

Dissertação de candidatura ao grau de doutor apresentada à  
Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra

**Orientadores:**

Senhora Professora Doutora Eunice Virgínia Palmeirão Carrilho

Senhora Professora Doutora Maria Filomena Botelho

A elaboração deste trabalho decorreu no Departamento de Medicina Dentária, Estomatologia e Cirurgia Maxilo-Facial da Universidade de Coimbra, na Unidade de Cirurgia Experimental da Estação Zootécnica Nacional em Santarém - Pólo do Instituto de Tecnologia Biomédica, no Instituto Biofísica e Biomatemática – IBILI – da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, no Instituto de Anatomia Patológica da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra e no Biocant em Cantanhede.

A Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra, não aceita qualquer responsabilidade em relação à doutrina e à forma desta dissertação (Regimento da Faculdade de Medicina de Coimbra, 1931, art.º 108, § único)

Aos meus filhos  
Hugo e Andrea



Aos meus pais  
À Dora  
A todos os meus



Aos meus amigos



Ao Departamento de Medicina Dentária, Estomatologia e Cirurgia  
Maxilo-Facial. À Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.



## **AGRADECIMENTOS**

Este espaço é dedicado àqueles que deram a sua contribuição para que esta dissertação fosse realizada. A todos eles e aos que não estão mencionados deixo aqui o meu agradecimento sincero.

Em primeiro lugar agradeço à Sr.<sup>a</sup> Professora Doutora Eunice Carrilho pela sua amizade e pela forma como me orientou, me apoiou e sempre me incentivou para progredir na carreira académica. As notas dominantes da sua orientação foram além da sua riqueza técnica e científica, o seu empenho permanente, as suas recomendações e ensinamentos, bem como a disponibilidade permanente para a elaboração deste trabalho.

À Sr.<sup>a</sup> Professora Doutora Filomena Botelho um agradecimento muito especial pela sua amizade e pela forma como soube transmitir a sua vasta experiência em investigação científica. A sua riqueza científica e técnica, os seus ensinamentos, críticas e sugestões foram determinantes para a execução desta dissertação.

Ao Sr. Professor Doutor João Luis Maló de Abreu, com quem temos tido o grato privilégio de colaborar e que sempre nos apoiou na progressão académica. Pelo empenho e dedicação que sempre nos incutiu, para a construção de um

Departamento de Medicina Dentária Estomatologia e Cirurgia Maxilo-Facial de referência, espero continuar a merecer a sua confiança.

Ao Sr. Professor Dr. Leite da Silva, com quem tivemos o privilégio de trabalhar, pelo apoio e possibilidade que nos deu, para a execução do trabalho clínico desenvolvido no Departamento de Medicina Dentária Estomatologia e Cirurgia Maxilo-Facial, bem como pela sua amizade.

À Sr<sup>a</sup> Professora Doutora Lina Carvalho, e à equipa do Instituto de Anatomia Patológica, pela disponibilidade concedida e por tão sabiamente nos ajudar a interpretar os resultados histológicos.

À Sr<sup>a</sup> Professora Doutora Helena Figueiredo pelo seu entusiasmo e ajuda nas interpretações histológicas.

Ao Sr. Professor Doutor Ramiro Mascarenhas e a toda a equipe do Instituto Zootécnico de Santarém, pela forma cuidada como trataram os animais utilizados na experimentação e pela colaboração notável durante a fase cirúrgica.

Ao Sr. Professor Doutor Carlos Faro, à Sr<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Conceição Egas e à Sr<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Paula Gomes pela disponibilidade e colaboração nos estudos de biologia molecular.

Ao Sr. Professor Doutor Emanuel Ponciano e à Sr<sup>a</sup> Dr<sup>a</sup> Bárbara Oliveiros, pela importante colaboração no tratamento estatístico dos dados, deste trabalho.

À Sr.<sup>a</sup> D.Cláudia Brites pela ajuda na organização e recolha do material experimental.

À Mestre Dr<sup>a</sup> Margarida Abrantes pela ajuda e colaboração na utilização de radiofármacos.

Ao Sr. Dr. Francisco Sanches e restantes membros da equipa de Endodoncia, pela colaboração, espírito de camaradagem e paciência durante algum período da minha ausência.

À Sr.<sup>a</sup> D. Maria José Bera e à Sr.<sup>a</sup> D. Maria de Lurdes Mendes, pelo apoio prestado na recolha de material bibliográfico.

A todos os docentes e funcionários do Departamento de Medicina Dentária, pela amizade e disponibilidade que numa forma simpática sempre me concederam.

Por último, mas sempre em primeiro, agradeço à minha família pelo amor, o apoio e o incentivo que sempre me dedicaram.



“A ciência pode apenas determinar o que é,  
não o que deve ser”  
(Albert Einstein)



## ÍNDICE

AGRADECIMENTOS .....	11
----------------------	----

### CAPÍTULO I: **INTRODUÇÃO**

1. EMBRIOLOGIA E ANATOMIA DOS DENTES E DOS TECIDOS PERIODONTAIS .....	27
1.1. Complexo pulpo-dentinário .....	27
1.2. Cimento - ligamento periodontal - osso alveolar .....	43
2. ASPECTOS BIOLÓGICOS DOS TRANSPLANTES E REIMPLANTES DENTÁRIOS .....	51
2.1. Definição e mecanismo de reabsorção .....	57
2.2. Classificação das reabsorções dentárias .....	59
2.2.1. Reabsorção dentária interna .....	60
2.2.2. Reabsorção radicular externa .....	71
2.3. Etiologia .....	73
3. CONSIDERAÇÕES CLÍNICAS DOS TRANSPLANTES DENTÁRIO....	99
3.1. Técnica cirúrgica .....	102
3.2. Controlo pós-operatório .....	113
3.3. O prognóstico .....	119

### CAPÍTULO II: **ESTUDO EXPERIMENTAL EM MODELO ANIMAL**

1. OBJECTIVO .....	131
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	132
2.1. Amostra .....	132
2.2. Manutenção dos animais .....	132
2.3. Materiais .....	133
2.3.1. Derivado das proteínas da matriz do esmalte Emdogain®	133
2.3.2. Soro fisiológico .....	134
2.4. Métodos e técnicas cirúrgicas .....	134

2.4.1. Fórmula dentária do cão .....	135
2.4.2. Protocolo anestésico .....	135
2.4.3. Constituição dos grupos de estudo .....	136
2.4.4. Extracção dentária e ampliação dos alvéolos .....	138
2.4.5. Transplantes dos dentes .....	141
2.5. Período pós-operatório .....	144
2.5.1. Medicação .....	144
2.5.2. Recuperação da anestesia e manutenção .....	145
2.5.3. Alimentação .....	146
2.5.4. Adminis. de corantes para avaliar a mineralização <i>ex-vivo</i> .....	146
2.5.5. Colheita dos espécimes .....	147
2.6. Métodos de análise .....	149
2.6.1. Radiografia digital directa .....	149
2.6.2. Estudos funcionais com radiofármacos .....	149
2.6.2.1. Preparação e controlo de qualidade de $^{99m}\text{Tc}$ HMDP ...	151
2.6.2.2. Estudos <i>in vivo</i> .....	154
2.6.3. Amostras descalcificadas .....	157
2.6.3.1. Histologia .....	157
2.6.3.2. Histomorfometria .....	158
2.6.4. Amostras calcificadas .....	161
2.6.4.1. Quantificação com RT-PCR .....	161
2.6.4.2. Histomorfometria .....	166
2.7. Análise estatística dos dados .....	168
3. RESULTADOS .....	169
3.1. Observação clínica .....	169
3.2. Avaliação radiográfica .....	171
3.2.1. Radiografia de transplantes com soro fisiológico .....	172
3.2.1.1. Alvéolos recém-formados – Grupo A2 .....	172
3.2.1.2. Alvéolos em cicatrização – Grupo B2 .....	173
3.2.2. Radiografias de transplantes com Emdogain® .....	174
3.2.2.1. Alvéolos recém-formados – Grupo A1 .....	174
3.2.2.2. Alvéolos em cicatrização – Grupo B1 .....	174
3.3. Amostras descalcificadas .....	175

3.3.1. Observação com microscópio óptico .....	175
3.3.1.1. Dentes não transplantados (controlo negativo) .....	176
3.3.1.2. Dentes transplantados com soro fisiológico .....	185
a. Alvéolos recém formados – Grupo A2 .....	185
b. Alvéolos em cicatrização – Grupo B2 .....	189
3.3.1.3. Dentes transplantados com Emdogain® .....	196
a. Alvéolos recém-formados – Grupo A1 .....	196
b. Alvéolos em cicatrização – Grupo B1 .....	202
3.3.2. Histomorfometria .....	206
3.3.2.1. Comparação entre os grupos com SF (A2 e B2) .....	206
3.3.2.2. Comparação entre os grupos com EMD (A1 e B1) .....	207
3.3.2.3. Comparação entre os grupos de transplantes para alvéolos recém-formados (A1 e A2) .....	208
3.3.2.4. Comparação entre os grupos de transplantes para alvéolos em cicatrização (B2 e B1) .....	209
3.4. Amostras calcificadas .....	210
3.4.1. Estudos funcionais com radiofármacos .....	210
3.4.1.1. Dentes não transplantados .....	211
3.4.1.2. Dentes transplantados com soro fisiológico .....	211
3.4.1.2.1. Alvéolos recém-formados – Grupo A2 .....	211
3.4.1.2.2. Alvéolos em cicatrização – Grupo B2 .....	212
3.4.1.3. Dentes transplantados com Emdogain® .....	212
3.4.1.3.1. Alvéolos recém-formados – Grupo A1 .....	212
3.4.1.3.2. Alvéolos em cicatrização – Grupo B1 .....	213
3.4.1.4. Comparação entre as técnicas e os materiais .....	214
3.4.2. Quantificação do mRNA com RT-PCR .....	215
3.4.2.1. Dentes não transplantados (controlo negativo) .....	216
3.4.2.2. Dentes transplantados com soro fisiológico .....	216
3.4.2.2.1. Alvéolos recém-formados – Grupo A2 .....	216
3.4.2.2.2. Alvéolos em cicatrização – Grupo B2 .....	218
3.4.2.3. Dentes transplantados com Emdogain® .....	220
3.4.2.3.1. Alvéolos recém-formados – Grupo A1 .....	220
3.4.2.3.2. Alvéolos em cicatrização – Grupo B1 .....	222

3.4.3.3.3. Comparação do ALP e do FGF nos grupos ....	224
3.4.3.4. Expressão de RANKL no ligamento periodontal. Comparação entre os dentes transplantados com EMD e com SF	226
3.4.3.5. Expressão de RANKL no ligamento periodontal. Comparação entre os dentes transplantados pela técnica A e B	227
3.4.3.6. Expressão de VEGF no tecido pulpar. Comparação entre os dentes transplantados com EMD e SF .....	228
3.4.3.7. Expressão de VEGF no tecido pulpar. Comparação entre os dentes transplantados pela técnica A e B .....	228
3.4.4. Observação com microscópio de fluorescência .....	229
3.4.4.1. Dentes não transplantados (controlo negativo).....	230
3.4.4.2. Dentes transplantados com SF (controlo positivo) ....	230
3.4.4.2.1. Alvéolos recém-formados – Grupo A2 .....	231
3.4.4.2.2. Alvéolos em cicatrização – Grupo B2 .....	232
3.4.4.3. Dentes transplantados com EMD .....	233
3.4.4.3.1. Alvéolos recém-formados – Grupo A1.....	233
3.4.4.3.2. Alvéolos em cicatrização – Grupo B1 .....	234
3.4.4.4. Morfometria .....	235

### CAPÍTULO III: ESTUDO CLÍNICO

1. OBJECTIVO .....	237
2. MATERIAL E MÉTODOS .....	239
2.1. Amostra .....	239
2.2. Materiais .....	241
2.3. Métodos e técnicas cirúrgicas .....	242
2.3.1. Constituição dos grupos de estudo .....	242
2.3.2. Preparação do leito receptor .....	243
2.3.3. Transplante dos dentes .....	244
2.4. Período pós-operatório .....	247
2.4.1. Medicação .....	247
2.4.2. Alimentação .....	248
2.4.3. Consultas de controlo .....	248
2.5. Métodos de análise .....	249

2.5.1. Exame radiográfico .....	249
2.5.2. Testes de sensibilidade térmica e de percussão .....	251
2.5.3. Profundidade de sondagem e testes de mobilidade .....	251
2.6. Análise estatística dos dados .....	253
3. RESULTADOS .....	253
3.1. 1º Controlo – 10 dias .....	253
3.2. 2º Controlo – 30 dias .....	255
3.3. 3º Controlo – 3 meses .....	258
3.4. 4º Controlo – 6 meses .....	260
3.5. 5º Controlo – 12 meses .....	262
3.6. 6º Controlo – 24 meses .....	264
3.7. 7º Controlo – 36 meses .....	265
3.8. Resultados globais .....	266
CAPÍTULO IV: <b>DISCUSSÃO</b>	
1. ESTUDO EXPERIMENTAL .....	276
2. ESTUDO CLÍNICO .....	299
CAPÍTULO V: <b>CONCLUSÕES</b>	
1. ESTUDO EXPERIMENTAL .....	313
2. ESTUDO CLÍNICO .....	314
CAPÍTULO VI: <b>RESUMO</b>	
1. ESTUDO EXPERIMENTAL .....	316
2. ESTUDO CLÍNICO .....	318
CAPÍTULO VII: <b>SUMMARY</b>	
1. EXPERIMENTAL STUDY .....	322
2. CLINICAL STUDY .....	324
BIBLIOGRAFIA .....	327
ANEXOS .....	357



## CAPÍTULO 1

### Introdução

---

Desde tempos imemoriais, que o Homem procura tratamento, para as mais diversas patologias dentárias, causadoras de intenso sofrimento. Em 1530 surge em Leipzig (Alemanha), a primeira publicação científica, exclusivamente dedicada à medicina dentária (Malvin E.R., 1985).

Decorridos dois séculos, (1723), Pierre Fauchard, pioneiro e fundador da medicina dentária moderna, é autor de uma obra onde sintetiza tudo o que no Ocidente se sabia sobre medicina dentária (Malvin E.R., 1985).

Desde então e até aos nossos dias, a medicina dentária tem sofrido uma evolução constante, ocorrendo no século XX a sua divisão em várias especialidades, sendo a Endodontia criada em 1964 (Malvin E.R., 1985). A sua evolução compreende várias fases: época do empirismo (séc I – 1910); época da infecção focal (1910–1928); época do ressurgimento endodôntico (1928- 1936); época da concretização da endodontia (1936-1928) e a época da simplificação da técnica endodôntica (1940 até hoje) (Bramante C., *et al.*, s.d.).

O desenvolvimento de novas tecnologias, no campo do diagnóstico e dos seus meios auxiliares, permitiu que com a radiologia digital fosse possível a diminuição do tempo de aquisição da imagem. Esta, quando comparada com a radiologia convencional, apresenta maior facilidade de armazenamento de imagens, possibilita a sua transmissão electrónica, utiliza menor dose de radiação e tempo de exposição mais reduzido (Levin M.D., 2006).

Adicionalmente ao processamento de imagem, com o advento dos localizadores electrónicos do ápex, tornou-se possível determinar com alguma fiabilidade a junção cimento-dentinária, permitindo obter melhores resultados nos tratamentos endodônticos (Steffen H., *et al.*, 1999).

Outro passo importante no campo da endodôncia, foi a introdução de instrumentos confeccionados a partir de ligas em níquel-titânio e a instrumentação com rotação contínua. Estes vieram alterar os conceitos de preparação biomecânica e facilitar o trabalho do operador, contribuindo igualmente para o sucesso da terapêutica (Wolcott J., 2003). No que se refere à obturação dos canais radiculares, o avanço também se tem feito sentir, com o aparecimento de técnicas de obturação termoplástica de guta-percha nas suas diversas variantes (Combe E.C., 2001; Gomez A.V., 2003).

De importância considerável, o microscópio cirúrgico com ampliação e iluminação próprias, veio facilitar a localização da entrada dos canais radiculares, aumentando as probabilidades de sucesso nos tratamentos endodônticos (Arens D.E., 2003). Associado à utilização de novas pontas ultra-sónicas, tornou possível o retratamento de canais que antes era difícil de concretizar, reduzindo assim a necessidade de cirurgia endodôntica nestes casos (Johnson & Witherspoon, 2006).

Uma área que no entanto tem permanecido inóspita, é a da prevenção e tratamento das reabsorções radiculares.

As perdas dentárias accidentais, por cáries, iatrogénicas ou ainda ausência devido a agenesias, têm levado ao desenvolvimento da implantologia. Apesar dos implantes dentários serem actualmente um procedimento comum, há situações clínicas em que a sua colocação está contra-indicada, ou o paciente não pode suportar os custos financeiros.

Uma reflexão sobre a evolução da implantologia em detrimento de outro tipo de terapêuticas como os transplantes e os reimplantes dentários, permite concluir que a causa principal se deve ao receio da perda da peça dentária por reabsorção radicular. Em relação a estas terapêuticas, podemos referir que Gräbner, já no séc.XVIII, (Hamburgo), descreve a utilização de transplantes de dentes do siso (Hoffmann A.W., 1981). Ainda no mesmo século, Hirschfeld aborda o insucesso da utilização de hetero-transplantes, que devido à reabsorção radicular por necrose do ligamento periodontal, acabavam por ser perdidos (Hoffmann A.W., 1981).

O desenvolvimento de áreas médicas, como a imunologia e a histopatologia, permitiu realizar e controlar a rejeição de órgãos transplantados.

Em medicina dentária, se compreendermos o mecanismo da reabsorção dentária e a forma de a prevenir, iremos com certeza abrir novos caminhos, essencialmente nos casos de traumatismos, de avulsões, de transplantes e de reimplantes. Desta forma, com os conhecimentos biológicos e terapêuticos necessários ao controlo das reabsorções dentárias, vislumbra-se uma mudança na medicina dentária actual, podendo os reimplantes e os transplantes serem utilizados como procedimentos clínicos mais rotineiros. Assim, aumenta o leque de opções terapêuticas e procedimentos de que o médico dentista pode dispor, para substituir dentes ausentes, principalmente nos casos de agenesias, de traumatismos e de perdas precoces por cáries em pacientes jovens.

Pelas razões expostas, os transplantes dentários são um tema actual, que exigem por parte do clínico uma abordagem e conhecimentos profundos, para que possam ser realizados com

sucesso. Embora os bons resultados clínicos dos transplantes, sejam com frequência referidos na literatura, a relação entre o enxerto dentário e os tecidos do leito alveolar receptor, bem como a sua caracterização quanto à vascularização e inflamação, continuam sem explicação. É este tema que pretendemos explorar com o presente trabalho.

Este trabalho é pois composto por três partes.

A primeira teve como objectivo enquadrar o problema e fazer uma revisão, tão profunda quanto possível, sobre os vários tecidos que compõe a estrutura dentária. Nesta, abordaremos ainda, as técnicas dos transplantes dentários, a sua cicatrização e a etiologia dos insucessos.

A segunda parte consistiu num estudo experimental desenvolvido no modelo animal, o cão de raça *Beagle*, no qual foram realizados transplantes de dentes autólogos. Utilizaram-se as proteínas derivadas da matriz do esmalte, com duas técnicas cirúrgicas diferentes. No final do período experimental, fizeram-se estudos moleculares, histológicos, histomórficos e da biodistribuição de um radiofármaco. A interpretação dos resultados, dos espécimenes colhidos, no final do período experimental, possibilitou o conhecimento dos processos biológicos, que ocorreram nos tecidos dos transplantes dentários.

A terceira parte consistiu num estudo clínico, onde são efectuados auto-transplantes dentários. Fizeram-se avaliações clínicas e radiográficas das alterações pulpares e das superfícies radiculares, dos dentes transplantados.

## **1. EMBRIOLOGIA E ANATOMIA DOS DENTES E DOS TECIDOS DE SUPORTE**

Para entendermos o processo decorrente dos transplantes dentários, é necessário ter presente a anatomia e a embriologia do complexo pulpo-dentinário e das estruturas de suporte do órgão dentário. Assim, a sua formação ocorre quando as células da crista neural migram para a zona do futuro arco dentário, induzindo o espessamento do epitélio, que invagina para o mesênquima e dá origem à lâmina dentária. Os dentes em desenvolvimento encontram-se envolvidos em duas estruturas que são o folículo dentário e a bainha epitelial de Hertwig. A primeira, é constituída por tecido conjuntivo que separa o dente em formação do alvéolo, considerando-se funcionalmente, como o órgão formador da inserção periodontal, desempenhando um papel decisivo durante a erupção dentária (Ferraris, 2004). A segunda ocorre apicalmente por proliferação das células epiteliais e desaparece após a formação da raiz. A região apical da raiz contém células ectomesenquimatosas, progenitoras de fibro-blastos, pré-odontoblastos e pré-cementoblastos.

Esquemmatizando podemos considerar que o órgão de esmalte vai dar origem ao esmalte, a papila dentária origina o complexo pulpo-dentinário e o folículo dentário é o responsável pela formação do cimento, do periodonto e do osso alveolar (Ferraris, 2004).

### **1.1. COMPLEXO PULPO – DENTINÁRIO**

A polpa dentária é o tecido responsável pela formação da dentina. Encontra-se contida dentro da câmara pulpar e do sistema de canais radiculares. Embora a polpa seja mais activa durante o desenvolvimento e erupção dentária, ela mantém-se activa

enquanto o dente permanecer vital, levando à formação de dentina secundária e a responder às agressões externas tais como a cárie, os traumatismos e os procedimentos operatórios, formando dentina terciária ou reacional (Berkovitz *et al.*, 2004).

### **O tecido pulpar**

O tecido pulpar é constituído por um tecido conjuntivo especializado, altamente vascularizado e inervado, que tem como papel fundamental a formação de tecido duro sobre as paredes da cavidade pulpar. Esta estrutura que vai desde a coroa até ao ápex, continua-se na região apical com os tecidos peri-apicais do ligamento periodontal (LPD). No tecido pulpar encontram-se os odontoblastos, que são células que revestem a camada de pré-dentina, e que representam o elo de ligação entre a polpa e a dentina (Mjör I.A., *et al.*, 2004). O tecido pulpar ou polpa dentária é o responsável pela formação da dentina. Ele está contido dentro do espaço pulpar, que inclui a câmara e os canais radiculares. Na constrição apical do canal radicular a polpa torna-se contínua com o ligamento periodontal (Berkovitz *et al.*, 2004).

O tecido pulpar é formado por vários componentes tais como: as células; as fibras; a substância fundamental; os nervos e os vasos.

As células da polpa encontram-se embebidas numa matriz extracelular de fibras, onde são predominantes os fibroblastos, existindo também, junto aos vasos, células mesenquimatosas indiferenciadas.

Os odontoblastos (OdB) completamente diferenciados são células específicas alongadas, dispostas junto à camada de dentina que enviam os seus prolongamentos para o interior do tubulos dentinários numa extensão que varia entre 0,2 a 0,7 mm. Constituem assim, uma estrutura biológica e funcional, conhecida como complexo pulpo-dentinário (Ferraris, 2004). O odontoblasto é

uma célula pós-mitótica que não se pode dividir e que continua a produzir dentina durante todo o período de tempo em que o dente permaneça vital.

Factores de crescimento, principalmente os membros da família dos factores de crescimento transformante  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ), desempenham um papel fundamental no controlo da actividade sintética dos odontoblastos, durante o desenvolvimento dentário (Berkovitz *et al.*, 2004). O TGF- $\beta_1$ , pertence à família dos factores de crescimento que se une à fibronectina, inibindo a proliferação e promovendo a diferenciação dos odontoblastos e a síntese de matriz da dentina.

Nas últimas duas décadas existe evidência acumulada que sugere haver uma interacção espacial e temporal entre os receptores da superfície celular, as moléculas da matriz extracelular e os factores de crescimento, como a fibronectina e o TGF-  $\beta_1$ , que fornecem informação suficiente para coordenarem a diferenciação dos odontoblastos. Os odontoblastos, tanto nos dentes íntegros, como nos comprometidos, expressam receptores de membrana para a família dos TGF- $\beta$ , muito superiores aos encontrados em outras células da polpa (Berkovitz *et al.*, 2004).

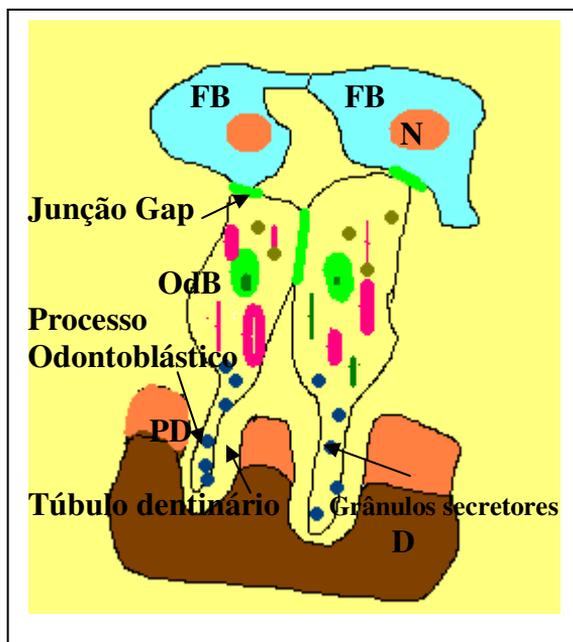
Adicionalmente, o papel das proteínas derivadas da matriz do esmalte na regulação e desenvolvimento dos odontoblastos, não é clara, havendo contudo estudos de microscopia electrónica que identificaram a presença destas proteínas, em vesículas dos OdB, em contacto com a lâmina basal (Garant, 2003).

Os odontoblastos podem participar na resposta pulpar inicial a lesões, expressando a interleucina 8 (IL-8), que é um factor quimiotáctico pró-inflamatório e promotor do recrutamento de neutrófilos (Berkovitz *et al.*, 2004).

Num estudo realizado por Zehnder *et al.*, (2003), foram avaliados através de *Polimerase Chain Reaction* em tempo real

(RT-PCR), os níveis de IL-1, IL-6 e IL-8 em dentes extraídos a pacientes, em que, uns apresentavam pulpíte irreversível e outros eram assintomáticos e saudáveis. Concluíram que nas polpas sintomáticas os níveis de mRNA da IL-1 $\alpha$  e da IL-1 $\beta$  não aumentavam, enquanto o da IL-6 e da IL-8 se encontravam aumentados (Zehnder *et al.*, 2003).

Os fibroblastos (FB) são as células mais abundantes dos tecidos conjuntivos não mineralizados. Na polpa dentária apresentam um contorno estelar, com junções, ligando fibroblastos a fibroblastos, ou fibroblastos a odontoblastos (Berkovitz *et al.*, 2004) (Fig.1.1).



**Fig.1.1**  
Desenho esquemático de odontoblastos (OdB) maduros em secreção. Notar também a junção entre fibroblastos (FB) e odontoblastos. (D) Dentina; (PD) Pré-dentina.

Estas células apresentam um citoplasma basófilo, são ricas em organelos, os quais intervêm na síntese proteica, segregando os precursores das fibras de colagénio, de reticulina, de elastina, e

ainda de substância fundamental da polpa (Ferraris, 2004). Estudos *in vitro* demonstraram que os fibroblastos pulpares são capazes de formar tecido duro, após estimulação adequada. Este é um componente importante da resposta pulpar à agressão, sendo este tecido, mais semelhante ao osso do que à dentina (Berkovitz *et al.*).

Estas células respondem ao peptídeo geneticamente relacionado com a calcitonina (CGRP), produzindo proteínas ósseas morfogenéticas (BMP), um factor envolvido na produção dos tecidos duros, como refere Berkovitz (2004). Ainda segundo este autor, eles são capazes de produzir uma variedade de factores de crescimento e de citocinas, com funções de controlo do desenvolvimento e de resposta pulpar à lesão. Estes conhecimentos têm tido grande aplicação na engenharia de tecidos e na biomimética, úteis para a reconstrução de tecidos lesados ou perdidos, a qual tem tido um grande desenvolvimento em medicina, nomeadamente nas perdas ósseas, com a utilização de substitutos de enxerto de osso como é o AMB/P-15 entre outros, que revelam uma forte capacidade osteogénica (Guerra F., 2003).

Para o desenvolvimento desses procedimentos, é necessário e fundamental, possuir conhecimentos precisos sobre os processos moleculares e celulares envolvidos no desenvolvimento dentário e em particular na diferenciação dos odontoblastos.

O desenvolvimento dentário deve-se a uma interacção, entre o ectomesênquima derivado da crista neural e os tecidos derivados da ectoderme, através de um controlo levado a cabo por vários sinais moleculares. Estes sinais são os responsáveis pela citodiferenciação dos odontoblastos na segregação da dentina e dos ameloblastos na segregação do esmalte (Tziafas *et al.*, 2000).

Depois de ser reconhecido o envolvimento de moléculas peptídicas no processo de diferenciação celular, após lesões e em

tecidos saudáveis, membros pertencentes à família dos factores de crescimento transformantes (TGF- $\beta$ ), proteínas ósseas morfogenéticas (BMP) e outros factores de crescimento, têm merecido especial atenção.

Os factores de crescimento são proteínas segregadas pelas células, que se ligam a receptores específicos da superfície celular. A subsequente interacção entre a membrana e componentes do citoplasma conduzem a uma série de eventos, chamados de transdução, que resultam na alteração da expressão dos genes. Estas alterações activam o crescimento e a diferenciação celular (D'Souza 2002).

As células ectomesenquimatosas de reserva da polpa, são células indiferenciadas, com a capacidade de se diferenciarem em OdB ou em FB, conforme o estímulo que recebem (Ferraris, 2004). Gronthos *et al.*, (2002) realizaram um estudo *in vivo* com células pulpares, no qual isolaram *stem cells*, que transplantaram associadas a hidroxiapatite, para a região dorsal, subcutânea de ratos. Efectuaram análise histoquímica e com *PCR* e concluíram que *in vivo*, as *stem cells* da polpa são capazes de formarem dentina ectópica, associada a tecido pulpar assim como de se diferenciar em odontoblastos, em adipócitos e em células do tipo neural.

São vários os factores de crescimento que sugerem a indução da diferenciação de odontoblastos *in vivo*. Os factores de crescimento da insulina (insuline growth factor-IGF) são factores multifuncionais, presentes na dentina, que regulam o crescimento, a diferenciação e a expressão das proteínas da matriz extracelular, mas não a diferenciação dos odontoblastos (Palioto *et al.*, 2004).

Honda *et al.*, (2006), num estudo experimental, em cães de raça Beagle efectuaram a colheita de 16 primeiros molares não

erupcionados. Em 8 dentes removeram toda a estrutura mineral, transplantando o tecido remanescente, enquanto os outros 8 restantes, considerados como controlo, foram transplantados sem remoção desse tecido. Fizeram avaliação histológica, radiológica e imunohistoquímica, da osteopontina, osteonectina e osteocalcina concluindo que as células odontogénicas isoladas são capazes de levar à formação de osso e de dentina.

As *stem cells*, na actualidade, têm sido objecto de grande interesse, na utilização da regeneração de tecidos, devido a possuírem características únicas. Existem como células indiferenciadas, que mantêm o seu fenotipo, até serem estimuladas e se diferenciarem. Têm a capacidade de se auto-replicar, durante períodos prolongados. Mantêm o potencial de diferenciação múltiplo, durante a vida do organismo, com um espectro associado à regeneração vascular e nervosa da polpa. (Nakashima M., *et al.*, 2006). Vários estudos referem a existência de *stem cells* na polpa, com propriedades de diferenciação em odontoblastos funcionais, mas, apesar de não se diferenciarem em osteoblastos, possuem propriedades para regularem uma actividade osteoindutiva (Miura M., *et al.*, 2003).

Uma grande diversidade de marcadores de diferenciação celular, tem sido utilizada em culturas de células pulpare e na mineralização *in vitro*, como a síntese da fosfatase alcalina, a osteonectina, a osteopontina e a sialoproteína da dentina. Estudos semi-quantitativos por *RT-PCR*, de células pulpare em cultura, demonstram que a síntese da fosfatase alcalina, aumenta antes da mineralização dos tecidos, o que condiciona a diminuição da expressão de fosfoglicoproteína da matriz extracelular. Neste estudo, é sugerido que, a sialoproteína da dentina pode ser

utilizada como marcador da diferenciação dos odontoblastos (Habelitz *et al.*, 2005). O principal componente fibroso da polpa dentária são as fibras de colagénio de tipo I. Elas constituem 60% do total do colagénio pulpar e o seu diâmetro aumenta com a idade. As fibras de reticulina são formadas por pequenas fibrilhas de colagénio de tipo III e as de elastina, muito raras, encontram-se nas paredes dos vasos sanguíneos aferentes (Ferraris, 2004). Uma característica das lesões pulpares e periapicais consiste na degradação da matriz extra-celular. Como componente celular, os macrófagos, células de defesa, com núcleo excêntrico e abundantes mitocôndrias, vacuolos e lisosomas, representam a maioria. Além destas células, também existem, linfócitos, eosinófilos e mastócitos, sendo mais evidentes quando coexistem, processos inflamatórios (Ferraris, 2004).

As metaloproteinases são colagenases que têm a capacidade de degradar as proteínas da matriz extra-celular, incluindo o colagénio, tanto em condições fisiológicas como patológicas. A sua actividade é regulada em parte pela sua inter-acção com inibidores tecidulares das metaloproteinases da matriz (TIMPs) (Wisithphrom K., *et al.*, 2006). Palosaari *et al.*, (2000), referem que as metaloproteinases (MMP) são segregadas por neutrófilos, por fibroblastos e por células endoteliais. Estes autores num estudo realizado *in vitro*, utilizaram tecido pulpar de dentes terceiros molares íntegros, extraídos para avaliarem a expressão das metaloproteinases 8 (MMP-8) e o efeito do factor de crescimento transformante  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ), por análise imunohistoquímica e por *polymerase chain reaction (PCR)*. Deste estudo concluíram que o TGF- $\beta_1$  reduz a produção de MMP-8 para valores entre os 10 e os 25% nas amostras de controlo e que a MMP-8 se encontra nos odontoblastos. Assim, sugerem que as células derivadas do

mesênquima do complexo pulpo-dentinário expressam, sintetizam e activam as MMP-8, e que em conjunto com os odontoblastos participam na organização da matriz orgânica da dentina, antes da sua mineralização. A MMP-8 é uma colagenase, derivada dos odontoblastos, responsável pela actividade colagenolítica observada na dentina. O seu substrato de eleição é o colagénio tipo I e é considerada a enzima colagenolítica mais frequente na dentina humana (Sulkala M., *et al.*, 2007). Shin *et al.*, (2002), avaliaram os níveis de metaloproteinases (MMP-1,-2,-3), e a sua distribuição em polpas inflamadas e em lesões peri-apicais. Os tecidos pulpar e peri-apical foram obtidos a partir de tratamentos endodônticos e de cirurgias peri-apicais. Concluíram que, na pulpíte aguda, a concentração de MMP-1 era significativamente superior à dos outros grupos. Ainda em estudos imuno-histoquímicos, verificaram que a concentração das MMP-3 nas pulpites agudas e nas lesões peri-apicais era superior à existente nas pulpites crónicas e nos casos de controlo (Tabela 1.1).

**Tabela 1.1.** Concentração média (ng/mg de proteína)  $\pm$  desvio padrão (SD), das MMP-1, MMP-2 e MMP-3, na pulpíte aguda, na pulpíte crónica e nas lesões peri-apicais (Adaptado de Shin *et al.*, (2002).

Grupo	MMP-1 (ng/mg de proteína)	MMP-2 (ng/mg de proteína)	MMP-3 (ng/mg de proteína)
Controlo (n=10)	120,4 $\pm$ 58,4	22,2 $\pm$ 20,4	108,6 $\pm$ 71,6
Pulpíte aguda (n=12)	713,2 $\pm$ 273,8	81,4 $\pm$ 42,6	1072,0 $\pm$ 734
Pulpíte crónica (n=12)	386,6 $\pm$ 153,2	45,4 $\pm$ 40,4	308,0 $\pm$ 276,6
Lesão peri-apical (n=10)	388,2 $\pm$ 141,0	47,6 $\pm$ 26,2	648,2 $\pm$ 604,2

Concluíram que as MMP se expressam tanto na polpa inflamada como nas lesões peri-apicais e que têm um papel importante quer na inflamação pulpar como na periapical, especialmente na pulpíte sintomática.

