grupo 1- 144,65 nm ($\pm 22,46$) o grupo 2- 186,77($\pm 20,09$), o grupo 3- 238,55 nm ($\pm 25,27$ nm) e o grupo 4- 227,94 nm ($\pm 46,19$). Conclusão: A força de 1300 cN foi considerada ideal para produzir características clínicas e histológicas do traumatismo dentoalveolar do tipo luxação extrusiva.

Palavras-chave: Traumatismos Dentários. Modelos Animais. Histologia. Análise Qualitativa.

ABSTRACT

Experimental studies in rats may be useful for understanding the repair process of mature teeth that suffered extrusive luxation. The purpose of this study was to establish a replicable experimental method with standardized direction and intensity of the force, capable of producing clinical and histological changes consistent with extrusive luxation in murine. Ten Wistar rats (*Rattus norvegicus albinos*), adult males (20 teeth) were divided into control group (4 teeth) and experimental group (N = 16 teeth 4 teeth in each subgroup). The control group were not subjected to trauma . Each experimental group was submitted to a trauma extrusive luxation with different intensity (group 1: 700 cN , group 2: 1000 cN , group 3: 1300 cN and group 4: 1600 cN) standardized through tensiometer. It was realized a descriptive microscopic analysis of the maxillary first molar and also histometric analysis of the bifurcation. The forces of 700 and 1000 cN presented clinical and histological features of subluxation while the strength of 1300cN presented clinical and histological features compatible with extrusive luxation. The strength of 1600 cN showed no replication for this methodology. In histometric analysis, the groups showed the following averages: control group to 138.38 nm (± 23.84) , group 1 to 144.65 nm (± 22.46) group 2 to 186.77 (± 20.09), group 3 to 238.55 nm (± 25.27 nm) and group 4 to 227.94 nm (± 46.19). The strength 1300 cN was considered ideal to produce clinical and histological features of dentoalveolar trauma extrusive luxation type.

Keywords: Tooth injuries. Models, Animals. Histology. Qualitative Analysis.

SUMÁRIO

RESUMO.....	ix
ABSTRACT.....	x
LISTA DE FIGURAS.....	xii
LISTA DE QUADROS.....	xv
LISTA DE TABELAS.....	xvi
LISTA DE ABREVIATURA.....	xvii
1- INTORDUÇÃO.....	18
2- CAPÍTULO 1.....	21
3- CONSIDERAÇÕES FINAIS.....	45
REFERÊNCIAS.....	46
ANEXO A- Diretrizes De publicação de acordo com revista Dental Traumatology.....	50
ANEXO B- Declaração do comitê de ética em pesquisa animal.....	66
ANEXO C.- Tabela de Randomização criada pelo programa on-line Random.org®.....	67

LISTA DE FIGURAS

FIGURA	LEGENDA	PÁGINA
Figura 1	Realização da luxação extrusiva. A -Amarrilho inserido. B - Tensiômetro posicionado no anelo do amarrilho . C - Dente extruído.	27
Figura 2	Análise histométrica. A: desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Seta indicando a mensuração da região média do espaço periodontal da região média da furca- Local de mensuração histométrica. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e Eosina. (d-dentina. lp- ligamento periodontal. RI- região interseptal).	29
Figura 3	Grupo controle. A: desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: epitélio juncional mesial aderido a superfície dentária. C, epitélio juncional distal aderido à superfície dentária Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e Eosina. (d- dentina. pol- polpa)	30
Figura 4	Grupo controle. A: desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Região de furca íntegra. Aumento de 10 X 0,25. C: Crista óssea íntegra. Aumento de 5 X 0,25. Hematoxila e eosina.	30
Figura 5	Grupo Controle. A: desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Polpa com rede de odontoblastos organizada, vasos sanguíneos. Aumento de 20 X 0,45. C: ligamento periodontal íntegro. Aumento de 10 X 0,25. Hematoxilina e eosina. (d- dentina. lp- ligamento periodontal. O- osso)	30
Figura 6	Grupo 1 (700cN): A: desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: epitélio juncional mesial não aderido a superfície dentária. C: epitélio juncional distal parcialmente aderido à superfície dentária. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e Eosina. (d-dentina. CO- crista óssea. pol- polpa).	32
Figura 7	Grupo 1 (700cN): A: desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Furca e ligamento periodontal rompido. Aumento de 10 X 0,25 C: Crista óssea e ligamento periodontal íntegros. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (pol- polpa. d- dentina. co- crista óssea. lp- ligamento periodontal)	32
Figura 8	Grupo 1 (700cN): A: desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Polpa com	32

- vasos congestos. Aumento de 20 X 0,45. **C:** Ligamento periodontal desorganizado. Aumento de 10 X 0,25. Hematoxilina e eosina.
- Figura 9 **Grupo 2 (1000cN): A :** desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. **B:** Epitélio juncional mesial. **C:** Epitélio juncional distal não aderido. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (d-dentina) 34
- Figura 10 **Grupo 2 (1000cN): A:** desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. **B:** Furca e ligamento periodontal rompido. Aumento de 10 X 0,25. **C:** Crista óssea e ligamento periodontal íntegros. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (d-dentina. CO- crista óssea. lp-ligamento periodontal). 34
- Figura 11 **Grupo 2 (1000cN): A:** desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. **B:** Polpa com edema e vasos congestos. Aumento de 20 X 0,45. **C:** Ligamento periodontal estirado. Aumento de 10 X 0,25. Hematoxilina e Eosina. (d-dentina. pol- polpa. lp- ligamento periodontal) 34
- Figura 12 **Grupo 3 (1300cN): A :** desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. **B:** Epitélio juncional mesial danificado. **C:** Epitélio juncional distal não aderido. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (d- dentina CO- crista óssea.). 36
- Figura 13 **Grupo 3 (1300 cN): A:** desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. **B:** Furca com o ligamento estirado. Aumento de 10 X 0,25. **C:** Crista óssea íntegra aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (d- dentina. CO- crista óssea. lp- ligamento periodontal.). 36
- Figura 14 **Grupo 3 (1300cN): A:** desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. **B:** Polpa com edema e vasos congestos. 20 X 0,45. **C:** Ligamento periodontal estirado 10 X 0,25 Hematoxilina e eosina. (d-dentina. lp- ligamento periodontal. pol- polpa) 36
- Figura 15 **Grupo 4 (1600cN): A :** desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. **B:** Epitélio juncional mesial não aderido. Aumento de 10 X 0,25. **C:** Epitélio juncional distal não aderido. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (d-dentina) 38
- Figura 16 **Grupo 4 (1600cN): A :** desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. **B:** Região de furca com ligamento periodontal rompido. Aumento de 10 X 0,25. **C:** Crista óssea íntegra. Aumento de 10 X 0,25. Hematoxilina e eosina. (RI- região interseptal. d-dentina. lp-ligamento periodontal. 38

co- crista óssea).

Figura 17 **Grupo 4 (1600cN): A :** desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. **B: Polpa com rede odontoblástica desorganizada. C:** Ligamento periodontal não aderido. (d-dentina. cem- cimento. pol- polpa) 38

LISTA DE QUADROS

QUADRO	TÍTULO	PÁGINA
Quadro 1	Classificação dos grupos	25
Quadro 2	Características histológicas e clínicas	39

LISTA DE TABELAS

TABELA	TÍTULO	PÁGINA
Tabela 1	Randomização dos animais	67
Tabela 2	Média e desvio padrão dos grupos.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS

d - Dentina

lp - Ligamento periodontal

o - Osso

pol - Polpa

SI - Septo Interradicular

CO - Crista Óssea

EP - Epitélio Juncional

Cem - Cimento

ED - Extrusão Dentária

FED - Fratura do Elemento Dental

FD - Fratura do Dispositivo

TC- Tecido conjuntivo

TO- tecido ósseo

AD: Aspectos diferenciais

1. INTRODUÇÃO

Traumatismo dental

O conceito de trauma implica em uma lesão razoavelmente severa, não fisiológica e que pode acometer qualquer parte do corpo do indivíduo (1). No que diz respeito ao traumatismo dental, é possível caracterizá-lo como uma injúria de ordem acidental que pode ter como alvo indivíduos independente da faixa etária (2).

A violência, acidentes de trânsito e esportes têm sido identificados como alguns dos principais fatores contribuintes para a ocorrência do traumatismo dental, que pode ser considerado um problema de saúde pública devido a sua possibilidade de prevenção, elevada frequência, sua ocorrência em pouca idade, a seus custos e complicações durante o tratamento, que, por sua vez, podem afetar diretamente na qualidade de vida do indivíduo (2-5).

No que tange aos dados epidemiológicos, muitos países têm mostrado um declínio na prevalência de cárie e doença periodontal. Estima-se que futuramente a incidência dessas doenças será menor que a incidência do traumatismo dental, principalmente nas populações mais jovens (1,3,6).

Apesar da população infantil ser atualmente a mais acometida por traumatismos dentários (2-6), observa-se uma tendência de aumento deste tipo de injúria na população adulta, que é mais propensa a sofrer violência, bem como acidentes de trânsito (3).

Além disso, determina-se ainda o sexo masculino com taxas de incidência mais elevadas que o sexo feminino (2,3,5). E quanto ao tipo de traumatismo, o mais comum é a fratura de esmalte; com destaque ao incisivo central superior como o mais prevalente (2-4,7). Dentre os fatores de risco mais destacados, pode-se observar a falta de selamento labial e o trespasse horizontal acentuado (2,3,7). Todas essas características epidemiológicas sofrem influência de acordo com a classe econômica, localização geográfica, e sistema de classificação de trauma utilizado (1,5).

Do ponto de vista terapêutico, anatômico e prognóstico, podem ser reconhecidos cinco tipos diferentes de traumatismos aos tecidos periodontais: concussão, subluxação, luxação lateral, luxação intrusiva e luxação extrusiva. Todos estes tipos de traumatismo, por sua vez, podem estar relacionados ou não com o traumatismo de áreas vizinhas (8).

Luxação Extrusiva

De acordo com Andreasen em 1994 (9), a luxação extrusiva é o deslocamento parcial do dente para fora do alvéolo. Os dentes extruídos possuem uma aparência alongada, com um desvio lingual da coroa, ficando suspensos pela gengiva palatal e apresentando sempre sangramento a partir do ligamento periodontal.

Durante exame clínico, o dente apresenta mobilidade anormal, o som à percussão caracteriza-se como surdo e o teste de sensibilidade térmica, na maioria das vezes, apresenta resultado negativo. Radiograficamente, é observado um aumento da largura do espaço periodontal e ausência de danos ao osso alveolar (8,10). Apresenta sintomatologia dolorosa provocada pela oclusão e mastigação, porém com pouca ou nenhuma dor espontânea (11,12).

