PEDRO IVO SANTOS SILVA

**ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO DE INCISIVOS DE
RATOS SUBMETIDOS A DIFERENTES NÍVEIS DE
LUXAÇÃO EXTRUSIVA E SUBLUXAÇÃO**

ARAÇATUBA
2010

PEDRO IVO SANTOS SILVA

**ESTUDO HISTOMORFOMÉTRICO DE INCISIVOS DE
RATOS SUBMETIDOS A DIFERENTES NÍVEIS DE
LUXAÇÃO EXTRUSIVA E SUBLUXAÇÃO**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia, Campus de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”, como parte integrante dos requisitos para obtenção do título de MESTRE, pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia, Área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Orientador: Prof. Dr.Celso Koogi Sonoda

**ARAÇATUBA
2010**

Catálogo na Publicação (CIP)

Serviço Técnico de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

Silva, Pedro Ivo Santos.

S586e Estudo histomorfométrico de incisivos de ratos submetidos a diferentes níveis de luxação extrusiva e subluxação./ Pedro Ivo Santos Silva.
- Araçatuba : [s.n.], 2010

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

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista,
Faculdade de Odontologia, Araçatuba, 2010

Orientador: Prof. Celso Koogi Sonoda

1. Avulsão dentária 2. Reabsorção da raiz 3. Reabsorção óssea
4. Ligamento periodontal

Black D7
CDD 617.64

DADOS CURRICULARES

NASCIMENTO 28/10/1974 – São Paulo – SP

FILIAÇÃO	João Baptista Silva Yorá dos Santos Silva
----------	--

1997/2001	Graduação
-----------	-----------

Universidade de Mogi das Cruzes

2008/2010	Curso de Pós-Graduação em Odontologia, área de concentração em Cirurgia e Traumatologia Bucal-Maxilo-Facial, nível de Mestrado. Faculdade de Odontologia de Araçatuba - Universidade Estadual Paulista "Júlio de Mesquita Filho".
-----------	---

DEDICATÓRIA

Aos meus pais, **João**(*in memoriam*) e **Yorá**, exemplos de vida e de caráter, os quais doaram suas vidas à formação dos filhos e de uma família. Sou grato a cada minuto dispensado a mim, e acredito que a cada conquista alcançada, estou indiretamente agradecendo a vocês.

À minha querida e amada esposa **Karina**, companheira fiel e apaixonada por nossa união, a qual se desdobra e se doa para a concretização do nosso sucesso e que vibra intensamente cada pequena conquista. Sou eternamente grato a você. Essa vitória é tão sua quanto minha. Amo-te muito!!!!

AGRADECIMENTOS
ESPECIAIS

A **Deus**, o grande arquiteto, por ter me dado o dom da vida e permitir que os meus desejos pudessem ser transformados em realidade.

Ao meu irmão **João Otávio**, também colega de profissão, o qual sempre foi exemplo de carinho e amizade e que muito fez para que esse momento se concretizasse, guiando meus passos desde o início de tudo.

À minha família, **Sr. Roberto, D. Márcia, D. Martha, D. Laís, André, Cínthia, meus sobrinhos Paulinho e Bianca**, pelo apoio diário e carinho sempre dispensado a mim.

Ao meu orientador, Prof. Dr. **Celso Koogi Sonoda**, exemplo de orientador, educador e docente, além de amigo, por toda sua paciência e disposição para me guiar na concretização dessa etapa.

Aos queridos amigos que fiz nessa faculdade, **Jonatas, Fernando e Heloísa**, os quais vou levar comigo por toda a vida, muito obrigado pelas incontáveis horas juntos, ora aproveitando, ora trabalhando, “fosforilando” ou estudando.

Aos queridos amigos, próximos e distantes, obrigado por serem sempre companheiros e estarem sempre a postos para qualquer problema. Sou muito feliz por ter tantos amigos de verdade.

Aos queridos primos de Araçatuba, **Laumer, Carminha, Carú, Marquinho, Pedro, Fabíola e Anali**, obrigado pelo convívio, carinho e amizade sempre dispensados a mim.

Aos meus queridos professores de Pós Graduação **Idelmo Rangel e Osvaldo Magro**, os quais dividiram conosco, muito de suas vidas profissional e particular para que um bem maior fosse alcançado: nossa formação profissional, humana e ética. Muito obrigado por cada experiência vivida com vocês.

AGRADECIMENTOS

À Faculdade de Odontologia do Campus de Araçatuba – UNESP,
na pessoa do seu diretor Prof. Dr. **Pedro Felício Estrada Bernabé**,
por ser o instrumento para realização da minha formação.

Ao **CNPQ**, pelo fomento disponibilizado, o qual foi fundamental para
a realização deste trabalho.

Ao Coordenador do Curso de Pós-Graduação da Faculdade de
Odontologia de Araçatuba – UNESP, Prof. Dr. **Idelmo Rangel
Garcia Júnior**.

Aos meus colegas de Pós-graduação, **Walter, Cassiano, Walter
Betoni, Paulo Faria, Jéssica, Thallita, Francisley, Marcos,
Albanir, Nícolas, Martha, Rodolpho, Abrahão, Pâmela, Elisa e
Ellen**, pois cada um, em momentos diferentes, dividiu comigo
alegrias, tristezas, emoções, cansaço, trabalho árduo, sonhos e
desejos.

Aos alunos e estagiários **Igor, Thiago, Fernanda, Carulina,
Juliana Zorzi, Weglis**, pela ajuda sempre presente e amizade
dispensada. Sejam felizes.

Às minhas queridas amigas **Jéssica e Thallita**, pois, além de serem exemplos de comprometimento científico e solidário, são pessoas maravilhosas de se conviver.

Ao **Departamento de Cirurgia e Clínica Integrada** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, representado por todos os seus professores e funcionários, pela oportunidade de cursar o mestrado e pelo convívio com tantas pessoas maravilhosas.

Aos estimados professores do Departamento de Cirurgia **Tetuo Okamoto, Michel Saad, Idelmo Rangel, Osvaldo Magro, Alessandra Aranega, Cristiane Ruiz e Roberta Okamoto**, pela incontável doação dia a dia para a maturação de nossa maior paixão: a cirurgia.

Aos professores da disciplina de Clínica integrada **Sônia Regina Panzarini, Wilson Roberto Poi, Denise Pedrini, Daniela Brandini e José Carlos** pelo carinho e prestatividade sempre a mim oferecidos. Obrigado!

À nossa inestimável mãe, amiga, companheira e acolhedora **Cleide**, por ser quem é, e fazer o possível e o impossível para que o barco

continue a navegar e que nossos sonhos e anseios sejam sempre realizados.

Aos queridos funcionários do Departamento de Cirurgia da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, **Dirce, Gilmar, Bernadete, Paulo, Tina, Odair e Antonia**, os quais sempre com o maior carinho e dedicação se doam ao nosso auxílio.

Aos cordiais e competentes **funcionários da seção de Pós-graduação** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba - UNESP: **Diogo, Marina, Valéria e Reinaldo** que sempre muito simpáticos e atenciosos me ajudaram quando precisei.

Aos **bibliotecários** da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – UNESP, pela dedicação, ensinamentos, colaboração e presteza durante todo o período de elaboração deste trabalho.

Àqueles que direta ou indiretamente contribuíram durante essa fase.

EPÍGRAFE

*“É melhor tentar e falhar,
que preocupar-se e ver a vida passar.
É melhor tentar, ainda que em vão,
que sentar-se fazendo nada até o
final.*

*Eu prefiro na chuva caminhar,
que em dias tristes em casa me
esconder.*

*Prefiro ser feliz, embora louco,
que em conformidade viver...”*

Martin Luther King

Resumo

Silva, P.I.S. Estudo histomorfométrico de incisivos de ratos submetidos à luxação extrusiva e subluxação. [dissertação]. Araçatuba: universidade estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho – UNESP; 2009.