Wisithphrom *et al.*, (2006), realizaram um estudo *in vitro* em que utilizaram tecido pulpar de dentes terceiros molares, saudáveis que extraíram. Avaliaram os efeitos do factor de necrose tumoral  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), das interleucina 1  $\beta$  (IL-1 $\beta$ ) e 6 (IL-6) e do factor transformante  $\beta_1$  (TGF- $\beta_1$ ) na degradação do colagénio. Concluíram que o TNF- $\alpha$ , e a IL-1 $\beta$  degradavam de forma significativa o colagénio, à medida que aumentava a sua concentração. A IL-6, apresentou também resultados semelhantes, na degradação do colagénio. Através de *PCR* concluíram que, o tecido pulpar expressa mRNA para diversas MMP e para inibidores tecidulares da MMP, (TIMPs). Ainda em relação ao *PCR* concluíram que o TNF- $\alpha$  aumenta significativamente a expressão das MMP-1 e MMP-7, bem como de forma ligeira a MMP-2 e a TIMP-2; a IL-1 $\beta$  sobre-regula a expressão da MMP-1, da MMP-3, da MMP-7 e da MMP-12; a IL-6 aumenta a expressão da MMP-1, da MMP-3 e da MMP-14; o TGF- $\beta_1$  aumenta a expressão de mRNA das MMP-3 e MMP-11, bem como um ligeiro aumento da MMP-2 e da TIMP-2 (Wisithphrom *et al.*, 2006). Estes resultados sugerem que estas citocinas afectam a destruição pulpar, em parte, por regulação diferencial das MMPs e das TIMPs.

A interleucina-1 $\alpha$  (IL-1 $\alpha$ ), é uma citocina importante como mediadora da inflamação. Ela está implicada em diversas patologias crónicas da polpa e nas periodontites apicais. É segregada por vários tipos de células, como os macrófagos, os monócitos, os linfócitos e os fibroblastos, dando início e amplificando a cascata da inflamação que conduz à destruição celular.

Wisithphrom *et al.*, (2006) avaliaram o efeito da IL-1 $\alpha$  no tecido pulpar. Concluíram que os fibroblastos da polpa expressam mRNA

para diversas MMPs e TIMPs e que a IL-1 $\alpha$  aumenta os níveis de MMP-1 e MMP-3. Estes resultados sugerem que durante a inflamação, a IL-1 $\alpha$  leva à destruição do tecido pulpar, em parte porque regula a expressão das MMPs e das TIMPs pelos fibroblastos.

As macromoléculas que formam o componente não fibroso da matriz extra-celular podem ser classificadas em dois grupos: os glicosaminoglicanos (GAG) e as moléculas de adesão. Os GAG são cadeias polissacáridas hidrofílicas, que quando ligados a proteínas formam glicoproteínas (Berkovitz *et al.*, 2004). Os proteoglicanos são membros de uma família de glicoproteínas, integradas ou ligadas a membranas das células e que actuam como moléculas de adesão. Outras moléculas de adesão que existem na polpa são as integrinas, como a laminina e a fibronectina. Nos odontoblastos, quer os seus prolongamentos, quer o seu corpo celular, encontram-se revestidos por uma camada de laminina (Berkovitz *et al.*, 2004).

Arteríolas e vénulas entram na polpa dentária, através do *forâmen apical*, acompanhados de fibras nervosas. As arteríolas, são de maior calibre do que as vénulas, seguindo um trajecto rectilíneo até à zona coronária, onde se ramificam formando um plexo capilar sub-odontoblástico com a função de nutrir os odontoblastos (Ferraris, 2004).

A polpa é um tecido ricamente vascularizado, possuindo muitos vasos na camada sub-odontoblástica que não são funcionais, mas que se podem preencher de sangue, quando necessário, originando uma hiperémia local (Mjör *et al.*, 2004). A visualização por microscopia óptica, mostrou que a região central da polpa é altamente vascularizada, com fibras nervosas a acompanhar as arteríolas, contrariamente ao que ocorre com as vénulas (Dahal *et*

*al.*, 1973). A drenagem linfática efectua-se para os linfáticos do LPD, que por sua vez vão drenar nos respectivos gânglios submentonianos e cervicais profundos (Ferraris, 2004).

O tecido pulpar é muito enervado e caracteriza-se por possuir uma dupla inervação: sensitiva e autónoma (Ferraris, 2004). A distribuição e os tipos de nervos da polpa têm merecido uma grande atenção nos últimos tempos, devido à sua relação com a resposta inflamatória pela libertação de neuropeptídeos (Mjör *et al.*, 2004). As fibras autónomas são fibras simpáticas, amielínicas, do grupo C, que têm uma função vasomotora. Por sua vez, as fibras sensitivas pertencem ao grupo A, são mielinizadas, de condução rápida e têm como função, a transmissão da dor (Ferraris, 2004).

Na polpa dentária existe uma variedade considerável de neuropeptídeos, sendo o peptídeo relacionado com o gene da calcitonina (CGRP), o mais abundante. Ele é sintetizado nos corpos celulares dos neurónios do nervo trigémio, possuindo uma potente acção vasodilatadora. O factor de crescimento neural (NGF), e os receptores do NGF, têm sido encontrados na periferia da polpa dentária. A expressão de ambos, aumenta na polpa lesada (Berkovitz *et al.*, 2004).

### **A dentina**

A dentina é o esqueleto estrutural do dente, constituindo o maior volume estrutural da peça dentária (Ten Cate, 2003). Durante a sua formação, a dentina cervical e radicular encontra-se protegida pela bainha epitelial de Herwig que antes da sua fragmentação depositou uma camada de proteínas semelhantes às proteínas do esmalte, onde predominam as amelogeninas (Consolaro & Hidalgo, 2002). Essa camada proteica, também se denomina cimento intermediário ou afibrilar.

As células da bainha epitelial de Hertwig e os seus produtos, participam ainda nos processos de indução para a diferenciação celular e da síntese proteica, durante a fase da cementogénese (Consolaro & Hidalgo, 2002).

A dentina, na sua porção coronária encontra-se protegida por esmalte, enquanto a nível radicular se encontra protegida por cimento (Ferraris, 2004). Interiormente a dentina, delimita a cavidade pulpar, que contém no seu interior a polpa dentária. Essa cavidade pulpar, que tem sido controversa e objecto de estudo, é atapetada interiormente pelos odontoblastos (OdB), que enviam para o interior da dentina os processos ou prolongamentos odontoblásticos, os quais penetram a distâncias variáveis, (Thomas H.F., 1984; Goracci G., *et al.*, 1999; Garant P.R., 2003).

Os processos dos odontoblastos foram pela primeira vez descritos por Tomes em 1865, referindo que os seus prolongamentos iam até à junção amelo dentinária. No entanto, de acordo com os estudos desenvolvidos por Goracci G., *et al.*, (1999), em pré-molares humanos, extraídos por motivos ortodônticos, concluíram que os odontoblastos penetravam na dentina até uma distância de 0,5 a 0,7 mm, o que está de acordo com os resultados obtidos por Thomas H.F., (1984).

Na classificação histotopográfica, considera-se que existem diversos tipos de dentina: a pré-dentina, a dentina primária, a dentina secundária e a terciária. A dentina primária é a primeira dentina que se forma, constituindo a maior parte do órgão dentário, e delimita interna e perifericamente a câmara pulpar dos dentes formados (Ten Cate 2003); a pré- dentina que é uma capa de 25-30 µm de espessura, constitui a parte mais interna da dentina e encontra-se em contacto com o tecido pulpar. Esta camada de pré-dentina, não mineralizada, é de extrema importância para manter a integridade da dentina, uma vez que ao ocorrer a sua

mineralização, a dentina fica vulnerável à acção dos clastos e deste modo à reabsorção (Ten Cate, 2003). A dentina secundária, forma-se depois dos odontoblastos formarem a dentina primária e mesmo após a erupção dentária continuam a formá-la, mas a um ritmo mais lento. Esta dentina, secundária ou fisiológica, não se distingue da dentina primária (Ten Cate, 2003). A dentina terciária, também designada por dentina reparadora ou reaccional, forma-se em resposta da polpa aos vários estímulos de agressão tais como: as cáries e os procedimentos operatórios. Esta é apenas produzida pelos odontoblastos afectados directamente pelo estímulo (Ten Cate, 2003). É importante salientar que os odontoblastos têm a capacidade de formar dentina, durante toda a vida em que o dente permanece vital. Quando os odontoblastos são destruídos, as células mesênquimatosas da polpa têm a capacidade de se diferenciarem em células tipo odontoblastos (Mjör *et al.*, 2001), repondo a sua função.

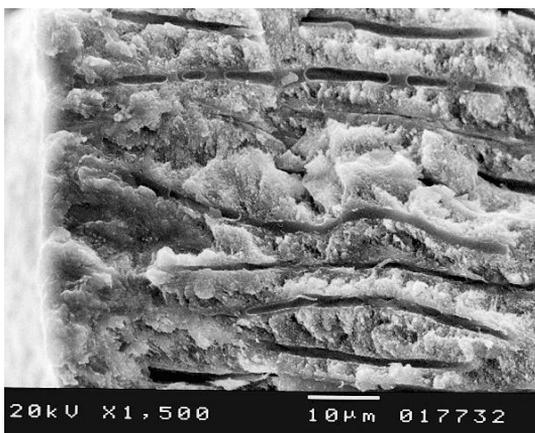
A dentina é composta por, cerca de 70% de material inorgânico, 20% de material orgânico e de 10% de água (Berkovitz *et al.*, 2004). O componente mineral inorgânico apresenta-se sobre a forma de hidroxiapatite de cálcio. A matriz orgânica é constituída por fibras de colagénio tipo I e tipo III. Além do colagénio, a dentina também apresenta na sua composição proteínas como a decorina, a osteopontina e a osteonectina, cujas funções estão ligadas à migração, à adesão, à proliferação e à diferenciação celular (Berkovitz *et al.*, 2004).

Tal como no osso, a dentina também apresenta factores de crescimento, que não tendo uma função de renovação constante como naquele tecido, podem estar ligados à formação de dentina terciária após a agressão por cárie. Esses factores incluem o factor

de crescimento tipo insulina (IGF) e o factor de crescimento transformante  $\beta 1$ , (TGF- $\beta 1$ ) (Farges *et al.*, 2003).

O TGF- $\beta 1$ , é um factor de crescimento, que influencia a resposta imunitária em tecidos de mamíferos, por controlo da proliferação celular, quimiotaxia, síntese e degradação da matriz extra-celular, degradação celular e apoptose (He *et al.*, 2005). Em seres humanos, ele é produzido por secreção dos odontoblastos, aumentando a sua expressão quando existe uma lesão de cárie. Além disso, também se encontram armazenados na matriz de dentina, podendo estimular a resposta do hospedeiro às lesões de cárie. Quando ocorre esta situação, forma-se dentina terciária pelos odontoblastos primários ou pelas células que entretanto se diferenciaram (Sloan & Smith 1999). Sob o ponto de vista clínico, o TGF- $\beta 1$ , pode constituir uma estratégia de procedimento em protecções pulpares directas, (Farges *et al.*, 2003).

Os túbulos dentinários são canais que existem no interior da dentina e que apresentam um diâmetro de mais de 2  $\mu\text{m}$  (Fig.1.2)



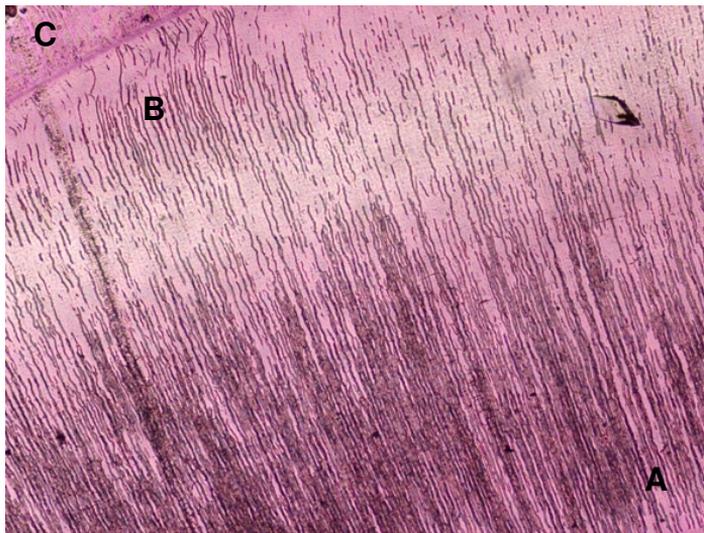
**Fig.1.2**

Fotografia com microscópio electrónico de varrimento, de tubulos dentinários próximos do espaço pulpar, cortados longitudinalmente.  
Ferreira M.M., Carrilho E.V.P., Leitão J. Rev.Port. Estomat. Med. Dent e CMF 2006; 47(4): 241-248.  
(MEV 20kv x1500).

Percorrem toda a espessura da dentina e cada um aloja no seu interior o processo odontoblástico (Ten Cate, 2003). Estes têm a forma de cone invertido, com o maior diâmetro de cerca de 2,5  $\mu\text{m}$ ,

localizado a nível pulpar e o menor com cerca de  $0,9 \mu\text{m}$ , a nível da junção amelo-dentinária ou cemento-dentinária (Smith, 2002).

O aumento do diâmetro dos túbulos, em torno da cavidade pulpar, tem como consequência um aumento da permeabilidade dentinária, permitindo que sejam invadidos pelos produtos bacterianos que se formam quando existe necrose pulpar, provocando efeitos nefastos a nível dentinário (Ferraris, 2004). A nível pulpar o número de túbulos dentinários é maior, correspondendo a  $50000/\text{mm}^2$ , do que a nível da junção com o cimento ou com o esmalte, com cerca de  $20000/\text{mm}^2$  (Berkovitz *et al.*, 2004) (Fig. 1.3).



**Fig.1.3**

Fotografia com microscópio óptico de corte descalcificado mostrando os túbulos dentinários cortados longitudinalmente. (A) Túbulos próximos do espaço pulpar, (B) túbulos próximos do cimento (C). (PAS x100).

## 1.2. CEMENTO-LIGAMENTO PERIODONTAL-OSSO ALVEOLAR

O periodonto é definido como o conjunto das estruturas de suporte do dente, constituído por cimento, ligamento periodontal e osso alveolar.

Estes tecidos, formam um tipo de articulação especial que se chama gonfose e que tem origem no ectomesênquima (Ten Cate, 2003).

### O cimento

O cimento é um tecido conjuntivo mineralizado e avascular, que deriva do ectomesênquima do saco folicular. À semelhança do esmalte que envolve a dentina ao nível da coroa, o cimento recobre a dentina a nível da raiz (Berkovitz *et al.*, 2004).

De todos os tecidos mineralizados, o cimento é aquele que menos se conhece quanto à sua origem, à sua diferenciação e à sua dinâmica celular.

Estruturalmente a sua composição é semelhante à do osso, com cerca de 50% de hidroxiapatite (componente inorgânico) e o restante, principalmente colagénico de tipo I, (componente orgânico), que permitem a inserção de fibras do ligamento periodontal (Ten Cate, 2003).

Nos dentes jovens a camada de cimento é reduzida e aumenta gradualmente de espessura com a idade. A menor espessura de cimento encontra-se contudo, a nível do colo dentário, com cerca de 10 a 15  $\mu\text{m}$ , e apicalmente com 50 a 200  $\mu\text{m}$ . A principal função do cimento é a de fornecer inserção às fibras do ligamento periodontal. A organização dos tecidos, ao nível da junção com o esmalte, é feita de diversas formas. A forma mais frequente é o cimento a recobrir o esmalte, seguido por esmalte e cimento a contactarem topo a topo e ainda a existência de um espaço entre o

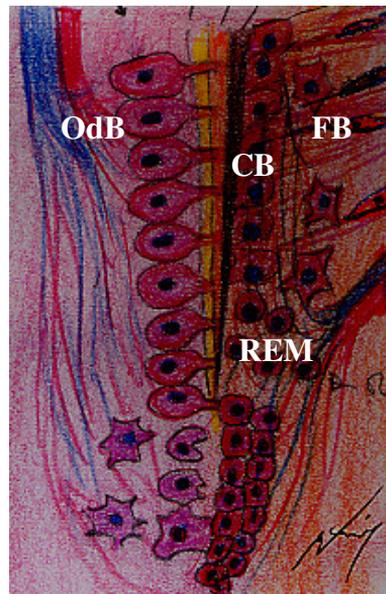
esmalte e o cimento, com e sem exposição de dentina (Neuvald *et al.*, 2000).

Os cementoblastos são células que se encontram no ligamento periodontal e que estão separados da camada de cimento por uma camada de tecido cementoide não mineralizado. Ao microscópio electrónico, podemos observar um núcleo excêntrico irregular, com um ou dois vacúolos, abundantes mitocôndrias e aparelho de Golgi bem desenvolvido (Ferraris, 2004). Quando os cementoblastos ficam envolvidos no cimento mineralizado, denominam-se cementócitos, apresentando prolongamentos citoplasmáticos e um núcleo pequeno.

A matriz extracelular do cimento contém cerca de 46-50% de matéria inorgânica, 22% de matéria orgânica e 32% de água. O principal componente inorgânico do cimento é o fosfato de cálcio que se encontra sobre a forma de cristais de hidroxiapatite. A matriz orgânica é formada por fibras de colagénio tipo I e a substância fundamental é constituída por proteoglicanos, glicosaminas e glicoproteínas (Ferraris, 2004).

A formação de dentina e do cimento, na raiz do dente, dependem da presença da bainha epitelial de Hertwig. À medida que esta cresce em direcção apical, induz as células periféricas da camada interna a diferenciarem-se em odontoblastos. Estes, uma vez maduros, segregam a matriz orgânica da dentina radicular. Esta camada de pré-dentina quando atinge a espessura de 4-5 µm, inicia o processo de mineralização (Ferraris, 2004).

As células indiferenciadas do ectomesênquima, aumentam de tamanho e diferenciam-se a seguir em cementoblastos para darem início ao processo de deposição da matriz orgânica do cimento, sobre a dentina formada (Ferraris, 2004), (Fig.1.4).



**Fig. 1.4**  
Formação radicular e detalhe da bainha epitelial de Hertwig (Adaptado de Ferraris 2004). Cementoblastos (CB); fibroblastos (FB); odontoblastos (OdB); restos epiteliais de Malassez (REM).  
Ferreira MM, Carrilho EVP, Leitão J. Rev.Port. Estomat. Med. Dent e CMF 2006 ; 47(4): 241-248.

Depois da raiz formada, a bainha epitelial de Hertwig desaparece e as células provenientes da sua desagregação permanecem no LPD do adulto, constituindo os restos epiteliais de Malassez (Bosshardt & Nanci, 2004).

Existem dois tipos de cimento, com características e espessuras diferentes: o cimento acelular e o celular. O cimento acelular ou primário forma-se antes da erupção dentária e deposita-se lentamente com maior predomínio ao nível do terço cervical, enquanto que o cimento celular prevalece na região apical dentária começando a ser depositado quando este entra em oclusão, sendo a sua deposição um processo rápido, que leva à inclusão de cementócitos no seu interior. Esta deposição contínua, ocorre durante toda a vida da peça dentária, constituindo uma forma de compensação do desgaste oclusal, podendo levar à obliteração completa do *forâmen* apical (Ferraris, 2004).

O cimento, apesar de possuir uma composição semelhante à do osso, é mais resistente à reabsorção osteoclástica. Graças a essa diferença, é possível a movimentação ortodôntica do dente através do osso, aplicando forças de pequena intensidade. Se for aplicada pressão excessiva ocorre uma resposta inflamatória, que é responsável pela reabsorção radicular.

Existem vários estudos sobre as reabsorções radiculares de causas ortodônticas, atribuindo-lhes a designação de reabsorções iatrogênicas (Brezniak, 1993; Harris, 1993; Blake, 1995; Ghafari, 1997; Harris, 2000).

Os cementoclastos são células que possuem uma morfologia semelhante à dos osteoclastos. A maior resistência do cimento à reabsorção, deve-se ao recobrimento deste por uma camada não mineralizada de fibras de colagénio, que impede o contacto dos cementoclastos à parte mineral. As características estruturais do cimento permitem o desempenho de várias funções como a de constituir um meio de retenção e inserção das fibras do LPD, a de controlar a largura do espaço periodontal, a de transmitir as forças oclusais à membrana periodontal, a de constituir um meio de reparação da superfície radicular e a de compensar o desgaste dos dentes que ocorre por atrição (Ferraris, 2004).

### **O ligamento periodontal (LPD)**

O LPD é constituído por um tecido conjuntivo denso, entre feixes de fibras de colagénio que se estendem desde o cimento até ao osso alveolar (Ferraris, 2004), (Fig.1.5).

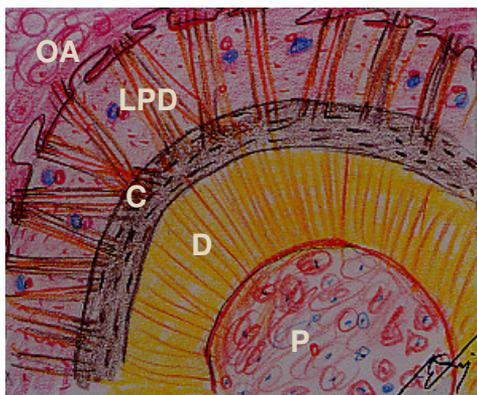
**Fig.1.5**

Diagrama da inserção das fibras do ligamento periodontal (LPD), entre osso alveolar (OA) e o cemento radicular (C). Dentina (D); Polpa (P). Ferreira MM, Carrilho EVP, Leitão J. Rev.Port. Estomat. Med. Dent e CMF 2006; 47(4): 241-248.

Estas fibras penetram no cemento e no osso alveolar, como fibras de Sharpey, sendo mais numerosas as que entram no cemento do que as que penetram no osso.

O espaço periodontal, que ronda os 0,2 mm, tem sido descrito como uma ampulheta, com a zona mais estreita localizada ao nível da região media da raiz, próxima do fulcro. O ligamento periodontal tem como funções a ligação do dente ao osso alveolar, manter a posição funcional do dente, manter e reparar o cemento dentário e o osso alveolar e também o controlo neurológico da mastigação, através dos seus mecanoreceptores. (Berkovitz *et al.*, 2004).

As principais fibras do ligamento periodontal (LPD) são de colagénio de tipo I (mais de 70%) e de tipo III. Além destas fibras, no espaço do LPD, tal como em outros tecidos conjuntivos, há células como fibroblastos, osteoblastos, cementoblastos e matriz extracelular (Berkovitz *et al.*, 2004).

Os fibroblastos são as células mais abundantes do LPD e têm a sua origem na crista neural. São os responsáveis pela síntese e degradação do colagénio e possuem um nível elevado de proliferação e de expressão de fosfatase alcalina (Garant, 2003).

Goseki *et al.*, (1995), avaliaram a actividade da fosfatase alcalina no ligamento periodontal (LPD), recolhido em 3<sup>os</sup> molares

humanos extraídos e concluíram que as células do LPD expressam um elevado nível de fosfatase alcalina e que possuem um papel importante no metabolismo do fosfato inorgânico. Referem ainda que a deficiência de fosfatase alcalina, na hipofosfatemia, leva à perda prematura de dentes.

Os fibroblastos do LPD, têm a capacidade de aumentar o número de células ósseas e de cementoblastos e são os responsáveis pela produção de cimento acelular. São também necessários, além dos restos epiteliais de Malassez, para manter a largura do espaço periodontal, prevenindo assim o contacto do osso com o cimento e a anquilose (Garant, 2003).

### **O osso alveolar**

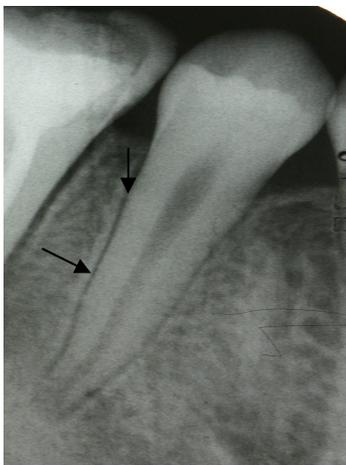
Os processos alveolares correspondem à zona dos ossos maxilar e mandibular, que contém os alvéolos dentários onde se inserem os dentes (Ten Cate, 2003).

O tecido ósseo é um tecido activo, em constante remodelação, sendo constituído por células que mantêm o equilíbrio entre a formação e a reabsorção óssea, cujas células osteoprogenitoras são os pré-osteoblastos e os pré-osteoclastos. Os pré-osteoblastos, têm a sua origem em células pluripotenciais semelhantes aos fibroblastos, diferenciando-se depois em osteoblastos. Os osteoblastos são células activas na produção de fosfatase alcalina, osteocalcina, sialoproteínas e osteopontina, que levam à formação de osso (Fergusson D.B., 1999).

Os pré-osteoclastos são células que derivam dos monócitos e possuem um complexo de Golgi muito desenvolvido. Os osteoclastos são células de grande tamanho, com vários núcleos, que libertam ácidos orgânicos e enzimas hidrolíticas lisossômicas, que provocam degradação das componentes mineral e orgânica da matriz óssea (Fergusson D.B., 1999).

Alguns dos diversos componentes segregados pelos osteoblastos, são poderosos marcadores osteoblásticos. Estes incluem a osteocalcina, (OC) e o factor de transcrição osteoblástica, (cbfa-1). A actividade da fosfatase alcalina, embora não sendo unicamente específica do osso, é um indicador confiável da diferenciação osteoblástica (Berkovitz *et al.*, 2004).

O osso alveolar, na parte que contacta com o dente, é chamado de lâmina dura ou cribiforme, onde se inserem as fibras do ligamento periodontal e que na radiografia periapical aparece como uma fina lâmina mais radiopaca (Ferraris, 1999) (Fig.1.6).



**Fig. 1.6**

Radiografia peri-apical, realizada a nível do 1º pré-molar mandibular direito, onde se observa o espaço periodontal e a lâmina dura.

O osso é um tipo de tecido conjuntivo, mineralizado, constituído percentualmente em relação ao peso, por 60% de matéria inorgânica, 25% de matéria orgânica e 15% de água. A matriz orgânica possui cerca de 90% de colagénio do tipo I e pequena quantidade do tipo III, para além de proteínas não colagénias tais como a osteonectina, a osteopontina, a sialoproteína óssea e diversos factores de crescimento. Estas proteínas, juntamente com os factores de crescimento ósseos (BMP), factores de crescimento derivado das plaquetas (PDGF), factores de crescimento dos

fibroblastos (FGF) e factores de crescimento semelhantes à insulina (IGF), possuem uma actividade biológica importante no ciclo vital do osso (Noff *et al.*, 1989; Berkovitz *et al.*, 2004).

As células características do osso são os osteoblastos e os osteoclastos, existindo também células da medula hematopoiética e dos vasos que o irrigam. Os osteoblastos derivam de células pluripotenciais semelhantes aos fibroblastos, que depois de formarem o tecido osteoide, algumas ficam incluídas na matriz óssea, onde apresentam uma forma estrelada, conhecidas como osteócitos (Berkovitz *et al.*, 2004).

Os osteoclastos (OsC) são células de grande tamanho, (até 100  $\mu\text{m}$  de diâmetro), multinucleadas, derivadas de células hematopoiéticas, da linha dos monócitos/ macrófagos e que provocam a reabsorção óssea. São células ricas em anidrase carbónica e fosfatase ácida resistente ao tartrato (TRAP) (Suda *et al.*, 1996).

Os pré-osteoclastos expressam na sua membrana moléculas de adesão, as caderinas, que participam na sua fusão para darem origem aos osteoclastos (OsC). Como referimos, os OsC estão envolvidos na reabsorção óssea. Possuem um bordo em escova, pelo qual se unem ao osso, formando uma zona selada, através das integrinas  $\alpha\beta_v3$ . Nessa zona é criado um micro-ambiente ácido, onde são degradados os cristais de hidroxiapatite, seguida da degradação das proteínas da matriz, por acção de uma protease, a catepsina K. Desta forma, desempenham um papel importante na osteoclastogénese. Eles segregam determinados factores solúveis, que induzem os pré-osteoclastos a diferenciarem-se em osteoclastos. De entre esses factores, o RANKL constitui o principal elemento chave na indução da diferenciação dos percursores dos osteoclastos (OsC) e também no estímulo da actividade de reabsorção dos OsC maduros (Berkovitz *et al.*, 2004).

A osteoprotegerina é uma proteína circulante, que tal como o RANK, pertence à família dos factores de necrose tumoral (TNF). Este é constituído por uma sequência de 380 aminoácidos e sintetizado pelos OsB. Quando se fixa ao RANKL, impede que este se ligue ao RANK e que desta forma, ocorra a diferenciação dos OsC (Berkovitz *et al.*, 2004).

Kobayashi *et al.*, (2000), avaliaram o efeito do factor de necrose tumoral- $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ), no estímulo e na diferenciação dos osteoclastos, por mecanismos independentes do RANKL-RANK. Utilizaram células da medula óssea, recolhidas de tibia de ratos e avaliaram o papel do TNF- $\alpha$ , na diferenciação dos osteoclastos. Concluíram que o TNF- $\alpha$  aumenta a diferenciação dos osteoclastos, por união directa ao RANK, ou por estímulo de factores endógenos que interferem com o RANK e ainda que os OC induzidos pelo TNF- $\alpha$ , formam cavidades de reabsorção na dentina, unicamente na presença de IL-1 $\alpha$ . Estes resultados confirmam que, o TNF- $\alpha$ , em associação com a IL-1 $\alpha$ , tem um papel importante na reabsorção óssea e dentinária, de causa inflamatória.

O componente inorgânico do osso é representado, por depósitos de fosfato de cálcio, distribuídos ao longo das fibras de colagénio, com características cristalinas da hidroxiapatite (Kierszenbaum A.L., 2004).

## **2. ASPECTOS BIOLÓGICOS DOS TRANSPLANTES E REIMPLANTES DENTÁRIOS**

O principal objectivo de qualquer tratamento da cavidade oral, é a conservação do órgão dentário. Um transplante consiste na transferência de um tecido ou de um órgão, de uma região para outra do mesmo indivíduo, ou para a de uma pessoa diferente.

Chama-se transplante autólogo ou autotransplante quando o dador e o receptor do órgão ou do tecido, são o mesmo indivíduo (Clokier *et al.*, 2001).

As razões mais frequentes para se efectuarem transplantes e reimplantes dentários, são a substituição de dentes perdidos por cárie, os transplantes de caninos inclusos, os reimplantes intencionais de dentes com insucesso na terapêutica endodôntica, os reimplantes de dentes avulsionados por causas traumáticas e os transplantes de pré-molares para zonas com agenesias (Slagvold *et al.*, 1978; Northway *et al.*, 1980; Schatz *et al.*, 1994; Thomas *et al.*, 1998; Clokier *et al.*, 2001).

Qualquer que seja a causa da ausência de dentes, a sua substituição é indispensável para que seja restabelecida a função e prevenir patologias consequentes.

Apesar de, os transplantes dentários não fazerem parte dos procedimentos habituais da clínica de medicina dentária, eles podem constituir uma solução viável para substituir a ausência de dentes, consistindo este procedimento na remoção de um gérmen dentário ou mesmo do dente, do alvéolo, seguida de inserção noutra alvéolo do mesmo indivíduo, (autotransplante, transplante autólogo ou autógeno), ou no de outro indivíduo (transplante homólogo ou alógeno), (Clokier *et al.*, 2001). Este tipo de tratamento tem sido abordado com frequência, como a forma preferível de substituir dentes ausentes ou perdidos, pois os dentes transplantados são capazes de se adaptarem às alterações do crescimento e ao desenvolvimento dos maxilares (Berglund *et al.*, 1997; Czochrowska *et al.*, 2002; Myrland *et al.*, 2004).

A falta congénita de dentes parece resultar de alterações que ocorrem durante as fases iniciais do desenvolvimento dentário e que poderão conduzir a alterações dos maxilares. Exceptuando a agenesia de 3<sup>os</sup> molares, os 2<sup>os</sup> pré-molares mandibulares, corres-

pondem à falta mais frequente de dentes e que segundo Vastardis (2000), ocorre em 3,4% dos casos. Os incisivos laterais, pertencem a outro grupo de dentes, que com frequência também se encontram ausentes. Um estudo sobre a prevalência de agenesias dos incisivos laterais, realizado numa amostra de 16771 indivíduos portugueses, concluiu que esta era de 1,3 %, com maior predomínio na mulher (1,5% vs. 1,1%) e mais frequente a agenesia unilateral do que bilateral (55,2% vs. 44,8%), com o incisivo superior lateral direito, mais vezes ausente do que o esquerdo (60,3% vs. 39,7%), (Pinho T., 2004).

Nas agenesias de pré-molares, ocasionalmente, com o decorrer do tempo, o molar decíduo fica anquilosado, resultando num deficiente crescimento vertical alveolar, nessa região (Figura 1.7).



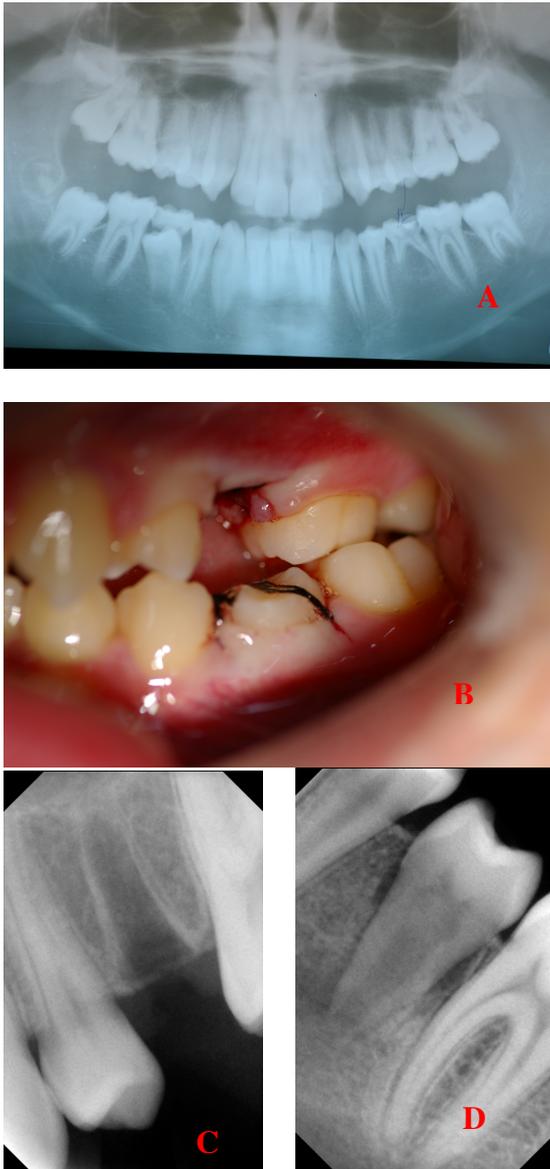
**Figura 1.7**

Radiografia panorâmica de paciente do sexo feminino, aos 9 (A) e aos 25 anos de idade (B). Notar a presença de agenesias dos dentes 25 e 35 e a anquiose que ocorreu no dente decíduo 75 (B).

Bjerklin & Bennett, num estudo realizado sobre os resultados a longo prazo (11 aos 20 anos), de agenesias de pré-molares, com a retenção dos molares decíduos, em 43 pacientes, verificaram que em 55% dos casos os dentes decíduos ficavam em infraoclusão (Bjerklin & Bennett, 2000).

Perante este cenário, é imperioso extrair o dente anquilosado e encerrar ortodonticamente o espaço, ou preenchê-lo com próteses removível ou fixa convencionais, exigindo o seu planeamento uma gestão multidisciplinar cuidada (Carter *et al.*, 2003).