Nas características histológicas, os traumatismos, de forma generalizada, causam uma reação inflamatória aguda que é caracterizada pela presença de neutrófilos, monócitos, macrófagos e mastócitos no tecido lesado (13). Na luxação extrusiva, a polpa pode apresentar focos hemorrágicos, edema e desorganização do tecido pulpar (14,15). No ligamento periodontal, além da reação inflamatória, nota-se a ruptura tanto das fibras do ligamento periodontal quanto do suprimento neurovascular da polpa (8).

As intervenções mais aceitas atualmente no tratamento da luxação extrusiva, incluem o reposicionamento do dente no alvéolo e contenção semirrígida por 2 semanas (10). Todos os protocolos recomendam acompanhamento em casos de luxação (lateral e extrusiva) e, também, o tratamento endodôntico, quando não há resposta ao teste de vitalidade e/ou há evidência radiográfica de envolvimento periapical (9,10). Esta abordagem é alicerçada na possibilidade de revascularização após a injúria, que é mais provável que ocorra em dentes com ápices abertos (12).

No entanto, quase todos os tratamentos preconizados em traumatismos dentários não são, ainda hoje, baseados em evidências científicas. A literatura científica é pobre em trabalhos padronizados que esclareçam as alterações decorrentes das complicações desenvolvidas após o trauma (16). Consequentemente, torna-se difícil prever as reações ao longo do tempo em dentes permanentes após luxações extrusivas e estabelecer um protocolo de tratamento respaldado cientificamente.

Uma alternativa citada por Andreasen et al., 2010 (16) é a realização de estudos experimentais em modelo animal, pois, verifica-se que estudos com traumatismos conduzidos experimentalmente em ratos ajudaram a compreender a histogênese das mudanças traumáticas no desenvolvimento do germe dentário, os eventos biológicos envolvidos no reimplante

dentário, como também os eventos ocorridos após a luxação de dentes imaturos (15, 17, 18).

Dentre as pesquisas de modelos experimentais com animais relacionadas a luxação extrusiva, evidencia-se diferentes formas de se realizar esse tipo de traumatismo. Como através do uso de alavancas cirúrgicas em molares de ratos (14), ou por extração parcial com fórceps dental (19), porém, a reprodutibilidade desses estudos é prejudicada pela falta de padronização das forças aplicadas (20).

Somente dois estudos (15,21) avaliaram as alterações histológicas em dentes imaturos com padronização de força da luxação extrusiva, mas, ainda há uma escassez de estudos envolvendo dentes com formação radicular completa.

Relevância e objetivo da pesquisa

Com base na literatura buscada, verifica-se a necessidade da realização de trabalhos padronizados, quanto a intensidade e direção da força aplicada, que esclareçam as alterações histológicas das complicações desenvolvidas após luxações extrusivas em elementos dentais com formação radicular completa (21), e que permitam a replicabilidade em estudos posteriores.

Assim, objetivo da pesquisa foi estabelecer um método experimental replicável, com padronização da direção e intensidade da força, capaz de produzir alterações clínicas e histológicas compatíveis com a luxação extrusiva em murinos.

2. **CAPÍTULO I:** Desenvolvimento de modelo experimental de luxação extrusiva em primeiros molares de ratos

Página de títulos

Título

LUXAÇÃO EXTRUSIVA EM PRIMEIROS MOLARES DE RATOS:

DESENVOLVIMENTO DE MODELO EXPERIMENTAL

Modelo experimental de luxação extrusiva em ratos

LUANA MARTINS CANTANHEDE¹

ALEX LUIZ POZZOBON PEREIRA²

- 1- Mestranda do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão. São Luís, Maranhão, Brasil
- 2- Professor Adjunto II da Disciplina de Ortodontia da Universidade Federal do Maranhão. São Luís, Maranhão, Brasil

Autor para correspondência:

Alex Luiz Pozzobon Pereira

e-mail: preiraalp@hotmail.com

Universidade Federal do Maranhão – UFMA

Campus do Bacanga, Avenida dos Portugueses, 1966, Curso de Odontologia

Departamento de Odontologia II

São Luís, Maranhão

Cep: 65.080-805

Telefone: + 55 (98) 3227 8575

Palavras-chave: Traumatismos Dentários (Tooth injuries). Modelos Animais (Models, animals). Histologia (Histology). Análise Qualitativa (Qualitative Analysis)

RESUMO

Introdução/Objetivos: Estudos experimentais em ratos podem ser úteis para o entendimento do processo de reparo de dentes com rizogênese completa que sofreram luxação extrusiva. O objetivo da pesquisa foi estabelecer um método experimental replicável, com padronização da direção e intensidade da força, capaz de produzir alterações clínicas e histológicas compatíveis com a luxação extrusiva em murinos

Método: Dez ratos Wistar (*Rattus norvegicus albinus*), adultos do sexo masculino (20 dentes), foram distribuídos em grupo controle (4 dentes) e grupo experimental (N=16 dentes; 4 dentes em cada subgrupo). Os animais do grupo controle não foram submetido ao trauma. Cada subgrupo experimental foi submetido a um trauma de luxação extrusiva com diferente intensidade (grupo 1: 700 cN, grupo 2: 1000 cN; grupo 3: 1300 cN e grupo 4: 1600 cN), padronizadas através do tensiômetro. Realizou-se análise microscópica descritiva do primeiro molar superior e também análise histométrica da furca.

Resultados: As forças de 700 e 1000 cN apresentaram características clínicas e histológicas de subluxação, enquanto a força de 1300cN apresentou características clínicas e histológicas compatíveis com a luxação extrusiva. A força de 1600 cN não apresentou replicabilidade. Na análise histométrica os grupos apresentaram as seguintes médias: grupo controle- 138,38 nm ($\pm 23,84$), o grupo 1- 144,65 nm ($\pm 22,46$) o grupo 2- 186,77($\pm 20,09$), o grupo 3- 238,55 nm ($\pm 25,27$ nm) e o grupo 4- 227,94 nm ($\pm 46,19$).

Conclusão: A força de 1300 cN foi considerada ideal para produzir características clínicas e histológicas do traumatismo dentoalveolar do tipo luxação extrusiva.

ABSTRACT

Background/Aims: Experimental studies in rats may be useful for understanding the repair process of mature teeth that suffered extrusive luxation. The purpose of this study was to establish a replicable experimental method with standardized direction and intensity of the force, capable of producing clinical and histological changes consistent with extrusive luxation in murine.

Methods: Ten Wistar rats (*Rattus norvegicus albinos*), adult males (20 teeth) were divided into control group (4 teeth) and experimental group (N = 16 teeth 4 teeth in each subgroup). The control group were not subjected to trauma . Each experimental group was submitted to a trauma extrusive luxation with different intensity (group 1: 700 cN , group 2: 1000 cN , group 3: 1300 cN and group 4: 1600 cN) standardized through tensiometer. It was realized a descriptive microscopic analysis of the maxillary first molar and also histometric analysis of the bifurcation.

Results: The forces of 700 and 1000 cN presented clinical and histological features of subluxation while the strength of 1300cN presented clinical and histological features compatible with extrusive luxation. The strength of 1600 cN showed no replication for this methodology. In histometric analysis, the groups showed the following averages: control group to 138.38 nm (± 23.84) , group 1 to 144.65 nm (± 22.46) group 2 to 186.77 (± 20.09), group 3 to 238.55 nm (± 25.27 nm) and group 4 to 227.94 nm (± 46.19).

Conclusion: The strength 1300 cN was considered ideal to produce clinical and histological features of dentoalveolar trauma extrusive luxation type.

Introdução

A luxação extrusiva possui uma prevalência de 0,5% a 20% (1-4), e é caracterizada clinicamente por um deslocamento parcial do dente para fora do alvéolo, com um aspecto alongado e mobilidade excessiva (5). A nível histológico apresentam danos ao ligamento periodontal (6-9) - o que torna a raiz desnuda, agindo como fator quimiotático para as células de reabsorção do tecido duro dentário e ósseo (6)- e rompimento do suprimento neurovascular (5), o que pode resultar em necrose pulpar (6).

Quase todos os tratamentos realizados no traumatismo dentário não são baseados em evidências científicas, um fato que torna difícil a análise do desfecho em longo prazo e sua relação com o tratamento estabelecido. Ensaio clínico randomizados e controlados para vários tipos de tratamento são desejáveis, mas deve-se levar em consideração, no entanto, que a situação de emergência relacionada ao trauma agudo pode inibir a realização deste tipo de estudo por questões éticas (10).

Estudos em animais podem ser úteis para o entendimento da patologia de dentes luxados. Verifica-se que modelos animais podem ser caracterizados como um dos primeiros passos em busca de um melhor entendimento sobre as consequências e as formas de tratamento de dentes submetidos ao traumatismo dental (8).

Partindo dessa perspectiva, alguns pesquisadores desenvolveram modelos experimentais nos quais molares dos ratos foram luxados por diferentes métodos como: alavanca dental (7), extração parcial com fórceps dental (11) ou até mesmo por martelo cirúrgico (12). Nessas metodologias, devido a falta de padronização da direção e da força aplicadas, a replicabilidade de injúrias equivalentes pode estar comprometida (13). Na literatura relacionada, encontra-se ainda, outros métodos com padronização da força aplicada (8,13), porém, com aparelhagem de difícil acesso, complexa, e, que foram desenvolvidos para a avaliação em dentes com formação radicular incompleta.

Sendo assim, o objetivo da pesquisa foi estabelecer um método experimental replicável, com padronização da direção e intensidade da força, capaz de produzir alterações clínicas e histológicas compatíveis com a luxação extrusiva em murinos.

Material e Métodos

Esta pesquisa foi encaminhada ao Comitê de Ética em Pesquisa Animal do Centro Universitário do Maranhão – UNICEUMA protocolo 163/12 (ANEXO B), e foi iniciado após a aprovação do mesmo.