Este estudo avaliou as conseqüências de níveis diferentes de luxação e subluxação de dentes anteriores de ratos sem reposicionamento e o processo de reparo do tecido pulpar e do periodonto adjacentes. Realizou-se avaliação histológica descritiva e histomorfométrica. Utilizou-se 39 ratos divididos em 3 grupos sendo esses: GI: realizou-se a subluxação dos incisivos superiores. GII: realizou-se luxação extrusiva dos referidos dentes em 1 mm e GIII: luxação em 2 mm dos dentes acima citados. A avaliação qualitativa histológica das lamínas foi realizada, utilizando tabela de scores previamente desenvolvida e descrita no texto. Foi utilizado também o programa imagelab 2000 para a quantificação da área compreendida pela superfície da câmara pulpar após esses movimentos traumáticos nos elementos dentais estudados. Observou-se como resultado qualitativo, que dentro desses limites previamente estabelecidos de luxação, ocorreu pouca, e em alguns casos nenhum, processo de reabsorção da estrutura dentinária. Agora, com relação ao comprometimento pulpar, observou-se que, quanto maior o trauma sofrido pelo dente, maior foi o processo degenerativo do conteúdo pulpar, apresentando em alguns casos, áreas de abscesso instaladas, concorrendo também com a revascularização do referido dente.

Palavras-chaves: Avulsão dentária, reabsorção da raiz, reabsorção óssea, ligamento periodontal

Abstract

Silva, P.I.S. Histomorphometric study of incisors of rats after extrusive luxation and subluxation. [dissertation]. Araçatuba: Universidade Estadual Paulista Julio de Mesquita Filho UNESP, 2009.

This study evaluated the consequences of different levels of dislocation and subluxation of the anterior teeth of rats without repositioning and repair process of the pulp tissue and periodontal healing. Carried out histological description and histomorphometry. We used 39 rats divided into 3 groups and these: GI: it was a subluxation of the upper incisors. GII: held extrusive luxation of those teeth in 1 mm and GIII: dislocation of 2 mm above the teeth. The qualitative assessment of histological slides was performed using table scores previously developed and described in the text. We also used ImageLab 2000 software to quantify the area including the surface of the pulp chamber after these movements in traumatic dental elements studied. Observed as a result qualitatively, that within those limits previously established dislocation, there was little, and in some cases non-existent, resorption of the dentin structure. Now, with respect to pulp involvement, it was observed that the greater trauma suffered by the tooth, greater degeneration of the pulp content, presenting in some cases, areas of abscess installed, also competing with revascularization of that tooth.

Keywords: tooth avulsion, root resorption, bone resorption, periodontal ligament

SUMÁRIO

SUMÁRIO

1. Introdução	29
2. Materiais e Métodos	35
3. Resultados	41
4. Discussão	60
5. Conclusão	67
Referências	69
Anexos:	
Anexo I – Comitê de ética	76
Anexo II – Material e método	77
Anexo III – Imagens	79
Anexo IV – Normas para publicação	81

Lísta de figuras e tabelas

Figura 1	Luxação do Incisivo Central Superior Direito	54
Figura 2	Elemento dental luxado	54
Figura 3	Extrusão do elemento dental nos grupos luxação 1 e 2 mm	54
Figura 4	Desgaste compensatório para evitar reintrusão	55
Figura 5	Contenção semi-rígida para estabilização do coágulo	55
Figura 6	Grupo I - Superfície radicular com integridade, recoberta por ligamento periodontal.(LP). Disposição oblíqua das fibras colágenas indicando reinserção. Dentina (D); Tecido ósseo alveolar (TO). HE 63X.	42
Figura 7	Grupo I - Tecido conjuntivo frouxo da polpa. Presença de vasos sangüíneos (VS), grande número de fibroblastos (seta) e fibras colágenas mais delgadas. Matriz extracelular amorfa em grande quantidade. HE. 63X	42
Figura 8	Grupo I - Aspecto estratificado da camada de odontoblastos entre a pré-dentina (PD) e o tecido pulpar (TP) da porção mais incisal do dente. Aspecto alongado e núcleo deslocado na extremidade do odontoblasto. H.E. 200X.	43
Figura 9	Grupo I - Disposição colunar dos odontoblastos na porção apical da raiz. Formato cilíndrico e mais curto da célula. H.E. 160X.	43
Figura 10	Grupo I – Tecido conjuntivo frouxo da polpa (TP) preenchendo principalmente a porção apical e média da raiz. Dentina reparadora (D) ocupando o terço incisal da raiz. HE. 10X.	44
Figura 11	Grupo I – Forame apical com a presença do tecido conjuntivo frouxo da polpa. Vasos sanguíneos junto ao fundo do alvéolo e no tecido pulpar. Alça cervical da Bainha Eitelial de Hertwig. HE. 25X.	44

Figura 12	Grupo I – Tecido conjuntivo frouxo da polpa preenchendo principalmente a porção apical e média da raiz. Dentina reparadora ocupando o terço incisal da raiz. HE. 10X	45
Figura 13	Grupo II – Aspecto do tecido pulpar necrosado. Ausência dos odontoblastos junto à dentina (D), remanescentes celulares com citoplasma eosinófilos (1) e ausência de núcleos. Fibras colágenas em degeneração e vasos sanguíneos vazios. HE. 160X	48
Figura 14	Grupo II – Tecido pulpar necrosado preenchendo todo o conduto radicular do incisivo central. Bolsa infra-óssea do lado lingual da raiz. 10X	48
Figura 15	Grupo II – Extremidade apical da raiz com ausência da Bainha epitelial de Hertwig. Presença de tecido pulpar necrosado (PN) e infiltrado inflamatório agudo junto a área de abscesso (AB). 63X	49
Figura 16	Grupo II – Dentina reparadora preenchendo grande parte do conduto pulpar da porção média da raiz. HE. 25X	49
Figura 17	Grupo II – Presença de polpa com vitalidade na porção apical da raiz. Notar o aspecto irregular da anatomia das paredes dentinárias (D). HE. 25X	50
Figura 18	Grupo III – Área de reabsorção da dentina com a presença de infiltrado inflamatório no ligamento periodontal. Presença de cláustos junto aos pontos de reabsorção. HE. 160X.	53
Figura 19	Grupo III – Exudato, remanescentes de células e fibras colágenas do tecido pulpar em decomposição no conduto radicular. HE. 63X	53
Figura 20	Grupo III – Áreas de alteração hialina da matriz extracelular (seta). Ausência da camada de cementoblastos junto a parede dentinária. HE. 160X..	54
Figura 21	Grupo III – Área de necrose do tecido conjuntivo pulpar (NE) e área de substituição da polpa por dentina reparadora (DR) e tecido osteóide (TOT). HE. 160X	54
Figura 22	Grupo III – Ausência dos odontoblastos e da Bainha epitelial de Hertwig na porção apical da raiz. Presença de infiltrado inflamatório agudo. Ligamento periodontal (LP). HE. 160X.	55
Figura 23	Grupo III – Modificação na morfologia da porção apical da raiz 25X	55
Figura 24	Fotomicrografia digitalizada e exibida na área de trabalho do software ImageLab 2000.	82
Figura 25	Demarcação da área delimitada por meio da ferramenta “Cálculo de Regiões”.	82
Figura 26	“Planilha de cálculos” do software IMAGELAB, exibindo o valor, em pixels, da área total demarcada, perímetro demarcado, e porcentagem demarcada em relação à fotomicrografia toda.	83

Tabela 1	Frequência dos escores entre os grupos em relação à ocorrência de área de revascularização, calcificação e necrose	56
Tabela 2	Resultado do teste de Dunn para a comparações individuais dos grupos experimentais para área de revascularização, necrose e calcificação pulpar	57

*Lísta de abreviaturas e
síglas*

% - Porcentagem

< - Menor

> - Maior

mg - Miligramas

µm – Micrometro

mm – Milímetro

GI – Grupo I

GII – Grupo II

GIII – Grupo III

PVPI – Polivinilpirrolidona iodo

UI – Unidades internacionais

EDTA – Ácido etilenodiaminotetraacético

pH – Potencial hidrogenionico.

1. Introdução

INTRODUÇÃO

Quedas da própria altura e acidentes envolvendo meios de locomoção estão entre as causas mais comuns na ocorrência do traumatismo facial. Entre as estruturas comprometidas no trauma de face, 5% são diagnosticadas como traumatismo dentário (1). O instinto de proteção de uma pessoa durante uma queda, tende a proteger a face com as mãos na altura dos olhos, o chamado reflexo de defesa, expondo a região bucal a uma maior frequência de choque (1).

A maior ocorrência de trauma dentário se dá em crianças e adultos jovens com idade de 7 a 12 anos, envolvendo os dentes decíduos e dentes permanentes com rizogênese incompleta (2). Nos pacientes mais jovens, a presença de ligamento periodontal menos desenvolvido e raízes incompletamente formadas favorecem o trauma de luxação (3).