Constituindo a colocação de implantes, um tratamento tão actual em medicina dentária, ele está no entanto contra-indicado em pacientes adolescentes, que ainda não tenham terminado o crescimento. Como regra, estes só devem ser colocados nos rapazes, depois dos 21 anos de idade e nas raparigas, depois dos 17 anos (Kokich, 2001). As situações de agenesias dentárias, muitas das vezes podem estar associadas a oclusão de classe II de Angle, com discrepâncias dentomaxilares e com aumento do *overjet*, que exijam a extracção de peças dentárias maxilares, para a sua correcção ou camuflagem. Perante esta necessidade de tratamento, é possível realizar transplantes de dentes, indicados para extracção, por motivos ortodônticos e a sua colocação na zona da agenesia (Figura 1.8).



**Figura 1.8**  
Ortopantomografia de paciente do sexo masculino, com 13 anos de idade e agenesia do dente 35 (A).

Fotografia intra-oral (B), do mesmo paciente, depois do transplante do 2º PM superior para o espaço da falta congênita.

Radiografia intraoral do alvéolo da região dadora (C).

Radiografia periapical do transplante, após a cirurgia (D).



**Fig.1.8. (cont.)**

Dente decíduo depois da extracção e material utilizado para conformar o alvéolo (E).

(F) Fotografia intra-oral do caso clínico, 6 meses depois de realizado o transplante.

A malformação congénita que necessita de manipulação maxilar durante os procedimentos terapêuticos, é a fenda labial ou palatina, a qual ocorre em 0,1 % dos nascimentos (Profit, 2003). Para o seu tratamento, é necessária a realização de enxertos ósseos, na zona da fenda, antes da erupção dos dentes adjacentes, para seguidamente ser realizado o alinhamento ortodôntico (Bailey *et al.*, 2003). Como as fendas palatinas estão associadas à ausência congénita de dentes, os autotransplantes dentários podem constituir uma alternativa terapêutica, uma vez que constituem um potente estímulo para a formação óssea. Hamamoto, aconselha mesmo o transplante, cerca de três meses depois de realizado o enxerto ósseo, referindo que, o movimento

ortodôntico pode ser iniciado, 3 meses depois de realizado o transplante (Hamamoto, 1998).

Apesar das vantagens biológicas dos transplantes dentários, um dos principais inconvenientes deste tipo de terapêutica, é o possível desenvolvimento de reabsorções radiculares, que pode conduzir à perda do dente transplantado. No entanto, com esta metodologia, é possível manter o espaço da agenesia e permitir que o crescimento do maxilar ocorra, sem o desenvolvimento de atrofia alveolar. Desta forma, é possível mais tarde reabilitar o paciente, com implantes, sem necessidade de recorrer a enxertos, para aumento da crista alveolar (Berglund *et al.*, 1997; Czochrowska *et al.*, 2002; Myrlund *et al.*, 2004).

## **2.1. DEFINIÇÃO E MECANISMO DE REABSORÇÃO**

De acordo com Zwemer T.J., a reabsorção radicular é uma condição clínica que pode ocorrer fisiologicamente quando da esfoliação da dentição decídua para dar lugar à definitiva, ou então devido a um processo patológico, do qual resulta a perda de cemento e de dentina com conseqüente perda da peça dentária (Zwemer T.J., 1993).

Considera-se que, exceptuando a hipótese de reabsorção idiopática, a reabsorção radicular é o resultado de lesões dos tecidos do ligamento periodontal ou do tecido pulpar. Esta situação clínica pode ser conseqüência de traumatismos que desencadearam luxações, fracturas radiculares ou avulsões, bem como ser resultante de infecções crônicas da polpa ou das estruturas periodontais.

Existem referências científicas sobre as RR, atribuindo a sua etiologia ao movimento dentário induzido ortodonticamente (Killiany D.M., 1999; Travess H., *et al.*, 2004).

O processo da reabsorção dentária envolve uma interacção complexa entre as células inflamatórias, células de reabsorção – os clastos- e as estruturas dos tecidos duros mineralizados. O diagnóstico, terapêutica e prognóstico não são uma tarefa fácil para o médico dentista.

Os clastos são as células-chave responsáveis pelo processo de reabsorção. Estes são formados a partir de macrófagos e monócitos, que dão origem a células gigantes multinucleadas. Estas células orquestram um complexo evento molecular intracelular, que envolve citocinas, enzimas e hormonas, as quais influenciam a progressão do processo (Boyde A., *et al.*, 1984).

Dentro dos clastos, podemos falar em dentinoclastos, cementoclastos e osteoclastos, mas a sua diferença estrutural e funcional é insignificante (Ne R.F., *et al.*, 1999).

O intenso aporte sanguíneo que existe no LPD e na polpa propicia a instalação de infiltrado inflamatório, devido aos fenómenos exsudativos desencadeados por agentes agressores, como bactérias e os seus produtos e a hipóxia ou anóxia induzidas por forças ortodônticas. Esse exsudato inflamatório contém produtos derivados de proteínas plasmáticas, de células locais, de bactérias e de leucócitos. De acordo com Consolaro, entre esses produtos destacamos as interleucinas (IL-1 e IL-2), as prostaglandinas (PG), os factores de crescimento epidérmico (EGF) e as endotoxinas ou lipopolissacáridos (LPS), libertados pelas bactérias. Todos estes produtos são fortes mediadores da osteoclasia que, associados à plasmina induzem a libertação das colagenases. Por sua vez, o pH ácido e a acção das colagenases actuam para que, os OB e os CB se desagreguem e os cristais de hidroxiapatite fiquem expostos à acção dos clastos, exercendo simultaneamente uma acção quimiotáctica nos mesmos (Consolaro, 2002).

Na superfície exposta, os clastos acabam por aderir firmemente, por acção dos seus bordos em escova, criando um micro-ambiente próprio entre o clasto e a superfície mineralizada. Essa união firme pode, no entanto, ser modificada por acção de alguma substância que seja utilizada como terapêutica no controlo da reabsorção, como por exemplo, o hidróxido de cálcio.

Nesse micro-ambiente o pH é baixo, porque os clastos libertam ácidos que actuam directamente na desmineralização do osso ou do cimento. Nesse local também são libertadas enzimas, como a fosfatase ácida e a collagenase. A actividade dos clastos leva então à formação de escavações na dentina ou no osso, a que são chamadas lacunas de *Howship*. Essas escavações, quando ocorrem na parte interna da cavidade pulpar, levam à exposição dos túbulos dentinários que, em caso de necrose, vão permitir a passagem de produtos microbianos, como os lipopolissacáridos (LPS), da polpa para a superfície externa, ou ainda de medicamentos que se coloquem no interior dos canais.

A actividade clástica cessa quando existem alterações locais, como seja o aumento do pH através da alcalinização do meio, proporcionado pela utilização do hidróxido de cálcio  $[\text{Ca}(\text{OH})_2]$ , como referiram Trope *et al.*, (1995). Estes autores efectuaram um estudo em cães de raça “beagle”, com dentes reimplantados e utilização de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$ . Concluíram que, quanto mais tempo o  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  permanecia no interior do canal, mais efectivo era no tratamento da reabsorção radicular inflamatória (Trope *et al.*, 1995).

## 2.2. CLASSIFICAÇÃO DAS REABSORÇÕES DENTÁRIAS

De acordo com a classificação de Consolaro, as reabsorções radiculares (RD), dividem-se em reabsorções radiculares fisiológicas e patológicas. As RD fisiológicas são as que ocorrem

na dentição decídua e fazem parte do processo normal de esfoliação. Já as RD patológicas não fazem parte de um processo natural, constituindo, assim, a principal preocupação do médico-dentista (Consolaro, 2002).

Estas, podem ainda classificar-se, de acordo com os seguintes critérios: 1) quanto à superfície radicular envolvida: RD interna, RD externa e RD combinada (interna/externa); 2) quanto ao mecanismo desencadeador do processo: inflamatória e de substituição; 3) quanto à região do dente afectada: coronária, cervical e apical; 4) quanto à fase de evolução do processo: RD activa, RD transitória e RD reparada; 5) quanto à etiologia: local, sistémica e idiopática (Consolaro, 2002).

### **2.2.1. Reabsorção dentária interna**

A reabsorção dentária interna (RI), ocorre no interior da cavidade pulpar, de uma forma centrífuga em direcção à superfície externa da coroa ou da raiz, sendo rara na dentição permanente. Em muitos casos ela é uma sequela de luxações dentárias após traumatismos, aparecendo em 2% dos pacientes que sofreram luxações dentárias (Andreasen J.O., *et al.*, 1994). Pode também ocorrer como resultado a uma agressão suficiente, para provocar resposta inflamatória, estando assim relacionadas com pulpites, protecções pulpares directas, cáries e restaurações profundas (Walton R.E., *et al.*, 1996).

Também os tratamentos ortodônticos, que são considerados como uma resposta lenta a forças ligeiras exercidas sobre os dentes, podem ser considerados como um traumatismo controlado. Mostafa Y.A., *et al.*, (1991) num estudo realizado em dentes que sofreram extrusão ortodôntica, concluíram que tinha havido alterações circulatórias pulpares, com congestão e dilatação vascular, degenerescência, vacuolização e edema dos

tecidos pulpares e que os odontoblastos também tinham sofrido degenerescência, provavelmente devido a comprometimento da irrigação sanguínea. Também Popp T.W., *et al.*, (1992), mencionam que, quando se realiza movimento ortodôntico, podem aparecer lesões do LPD e da polpa, acompanhadas ou não de uma redução do espaço pulpar.

Em situação normal, a parede pulpar encontra-se protegida da acção dos clastos, pela camada de odontoblastos e de pré-dentina, os quais impedem que eles contactem com a dentina mineralizada (Ten Cate, 2003).

Os clastos, como foi referido, são células multinucleadas que se fixam apenas nos tecidos mineralizados, destruindo-os se houver condições locais para isso. Nos traumatismos, como ocorre uma deslocação dos odontoblastos, a dentina mineralizada fica exposta à acção daquelas células (Andreasen J.O., 1994). Como nas cáries profundas e nas pulpites, parte da camada de odontoblastos está ausente, há propensão para que o mesmo fenómeno de adesão dos clastos aconteça com o consequente aparecimento de reabsorção (Ne R.F., *et al.*, 1999). Quando existem fissuras do esmalte, as bactérias e os seus componentes tóxicos podem invadir a polpa e provocar inflamação, o que leva ao mesmo efeito de deslocação dos odontoblastos e consequente adesão dos clastos à dentina e reabsorção (Love 1996).

As reabsorções dentárias internas são geralmente assintomáticas e detectadas ocasionalmente durante os exames radiológicos de rotina, confundindo-se, muitas das vezes, com as reabsorções externas (Levin L., *et al.*, 2002). A maior parte das reabsorções internas localiza-se na zona cervical do dente, podendo, no entanto, encontrar-se em qualquer região do canal. A imagem radiológica é de subtracção e tem forma de balão,

ampliando assim a cavidade pulpar (Bramante C. M. 3<sup>a</sup> ed; Andreasen J.O., *et al*, 1994).

Quando a sua localização ocorre na polpa da região coronária, pode clinicamente ser visível ao nível do esmalte, como uma imagem de cor rosa (Figura 1.9).



**Figura 1.9**  
Imagem fotográfica de dente 18, com sinal clínico de reabsorção interna, visível na face palatina.

### **Avaliação clínica**

Como já referimos, as reabsorções dentárias internas são geralmente assintomáticas, e constituem achados radiográficos durante os exames de rotina.

O processo de reabsorção é um processo activo, se houver polpa vital, e os testes de sensibilidade podem ser positivos, porém revelam-se negativos se a polpa já se encontrar necrosada (Gulabivala K., *et al.*, 1995). Durante o processo de reabsorção interna pode haver perfuração da parede dentinária e assim surgir sintomatologia dolorosa. Se a reabsorção ocorrer na região coronária, o dente pode apresentar uma coloração rosa, devido à presença de tecido de granulação (Ne R.F., *et al.*, 1999). Estes autores referem também que, na sua evolução, a reabsorção pode

ser transitória ou progressiva. A forma transitória ocorre durante os tratamentos ortodônticos ou periodontais, enquanto a forma progressiva, continua a sua evolução nos casos em que os túbulos dentinários são utilizados como canais, para conduzirem as bactérias e os seus produtos.

### **Avaliação radiográfica**

Uma vez que a terapêutica da reabsorção interna é diferente da externa, é importante a realização de um diagnóstico diferencial cuidadoso, o qual se baseia essencialmente na interpretação radiológica, que é complementada pela história clínica e pelo exame objectivo.

A reabsorção dentária interna, aparece na radiografia, como uma imagem oval, circunscrita e contínua com o canal dentário (Andreasen J.O. *et al.*, 1994). No entanto, a reabsorção externa pode apresentar-se na radiografia, de forma semelhante, sendo então necessário efectuar radiografias periapicais, com incidências anguladas por mesial e distal do dente, para se fazer o diagnóstico diferencial (Bramante C. M., & Berbert A., 3ª ed., s.d.).

Nos casos de reabsorção interna não tratada, esta pode evoluir para a parede externa da raiz e dar origem a uma reabsorção interna-externa. Um método clínico para nos ajudar no diagnóstico destes casos, é a utilização de um produto radiopaco no canal. Para o efeito pode utilizar-se pasta de hidróxido de cálcio, associado ao sulfato de bário ou ao iodofórmio. Se existe perfuração, a pasta vai preencher a cavidade até ao ligamento periodontal, e assim, ser visível na radiografia (Bramante C. M., & Berbert A., 3ª ed., s.d.). Já em 1976 Gartner A.M., *et al.*, descreveram uma série de “*guidelines*” para ajudar a diferenciar a reabsorção interna da externa. Assim, nas reabsorções internas as margens da lesão são lisas e bem definidas, a posição no canal é

simétrica, na maior parte dos casos, a radiotransparência é de densidade uniforme e as paredes do sistema de canais podem apresentar-se em forma de balão (Figura 1.10).



**Fig.1.10**  
Radiografia periapical, de dente com reabsorção interna obturada.  
Ferreira MM, Leitão J, Carrilho EVP. Rev.Port. Estomat. Med. Dent e CMF 2007; 48(2): 121-126.

### **Avaliação histológica**

Se durante o processo de resorção dentária interna, o dente tiver que ser extraído, a histologia mostra tecido pulpar normal assim como zonas com tecido de granulação e células gigantes, que reabsorvem a pré-dentina do canal radicular. A polpa coronária, geralmente contém bactérias, correspondendo a uma zona necrótica (Andreasen J.O., *et al.*, 1994; Ne R.F., *et al.*, 1999).

## **TRATAMENTO**

### **Preparação biomecânica**

O tratamento das reabsorções internas, consiste na preparação biomecânica do canal, procedendo-se à remoção mecânica do tecido pulpar inflamado ou necrosado, acompanhada de uma irrigação abundante com hipoclorito de sódio a 1% (Bramante C. M., *et al.*, 2001). Este, devido às suas propriedades, penetra em zonas inacessíveis da cavidade de reabsorção e promove a dissolução da matéria orgânica aí existente. A irrigação do canal pode por outro lado, ser potenciada pela acção de cavitação do

aparelho de ultra-sons, resultando assim, num efeito sinérgico físico e químico (Stamos D.E., *et al.*, 1986). A concentração do hipoclorito de sódio utilizado durante a preparação química e mecânica dos canais radiculares, tem sido controversa, com Hovland E.J., *et al.*, (1997) a preconizarem a concentração de 5,25%. Moorer W.R., *et al.*, (1982), estudaram os factores que influenciam a capacidade de dissolução da matéria orgânica pela utilização do hipoclorito de sódio e concluíram que para além da presença do ácido hipocloroso (HOCl), essa capacidade depende de 3 factores tais como: 1) da quantidade de matéria orgânica e de hipoclorito de sódio; 2) da frequência e intensidade do fluxo irrigante e 3) da superfície de contacto entre o tecido e a solução irrigante (Moorer W.R., *et al.*, 1982).

Por estes motivos, durante a preparação química e mecânica do sistema de canais, a irrigação deve ser abundante, para se conseguir obter o máximo de efeito.

O hipoclorito de sódio é um composto halogenado, que apresenta um equilíbrio dinâmico segundo a seguinte equação:



O ácido hipocloroso (HOCl), é um componente antibacteriano que, ao libertar cloro reage com as aminas proteicas, enquanto o hidróxido de sódio (NaOH), tem um efeito de solvente orgânico, provocando a saponificação das gorduras, sendo responsável pela elevada alcalinidade do hipoclorito de sódio (Pecora J.D., *et al.*, 1999; Bramante C., *et al.*, 2001).

Lumley P.J., *et al.*, tal como Stamos D.E., *et al.*, referem que durante a irrigação podem ser utilizados os ultra-sons (US), que ao provocarem cavitação, levam a solução de irrigação a zonas mais inacessíveis da cavidade de reabsorção (Stamos D.E., *et al.*, 1986; Lumley P.J., *et al.*, 1991).

Se durante o tratamento, os instrumentos não forem capazes de atingir e remover o tecido de granulação que se encontra na área de reabsorção, Bramante C.M., preconiza a realização de uma curvatura numa lima K 015, nos últimos 2 milímetros (mm) e, com esta, executar movimentos giratórios na zona de reabsorção, com o intuito de remover o tecido de granulação da referida cavidade. Neste procedimento, é importante efectuar um correcto controlo radiográfico, para identificar o nível a que se encontra a reabsorção (Bramante C.M., 2003).

Com o mesmo objectivo, também se pode optar por utilizar uma broca de *Gates Glidden*, ou uma broca esférica accionada manualmente. Esta deve rodar-se em sentido horário e anti-horário, alternadamente, procurando atingir todas as paredes da cavidade de reabsorção para desta forma, remover o tecido de granulação existente (Bramante C. M., 2003).

Depois da preparação biomecânica, é aconselhado o preenchimento do canal com pasta de hidróxido de cálcio. Este, devido ao pH alcalino e às suas propriedades de dissociação, tem uma acção antibacteriana e de remineralização, induzindo a cura do processo de reabsorção (Stamos D.E., *et al.*, 1986; Foreman P.C. *et al.*, 1990). No entanto, para que o efeito do hidróxido de cálcio se manifeste, ele deverá permanecer no canal por um período mínimo de um mês, para que haja libertação lenta dos iões hidroxilo, como referem Sjögren U., *et al.*, (1991).

O veículo excipiente utilizado no hidróxido de cálcio é um factor importante, para que a dissociação iónica ocorra. Spångberg L.S.W. preconiza que o  $\text{Ca(OH)}_2$  deverá ter como veículo a água, sendo assim mais fácil a sua hidrólise (Spångberg L.S.W., 2004).

Hasselgren G., *et al.*, (1988) e Metzler R.S., *et al.*, (1989), referem que o hidróxido de cálcio pode ajudar a dissolver os restos pulpares que permanecem em zonas inacessíveis do canal. Por

outro lado, Bystrom A., *et al.*, (1985) e Safavi K., *et al.*, (1985) consideram que, o  $\text{Ca(OH)}_2$  tem a capacidade de eliminar bactérias e, ainda segundo Safavi K., *et al.*, (1993), a de inactivar produtos bacterianos e as suas toxinas, como os lipopolissacáridos.

### **Obturação**

A obturação do sistema de canais é uma etapa essencial do tratamento endodôntico (TE), uma vez que o objectivo é procurar bloquear a comunicação de microorganismos entre a cavidade oral e os tecidos peri-apicais ao eliminar todos os espaços vazios no interior do sistema de canais radiculares, para impedir o desenvolvimento bacteriano e a eventual periodontite apical. Num estudo efectuado na Universidade de Washington e referido por Ingle (1994), concluiu-se que 60 % dos insucessos dos TE resultaram de uma obturação deficiente, passando assim a ser mais valorizada a fase de obturação dos canais (Figueiredo J.A.P., *et al.*, 1999; Sundqvist G., *et al.*, 2004).

Desta forma, depois de a reabsorção ter cessado, é necessário proceder à obturação do canal e da loca de reabsorção com cimento e guta-percha, de modo a obter-se uma obturação tridimensional o mais hermética possível de todo o sistema de canais e da referida loca de reabsorção, (Grossman L.I., 1981). No entanto, devido ao formato, irregularidade e inacessibilidade do defeito da reabsorção interna, a obturação do canal coloca algumas dificuldades ao operador, necessitando este de técnicas diferentes, conforme a superfície afectada pela reabsorção.

### **Obturação da reabsorção interna simples**

Neste tipo de reabsorção, o processo inicia-se no interior do canal, não atingindo a superfície externa da raiz. Desta forma, se a

obturação é realizada pela técnica de condensação lateral, ela deve ser feita em três etapas distintas: na primeira consiste na obturação da porção apical do canal, cortando depois a guta ao nível da reabsorção; na segunda, coloca-se cimento na zona da reabsorção com um lântulo ou uma lima K; na última procede-se ao preenchimento da reabsorção e do resto do canal com guta-percha (Bramante C.M., 2003).

No entanto, como as técnicas termoplásticas de injeção de guta quente ou a compactação vertical, facilitam o procedimento da obturação, nestes casos devem ser estas as técnicas a utilizar como primeira escolha (Stamos D.E., *et al.*, 1986; Bramante C.M., 2003).

Se a terapêutica falha, a reabsorção pode progredir para os tecidos do LPD e provocar uma perfuração radicular.

Nos casos em que a reabsorção é extensa e em risco de se transformar numa reabsorção interna-externa, é necessário ter o cuidado de não exercer força vertical ou lateral excessiva, a qual pode levar à extrusão do material de obturação para os tecidos do ligamento periodontal (Bramante C.M., 2003).

### **Obturação de reabsorção interna - externa**

Depois de convenientemente diagnosticada, a terapêutica de reabsorção interna/externa poderá ser efectuada optando ou não por uma intervenção cirúrgica sobre a raiz dentária envolvida.

### **Terapêutica não cirúrgica**

Quando a perfuração da parede externa da raiz é mínima, preenche-se o canal com hidróxido de cálcio, estimulando o dente para a reparação de modo a permitir a posterior obturação do canal. Entre sessões, a cavidade de acesso deverá ser encerrada com óxido de zinco eugenol, do tipo IRM®, para prevenir a

infiltração. Após oito semanas, deve ser realizado o controlo para se averiguar da necessidade de nova aplicação de hidróxido de cálcio, no caso de ainda não existir cicatrização. Se a cicatrização ocorreu, procede-se à obturação do canal, da mesma forma que foi descrita quando da reabsorção interna simples. Se, pelo contrário, não existem sinais de cicatrização, repete-se a terapêutica com hidróxido de cálcio, até haver sinais de reparação. Este tipo de tratamento só é possível se o defeito for de pequena extensão e se, durante a preparação, se puder controlar a hemorragia. Nos casos em que esta não se consegue controlar, pode ser necessário proceder a uma extrusão ortodôntica forçada do dente, de forma a expor a lesão e assim ser possível efectuar o seu tratamento (Gutman J.L., *et al.*, 1997).

### **Terapêutica cirúrgica**

Se o tratamento com hidróxido de cálcio não resultar, optar-se-á por uma terapêutica cirúrgica, que consiste na exposição da área de reabsorção (Chivian N., 1991). Então, a loca de reabsorção será curetada e as paredes preenchidas com um cimento biocompatível, que promova um bom selamento marginal. Apresentam-se como alternativa o ácido etóxi-benzoico (EBA<sup>®</sup>), o óxido de zinco eugenol (ZOE<sup>®</sup>) ou o agregado de trióxidos minerais (MTA<sup>®</sup>).

O MTA<sup>®</sup>, é um material com aplicação em diversas situações clínicas, revelando ser biocompatível e possuir excelentes capacidades de selamento marginal nas cirurgias peri-apicais e em perfurações da furca dentária (Torabinejad M., *et al.*, 1993; Torabinejad M., *et al.*, 1995; Bates C.F., 1996; Nakata T.T., *et al.*, 1998; Torabinejad M., *et al.*, 1999; Roy C.O., *et al.*, 2001). Trata-se de um agregado de trióxidos minerais, desenvolvido por Mahmoud

Torabinejad-Universidade de Loma Linda, na Califórnia – EUA. Data já dos anos 90 tendo sido usado como um material experimental, com o objectivo de selar as comunicações entre o interior e o exterior do dente. Em 1998, o MTA<sup>®</sup> foi avaliado e aprovado pela FDA- U.S. (U.S. Food and Drugs Administration) e comercializado em 1999 como ProRoot MTA<sup>®</sup> (Dentisply Tulsa Dental, Oklahoma- USA). Este agregado, que na sua apresentação inicial possuía uma cor cinzenta, está presentemente disponível na cor branca. Segundo o fabricante, é constituído por silicato tricálcico, silicato bicálcico, aluminato tricálcico, aluminato tricálcico de ferro, óxido de bismuto e sulfato de cálcio. Além destes componentes, contém ainda óxido de cálcio, óxido de magnésio, óxido de sódio, óxido de potássio e iões de cálcio e fósforo. São importantes a biocompatibilidade e as propriedades químicas do MTA<sup>®</sup>, merecendo referência de destaque o pH alcalino. Este, logo após a hidratação com água destilada, é de 10,2, elevando-se para 12,5 após 3 horas, valor que então estabiliza (Torabinejad M., *et al.*, 1995).

A obturação do canal pode ser efectuada antes da cirurgia, mas, se tal procedimento não for possível, deve colocar-se um cone de guta- percha de grande calibre no interior do canal. Ele servirá de matriz que irá permitir a condensação do material de preenchimento da reabsorção. Se a reabsorção se localiza na face lingual ou nas superfícies proximais do dente, o tratamento cirúrgico descrito não é viável e, por isso, deve proceder-se a outro tipo de terapêutica, como a extracção da peça dentária em causa e o seu reimplante. Após o tratamento extra-oral da reabsorção, o dente deve então ser reimplantado o mais breve possível. Dependendo do local da reabsorção, a extrusão ortodôntica forçada será outro procedimento clínico possível, pois ela permitirá

expor a lesão e assim ser efectuado o tratamento reparador (Gutman J.L., *et al.*, 1997; Frank A.L., *et al.*, 1998).

### **2.2.2. Reabsorção radicular externa**

As reabsorções radiculares externas (RE) acontecem em qualquer parte da superfície externa da raiz e podem ser classificadas, por comodidade didáctica, em três categorias: RE superficial, RE inflamatória, e RE de substituição ou anquilose.

#### **Reabsorção externa superficial**

A reabsorção externa superficial é a forma menos destrutiva das RE, ocorrendo reparação espontânea. Pode ser encontrada em qualquer dente, não necessitando de tratamento, pois acaba por cicatrizar de forma natural. Se a causa persiste, a reabsorção radicular continua.

É considerada uma resposta fisiológica como réplica a um traumatismo oclusal, em áreas localizadas do ligamento periodontal ou do cimento na superfície radicular, em que o dente entra em contacto directo com o osso (Barrett E., *et al.*, 1997; Malueg L.A., *et al.*, 1996). Clinicamente a RE superficial não apresenta sinais detectáveis, assim como não se identifica num exame radiológico, devido ao seu reduzido tamanho.

#### **Reabsorção externa inflamatória**

Esta forma de reabsorção é a mais comum e apresenta-se com o aspecto de uma cavidade na camada de cimento, penetrando na dentina. A etiologia é variada e engloba traumatismos, infecção periodontal e tratamentos ortodônticos, causas que podem originar processos inflamatórios a nível do LPD e que desencadeiam a reabsorção (Barrett E., *et al.*, 1997).

Os traumatismos que são seguidos de necrose pulpar são considerados os principais factores da reabsorção inflamatória. As bactérias e os seus produtos são canalizados através dos túbulos dentinários até ao ligamento periodontal e aí provocam uma inflamação e a consequente instalação da reabsorção, assim considerada de tipo inflamatória (Barrett E., *et al.*, 1997).

De acordo com a zona da superfície radicular onde se localiza, a reabsorção externa (RE), pode ainda ser classificada em cervical ou apical. A RE cervical pode ocorrer devido a lesão a nível da inserção do LPD, em que os clastos colonizam essa zona e provocam a RE que, no caso de não ser tratada, pode atingir a polpa dentária (Tronstad L., 1988).

### **Reabsorção externa de substituição (anquilose)**

A reabsorção externa, de substituição que origina a anquilose, está geralmente associada a antecedentes traumáticos com luxação ou avulsão dentária (Fig.1.11).



**Fig. 1.11**

Radiografia peri-apical de reabsorção de substituição ou anquilose, provocada por avulsão, com tempo extra-oral de 2 horas dos dentes, antes de realizado o reimplante.

Ela ocorre devido à evolução de uma resposta inflamatória que leva a necrose extensa das células do LPD e consequente formação de osso na área da superfície radicular desnuda de

cimento, correspondendo à união do dente ao osso, sem interposição de tecido conjuntivo (Andreasen J.O., & Andreasen F.M., 1994)

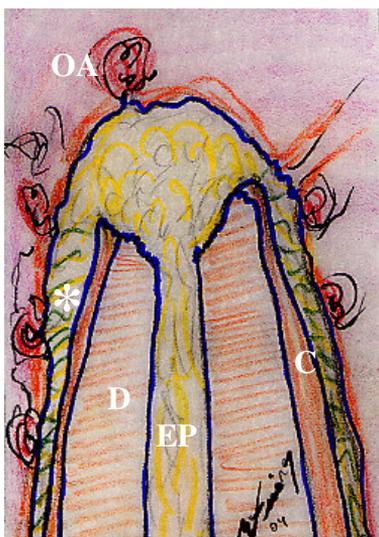
Estudos demonstram que a remoção completa do LPD antes do reimplante conduz à anquilose dento-alveolar (Barrett E., *et al.*, 1997; Lindskog S., *et al.*, 1985).

### 2.3. ETIOLOGIA

Como causas da reabsorção externa, podemos considerar a necrose pulpar e a inflamação peri-radicular, os dentes retidos, os quistos e os tumores, os procedimentos ortodônticos, determinadas terapêuticas de branqueamento interno de dentes com terapêutica endodôntica e os traumatismos dentários.

#### **Necrose e inflamação peri-apical**

Os produtos tóxicos resultantes da inflamação crônica da polpa, os canais mal obturados ou os dentes com tratamento endodôntico radical (TER) incorrecto ou com selamento coronário deficiente podem estimular a actividade cementoclástica ou dentinoclástica e consequentemente a reabsorção dos tecidos duros do dente (Hovland E.J., *et al.*, 1997), (Fig.1.12).



**Fig. 1.12**

Esquema da reabsorção apical, com destruição do canal cementário, devido a inflamação peri-apical. Osso alveolar (AO); Cimento (C); Dentina (D); Espaço pulpar (EP); Ligamento periodontal (\*).

O tratamento desta situação clínica passa pela preparação biomecânica, desinfecção e obturação do canal radicular. Durante o tratamento, e dada a irregularidade apical, existe dificuldade em interpretar radiograficamente onde termina o canal. Utilizando pontas de papel pode verificar-se, porém, quando da sua remoção, se a extremidade apresenta sinais de hemorragia, o que ajuda a localizar onde acaba o canal dentinário (Bramante C., 2003).

Nestes casos, a utilização dos localizadores eletrônicos do ápex, não é fiável, devido à destruição da constrição apical, o que os torna desaconselháveis (Hovland E.J., *et al.*, 1997).

Outra dificuldade encontrada nestas situações é a realização de um selamento apical eficaz, da zona de reabsorção durante a obturação. Como medida preventiva, é aconselhável o preenchimento do canal com pasta de hidróxido de cálcio para que cesse o processo de reabsorção (Sahli C., 2001; Bramante C., 2003). O paciente deve, por isso, ser controlado de três em três meses, até que se verifique clínica e radiograficamente uma barreira apical. Se a abertura apical não é excessivamente ampla, depois de se determinar o diâmetro do *forâmen*, pode ser criado um *stop* apical, um a dois mm aquém do ápex, através da instrumentação com dois instrumentos de diâmetro acima do diâmetro do *forâmen*. Desta forma, a guta-percha será condensada sobre esse batente apical (Hovland E.J., *et al.*, 1997).

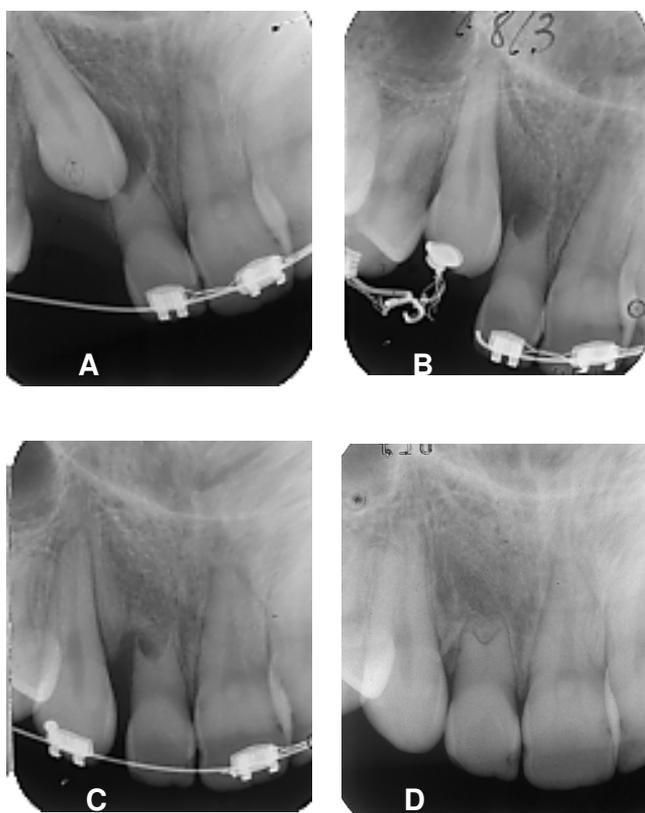
Weisenseel J.A., *et al.*, (1987) preconizam também a aplicação de hidróxido de cálcio, de forma a criar um tampão apical, antes de se proceder à obturação do sistema de canais com guta-percha. Outros autores aconselham a formação dessa barreira apical, com raspas de dentina do próprio canal (Hovland E.J., *et al.*, 1997).

Mais recentemente, o MTA<sup>®</sup> tem sido referido como o material de eleição para esta terapêutica, devido às suas propriedades de bom selamento marginal, boa resistência à compressão, biocompatibilidade, estimulação e formação de tecidos duros e regeneração do LPD (Pitt Ford T.R., *et al.*, 1996; Koh E.T., *et al.*, 1998; Schwartz R.S., *et al.*, 1999; Schmitt D., *et al.*, 2001).

Quando a reabsorção é ampla, com a zona apical muito destruída e ainda activa, terá que se proceder de forma diferente, isto é, tem de se efectuar uma cirurgia apical, com uma apicoplastia e eliminação da zona comprometida (Bramante C., 2003). Assim, após a abordagem cirúrgica, é efectuada a remoção e o polimento da zona reabsorvida, o canal é obturado com guta-percha e cimento, sendo realizado o selamento apical da reabsorção com obturação retrógrada, utilizando para o efeito um material adequado (IRM<sup>®</sup>, amalgama, ionómero de vidro, resina composta ou MTA<sup>®</sup>), (Tronstad L., 1991; Torabinejad M., *et al.*, 1999). Actualmente, o MTA<sup>®</sup> parece ser o material de eleição para realizar a retro-obturaçã, podendo também ser utilizado nos casos de apexificação (Schwartz R.S., *et al.*, 1999; Schmitt D., *et al.*, 2001).

### Dentes retidos, quistos e tumores

A associação entre caninos inclusos e a existência de reabsorções radiculares tem sido um tema amplamente abordado em ortodontia, sendo os dentes incisivos laterais os mais afectados, (Ericson S., *et al.*, 1988; Postlethwaite K.M., 1989), (Figura 1.13).



**Figura 1.13**  
Radiografias de canino superior retido, que levou a um processo de reabsorção externa do incisivo lateral (A). B) Radiografia durante a fase de tracção. C) Radiografia depois da tracção em que se deixou de exercer força sobre o incisivo. D), radiografia seis meses depois de efectuado o tratamento.

No entanto, também podem ocorrer reabsorções dos incisivos centrais e pré-molares, como refere Postlethwaite, (1989).