Distribuição das amostras

A amostra foi composta por 10 ratos (*Rattus, norvergius, albinus, Wistar*) do sexo masculino, com cerca de 3 – 4 meses de idade e peso entre 250 e 350 gramas, que foram distribuídos assim como descrito no Quadro 1:

Quadro 1 – Classificação dos grupos

GRUPOS	Intensidade do trauma
Grupo Controle - 2 ratos: 4 dentes	Ausência de trauma
Grupo Experimental 1 (GE1) - 2 ratos: 4 dentes	Força de 700 cN
Grupo Experimental 2 (GE2) - 2 ratos: 4 dentes	Força de 1000 cN
Grupo Experimental 3 (GE3) - 2 ratos: 4 dentes	Força de 1300 cN
Grupo Experimental 4 (GE4) – 2 ratos: 4 dentes	Força de 1600 cN

Faz-se necessário ressaltar, que a distribuição dos animais nos grupos experimentais e no grupo controle foi feita de forma randomizada, através de um programa *online* (Random.org ®), no intuito de casualizar os grupos (ANEXO C- tabela 1).

Os animais permaneceram no Biotério da Universidade Ceuma, sendo alocados em quantidade de 2 animais, de acordo com o seu grupo, em gaiolas plásticas, com dimensões de 34 X 42 X 17 cm, sob iluminação artificial seguindo o protocolo do ciclo claro escuro de 12:12 horas com temperatura local (24 graus Celsius).

Previamente ao estudo, os animais foram alimentados com ração sólida (Ração Ativada Produtor; Anderson & Clayton S.A. Indústria e Comércio, São Paulo, SP, Brazil) e água *ad libitum*.

Realização da Luxação Extrusiva

Os animais foram anestesiados inicialmente com a aplicação de um relaxante muscular - Cloridato de Xilazina (DOPASER, Caleir S.A., Barcelona, Espanha) ministrando-se 0,03 ml/100g de peso, e em seguida o anestésico - Cloridato de Cetamina (VETASET, Fort Dodge Animal Health, Iowa, USA), com dosagem de 0,07ml/100g de peso, ambos por via intramuscular.

Depois de sedados, os ratos foram acomodados em uma maca na posição de decúbito dorsal, na qual permaneceram com as patas aprisionadas, a cabeça imóvel, e a boca aberta durante a realização dos procedimentos, como proposto por Pereira et al, 2010 (14).

O traumatismo foi idealizado pela equipe pesquisadora em questão para ser realizado nos primeiros molares superiores direitos e esquerdos dos animais do grupo experimental. Para tanto, foi utilizado o seguinte protocolo:

- 1) Um fio de amarelo 0,010” (Morelli[®], Sorocaba, Brasil) foi inserido cuidadosamente, com o auxílio de uma pinça clínica, de vestibular para lingual entre as faces distal do primeiro molar superior e mesial do segundo molar superior.
- 2) As duas extremidades do fio foram posicionadas na face mesial do primeiro molar superior e torcidas, como o auxílio de um porta agulha, até que o fio permanecesse justo no dente do animal.
- 3) Um cabo de espelho foi posicionado entre as duas extremidades remanescentes do fio e nova torção foi realizada.
- 4) Após a remoção do cabo de espelho, criou-se um anel no qual a alça do tensiômetro foi posicionada.
- 5) O tensiômetro foi posicionado em um braço biarticulado de maneira a permanecer em uma posição inclinada em 35° com relação ao plano oclusal do animal.
- 6) Uma força extrusiva foi empregada, de acordo com o grupo pertencente (G1- 700 cN, G2- 1000 cN, G3- 1300 cN e G4- 1600 cN).
- 7) O aparato foi removido com o auxílio de uma tesoura.

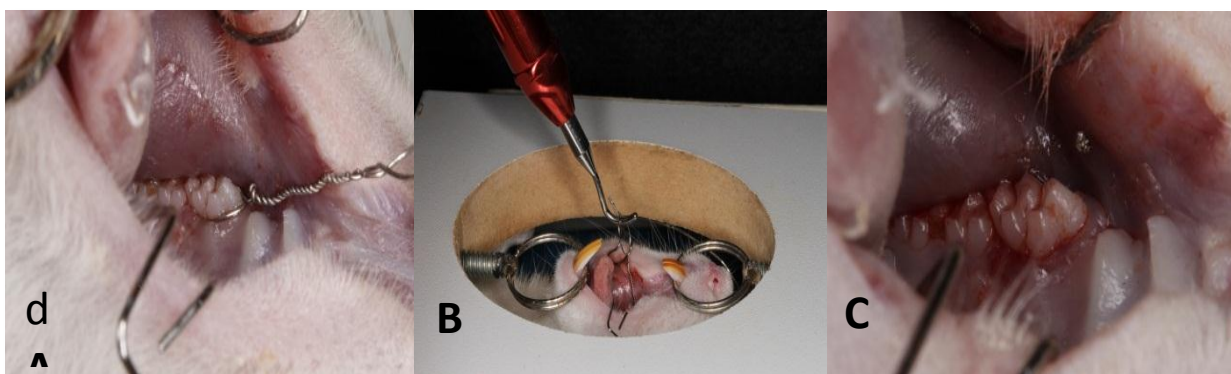


Figura 1- Realização da luxação extrusiva. A-Amarrilho inserido. **B-** Tensiômetro posicionado no anel do amarrilho . **C-** Dente extruído.

Análise clínicas do primeiro molar superior após a extrusão:

Após a aplicação do trauma, o elemento dental foi observado, buscando as seguintes características: presença de sangramento no sulco periodontal, nível oclusal do elemento dental (aparência de dente alongado) e mobilidade acentuada. Assim como as características clínicas de dentes submetidos à luxação extrusiva, descritas por Andreasen 1994 (5). Além disso, foi verificado se houve fratura do elemento dental e/ou do dispositivo utilizado para realizar a extrusão.

Preparação das peças

Uma hora após a aplicação do trauma, os animais foram submetidos à eutanásia, por doses excessivas de anestésico. Em seguida decapitados, e as hemimaxilas separadas e acondicionadas em um frasco sendo fixados em solução de formol neutro tamponado a 10%. Em seguida, foram descalcificadas em solução de E.D.T.A. a 18% por 10 semanas.

No Laboratório de Patologia do Hospital Universitário da Universidade Federal do Maranhão foi realizada a macroscopia das peças, para dar sequência a desidratação, clarificação e inclusão em parafina. Essas peças foram submetidas a cortes seriados longitudinais, no sentido vestibulo lingual, com 5 μ m de espessura e coradas pela técnica convencional de hematoxilina e eosina, sendo analisadas, posteriormente, à microscopia de luz.

Análise histológica qualitativa

A análise das lâminas foi realizada por um patologista cego a metodologia aplicada, levando em consideração a morfologia do contorno ósseo, cemento e ligamento periodontal, epitélio juncional, crista óssea alveolar e polpa, bem como a existência de focos de áreas

hemorrágicas, edema e degeneração celular. Assim como realizado no trabalho de Pereira et al, 2010 (14).

Estas análises foram realizadas nas faces mesial e distal das raízes mésio e disto vestibulares, como também da área de furca dos primeiros molares superiores direito e esquerdo. Essas regiões foram selecionadas, no intuito de verificar se a força aplicada e a angulação de aplicação da mesma trouxeram consequências similares em ambas às raízes

Digitalização dos cortes histológicos

No Laboratório de Patologia do Programa de Pós graduação em Odontologia da Universidade Federal do Maranhão, imagens de 4 cortes de secções equidistantes de cada molar superior foram selecionadas para análise histométrica. As imagens foram capturadas por uma câmera digital (Canon Powershot A-640-Japão) acoplada a um microscópio (Carl Zeiss, Axiolab, Jena, Alemanha) e conectada a um computador. Utilizou-se o programa *Axio Vision Rel. 4.8* (Carl Zeiss, Alemanha) para fotografar as lâminas histológicas e o programa *Image J 45s* (National Institute of Health, Estados Unidos) para a análise histométrica. e Imagens salvas em formato JPEG.

Análise Histométrica

A análise histométrica foi realizada por um examinador cego à metodologia desenvolvida e calibrado ($\kappa=0,86$).

Com o objetivo de realizar cálculos mais apurados, foram selecionadas imagens com 4 cortes de secções equidistantes de cada molar. Buscou-se observar a distância presente entre o revestimento externo do assoalho da coroa dental e a região de suporte ósseo localizado abaixo da furca. A média obtida de cada grupo foi quantificada em micrômetros.

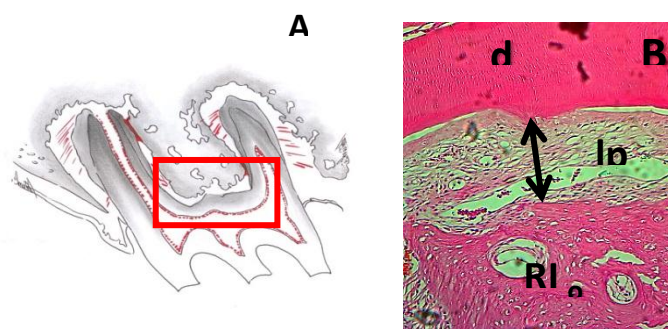


Figura 2: Análise histométrica. **A:** desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. **B:** Seta indicando a mensuração da região média do espaço periodontal da região média da furca- Local de mensuração histométrica. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e Eosina. (d-dentina. lp-ligamento periodontal. RI- região interseptal).

Os dados foram tabulados em planilha eletrônica e posteriormente analisados pelo programa Excel versão 2007 (Microsoft Office Excel 2007, Microsoft Corporation, USA), buscando-se o resultado da média e do desvio padrão.

Resultados

Os resultados estão apresentados de acordo com os grupos, e descrevem: os aspectos clínicos e histológicos na porção coronária e radicular do primeiro molar superior (Quadro 2), bem como, a distância média e o desvio padrão entre o assoalho da furca e a superfície óssea abaixo (Tabela 2).

Grupo Controle:

Os dentes desse grupo por não serem submetidos ao trauma, apresentaram características de normalidade tanto clínica como histológica.

Na região cervical da raiz, observa-se que o epitélio juncional encontra-se aderido à superfície cementária, logo abaixo do limite amelocementário, de ambos os lados (Fig. 3B e C). Verificam-se também, na figura 3B, as fibras transeptais da distal do primeiro molar.

O trabeculado ósseo apresenta reentrâncias, aspecto medular, vitalidade normal e presença de osteócitos. Que pode ser melhor observado na região interseptal (Fig. 4B).

A crista óssea possui aspecto de normalidade, sem reabsorções e nem características de trauma alveolar, além da presença de osteoblastos e ocasionais osteoclastos, A distância entre a junção amelocementária e o bordo livre do osso alveolar propriamente dito é absolutamente constante (Fig. 4C).

A polpa não exibe aspectos de edemaciamento, em um maior aumento, mas verifica-se poucos vasos congestionados, bem como uma rede de odontoblastos organizada (Fig. 5B).

O ligamento periodontal está aderido ao osso e ao cimento, com organização na disposição das fibras periodontais com característica de normalidade (Fig. 5C).