Os traumas de luxação se caracterizam por envolver os tecidos periodontais e especial atenção deve ser dada a esse tipo de trauma uma vez que pode resultar em reabsorção radicular do dente comprometido (4).

Entre os tipos de trauma, a concussão e a subluxação demandam menor preocupação clínica uma vez que o comprometimento do periodonto é menos significativo (5).

No entanto, a prevalência dos traumas de luxação em crianças e pacientes jovens (18), desperta uma preocupação com a condição do tecido pulpar desses dentes que geralmente apresentam rizogênese incompleta. Isso porque, a necrose pulpar tem sido descrita como a mais comum complicação após luxação (4, 5, 6). A possibilidade de revascularização pulpar permitirá que a raiz complete o seu desenvolvimento contribuindo para sua estabilidade

funcional. Por outro lado a necrose pulpar pode estimular a reabsorção radicular inflamatória (7).

Um plano de tratamento adequado após o trauma é importante para a obtenção de um bom prognóstico. É importante conhecer os fatores que influem no processo de reparo de um dente traumatizado para que se possam obter os elementos necessários para a construção de um bom plano de tratamento (8).

A revascularização parece, em certo grau, relacionar-se com o atual estágio de rizogênese do dente. Uma vez completada a formação da raiz, a possibilidade de revascularização é mínima (9; 10; 11 e 12).

Esta possibilidade é maior em dentes com rizogênese incompleta. Os estudos sobre esse tema estão relacionados a relatos de casos clínicos, estudos in vivo em humanos (13). Alguns deles empregando recursos tecnológicos como o LDF (Laser Doppler Flowmetry) (13).

Comparada com os traumas de luxação mais severos, a luxação extrusiva possui menor índice de reabsorção radicular (1). Existem alguns estudos histológicos retratando os efeitos relativos ao processo de reparo do periodonto e tecido pulpar, em dentes permanentes jovens (rizogênese incompleta) os quais sofreram luxação extrusiva (14;15).

Além do estágio de formação da raiz (rizogênese) outros fatores podem influenciar na revascularização pulpar, tais como o grau de deslocamento, injúrias dento alveolares concomitantes, o período entre o trauma e o tratamento e a técnica de esplintagem utilizada. (16; 17).

Entender a influência desses fatores pode proporcionar subsídios para a elaboração de um melhor plano de tratamento quando da ocorrência desse tipo de trauma. Tal preocupação justifica a realização deste trabalho que irá

estudar o processo de reparo do tecido pulpar e do periodonto de incisivos de ratos submetidos à subluxação e a luxação extrusiva com diferentes níveis de deslocamento.

2. Proposição

PROPOSIÇÃO

O objetivo deste trabalho é estudo histológico e morfométrico do processo de reparo do tecido pulpar e do periodonto de incisivos de ratos submetidos à subluxação e a luxação extrusiva com diferentes níveis de deslocamento.

3. Material e método

MATERIAL E MÉTODO

Para o desenvolvimento deste trabalho, a metodologia foi analisada e aprovada pelo Comitê de Ética em Experimental Animal da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp, sendo aprovado com o número (2008-004088).

Foram utilizados no experimento, 39 ratos divididos em 3 grupos de 13 animais (*Rattus norvegicus albinus*, Wistar) machos com peso corporal entre 150 e 200 gramas. Os animais foram obtidos junto ao biotério da Faculdade de Odontologia de Araçatuba – Unesp, nele mantidos e alimentados durante todo o período do experimento, com ração sólida triturada (Mogiana Alimentos S.A.) e água à vontade.

Para realização do procedimento cirúrgico foi administrado por via intramuscular Cloridrato de Xilasina (Anasedan AgriBrands Ltda) e Cloridrato de Cetamina na dosagem de 10mg e 80mg para cada quilograma de peso corporal. Uma vez imobilizado o animal, realizou-se a anti-sepsia da porção anterior da maxila com PVPI (polivinilpirrolidona-iodo) (Riodeine – Ind. Farmac Rioquímica Ltda) e sindesmotomia do elemento dental selecionado. No grupo I foi feita a luxação do incisivo superior direito com instrumental especialmente adaptado tendo se o cuidado de não promover o seu deslocamento (FIG.1, 2).

No grupo II foi realizada a luxação e, na seqüência, a extrusão cirúrgica em 1 mm do incisivo superior direito com auxílio de instrumental especialmente adaptado (FIG. 3). No grupo III o mesmo procedimento foi realizado, ficando o dente extruído em 2 mm (FIG. 3). Para haver uma standardização no

comprimento das luxações avaliadas no nosso estudo, todas foram realizadas por um cirurgião previamente calibrado, utilizando de um mesmo instrumento odontológico previamente adaptado e posteriormente as luxações foram medidas utilizando régua milimetrada para que houvesse a padronização. Com o elemento dental extruído, a porção excedente da coroa foi removida mediante desgaste compensatório com instrumento de alta rotação e ponta diamantada (KG Sorensen, São Paulo, Brasil), para que o comprimento do elemento dental ficasse semelhante ao do elemento contralateral, e, por sua vez, não ocorresse o reposicionamento do dente involuntariamente pelo animal (FIG. 4).

Para a contenção do dente extruído, foi empregado o fio de sutura de seda 4.0 (Ethicon, Johnson & Johnson, São Paulo, Brasil), o qual contornou a porção média do incisivo extruído fixando-o ao seu contralateral. Para evitar a compressão do septo ósseo interdental, realizou-se um nó entre os incisivos. Essa contenção foi removida após 3 dias (FIG. 5).

Após o procedimento cirúrgico, os animais dos grupos I, II e III receberam dose única de 20.000 UI de penicilina G benzatina por via intramuscular

SACRIFICIO E PROCESSAMENTO DAS PEÇAS

Decorridos 60 dias do ato operatório, os animais foram sacrificados por meio de dose excessiva de anestésico. A maxila direita foi separada da esquerda na linha mediana com emprego de lâmina de bisturi nº 15. Um corte

com tesoura reta na porção distal do 3º molar possibilitou a obtenção da maxila direita contendo o dente reimplantado. Os espécimes assim obtidos foram fixados em solução de formalina a 10% por 24 horas e descalcificados em solução de EDTA a 4,13% pH 7,0.

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

ANÁLISE HISTOLÓGICA

Esta análise foi realizada empregando-se um microscópio óptico comum (AXIOLAB – ZEISS, Germany). Na lâmina, na imagem correspondente ao lado lingual da raiz foram analisados o ligamento periodontal, o cemento, a dentina e o osso alveolar. Levou-se em consideração a ocorrência da reabsorção por substituição, reabsorção inflamatória e a anquiose. O tecido pulpar também foi analisado observando as características do tecido conjuntivo, ocorrência de necrose e áreas de calcificação. No periápice observou-se a morfologia da dentina e a presença ou não da Bainha Eitelial de Hertwig.

ANÁLISE HISTOMÉTRICA

A imagem do corte longitudinal do dente foi capturado por meio de uma câmera Axio Cam MRc5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) acoplada a um Estereomicroscópio Stemi 2000 C (carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) com um aumento de 10x que permitiu uma visão

panorâmica do dente. Essa imagem foi salva como figura no programa Axio Vision 4.5 (Carl Zeiss do Brasil LTDA, Rio de Janeiro, Brasil) e utilizada para a quantificação no programa ImageLab 2000 (Laboratório de Informática Dedicado à Odontologia, LIDO, USP, São Paulo, Brasil).

Para análise histométrica foi considerada a toda a área da câmara pulpar, tendo-se como referência a extremidade da crista óssea alveolar. Inicialmente foi mensurada a área total da câmara pulpar e em seguida a área da câmara ocupada por polpa com vitalidade, com tecido pulpar necrosado e com tecido mineralizados. Os valores obtidos foram submetidos a uma regra de três considerando o valor da área total da câmara pulpar como 100%, para se conseguir o percentual de cada ocorrência. A partir destes valores foram calculadas as médias de cada grupo e aplicado o teste estatístico de acordo com teste de aderência à curva normal.

ANÁLISE QUANTITATIVA

Para a quantificação das ocorrências histomorfológicas e aplicação da análise estatística foram atribuídos escores de 1 a 4 aos diferentes eventos analisados (reabsorção inflamatória, por substituição, polpa com vitalidade, polpa necrosada e áreas de calcificação), onde 1 significa ausência do evento analisado; 2 de 0,1% a 33% do evento analisado; 3 de 33,1% a 66% do evento analisado e 4 de 66,1% a 100% do evento analisado.

ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para análise estatística foi utilizado o programa GMC 9 (Programa estatístico elaborado pelo Prof. Geraldo Maia Campos - Faculdade de Odontologia da Universidade de São Paulo – Ribeirão Preto). Os dados, inicialmente, foram submetidos ao teste de aderência à curva normal, os quais demonstraram comportamento não paramétrico. O teste de Kruskal-Wallis foi, então, utilizado para comparações múltiplas entre os grupos. Quando detectadas diferenças, o teste de Mann-Wthney foi usado para comparações individuais.

4. Resultados

RESULTADOS

Neste estudo analisou-se a superfície lingual dos incisivos considerando a característica do ligamento periodontal, osso alveolar, cimento e dentina, além da ocorrência de reabsorção inflamatória, anquilose, reabsorção por substituição e reabsorção superficial. Analisaram-se também as características histológicas do tecido pulpar, a ocorrência de inflamação, necrose e áreas de calcificação.

Grupo I (Subluxação)

Neste grupo, em todos os espécimes, a superfície radicular apresenta-se íntegra em toda extensão. O ligamento periodontal é bem vascularizado, rico em fibroblastos e fibras colágenas. As fibras colágenas estão dispostas de forma oblíqua em relação à superfície radicular e suas extremidades encontram-se inseridas na superfície cementária e na parede óssea alveolar. Em toda extensão da raiz, junto ao cimento, pode-se encontrar a camada de células semelhantes aos cementoblastos. (Fig. 6). A parede óssea alveolar é formada por tecido ósseo maduro e em algumas áreas vários osteoblastos podem ser encontrados em sua periferia.

Em 76,1% das áreas analisadas havia a presença de tecido pulpar com características de normalidade. É formado por um tecido conjuntivo frouxo ricamente vascularizado e entre os elementos celulares observados, destacam-se os fibroblastos, alguns com formato fusiforme, mas a maioria deles com formato estrelado em meio a uma abundante matriz extracelular. As fibras colágenas são delgadas e estão dispostas de forma irregular (Fig. 7). Na região

periférica da polpa, junto à parede dentinária, observa-se a camada de odontoblastos. Essas células, na porção mais incisal, se apresentam em maior número, são cilíndricas e alongadas e se dispõem em camadas (Fig. 8). Na porção mais apical da raiz se apresentam em menor número, são mais curtas e estão justapostas lado a lado na forma de coluna (Fig. 9). Na região do forame apical essas células se dispõem em duas camadas formando a bainha epitelial de Hertwig (Fig. 10). Entre a camada de odontoblastos e a dentina pode-se observar a camada de pré-dentina, caracterizada por uma pequena faixa de tecido dentinário de coloração menos intensa presente em toda extensão da parede do canal (Fig. 8). Este tecido se encontra protegido por paredes dentinárias dispostas paralelamente entre si da porção apical a porção incisal.

O forame apical é amplo e os vasos sangüíneos calibrosos e em grande número, estão dispostos longitudinalmente às paredes dentinárias, se estendendo por todo o comprimento da polpa (Fig.11). Nos espécimes em que o tecido pulpar se apresenta em menor volume, ocupa principalmente a porção apical e média da raiz (Fig. 12). Em 6 espécimes, o tecido pulpar está presente em mais de 76,7% do conduto radicular. As demais áreas do conduto pulpar estão preenchidas, na maior parte dos casos, por dentina reparadora.

Fig 6 - Grupo I - Superfície radicular com integridade, recoberta por ligamento periodontal.(LP) Disposição oblíqua das fibras colágenas indicando reinserção. Dentina (D); Tecido ósseo alveolar (TO). HE 63X.

Fig. 7- Grupo I - Tecido conjuntivo frouxo da polpa. Presença de vasos sangüíneos (VS), grande número de fibroblastos (seta) e fibras colágenas mais delgadas. Matriz extracelular amorfa em grande quantidade. HE. 63X

Fig. 8 - Grupo I - Aspecto estratificado da camada de odontoblastos entre a pré-dentina (PD) e o tecido pulpar (TP) da porção mais incisal do dente. Aspecto alongado e núcleo deslocado na extremidade do odontoblasto. H.E. 200X.

Fig 9 - Grupo I - Disposição colunar dos odontoblastos na porção apical da raiz. Formato cilíndrico e mais curto da célula. H.E. 160X.

Fig. 10 – Grupo I – Tecido conjuntivo frouxo da polpa (TP) preenchendo principalmente a porção apical e média da raiz. Dentina reparadora (D) ocupando o terço incisal da raiz. HE. 100X.

Fig. 11 Grupo I – Forame apical com a presença do tecido conjuntivo frouxo da polpa. Vasos sanguíneos junto ao fundo do alvéolo e no tecido pulpar. Alça cervical da Bainha Eitelial de Hertwig. HE. 25X.

Fig. 12 - Grupo I – Tecido conjuntivo frouxo da polpa preenchendo principalmente a porção apical e média da raiz. Dentina reparadora ocupando o terço incisal da raiz. HE. 10X.

Grupo II – (Luxação extrusiva - 1mm).

Neste grupo as mesmas características do grupo anterior, foram encontradas quanto à integridade da superfície radicular, ligamento periodontal e parede óssea alveolar. A presença de tecido pulpar com vitalidade foi menos freqüente neste grupo (39,7%) do que no grupo I. Quando presente, esse tecido também ocupa principalmente o terço apical e médio da raiz. Em 4 espécimes o tecido pulpar está presente em mais de 60,7% do conduto radicular e em outros 3 esse índice é de 8,5% a 33,2%. Em 3 espécimes nenhuma polpa com vitalidade foi encontrada, sendo que em 2 deles todo o tecido encontra-se necrosado. Neste grupo este tecido 15,4% de toda a área analisada.

Nessas áreas se observa uma diminuição no número de células, com predomínio de fibras colágenas e áreas de edema. As poucas células remanescentes apresentam alterações em suas características estruturais. Em algumas delas o citoplasma apresenta-se eosinófilo, em outras o contorno apresenta-se irregular e em algumas a membrana está ausente. Em alguns casos o núcleo apresenta-se fragmentado (cariorex) ou mesmo ausente (cariólise) (Fig. 13).

Nos espécimes em que a polpa está toda necrosada se observa também uma bolsa infra-óssea na face lingual da raiz (Fig. 14). Há também um infiltrado de polimorfonucleares neutrófilos em áreas isoladas da região periapical, junto a pontos de abcesso além da ausência da bainha epitelial de Hertwig (Fig. 15). Em maior proporção do que no grupo I, o tecido mineralizado está presente no conduto pulpar (44,9%). Em 11 espécimes, a dentina

reparadora está presente na maior parte do conduto pulpar, promovendo diminuição do seu diâmetro (Fig. 16) Com menor frequência, pode se encontrar também formações de tecido osteóide em continuidade à dentina reparadora ou ao tecido necrosado. Em três espécimes, a porção apical da raiz apresenta morfologia irregular (Fig. 17).

Fig. 13 - Grupo II – Aspecto do tecido pulpar necrosado. Ausência dos odontoblastos junto à dentina (D), remanescentes celulares com citoplasma eosinófilos (1) e ausência de núcleos. Fibras colágenas em degeneração e vasos sanguíneos vazios. HE. 160X

Fig. 14 - Grupo II – Tecido pulpar necrosado preenchendo todo o conduto radicular do incisivo central. Bolsa infra-óssea do lado lingual da raiz. 10X.

Fig. 15 - Grupo II – Extremidade apical da raiz com ausência da Bainha epitelial de Hertwig. Presença de tecido pulpar necrosado (PN) e infiltrado inflamatório agudo junto a área de abscesso (AB). 63X

Fig. 16 - Grupo II – Dentina reparadora preenchendo grande parte do conduto pulpar da porção média da raiz. HE. 25X.

Fig. 17 - Grupo II – Presença de polpa com vitalidade na porção apical da raiz. Notar o aspecto irregular da anatomia das paredes dentinárias (D). HE. 25X

Grupo III– (Luxação extrusiva - 2mm).

Neste grupo apenas um espécime apresentou reabsorção por substituição que envolveu 43% da área analisada. No local, a dentina reabsorvida é substituída por tecido ósseo alveolar. Algumas áreas de reabsorção radicular inflamatória também foram encontradas em 3 espécimes, com comprometimento de 14,7% a 79,4% da superfície radicular analisada.