A incidência de caninos não erupcionados ou em posição ectópica varia entre 0,7 % e 2% nas idades compreendidas entre os 10 e os 13 anos (Ericson S., *et al.*, 1987), sendo a posição palatina a mais comum (43,8%), como referem Rimes R., *et al.*,

(1997) num estudo retrospectivo. Ericson S. *et al.*, igualmente num estudo retrospectivo sobre reabsorções, encontraram cerca de 12,5% nos casos de caninos ectópicos, com uma prevalência de 0,7 %, nas idades compreendidas entre os 10 e os 13 anos (Ericson S., *et al.*, 1987).

Há vários estudos que indicam que as reabsorções são mais comuns nas mulheres do que nos homens. Alguns autores referem também que a zona da raiz mais afectada pela reabsorção dentária é a nível do terço médio, tendo-se verificado que 60% das reabsorções se encontram entre o terço médio e o terço apical, 31,4 % no terço apical, 5,7 % no terço médio e cervical e 2,9% no terço cervical (Ericson *et al.*, 1988; Brin *et al.*, 1993, Rimes R. *et al.*, 1997).

Num outro estudo, realizado por Ericson *et al.*, (1987) verificou-se que 85 % dos dentes retidos não são clinicamente palpáveis, nem por via vestibular, nem por via palatina; a maior parte das reabsorções localizam-se na parte média da raiz, quer na face lingual quer na face vestibular, não sendo detectáveis nas radiografias peri-apicais. As reabsorções aparecem cedo, aconselhando a avaliação da posição do canino por volta dos 10-11 anos de idade. Se, à palpação, os caninos não são perceptíveis, deverá ser efectuado um exame radiográfico cuidado, tendo em consideração que, em 33% dos casos de incisivos com reabsorção, existe uma imagem radiográfica normal do LPD. Com a tomografia axial computadorizada é possível localizar a RE vestibular e lingual, bem como identificar a extensão da lesão. Shellhart *et al.*, (1998) referem que, após a remoção do dente retido, ocorre cicatrização da zona reabsorvida, com deposição de novo cimento.

Holcomb *et al.*, (1983) classificam em quatro tipos (I, II, III e IV), o tratamento possível das RE, provocadas por dentes impactados, consoante o envolvimento e a localização da zona reabsorvida,

Tratamento tipo I - A área de reabsorção é mínima e o tratamento consiste em remover, ou traccionar, o dente impactado e efectuar controlos posteriores.

Tratamento do tipo II - Neste tipo, o periodonto e a dentina encontram-se envolvidos. Se a reabsorção se localiza na porção cervical do dente, o tratamento consiste na extracção do dente incluso causador da lesão, seguido da reparação da loca cirúrgica de reabsorção, quer por cirurgia imediata, quer posterior a uma prévia extrusão ortodôntica do dente em causa. Se a reabsorção se localiza na porção apical da inserção periodontal do dente, o tratamento consiste na extracção do dente incluso e posterior observação e controlo da reabsorção.

Tratamento do tipo III - Neste tipo, existe envolvimento do periodonto, da dentina e da polpa. O tratamento consiste na extracção do dente incluso causador da lesão e no TER do dente lesado, com colocação de  $\text{Ca(OH)}_2$  no canal, com o intuito de cessar o processo de reabsorção.

Tratamento do tipo IV - Existe envolvimento do periodonto, da dentina, da polpa e das estruturas adjacentes. Este tipo de reabsorção pode ter uma evolução tão rápida que o tratamento endodôntico será ineficaz, sendo o mais indicado a extracção da peça dentária.

### **Procedimentos ortodônticos**

Existem vários estudos sobre as reabsorções radiculares de causas ortodônticas (Brezniak N., *et al.*, 1993; Blake M., *et al.*, 1995; Ghafari J.G., 1997; Harris E.F., 2000).

Conhecida e estudada a etiologia destas reabsorções, e citando Brezniak N., *et al.*, (2002), podemos dizer que a designação correcta seja a de reabsorção inflamatória ortodonticamente induzida. Acrescenta este autor que, apesar de, a RE ocorrer em quase todos os pacientes sujeitos a tratamentos ortodônticos, na maior parte dos casos a reabsorção é clinicamente insignificante. Quando é induzida por movimentação dentária, ocorre um processo inflamatório estéril, que depende de vários componentes, tais como a intensidade e a duração da força, o tipo de força aplicada ao dente, a idade e sexo do paciente, a dieta, os factores genéticos e sistémicos, os factores idiopáticos e ainda a forma da raiz e características do cimento radicular (Brezniak N., *et al.*, 1993).

Linge L., *et al.*, (1991) detectaram, nos casos que avaliaram, 16% de reabsorções radiculares com um encurtamento superior a 2,5 mm e provocadas por tratamentos ortodônticos. Felizmente, o processo de reabsorção termina no final do tratamento ortodôntico, havendo, contudo, situações severas em que a reabsorção continua depois de terminar a terapêutica, levando a grande encurtamento radicular e conseqüente mobilidade dentária. Há autores que referem, no entanto, poder haver encurtamento radicular em pacientes que nunca foram sujeitos a tratamento ortodôntico (Harris H.F., *et al.*, 1993).

Na linha do que dissemos anteriormente, existem vários estudos que consideram a existência de diversos factores desencadeantes das reabsorções de causa ortodôntica (Kaley J., *et al.*, 1991; Mirabella A.D., *et al.*, 1995).

A relação entre a duração do tratamento e a ocorrência de reabsorção radicular parece ser a causa maioritariamente referida por grande número de autores (Taithongchai R., *et al.*, 1996 e Baumrind S., *et al.*, 1996). Para evitar o problema da reabsorção,

Levander E., *et al.*, (1994) aconselham uma pausa no tratamento durante 2 a 3 meses, seis meses depois de este se ter iniciado.

Devido à frequência com que ocorrem as RE provocadas pela movimentação ortodôntica ou RIOI (Reabsorção inflamatória ortodonticamente induzida; Brezniak, 2002), o ortodontista tem o dever de informar o paciente, antes de iniciar o tratamento, de todas as sequelas que podem ocorrer e, por isso, deve ser elaborado um documento de consentimento informado, para ser assinado pelo paciente ou pelo seu responsável (Machen D.E., 1989). Por outro lado, o profissional deve avaliar periodicamente, através da realização de radiografias peri-apicais, a existência de reabsorções. Caso seja necessário, deve acordar com o paciente a alteração ou a finalização da terapêutica, alertando para os eventuais riscos que corre.

### **Branqueamento interno de dentes não vitais**

A alteração da cor dos dentes com terapêutica endodôntica tem consequências estéticas que preocupam os pacientes. Podemos considerar que as causas mais comuns de alteração intrínseca da cor podem ser a hemorragia intrapulpar devido a traumatismos, a necrose pulpar, os medicamentos utilizados no interior dos canais radiculares, os materiais de obturação dos canais radiculares, as restaurações para obturação do acesso coronário, após tratamento endodôntico com eugenol ou cristais de prata, e o tempo de permanência da restauração provisória, após o TER (van der Burgt *et al.* 1986; Walton R.E., *et al.*, 1996; Baratieri L.N., *et al.*, 2004).

A técnica de branqueamento interno é um procedimento clínico que apresenta vantagens indiscutíveis para o paciente, pois evita o desgaste da estrutura dentária e, quando comparada com técnicas de prótese fixa, os resultados estéticos, a longo prazo são satisfatórios. Além disso, é uma técnica mais económica para o

paciente. Contudo, a técnica não apresenta só benefícios, pois há a considerar o risco de reabsorção cervical externa (RCE), (Loguercio A.D., *et al.*, 2002).

Rotstein I., *et al.*, (1991) realizaram um estudo em cães, demonstrando que os agentes de branqueamento, como o peróxido de hidrogénio, induzem a ocorrência de reabsorção cervical externa.

O peróxido de hidrogénio em concentrações elevadas tem um pH baixo, podendo provocar desnaturação das proteínas e desmineralização inorgânica. Consequentemente, aumenta a permeabilidade dentinária, e os gases libertados pela reacção química do perborato de sódio com o peróxido de hidrogénio, ou do peróxido de hidrogénio com o calor, chegam à superfície externa do dente (Madison S., *et al.*, 1990, Lewinstein I., *et al.*, 1994). Ainda Rotstein I., *et al.*, (1991) referem que este efeito pode ser agravado por falhas na junção amelo-cementária, propiciando uma exposição do periodonto aos agentes de branqueamento.

Num estudo *in vitro* efectuado por Koulaouzidou E., *et al.*, (1996), estes avaliaram as falhas na junção amelo- cementária em pré-molares, extraídos por motivos ortodônticos, e concluíram que os defeitos variavam entre as várias faces dos dentes, sendo mais frequentes na vestibular e lingual, e que estas aumentavam significativamente a penetração do peróxido de hidrogénio. A difusão do peróxido de hidrogénio pode ainda dar-se devido à existência de canais laterais ou acessórios, bem como a fracturas horizontais ou verticais no terço cervical, as quais não são detectáveis numa radiografia peri-apical (Al- Nazhan S., 1991). Além de todos estes factores, que contribuem para a reabsorção cervical externa, (RCE), também a técnica de branqueamento com

o calor pode induzir a um aumento da actividade do peróxido de hidrogénio e favorecer a permeabilidade dentinária (Madison S., *et al.*, 1990).

Rotstein I., (1991) realizou um estudo *in vitro*, em pré-molares, sem cáries. Extraiu-os por indicação ortodôntica e realizou branqueamento termocatalítico. Pôde observar que, decorridos 15 minutos, existia H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, na superfície da raiz dos dentes estudados e que a permeabilidade podia levar à difusão de 82% do peróxido de hidrogénio utilizado.

Para evitar o efeito nefasto do calor e do peróxido de hidrogénio, aconselha-se pois que seja utilizado, na terapêutica de branqueamento, o perborato de sódio com água e sem aquecimento, o que, segundo Madison S., *et al.*, (1990) nos leva a resultados semelhantes, mas com um tempo de tratamento mais prolongado.

Num estudo clínico, desenvolvido por Loguercio *et al.*, (2002), foram utilizados peróxido de hidrogénio e perborato de sódio, associados à técnica termocatalítica, tendo os autores verificado que, após 3,5 anos, nos 54 doentes avaliados, não haviam sofrido reabsorção cervical externa.

Lee *et al.*, (2004) efectuaram um estudo, aproveitando dentes pré-molares extraídos por indicação ortodôntica, com utilização de peróxido de hidrogénio a 35%, perborato de sódio e peróxido de carbamida a 35%, concluindo que a difusão de peróxido de hidrogénio é inversamente proporcional ao aumento do pH radicular externo, que o peróxido de carbamida é o produto de branqueamento que liberta menos quantidade de peróxido de hidrogénio e que o peróxido de carbamida, a 35% em gel, é uma alternativa ao peróxido de hidrogénio a 35% ou ao perborato de sódio, para a terapêutica de branqueamento interno.

Madison *et al.*, (1990), no sentido de prevenir a reabsorção cervical externa, provocada quando do branqueamento, aconselham que se evite o contacto dos produtos em causa, com os túbulos dentinários que comunicam com o periodonto a nível cervical. Assim, eles deverão ficar confinados à câmara pulpar e sempre a nível supragengival. Para que tal aconteça, deve proceder-se à remoção do produto de obturação nos 2 mm cervicais do canal e colocar sobre esta um cimento de ionómero de vidro, antes de dar início à terapêutica de branqueamento (Lado *et al.*, 1983; Goon *et al.*, 1986). Também Al-Nazhan, (1991) refere que este procedimento ajuda a prevenir ou a reduzir a possibilidade de ocorrência de reabsorção radicular externa após o branqueamento. Nesta linha de pensamento, Carrilho, (s.d.), citando outros autores, refere que a prevenção de reabsorção cervical externa se faz com a remoção de cerca de 3 mm de guta da obturação canal ar abaixo da junção amelo-cementária. Sobre esta deve ser colocado 1 mm de hidróxido de cálcio, com o objectivo de prevenir a descida do pH, que está relacionada com a reabsorção. Esta base de hidróxido de cálcio, deve ser coberta com um cimento de ionómero de vidro modificado por resina com cerca de 2 mm de espessura.

### **Traumatismos dentários**

A avulsão dentária é a consequência mais grave dos traumatismos dento-faciais e envolve a completa desarticulação do órgão dentário para fora do respectivo alvéolo, tendo uma prevalência que corresponde a 0,5 – 16% das lesões traumáticas (Andreasen JO., 1994).

Estas lesões são mais frequentes nos rapazes com idades compreendidas entre os 7 e os 12 anos, sendo os incisivos os dentes mais afectados (Hayrinen–Immonen *et al.*, 1990), (Figura 1.14).



**Fig.1.14**  
Ortopantomografia de um paciente do sexo masculino (11 anos de idade), 2 horas após a avulsão dos dentes 21 e 22.

Goldson *et al.*, (1981), e Rotstein *et al.*, (1991), referem que, em termos de oclusão dentária, os pacientes com sobremordida horizontal aumentada e incompetência labial, estão sujeitos, com maior frequência, a este tipo de traumatismos. Nestes casos é aconselhável iniciar precocemente o tratamento ortodôntico, ou, se isso não for possível, dever-se-á proporcionar à criança um protector bucal, para utilizar durante a prática de desportos, de forma a prevenir os traumatismos dentários (Goldson *et al.*, 1994) (Figura 1.15).



**Fig.1.15**  
Fotografia extra-oral (A) e intra-oral (B), de paciente do sexo feminino com “overject” aumentado e incompetência labial.

Quando ocorre uma avulsão dentária, o prognóstico da situação deve ser avaliado, uma vez que podem desenvolver-se complicações, como a reabsorção inflamatória e de substituição (anquilose), em cerca de 73 a 85% dos casos de dentes reimplantados (Andreasen J.O., 1981; Andreasen J.O., *et al.*, 1994; Andreasen F.M., *et al.*, 1987). A ocorrência de danos é devida a alterações que acontecem a nível do ligamento periodontal e do tecido pulpar. A ruptura completa das fibras do LPD e a secção total dos vasos a nível peri-apical são os responsáveis por esses danos. Como tal, o futuro do órgão dentário reimplantado depende das reacções biológicas que se passam a nível destes tecidos, dependendo o seu prognóstico do manuseamento durante o período extra-alveolar e dos procedimentos clínicos durante e após o reimplante. Após o reimplante dentário, podem ocorrer respostas pulpo-dentinárias diversas, como sejam a formação de dentina tubular reparadora, a formação de dentina irregular reparadora e menos tubular, a formação de dentina irregular reparadora com células de osteodentina, a formação de osso imaturo irregular, a formação de osso regular, a necrose pulpar e a reabsorção interna. Enquanto a lesão do ligamento periodontal, na altura do acidente, é um processo incontrolável, a lesão adicional das células do LPD e a infecção pulpar são situações possíveis de serem controladas clinicamente (Andreasen J.O., *et al.*, 1994).

Em dentes com o ápex aberto, e em que ocorre necrose pulpar, pode desenvolver-se uma complicação clínica adicional, porque a necrose impede o desenvolvimento radicular, no caso de não se adoptarem procedimentos terapêuticos convenientes (Andreasen J.O., 1994). Estudos experimentais e retrospectivos referem que a frequência de revascularização pulpar em dentes imaturos avulsionados, ocorre em cerca de 18 a 41% dos reimplantes

(Andreasen J.O., *et al.*, 1995; Cvek M., *et al.*, 1990). Kling M., *et al.*, (1986) defendem que a ocorrência de revascularização no ser humano aumenta, se o diâmetro do *forâmen* for superior a 1,1 mm. No entanto, Cvek M., (1990), refere que, no macaco, a revascularização ocorre, mesmo se o diâmetro for de 0,5 mm, (Cvek M., 1990).

A contaminação bacteriana parece ser o principal factor no insucesso da revascularização. Contudo, num estudo experimental, Cvek demonstrou que a aplicação tópica de doxiciclina antes do reimplante aumenta a possibilidade de revascularização. Provavelmente, esta é responsável pela diminuição da quantidade de bactérias que contaminam a superfície radicular durante o período extra-alveolar (Cvek *et al.*, 1990).

A contaminação bacteriana do tecido pulpar também pode ocorrer por via sanguínea e periodontal, ou através de fissuras existentes no esmalte, as quais se podem ter formado quando ocorreu o traumatismo, como refere Love (1996). Essas bactérias, por sua vez, são responsáveis pela necrose pulpar do dente avulsionado e reimplantado, estimulando o desenvolvimento e a possibilidade de ocorrer uma reabsorção radicular inflamatória, (Love., 1996).

Yanpiset K. & Trope M., efectuaram um estudo experimental em cães *mongrel*, para avaliarem radiográfica e histologicamente o efeito na revascularização, após aplicação tópica de doxiciclina, bem como de uma resina fluida na coroa dos dentes reimplantados. Nesse estudo concluíram que, nos reimplantes sem qualquer tipo de terapêutica, houve revascularização em 29,4% dos casos; naqueles em que colocaram resina na coroa dos dentes e sem outra terapêutica, não aumentou significativamente a revascularização (29,4 para 36,8%); nos que houve aplicação tópica de doxiciclina na raiz, a revascularização aumentou para

60%, e naqueles em que aplicaram resina na coroa e doxiciclina tópica, houve igualmente um aumento para 60%. Os resultados deste estudo, relativamente à utilização de resina na prevenção da invasão bacteriana através da coroa, indicam que recobrir a coroa com resina, não aumenta a revascularização pulpar (Yanpiset K., & Trope M., 2000).

A extrapolação destes resultados para os casos de traumatismos não é simples, porque as condições em que estes ocorrem são diferentes, podendo haver traços de microfracturas coronárias, que podem ser uma porta de entrada fácil para as bactérias. Quanto ao benefício da utilização de doxiciclina, em favorecer a revascularização nos casos de reimplante, não existem dúvidas, o que está de acordo com os estudos de Cvek, (1990).

O controlo periódico dos reimplantes, deve ser acompanhado, de radiografia peri-apical e da realização de testes de sensibilidade, de percussão e da sondagem. No entanto, nestes casos, os testes de sensibilidade pulpar são pouco fiáveis quando efectuados imediatamente após o reimplante, uma vez que a reparação das fibras nervosas só ocorre cerca do 35º dia.

Alguns autores referem que o teste eléctrico é um método aceitável, de fácil utilização e com resultados clínicos fiáveis, (Andreasen J.O., 1990a); (Andreasen J.O., 1990b); (Cohen, 2000). Contudo, este teste confirma igualmente a presença de fibras nervosas que transportando os impulsos sensoriais, não nos dão qualquer informação sobre a irrigação sanguínea, que realmente é o que determina a vitalidade pulpar (Walton & Torabinejad, 1996; Cohen S, 2000).

Waikakul *et al.*, (2002) efectuaram um estudo retrospectivo em 22 autotransplantes de 3<sup>os</sup> molares, com utilização do teste eléctrico, para averiguação da resposta pulpar. Verificaram que,

decorridos 3 meses depois do transplante, 50% dos casos apresentavam uma resposta positiva a este teste e que, ao fim de 9 meses, esse valor aumentava para 90%. No entanto, no controlo dos 12 meses, não se verificou alteração de resposta.

A avaliação do fluxo sanguíneo pulpar, utilizando a fluxometria por laser doppler (FLD), tem sido descrita como o único teste de vitalidade pulpar. Este teste tem sido referido por vários autores como indispensável no diagnóstico da vitalidade em casos de traumatismos e de doentes sujeitos a cirurgia ortognática do tipo LeFort I (Gazelius B., *et al.*, 1988; Ramsay D.S., *et al.*, 1991; Ebihara A., *et al.*, 1996; Emshoff R., *et al.*, 2000).

O modelo experimental mais utilizado, no estudo da revascularização, em reimplantes e transplantes, bem como, da capacidade de a FLD diferenciar os dentes vitais dos não vitais, tem sido o cão (Skoglund A & Tronstad L., 1978; Skoglund A., 1981; Gazelius B., 1986; Mesaros S.V., & Trope M., 1997; Evans D., *et al.*, 1999). Através da FLD é possível verificar que nos reimplantes e nos transplantes, o fluxo sanguíneo pulpar, é restabelecido ao fim de 30 dias, mas deve ser reavaliado ao fim de 12 meses, dado que o fluxo pode ainda aumentar com o tempo (Strob H., *et al.*, 2004).

Os traumatismos com luxação dentária são situações clínicas que podem levar à necrose pulpar e a lesões de reabsorção radicular. A intrusão do órgão dentário é o tipo de traumatismo que, com maior frequência, provoca necrose pulpar em dentes com o ápex totalmente formado. Estas envolvem o deslocamento do dente para o interior do alvéolo, ocorrem geralmente nos dentes anteriores e provocam lesão da inserção do LPD, do osso alveolar, do cimento e do feixe vaso-nervoso (Cvek M. 1992; Andreasen J.O., *et al.*, 1994).

Consideram-se complicações das luxações a necrose pulpar, a obliteração do canal pulpar, a reabsorção inflamatória, a reabsorção de substituição e a perda de osso marginal de suporte (Andreasen J.O., *et al.*, 1994; Andreasen J.O., *et al.*, 1995).

Quando há sinais de necrose, deve ser realizada a extirpação pulpar preventiva, para evitar complicações, essencialmente a reabsorção inflamatória (Cvek M., 1992; Andreasen J.O., *et al.*, 1999). Nessa situação, o teste de vitalidade, como atrás foi referido, pode ser um método de grande valor para se detectarem precocemente as alterações pulpares e se proceder à terapêutica endodôntica em caso de necrose.

Strob H., *et al.*, (2004) efectuaram um estudo em traumatismos dentários com intrusão e extrusão, onde avaliaram as alterações do fluxo sanguíneo após o reposicionamento dentário e a imobilização, utilizando FLD. Nele observaram que a diminuição inicial do fluxo sanguíneo era restabelecida ao fim de 12 semanas e que, na luxação extrusiva e lateral a perfusão tinha unidades arbitrárias de perfusão (UP) à volta de 5 UP. Na luxação intrusiva, por sua vez, esses valores eram menores, rondando as 2 UP. Estes valores podem ter significado clínico em relação ao desenvolvimento da degenerescência e de alterações atróficas da polpa, que podem ocorrer nestes casos. Os autores concluíram que a FLD é um bom método de diagnóstico para detectar situações de isquemia pulpar, nos casos de luxação após o reposicionamento e a imobilização.

Outro método fiável, inócuo, e com pouca variabilidade interpessoal, é a avaliação da saturação de oxigénio, com o oxímetro de pulso. Com este método, avalia-se a circulação sanguínea pulpar e a sua saturação de oxigénio (Schnettler *et al.*,

1991; Kahan *et al.*, 1996; Noblett Craig *et al.*, 1996; Goho Curt, 1999). Num estudo realizado em crianças com idades compreendidas entre os 4 e os 10 anos, por Goho Curt (1999), foi possível concluir que a oximetria é um método válido e objectivo para avaliar a vitalidade pulpar, principalmente em dentes imaturos, onde a inervação está incompleta e os testes de sensibilidade térmico e eléctrico não são fiáveis. Este autor, igualmente aconselha o método, em estudos longitudinais, de doentes, cujos dentes sofreram traumatismos. Avaliam-se, assim, as alterações pulpares e, se necessário, deve proceder-se a intervenção endodôntica atempada para prevenir lesões de reabsorção inflamatória.

Depois de efectuado o reimplante, também decorrem reacções a nível periodontal, no sentido da reparação. Assim, após a formação do coágulo, ao fim de 3 – 4 dias dá-se a proliferação de células de tecido conjuntivo, que preenchem o espaço do LPD. Uma semana depois, decorre a união do epitélio a nível da união amelo-cementária, que irá prevenir a ocorrência de invasão bacteriana e, conseqüentemente, de infecções. No fim da segunda semana, ocorre regeneração e podem observar-se as fibras desde o cimento até ao osso alveolar, com reparação do LPD (Pichelbauer, 2003).

Vários estudos histológicos, realizados no homem e em animais com dentes reimplantados, revelaram quatro tipos de reparação a nível do LPD: 1) reparação com LPD normal; 2) formação de reabsorção superficial; 3) formação de reabsorção de substituição e anquiose; 4) formação de reabsorção inflamatória (Andreasen, 1987; Bhambani, 1993; Andreasen *et al.*, 1994).

### **Reparação com LPD normal**

Histologicamente, caracteriza-se pela regeneração completa do LPD, a qual ocorre ao fim de 2 a 3 semanas após o reimplante. Este tipo de cicatrização só acontece se a camada mais interna da superfície radicular se encontra vital. Radiograficamente, existe um espaço de LPD à volta da raiz do dente sem sinais de reabsorção radicular. Clinicamente, o dente encontra-se assintomático, numa posição normal na arcada e com som normal à percussão (Andreasen J.O., 1981; Andreasen J.O., *et al.*, 1994).

### **Formação de reabsorção superficial**

Sob o ponto de vista histológico, caracteriza-se por áreas de reabsorção localizadas, reparadas por cimento neoformado, provavelmente porque houve uma lesão de cimento localizada numa pequena área. Estas lesões acabam por cicatrizar se a inflamação é de pequena intensidade e não existem estímulos inflamatórios acessórios (Andreasen J.O., 1981). Este tipo de lesões são de pequeno tamanho e por isso não se detectam na radiografia peri-apical. No entanto, se efectuarmos radiografias anguladas, podem ser observadas pequenas escavações na raiz, com o espaço periodontal normal. Clinicamente o dente encontra-se assintomático, numa posição normal na arcada e com som normal à percussão.

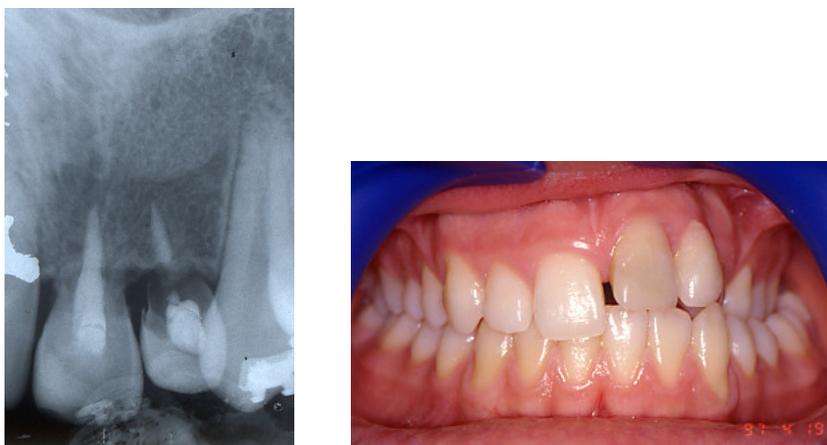
### **Formação de reabsorção de substituição e anquilose**

A anquilose dento-alveolar corresponde à fusão do osso alveolar e da superfície radicular, podendo ser observada, segundo alguns autores, 2 meses após o reimplante (Nasjelti *et al.*, 1982). A etiologia parece estar relacionada com a quantidade de ligamento vital que se encontra a recobrir a superfície radicular, quando se realiza o reimplante. Será transitória, se a perda é parcial, como foi

demonstrado por vários autores que efectuaram remoção duma parte de LPD e, após o reimplante, ocorreu cicatrização; ou será progressiva, se o LPD for totalmente removido ou perdido por desidratação excessiva (Andreasen J.O., 1981; Lindskog *et al.*, 1985; Andreasen J.O., *et al.*, 1987).

Radiograficamente, o diagnóstico só é possível realizar-se nas áreas proximais da raiz, caracterizando-se pelo desaparecimento completo do espaço periodontal, com substituição do tecido radicular por osso alveolar (Andreasen J.O., 1981). Os primeiros sinais de reabsorção podem ser observados com maior frequência na região apical da raiz e ao fim de 3 a 4 meses decorridos (Bhambani, 1993).

Clinicamente, o dente anquilosado fica sem mobilidade e, em crianças que ainda não terminaram o crescimento, situa-se em infra-oclusão, devido à inibição localizada do crescimento vertical do processo alveolar (Andreasen J. O., *et al.*, 1994), (Figura 1.16).



**Fig. 1.16**

Radiografia peri-apical e fotografia intra-oral, de paciente a que corresponde a ortopantomografia da figura 1.20, onde se verifica a infra-oclusão e a reabsorção dos dentes 21 e 22, 3 anos após ter sido efectuado o reimplante.

Ao realizar o teste à percussão, ouve-se um som metálico que é patognomónico dos dentes anquilosados, sendo assim diferente do dos dentes adjacentes. O prognóstico a longo prazo é reservado e de difícil previsão. No entanto, existem dentes que se mantêm funcionais durante 4 a 6 anos (Andreasen J.O., *et al.*, 1994).

### **Formação de reabsorção inflamatória**

A reabsorção inflamatória caracteriza-se pela existência de cavidades em forma de meia-lua, situadas no cimento e na dentina, associadas à presença de inflamação localizada no tecido periodontal adjacente e/ ou do tecido pulpar necrótico.

Este tipo de reabsorção tem uma frequência elevada após o reimplante, em crianças até aos 10 anos de idade. Esta ocorrência deve-se a uma combinação entre o diâmetro dos túbulos dentinários, que são amplos, e a espessura do cimento, que é menor do que no adulto (Andreasen J.O., *et al.*, 1994).

O factor mais importante na prevenção da reabsorção, e que é determinante para o prognóstico, é o tempo de permanência do dente em ambiente extra-oral seco, devendo este ser imediatamente reimplantado após o acidente, preservando, assim, a viabilidade das células do LPD e, conseqüentemente permitindo otimizar a cicatrização e minimizar a reabsorção (Andreasen J.O., 1981; Anderson *et al.*, 1990; Trope, 2002).

Neste tipo de reabsorção observam-se radiograficamente, as ditas cavidades em forma de meia-lua, na superfície externa da raiz, que podem ser detectadas 2-3 semanas depois do reimplante. Clinicamente, o dente com reabsorção inflamatória apresenta grande mobilidade, extrusão e sensibilidade dolorosa à percussão.

### **A conduta clínica nas avulsões**

O tratamento de dentes avulsionados consiste em reduzir os efeitos nocivos do traumatismo sobre as células do LPD e da polpa dentária. A lesão que o traumatismo provoca no LPD não pode ser evitada, no entanto, há medidas que devem ser tomadas para a reduzir ao mínimo, sendo imprescindível a adequada manipulação do dente e a preparação do alvéolo, durante o procedimento do reimplante. O aspecto mais importante para o êxito do reimplante é a rapidez com que o dente é recolocado no alvéolo, sendo de suprema necessidade prevenir a sua desidratação (Andreasen J.O. *et al.*, 1994). Quando não é possível efectuar o reimplante imediatamente após a avulsão, é necessário utilizar uma solução adequada para o seu transporte, de modo a preservar ao máximo as células do LPD. Nesse sentido, tem-se sugerido utilizar: água, saliva, leite, soro fisiológico e meios para cultura de células.

Colocar o dente em saliva, ou mantê-lo no vestibulo bucal do paciente ou dos pais, é o meio mais fácil de transporte, mas ele não é o ideal devido à baixa osmolaridade, ao pH e à presença de bactérias existentes na saliva, (Ram D., *et al.*, 2004).

O leite tem sido igualmente aconselhado como meio de transporte de dentes avulsionados, devido à sua osmolaridade, pH neutro, presença de nutrientes e ausência de componentes tóxicos (Pichelbauer O.E., 2003; Huang S.C., *et al.*, 1996).

Siang-Chih *et al.*, (1996), efectuaram um estudo *in vitro* sobre o efeito de várias soluções (leite, soluções para lentes de contacto, soro fisiológico e solução de Hank's), em células do LPD, tendo concluído que o leite é um bom meio para *in vitro*, manter a vitalidade das células do LPD, não recomendando, no entanto, a solução para lentes de contacto em substituição do soro fisiológico (Yanpiset K. & Trope M., 2000).

Nas directrizes da Associação Americana de Endodontia, para o tratamento das avulsões, é aconselhado a utilização da solução balanceada de Hank's (HBSS; Life Technologies, Grand Island, NY, USA) como meio de transporte, devido à sua capacidade de preservar a viabilidade das células do LPD. O HBSS é um fluido inócuo, com um pH de 7,2 e com uma osmolaridade de 275 miliosmoles (mOsmol), apropriada para o crescimento celular (Comfort M.B., 1980; Trope M., *et al.*, 1992).

Como se constata, a osmolaridade da solução de transporte é um factor a ter em consideração para manter a viabilidade celular, sendo considerada mais importante do que a sua composição química (Lindskog S., *et al.*, 1982). Com a utilização de uma solução hipotónica, ocorre entrada de água para a célula, que assim aumenta de tamanho e hemolisa. Por outro lado, se a solução for hipertónica, há saída de água da célula, que fica desidratada e acaba também por morrer. A osmolaridade do HBSS é de 275 mOsmol, tendo sido referido, por Waymouth que o crescimento celular ocorre em meios com uma osmolaridade entre os 230 e 400 mOsmol (Olson D.B., *et al.*, 1997).

Outro produto, o Viaspan®, é uma solução para conservação celular que apresenta uma osmolaridade de 320 mOsmol e um pH de 7,2. Hiltz J. & Trope M., (1991), demonstraram *in vitro* a capacidade que as soluções HBSS, Viaspan® e o leite têm de preservar a viabilidade e morfologia de fibroblastos, durante um período superior a 72 horas. Nesse estudo, concluíram que o Viaspan® foi o meio mais efectivo na conservação da vitalidade celular, com 37,6% de células vitais, no período de observação de 168 horas. Entre 2 a 6 horas, o leite foi tão eficaz como as outras soluções utilizadas.

Harkatz O.M., *et al.*, (1997) e Olson D.B., *et al.*, (1997), testaram a eficácia duma bebida energética - *Gatorade*® - como meio de

transporte para conservar as células do LPD. Os resultados foram, contudo, inferiores aos do grupo controlo, preservados em água corrente.

Huang *et al.*, (1996) efectuaram um estudo utilizando soluções para lentes de contacto, tendo concluído que essas soluções não devem ser utilizadas como meio de transporte de dentes avulsionados.

Mais recentemente, Sigalas *et al.*, (2004) utilizaram células do LPD removidas da região apical de dentes extraídos por razões ortodônticas e testaram a possibilidade de utilização de várias soluções para lentes de contacto, o *Gatorade*®, o leite e o HBSS. Fizeram-no à temperatura ambiente e em gelo, concluindo que as células mergulhadas num meio contendo HBSS, sobrevivem e proliferam melhor do que nos outros meios utilizados; que os meios de transporte são mais eficazes para a viabilidade celular se forem colocados em gelo em vez de à temperatura ambiente; que o leite magro pode ser utilizado em alternativa ao HBSS, como meio de transporte de dentes avulsionados, se for submetido à acção do gelo; e que o *Gatorade*® ou soluções para lentes de contacto, quando colocados em gelo, podem ser utilizados temporariamente (até 1 hora) como meio de transporte, se não houver leite magro ou HBSS disponível.

Este estudo é coincidente com o de Huang *et al.*, (1996) mas, no que se refere à utilização do leite como meio de transporte, Huang adverte que, à temperatura de 20º C, a viabilidade celular é maior do que à temperatura de 4ºC (Huang *et al.*, 1996).

Buttke *et al.*, (2003) efectuaram um estudo com cães rafeiros, utilizando HBSS e Viaspan® com catalase bovina para manter os dentes após extracção e antes de serem reimplantados. Concluíram que a presença de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, mesmo em níveis reduzidos, tem um efeito adverso sobre as células do LPD; que o sucesso

dos reimplantes pode ser aumentado se o dente for mergulhado numa solução que contenha um ou mais antioxidantes e que, com o Viaspan®, ocorrem menos reabsorções do que com o HBSS associado ou não à catalase.

### **A conduta clínica no local do acidente**

O paciente, ou acompanhante, deve ser instruído para segurar o dente pela coroa, lavá-lo com água corrente e colocá-lo no alvéolo. O acidentado deve ser transportado até ao consultório médico, mantendo o dente no local com uma ligeira pressão digital ou mordendo um pano. No caso de dúvidas, indicar a colocação do dente em leite ou soro fisiológico (Ram *et al.*, 2004). A água não deve ser utilizada, por ser hipotónica, podendo por isso causar lise celular e aumento da inflamação (Trope, 2002).