O cimento está contínuo até o ápice, sem trincas e/ou fraturas



Figura 3: Grupo controle. A: Desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: epitélio juncional mesial aderido a superfície dentária. C: epitélio juncional distal aderido à superfície dentária Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e Eosina. (d- dentina. pol- polpa)

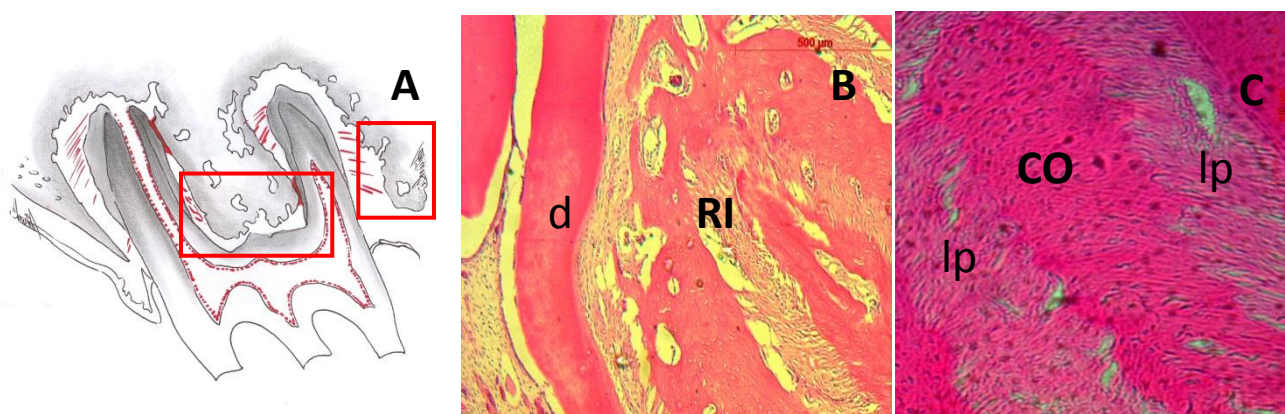


Figura 4: Grupo controle. A: Desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Região de furca íntegra. Aumento de 10 X 0,25. C: Crista óssea íntegra. Aumento de 5 X 0,25. Hematoxila e eosina.

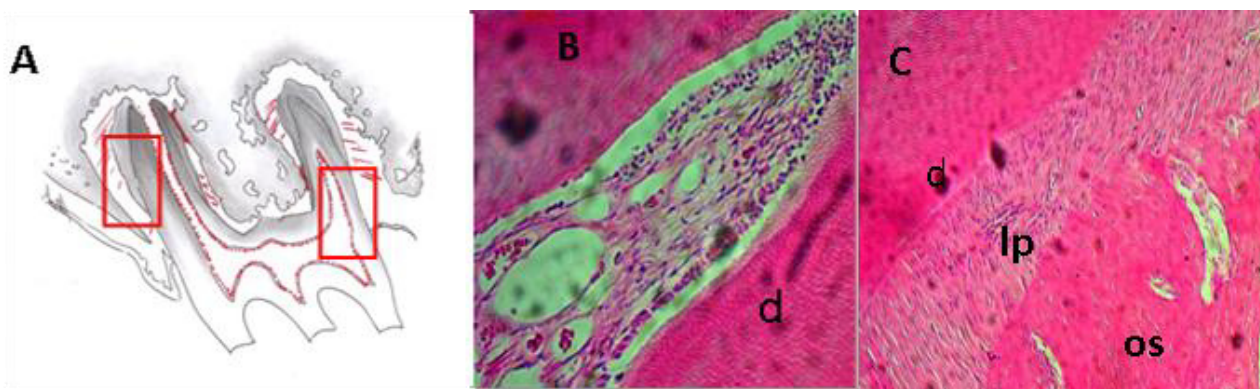


Figura 5 Grupo Controle. A: Desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Polpa com rede de odontoblastos organizada, vasos sanguíneos. Aumento de 20 X 0,45. C: ligamento periodontal íntegro. Aumento de 10 X 0,25. Hematoxilina e eosina. (d- dentina. lp- ligamento periodontal. OS-osso)

Grupo Experimental 1: Aplicação de 700cN de força extrusiva

Esses dentes foram submetidos ao trauma de menor intensidade, 700 cN. Ao fim do trauma extrusivo, clinicamente, verificou-se extravasamento sutil de sangue na região entre o dente e a gengiva do murino.

Quanto às características histológicas, na região cervical da raiz, observou-se o epitélio juncional parcialmente aderido em ambos os lados, com poucas alterações sugestivas de trauma. (Fig. 6 B e C)

O trabeculado ósseo exibe características de reentrâncias, aspecto medular, vitalidade normal e presença de ostócitos, assim como no grupo controle.

A crista óssea caracterizou-se com aspectos de normalidade, sem reabsorções e nem características de trauma alveolar, além da presença de osteoblastos e ocasionais osteoclastos. A distância entre a junção amelocementária e o bordo livre do osso alveolar propriamente dito é absolutamente constante (Fig.7 B e C).

A polpa possui vasos congestionados, de maior calibre que no grupo controle, poucas áreas de edema e poucas células inflamatórias (Fig.8 B).

O ligamento periodontal, em uma das amostras (tabela 1), apresentou hemorragia sobre a crista periodontal, com vasos sanguíneos mais calibrosos (características de lesão tecidual), quando comparada ao grupo controle. A maior parte do ligamento periodontal, nesse grupo, ainda se encontra íntegro, principalmente em direção apical, com organização da disposição das fibras periodontais com característica de normalidade. Nas outras amostras, o ligamento periodontal continuou íntegro (Fig. 8 C).

O cemento foi avaliado com característica de normalidade, sem trincas e/ou fraturas.

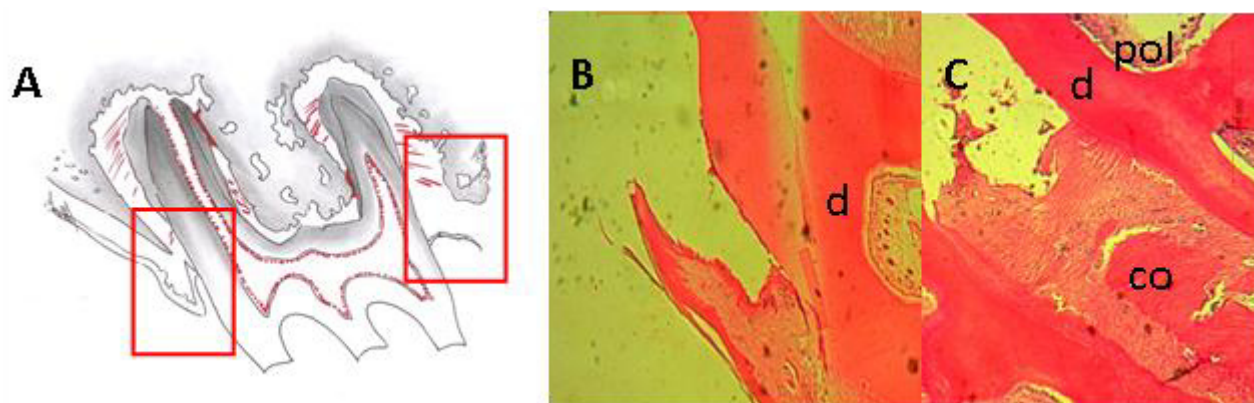


Figura 6: Grupo 1 (700cN): A: Desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: epitélio juncional mesial não aderido a superfície dentária. C: epitélio juncional distal parcialmente aderido à superfície dentária. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e Eosina. (d-dentina. CO- crista óssea. pol- polpa)

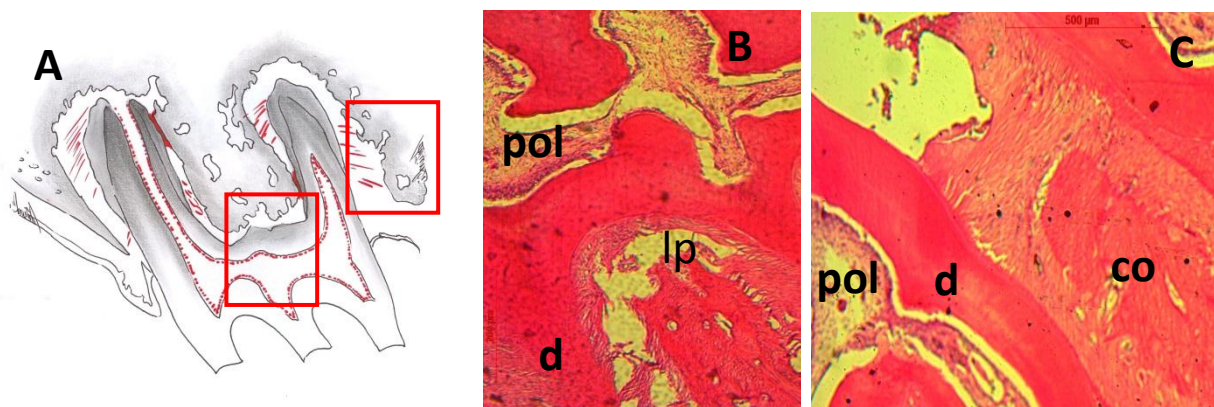


Figura 7: Grupo 1 (700cN): A: Desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Furca e ligamento periodontal rompido. Aumento de 10 X 0,25. C: Crista óssea e ligamento periodontal íntegros. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (pol- polpa. d- dentina. co- crista óssea. lp- ligamento periodontal).



Figura 8: Grupo 1 (700cN): A: Desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Polpa com vasos congestionados. Aumento de 20 X 0,45. C: Ligamento periodontal desorganizado. Aumento de 10 X 0,25. Hematoxilina e eosina.

Grupo Experimental 2: Aplicação de 1000 cN de força extrusiva

Esses dentes foram submetidos ao trauma de 1000 cN de intensidade, ao fim do trauma extrusivo, clinicamente, verificou-se extravasamento de sangue em maior quantidade que nos grupos 1, na região entre o dente e a gengiva do murino.

Histologicamente, na região cervical da raiz, observa-se que o epitélio juncional não se encontra aderido na distal e parcialmente aderido na mesial. (Fig 9 B e C)

O trabeculado ósseo exibiu reentrâncias, aspecto medular, vitalidade normal e presença de ostócitos (Fig 10 B). Foram notadas em duas das amostras (quadro 2), próximo a região do ápice radicular, áreas significativamente alteradas, com indícios de traumatismo.