Nas áreas onde a dentina está reabsorvida observa-se um tecido conjuntivo com infiltrado inflamatório de linfócitos, histiócitos além de polimorfonucleares neutrofilos (Fig. 18). Ligamento periodontal com características de integridade foi encontrado em toda superfície radicular de 6 espécimes. Em outro, os cementoblastos estão ausentes e o tecido conjuntivo é formado por fibras colágenas sem uma organização definida, além de possuir um infiltrado inflamatório mais intenso, com linfócitos e polimorfonucleares neutrófilos.

Tecido pulpar com vitalidade pode ser encontrado apenas em pequenas extensões (10,3% a 16,5%) da porção apical de 6 espécimes, conferindo o menor índice (7,5%) entre os grupos. Um índice maior de tecido pulpar necrosado foi encontrado neste grupo (28,6%). Em 2 espécimes todo o conduto radicular encontrava-se preenchido por exudato e remanescentes de células e fibras colágenas em decomposição (Fig. 19). Em outros 5 espécimes as áreas de necrose tecidual compreendiam de 0,2% a 40,5% do conduto radicular e se localizavam principalmente na porção incisal e média da raiz.

Quando adjacente à polpa com vitalidade, um infiltrado inflamatório de linfócitos, histiócitos e em alguns casos neutrófilos também estava presente entre esses tecidos. Algumas áreas de transformação hialina da matriz

extracelular também foram encontradas junto a algumas áreas de necrose (Fig. 20). Na maior parte dos casos, o conduto radicular é preenchido por tecido mineralizado (64%). Em 8 espécimes essas áreas ocupavam de 54,5% a 99,4% de todo o conduto radicular. Em algumas delas esse tecido era formado por dentina reparadora, com características semelhantes à dentina fisiológica, em outras, esse tecido se apresentava distrófico, atubular com eventuais inclusões celulares (Fig. 21). Formações de tecido osteóide também foram encontrados junto às áreas de tecido conjuntivo necrosado ou de dentina reparadora.

A bainha epitelial de Hertwig estava ausente em 5 espécimes. Em dois deles o tecido pulpar estava necrosado (Fig. 22) enquanto nos demais a polpa com vitalidade estava presente apenas na porção apical. Alterações anatômicas da porção apical da raiz foram encontradas em 5 espécimes (Fig 23).

Fig. 18 - Grupo III – Área de reabsorção da dentina com a presença de infiltrado inflamatório no ligamento periodontal. Presença de clastos junto aos pontos de reabsorção. HE. 160X.

Fig. 19 - Grupo III – Exudato, remanescentes de células e fibras colágenas do tecido pulpar em decomposição no conduto radicular. HE. 63X.

Fig. 20 - Grupo III – Áreas de alteração hialina da matriz extracelular (seta). Ausência da camada de cementoblastos junto a parede dentinária. HE. 160X.

Fig. 21 - Grupo III – Área de necrose do tecido conjuntivo pulpar (NE) e área de substituição da polpa por dentina reparadora (DR) e tecido osteóide (TOT). HE. 160X..

Fig. 22 - Grupo III – Ausência dos odontoblastos e da Bainha epitelial de Hertwig na porção apical da raiz. Presença de infiltrado inflamatório agudo. Ligamento periodontal (LP). HE. 160X.

Fig. 23 (lupa) - Grupo III – Modificação na morfologia da porção apical da raiz.

Resultados Histométricos

Os resultados médios dos escores atribuídos aos valores de revascularização, calcificação e necrose são apresentados na Tabela 1.

Tabela 1 - Frequência dos escores entre os grupos em relação à ocorrência de área de revascularização, calcificação e necrose.

Escore	Área de Revascularização			Área de Calcificação			Área de Necrose		
	SBL	LX1	LX2	SBL	LX1	LX2	SBL	LX1	LX2
1	-	2	4	9	11	2	1	2	2
2	-	5	6	-	-	4	6	3	-
3	3	3	-	-	-	2	2	4	2
4	6	3	-	-	2	2	-	4	6
N	9	13	10	9	13	10	9	13	10

Gráfico I – Comparativo entre os grupos avaliados e as ocorrências mensuradas.

Resultados Estatísticos

O teste de aderência à curva normal demonstrou comportamento não paramétrico das amostras, de forma que o teste de Kruskal-Wallis evidenciou diferença significativa entre os grupos. Os resultados estatísticos do teste de Dunn para comparações individuais são apresentados na Tabela 2.

Tabela 2 - Resultado do teste de Dunn para as comparações individuais dos grupos experimentais para área de revascularização, necrose e calcificação pulpar ($p < 0,05$)

Comparação			Área de Revascularização	Área de Necrose	Área de Calcificação
Sublux	x	Lux 1	$p < 0,01^*$	$p > 0,05$	$p > 0,05$
Sublux	x	Lux 2	$p < 0,001^*$	$p < 0,001^*$	$p < 0,05^*$
Lux 1	x	Lux 2	$p > 0,01^*$	$p < 0,001^*$	$p > 0,05$

* Diferença estatisticamente significativa.

Díscussão

DISCUSSÃO

Entre os tipos de traumatismos que acometem a estrutura de sustentação dos dentes, a concussão, a subluxação e a luxação extrusiva proporcionam menos danos se comparados aos eventos de avulsão dental (19). Nosso trabalho teve como objetivo melhor compreender o processo de reparo do trauma de luxação extrusiva e subluxação que acometem a população rotineiramente e que, são tratados muitas vezes com descaso pelo paciente, mas que podem resultar em seqüela definitiva para o mesmo, por meio de necrose pulpar e eventual perda do elemento dental (20 21)

Já é de conhecimento o protocolo para o acompanhamento, e se necessário o tratamento, de tais injúrias (18), os quais nem sempre são seguidos pelos profissionais e nem pela população. Dependendo da dimensão do trauma, o quadro clínico resultante do dente luxado muitas vezes é pouco significativo, a ponto de não trazer incômodos ao paciente. É comum que não haja perda de estrutura dentária assim como sintomatologia dolorosa importante (22), o que o leva à escolha da não necessidade de tratamento/acompanhamento do quadro.

Estudos sobre processo de reparo em trauma de luxação empregando molares de ratos (14; 23) ou mesmo incisivos (24) demonstram a viabilidade deste modelo animal para esse tipo de experimento. Optou-se pelo uso do incisivo central superior por apresentar rizogênese incompleta e pela possibilidade de padronização do nível de extrusão. Para estabilização inicial, foi empregada uma contenção semi rígida com fio de sutura. Apesar de conhecido que o uso de contenção teve uma influência negativa na revascularização de dentes com rizogênese incompleta autotransplantados

(25), acreditamos que, em função do tipo e do tempo em que foi empregada, não alteraram o reparo.

Neste estudo, a obtenção do trauma de subluxação se baseou em critérios clínicos como a presença de sangramento no perímetro do sulco gengival e uma pequena mobilidade, sem deslocamento do dente (18). A luxação extrusiva foi realizada por meio de um deslocamento parcial do dente para fora do alvéolo, tendo-se o cuidado de não promover uma avulsão dentária (26), o que poderia expor a raiz ao meio extra-alveolar, favorecendo ainda mais a contaminação, o trauma ou o ressecamento do tecido periodontal. Mesmo assim a ocorrência de reabsorção por substituição e da reabsorção inflamatória em três espécimes demonstra que pode ter havido alguma ação traumática dos procedimentos experimentais nesses animais (25). Considerando a relação da reabsorção inflamatória com a presença de bactérias (27) pode-se crer que as mesmas possam ter penetrado pelo sulco gengival na fase inicial do reparo quando o ligamento periodontal encontrava-se segmentado.

Por ser extremamente benéfico e desejável, espera-se que após o trauma de luxação ocorra a revascularização pulpar. Além de manter o conduto radicular livre de infecção, permite que o dente continue a se desenvolver e/ou a manter sua vitalidade (28). Quando se considera a revascularização pulpar após traumatismo dentário, os piores resultados são encontrados nos casos de intrusão, seguidos dos casos de extrusão e luxação lateral (29). Em humanos (30), encontraram 9% de necrose pulpar em casos de luxação extrusiva e nenhum nos casos de subluxação de dentes permanentes com rizogênese incompleta.

Neste estudo, dois espécimes dos grupos II e III apresentaram necrose de todo tecido pulpar. A presença de polpa com vitalidade ocorreu em todos os demais espécimes, e ainda que em proporções menores, indica que houve a revascularização.