### **A conduta clínica no consultório**

Deve-se realizar a história clínica, questionando o intervalo de tempo que decorreu desde o acidente, bem como a solução de transporte que foi utilizada.

Seguindo o protocolo de Trope, (2002), deve-se examinar cuidadosamente o dente e inseri-lo numa solução apropriada, sendo a solução HBSS considerada actualmente como o melhor meio para este fim. Na falta desta, leite ou solução salina podem ser utilizadas para manter o dente, enquanto se procede à história clínica e observação do alvéolo, para verificar se existem fracturas alveolares. Este não deve ser curetado, mas somente irrigado com soro fisiológico para se removerem os coágulos e assim permitir mais facilmente a sua inserção, seguindo-se de uma suave pressão digital. No caso de reimplantação no local do acidente, deve ser avaliada a posição em que o dente foi colocado, para que seja reposicionado, se esta não for a correcta.

Estudos experimentais têm demonstrado que a aplicação tópica de tetraciclina actua como descontaminante da superfície radicular e promove a regeneração do ligamento periodontal (LPD), (Trombelli L., *et al.*, 1995; Bryson E.C., *et al.*, 2003). As tetraciclinas, são antibióticos de largo espectro, que actuam sobre as bactérias, inibindo a síntese proteica. Esta propriedade e a sua afinidade para a ligação aos tecidos duros, com libertação lenta, têm um papel determinante na redução da reabsorção (Baker P.J., *et al.*, 1983).

A fixação do reimplante deve ser tomada em conta, uma vez que as imobilizações funcionais ou semi-rígidas previnem a anquilose pós-reimplante, o que não acontece com as fixações rígidas (Andersson L., *et al.*, 1985; Oikarinen K., 1991). Assim, Andreasen J.O., *et al.*, (1994) e Nasjleti C., *et al.*, (1982), aconselham a realizar a fixação por um período mínimo de uma semana, tempo suficiente para assegurar um adequado suporte periodontal. Outros autores, como Bhambani S.M., (1993), aconselham uma fixação durante duas semanas, utilizando fio ortodôntico flexível e resina composta.

Deve ser feito o controlo oclusal, de forma a prevenir o traumatismo provocado pelos dentes oponentes.

Vários autores recomendam também que deve ser feita a prevenção do tétano e a prescrição de antibióticos como procedimento de rotina (Cvek M., *et al.*, 1990; Kling M., *et al.*, 1990; Andreasen J.O., *et al.*, 1994).

A questão do tempo apropriado para a realização da terapêutica endodôntica após o reimplante, é de grande importância. Assim, na sua decisão pesam alguns factores como o estado de desenvolvimento radicular, o tempo de permanência extra-oral e a solução que foi utilizada como meio de transporte dentário. Deve-se, no entanto, evitar esta terapêutica antes do reimplante, por

causa do risco acrescido de maior lesão do LPD, através da manipulação e da utilização dos materiais de obturação. Esta deve ser iniciada uma semana depois do reimplante, tanto para prevenir a reabsorção de substituição, como a reabsorção inflamatória, permitindo assim a recuperação das fibras do LPD. Como medicação intra-canal, este deve ser preenchido com pasta de hidróxido de cálcio, para prevenir a reabsorção inflamatória (Barrett E.J., *et al.*, 1997; Pierce A.M., 1989).

A substituição do hidróxido de cálcio deve ser feita de 3 em 3 meses, durante um período mínimo de 6 a 24 meses. A obturação com guta- percha só deverá ser efectuada quando, no exame clínico e radiográfico, se conclua pela presença de tecido periapical saudável e pelo encerramento apical do canal (Ghose L.J., *et al.*, 1987; Yates J.A., 1989; Andreasen J.O., *et al.*, 1994; Trope M., 2002).

Para facilitar o procedimento clínico têm sido sugeridos vários protocolos esquematizados, em função de vários aspectos que acompanham as avulsões. Neles, todos os autores se baseiam no estado de maturação radicular, no meio de transporte que foi utilizado, no tempo de permanência extra-oral e no tipo de férula a utilizar, (Krasner P. & Rankow HJ., 1995; Flores M.T., *et al.*, 2001; Trope M., 2002; Ram D., & Cohenca N., 2004).

### **3. CONSIDERAÇÕES CLÍNICAS DOS TRANSPLANTES DENTÁRIOS**

Existem diversas estratégias para substituir a ausência de dentes, perdidos por cáries, perdidos por avulsões ou devido a agenesias. Os transplantes dentários são uma possibilidade terapêutica, que consiste na transferência de dentes, de um alvéolo para outro. Se são realizados no mesmo indivíduo,

designam-se por transplantes autólogos ou autotransplantes; se entre indivíduos diferentes, denominam-se heterotransplantes. Para que os resultados sejam previsíveis, as indicações e contra-indicações desta terapêutica devem ser bem conhecidas.

Os pacientes devem ser saudáveis, colaborantes e capazes de cumprir as instruções e os cuidados pós-operatórios. Igualmente, devem expressar disponibilidade para comparecer às visitas de controlo. Imprescindíveis ainda, são as condições de higiene oral e a possibilidade de manter cuidados dentários regulares (Clokier *et al.*, 2001).

Qualquer peça dentária do paciente dador pode ser escolhida, sendo contudo, os 3<sup>os</sup> molares e os prémolares os dentes mais utilizados. Nesta terapêutica, devem ser, no entanto, excluídas as situações de infecção ou inflamação do local receptor (Northway & Konigsberg 1980).

O espaço da zona receptora deve ser cuidadosamente avaliado, no referente ao suporte ósseo, que deve ser adequado, em todas as dimensões. A avaliação do espaço mesiodistal, não oferece dificuldade, o qual deve ser compatível com o dente dador. A realização de uma radiografia oclusal pode ser útil para se avaliar a largura vestibulo-lingual da crista óssea.

Na zona receptora, as estruturas anatómicas adjacentes, como o nervo dentário inferior e o seio maxilar devem ser cuidadosamente analisadas. Essa avaliação pode ser realizada através de tomografia axial computadorizada (TAC), a qual tem a vantagem de nos fornecer dados para o fabrico do modelo dentário, para elaboração do alvéolo receptor, do dente a transplantar, (Lee S.J., *et al.*, 2001; Meechan J.G., *et al.*, 2003). Este modelo pode ser fabricado através de dois métodos. Um, consiste em utilizar as dimensões fornecidas pela TAC e, utilizando cera para fabricar o modelo do dente a transplantar. Este

modelo em cera é posteriormente duplicado com resina, para ser utilizado na manipulação intra-operatória e confecção do alvéolo receptor. No segundo método é utilizado o *computer-aided rapid prototyping*, o qual dá uma imagem tridimensional que se exporta para um aparelho que fabrica em resina, o modelo do dente a transplantar (Lee S.J., *et al.*, 2001; Kim *et al.*, 2005).

Na ausência destes métodos imagiológicos, para avaliar o espaço receptor e o tamanho do dente a transplantar, podemos recorrer à radiografia periapical. A partir desta, constrói-se o modelo do dente em cera, que depois de ser reproduzido em resina acrílica, irá servir de molde, para a criação do alvéolo receptor. Permite desta forma, que, enquanto o alvéolo é criado, de acordo com o tamanho do dente, o tempo extra-oral deste seja mínimo.

O estado de desenvolvimento radicular do dente a transplantar também é referido como um factor de grande importância para o sucesso. Idealmente, ele deverá apresentar 1/2 a 2/3 da raiz formada (Northway W.M., & Konigsberg S., 1980; Andreasen J.O., 1992). No entanto, nas situações em que o espaço entre o rebordo ósseo alveolar e o seio maxilar ou o nervo dentário inferior é reduzido, o dente a transplantar deve encontrar-se numa fase de desenvolvimento mais precoce (Andreasen J.O., 1992; Clokie C.M.L., *et al.*, 2001). Por outro lado, o estado de maturação do dente, não deve ser muito precoce, para não se correr o risco do seu desenvolvimento não se completar.

Myrlund S., *et al.*, (2004), avaliaram 132 transplantes, realizados em seres humanos e relacionaram o sucesso com o comprimento radicular. Concluíram que, o sucesso ao fim de 4 anos foi de 90,5% e que, em dentes transplantados com raízes em fase inicial de maturação, o comprimento final radicular era considerado muito curto.

### **3.1.TÉCNICA CIRÚRGICA**

Uma variedade de procedimentos, têm sido propostos, no manuseamento dos reimplantes e dos transplantes dentários. Todos são unânimes quanto à prevenção da reabsorção radicular inflamatória e de substituição, que constitui a principal complicação, associada ao insucesso desta terapêutica. Deste modo, a técnica cirúrgica utilizada nos transplantes dentários, tem sofrido modificações ao longo dos anos.

Apesar de podermos optar por várias técnicas, existe contudo, uma mensagem comum em todas elas que é preservar ao máximo a actividade celular do ligamento periodontal (LPD) e do cimento radicular (Thomas *et al.*, 1998; Tsubura *et al.*, 2003).

O processo de cicatrização de um alvéolo, depois da extração, é semelhante ao tipo de cicatrização por segunda intenção. Inicialmente o alvéolo é preenchido por um coágulo sanguíneo, que, 7 a 14 dias depois, é substituído por um tecido de granulação fortemente irrigado, composto essencialmente por fibroblastos e por células endoteliais (Sheffield, 1996). As células representam a unidade estrutural e funcional de todos os seres vivos. Os diversos tipos de células podem ser agrupados em três grupos principais: células lábeis, células estáveis e células permanentes. Os fibroblastos, são células que se encontram na fase estável, mas que podem entrar na fase G1 do ciclo celular, para se diferenciarem, e assim promoverem a regeneração dos tecidos (Sheffield, 1996).

Baseados nestes conhecimentos, há autores que aconselham a execução do transplante em duas fases. Assim, inicialmente é criado o alvéolo receptor e 10 dias depois, é efectuado o transplante. A técnica em duas fases, segundo alguns autores, tem

vantagens, uma vez que, evita que a raiz do transplante contacte directamente com o osso. Previne-se, assim, a reabsorção e como já existe um tecido organizado, com vasos neoformados, favorece-se a irrigação e a revascularização do dente transplantado (Pedroso *et al.*, 1993).

Por outro lado, a insuficiente irrigação e nutrição, devida à distância existente entre o transplante e o leito alveolar, pode ser a explicação para complicações como reabsorções e a sua perda frequente. Estas complicações podem, segundo Nethander *et al.*, (1988) ser superadas com a realização do transplante em duas fases.

Num estudo efectuado em ratos, Pedroso *et al.*, (1993) efectuaram autotransplantes, para alvéolos criados cirurgicamente e compararam os resultados com transplantes efectuados para alvéolos existentes, imediatamente após exodôncia, e concluíram que nos autotransplantes para alvéolos criados cirurgicamente, tinha havido atraso na reinserção epitelial no início, ocorria proliferação precoce de tecido conjuntivo e trabéculas ósseas, assim como revascularização da polpa, com formação de calcificações tardias e havia pequenas zonas de reabsorções radiculares e grandes áreas de anquilose.

Skoglund & Hasselgren por outro lado, efectuaram autotransplantes de dentes, 30 dias depois de terem criado alvéolos cirurgicamente, em cães rafeiros. Verificaram a ocorrência de reabsorção interna e externa em todos os dentes transplantados, bem como a necrose de todas as polpas dos mesmos, seguindo-se um processo lento de reparação, por crescimento de tecido conjuntivo, para o interior da polpa (Skoglund & Hasselgren 1992).

Bosco *et al.*, efectuaram um estudo em macacos e concluíram que os dentes transplantados para alvéolos em fase de

cicatrização preservavam maior quantidade de ligamento periodontal, que apresentavam cicatrização do LPD sem anquiose ou reabsorção de substituição e que desenvolviam mais reabsorção de superfície durante a fase de reparação (Bosco *et al.*, 2000).

Mais recentemente, Nethander *et al.*, realizaram autotransplantes, para alvéolos previamente realizados, em cães. Os autotransplantes foram efectuados para esses alvéolos em fase de cicatrização, 5 dias depois de terem sido criados. Compararam os resultados com outros, em que foram efectuados autotransplantes para alvéolos recém-criados. Concluíram que não havia diferenças significativas quanto à ocorrência de reabsorções, nem diferenças quanto aos dentes incisivos e pré-molares (Nethander *et al.*, 2003).

Os resultados deste estudo são no entanto contraditórios, quando comparados com outro estudo retrospectivo (a 5 anos), anteriormente efectuado pelo mesmo autor. Este realizou autotransplantes de dentes em humanos, com a raiz completamente formada, 14 dias depois de ter criado o alvéolo. Neste trabalho, referiu que a técnica em duas fases, é possível para dentes completamente formados porque reduz o risco de reabsorção radicular e outras complicações, que podem conduzir à sua extracção (Nethander *et al.*, 1988).

A diferença dos resultados pode ser devida a que, 5 dias de cicatrização correspondam a um intervalo de tempo muito reduzido, para se dar a revascularização e a regeneração dos tecidos, quando comparado com os 14 dias do estudo realizado em humanos.

Gault & Warocquier- Clerout, preconizam o estímulo das células do ligamento periodontal, do dente a transplantar. Numa primeira fase é feita a extracção do dente a transplantar e reinserção

imediate no alvéolo original. Este procedimento provoca um processo de cicatrização, que se inicia na zona média do LPD em detrimento do osso ou do cimento. O transplante é realizado, 14 dias depois de se ter iniciado o pico dinâmico da cicatrização. Para fixação, utilizaram fio de sutura, sobre a superfície oclusal. Através deste método, os autores referem uma taxa de sucesso, de 95,75%, numa avaliação entre 2 e 7 anos (Gault & Warocquier-Clerout 2002).

Outros autores (Tsubura & Ikeda, 2003), por outro lado, preconizam o estímulo das células do ligamento periodontal, através de forças ortodônticas leves (100-200 g) durante 4 semanas antes de realizarem o transplante. Aconselham a fixação com fio ortodôntico duro (0,8mm) e sistema de resina composta. Num estudo comparativo com a técnica sem estimulação, verificaram melhores resultados durante a fase inicial de cicatrização.

O cão é um animal utilizado com frequência em estudos sobre reimplantes e transplantes dentários, possuindo uma capacidade de cicatrização, que é duas vezes mais rápida do que no homem. Tem sido demonstrado que, 3 dias depois da extração de dentes, os alvéolos de cães são preenchidos por um coágulo sanguíneo bem organizado e que após 7 dias, todo o alvéolo se encontra preenchido por um tecido de granulação, vascular jovem (Skoglund 1981).

O transplante de tecidos em proliferação, tem sido estudada, na indução da formação de cimento e de ligamento periodontal, na superfície radicular. Katayama *et al.*, concluíram que, o transplante de tecido em proliferação promove a regeneração dos tecidos do LPD dos dentes transplantados, melhorando assim os resultados nos transplantes dentários (Katayama *et al.*, 2006).

Na terapêutica com transplantes e reimplantes dentários, é importante considerar os eventos que ocorrem durante a cicatrização do alvéolo dentário, após a extracção. Inicialmente o alvéolo é preenchido por coágulo sanguíneo rico em fibrina, onde ao fim de alguns dias ocorre a formação de tecido de granulação, composto por células endoteliais e fibroblastos (Sheffield 1996). Localmente, existe a acção de mensageiros químicos, que estão envolvidos no controlo do crescimento celular e na cicatrização. De entre esses mensageiros, destacam-se o factor de necrose tumoral (TNF), o factor de crescimento epitelial (EGF), o factor de crescimento transformante (TGF) e o factor de crescimento dos fibroblastos (FGF). Todos estes factores podem actualmente ser estudados, graças ao excepcional desenvolvimento da biologia molecular.

O ácido desoxirribonucleico, (ADN), armazena toda a informação genética, de uma forma estável, a qual é replicada nos seres vivos. A expressão dessa informação, que nos seres eucariotas é mais complexa do que nos procariotas, requer o seu fluxo, do ADN para o ácido ribonucleico (ARN) e deste para as proteínas, que assim serão sintetizadas.

Esta reacção complexa, é catalisada por uma DNA polimerase, que desenrola a dupla hélice de ADN, para que ocorra a transcrição.

Em 1984, Kary Mullis desenvolveu um método chamado reacção em cadeia da polimerase (*PCR*), do inglês, *polimerase chain reaction*, para ampliar sequências específicas de ADN (Berg *et al.*, 2004).

A *PCR*, é feita pela adição de um par de *primers*, os quatro trifosfatos desoxirribonucleotídeos e de uma DNA polimerase estável a elevadas temperaturas. Cada ciclo de *PCR* é constituído por três etapas: a) separação dos filamentos da molécula de ADN;

b) hibridização de *primers* por arrefecimento a 54°C e c) síntese de ADN por aquecimento a 72°C (Berg *et al.*, 2004).

As alterações dos tecidos após os transplantes dentários, têm sido exaustivamente estudados por vários autores (Slagsvold *et al.*, 1978; Andreasen *et al.*, 1990; Skoglund *et al.*, 1992; Paulsen *et al.*, 1998; Tsubura *et al.*, 2003). Desses estudos, há informações valiosas sob o ponto de vista clínico, relativamente à obliteração pulpar, à reabsorção radicular e a alterações do crescimento radicular.

Ogawa *et al.*, (2006), autotransplantaram dentes de rato para a região sub-lingual, para avaliarem a regeneração da polpa e o efeito dos tecidos circundantes na formação da matriz de dentina. Verificaram que ao fim de 3 dias, a polpa apresentava lesões inflamatórias, com preenchimento por neutrófilos e que entre os 14 e os 28 dias após os transplantes, ocorria formação de dentina tubular e de tecido osteóide. Da análise imunohistoquímica para a fosfatase ácida resistente ao tartarato (TRAP), que é um marcador de células da linhagem dos osteoclastos, observaram que os dentes de controlo, não transplantados, eram TRAP (-), enquanto os experimentais se apresentavam TRAP (+), na câmara pulpar e ocasionalmente na margem pulpo-dentinária. Concluíram que a polpa dentária, contém *stem cells*, que se podem diferenciar em odontoblastos, em osteoblastos e em células do tipo neural. O controlo exacto da proliferação e da diferenciação dessas células pulpares, é necessário, para terapêutica endodôntica futura, porque podendo depositar um tecido do tipo osso, pode facilmente sofrer reabsorção e anquilose.

O factor de crescimento do hepatócito (*HGF*), inicialmente identificado no plasma e nas plaquetas sanguíneas, é reconhecidamente um factor multifuncional, actuando como

potente mitogénico, na motilidade, na morfogénese e ainda na angiogénese. Estudos *in vitro*, com células da polpa de dentes íntegros, em que utilizaram *RT-PCR*, Ye *et al.*, concluíram que o *HGF*, estimula a proliferação das células pulpares e que estas aumentam a expressão da actividade da fosfatase alcalina (*ALP*) e da fosfoproteína da dentina (*DSP*), que são considerados marcadores da diferenciação dessas células. Deste modo sugerem a potencial aplicação desta molécula biológica na promoção de tecido pulpar perdido ou lesado, facilitando ainda a formação de osso e de dentina, (Ye *et al.*, 2006).

As reacções pulpares depois dos transplantes, em dentes com a raiz completamente formada, tem sido estudada e alguns autores consideram que o tratamento endodôntico de rotina, é dispensável. Após a isquémia, as células ficam sem suprimento de oxigénio e de glucose, deixando de ser produzida energia (ATP), pela mitocôndria. Essa falta de energia, conduz à necrose celular e à interrupção na produção de proteínas. No entanto, se o suprimento sanguíneo é restabelecido, ocorre reperfusão dos tecidos (Stevens & Lowe, 1995).

Há autores que consideram, que após o transplante, ocorre sempre necrose pulpar, ponderando que o tratamento endodôntico de rotina é aconselhável, realizado cerca de 3 semanas depois de efectuado o transplante, para desta forma, prevenir a reabsorção inflamatória.

Skoglund realizou transplantes (TP), de dentes completamente formados, em cães rafeiros, depois de terem realizado apicectomia. Concluiu, através de microangiografia que, 10 dias após os TP, grande parte dos dentes apresentavam vasos sanguíneos e que aos 120 dias, a maior parte dos dentes apresentava revascularização. Concluiu ainda que nos dentes sem apicectomia, não ocorreu revascularização (Skoglund A., 1981).

Quando um alvéolo é criado cirurgicamente, não existe membrana periodontal, com os seus componentes celulares, o que pode influenciar o processo de regeneração e condicionar a revascularização pulpar (Skoglund A., & Hasselgren G., 1992).

Estudos com micro-angiografia, histoquímicos e histomorfométricos foram realizados em cães rafeiros, com dentes transplantados para alvéolos recém-criados. Os autores concluíram que: ocorria reabsorção externa em todos os dentes; o tecido pulpar original dos dentes transplantados, acabava por necrosar após o procedimento e que, o processo de reparação era lento e por crescimento de tecido para o interior do canal, mas a um ritmo inferior ao dos transplantes para alvéolos naturais (Skoglund A., *et al.*, 1992).

Depois de realizado um transplante dentário, ocorrem alterações a nível pulpar, com desorganização inicial da camada de odontoblastos e aparecimento de infiltrado inflamatório crónico, associado à hiperémia. Estas alterações, segundo alguns autores, ocorrem ao fim de dois a quatro dias, surgindo áreas de necrose pulpar e a proliferação de fibroblastos ao fim de 14 dias. A formação de dentina atubular ocorre 30 dias depois do transplante, em que a polpa da região coronária é substituída por osteodentina. A revascularização nervosa, por outro lado, só é evidente, ao fim de 90 dias, (Natiela J.R., 1979).

Nos diversos estudos sobre autotransplantes, os autores realizam-nos sem remoção da polpa (Natiela J.R., 1979; Skoglund 1981; Skoglund *et al.*, 1992; Nethander *et al.*, 2003).

Claus *et al.*, realizaram transplantes de dentes imaturos, em cães de raça *Beagle*, depois de lhe terem removido toda a polpa. Após um período experimental de 30 dias, foi feita eutanásia, colheita dos espécimens e feita preparação para coloração com hematoxilina e eosina. Foram observados com microscópio óptico

e concluíram que: 1) após uma semana, o 1/3 apical da cavidade pulpar se encontrava parcialmente preenchida por coágulo sanguíneo e que o resto do canal se encontrava preenchido com linfócitos, e material necrótico; 2) duas semanas depois dos TP, o espaço pulpar se encontrava preenchido com tecido conjuntivo ricamente vascularizado; 3) três semanas depois, ocorria um crescimento de tecido para o interior do canal em todos os dentes; 4) a percentagem de sucesso nos dentes mandibulares, foi maior; 5) que nos pré-molares, os resultados foram melhores do que nos incisivos (Claus *et al.*, 2004).

Como referimos, a necrose pulpar e a sua infecção por bactérias, constitui uma das causas de reabsorção inflamatória externa, que pode levar à perda do dente transplantado. Para prevenir essa complicação, o tratamento endodôntico poderá ser realizado antes da extracção. Depois de extrair o dente efectua-se uma apicectomia, com obturação *ad rectro*, antes de ser feito o transplante.

Kim *et al.*, avaliaram o prognóstico e o sucesso de 182 dentes humanos, autógenos, transplantados, utilizando esta técnica. Num controlo realizado entre os 2 e os 60 meses, concluíram que, a percentagem de sucesso foi de 95,5% e consideraram que esta técnica aumenta a taxa de sucesso dos transplantes dentários (Kim *et al.*, 2005).

Como foi já anteriormente referido, a morfogénese dentária é regulada por uma sequência de interacções recíprocas entre o epitélio e o mesênquima.

A dentinogénese é regulada por uma camada de células, pós-mitóticas, altamente diferenciadas, derivadas da papila dentária que são os odontoblastos. A matriz de dentina segregada pelos odontoblastos, constitui assim, o maior componente dos tecidos

mineralizados do dente, cuja composição é de material orgânico e inorgânico (Ten Cate AR., 2003).

Além dos odontoblastos, a polpa possui células progenitoras, capazes de se diferenciarem em células tipo odontoblastos, que expressam níveis elevados de colagénio do tipo-I e de fosfoproteína da dentina (DPP), (Berkovitz B.K.B., *et al.*, 2004). A fosfoproteína da dentina, está fortemente associada à fase de mineralização do tecido dentinário. Por outro lado, a polpa contém células progenitoras competentes, capazes de se diferenciarem em células que segregam dentina reparadora, tubular e tecido atubular, do tipo osteóide (Braut *et al.*, 2003).

A utilização de corantes intra-vitais, permite obter informações sobre a história biológica e funcional dos tecidos, reduzindo assim o número de animais experimentais necessários. Estas técnicas têm sido descritas, por vários autores e aplicadas em trabalhos de investigação, sobre biologia óssea (Coelho 2003). O processo de mineralização pode assim ser avaliado de forma dinâmica, utilizando substâncias designadas por fluorocromos, que se liguem fortemente à matriz mineral, na qual permanecem unidos durante bastante tempo, pela formação de compostos quelatados com a apatite (Rahn, 1999).

Os fluorocromos, devido às suas propriedades fluorescentes, quando submetidos a uma luz com comprimentos de onda específicos, em fundo escuro, permitem avaliar a quantidade de material mineral formado. Os corantes mais utilizados para o estudo da formação óssea são a tetraciclina, a calceína e o *xileno/ orange*, administrados por injeção sub-cutânea ou por *per os*, com a ingestão de água (Rahn, 1999). A calceína, que emite uma fluorescência de cor verde, requer a administração subcutânea de 5 mg/kg de peso vivo (p.v.). A emissão máxima deste fluoróforo é

observada aos 530 nanómetros (nm) e a excitação máxima aos 495 nm, quando as preparações histológicas são submetidas a luz com esses comprimentos de onda (Rahn, 1999).

O *xilenol orange* requer uma injeção sub-cutânea, de 90 mg /kg (p.v.). Emite uma fluorescência cor de laranja, com a emissão máxima aos 610 nm e a excitação máxima aos 580 nanómetros.

Como terceiro marcador, pode ser utilizada a tetraciclina, na dose de 25 mg/kg (p.v.), dando uma coloração amarela. Este corante apresenta a emissão máxima a rondar os 520 nm e a excitação máxima que varia entre os 350 a 400 nanómetros (Rahn, 1999).

Estes corantes, como foi referido, são muito utilizados no estudo da biologia óssea, sendo no entanto pouco utilizados no estudo dos tecidos do dente. Os tecidos dentários apresentam autofluorescência, exibindo a dentina valores superiores à do esmalte, devido a ter na sua composição triptofano (Tabela 1.2). Essa autofluorescência, aumenta com a idade e com o tempo após a extracção. (Matsumoto *et al.*, 2001).

**Tabela 1.2.** Comprimentos de onda ( $\lambda$ ), em nanómetros (nm), dos diferentes tecidos dentários.

Tecido	$\lambda$ de excitação (nm)	$\lambda$ de emissão (nm)
Esmalte	335	460
Dentina	350	530
Cimento	366	530

Depois de realizado o transplante, ocorrem, como já anteriormente foi referido, alterações pulpares, que conduzem à transformação dos tecidos minerais que se formam.

Utilizando corantes vitais e microanálise com sonda electrónica (MASE), Akiba *et al.*, (2006), avaliaram as alterações na formação de dentina, em dentes de rato transplantados. Verificaram que a

quantidade de dentina formada durante a primeira semana após o transplante, era significativamente em menor quantidade do que a que se formou na semana seguinte e 1/5 da que se formou nos dentes de controlo, não transplantados. Com MASE, verificaram um aumento de magnésio e uma diminuição de cálcio na primeira semana. Concluíram que, após o TP ocorre uma alteração na circulação e na inervação, que provoca uma alteração temporária na quantidade de matriz formada e na composição da dentina. Essas alterações são restauradas ao fim de 2 semanas (Akiba N *et al.*, 2006),

### **3.2. O CONTROLO PÓS-OPERATÓRIO**

As referências sobre a longevidade dos autotransplantes dentários, indicam uma variação, que vai de quatro anos e meio, até aos doze anos. O insucesso pode ser diagnosticado ao fim de um ano e deve-se normalmente a reabsorção radicular (Schwartz O., *et al.*, 1985).

A cicatrização do LPD depende das condições e dos cuidados na manipulação da raiz do dente. Esta envolve uma série complexa de eventos, onde intervém, além do componente inflamatório inicial, as células progenitoras dos fibroblastos, os cementoblastos, os osteoblastos, os osteoclastos e as células endoteliais. Este agregado de células, é todavia orquestrado por um conjunto diversificado de moléculas, como os factores de crescimento dos fibroblastos (FGF), ósseos (BMP), transformantes, (TGF); as citocinas como a interleucina -1 (IL-1); os factores de necrose tumoral-  $\alpha$  (TNF- $\alpha$ ) e a matriz extra-celular.

Radiograficamente, a cicatrização é evidenciada, pelo aspecto da lâmina dura que se forma à volta da raiz do dente e que pode ser visível um mês após o tratamento. Contudo, a cicatrização só

fica completa, dois meses depois de efectuado o TP (Tsukiboshi M., 2001).

A raiz do dente, como já foi referido, encontra-se recoberta por uma camada de cimento que serve de interface entre o ligamento periodontal e a dentina. Esta camada de cimento previne o contacto dos osteoclastos e dos osteoblastos, com a estrutura mineral da dentina, impedindo desta forma que ocorra reabsorção radicular externa. Assim, a manipulação do dente, deve ser realizada com cuidados extremos, para que não ocorra lesão das células do LPD e da camada cementóide que reveste a raiz. Por outro lado, o tempo de permanência extra-oral da peça dentária, é de extrema importância, para que não ocorra desidratação dessas células (Andreasen J.O., 1992).

Vários estudos apresentam resultados satisfatórios em autotransplantes de 3<sup>os</sup> molares, com taxas de sucesso que variam entre os 79 e os 100% (Tsukiboshi M., 2001) (Tabela 1.3).

**Tabela 1.3.** Resultados de transplantes de 3<sup>os</sup> molares, segundo vários autores (Tsukiboshi, 2001).

Autor	Controlo (anos)	Idade do paciente (Anos)	Nº de dentes	Desenvolvimento completo da raiz	% de sucesso
Nordenram, 1963	0,5-7	13-22	61	não	79
Galanter & Minami, 1968	1-10	15-23	31	não	94
Andreasen <i>et al.</i> , 1970	0,6-6	13-23 19-46	18 56	não sim	95 96
Hovinga, 1986	2-10	14-21	16	não	100
Nethander <i>et al.</i> , 1988	1-5	13-65	57	alguns	89
Andreasen <i>et al.</i> , 1990	0,5-20	15-21	151	alguns	96

Estes consideram como pré-requisito para sucesso desta terapêutica, o conhecimento minucioso da técnica cirurgica e das considerações clínicas desta terapêutica (Andreasen J.O., *et al.*, 1990 a; Clokie C.M.L., *et al.*, 2001).

Schwartz & Andreasen J.O. realizaram um estudo em macacos, nos quais efectuaram alotransplantes e autotransplantes. Analisados histológica e histometricamente, verificaram que, nos auto-transplantes, a inflamação estabilizava ao fim de 2 semanas, durante a cicatrização do LPD. Esta, no entanto, permanecia activa nos alotransplantes, provavelmente devido a uma resposta imunitária. Os mesmos autores concluíram que a reabsorção de substituição era mais extensa nos alotransplantes, provavelmente devido à lesão adicional provocada pelo processo prolongado da reabsorção inflamatória. Esta seria uma resposta de natureza imunitária aos antígenos do LPD, da polpa e eventualmente dos tecidos duros do alo-enxerto (Schwartz & Andreasen J.O., 2002).

Estudos recentes evidenciam que as células derivadas da bainha epitelial de *Hertwig*, têm um papel fundamental no desenvolvimento radicular e das estruturas de suporte do dente. Depois da desintegração da bainha epitelial de Hertwig, as células disseminam-se, ocupam um território próximo da superfície radicular, manifestando características citológicas de síntese e secreção de proteínas (Bosshardt *et al.* 2004).

A descoberta destas proteínas, permitiu o desenvolvimento e a comercialização de um produto, designado Emdogain® (EMD), (Biora AB, Malmö, Sweden) para o tratamento das lesões periodontais. Estudos recentes, indicam o efeito benéfico do EMD na prevenção da reabsorção de substituição e na contribuição para o crescimento radicular (Ninomiya M., *et al.* 2002; Sculean A., *et al.* 2003-b).

O EMD é um derivado da matriz de esmalte que contém proteínas da família das amelogeninas, extraídas do esmalte embrionário porcino (Ninomiya M., *et al.* 2002). Este produto apresenta diversas características, estimulando a proliferação dos

pré-odontoblastos e diferenciação de osteoblastos imaturos, possuindo também acção anti-bacteriana, devido ao seu pH (Schwartz Z., 2000; Spahr S., *et al.* 2002).

O veículo utilizado, que permite a aplicação destas proteínas, sob a forma de gel, é a solução aquosa do éster de propilenoglicol do ácido algínico (*Propylene Glicol Alginate – PGA*) (Hammarstrom L., *et al.*, 1997). Ao pH ácido e a baixa temperatura (4°C), possui a consistência de gel, facilitando assim a sua utilização. O EMD uma vez aplicado, na raiz dentária precipita formando uma matriz insolúvel, que parece conduzir ao efeito positivo da cicatrização (Hammarstrom L., *et al.*, 1997).

Em reimplantes de dentes molares de rato, onde foi utilizado o Emdogain<sup>®</sup>, o PGA, ao fim de dois dias, não se encontrava na superfície do dente, enquanto o EMD permaneceu durante duas semanas (Gestrelius *et al.*, 1997a). Utilizado o EMD, também em transplantes de dentes de rato para a cavidade abdominal, as proteínas foram detectadas no local, durante 4 semanas (Hamamoto *et al.*, 2002). A amelogenina constitui 90% das proteínas do EMD, possuindo características semelhantes às proteínas de adesão e necessita de catiões bivalentes de Ca<sup>++</sup> e Mg<sup>++</sup>, para se unir à hidroxiapatite e promover a adesão celular e a mineralização (Hoang *et al.*, 2002).

A osteoclastogénese ocorre por uma interacção entre o RANKI que é segregado pelos osteoblastos e o RANK dos osteoclastos. Por outro lado, existe uma enzima circulante, a osteoprotegerina (OPG), que se une ao RANK, e impede essa interacção, servindo de engodo e desta forma impede a reabsorção (Itoh *et al.*, 2006).

Um dos efeitos atribuídos ao Emdogain<sup>®</sup> é o de promover e estimular a mineralização, induzindo a formação de osteoclastos, através da inter-acção com o RANKL (Itoh *et al.*, 2006).

Há ainda alguns autores, que consideram este material, benéfico e eficaz no tratamento da reabsorção de substituição, que ocorre após o reimplante de dentes avulsionados (Filippi A., *et al.* 2006).

Sobre este assunto, existem contudo estudos controversos, como o de Schjott M. e Andreasen J.O. (2006), que realizaram 16 reimplantes de dentes avulsionados, com a utilização de EMD. Verificaram que ocorreu anquilose alvéolo-dentária em todos os dentes, concluindo que o Emdogain<sup>®</sup> não previne, nem cura as reabsorções de substituição.

Jiang *et al* (2006), realizaram um estudo *in vitro*, com células osteoblásticas MC3T3 e odontoblásticas (MDPC), tratadas com EMD. Concluíram que o EMD possui um efeito semelhante, tanto nos osteoblastos, como nos odontoblastos. Demonstraram ainda, que não é necessário o contacto directo do EMD com as células, para induzir a proliferação celular, sendo o seu efeito mediado por peptídeos do tipo dos factores de crescimento (TGF- $\beta$ 1) e das BMPs.

Num estudo clínico foram avaliados os níveis de metalo-proteinases (MMP), MMP-1, MMP-8 e do seu inibidor, TIMP-1, no fluido gengival de doentes tratados cirurgicamente e com aplicação de EMD. Os autores verificaram que os níveis de MMP-1, MMP-8 diminuíam e o TIMP-1 aumentavam, sugerindo que os casos tratados com EMD, a cicatrização era mais rápida (Okuda K., *et al.* 2001).