A crista óssea possui aspecto de normalidade, sem reabsorções e nem características de trauma, além da presença de osteoblastos e ocasionais osteoclastos, que não induzem a atividade de reabsorção ocasionada pelo trauma. A distância entre a junção amelocementária e o bordo livre do osso alveolar propriamente dito foi constante (Fig. 10 C).

Na polpa um há maior número de vasos congestionados nesse grupo, de maior calibre e áreas hemorrágicas, edema e sem células inflamatórias (Fig. 11 B).

No ligamento periodontal evidenciou-se hemorragia sobre a crista periodontal e vasos sanguíneos mais calibrosos (características de lesão tecidual). Essas características foram pontuais, a maior parte do ligamento periodontal ainda se encontra íntegro, principalmente em direção apical, com organização da disposição das fibras periodontais com característica de normalidade.

O cemento apresenta característica de normalidade, contínuo até o ápice, sem trincas e/ou fraturas.

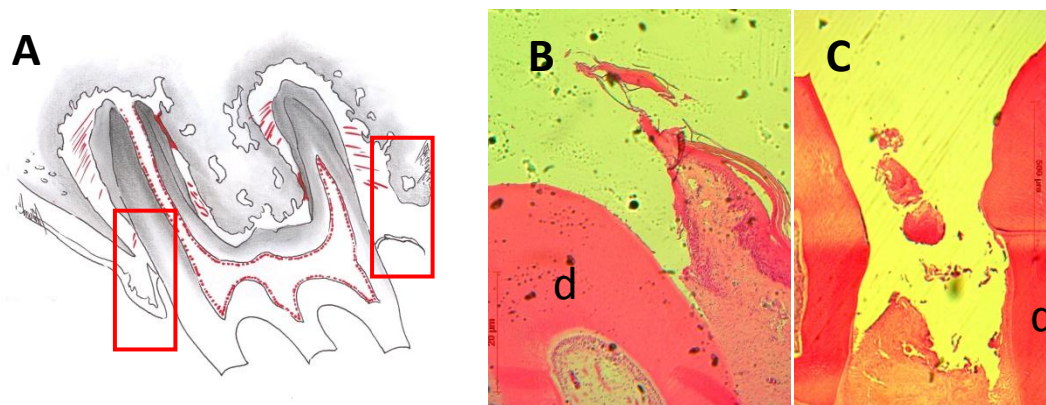


Figura 9: Grupo 2 (1000cN): A : Desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Epitélio juncional mesial. C: Epitélio juncional distal não aderido. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (d-dentina)

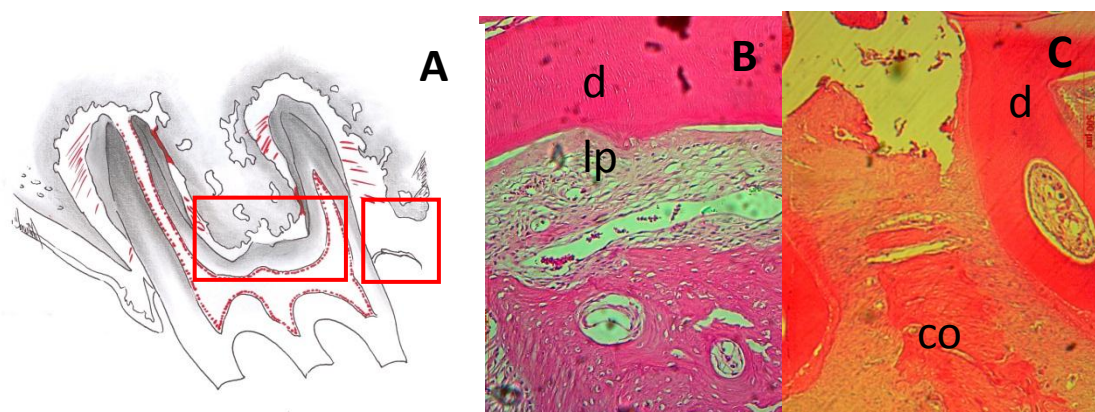


Figura 10: Grupo 2 (1000cN): A: Desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Furca e ligamento periodontal rompido. Aumento de 10 X 0,25. C: Crista óssea e ligamento periodontal íntegros. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (d-dentina. CO- crista óssea. lp-ligamento periodontal).

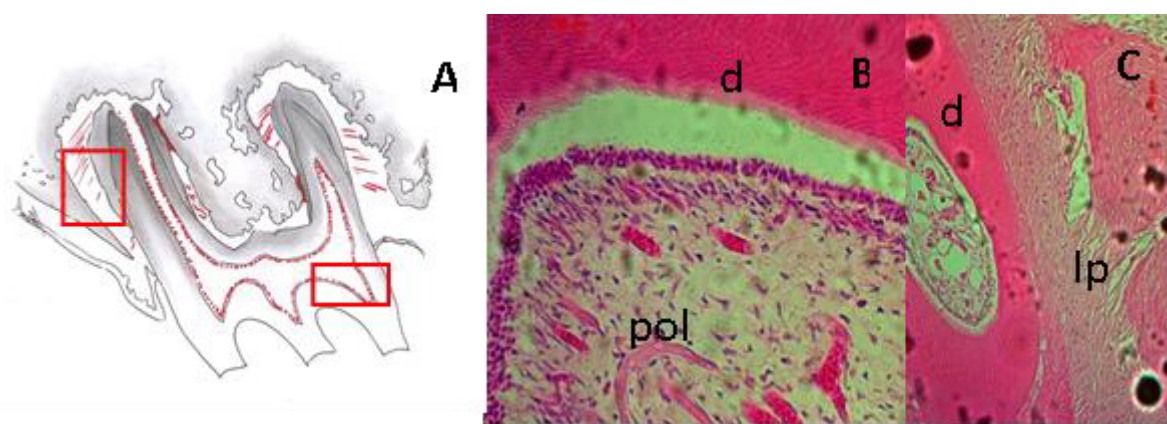


Figura 11: Grupo 2 (1000cN): A: Desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Polpa com edema e vasos congestionados. Aumento de 20 X 0,45. C: Ligamento periodontal estirado. Aumento de 10 X 0,25. Hematoxilina e Eosina. (d-dentina. pol- polpa. lp- ligamento periodontal)

Grupo Experimental 3: Aplicação de 1300 cN de força extrusiva

Esses dentes foram submetidos ao trauma de 1300 cN de intensidade. Durante a observação clínica, verificou-se um maior extravasamento de sangue, quando comparado aos grupos 1 e 2, na região entre o dente e a gengiva do murino. Nesses elementos dentais, os dentes estavam extruídos, ou seja, acima do nível oclusal dos demais dentes (Quadro 2).

A nível histológico, na região cervical da raiz, observa-se que o epitélio juncional encontra-se parcialmente aderidos na mesial, porém na distal, essa estrutural encontra-se separada da superfície do dente, com focos de hemorragia (Fig. 12 B e C).

O trabeculado ósseo exibe reentrâncias, aspecto medular, vitalidade normal e presença de osteócitos. A crista óssea apresenta aspecto de normalidade, além da presença de osteoblastos e ocasionais osteoclastos. A distância entre a junção amelocementária e o bordo livre do osso alveolar propriamente dito é constante (Fig. 13 B e C).

A polpa possui vasos congestionados, em maior quantidade que o grupo 1, 2 e controle, além de apresentarem maior calibre (Fig 14 B).

O ligamento periodontal, na região de raiz distal, apresentou hemorragia, e vasos sanguíneos congestionados sugestivos de trauma da região, além disso, o ligamento periodontal nessa região apresenta-se parcialmente rompimento. Porém, na raiz mesial, o ligamento periodontal caracterizou-se como comprimido (Fig 14 C).

O cimento está contínuo até o ápice, sem trincas e/ou fraturas.

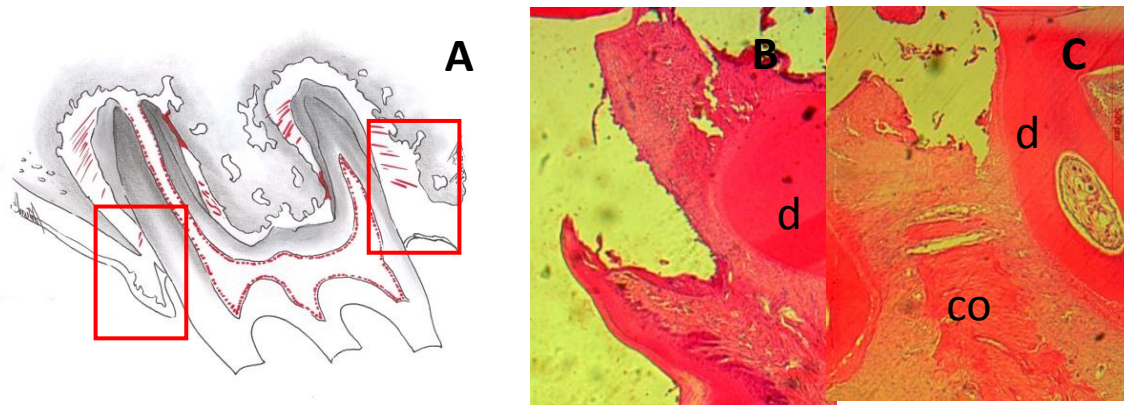


Figura 12: Grupo 3 (1300cN): A: Desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Epitélio juncional mesial danificado. C: Epitélio juncional distal não aderido. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (d- dentina CO- crista óssea).



Figura 13: Grupo 3 (1300 cN): A: desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Furca com o ligamento estirado. Aumento de 10 X 0,25. C: Crista óssea íntegra aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (d- dentina. CO- crista óssea. lp- ligamento periodontal.).