Fatores como o grau de deslocamento, nível de formação da raiz e o período entre a injúria e o tratamento influenciam na ocorrência de revascularização (29). A contaminação bacteriana é outro importante fator (10) e a presença dos microorganismos na região cervical e do lúmen pulpar é condição crítica para o insucesso da revascularização (31). Sendo assim, o fato de termos trabalhado com dentes com rizogênese incompleta, mínima exposição da raiz ao meio externo, antibioticoterapia sistêmica, nos leva a crer que o grau de deslocamento da raiz foi o fator de maior influência para o resultado. Nesse caso o incremento de 1mm no nível de extrusão influiu de maneira a reduzir o índice de polpa com vitalidade nos grupos estudados. Como o dente possui o forame apical como única via de comunicação com a fonte de nutrição, a presença de um coágulo maior na região apical prolonga o período de isquemia provocando maiores danos ao tecido pulpar. Na mesma proporção, os grupos II e III apresentaram também espécimes em que a bainha epitelial de Hertwig esta ausente. Essa estrutura parece ter a capacidade de suportar períodos transitórios de isquemia e em certo grau, os danos provocados pelo trauma. Mesmo assim, o distanciamento do forame apical da fonte de nutrição do fundo do alvéolo pode levar a sua destruição (32).

Os períodos de isquemia, ainda que transitórios, levam à hipóxia no tecido pulpar. Altos níveis de hipóxia modificam bioquimicamente a matriz extracelular, especialmente o colágeno formando áreas hialinas, além de induzirem a migração, degeneração e a necrose das células (33).

Neste estudo as áreas de necrose se localizaram preferencialmente na porção mais incisal e as áreas de polpa com vitalidade se localizaram mais na porção apical e média do conduto radicular. Tal fato demonstra a importância da proximidade da fonte de nutrição para a recuperação do tecido pulpar. Vários espécimes apresentaram alteração na morfologia da porção apical. Esse quadro, também encontrado por outros autores, estaria relacionado ao trauma em que foi submetido os dentes (30; 14).

Além das áreas de necrose, formações de tecido mineralizado também foram encontrados no conduto radicular em substituição ao tecido pulpar. Mesmo não tendo havido deslocamento clinicamente detectável, pode-se observar uma diminuição na extensão do tecido pulpar no grupo I pela formação de um tecido semelhante à dentina, o que sugere que o trauma embora leve, promoveu alteração na atividade dos odontoblastos.

Segundo a literatura, são definidas como as linhas de defesa da polpa; a formação de dentina peritubular para diminuir a permeabilidade dentinária aos agentes agressores e a formação de dentina terciária, reparadora ou de irritação. Quando os odontoblastos se degeneram após a ocorrência do trauma, células mesenquimais da polpa se diferenciam em células semelhantes aos odontoblastos que posteriormente produzirão a dentina terciária. Em comparação à dentina primária, a dentina reparadora apresenta-se menos tubular, e estas se dispõem de forma irregular com lumens maiores. Seu grau de irregularidade tem sido determinado por diversos fatores, tais como o grau de inflamação presente, a extensão da injúria e o grau de diferenciação dos odontoblastos substitutos (34).

Vários autores observaram em molares de ratos jovens sob efeito de trauma de luxação de baixa intensidade, formações de dentina irregular na

polpa e que desapareciam em períodos tardios. (14) também observaram alterações no tecido pulpar como a supressão da camada odontoblástica, formação de dentina irregular e calcificações pulpares, além de malformações radiculares em molares de rato com rizogênese incompleta e submetidos a luxação extrusiva. Observou-se de outro estudo que esse tipo de luxação em incisivos de ratos também afeta os odontoblastos e leva à formação de grande quantidade de dentina reparadora (15).

Tecido semelhante ao osso também foi encontrado em vários pontos dos grupos II e III. A literatura demonstra que as calcificações podem ocorrer ao redor de células em degeneração, trombos sanguíneos ou fibras colágenas. O cálcio é depositado nos tecidos onde estão ocorrendo as alterações degenerativas. Na ausência de algum processo de degeneração tecidual, a causa da calcificação pulpar é inexplicável. Uma vez que a calcificação pode substituir os componentes celulares do tecido pulpar, pode haver uma interferência no suprimento sanguíneo, embora não haja evidências concretas a esse respeito. Pode ocorrer uma transformação cálcica, em decorrência de traumatismo dental, o que pode levar, a longo tempo, a obliteração parcial ou total da câmara pulpar. Isso se deve a deposição excessiva de tecido mineralizado, semelhante ao cimento ou ao osso, sobre as paredes dentinárias. (35).

Os resultados deste estudo demonstram que, mesmo em um trauma de luxação de baixa magnitude, pode haver transformações significativas no órgão dentário e que podem trazer consequências indesejáveis como a necrose pulpar ou a completa obliteração do conduto radicular. É importante, no entanto, observar que determinados tipos de reparo são característicos de dentes de rato (15; 14), cabendo assim algum cuidado quando da comparação

com dentes de humanos. Estudos adicionais seriam importantes para que essa relação possa ser concretizada.

Conclusões

Baseado na metodologia empregada neste estudo pode-se concluir que:

- O trauma de subluxação pode levar a uma redução na extensão de tecido pulpar com vitalidade;
- O trauma de luxação extrusiva em que o dente é deslocado em 1 mm no alvéolo, pode resultar na perda da bainha epitelial de Hertwig; alteração na morfologia do ápice radicular, redução na extensão da polpa com vitalidade pela formação de áreas de necrose e formações de tecido calcificado;
- Quando o deslocamento é de 2 mm, os eventos acima descritos ocorrem com maior frequência.

Referencias

REFERENCIAS

1 – Anderson L, Trauma in a global health perspective. Editorial. Letters to editor. Dental Traumatology 2008; 24: 267.

2 – Flores MT, Andersson L, Andreasen JO, Bakland LK, Malmgren B, Barnett F, et al. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. I. Fractures and luxations of permanent teeth. Endodontic Topics 2006; 14: 102-118.

3 - Kristerson L, Andreasen JO. Influence of root development on periodontal and pulpal healing after replantation of incisors in monkeys. Int J Oral Surg. 1984 Aug;13(4):313-23

4 - Andreasen JO; Andreasen FM. Texto e Atlas Colorido de Traumatismo Dental. 3 ed.Porto Alegre:Artmed. 2001

5 – Strobl H, Moschen I, Emshoff I, Emshoff R; Effect of luxation type on pulpal blood flow measurements: a long-term follow-up of luxated permanent maxillary incisors. Journal of Oral Rehabilitation 2005; 32: 260-2

6 – Andreasen FM, Petersen BV. Prognosis of luxated permanent teeth – the development of pulpal necrosis. Endodontic Dental Traumatology 1985; 1: 207-220.

7 – Andreasen JO. Luxation of permanent teeth due to trauma. A clinical and radiographic follow-up study of 189 injured teeth. Scandinavian Journal Dent Research 1970; 78: 273-286.

8 – Cvek M. Prognosis of luxated non-maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with gutta-percha. A retrospective study. Endodontic Dental Traumatology 1992; 8: 45-55.

9 – Andreasen JO. Relationship between surface and inflammatory resorption and changes in the pulp after replantation of permanent incisors in monkeys .Journal of Endodontics 1981; 7: 294-301.

10 – Flores MT, Andersson L, Andreasen JO, Bakland LK, Malmgren B, Barnett F, et al. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. II. Avulsion of permanent teeth. Dental Traumatology 2007; 23(3):130-136.

11 - Andreasen JO, Andreasen FM, Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth, 3rd edition. Copenhagen: Denmark: Munksgard Publishers; 1994.

12 - Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 2. Factors related to pulpal healing. Endodontics and Dental Traumatology 1995; 11(2): 59-68.

13 - Strobl H, Gojer G, Norer B, Emshoff R. Assessing revascularization of avulsed permanent maxillary incisors by laser Doppler flowmetry. *Journal American Dental Association* 2003; 12:1597-1603.

14 - Shibue T, Taniguchi K, Motokawa W. Pulp and root development after partial extrusion in immature rat molars: a histopathological study. *Endod Dent Traumatol.* 1998 Aug;14(4):174-81

15 - Aguiar MC, Arana-Chavez VE. Ultrastructural and immunocytochemical analyses of osteopontin in reactionary and reparative dentine formed after extrusion of upper rat incisors. *J. Anat.* (2007) pp.418–427

16 – Andreasen FM. Pulpal healing after luxation injuries and root fracture in the permanent dentition. *Endodontics and Dental Traumatology* 1989; 5(3):111-131.