Em estudos *in vitro*, com osteoblastos e células humanas do ligamento periodontal, foram tratadas com EMD. Foram realizadas observações com microscopia electrónica de varrimento. Os autores concluíram que o EMD promove a síntese de proteínas do

tipo colagénio, mas não induz a mineralização da matriz das células primárias de osteoblastos (Pischon *et al.*, 2006).

A preparação da superfície radicular, com ácido diamino- tetraacético, (EDTA), depois do alisamento radicular e antes da aplicação do EMD, é preconizada pelo fabricante, nos tratamentos periodontais. Estudos clínicos de Sculean, (2006) referem no entanto, que os resultados clínicos e radiográficos dos tratamentos de defeitos infra-ósseos, não dependem do condicionamento da raiz com EDTA. Parashis (2006), tirou as mesmas conclusões no seu estudo clínico.

HE *et al.*, (2004), realizaram um trabalho *in vitro* com células pré-osteoblásticas MC3T3-E1 e EMD. Neste verificaram que no grupo tratado com EMD, havia elevada expressão de ácido ribonucleico mensageiro (ARNm), de colagénio  $\alpha$ -1, sialoproteína óssea, osteocalcina e osteoprotegerina. A actividade da fosfatase alcalina também se encontrava aumentada ao fim de 3 semanas de cultura celular. Os autores concluíram que o EMD promove a proliferação e a diferenciação dessas células, inibindo indirectamente a osteoclastogénese e a função dos osteoclastos, por estímulo da expressão da osteoprotegerina.

A técnica utilizada para fixar o dente transplantado, é considerada por alguns autores, como fundamental para o seu sucesso. Esta deve ser tomada em conta, uma vez que as imobilizações funcionais ou semi-rígidas previnem a anquilose dentária, o que não acontece com as ferulizações rígidas (Andersson J.O., *et al.*, 1985; Oikarinen K., 1991). Assim, Andreasen J.O., *et al.* (1994), Nasjleti *et al.*, (1982) e Bauss O., *et al.*, (2002), aconselham a realizar a ferulização por um período mínimo de uma semana, tempo suficiente para assegurar um adequado suporte periodontal. Outros autores, como Bhamhani (1993),

aconselham uma ferulização durante duas semanas, utilizando fio ortodôntico flexível e resina composta. Desta forma, o movimento funcional do dente vai estimular a actividade celular do LPD e a reparação óssea (Sagne S., *et al.*, 1990).

Num estudo retrospectivo de 10 anos, Akkocaoglu & Kasaboglu (2005), realizaram 96 transplantes de caninos e molares, sem qualquer imobilização. Obtiveram um sucesso de 86%, concluindo que esta é uma técnica segura e com prognóstico favorável, para ser utilizada em caninos inclusos e 3º molares com o ápex fechado.

Deve ser feito o controlo oclusal, de forma a prevenir o traumatismo provocado pelos dentes oponentes (Tsukiboshi M., 2001). A necrose pulpar, a deficiente cicatrização periodontal e a reabsorção radicular são as principais complicações dos transplantes. Estas podem ser reduzidas, se for efectuado terapêutica endodôntica, 4 semanas após o transplante. Andreasen JO., (1990b), apresentou 98% de sucesso, nos casos assim tratados.

### 3.3. O PROGNÓSTICO

Um transplante dentário é bem sucedido quando ocorre a restituição do LPD, com ausência de reabsorção de substituição, quando não existem alterações inflamatórias da polpa, que possam desencadear reabsorções inflamatórias e quando ocorre o desenvolvimento radicular, nos dentes imaturos.

Para que esses objectivos sejam atingidos, há diversos factores a ter em consideração, tais como o grau de maturação radicular do dente a transplantar, o tamanho do *forâmen* apical, a promoção da cicatrização do LPD e a prevenção da reabsorção radicular (Thomas S., *et al.*, 1998).

### **Fase de maturação radicular do dente a transplantar**

O transplante de dentes, com raízes imaturas, constitui a situação clínica ideal, para este tipo de terapêutica. Nestas condições, citando Thomas, (1998), podem-se encontrar valores diversos, para o sucesso dos TP, com 87% para Lagerstrom (1991), 94% para Lundberg (1996) e 96% para Kugelberg (1994). No entanto, os dentes com raízes imaturas não atingem o mesmo comprimento radicular dos dentes homólogos.

### **Tamanho do *forâmen* apical**

A sobrevivência da polpa, é fundamental para que, nos dentes com rizogénese incompleta, se complete o desenvolvimento radicular. Kristerson (1985) demonstrou que a revascularização ocorreu em 100% dos casos de dentes transplantados com raiz imatura.

Actualmente, é aceite que o diâmetro do *forâmen* é um factor importante, a ter em consideração, para que ocorra cicatrização pulpar (Andreasen JO. *et al.*,1990c). Andreasen J.O., *et al.*, (1990b) referem que, os diâmetros do *forâmen* superiores a 1 mm, diminuem o risco de necrose pulpar, devido à possibilidade de ocorrer revascularização.

É aceite que, a polpa de dentes com ápex encerrado e transplantados, acaba por necrosar. A revascularização ocorre mais tarde, por crescimento de tecido conjuntivo rico em células e ricamente vascularizado (Skoglund *et al.*, 1981).

Para estudar a dinâmica da revascularização em dentes transplantados, com o ápex encerrado, foram realizados estudos com microangiografia, em dentes de cão. Foram feitas pulpectomia e apicectomia, antes de serem transplantados. Concluíram que a revascularização ocorreu entre os 18 e os 33 dias, depois de ser

removido o tecido pulpar e não encontraram diferenças destes, com aqueles que possuíam o ápex aberto (Laureys *et al.*, 2001).

Depois do transplante, já foi referido, que pode ocorrer necrose da polpa. No entanto, a polpa necrosa, mas se esta não for invadida por bactérias, serve de matriz, onde ocorrem os eventos moleculares, capazes de promoverem o desenvolvimento celular (Banchs & Trope 2004).

Castel-Branco *et al.*, (1991) analisaram a polpa de dentes caninos, humanos, entre os 7 e os 60 dias depois de serem transplantados. Ao fim de 7 dias, encontraram fenómenos inflamatórios e após os 21 dias, vasos funcionantes. Encontraram também calcificações pulpares e verificaram que os sinais de necrose tendiam a desaparecer após os 21 dias. Quando a necrose começa a desaparecer, constataram que se instalava uma fibrose, de acordo com a vascularização obtida.

O transplante de pré-molares para substituir incisivos perdidos de pacientes em crescimento, constitui um método com o potencial de indução óssea e restabelecimento do processo alveolar (Andreasen J.O., *et al.*, 1990). Contudo a aparência estética em zonas anteriores da cavidade oral, obriga a uma atenção particular. Com esse objectivo, o efeito estético dos transplantes de pré-molares, têm sido documentados por vários autores. Czochrowska *et al.*, (2002), num estudo efectuado em 45 pré-molares, transplantados para substituição de incisivos, referem que 1/4 dos resultados estéticos não são satisfatórios, devido a restaurações inadequadas. Assim, os autores mencionam a necessidade de tratamentos multidisciplinares, para o planeamento destes casos clínicos, de forma à obtenção de bons resultados estéticos.

## **Promoção da cicatrização do LPD e prevenção da reabsorção**

O sucesso da cicatrização do ligamento periodontal (LPD), caracteriza-se pela ausência de reabsorção e pela presença de lâmina dura. Esta ocorre, segundo Andreasen J.O., *et al.*, (1990c), em 2 meses. A reabsorção é mais frequente nos dentes com a raiz completamente formada, podendo ser detectada radiograficamente ao fim de 6 meses. No entanto, a reabsorção inflamatória pode ser visível ao fim de 4 semanas, podendo ser controlada através da terapêutica endodôntica e do preenchimento do canal com pasta de Hidróxido de Cálcio. A reabsorção de substituição pode ser diagnosticada ao fim de 6 meses, através do desaparecimento da lâmina dura e do som metálico à percussão dentária.

O diagnóstico é fundamentalmente radiográfico, sendo primordial e importante diferenciar a reabsorção externa, da interna, observando-se na primeira a área de reabsorção sobreposta ao canal.

No entanto, o diagnóstico não é fácil, como demonstrou Chapnick, (1989), num estudo radiográfico experimental realizado *in vitro*, quando em dentes humanos efectuou orifícios com diâmetros diferentes, antes de os colocar numa mandíbula e radiografando-os de seguida. Estas radiografias foram distribuídas por médicos dentistas, para avaliarem a possível existência de lesões. Chapnick, concluiu então, que as técnicas radiográficas convencionais não eram adequadas na detecção das reabsorções externas, havendo assim erros de diagnóstico e do consequente tratamento.

Atentos a essa dificuldade de diagnóstico, Bramante e Berbert preconizam, desde 1980, uma técnica radiográfica triangular, para localizar curvaturas radiculares, perfurações, degraus, instrumentos fracturados, e consideram-na de grande utilidade no

diagnóstico das reabsorções radiculares. Esta técnica consiste em executar três radiografias peri-apicais: a ortorradial, a mesio-radial e a disto-radial. Estas são interpretadas num gráfico que representa um corte transversal da raiz e nos indica a posição da reabsorção (Bramante & Berbert, 3ª ed. s.d.).

Gartner *et al.*, (1976) propuseram uma série de linhas-guia para diferenciar a reabsorção interna (RI) da externa (RE). Atribuíram as seguintes características às RI: as margens da lesão são mal definidas; a distribuição destas não é simétrica; podem ocorrer em qualquer parte da raiz; podem apresentar sinais radio-transparentes, com densidades diferentes, e a imagem que se sobrepõe ao canal permite seguir as paredes deste através do defeito de reabsorção.

Também Bramante C. (2003) descreveu as principais diferenças entre as RE e as RI, referindo a localização, o aspecto, a simetria, a forma da cavidade pulpar e o estado do periodonto (Tabela 1.4).

**Tabela 1.4.** Principais diferenças entre reabsorção interna e externa. (Adaptado de Bramante C., 2003).

Principais diferenças entre reabsorção interna e externa		
Tipo de reabsorção	Interna	Externa
Localização	Cavidade pulpar	Superfície radicular
Aspecto	Regular	Irregular
Simetria	Simétrica	Assimétrica
Cavidade pulpar	Alterada	Inalterada
Periodonto	Normal	Alterado

### **Tratamento das reabsorções externas**

O aparecimento de uma reabsorção externa (RE), dentária envolve duas fases: primeiro ocorre a agressão à superfície externa da raiz, e da camada de pré-cemento, e, em seguida a estimulação contínua dos fenómenos de reabsorção, sem a qual ocorreria cicatrização da superfície lesada, através da deposição de um tecido do tipo cimento (Tronstad 1988, Fuss *et al.*, 2003). Este estímulo, contudo, pode dever-se à pressão exercida sobre a estrutura dentária ou à presença de infecção. Uma vez identificados esses estímulos, poderemos actuar clinicamente sobre eles, no sentido de reverter o processo. Assim foi desenvolvido um protocolo de tratamento que entra em consideração com a etiologia como a infecção pulpar e reabsorção radicular, a infecção periodontal e a reabsorção radicular, a reabsorção de causa ortodôntica, dentes retidos, quistos e tumores e a reabsorção de substituição, (Fuss *et al.*, 2003).

### **Infecção pulpar e reabsorção radicular**

A infecção da polpa constitui o factor estimulante da reabsorção radicular.

As bactérias envolvidas na infecção endodontica primária, são fundamentalmente Gram (-), que contém lipopolissacáridos, na parede celular externa. Depois da lesão da camada da pré-dentina, os túbulos dentinários ficam contaminados por bactérias ou por produtos tóxicos bacterianos, como os lipopolissacaridos (LPS), acabando por estimular a actividade dos clastos e levar à reabsorção interna ou externa. Esta situação requer um diagnóstico clínico e radiográfico atempado, para ser instituído o respectivo tratamento (Fuss *et al.*, 2003).

Na reabsorção interna, as células que estão na sua génese são de origem pulpar. Então, o tratamento consiste na remoção do

tecido de granulação, através da pulpectomia e posterior obturação do espaço pulpar (Bramante C., 2003).

Jiang *et al.*, (2006) realizaram um estudo *in vitro*, para perceberem o mecanismo da reabsorção osteoclástica desenvolvida pelos lipopolissacáridos (LPS). Estimularam as células precursoras dos osteoclastos, através de LPS. Concluíram que o mecanismo de acção dos LPS é independente do *RANK*. O LPS liga-se ao *Tool-Like Receptor-4* (TLR-4), que activa os OC de uma forma semelhante à via *RANK-RANKL*.

Nas reabsorções externas, a pulpectomia, por si só, não controla a reabsorção, porque os produtos bacterianos que existem no interior dos túbulos de dentina continuam a actuar como estímulos nefastos, e, por isso, é necessário actuar sobre eles (Tronstad, 1981), sendo a colocação de pasta de hidróxido de cálcio no canal o tratamento de escolha. Ela pode prolongar-se por um período de 6 a 24 meses, com substituições de 3 em 3 meses, antes de se proceder à obturação do canal, com guta-percha e cimento de selamento (Andreasen J.O., 1994).

O hidróxido de cálcio, devido à sua alcalinidade, permite levar a um aumento do pH da dentina para valores entre 8-10, inibindo assim a actividade osteoclástica das hidrolases ácidas dos tecidos do LPD e activar a fosfatase alcalina (Tronstad, 1981). Contudo, outras terapêuticas são propostas na literatura. A firma Roeko<sup>®</sup> lançou, recentemente, um tipo de pontas canulares activas (Activ point, Roeko<sup>®</sup>, Langenau, Germany), que contém, na sua composição, 5% de clorohexidina (CHx), substância que parece apresentar um efeito antibacteriano maior do que o hidróxido de cálcio ou a irrigação com CHx, que, desta forma, só penetra cerca de 500 µm a nível dos túbulos de dentina (Lin S., *et al.* 2003).

Thong *et al.*, (2001) efectuaram um estudo *in vivo* em macacos, onde compararam a eficácia do hidróxido de cálcio e da pasta de

Ledermix® (Lederle Pharmaceuticals, Germany) na cicatrização do LPD e na prevenção da reabsorção radicular após o reimplante. Esta pasta contém, na sua composição, corticosteróide (triamcinolona) e antibiótico (dimetil-clorotetraciclina), sendo utilizada como medicação intracanal, para controlo da dor associada à periodontite apical aguda. Nesse trabalho, os autores concluíram que tanto o hidróxido de cálcio como a Ledermix®, são efectivos na inibição da reabsorção inflamatória e na inflamação do LPD; no entanto, os resultados são melhores com a utilização do Ledermix® do que com o hidróxido de cálcio.

Outro estudo realizado por Keum *et al.*, (2003) em que foi utilizado outro corticosteróide, a Dexametasona intra-canal, em dentes de rato reimplantados, também eles concluíram que este corticosteróide pode ser um medicamento alternativo, para reduzir a reabsorção em dentes reimplantados após avulsão traumática.

Sendo a calcitonina uma hormona polipeptídica que inibe a actividade osteoclástica, há autores que defendem a sua utilização como medicação intracanal, para inibição da reabsorção inflamatória externa. O efeito anti-reabsorção da calcitonina é devido à inibição da acção dos osteoclastos, pela via dos receptores celulares específicos de superfície, à inibição directa dos osteoclastos e à supressão da inflamação. Este conjunto de efeitos nas lacunas de reabsorção pode facilitar a proliferação dos cementoblastos ou dos osteoblastos e o selamento dos túbulos dentinários expostos (Wiebkin O.W., *et al.*, 1996; Pierce A., *et al.*, 1998).

Wiebkin O.W., *et al.*, (1996) efectuaram um estudo *in vitro* em pré-molares extraídos por razões ortodônticas para verificarem a capacidade de difusão da calcitonina através da dentina. Os autores verificaram que a permeabilidade aumenta até às 10 h e 30 mn, mantendo-se a difusão a seguir de uma forma linear,

exercendo assim um efeito cumulativo na prevenção da reabsorção radicular.

### **Infecção periodontal e reabsorção radicular**

A lesão do ligamento periodontal, como foi referido, pode ter como origem os traumatismos dentários, produtos de branqueamento, tratamento ortodôntico, pressão por dentes retidos, tumores e quistos (Andreasen J.O., 1981; Ericson S. *et al.*, 1988; Andreasen F.M., *et al.*, 1987; Postlethwaite K.M., 1989; Andreasen J.O., *et al.*, 1994). Nos casos de reabsorção cervical externa, o tratamento consiste na exposição cirúrgica ou ortodôntica da lesão e remoção do tecido de granulação. A cavidade de reabsorção é obturada de seguida com um material biocompatível como amálgama, MTA ou resina composta, se houver exigências estéticas (Tronstad L., 1991).

Quando a reabsorção é devida a uma complicação decorrente do tratamento ortodôntico, a força deve ser suspensa e aguarda-se que a reabsorção termine. Não é necessário tratamento endodôntico. A terapêutica ortodôntica deve ser retomado após 3 meses, com forças ligeiras, mantendo uma vigilância atenta. Se existe risco de a reabsorção persistir, é necessário ponderar uma modificação do tratamento ou estabelecer um tratamento de compromisso (Harris E.F., 2000).

A pressão radicular por dentes retidos pode ser uma das causas de reabsorção externa. Ela acontece com maior frequência nos incisivos laterais e pré-molares, devido a caninos inclusos, ou nos segundos molares, devido a terceiros molares impactados (Ericson *et al.*, 1987; Postlethwaite, 1989). Por sua vez, os quistos e tumores com crescimento lento, também podem levar a reabsorções radiculares externas assintomáticas. O tratamento,

consiste na remoção cirúrgica do dente ou do quisto, para que o processo de reabsorção termine (Shellhart *et al.*, 1998). Muitas vezes, em casos de quistos e tumores, é necessário proceder ao TER do dente envolvido, antes da exérese cirúrgica da lesão.

Nos traumatismos dentários, as intrusões e as avulsões são as situações mais severas, que podem conduzir à reabsorção de substituição (Andreasen J.O., 1981; Andreasen F.M., *et al.*, 1987; Andreasen J.O., 1994). Nestes casos, a prevenção é a única forma de evitar que a lesão ocorra, e assim, como já se referiu, efectuar, se possível, o reimplante imediatamente após a avulsão; manter o dente em ambiente húmido, utilizando leite em gelo, saliva ou água; utilizar fixação semi-rígida durante uma semana; efectuar TER uma semana depois, para prevenir a reabsorção inflamatória e realizar antibioterapia durante 10 dias, para prevenir a infecção e a reabsorção inflamatória (Flores M.T., *et al.*, 2001; Trope M., 2002).

As reabsorções após o reimplante têm uma evolução mais rápida nas crianças e adolescentes do que nos adultos, criando uma complicação a nível alveolar da área afectada. Enquanto a maxila cresce para baixo e para a frente, o dente com anquilose fica em infra-oclusão, resultando numa perda estética, funcional e de espaço.

Filippi A., *et al.*, (2002) apresentam um estudo clínico retrospectivo de dentes com anquilose, que autotransplantaram, utilizando um *retropost* e EMD, com o intuito de parar a reabsorção de dentes com anquilose. Verificaram que em 16 dentes, 95% destes não sofreram recidiva, e concluíram que o EMD parece prevenir ou atrasar a recorrência da anquilose.

Iqbal & Bamaas, (2001), realizaram um estudo *in vivo*, em cães de raça Beagle para avaliarem o efeito do EMD, na cicatrização periodontal em reimplantes de incisivos, com tempo extra-oral

variável e com ou sem férula de fixação. Realizaram a eutanásia ao fim de 8 e de 12 semanas. Concluíram que a incidência de cicatrização do LPD é inversamente proporcional ao tempo extra-oral; não encontraram diferenças entre os dentes com férula e sem férula e o grupo tratado com EMD, apresentou maior incidência de cicatrização do LPD.

Há autores (Levin L., *et al.*, 2001), que preconizam a aplicação tópica de alendronato, que é um bifosfonato de terceira geração, nos reimplantes, para prevenir ou reduzir o processo de reabsorção, devido à sua actividade inibidora sobre os osteoclastos.

Da demonstração experimental feita por vários autores, sobre a eficácia dos transplantes e dos reimplantes, concluíram que o sucesso depende de diversos aspectos fundamentais: 1) a região receptora deve possuir espaço adequado para alojar o transplante; 2) o ligamento periodontal (LPD), do dente a transplantar deve ser preservado íntegro; 3) o tempo extra-oral deve ser mínimo para não ocorrer a dissecação celular; 4) a fixação do transplante deve ser flexível e por um curto período de tempo; 5) deve ser feito controlo periódico, no sentido de diagnosticar reabsorções radiculares (de substituição ou inflamatória), ou patologia periapical; 6) deve ser realizada terapêutica endodôntica, quando existe lesão periapical ou reabsorção inflamatória.

Os trabalhos descritos na bibliografia, não são conclusivos sobre a previsibilidade da terapêutica e das técnicas, constituindo a cirurgia experimental, no cão de raça Beagle uma forma de as averiguar.

É no âmbito do que acabámos de descrever que se situa o delineamento experimental, que tem por finalidade comparar técnicas, com a aplicação local de substâncias, referidas como

osteoindutoras, regeneradoras do ligamento periodontal e que previnem a reabsorção radicular.

A interpretação histológica e histomórfica no final do período experimental, permitirá averiguar o comportamento dos fenómenos biológicos que ocorrem durante a cicatrização.

A biodistribuição do hidroximetilenodifosfonato, marcado com tecnécio<sup>99m</sup> (<sup>99m</sup>Tc- HMDP), permitirá avaliar os acontecimentos de revascularização através do cálculo da % de actividade administrada que vai para cada dente.

Os eventos moleculares e a fisiologia dos odontoblastos na formação de dentina, e dos cementoblastos na reparação radicular, podem ser bem avaliados, através de *PCR* em Tempo Real (*RT-PCR*) e com o auxílio de corantes vitais.

## **CAPÍTULO II**

### **Estudo experimental em modelo animal**

---

#### **1. OBJECTIVOS**

Pretendemos com este trabalho avaliar a cicatrização de autotransplantes dentários *in vivo*, no cão (*Canis familiaris*) como modelo animal. Assim, os principais objectivos são:

1. Avaliar as alterações que ocorrem no tecido pulpar, na formação de dentina, e na superfície radicular de transplantes de dentes autólogos, através da comparação de duas técnicas cirúrgicas, respectivamente a técnica convencional (autotransplantes para alvéolos recém formados), referida como *técnica A* e a *técnica B* onde autotransplantes se realizaram para alvéolos em fase inicial de cicatrização.

2. Avaliar o efeito da utilização de um derivado das proteínas da matriz do esmalte denominado Emdogain® (Biora AB, Malmö, Suécia), na prevenção da reabsorção radicular externa e na cicatrização pulpar de dentes autólogos transplantados, utilizando como controlo o soro fisiológico (SF) (solução isotónica de cloreto de sódio – Paracélsia – Indústria Farmacêutica, S.A. Porto-Portugal), com as mesmas técnicas cirúrgicas.

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. AMOSTRA**

Este trabalho desenvolveu-se na Estação Zootécnica Nacional (EZN) em Santarém, pólo do Instituto de Tecnologia Biomédica (ITB). Foi autorizado pela Direcção de Serviços de Meios de Defesa da Saúde, Bem-estar e Alimentação Animal da Direcção Geral de Veterinária, em 4/2/2005 com o nº 002194 (Anexo DGV).

Utilizaram-se 6 cães Beagle, de raça pura e do sexo masculino, com peso médio no início da experimentação, de  $11,73 \pm 1,13$  Kg. A idade seleccionada foi de 6 meses, assegurando assim a completa erupção da dentição definitiva e pressupondo que os dentes experimentais apresentavam a raiz com o ápex aberto.

### **2.2. MANUTENÇÃO DOS ANIMAIS**

A aquisição dos animais de estudo foi feita à Universidade de Córdova e mantidos com esta finalidade na EZN, em Santarém.

As condições gerais dos animais foram avaliadas à chegada, pela equipa de médicos veterinários e pessoal técnico da EZN.

Depois de avaliarem o seu peso e excluída qualquer patologia aguda ou crónica, os animais entraram num período de quarentena de duas semanas, com vigilância diária por técnicos devidamente credenciados, da EZN.

Os animais foram identificados de forma aleatória com a colocação de números em *chips* subcutâneos e alojados em compartimentos com ciclos de luz e humidade relativa, de acordo com a legislação em vigor (Portaria nº1005/92 de 23 de Outubro; Portaria nº 1131/97 de 7 de Novembro. A alimentação consistiu em ração e água *ad libitum*.

A ração (Fluffy Sénior-PT 5AA 059 IN) foi controlada pelo fabricante (Avenal-Caldas da Rainha-Portugal). A água disponibilizada teve origem na rede de abastecimento municipal.

As intervenções cirúrgicas foram realizadas de acordo com os princípios de assepsia rigorosa, em todas as fases, sob anestesia geral, da responsabilidade da equipa de médicos veterinários da EZN.

### **2.3. MATERIAIS**

#### **2.3.1. Derivado das proteínas da matriz do esmalte (Emdogain®).**

O derivado das proteínas da matriz do esmalte, (Emdogain® - Biora AB, Malmö, Sweden), de acordo com estudos *in vivo* e *in vitro*, referenciados no capítulo I deste trabalho, citam que é capaz de induzir o processo regenerativo, dos tecidos periodontais e o mimetismo do seu normal desenvolvimento.

A sua aprovação para ser usado em terapêutica periodontal, foi feita em 1996, pela *Food and Drugs Administration* (FDA) (P30021). Este material consiste na fracção amelogenina, esterilizada e liofilizada da matriz do esmalte de dentes porcinos jovens. O veículo utilizado, que permite a aplicação destas proteínas, sob a forma de gel, é a solução aquosa do éster de propilenoglicol do ácido alginico (*Propylene Glicol Alginate – PGA*) (Hammarstrom L., *et al.*, 1997; Spahr A., *et al.*, 2002) (Figura 2.1).



**Figura 2.1**  
Embalagem de Emdogain®, no interior de seringa de plástico e agulha para aplicação.

A pH ácido e a baixa temperatura (4°C), o Emdogain® (EMD) possui a consistência de gel, facilitando assim a sua utilização. Este, uma vez aplicado na raiz do dente, precipita formando uma matriz insolúvel, o que conduz ao efeito positivo na cicatrização periodontal.

### **2.3.2. Soro fisiológico**

Como o soro fisiológico é o material considerado o “*gold standard*”, nos transplantes dentários, foi utilizado na irrigação do alvéolo e aplicou-se de forma tópica, na raiz dos dentes de controlo, antes de transplantados.

Neste estudo, os dentes onde se utilizou o soro fisiológico, foram considerados controlo positivo. Nos dentes onde se aplicou EMD, foram considerados grupo experimental.

### **2.4. MÉTODOS E TÉCNICAS CIRÚRGICAS**

O protocolo cirúrgico foi desenvolvido em três fases. A primeira consistiu na extracção e ampliação dos alvéolos dentários, seguida dos transplantes de acordo com o protocolo estabelecido e finalmente, a colheita dos espécimes.

Foram realizadas radiografias pré-operatórias, pela técnica ortogonal, para avaliar a forma radicular e o desenvolvimento dos dentes a transplantar.

#### **2.4.1. Fórmula dentária do cão**

O cão, na dentição decídua apresenta 28 dentes, com a seguinte fórmula dentária: 2(I3/3; C1/1; M3/3). Na fase de dentição adulta, apresenta 42 dentes. O primeiro pré-molar erupciona por volta dos 4 meses de idade e não substitui nenhum dente decíduo. Os incisivos permanentes, em número de 3 por quadrante, substituem os dentes decíduos, por volta dos três meses e meio de idade. Em geral, entre os 6 e os 7 meses de idade, apresenta todos os dentes definitivos erupcionados, cuja fórmula dentária é a seguinte: 2 (I3/3; C1/1; PM4/4; M2/3) = 42 dentes (Shabestari *et al.*, 1967).

#### **2.4.2. Protocolo anestésico**

Os animais foram sujeitos a um período de jejum durante 24 horas, antes de se efectuar a intervenção.

Previamente à anestesia, foi realizada a sedação, através de injeção intramuscular de 0,05mg/kg de peso vivo (p.v.), de acepromazina (Calmivet<sup>®</sup>, Vetoquinol, Lure, França), 20 minutos antes da intervenção.

A indução anestésica foi feita através de injeção intravenosa na veia cefálica de 10 mg/kg (p.v.) de tiopental de sódio (Pentotal<sup>®</sup>, Braun, Queluz de Baixo, Portugal). Finalmente, a manutenção da anestesia fez-se por via endotraqueal, com uma mistura de oxigénio e 1 a 2 % de isoflurano (Isoflo<sup>®</sup>, Veterinaria Esteve, Barcelona, Espanha) sob ventilação assistida com um volume corrente de 20 ml/kg (p.v.) e com frequência respiratória de 12 ciclos por minuto (Figura 2.2)



**Figura 2.2**  
Anestesia geral  
por via  
endotraqueal.

#### **2.4.3. Constituição dos grupos de estudo**

Os dentes foram aleatoriamente divididos nos seguintes grupos:

**Grupo A1**-dentes transplantados para alvéolos recém-formados (técnica A), depois de aplicado Emdogain® na superfície da raiz. Neste grupo foram incluídos 12 dentes.

**Grupo A2**-dentes transplantados para alvéolos recém-formados (técnica A), depois de aplicado soro fisiológico, na superfície da raiz. Neste grupo foram incluídos 12 dentes.

**Grupo B1**-dentes transplantados para alvéolos em cicatrização (técnica B), depois de aplicado Emdogain® na superfície da raiz. Neste grupo foram incluídos 12 dentes.

**Grupo B2**-dentes transplantados para alvéolos em cicatrização (técnica B), depois de aplicado soro fisiológico na superfície da raiz. Neste grupo foram incluídos 12 dentes.

**Grupo C**- controlo negativo - dentes não transplantados.

O protocolo utilizado para a realização dos transplantes foi o seguinte (Tabela 2.1):

O 1º incisivo maxilar foi extraído, embebido em Emdogain® (EMD) ou soro fisiológico (SF) e inserido suavemente no alvéolo criado, referente ao alvéolo do dente, do 3º incisivo mandibular;

O 1º incisivo mandibular foi extraído, embebido em soro fisiológico ou em Emdogain® e inserido no alvéolo do 1º incisivo maxilar;

O 1º pré-molar maxilar foi extraído, embebido em Emdogain® ou soro fisiológico e inserido no alvéolo do 2º incisivo maxilar;

O 1º pré-molar mandibular foi extraído, embebido em Emdogain® ou em soro fisiológico e inserido no alvéolo do 1º incisivo mandibular.

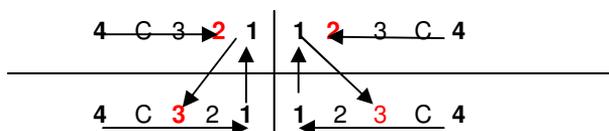
Com o objectivo de avaliar a dinâmica do processo de formação de dentina *in vivo*, foram administrados por via sub-cutânea corantes fluorescentes tais como o xilenol orange (XO) (Sigma 227854), na concentração de 90 mg/ kg/p.v., dois dias antes da realização dos TP, calceína (Calc) (Sigma C0875), na concentração de 5 mg/ kg p.v. três semanas depois de realizados os transplantes e oxitetraciclina (Oxt) (Sigma 04638), na concentração de 25 mg/kg/p.v., 24 horas antes da eutanásia (Akiba N., *et al.*, 2006).

Quatro horas antes do sacrifício, aos animais 4, 5 e 6 foi administrado por via endovenosa hidroximetileno difosfonato, marcado com Tecnécio  $^{99m}\text{Tc}$ , ( $^{99m}\text{Tc}$ - HMDP).

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

**Tabela 2.1**

Delineamento e cronograma dos diversos procedimentos experimentais.



- 7 dias	-2 dias	Dia 0	+ 21 dias	+ 62 dias	+ 63 dias (3 horas antes)	+63 dias
Ext 12,22, 33,43	XO Animais #4, 5 e 6	TP	Calc Animais #4, 5 e 6	Oxt Animais #4, 5 e 6	<sup>99m</sup> T <sub>c</sub> - HMDP Animais #4,5 e 6	Eutanásia

Ext-extracção; XO-xilenol orange; TP-transplante; Calc-calceína; Oxt-oxitetraciclina.

Realizaram-se as duas técnicas, de forma aleatória, com sorteio dos animais envolvidos. Os materiais foram utilizados, igualmente, nos lados esquerdos e direitos dos animais, de forma a possibilitar resultados credíveis (Tabela 2.2).

**Tabela 2.2**

Distribuição dos produtos soro fisiológico (SF) e Emdogain® (EMD), pelos dentes a transplantar.

Animal	Lado direito: maxila/mandíbula	Lado esquerdo: maxila/mandíbula
#1 (n=8)	EMD (n=2)	SF (n=2)
	EMD (n=2)	SF (n=2)
#2 (n=8)	SF (n=2)	EMD (n=2)
	SF (n=2)	EMD (n=2)
#3 (n=8)	EMD (n=2)	SF (n=2)
	EMD (n=2)	SF (n=2)
#4 (n=8)	SF (n=2)	EMD (n=2)
	SF (n=2)	EMD (n=2)
#5 (n=8)	EMD (n=2)	SF (n=2)
	EMD (n=2)	SF (n=2)
#6 (n=8)	SF (n=2)	EMD (n=2)
	SF (n=2)	EMD (n=2)

#### 2.4.4. Extracção dentária e ampliação dos alvéolos

Uma semana antes de se realizarem os transplantes, os segundos incisivos maxilares e os terceiros incisivos mandibulares foram extraídos. Foi feita desinfecção prévia da cavidade oral, com solução de digluconato de clorhexidina a 0,1%; clorobutanol

hemi-hidratado a 0,1% (Eludril®, Pierre Fabre Dermo-Cosmetic, Portugal) e extra-oral com uma solução de iodopovidona (Betadine®, Mundipharma AG, Basileia Suíça) (Tabela 2.1).

### **Técnica da extracção dentária**

Para prevenir a hemorragia, durante o procedimento, foi feita injeção de 0,2 ml de solução anestésica, cloridrato de articaína, com 0,5 mg de epinefrina (Meganest® 1:200.000), pelo lado vestibular e lingual dos dentes a extrair (Figura 2.3).



**Figura 2.3**  
Injecção de solução de Meganest®, para reduzir a hemorragia.

Foi realizada uma sindesmotomia circunferencial com um bisturi curvo Martin® nº 12, inserido no sulco gengival, seguido de sindesmótomo de Chompret curvo, nº 2 (Figura 2.4).



**Figura 2.4**  
Sindesmotomia realizada com sindesmótomo curvo de Chompret nº 2.

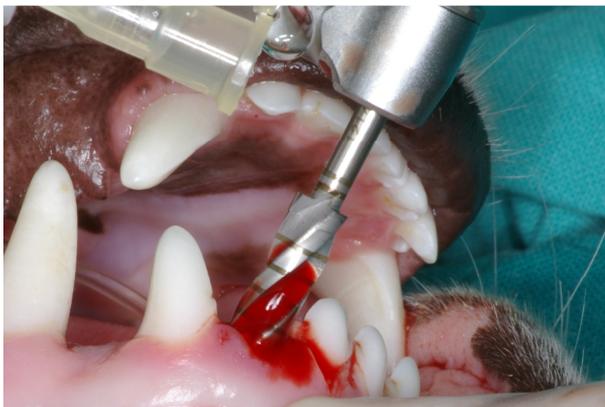
Transplantes dentários: alterações pulpaes e das superfícies radiculares

Utilizaram-se alavancas rectas Luxator® 1S e 3C para luxar cuidadosamente as peças dentárias, de forma a não lesar o ligamento periodontal (LPD). As extracções foram realizadas com *fórceps* universal 64 e pediátrico 280/2 (Martin Solingen-Germany). O *fórceps* foi aplicado na coroa, de forma a não lesar o cimento radicular nem danificar mais o ligamento periodontal (Figura 2.5).