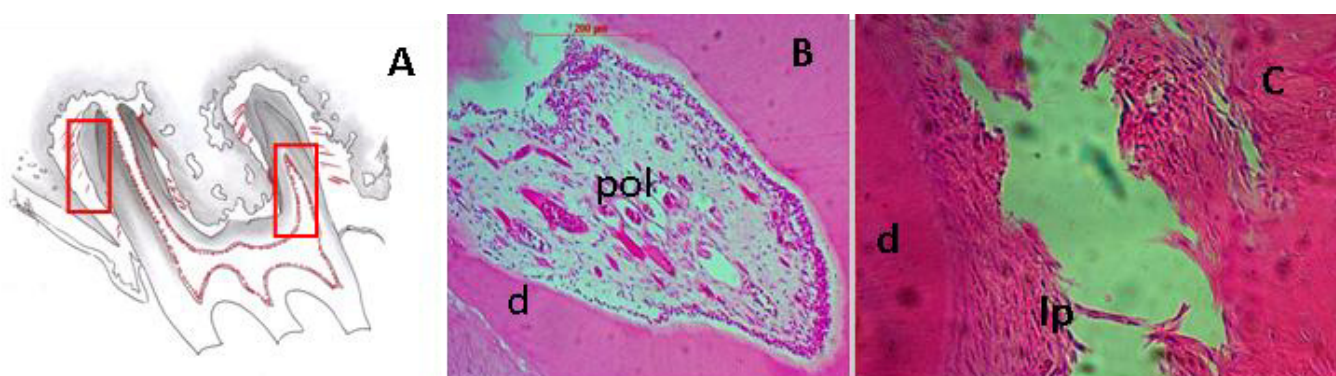


Figura 14: Grupo 3 (1300cN): A: desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Polpa com edema e vasos congestionados. 20 X 0,45. C: Ligamento periodontal estirado 10 X 0,25 Hematoxilina e eosina. (d-dentina. lp- ligamento periodontal. pol- polpa)

Grupo Experimental 4: Aplicação de 1600 cN de força extrusiva

Esses dentes foram submetidos ao trauma de 1600 cN de intensidade de força.

Em dois elementos dentais observados, verificou-se que a força empregada caracterizou-se como excessiva, pois o aparato utilizado, para prender-se ao elemento dental do rato, fraturou, devido à força empregada. E não houve sinais clínicos de extrusão, apenas a presença do sangramento a partir do sulco periodontal.

Em relação aos outros dois elementos dentais, nos quais não houve rompimento do aparato utilizado, foi observado um sangramento excessivo, grande mobilidade do elemento dental e um aumento no nível oclusal.

Na região cervical da raiz, observa-se o epitélio juncional aderido na mesial. Na região distal, o epitélio juncional apresentou-se sem adesão a superfície dental, como também apresentou aspectos hemorrágicos (Fig 15 B e C).

O trabeculado ósseo exibe reentrâncias, aspecto medular, vitalidade normal e presença de osteócitos. A crista óssea apresenta aspecto de normalidade, presença de osteoblastos e ocasionais osteoclastos. A distância entre a junção amelocementária e o bordo livre do osso alveolar propriamente dito é absolutamente constante (Fig. 16 B e C).

A polpa possui vasos congestos, de maior calibre e áreas hemorrágicas, edema e moderada quantidade de células inflamatórias. Esse aspecto caracteriza-se de forma mais exacerbada na raiz distal.

O ligamento periodontal caracterizou-se com hemorragia em grande quantidade nos ápices radiculares. O aspecto apresentado do ligamento periodontal é de organização das fibras do periodonto. É perceptível nos cortes histológicos desse grupo, o rompimento do ligamento periodontal, na área de furca.

O cemento apresenta característica de normalidade, contínuo até o ápice, sem trincas e/ou fraturas.

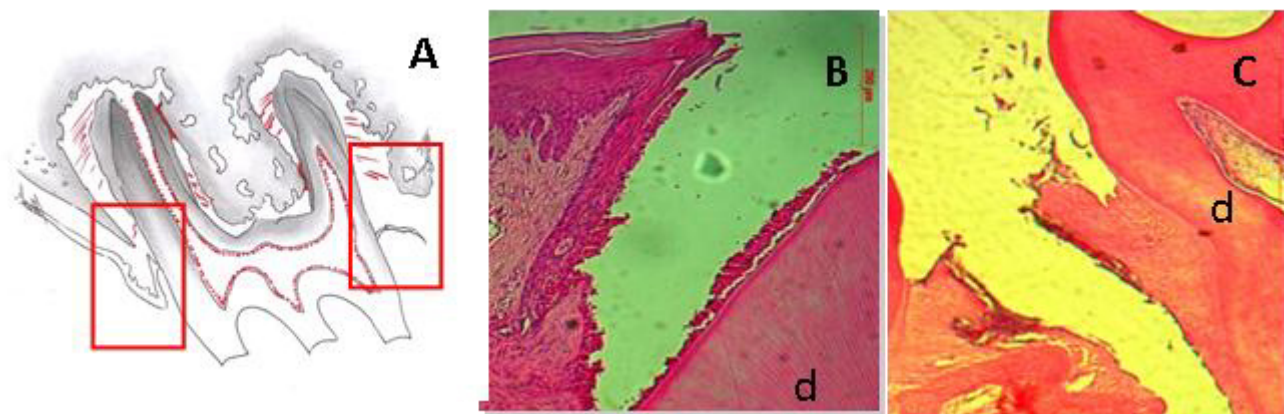


Figura 15: Grupo 4 (1600cN): A : desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Epitélio juncional mesial não aderido. Aumento de 10 X 0,25. C: Epitélio juncional distal não aderido. Aumento de 5 X 0,12. Hematoxilina e eosina. (d-dentina).

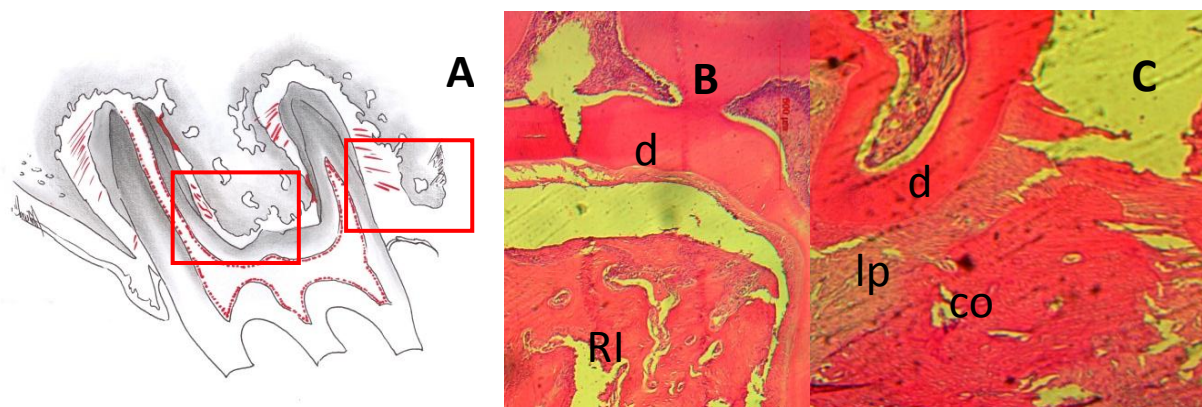


Figura 16: Grupo 4 (1600cN): A : desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Região de furca com ligamento periodontal rompido. Aumento de 10 X 0,25. C: Crista óssea íntegra. Aumento de 10 X 0,25. Hematoxilina e eosina. (RI- região interseptal. d-dentina. lp-ligamento periodontal. co- crista óssea).

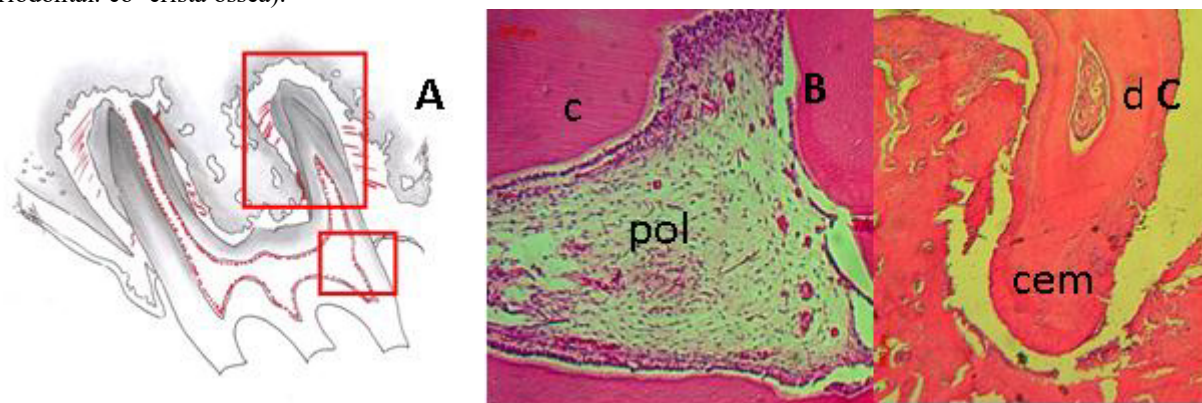


Figura 17: Grupo 4 (1600cN): A : desenho esquemático do primeiro molar superior com corte padrão da área selecionada. B: Polpa com rede odontoblástica desorganizada. C: Ligamento periodontal não aderido. (d-dentina. cem- cemento. pol- polpa)

Todas essas características foram sumarizadas no quadro abaixo (Quadro 2):

Quadro 2- Características clínicas e histológicas dos elementos dentais												
Grupos	Dentes	Características Histológicas							Características Clínicas			
		L.P.	E.J.	P	T.O	Cem	C. O.	A.D.	S	ED	FD	FED
Controle	Dente 1											
	Dente 2											
	Dente 3											
	Dente4											
Grupo 1 (700 cN)	Dente 1											
	Dente 2											
	Dente 3											
	Dente 4											
Grupo 2 (1000 cN)	Dente 1											
	Dente 2											
	Dente 3											
	Dente 4							(perdido)				
Grupo 3 (1300 cN)	Dente 1											
	Dente 2											
	Dente 3											
	Dente 4							(perdido)				
Grupo 4 (1600 cN)	Dente 1											
	Dente 2											
	Dente 3											
	Dente 4											

Quadro 2: Características histológicas encontrada nos animais em seus respectivos grupos. Célula preenchida indica a presença de alterações histológicas. E.P.- Epitélio Juncional. T.O.-tecido ósseo. Cem.- cimento. C.O.- Crista óssea. AD: Aspectos Diferenciais - estão relacionados a eventos específicos do grupo. S.-Sangramento. ED-Extrusão dentária. FED- Fratura do elemento dental.

Análise histométrica

Os dados seguintes verificam a distância média entre o assoalho da câmara pulpar e superfície óssea abaixo da furca.

Tabela 2: Média e desvio padrão dos grupos

	Grupo Controle	Grupo 1	Grupo 2	Grupo 3	Grupo 4
Médias	138,38	144,65	186,77	238,55	227,94
Desvio Padrão	± 23,84	± 22,46	± 20,09	± 25,27	± 46,19

Discussão

O traumatismo de luxação extrusiva pode ser conduzido experimentalmente através do uso do modelo murino (7,8,11,12,13). No entanto, os modelos existentes apresentam falhas relacionadas à padronização da direção e intensidade da força aplicada na realização do trauma, o que dificulta a replicabilidade de tais modelos. Neste trabalho, propõe-se um novo modelo de luxação extrusiva em molares murinos, de caráter replicável e com padronização da direção e intensidade da força aplicada.