17 - Ramsay DS, Artun J, Martinen SS. Reliability of pulpal blood flow measurements utilizing Laser Doppler Flowmetry. *Journal Dentistry Research* 1991; 70: 1427-1430.

18 - Flores MT, Andersson L, Andreasen JO, Bakland LK, Malmgren B, Barnett F, et al. Guidelines for the management of traumatic dental injuries. III. Primary teeth. *Dental Traumatology* 2007;23(4):196-202.

- 19 - Andreasen JO, Andreasen FM, Skeie A, Hjrting - 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
- 20 - Emshoff R, Moschen I, Strobl H. Treatment outcomes of dental injury diagnoses as related to blood flow measurements from teeth. *Journal of Oral Rehabilitation* 2008 35; 209–217
- 21 - Finucane D, Kinirons MJ. External inflammatory and replacement resorption of luxated, and avulsed replanted permanent incisors: a review and case presentation. *Dent. Traumatol.* 2003; 19:170-174.
- 22 - Andreasen FM Pulpal healing following acute dental trauma: clinical and radiographic review.. *Pract Proced Aesthet Dent.* 2001 May;13(4):315-22; quiz 324
- 23 - Pereira AL, de Mendonça MR, Sonoda CK, Cuoghi OA, Poi WR. Histological evaluation of experimentally induced subluxation in rat molars and its implications on the management of orthodontic treatment. *Dent Traumatol.* 2010 Feb 26 (1):37-42.
- 24 – Aguiar MC, Arana-Chaves VE. Ultrastructural and immunocytochemical analyses of osteopontin in reactionary and reparative dentine formed after extrusion of upper rat incisors. *J. Anat.* (2007) 210, pp418–427

- 25 - Kristerson L, Andreasen JO. Influence of root development on periodontal and pulpal healing after replantation of incisors in monkeys. *Int J Oral Surg.* 1984 Aug; 13(4):313-23.
- 26 - Andreasen FM, Andreasen JO. Diagnosis of luxation injuries: the importance of standardized clinical, radiographic and photographic techniques in clinical investigations. *Endod Dent Traumatol.* 1985 Oct; 1(5):160-9.
- 27 - Hammarström L, Lindskog S, Blomlöf L. Management of accidentally luxated teeth. *Suom Hammaslaakarilehti.* 1986 Oct 1;33(17):1048-53.
- 28 - Yanpiset K, Trope M .Pulp revascularization of replanted immature dog teeth after different treatment methods. *Endod Dent Traumatol.* 2000 Oct;16(5):211-7
- 29 - Emshoff R, Emshoff I, Moschen I, Strobl H. Laser Doppler flowmetry of luxated permanent incisors: a receiver operator characteristic analysis. *J Oral Rehabil.* 2004 Sep;31(9):866-72.
- 30 – Andreasen FM, Vestergaard Pedersen B. prognosis of luxated permanent teeth – the development of pulp necrosis. *Endod. Den Traumatol.* 1985;1: 207-220
- 31 - Cvek M, Lundberg M. A light microscopy study of pulps from traumatized permanent incisors with reduced pulpal lumen. *Acta Odontol Scand.* 1980;38 (2):89-94.

32 - Andreasen JO, Kristerson L, Andreasen FM. Damage of the Hertwig's epithelial root sheath: effect upon root growth after autotransplantation of teeth in monkeys. Endod Dent Traumatol. 1988 Aug;4(4):145-51.

33 – Consolaro A. Reabsorções dentárias nas especialidades clínicas. Dental Press 2006. Pág. 313

34 – Cohen S, Burns RC. Caminhos da polpa. 7ªed. Guanabara Koogan. Pag. 390.

35 - Cohen S, Burns RC. Caminhos da polpa. 7ªed. Guanabara Koogan. Pag. 395-6

Anexos

Anexo I

Comitê de ética

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

COMISSÃO DE ÉTICA NA EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL
(CEEa)

CERTIFICADO

Certificamos que o Projeto **"PROCESSO DE REPARO DE TECIDO PULPAR APÓS LUXAÇÃO EXTRUSIVA. ESTUDO HISTOLÓGICO EM RATOS"**, sob responsabilidade do Prof. Dr. **CELSO KOOGI SONODA** e colaboração de **PEDRO IVO DOS SANTOS SILVA**, está de acordo com os Princípios Éticos na Experimentação Animal (COBEA) e foi aprovado pela CEEA em 30 de maio de 2008 de acordo com o protocolo no. 2008-004088.

Araçatuba, 06 de junho de 2008

Profª Drª CRISTINA ANTONIALI SILVA

Presidente da CEEA - FOA/UNESP

Anexo II

Material e Método

FIG. 01 - Luxação do Incisivo Central Superior Direito

FIG. 02 - Elemento dental luxado

FIG. 03 - Extrusão do elemento dental nos grupos luxação 1 e 2 mm

FIG.04 - Desgaste compensatório para evitar reintrusão

FIG. 05 - Contenção semi-rígida para estabilização do coágulo

Anexo III - Imagens

Figura 24 – Fotomicrografia digitalizada e exibida na área de trabalho do software ImageLab 2000.

Figura 25 – Demarcação da área delimitada por meio da ferramenta “Cálculo de Regiões”.

ImageLab 2000 - [Estrutura(Nova Imagem - 1)]										
Arquivo Editar Visualizar Imagem Filtros Cor Planilha Referências Janela ?										
	A	B	C	D	E	F	G	H	I	J
4		Largura:	Altura:		%de regiões:	16,2%				
5		2584	1936		em relação a	área total da imagem				
6										
7		Pixel:			Densidade	R	191,309			
8		Unidade:	Largura:	Altura:	óptica média	G	111,768			
9		px	1,000000	1,000000	das áreas	B	148,480			
10					marcadas	Média	150,519			
11		Dados Estatísticos								
12		MORFOMETRIA			ABSORÇÃO DE COR			Densidade	DIÂMETROS	
13		Área	Perímetro	Fator de forma	R	G	B	da estrutura	Diâm. Transv.	Diâm. Maior
14	Número:	1	1	0	1	1	1	1	0	1
15	Soma:	808624,000	7338,327	0,000	154697040,000	90378648,000	#####	150,519	0,000	2460,148
16	Média:	808624,000	7338,327	#DIV/0!	154697040,000	90378648,000	#####	150,519	#DIV/0!	2460,148
17	Desvio Padrão:	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#####	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
18	Valor Máximo:	808624,000	7338,327	0,000	154697040,000	90378648,000	#####	150,519	0,000	2460,148
19	Valor Mínimo:	808624,000	7338,327	0,000	154697040,000	90378648,000	#####	150,519	0,000	2460,148
20	Significância 5%:	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#####	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
21	Significância 1%:	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!	#####	#DIV/0!	#DIV/0!	#DIV/0!
22										
23		Dados Individuais								
24	Número:	1								
25	Estrutura:	1	808624,000	7338,327						
26										
27										
28										
29										
30										
31										
32										
33										
34										
35										
36										
37										
38										

Figura 26 – “Planilha de cálculos” do software IMAGELAB, exibindo o valor, em pixels, da área total demarcada, perímetro demarcado, e porcentagem demarcada em relação à fotomicrografia toda.

Anexo IV

Normas para publicação

DENTAL TRAUMATOLOGY

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 of Helsinki (version, 2002 www.wma.net/e/policy/b3.htm) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. In the online submission process we also require that all authors submitting manuscripts to *Dental Traumatology* online must answer in the affirmative to a statement 'confirming that all research has been carried out in accordance with legal requirements of the study

country such as approval of ethical committees for human and/or animal research or other legislation where applicable.' Editors reserve the right to reject papers if there are doubts as to whether appropriate procedures have been used.