**Figura 2.5**  
Extracção do 2º  
incisivo maxilar, para  
ser formado o alvéolo.

Ampliaram-se os alvéolos com broca esférica de aço inox 38 Komet (Brasseler GmbH & Co. KG Lemgo-Germany) e trefinas em aço inox 3,5-219 e 4,2-223, (Straumann-Basel-4052 Switzerland), aplicadas em contra-ângulo de baixa rotação (5000 rpm) e irrigação abundante com soro fisiológico (SF) (Figura 2.6).



**Figura 2.6**  
Ampliação do alvéolo  
com broca trefina, em  
contra-ângulo de baixa  
rotação e irrigação com  
soro fisiológico.

Os alvéolos foram curetados e irrigados com soro fisiológico, para remoção das esquírolas ósseas formadas durante a instrumentação. Foi realizada sutura com Seraflex ® 3/0 (Figura 2.7).

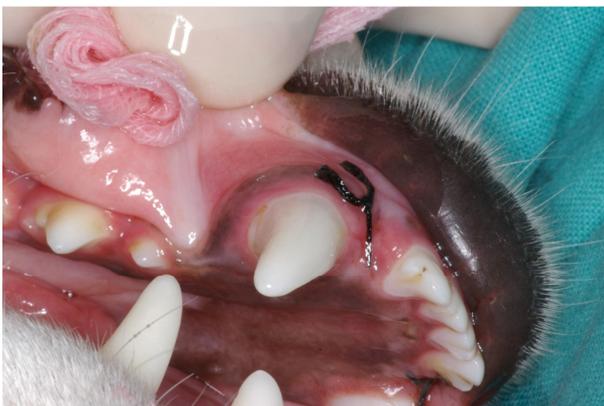


**Figura 2.7**  
Alvéolos suturados, após a extracção dentária e sua ampliação com broca trefina.

#### **2.4.5. Transplantes dos dentes**

Durante esta fase, foram utilizados os mesmos protocolos de anestesia e de medicação, descritos a propósito das extracções.

Assim, decorridos 7 dias, foi efectuada higienização da cavidade oral e dos dentes a transplantar, com Eludril® (Figura 2.8).



**Figura 2.8**  
Higienização dos dentes a transplantar com Eludril®.

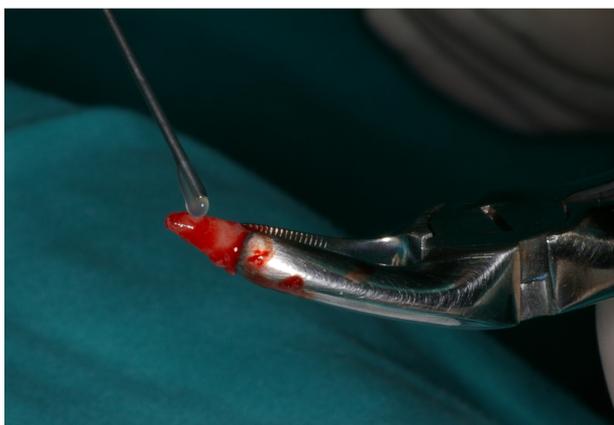
Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

Os pontos de sutura, referentes aos dentes segundo incisivo maxilar e terceiro incisivo mandibular, foram removidos. Inseriu-se uma sonda periodontal no alvéolo, para adaptação do tecido de cicatrização às paredes e para criar um espaço onde se inseriu o dente a transplantar (Nethander G., *et al.*, 2003).

Os dentes seleccionados foram cuidadosamente luxados e extraídos com *forceps*, utilizando a mesma técnica descrita, para a fase da desdentação, utilizando um abre bocas para facilitar o procedimento.

Os alvéolos correspondentes aos dentes 11 e 21, foram ampliados com trefinas em aço inox 4,2-223, (Straumann- Basel-4052 Switzerland) e os dos dentes 31, e 41 foram ampliados com broca trefina, em aço inox 3,5-219 (Straumann- Basel-4052 Switzerland). As brocas foram colocadas em contra-ângulo de baixa rotação (5000 rpm) e a irrigação foi feita com soro fisiológico.

Antes de serem efectuados os transplantes, aplicou-se na superfície da raiz dos dentes a transplantar, soro fisiológico ou EMD (Figura 2.9).



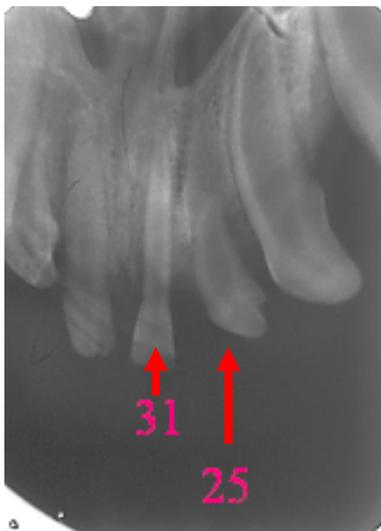
**Figura 2.9**  
Aplicação de EMD,  
na superfície  
radicular do dente  
a transplantar.

A ferulização foi realizada com fio de sutura 3/0 (Vicryl-Ethicon; Johnson e Johnson) e a sua remoção realizou-se 7 dias depois do procedimento operatório (Figura 2.10).



**Figura 2.10**  
Fixação dos dentes transplantados, com fio de sutura 3/0, (Vicryl).

Após o transplante foi realizada radiografia peri-apical, segundo a técnica ortogonal, para avaliar a sua posição e para controlo (Figura 2.11).



**Figura 2.11**  
Radiografia pós-operatória dos dentes 31 e 25, transplantados para os alvéolos do 21 e 22 respectivamente.

Para a execução das radiografias utilizou-se como fonte geradora de raios X um aparelho portátil Port-X II (Genoray Co. Ltd.), com cone D-081B (Toshiba), produzindo até 60 kVp, para uma intensidade de corrente de 2 mA (Figura 2.12).



**Figura 2.12**  
Aparelho de RX portátil, Prt -X II, utilizado para realização de radiografias periapicais.

Regulou-se o temporizador para o valor mínimo de 0,03 s.

A captação das imagens foi realizada através de um sensor de cristais de iodeto de céσιο Gendex (VixWin Pro, version 1.5, KaVo Dental Systems, Germany). A visualização das imagens adquiridas foi feita em monitor de computador (Fugitsu Computers-Siemens) e foram analisadas qualitativamente.

## **2.5. PERÍODO PÓS-OPERATÓRIO**

### **2.5.1. Medicação**

A medicação administrada, com início imediatamente após a cirurgia, consistiu na injeção diária por via sub-cutânea, de 5 mg/kg p.v., de enrofloxacin, durante um período de cinco dias. Foi feita analgesia com administração por via sub-cutânea de 0,01 mg/kg p.v., de buprenorfina durante as primeiras 72 horas e de 50 mg/kg p.v. de dipirona (Vetalgin®), duas vezes por dia, durante as

primeiras 72 horas e uma vez ao dia durante os 5 dias seguintes à cirurgia.

### **2.5.2. Recuperação da anestesia e manutenção**

Os animais foram colocados em gaiolas individuais de modelo aprovado (com a área de 0,75 m<sup>2</sup>). Na sala de recobro, em ambiente escurecido, calmo, ventilado e com temperatura controlada de 21°C, foram vigiados na recuperação da anestesia.

Durante uma semana foi realizada a protecção da cabeça, através de um colar isabelino, para impedir o traumatismo dos dentes transplantados (Figura 2.13)



**Figura 2.13**  
Protecção da  
cabeça do animal  
com colar  
isabelino.

Os animais foram submetidos a observação clínica diária e desinfecção da cavidade oral, no local da intervenção cirúrgica, com digluconato de clorohexidina 0,2%, (Elugel®) e escova dentária Elgydium Clinic 7/100 (Pierre Fabre Dermo-Cosmetic Portugal, Lda – Lisboa). Num espaço adjacente à enfermaria, os cães dispuseram de um período diário de duas horas para lazer.

Decorrida uma semana, os pontos de sutura foram removidos e feitas radiografias periapicais e fotografias intra-orais de controlo (Figura 2.14).



**Figura 2.14**  
Fotografia intra-oral, dos dentes maxilares, realizada a um dos animais, uma semana depois de efectuados os transplantes.

### 2.5.3. Alimentação

Durante a primeira semana, os animais foram mantidos com uma dieta mole, obtida da mistura do alimento completo para cães (Fluffy Sénior- PT 5AA 059 IN), com água morna numa proporção de 1:3 (Tabela 2.3).

#### **Tabela 2.3.**

Características nutricionais e aditivos, do alimento completo para cães (Fluffy Sénior- PT 5AA 059 IN), utilizado na alimentação dos animais de experiência.

Características Nutricionais		Aditivos por quilograma (Kg)	
Proteína bruta	23%	Vitamina A	12000 UI
Gordura bruta	9%	Vitamina D3	1200 UI
Fibra bruta	3,5%	Vitamina E	60 UI
Cinzas totais	9%		
Cálcio	1,6%		
Fósforo	1,1 %		
Humidade (máxima)	10%		

A partir da primeira semana e até ao final do período experimental, os animais tiveram à disposição água *ad libitum* e alimentação amolecida, do mesmo produto, misturado com água numa relação de 1:1.

#### **2.5.4. Administração de corantes para avaliação da mineralização**

Para determinar a cronologia dos eventos biológicos envolvidos na dentinogénese e na sua mineralização, procedeu-se à injeção de vários fluorocromos. Os corantes foram preparados e administrados por via sub-cutânea, aos animais 4, 5 e 6.

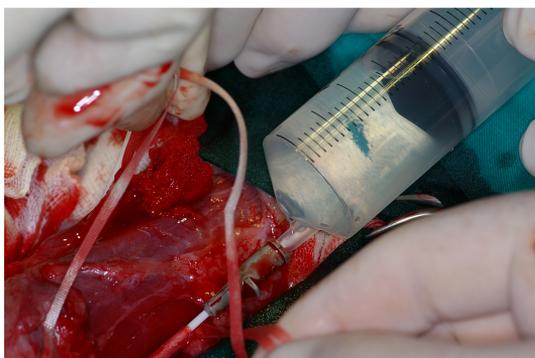
O xilenol orange foi administrado dois dias antes de realizados os transplantes, na dose de 90 mg/kg p.v., em injeção muito lenta. A calceína foi administrada na 3<sup>a</sup> semana após a cirurgia, na dose de 5 mg/kg p.v., também muito lentamente. A oxitetraciclina foi administrada, 24 horas antes da eutanásia, na dose de 25 mg/kg p.v., por via sub-cutânea de igual modo como os outros corantes.

#### **2.5.5. Colheita dos espécimes**

Decorridas 9 semanas depois de realizados os transplantes e sob anestesia, como já referida, procedeu-se à eutanásia. Para isso, as carótidas dos animais 1, 2 e 3 foram expostas e injectadas em cada uma, 40 ml de formol tamponado a 10%, para realização da eutanásia e para melhorar a fixação dos tecidos (Figura 2.15 e 2.16).



**Figura 2.15**  
Exposição das carótidas para injeção de formol tamponado a 10%.



**Figura 2.16**  
Injeção nas carótidas, de formol tamponado a 10%.

A colheita do material para o estudo, nos animais 1, 2 e 3, foi feita após a dissecação dos tecidos moles. Realizou-se uma osteotomia na região distal dos caninos, com uma serra mecanizada e refrigerada com soro fisiológico (Figura 2.17).



**Figura 2.17**  
Osteotomia com serra mecanizada e refrigeração com soro fisiológico, para colheita dos espécimes.

Anestesiaram-se por via intramuscular os animais 4, 5 e 6, com uma solução de ketamina 50 mg/mL (Ketalar®, Parke-Davis, Barcelona, Espanha). Injectou-se numa veia do membro anterior, 0,5 ml de hidroximetileno difosfonato, marcado com tecnécio-99 ( $^{99m}\text{Tc-HMDP}$ ).

Três horas após a injeção, os animais foram colocados sob uma câmara de raios gama (GE-maxicâmara 400AC), para obtenção de imagens de todo o esqueleto, em vista anterior e

posterior. Seguidamente foram sacrificados através da administração endovenosa de cloreto de potássio, para se realizarem os estudos de biodistribuição. Durante a autópsia procedeu-se à colheita de todos os dentes dos dois maxilares assim como de vários órgãos (coração, tiróide, vesícula biliar, fígado, baço, estômago, intestino delgado, intestino grosso, genitais e bexiga), de alguns tecidos (cartilagem, músculo, osso e sangue) e fluidos de excreção (bílis e urina).

## **2.6. MÉTODOS DE ANÁLISE**

### **2.6.1. Radiografia digital directa**

Foram realizadas radiografias periapicais, aos dentes transplantados e de controlo, pela técnica ortogonal e segundo o protocolo atrás descrito.

### **2.6.2. Estudos funcionais com radiofármacos**

A medicina nuclear constitui um meio de diagnóstico e terapêutica que utiliza a radiação ionizante emitida por átomos instáveis. Estes átomos, podem ligar-se a moléculas, constituindo os radiofármacos e, recorrendo a instrumentação específica, é possível observar a biodistribuição *in vivo* do composto. Assim, a câmara-gama surge como equipamento que permite a visualização e conseqüente localização dos radiofármacos, possibilitando aceder, de forma não invasiva, a informação funcional dependente da via metabólica específica em que a molécula marcada participa.

A maioria dos radiofármacos consiste na combinação de um radionuclídeo com um componente biologicamente activo. O radionuclídeo mais utilizado em imagiologia nuclear é o tecnécio-99/metastável ( $^{99m}\text{Tc}$ ), obtido através de um gerador de molibdénio-99 ( $^{99}\text{Mo}$ )/ $^{99}\text{Tc}$ , sistema que contém um radionuclídeo

pai com um período de semi-desintegração ( $T_{1/2}$ ) longo ( $^{99}\text{Mo}$ ,  $T_{1/2}=66$  horas) e que dá origem a um radionuclídeo filho com um período de semi-desintegração curto ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ ,  $T_{1/2}=6$  horas). No gerador, o radionuclídeo encontra-se adsorvido numa coluna de alumina obtendo-se o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  por simples eluição com soro fisiológico, sob a forma de pertecnetato de sódio em solução aquosa estéril e apirrogénica.

Neste trabalho utilizámos a cintigrafia óssea após a administração de um derivado dos difosfonatos – o hidroximetileno difosfonato (HMDP) marcado com o  $^{99\text{m}}\text{Tc}$  ( $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMDP). Este radiofármaco apresenta como principais características baixa percentagem de ligação a proteínas, o que condiciona uma ligação eritrocitária desprezável e favorece a sua excreção renal. Esta molécula é extraída rapidamente da corrente sanguínea para se fixar no compartimento ósseo, onde se acumula nas zonas osteogenicamente activas.

A fixação do  $^{99\text{m}}\text{Tc}$ -HMDP depende de parâmetros fundamentais, como a vascularização óssea e a osteogénese. A diferente fixação nos tecidos traduz-se por zonas de captação normal, hipercaptação ou hipocaptação. Contudo, outros factores como a actividade metabólica, a quantidade de cálcio no tecido ósseo, o tónus simpático, a eficácia de extracção do radiofármaco e o metabolismo enzimático influenciam a sua captação (Sampson 1994; Cherry S.R., 2003, Ziessman H.A., *et al.*, 2005; Zolle 2006).

Neste estudo utilizámos a cintigrafia óssea no sentido de obtermos informação acerca da vascularização e metabolismo do dente já que o metabolismo do tecido dentário se assemelha ao do tecido ósseo.

### **2.6.2.1. Preparação e controlo de qualidade do $^{99m}\text{Tc}$ HMDP**

Para a realização deste estudo o fármaco utilizado foi o Medronate II Agent (Ge Healthcare, Buckinghamshire, United Kingdom). Esta formulação farmacêutica é composta por 6,25 mg de medronato de sódio, 0,34 mg de fluoreto estanhoso e 2 mg de p-aminobenzenato de sódio.

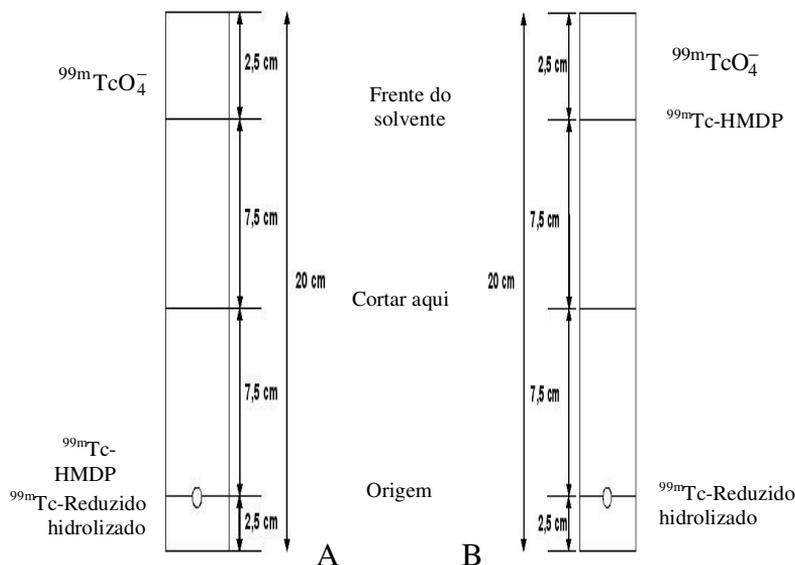
Para a obtenção do radiofármaco  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP, adicionaram-se cerca de 11840 MBq de  $^{99m}\text{Tc}$  em 8 mL de uma solução isotónica de NaCl 9% à formulação farmacêutica, de acordo com as indicações do fabricante. A solução assim obtida necessitou de um período de 20 minutos de incubação à temperatura ambiente para que se desse a reacção de marcação.

Posteriormente ao procedimento de marcação, o radiofármaco obtido foi sujeito a testes de controlo de qualidade que incluíram a determinação do pH pelo método de comparação de cores (pH-Fix 4.5-10.0, Machenerey-Nagel) e determinação da pureza radioquímica recorrendo à microcromatografia ascendente em camada fina.

A microcromatografia ascendente em camada fina, comum para a determinação da pureza radioquímica de complexos tecnecios, consiste num método de separação molecular e físico, em que a fase móvel (solvente) se move ao longo de uma fase estacionária (adsorvente). Dependendo das diferentes distribuições entre a fase estacionária e a fase móvel, os componentes da amostra migram na fase adsorvente segundo diferentes velocidades, de acordo com o peso molecular e afinidade para o adsorvente e solvente. Este efeito, simultaneamente com as diferentes solubilidades de cada espécie radioquímica na fase móvel, provoca uma diferença nas velocidades de cada espécie a separar (Sampson, 1999). No caso das marcações com  $^{99m}\text{Tc}$ , as principais impurezas radioquímicas são o pertecnetato livre

( $^{99m}\text{TcO}_4^-$ ) e as formas coloidais resultantes da hidrólise do pertecnetato, que se constituem em complexos de  $^{99m}\text{Tc}$ . Deste modo, a pureza radioquímica de um complexo de  $^{99m}\text{Tc}$  é expressa em percentagem de actividade presente na forma química desejada relativamente à radioactividade total. No caso presente existem duas espécies contaminantes, o pertecnetato livre e o tecnécio reduzido-hidrolizado não ligado. Para a determinação destas duas espécies contaminantes, para além do radiofármaco pretendido, utilizámos dois sistemas independentes de microcromatografia, como recomendado. Para a determinação do tecnécio livre utilizámos para fase estacionária, tiras de 20 cm de comprimento e 2,5 cm de largura de Instant Thin Layer Chromatography Sílica Gel (ITLC-SG, Pall Corporation) e como fase móvel metiletilcetona (MEK, Merck). Para quantificar o tecnécio reduzido-hidrolizado não ligado utilizámos a mesma fase estacionária, com as mesmas dimensões, e fase móvel uma solução de acetato de sódio numa concentração de 1 M.

No primeiro sistema microcromatográfico acima referido, o  $^{99m}\text{Tc}$ -reduzido-hidrolizado não ligado e o  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP permanecem na origem, enquanto o  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  migra com a frente do solvente. No segundo sistema o  $^{99m}\text{Tc}$ -reduzido-hidrolizado não ligado separa-se dos restantes componentes permanecendo na origem enquanto, o  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  e o  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP migram com a frente do solvente, de acordo com o representado na figura 2.18.

**Figura 2.18**

A – Sistema 1 que possui como fase estacionária papel ITLC-SG e como fase móvel metiletilcetona; B – Sistema 2 que possui como fase estacionária ITLC-SG e como fase móvel acetato de sódio 1M.

Antes da realização da microcromatografia para a quantificação do radiofármaco e dos contaminantes acima referidos, a tira é referenciada com finos traços a lápis a 2,5 cm, 10 cm e 17,5 cm, da base para o topo. Estes traços marcam a origem ( $R_f=0$ ), o ponto médio ( $R_f=0,5$ ) e a frente do solvente ( $R_f=1$ ), respectivamente. Desta maneira, a tira fica dividida em duas porções. Um centímetro de altura de solvente é colocado num frasco de vidro apropriado para cromatografia ascendente. Sobre o primeiro traço transversal, a 2,5 cm da extremidade inferior da tira e que referencia a origem colocaram-se 2  $\mu\text{L}$  do complexo  $^{99m}\text{Tc-HMDP}$ . A tira, de seguida, foi então colocada dentro do frasco de vidro, em posição vertical, tendo em atenção que, o traço que marca a origem deve estar acima do nível do solvente. Após a frente do solvente atingir o traço de referência que se encontra a 2,5 cm da extremidade superior, retirou-se a tira, secou-se, cortou-

se pelas marcas e separaram-se as partes, inferior e superior, para tubos devidamente identificados. Estes tubos, com as porções das tiras, foram contados num contador de poço (DPC Gamma C12) com detector de iodeto de sódio activado com tálio [NaI(Tl)], obtendo-se para cada porção as contagens por minuto (CPM), que correspondem ao número de interacções com o cristal detector, presente no contador de poço. O número de interacções no cristal é proporcional à actividade presente em cada porção da tira, o que torna possível a quantificação de cada composto da mistura.

A quantidade percentual de cada componente é dada pelas CPM do componente isolado em relação às CPM da respectiva tira. Assim, a percentagem (%) de  $^{99m}\text{TcO}_4^-$  em:

$$\% \text{ } ^{99m}\text{TcO}_4^- = \frac{\text{CPM}_{\text{parte superior do 1}^\circ \text{ sistema}}}{\text{CPM}_{\text{tira toda do 1}^\circ \text{ sistema}}} \times 100$$

A % de  $^{99m}\text{Tc}$ -reduzido-hidrolizado não ligado consiste:

$$\% \text{ } ^{99m}\text{Tc} - \text{Red} - \text{Hid} = \frac{\text{CPM}_{\text{parte inferior da tira 2}^\circ \text{ sistema}}}{\text{CPM}_{\text{tira toda 1}^\circ \text{ sistema}}} \times 100$$

A pureza radioquímica do radiofármaco  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP traduz-se:

$$100 - \left( \% \text{ } ^{99m}\text{TcO}_4^- + \% \text{ } ^{99m}\text{Tc} - \text{Red} - \text{Hid} \right)$$

### **2.6.2.2. Estudos *in vivo***

Para a realização dos estudos *in vivo*, foram utilizados três cães *Beagle*, com 8 meses de idade, os quais tinham sido objecto de transplantes dentários prévios, 9 semanas antes.

Os animais, após anestesia com uma solução de ketamina 50 mg/mL (Ketalar®, Parke-Davis, Barcelona, Espanha) administrada

por via intramuscular, foram injectados por via endovenosa numa veia do membro anterior, com uma actividade de cerca de 740 MBq de  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP em 0,5 ml.

Após a injeção adquiriu-se informação através de uma câmara-gama (GE 400 AC, Milwaukee, USA), colimada com colimador paralelo de alta resolução e baixa energia, para o computador de aquisição GenieAcq, que a controla (Figura 2.19).



**Figura 2.19**

Animal colocado na câmara-gama, para aquisição de imagens

Esta aquisição foi feita em modo varrimento para matriz de 512x1024 elementos de resolução de imagem com a mesa a deslocar-se a uma velocidade de 10 cm/min. Estas aquisições de corpo inteiro foram realizadas em vista anterior e posterior aos 30, 60, 90, 120, 150 e 180 minutos após injeção. A seguir a cada varrimento foram adquiridas imagens estáticas da cabeça, tórax e abdómen para matrizes de 256x256 elementos de resolução de imagem, com duração individual de 5 minutos.

Como as imagens obtidas três horas após a injeção, mostraram uma boa relação sinal/ruído, os animais foram sacrificados através da administração endovenosa de cloreto de potássio, para se realizarem os estudos de biodistribuição. Nesse sentido, durante a autópsia procedeu-se à colheita de todos os dentes dos dois maxilares assim como de vários órgãos (coração, tiróide, vesícula

biliar, fígado, baço, estômago, intestino delgado, intestino grosso, genitais e bexiga), bem como de alguns tecidos (cartilagem, músculo, osso e sangue) e fluidos de excreção (bílis e urina).

Cada órgão, tecido ou fluido depois de calculada a sua massa em gramas (g), numa balança (Precisa 205 A Superbal-séries®), foi feita a detecção da energia emitida pelo radiofármaco, contada na câmara-gama ou no contador de poço, de acordo com a dimensão do órgão (Figuras 2.20 e 2.21).



**Figura 2.20**  
Pesagem dos dentes.



**Figura 2.21**  
Contador de poço, utilizado para quantificar a energia emitida por cada dente e órgão colhido.

Os resultados apresentam-se em contagens totais quando provenientes na câmara-gama, ou em CPM no contador de poço.

Para cada dente, órgão, tecido ou fluido foi calculada a percentagem de  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP administrado por grama (% actividade administrada/grama) após correcção de decaimento.

As imagens adquiridas foram transferidas para uma estação de trabalho eNTEGRA, onde foram processadas. O processamento consistiu no desenho de regiões de interesse (ROIs) de modo a

englobar a totalidade do órgão ou dente. Para cada ROI obtiveram-se as contagens totais.

### **2.6.3. Amostras descalcificadas**

#### **2.6.3.1. Histologia**

As amostras correspondentes aos animais 1, 2 e 3 foram preparadas, para estudo histológico. Foram fixadas em formaldeído tamponado a 10% durante 7 dias, lavadas depois em água corrente e posteriormente descalcificadas com solução de Morse, (ácido fórmico a 50% e citrato de sódio a 20% v/v), à temperatura de 4 °C, durante cerca de 30 dias. Em seguida foi realizada uma desidratação em bateria ascendente de álcoois e uma inclusão em parafina. Foram efectuados cortes longitudinais no sentido vestibulo-lingual, com 5µm de espessura e intervalos de 70µm, correspondentes à região do canal radicular.

Os cortes foram corados com hematoxilina eosina (HE), para análise histológica de rotina (Nethander G., *et al.*, 2003). Para além da coloração com HE, optou-se também pela coloração com Picro-fucsina de Van Gieson e pela técnica azul alcian (Garcia del Moral R. 1993).

Foi ainda feita imunohistoquímica através do método streptavidina-biotina, para a queratina MNF116 e a vimentina, através da marcação com diaminobenzidina.

Observou-se em microscópio óptico, o tecido pulpar, a superfície radicular e os tecidos adjacentes dos dentes transplantados e de controlo. Depois de efectuada a aquisição e registo de imagem, fez-se análise descritiva do tecido pulpar e das superfícies radiculares, tendo em consideração o padrão de cicatrização radicular, o padrão de cicatrização pulpar, assim como as

alterações inflamatórias pulpares e peri-radulares. Para cada descrição seguiram-se os seguintes critérios:

– Na cicatrização radicular considerou-se: 0 para a cicatrização completa – o cimento e o LPD apresentam morfologia normal e sem células inflamatórias; 1 para a reabsorção de superfície – onde se verifica a presença de lacunas de reabsorção no cimento, mas ausência de células inflamatórias; 2 para a reabsorção inflamatória – onde se verifica a presença de lacunas de reabsorção no cimento, com presença de células inflamatórias e 3 para a reabsorção de substituição – quando ocorreu anquilose, isto é, o LPD é substituído por osso: o osso alveolar fica em contacto com o cimento e com a dentina.

– Para padrão de cicatrização pulpar considerou-se: 0 para a presença de tecido conjuntivo e capilares em todo o canal; 1 para a presença de tecido conjuntivo e capilares nos 2/3 apicais do canal; 2 para a presença de tecido conjuntivo e capilares no 1/3 apical do canal; 3 para a ausência de tecido conjuntivo e capilares.

– Para as alterações inflamatórias pulpares e peri-radulares considerou-se: 0 – ausente, para a ausência de células inflamatórias; 1 – ligeira, quando há presença de algumas células inflamatórias; 2 – moderada, quando ocorre acumulação abundante de células inflamatórias; 3 – severa, quando há formação de abscessos.

### **2.6.3.2. Histomorfometria**

Observou-se a superfície radicular dos dentes antes referidos, e quantificaram-se as áreas de reabsorção. Para o efeito foi utilizado o *software* de morfometria *ImageJ* versão 1.30 (Image Processing and Analysis in Java – National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA). Este programa permite medir áreas, diâmetros, ângulos, perímetros e outros parâmetros específicos.

A imagem foi captada através de um microscópio óptico Nikon Eclipse 80i, acoplado a uma câmara digital Nikon DXm 1200C. As imagens foram analisadas pelo mesmo operador, depois de realizada uma calibração inter-observador. Para a análise histomorfométrica foram avaliados os cortes longitudinais em sentido vestibulo-lingual, correspondentes à região central da polpa e com ampliação de 40x. Determinou-se que seriam avaliados os seguintes parâmetros:

- % de reabsorção superficial, através da contagem do número de lacunas de reabsorção no cimento e sem células inflamatórias;
- % de reabsorção inflamatória, através da contagem do número de lacunas de reabsorção no cimento, mas com células inflamatórias;
- % de reabsorção de substituição/anquilose. Contagem do número dos locais onde o ligamento periodontal foi substituído por osso, assim como o número de locais onde o osso alveolar estava em contacto com o cimento e com a dentina.

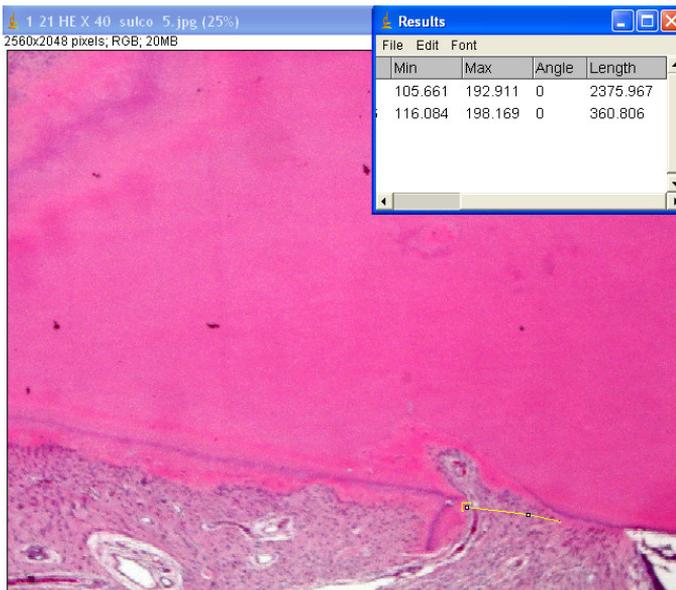
Foi considerada cicatrização completa da superfície radicular, na ausência de reabsorção inflamatória e de substituição.

Como já referido, os perímetros da raiz e da reabsorção foram medidas com o *software* de morfometria *ImageJ* versão 1.30 (Figura 2.22 e 2.23).

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares



**Figura 2.22**  
Superfície externa da raiz (linha de contorno amarela) e medição do comprimento linear, idealizando-a sem alterações.



**Figura 2.23**  
Delineamento do perímetro da reabsorção (linha amarela). Os resultados numéricos encontram-se na caixa no canto superior direito.

A percentagem de reabsorção para cada parâmetro foi calculada através do quociente entre o somatório do perímetro reabsorvido e o perímetro total da raiz x 100, recorrendo à seguinte fórmula:

$$\% \text{ reabsorvida} = \frac{\Sigma \text{perímetro reabsorvido}}{\text{perímetro total da raiz}} \times 100$$

## 2.6.4. Amostras calcificadas

### 2.6.4.1. Quantificação com *polimerase chain reaction* através da transcriptase reversa (*RT-PCR*)

Depois da extracção dos dentes transplantados e de controlo dos animais 4, 5 e 6, e de efectuada a contagem do radiofármaco, foi feita a sua odontosecção em sentido transversal ao nível médio da raiz.

Foi realizada colheita de ligamento periodontal do fragmento coronário e apical, utilizando para o efeito uma lâmina de bisturi curvo (Martin nº 12). Com o auxílio de uma lima *Hedstroem* nº30, (Zipperer, Munchen 70,W.Germany), colheu-se o tecido pulpar, de ambos os segmentos (Figura 2.24).



**Figura 2.24**  
Colheita de tecido pulpar para RT-PCR.

### Extracção do ácido ribonucleico (ARN)

Após a colheita do tecido pulpar e do LPD, as amostras foram de imediato estabilizadas num reagente de estabilização de ARN, (RNAlater-Qiagen), na proporção de 10 volumes para 10 µl/mg de tecido e preservados à temperatura de -20°C, até à sua utilização.

Foi feita a quantificação do ARN mensageiro (ARNm), para a fosfatase alcalina (ALP), factor de crescimento dos fibroblastos, (FGF), factor de crescimento vascular endotelial (VEGF) e do

ligando do factor nuclear de activação K (RANKL), através de *PCR* em tempo real.

Numa primeira fase procedeu-se à extracção de ARN em algumas amostras, de acordo com o protocolo de extracção de tecidos animais, do *RNeasy® Mini Kit* da Qiagen (GmbH, Germany). A disrupção e homogeneização dos tecidos foram efectuadas no *Tissue Lyser* (Qiagen®, GmbH, Germany) (Figura 2.25).



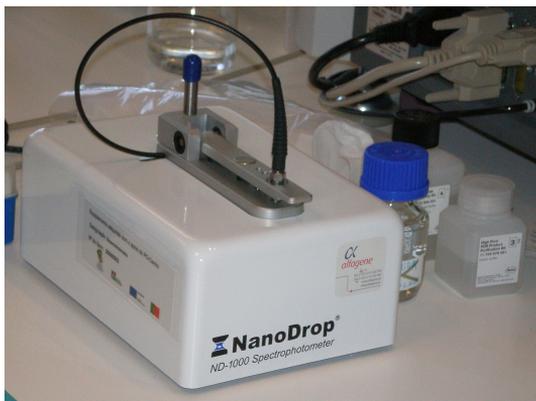
**Figura 2.25**  
Unidade Tissue Lyser para disrupção e homogeneização dos tecidos

Cada amostra foi transferida para um tubo de 2 ml, contendo uma esfera em aço, com 5 mm de diâmetro e 600 µl de tampão de lise. O tempo de homogeneização variou de amostra para amostra, entre 5 e 10 minutos, a 20-30 Hz. O lisado obtido foi centrifugado à máxima velocidade (14800 rpm), durante 3 minutos e o sobrenadante foi utilizado para purificação do ARN, de acordo com as instruções do fabricante.

Para garantir a total remoção do ácido desoxirribonucleico (ADN), durante a purificação procedeu-se à digestão em coluna com DNase, durante 15 minutos, à temperatura ambiente, utilizando para o efeito o *kit RNase free DNase Set* (Qiagen).

O ARN foi recuperado com 30 ml de água sem RNase e congelado à temperatura de -80°C. A concentração foi

determinada espectrofotometricamente no NanoDrop® (Technonogies, Inc., Wilmington. DE, USA) (Figura 2.26).



**Figura 2.26**  
Espectrofotómetro NanoDrop® para determinar a concentração de ARN.

Numa segunda fase procedeu-se à extracção de ARN, das restantes amostras, de acordo com o protocolo de extracção de tecidos fibrosos do RNeasy® Micro Kit da Qiagen.

Após a colheita, as amostras foram de imediato estabilizadas segundo o protocolo atrás descrito.