Método de luxação extrusiva

A vantagem desse método é determinar uma padronização tanto da intensidade quanto da direção da força aplicada, com a capacidade de produzir as alterações clínicas e histológicas da luxação extrusiva descritas por Andreasen, 1994 (5). Verifica-se também, que a metodologia apresentada permite produzir alterações semelhantes em toda a amostra. Além disso, pode-se observar que com a variação da força e da direção da indução do trauma, outros tipos de traumatismo podem ser realizados como: subluxação, luxação lateral e até mesmo avulsão.

O tensiômetro foi o dispositivo utilizado para realizar essa metodologia padronizada por possuir algumas vantagens como a apresentação de uma escala numérica graduada, a facilidade de aquisição nas casas especializadas em materiais ortodônticos, o baixo custo e o fácil manuseio (14).

Na literatura, observam-se trabalhos prévios que também buscavam determinar métodos padronizados (7,11,12) para desenvolver a luxação extrusiva. Um dos primeiros trabalhos é de Birkedal-Hansen, 1973 (7), que tinha como objetivo padronizar um método de luxação extrusiva pelo uso de alavancas cirúrgicas e que obteve como resultado uma grande variabilidade de respostas inflamatórias e reabsorção, justamente pelo fato da força aplicada ser de caráter humano, ou seja, não padronizado, e conseqüentemente, bastante variável.

Myiashin em 1990 (8) elaborou o primeiro método que padronizava o tempo, a direção e a força aplicada para realizar o trauma de luxação extrusiva em molares superiores com raízes incompletas. Esse método foi criticado por Shibue (13), por não determinar forças correspondentes aos diferentes graus de formação radicular. Este autor buscou determinar um método de padronização de luxação extrusiva de acordo com o grau de formação radicular. Porém o método desenvolvido por ele é complexo, utiliza materiais de difícil acesso e foi desenvolvido para dentes com formação radicular incompleta.

Características clínicas e histológicas quanto à variação da força aplicada

As forças aplicadas nos grupos 1 (700 cN) e 2 (1000 cN) não foram suficientes para produzir o alongamento coronário, porém o sangramento no sulco gengival esteve presente. A nível histológico, a distensão das fibras periodontais são bem visualizadas na região cervical do elemento dental, porém, na região de furca não se encontrou grandes alterações. Estas características sugerem que a força aplicada nesses grupos gerou um trauma lesivo ao tecido periodontal suficiente para causar uma subluxação. Estes achados concordam com os de Birkedal (7) e Shibue (13), em que forças menores resultaram em traumatismos deste tipo.

Em relação aos grupo 3 (1300 cN) e grupo 4 (1600 cN), a força aplicada produziu todas as características clínicas descritas por Andreasen, 1994 (5). Histologicamente, no grupo 3 e em parte do grupo 4, observou-se a ruptura do ligamento periodontal e um afastamento do assoalho da cavidade pulpar para região óssea interseptal. Nos estudos de Myiashin (8), mesmo buscando determinar uma metodologia de padronização para luxação extrusiva, não se obteve achados histológicos tão característicos para este tipo de trauma.

Resultado Histométricos

Quanto aos achados histométricos, verifica-se um aumento progressivo na média de distância entre o assoalho pulpar e a superfície óssea da furca, de acordo com o aumento da força aplicada, com exceção do grupo 4. Acredita-se que o grupo 4 apresentou um valor menor que o grupo 3 devido a fratura do aparato durante a aplicação do trauma em dois dentes da amostra desse subgrupo. Sendo assim, o trauma por completo foi realizado apenas em metade da amostra, comprometendo a replicabilidade do método com a aplicação dessa força. Ainda assim, os grupos 3 e 4, obtiveram as maiores médias histométricas, 238,55 nm e 227,94 nm, respectivamente.

Presença de células inflamatórias, osteoblastos e osteoclastos.

Dentre as células inflamatórias presentes nos cortes histológicos, notou-se a presença de plasmócitos e neutrófilos. Os neutrófilos são os leucócitos mais abundantes, nas proximidades dos vasos sanguíneos e possuem um importante papel nas fases iniciais da reação inflamatória, atuando como primeira linha de defesa após o trauma aplicado. Em contrapartida, os plasmócitos são células capazes de produzir anticorpos e estão relacionadas a inflamações crônicas (15). Logo, supõe-se que, a presença de plasmócitos esteja relacionada a algum fator prévio ao trauma, enquanto que os neutrófilos podem estar relacionados ao traumatismo em si.

A presença de osteoclastos e osteoblastos, principalmente na região cervical da raiz, são vistas tanto no grupo controle como no grupo experimental. Segundo Reitam e Kvam, 1971 (16), a ação dos osteoblastos e dos osteoclastos em ratos é sempre presente, pois, devido a monofiodontia destes animais, o tecido ósseo encontra-se em constante remodelação. De acordo com os nossos achados, acredita-se que a ação osteoclástica não possui relação com a ação traumática de luxação extrusiva, pois a eutanásia foi realizada apenas 1 hora após da aplicação do trauma, sendo o tempo muito curto para evidenciação de reabsorção óssea devido ao trauma em questão.

Polpa

A polpa dos grupos experimentais possuem vasos dilatados e congestos que ocorrem como resposta ao trauma, no intuito de iniciar o processo inflamatório agudo. Essa vasodilatação propicia a entrada de líquido no tecido intersticial (edema), e de células inflamatórias, assim como relatado no estudo de Miyashin em 1990 (7).

Nos grupos em que foram aplicadas forças maiores (grupos 3 e 4), observou-se a desorganização da camada odontoblástica. Em dentes com rizogênese

completa, a desorganização dessa camada, devido ao traumatismo de luxação, pode trazer consequências mais severas, como por exemplo, a reabsorção da dentina antes da aposição de novos tecidos duros mal diferenciados (5). Além disso, Andreasen (5), Shibue (13) e Dumsha (17) determinam que quanto maior for o grau de formação radicular de um dente submentido a um trauma, pior será o prognóstico.

Conclusão

Conclui-se que a luxação extrusiva experimental é clínica e histologicamente obtida com a aplicação de 1300 cN e 1600 cN de força no dispositivo utilizado, porém a replicabilidade dessa método é garantida com maior fidelidade, quando utilizado 1300 cN de força, pois não houve a fratura do aparato utilizado, e a força pode ser transmitida de forma integral ao molar murino.

Referências

- 1- Kramer PF, Zembruski C, Ferreira SH, Feldens CA. Traumatic Dental injuries in Brazilian preschool children. *Dent Traumatol* 2003; 19: 299- 303.
- 2- Canakci V, Akgul HM, Canacki CF. Prevalence and handedness correlates of traumatic injuries to the permanente incisors in 13-17-year-old adolescents in Erzurum Turkey. *Dent Traumatol* 2003; 19:248-254.
- 3- Saroglu I, Sonmez I. The Prevalence of traumatic injuries treated in the pedodontic clinic of Ankara University, Turkey, during 18 months. *Dent Traumatol* 2002; 18: 299-303.
- 4- Forsberg CM, Tedestam G. Traumatic injuries to teeth in Swedish children living in a urban área. *Swed Dent J*. 1990; 14(3):115-22.
- 5- Andreasen JO, Andreasen FM. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth, 3rd ed. Copenhagen: Munk sgaard; 1994.
- 6- Finucane D, KinironsMJ. External inflammatory and replacement resorption of luxated, and avulsed replanted permanent incisors: a review and case presentation. *Dent Traumatol* 2003; 19:170-174.
- 7- Birkedal-Hansen H. External root resorption caused by luxation of rat molars.

- Scand J Dent Res, 1973; 81:47-61.
- 8- Miyashin M, Kato J, takagi Y. Experimental luxation injuries in immature rat teeth. *Endod Dent Traumatol* 1990;6: 121-128.
 - 9- Miyashin M, Kato J, Takagi Y. Tissue reactions after experimental luxation injuries in immature rat teeth. *Endod Dent Traumatol* 1991; 7: 26-35.
 - 10- Andreasen JO, Lauridsen E, Andreasen FM. Contradictions in the treatment of traumatic dental injuries and ways to proceed in dental trauma research. *Dent Traumatol*. 2010; 26: 16-22.
 - 11- Kobayashi C, Murata T, Iwahashi Y, Sunada I. The histopathological changes of luxated rat molar pulp and periodontal tissue [abstract]. *Jpn J Conserv Dent* 1980 29:1476-1482.
 - 12- Tziafas D. Pulpal reactions following experimental acute trauma of concussion type on immature dog teeth. *Endod Dent Traumatol* 1988; 4: 27-31.
 - 13- Shibue T, Taniguchi k, Motokawa W. Pulp and root development after partial extrusion in immature rat molars: a histopathological study. *Endod Dent Traumatol* 1998; 14: 174-181.
 - 14- Pereira ALP, Mendonça MR, Sonoda CK, Cuoghi AO, Poi WR. Histological evaluation of experimentally induced subluxation in rat molars and its implications on the management of orthodontic treatment. *Dent Traumatol* 2010; 26: 37-42.
 - 15- Curvinel WM, Júnior DM, Araújo JAP, Catelan TTT, Souza AWS, Silva NP, et al. Immune system – Part I Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response6, *Bras J Rheumatol* 2010;50 (4):434-61.
 - 16- Reitan K, Kavam E. Comparative behavior of human and animal tissue during experimental tooth movement. *Angle Orthodont* 41(1): 1-14.
 - 17- Dumsha T, Hovland EJ. Pulpal prognosis following extrusive luxation injuries in permanent teeth with closed apex *J Endod* 1982 8 (9): 410-412.

3. CONSIDERAÇÕES FINAIS

Sabe-se que evidências científicas atuais são baseadas em ensaios clínicos randomizados e revisões sistemáticas com metanálise (22,23). Porém, o comprometimento ético de se realizar pesquisas de traumatismo dentário, caracterizadas como ensaios clínicos randomizados, é considerado complexo (16), logo, verifica-se que a utilização do modelo experimental em murinos ainda é uma das formas eticamente e cientificamente aceitas para se obter algumas respostas relacionadas a esse tema (24).

Apesar de alguns estudos já terem sido desenvolvidos, no intuito de se buscar uma metodologia padronizada na reprodução de trauma de luxação extrusiva experimental para ratos (14,20,21), alguns entraves ainda eram evidenciados, como por exemplo: a replicabilidade do traumatismo em toda a amostra (14), a utilização de dentes com formação radicular completa (21) e o instrumento utilizado para executar a extrusão (14,25).