2.3 Clinical Trials

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

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

2.4 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations

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

2.5 Conflict of Interest

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

2.6 Appeal of Decision

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

2.7 Permissions

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

2.8 Copyright Assignment

Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere. The submission of the manuscript by the authors means that the authors automatically agree to assign exclusive copyright to Blackwell Publishing 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 Blackwell Publishing. Assignment of the copyright is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless copyright has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement; however, the form still has to be signed). A completed Copyright Transfer Agreement must be sent before any manuscript can be published. Authors must send the completed Copyright Transfer Agreement upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the Copyright Transfer Agreement at submission. Please return your completed form to:

Poh Hoon TENG

Production Editor

Wiley Services Singapore Pte Ltd

600 North Bridge Road, #05-01 Parkview Square

Singapore 188778

Alternatively a scanned version of the form can be emailed to phteng@wiley.com or faxed to +65 6295 6202. For questions concerning copyright, please visit Blackwell Publishing's Copyright FAQ

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/dt>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from Editorial Assistant Karin Andersson at dtoffice@qualitynet.net.

3.1. Getting Started

- Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 6 or higher, Netscape 7.0, 7.1, or 7.2, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/dt>
- Log-in or click the 'Create Account' option if you are a first-time user.
- If you are creating a new account.
 - After clicking on 'Create Account', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important.
 - Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next.'
 - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your area of expertise. Click 'Finish'.
- If you have an account, but have forgotten your log in details, go to Password Help on the journals online submission system <http://mc.manuscriptcentral.com/dt> and enter your e-mail address. The system will send you an automatic user ID and a new temporary password.
- Log-in and select 'Author Centre.'

3.2. Submitting Your Manuscript

- After you have logged into your 'Author Centre', submit your manuscript by clicking the submission link under 'Author Resources'.
- Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter.
- Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen.
- You are required to upload your files.

- Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer.
- Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button.
- When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button.
- To allow double blinded review, please submit (upload) your main manuscript and title page as separate files. Please upload:
 - Your manuscript without title page under the file designation 'main document'
 - Figure files under the file designation 'figures'.
 - The title page, Acknowledgements and Conflict of Interest Statement where applicable, should be uploaded under the file designation 'title page'
- Review your submission (in HTML and PDF format) before completing your submission by sending it to the Journal. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing. All documents uploaded under the file designation 'title page' will not be viewable in the html and pdf format you are asked to review in the end of the submission process. The files viewable in the html and pdf format are the files available to the reviewer in the review process.

3.3. Manuscript Files Accepted

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

3.4. Blinded Review

All manuscripts submitted to *Dental Traumatology* will be reviewed by two experts in the field. *Dental Traumatology* uses double blinded review. The names of the reviewers

will thus not be disclosed to the author submitting a paper and the name(s) of the author(s) will not be disclosed to the reviewers.

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

Please upload:

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

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

3.5. Suggest a Reviewer

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

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

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

3.7. E-mail Confirmation of Submission

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

(uranus.scholarone.com) to their whitelist.

3.8. Manuscript Status

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

3.9. Submission of Revised Manuscripts

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

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

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

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

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

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

Case Reports: *Dental Traumatology* accepts Case Reports but these will only be

published online and will not be included in the printed version unless specifically requested by the Editor-in-Chief.

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

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

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

Meetings: advance information about and reports from international meetings are welcome, but should not be submitted via the online submission site, but send directly to the journal administrator Karin Andersson at 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 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 300 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 of Helsinki (version, 2002 www.wma.net/e/policy/b3.htm) 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

Try to avoid using abstracts of articles as references. 'Unpublished observations', 'personal communications', and 'unaccepted papers' may not be used as references, although references to written, not verbal, communications may be inserted (in parentheses) in the text. Examples of correct forms of references are given below.

Journals:

Standard journal article - list all authors when six or fewer; when seven or more, list first six authors and add et al.

Examples:

Andreasen JO, Hjørting-Hansen E. Replantation of teeth. I. Radiographic and clinical study of 100 human teeth. *Acta Odontol Scand* 1966;24:263-86.

Corporate author:

American Association of Endodontists. Recommended guidelines for treatment of the

avulsed tooth. J Endod 1983;9:571.

Books and other monographs:

Examples:

Personal author(s)

Grossman LI. Endodontic practice. 10th ed. Philadelphia: Lea & Febiger; 1981. p. 176-9.

Chapter in book:

Sanders B, Brady FA, Johnson R. Injuries. In: Sanders B, editor. Pediatric oral and maxillofacial surgery. St. Louis: Mosby; 1979. p. 330-400.

5.4. Tables, Figures and Figure Legends

Tables should only be used to clarify important points. Tables must, as far as possible, be self-explanatory. The tables should be numbered consecutively with Arabic numerals.

Figures: All graphs, drawings and photographs are considered figures and should be numbered in sequence with Arabic numerals and abbreviated Fig(s). Each figure should have a legend and all legends should be numbered correspondingly and included at the end of the manuscript. Text on the figures should be in capitals. Figures should be planned to fit the proportions of the printed page.

All figures and artwork must be provided in electronic format. Please save vector graphics (e.g. line artwork) in Encapsulated Postscript Format (EPS) and bitmap files (e.g. half-tones) or clinical or in vitro pictures in Tagged Image Format (TIFF). JPEG files are also acceptable. Detailed information on our digital illustration standards can be found at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>

Unnecessary figures and parts (panels) of figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected

Figures divided into parts should be labelled with a lower-case, boldface, roman letter, a, b, and so on, in the same type size as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and unit, and follow SI nomenclature common to a particular field. Unusual units and abbreviations should be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc)

Preparation of Electronic Figures for Publication: Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible).

For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Further information can be obtained at Blackwell Publishing's guidelines for figures: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>.

Check your electronic artwork before submitting it:
<http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>

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.

Figure Legends should be a separate section of the manuscript, and should begin with a brief title for the whole figure and continue with a short description of each panel and

the symbols used: they should not contain any details of methods

5.5. Supporting Material

Publication in electronic formats has created opportunities for adding details or whole sections in the electronic version only. Authors need to work closely with the editors in developing or using such new publication formats.

Supporting Material, such as data sets or additional figures or tables, that will not be published in the print edition of the journal, but which will be viewable via the online edition, can be submitted.

It should be clearly stated at the time of submission that the Supporting Material is intended to be made available through the online edition. If the size or format of the Supporting Material is such that it cannot be accommodated on the journal's Web site, the author agrees to make the Supporting Material available free of charge on a permanent Web site, to which links will be set up from the journal's website. The author must advise Blackwell Publishing if the URL of the website where the Supporting Material is located changes. The content of the Supporting Material must not be altered after the paper has been accepted for publication.

The availability of Supporting Material should be indicated in the main manuscript by a paragraph, to appear after the References, headed 'Supporting Material' and providing titles of figures, tables, etc. In order to protect reviewer anonymity, material posted on the authors Web site cannot be reviewed. The Supporting Material is an integral part of the article and will be reviewed accordingly.

Extra issues - Larger papers or monographs may be published as additional issues (numbered as the ordinary issues), the full cost being paid by the author. Further information may be obtained from the editor.

6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal.

6.1 Proof Corrections

The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working e-mail address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following web site:
www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. This will enable the file to be opened, read on screen and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof.

6.2 Early View (Publication Prior to Print)

Dental Traumatology is covered by Blackwell Publishing's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

6.3 Author Services

Online production tracking is available for your article through Wiley-Blackwell's Author Services. Author Services enables authors to track their article - once it has been accepted - through the production process to publication online and in print. Authors can check the status of their articles online and choose to receive automated e-mails at key stages of production. The author will receive an e-mail with a unique link that enables them to register and have their article automatically added to the system. Please ensure that a complete e-mail address is provided when submitting the manuscript. Visit <http://authorservices.wiley.com/bauthor/> for more details on online production tracking and for a wealth of resources including FAQs and tips on article preparation, submission and more.\

For more substantial information on the services provided for authors, please see Wiley-Blackwell Author Services

6.4 Author Material Archive Policy

Please note that unless specifically requested, Blackwell Publishing will dispose of all hardcopy or electronic material submitted two months after publication. If you require the return of any material submitted, please inform the editorial office or production editor as soon as possible.

6.5 Offprints and Extra Copies

A PDF offprint of the online published article will be provided free of charge to the corresponding author, and may be distributed subject to the Publisher's terms and conditions. Additional paper offprints may be ordered online. Please click on the following link, fill in the necessary details and ensure that you type information in all of the required fields: Offprint Cosprinters. If you have queries about offprints please email offprint@cosprinters.com

6.6 Note to NIH Grantees

Pursuant to NIH mandate, Wiley-Blackwell will post the accepted version of contributions authored by NIH grant-holders to PubMed Central upon acceptance. This accepted version will be made publicly available 12 months after publication. For further information, see www.wiley.com/go/nihmandate