Através desse estudo, acredita-se que a luxação extrusiva é obtida por forças superiores à 1300 cN, pois essas conseguem trazer características clínicas e histológicas de luxação extrusiva. Em contrapartida, no grupo de 1600 cN, verifica-se que apesar de se obter resultados histológicos positivos quanto a luxação extrusiva, a ruptura do aparato utilizado durante a aplicação da força traz questionamentos quanto a transmissão completa da força empregada. Portanto, é válido ressaltar que a replicabilidade da força empregada, de acordo com a metodologia apresentada, é garantida quando há a aplicação de 1300 cN de força.

A replicabilidade da força para toda a amostra traz benefícios, relacionado ao controle de um viés, o qual está relacionado à variação da resposta inflamatória quanto a variação da força empregada e conseqüentemente, a variação prognóstica do trauma em questão.

Assim, acredita-se que estudos posteriores relacionados à indução de movimentação ortodôntica, ou as conseqüências periodontais e pulpares de lesões traumáticas, podem possuir esse fator controlado e respostas de análise histológica qualitativa com menos variabilidade de dados.

REFERÊNCIAS

- 1- Feliciano KMPC, Caldas Jr. AF. A systematic review of the diagnostic classifications of traumatic dental injuries. *Dent Traumatol* 2006; 22:71-76.
- 2- Wendt FP, Torriani DD, Assunção MCF, Romano AR, Bonow MLM, da Costa CT, Goettems ML, Hallal PC. Traumatic dental injuries in primary dentition: epidemiological study among preschool children in South Brazil. *Dent Traumatol* 2010; 26: 168-173.
- 3- Glendor U. Epidemiology of traumatic dental injuries – a 12 year review of the literature. *Dent Traumatol* 2008;24:603-611.
- 4- Kramer PF, Zembruski C, Ferreira SH, Feldens CA. Traumatic Dental injuries in Brazilian preschool children. *Dent Traumatol*, 2003; 19:299-303.
- 5- Traebert J Claudino D. Epidemiologia do traumatismo dentário em crianças: A produção científica brasileira. *Pesq Bras Clin Integr* 2012; 12(2): 263-72
- 6- Caldas Jr AF, Burgos MEA. A retrospective study of traumatic dental injuries in a Brazilian dental trauma clinic. *Dent Traumatol* 2001; 17: 250–3.
- 7- Soriano EP, Caldas Jr AF, Carvalho MVD, Amorim Filho HA. Prevalence and risk factors related to traumatic dental injuries in Brazilian schoolchildren. *Dent Traumatol* 2007; 23: 232-240.
- 8- Andreasen JO, Andreasen FM. Texto e Atlas colorido de traumatismo dental. 3nd. Porto Alegre: Artmed; 2001. p. 315-378.
- 9- Andreasen JO, Andreasen FM. Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth, 3rd ed. Copenhagen: Munk sgaard; 1994.
- 10- Di Angelis AJ, Andreasen JO, Ebeleseder DJ, Kenny DJ, Trope M, Sigurdson A,

- et al. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 1. Fractures and luxations of permanent teeth. *Dent Traumatol* 2012; 28: 2–12
- 11- Andreasen JO, Andreasen FM, Skeie A, Hjorting-Hansen E, Schwartz O. Effect of treatment delay upon pulp and periodontal healing of traumatic dental injuries - a review article. *Dent Traumatol* 2002;18:116-128
 - 12- Lin S, Zuckerman O, Fuss Z, Ashkenazi M. New emphasis in the treatment of dental trauma: avulsion and luxation. *Dent Traumatol* 2007;23:297-303
 - 13 Curvinell WM, Júnior DM, Araújo JAP, Catelan TTT, Souza AWS, Silva NP, et al. Immune system – Part I Fundamentals of innate immunity with emphasis on molecular and cellular mechanisms of inflammatory response⁶, *Bras J Rheumatol* 2010; 50 (4):434-61
 - 14- Birkedal-Hansen H. External root resorption caused by luxation of rat molars. *Scand J Dent Res* 1973; 81:47-61
 - 15- Miyashin M, Kato J, Takagi Y. Tissue reactions after experimental luxation injuries in immature rat teeth. *Endod Dent Traumatol* 1991; 7:26-35
 - 16- Andreasen JO, Lauridsen E, Andreasen FM. Contradictions in the treatment of traumatic dental injuries and ways to proceed in dental trauma research. *Dent Traumatol* 2010; 26: 16-22.
 - 17- Taniguchi K, Okamura K, Funakoshi T, Motokawa W. The effect of mechanical trauma on the tooth germs of rat molars at various developmental stages: a histopathological study 1999: 17-25.
 - 18- Shinoara J, Shibata T, Shimada A, Komatsu K. The biomechanical properties of

- the healing periodontium of replanted rat mandibular incisors. *Dent Traumatol* 2004; 20: 212-221.
- 19- Kobayashi C, Murata T, Iwahashi Y, Sunada I. The histopathological changes of luxated rat molar pulp and periodontal tissue [abstract]. *Jpn J Conserv Dent* 1980 29:1476-1482
 - 20- Myashin M, Kato J, takagi Y. Experimental luxation injuries in immature rat teeth. *Endod Dent Traumatol* 1990;6:121-128
 - 21 Shibue T, Taniguchi k, Motokawa W. Pulp and root development after partial extrusion in immature rat molars: a histopathological study. *Endod Dent Traumatol* 1998; 14: 174-181.
 - 22- Rossing CK, Fernandes MI, Oppermann RV. Odontologia baseada em evidências: impacto no ensino e relato de experiências. *R. Fac. Odontol., Dez* 2003; 44:6-8
 - 23- Attalah AN, Castro AA. Revisão sistemática e Metanálise, em: Evidências para melhores decisões clínicas. 1nd ed. São Paulo: Lemos Editorial; 1998
 - 24- Ren Y, Maltha JC, Kuijpers-Jagtman AM. The rat as a model for orthodontic tooth movement – a critical review and a proposed solution. *Eur J Orthod* 2004; 26: 483-90
 - 25- Fabre, AF. Avaliação histopatológica de luxação extrusiva em molares de ratos. Araçatuba. Tese [Doutorado em Ortodontia] – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba. 2013

ANEXOS

ANEXO A – Normas da Dental Traumatology

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

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 Wiley-Blackwell Author Services for further information on the preparation and submission of articles and figures.

2. ETHICAL GUIDELINES

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

2.1. Authorship and Acknowledgements

Authors submitting a paper do so on the understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal. ALL named authors must have made an active contribution to the conception and design and/or analysis and interpretation of the data and/or the drafting of the paper and ALL must have critically reviewed its content and have approved the final version submitted for publication. Participation solely in the acquisition of funding or the collection of data does not justify authorship.

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

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

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

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association Declaration (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 Transfer Agreement

If your paper is accepted, the author identified as the formal corresponding author for the paper will receive an email prompting them to login into Author Services; where via the Wiley Author Licensing Service (WALS) they will be able to complete the license agreement on behalf of all authors on the paper.

For authors signing the copyright transfer agreement:

If the OnlineOpen option is not selected the corresponding author will be presented with the copyright transfer agreement (CTA) to sign. The terms and conditions of the CTA can be previewed in the samples associated with the Copyright FAQs.

For authors choosing OnlineOpen:

If the OnlineOpen option is selected the corresponding author will have a choice of the following Creative Commons License Open Access Agreements (OAA):

Creative Commons Attribution License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial License OAA

Creative Commons Attribution Non-Commercial -NoDerivs License OAA

To preview the terms and conditions of these open access agreements please visit the Copyright FAQs hosted on Wiley Author Services and visit <http://www.wileyopenaccess.com/details/content/12f25db4c87/Copyright--License.html>.

If you select the OnlineOpen option and your research is funded by The Wellcome Trust and members of the Research Councils UK (RCUK) you will be given the opportunity to publish your article under a CC-BY license supporting you in complying with Wellcome Trust and Research Councils UK requirements. For more information on this policy and the Journal's compliant self-archiving policy please visit: <http://www.wiley.com/go/funderstatement>.

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 completed online before any manuscript can be published upon receiving notice of manuscript acceptance.

Kuthsiyya Peer Mohamed

Production Editor

John Wiley & Sons Singapore Pte Ltd

1 Fusionopolis Walk,

#07-01 Solaris South Tower,

Singapore 138628

Email: edt@wiley.com

Fax: +65 6643 8599

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.

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.

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 dtooffice@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

ANEXO B – Declaração do comitê de ética em pesquisa animal

CEUMA – UNIVERSIDADE
Reitoria
Pró-Reitorias de Graduação e Pós-Graduação
Comissão de Ética no Uso de Animais – CEUA UNICEUMA

DECISÃO DA CEUA – UNICEUMA SOBRE PROTOCOLO SUBMETIDO**DATA DO RECEBIMENTO: 20/06/2012****Nº DO PROTOCOLO: 163/12****Nº DO PARECER: 003/12****DATA DO PARECER: 11/07/2012****TÍTULO DO PROJETO/AULA:** "Luxação extrusiva em primeiros molares de ratos: desenvolvimento de modelo experimental"**CARACTERÍSTICAS DA AMOSTRA:** 10 ratos wistar albinos machos, com 12 a 16 semanas e peso entre 300 e 350g**PESQUISADOR/PROFESSOR RESPONSÁVEL:** Prof. Alex Luiz Pozzobon Pereira e Marcos Augusto Grisotto**DECISÃO:** (X) APROVADO () PENDENTE () EXCLUÍDO () NÃO APROVADO**AUTORIZAÇÃO:**

A CEUA-UNICEUMA, na sua função de examinar previamente os procedimentos de ensino e pesquisa a serem realizados na Instituição, para determinar sua compatibilidade com a legislação aplicável (Lei. 11794 e Resoluções do Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal – CONCEA). Autoriza, o protocolo supracitado, devendo o presente documento ser apresentado a Coordenação do Biotério, para agendamento do início dos procedimentos.

* Cópia do protocolo segue anexa.

São Luís 11/07/2012



Lauro Guimarães de Castro
Coordenador CEUA-UNICEUMA

Tabela 1: Randomização dos animais

G1	G2	G3	G4	GC
9	10	4	5	3
8	2	7	6	1

Fonte: Randon.org



UNIVERSIDADE FEDERAL DO MARANHÃO
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
MESTRADO



LUANA MARTINS CANTANHEDE

SÃO LUÍS
2014