A disrupção e homogeneização dos tecidos foram efectuadas no *Tissue Lyser* (Qiagen). Cada amostra foi transferida para um tubo de 2 ml, contendo uma esfera em aço, com 5 mm de diâmetro e 150 µl de tampão de lise e 20 ng de *carrier* ARN. O tempo de homogeneização variou de amostra para amostra, entre 5 e 10 minutos, a 20-30 Hz. O lisado obtido foi centrifugado à máxima velocidade (14800 rpm), durante 3 minutos e o sobrenadante foi utilizado para purificação do ARN, de acordo com as instruções do fabricante. Durante o procedimento foi adicionado a cada lisado 5µl de uma solução de proteinase K (Quiagen) e incubado durante 10 minutos a 55°C.

Para garantir a total remoção do ADN, durante a purificação procedeu-se à digestão em coluna com DNase, durante 15 minutos, à temperatura ambiente, utilizando para o efeito o *kit*

*RNase free DNase Set* (Qiagen). O ARN foi recuperado com 14 µl de água sem RNase e congelado à temperatura de -80°C. A concentração foi determinada espectrofotometricamente no NanoDrop®.

### **Síntese de ADN complementar (cADN)**

A síntese de cADN foi efectuada a partir de 50 ng de ARN, utilizando o kit Sensiscript Reverse Transcription (Qiagen), de acordo com o protocolo do fabricante.

Para a síntese foi utilizado o primer pd(T)12-18 (GE Healthcare, Carnaxide, Portugal), de forma a amplificar na mesma reacção os genes em estudo. A reacção foi preparada num volume final de 20 µl, contendo tampão transcriptase reversa (RT) 1x, 0,5mM de cada desoxirribonucleotídeo fosfatado (dNTP), 1 µM de primer Oligo-dT, 50 ng de ARN e 1 µl de Sensiscript Reverse Transcriptase.

A síntese foi feita em duplicado e à temperatura de 37°C, durante 1h e 30 min.

### **Quantificação relativa dos níveis de expressão**

Para determinar os níveis de expressão dos genes ALP, FGF, VEGF e RANKL nas diferentes amostras, procedeu-se à quantificação relativa por PCR em tempo real (Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR system). O gliceraldeído fosfato desidrogenase (GADPH), foi utilizado como controlo interno das amostras (Figura 2.27).



**Figura 2.27**  
Unidade Applied Biosystems 7500 Real-Time PCR System, para quantificar os níveis de expressão dos genes.

Por amostra foi feita ampliação em triplicado, para cada um dos genes em estudo: FGF, ALP, VEGF, RANKL e GADPH.

A reacção de amplificação foi preparada num volume final de 25  $\mu$ l contendo: 1x SYBR®GREEN PCR Master Mix (Applied Biosystems, Warrington, United Kingdom), 80nM do respectivo *primer* forward e 150 ng de cADN (Tabela 2.4).

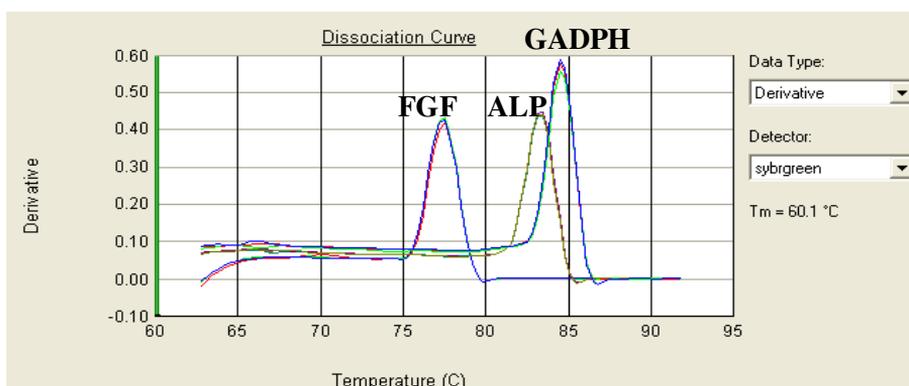
**Tabela 2.4** Sequência dos *primers* e tamanho dos fragmentos amplificados.

Primers	Sequência 5'–3'	bp
FGF_for	GCT ATG AAG GAA GAT GGA AGA	21bp
FGF_rev	TTT CAG TGC CAC ATA CCA ACT	21bp
ALP_for	CAC CGT GGA CTA CCT CTT G	19bp
ALP_rev	CCT CTG GGG TTC TTG CTC A	19bp
GADPH_for	CTG AGA ACG GGA AAC TTG TC	20bp
GADPH_rev	AGA AGG AGC AGA GAT GAT GAC	21bp
VEGF_for	GCG TGC CCA CTG AGG AGT T	19bp
VEGF_rev	TCT TTG GTC TGC ATT CAC ATT TG	23bp
RANKL_for	CAG AGC AGA AAA AGC TAT GAT GGA	24bp
RANKL_rev	TGG GAA CCA GAT GGG ATG TC	20bp

(bp) par de bases; (for) *forward primer*; (rev) *reverse primer*; (FGF) factor de crescimento dos fibroblastos; (ALP) fosfatase alcalina; (GADPH) gliceraldeído fosfato desidrogenase; (VEGF) factor de crescimento vascular endotelial; (RANKL) ligando do receptor activador nuclear K.

As condições de amplificação para os genes utilizadas no Real-Time PCR foram, 1 ciclo a 95°C durante 10 minutos, 45 ciclos a 95°C, durante 15 segundos, 45 ciclos a 59°C, durante 1 minuto e 45 ciclos a 72°C, durante 8 segundos.

Para garantir que o sinal detectado durante a amplificação era apenas referente ao produto de PCR específico e não resultante da formação de dímeros de primers, procedeu-se sempre à dissociação dos fragmentos amplificados e análise dos picos da curva de dissociação, (apenas um pico por gene e com a temperatura de *melting* (T<sub>m</sub>) esperada). Este passo foi executado no mesmo equipamento, logo após a amplificação (Figura 2.28).



**Figura 2.28**

Curva de dissociação obtida a partir dos fragmentos de ADN resultantes da amplificação por PCR em tempo real de 3 genes em estudo: FGF, ALP e GADPH. A presença de apenas 3 picos garante que o sinal obtido resulta apenas dos fragmentos esperados e não da formação de dímeros de *primers*.

#### 2.6.4.2. Histomorfometria

As amostras dos dentes experimentais e de controlo, correspondentes aos animais 4, 5 e 6, foram fixadas por imersão numa solução de formaldeído a 10% em tampão fosfato, pH 7,4, durante um período de uma semana. Após a fixação, iniciou-se o processo de desidratação, com agitação contínua, em bateria

ascendente de álcool e feita a inclusão em resina. A infiltração de resina (Technovit 7200 VLC, Kulzer, Exact-Germany), foi feita igualmente com agitação permanente, com graduações sucessivas de metacrilato em álcool, nas percentagens de álcool/resina de 70/30; de 50/50 e de 30/70. Para finalizar, foram feitas duas passagens em 100% de resina (Guerra 2003). De seguida, procedeu-se à embebição e fotopolimerização da resina, na unidade Exact 520. Depois dos procedimentos de polimerização, os blocos foram preparados e montados em lâmina acrílica para serem executados os cortes e o polimento das amostras.

Foram realizados cortes longitudinais no sentido VL, com 200 µm de espessura numa unidade de corte de precisão, com velocidade e irrigação constantes. O polimento das amostras foi feito em polidora de prato rotativo, de velocidade regulável, com irrigação constante e até à espessura de 100 µm (Coelho 2003). A secção das amostras foi feita numa unidade de corte de precisão (Exact 310 CP) e o polimento foi executado com discos de diamante de granulometria decrescente (800, 1000, 2500, e 4000; Hermes® - Germany), em unidade de polimento, com prato rotativo (Exact 400 CS). As secções foram preparadas e montadas numa lâmina de vidro com resina fotopolimerizável (Technovit 7210 VLC – Kulzer, Exact- Germany), e unidade de polimerização (Exakt 520).

As amostras, assim preparadas, foram observadas com microscópio de fluorescência (Akiba N., et al., 2006). Foi feita análise morfométrica da espessura de dentina formada durante o período experimental, o que possibilitou deduzir sobre o comportamento do tecido pulpar na formação de dentina.

A avaliação da espessura de dentina formada nos dentes acima referidos, foi feita através do sistema *ImageJ* versão 1.30 (Image Processing and Analysis in Java – National Institute of Mental

Health, Bethesda, Maryland, USA) e foi designada por D1 a espessura de dentina formada durante as três primeiras semanas após o transplante e por D2 a espessura de dentina formada da terceira até à nona semana após o transplante.

Nesta avaliação utilizaram-se como controlos, os incisivos (113, 213, 312 e 412), que não foram transplantados. A correspondente captação de corante pela espessura de dentina presente nos dentes de controlo e nos mesmos períodos de tempo, foi também designada por D1 e D2.

## **2.7. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS**

A análise estatística foi efectuada com recurso a testes não paramétricos, dada a dimensão da amostra, independentemente da sua distribuição. Dado que são testes paramétricos, os indicadores estatísticos de localização e dispersão que devem ser apresentados são a mediana e a amplitude inter-quartil. Contudo, apresentam-se os valores da média e desvio-padrão, dada a natureza quantitativa das variáveis em causa, e do facto de todas seguirem uma distribuição normal, por serem as medidas mais comumente utilizadas e de mais simples interpretação.

Todos os testes foram avaliados a um nível de significância de 5%, recorrendo ao software estatístico SPSS, versão 1.4.

Para comparar as técnicas (A e B), e os materiais (1 e 2), foi utilizado o teste de Mann-Whitney dado tratarem-se de duas variáveis independentes.

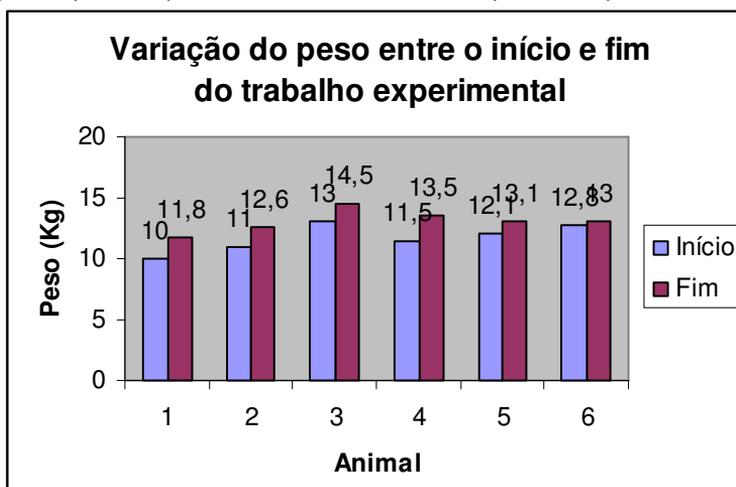
### 3. RESULTADOS

#### 3.1. OBSERVAÇÃO CLÍNICA

Os animais em experiência sofreram durante os primeiros dias, uma discreta diminuição de peso, mantendo no entanto uma aparência saudável e um comportamento normal. Ao longo do período experimental, foram gradualmente recuperando o peso, tendo-se verificado até um aumento individual, o que expressa uma boa recuperação pós-operatória (Gráfico 2.1).

**Gráfico 2.1.**

Variação do peso corporal, entre o início e o fim do período experimental.



Ao fim da primeira semana, na observação macroscópica, os tecidos adjacentes aos transplantes, apresentavam alguma reacção inflamatória, possivelmente resultante da acumulação de alimentos nos fios de sutura (Figura 2.29).



**Figura 2.29**  
Imagem intra-oral da região da maxila, uma semana depois de efectuados os transplantes dentários.

Os dentes transplantados, ao fim desta semana apresentavam mobilidade de grau 2, não havendo diferenças entre as técnicas cirúrgicas, A e B, nem entre os materiais utilizados, (soro fisiológico ou Emdogain®).

Ao fim das nove semanas experimentais, o dente 11 do animal 3 apresentava mobilidade de grau 2, com saída de pús, verificando-se a existência de uma fractura radicular. No mesmo animal, o dente oponente (41), também apresentava mobilidade de grau 2.

Nos restantes animais, os dentes transplantados e os tecidos circundantes, não apresentavam alterações macroscópicas, independentemente da técnica ou do material utilizado (Figura 2.27).

**Figura 2.27**

Imagem dos dentes maxilares, 9 semanas após o transplante. A - Dentes maxilares; B- dentes mandibulares.

Durante o período experimental, nenhum animal apresentou qualquer reacção ou sinal de corpo estranho intra-oral, tendo-se verificado, como já referido, um aumento do peso corporal.

### 3.2. AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA

A aquisição das radiografias, como anteriormente referido, foi realizada através de radiovisiografia e processamento digital. A sua visualização foi feita em monitor de computador, por dois observadores experientes, possibilitando uma avaliação qualitativa dos resultados. As radiografias foram avaliadas pelos examinadores, em dois períodos diferentes, desconhecendo os resultados da primeira observação.

Como critérios radiográficos utilizaram-se as características da lâmina dura, dos tecidos periapicais e do espaço pulpar. A lâmina dura foi classificada como 0 se contínua e como 1 se reabsorvida, enquanto os tecidos periapicais tiveram a classificação de 0 se não houvesse alteração e de 1 se houvesse uma área rádio-transparente. O espaço pulpar foi classificado de 0 se estivesse presente e de 1 em caso de ausência.

### **3.2.1. Radiografia de transplantes com soro fisiológico**

#### **3.2.1.1. Alvéolos recém formados – grupo A2**

##### **Uma semana**

Uma semana após o transplante, o espaço pulpar era visível, o contorno radicular não apresentava alterações irregulares e existia ausência de lâmina dura contínua. Observou-se a presença de uma imagem radiotransparente, adjacente à raiz do dente, possivelmente resultante da instrumentação para conformar o alvéolo receptor (Figura 2.28-a).

##### **Nove semanas**

Nove semanas após o transplante, o espaço pulpar era visível, o contorno radicular não apresentava alterações irregulares e existia uma lâmina dura contínua, ao mesmo tempo que os tecidos periapicais não apresentavam sinais de patologia periapical (Figura 2.28-b).

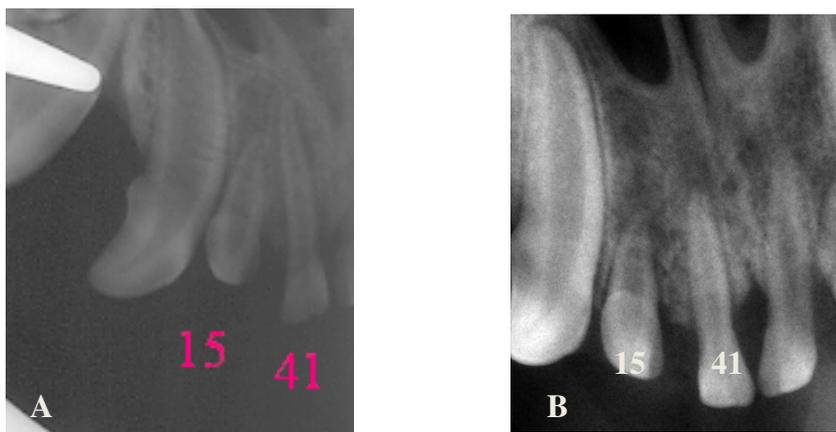
### 3.2.1.2. Alvéolos em cicatrização – grupo B2

#### Uma semana

Uma semana depois do transplante, o espaço pulpar era visível, o contorno radicular não apresentava alterações irregulares e existia ausência de lâmina dura contínua. Também era notório o aspecto radiotransparente, ao longo de toda a raiz do dente, com inclusão do *periápex*, correspondente à trepanação óssea, criada para a execução do alvéolo (Figura 2.28-a).

#### Nove semanas

Nove semanas após o transplante o espaço pulpar era visível, o contorno radicular não apresentava alterações irregulares e existia uma lâmina dura contínua. Simultaneamente era evidente o aumento da densidade óssea, na zona onde foi preparado o alvéolo. Os tecidos periapicais não apresentavam sinais de patologia periapical (Figuras 2.28-b).



**Figura 2.28**

Radiografia periapical dos dentes 15 e 41, transplantados para a região dos dentes 12 e 11 respectivamente, utilizando o soro fisiológico (Cão 2).

O dente 41 foi transplantado para alvéolo recém-criado (técnica cirúrgica A – grupo A2). O dente 15 foi transplantado para alvéolo em cicatrização (técnica cirúrgica B- grupo B2).

A-Uma semana após o transplante. B- Nove semanas depois do transplante.

### **3.2.2. Avaliação radiográfica de transplantes com EMD**

#### **3.2.2.1. Alvéolos recém formados – grupo A1**

##### **Uma semana**

Uma semana depois do transplante, o espaço pulpar era visível, o contorno radicular não apresentava alterações irregulares e a lâmina dura contínua estava ausente. Na região correspondente aos alvéolos formados, foi possível observar uma radiopacidade óssea menos intensa, relativa ao restante osso circundante (Figura 2.29-A).

##### **Nove semanas**

Nove semanas após o transplante, o espaço pulpar era visível, o contorno radicular não apresentava alterações irregulares e existia uma lâmina dura contínua. Também com Emdogain®, os tecidos periapicais, não apresentavam sinais de patologia periapical (Figura 2.29-B).

#### **3.2.2.2. Alvéolos em cicatrização – grupo B1**

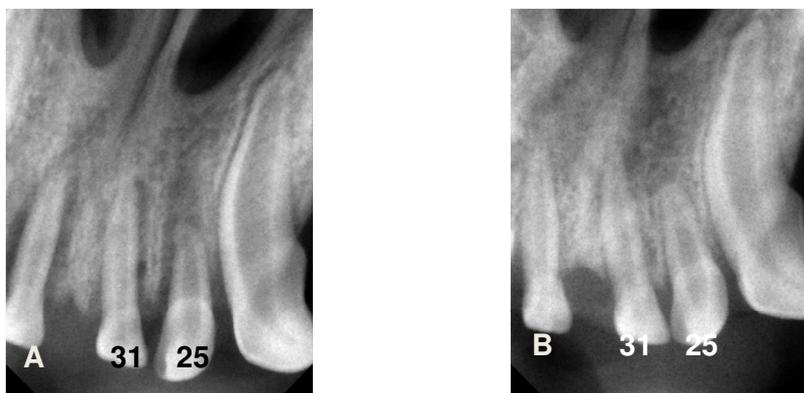
##### **Uma semana**

Uma semana depois do transplante, o espaço pulpar era visível, o contorno radicular não apresentava alterações irregulares e não se observava lâmina dura contínua. Observava-se igualmente uma radiotransparência, correspondente à trepanação óssea, criada para execução do alvéolo (Figura 2.29-A).

##### **Nove semanas**

Nove semanas após o transplante, o espaço pulpar era visível, o contorno radicular não apresentava alterações irregulares e existia

uma lâmina dura contínua. Existia também evidência de aumento da densidade óssea, na zona onde foi preparado o alvéolo e os tecidos periapicais, não apresentavam sinais de patologia periapical (Figura 2.29-B).



**Figura 2.29**

Radiografia periapical dos dentes 25, e 31, transplantados para a região dos dentes 22 e 21 respectivamente, com utilização de EMD (Cão 1). O dente 31 foi transplantado para alvéolo recém-criado (técnica cirúrgica A-grupo A1). O dente 25 foi transplantado para alvéolo em cicatrização (técnica cirúrgica B- grupo B1). A- Uma semana após o transplante. B- Nove semanas depois do transplante.

### 3.3. AMOSTRAS DESCALCIFICADAS

#### 3.3.1. Observação em microscopia óptica

As amostras fixadas em formaldeído tamponado a 10% durante 7 dias e lavadas em água corrente, foram posteriormente descalcificadas com solução de Morse (ácido fórmico a 50% e citrato de sódio a 20% v/v), à temperatura de 4 °C, durante cerca de 30 dias. Depois de realizada uma desidratação em bateria ascendente de álcoois e uma inclusão em parafina foram efectuados cortes longitudinais seriados, no sentido VL, com 5 µm de espessura, correspondentes à região do canal radicular.

As secções verticais permitiram a visualização dos acontecimentos biológicos que ocorreram nos dentes estudados.

As avaliações histológicas foram realizadas em microscópio óptico e centraram-se na apreciação da cicatrização pulpar e da superfície radicular, em cada grupo de estudo.

Os métodos de coloração aplicados foram para além da hematoxilina-eosina de rotina (HE), o azul alcian - periodic acid-schiff (AA-PAS), e Van Gieson (VG).

Pontualmente, recorreremos à imunohistoquímica através do método streptavidina-biotina, para a queratina MNF116 e a vimentina, através da marcação com diaminobenzidina, para a caracterização de restos epiteliais e do mesênquima.

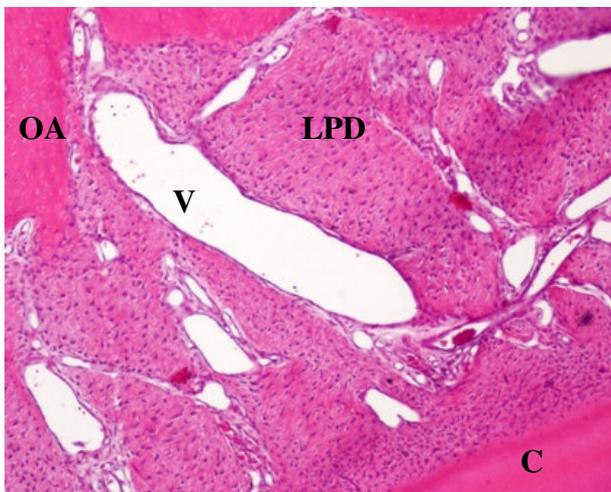
Procurando obter um entendimento sobre a alteração biológica, apresentamos os resultados observados considerando os dentes não transplantados como controlo negativo, os dentes transplantados com a utilização de soro fisiológico como controlo positivo e por fim, descrevemos os resultados dos transplantes de dentes em que foi utilizado Emdogain®, para alvéolos recém criados ou em cicatrização, o que constituiu a principal finalidade deste trabalho experimental.

### **3.3.1.1. Dentes não transplantados - controlo negativo**

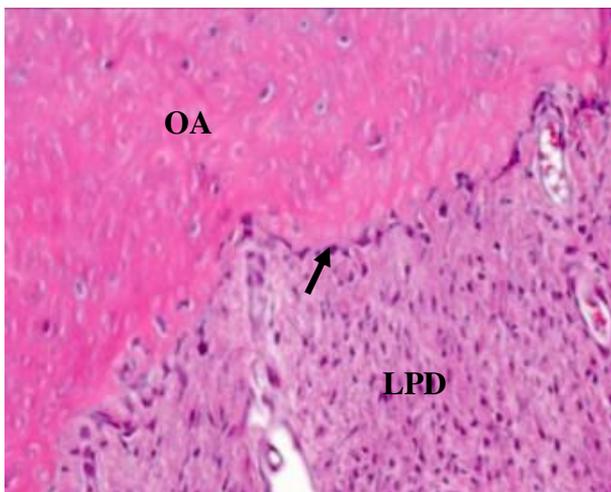
Os cortes histológicos dos dentes que não foram sujeitos a qualquer manipulação, observados ao microscópio de luz, apresentaram um espaço entre a raiz do dente e o osso alveolar, preenchido por tecido conjuntivo denso, com vasos sanguíneos, que corresponde ao ligamento periodontal (figura 2.30). Este ligamento periodontal apresentou três zonas distintas. Uma correspondente à inserção no osso, rica em células e vasos sanguíneos, uma zona intermédia com predomínio de colagénio e poucas células e a zona relacionada com a introdução no

cimento, caracterizada por feixes mais densos de colagénio. A acompanhar a camada de cimento foi possível observar uma quantidade abundante de células, os cementoblastos (Figura 2.30).

O osso alveolar, junto ao ligamento periodontal, apresentava uma camada de células mononucleadas e cubóides, regularmente distribuídas, correspondendo a osteoblastos (Figura 2.31).



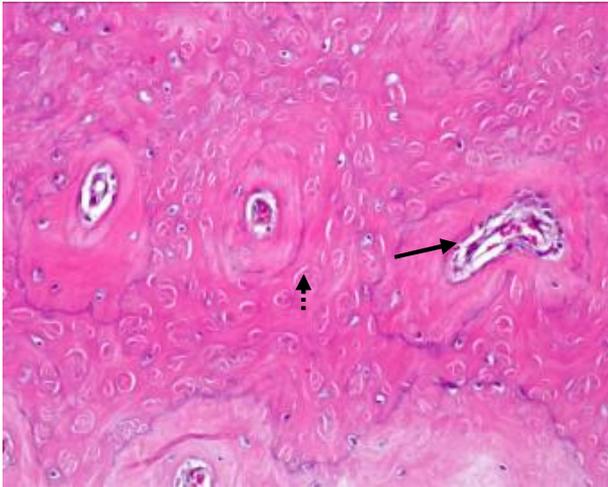
**Figura 2.30**  
Microfotografia de corte histológico longitudinal, de material descalcificado de dente não transplantado (cão 1, dente 13- grupo C). Observar o espaço periodontal com vasos sanguíneos (V), ligamento periodontal (LPD), osso alveolar (OA) e cimento (C). (HE x100).



**Figura 2.31**  
Imagem de corte histológico longitudinal de material descalcificado de dente não transplantado (cão 1, dente 13- grupo C). Observa-se o osso alveolar (OA), com osteoblastos (seta) a ladear a superfície óssea de contacto com o ligamento periodontal (LPD). (HE x200)

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

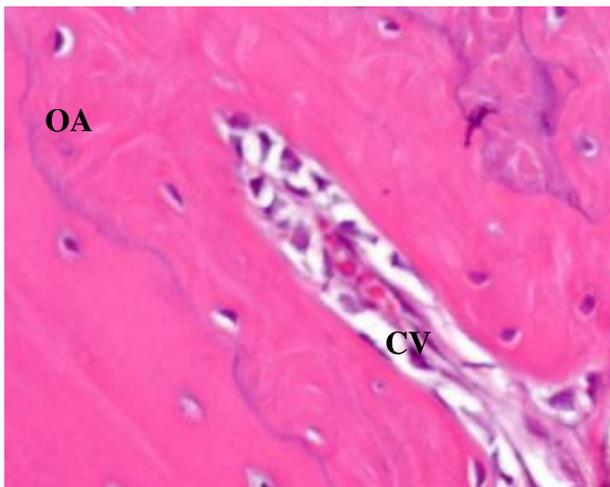
No osso alveolar estavam presentes osteócitos, disseminados pela matriz mineralizada, com um conjunto de lamelas circunferenciais, organizadas de forma concêntrica, em torno de um canal vascular central, correspondendo ao sistema de Havers ou ósteon e uma linha de matriz mineralizada a delinear o sistema Haversiano, correspondente a linhas incrementais (Figura 2.32).



**Figura 2.32**

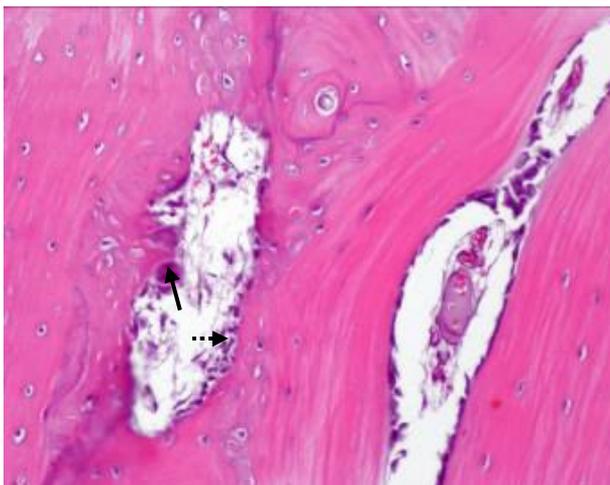
Corte longitudinal em material descalcificado de osso alveolar, de dente não transplantado (cão 1, dente 13- grupo C). Observa-se abundante quantidade de osteócitos (seta tracejada) e canais de Havers (seta grande). (HE x200).

Na superfície óssea do ligamento periodontal, pudemos ainda observar os canais vasculares de Volkmann, passando do osso alveolar para o ligamento periodontal (Figura 2.33).



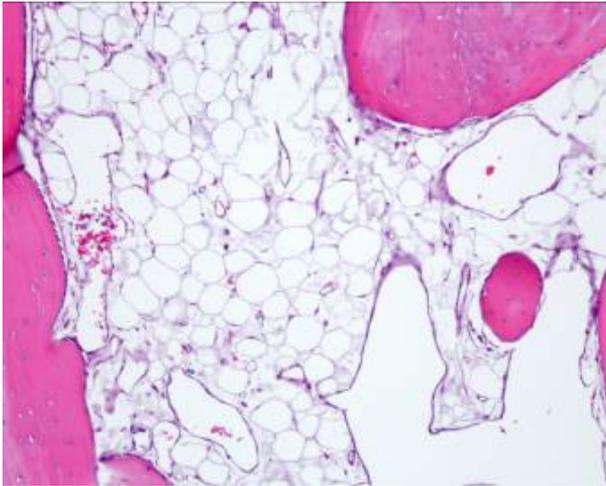
**Figura 2.33**  
 Corte longitudinal de osso alveolar descalcificado, de dente não transplantado (cão 1, dente 13- grupo C). Osso alveolar (OA), do lado periodontal, com canal de Volkmann (CV). (HE x400).

Ao nível do osso alveolar foi ainda possível observar a presença de células multinucleadas, correspondendo a osteoclastos e cavidades de reabsorção, designadas como lacunas de Howship, desenvolvidas por este tipo de células. Observaram-se também as linhas de reversão, representando o local de alterações de reabsorção e deposição rítmica de osso (Figura 2.34).



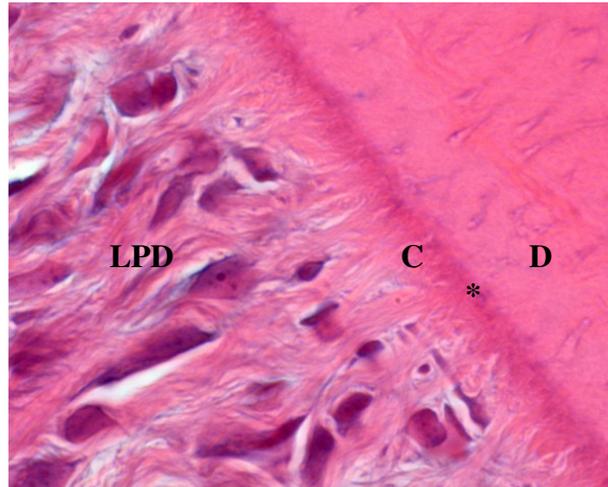
**Figura 2.34**  
 Pormenor de osso alveolar descalcificado, de dente não transplantado (cão 1, dente 13- grupo C). Observar as linhas de reversão, a cavidade de reabsorção com osteoclasto (seta grande) e osteoblastos (seta tracejada). (HE x200).

No osso medular observaram-se ainda alguns elementos celulares e uma acumulação abundante de adipócitos, correspondendo a zonas de osso antigo (Figura 2.35).



**Figura 2.35**  
Imagem de pormenor de osso medular, de dente descalcificado, não transplantado, mostrando o tecido adiposo e os trajectos vasculares (cão 1, dente 13- grupo C). (HE x100).

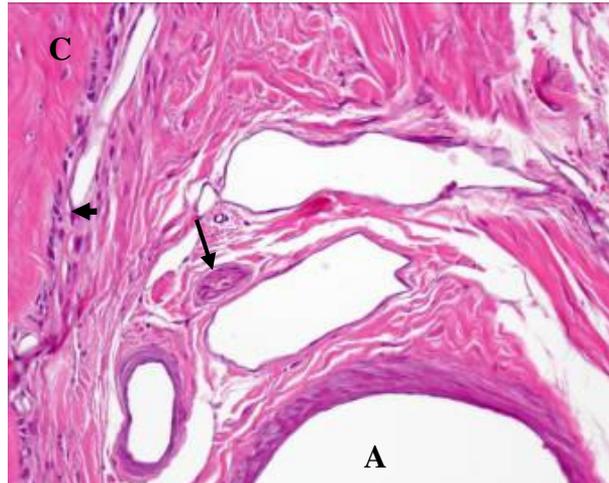
O cimento apresentava-se como uma fina camada de tecido acelular a recobrir a dentina radicular, contínuo com as fibras do ligamento periodontal. A recobrir a camada de cimento acelular encontrava-se uma outra de cimento celular que se apresentava mais espessa na zona apical do dente. Na sua superfície interna, o cimento acelular encontrava-se firmemente aderido à dentina. Na região externa da dentina podia observar-se uma interface entre o cimento e esta, correspondente à junção cimento-dentinária, denominada camada granular de Tomes e a camada hialina de Hopewell-Smith (Figuras 2.36 e 2.37).

**Figura 2.36**

Pormenor da superfície radicular (cão 1, dente 13- grupo C). Matriz fibrilar de colagénio no LPD em continuidade com o cemento acelular (C), onde se inserem os feixes de colagénio, perpendicularmente. Observam-se ainda a camada hialina (\*) e a presença de fibroblastos no ligamento periodontal (LPD). Dentina (D). (HE x200).

Os feixes colagénicos do ligamento periodontal, apresentavam diferentes orientações, como descrito, desde oblíquas a paralelas à superfície radicular. No espaço periodontal, observavam-se ainda grandes espaços, correspondentes aos vasos sanguíneos, limitados por células endoteliais (Figuras 2.30 e 2.37).

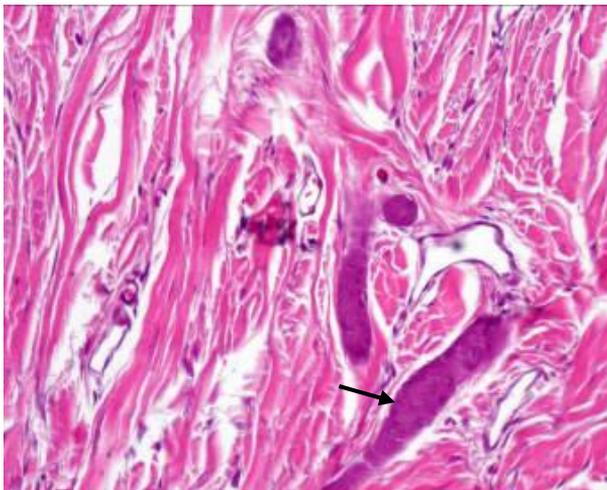
A acompanhar os grandes vasos sanguíneos, foi possível observar focalmente trajectos nervosos (Figura 2.37).



**Figura 2.37**

Corte longitudinal de material descalcificado, de raiz de dente não transplantado (cão 1, dente 13- grupo C). Artéria (A) no espaço periodontal e trajecto nervoso (seta grande). Cimento (C) e cementoblastos (seta pequena). (HE x200).

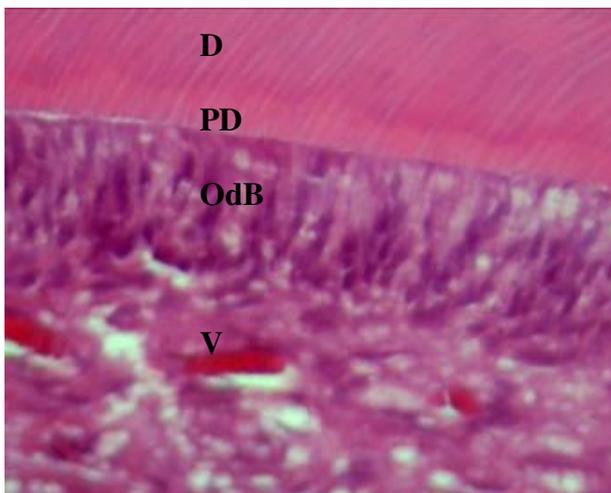
Dispersos pela matriz conjuntiva e entre as fibras do ligamento periodontal observavam-se além dos fibroblastos fusiformes, conjuntos de células epiteliais, correspondendo aos restos epiteliais de Malassez e células mesenquimatosas com citoplasma amplo e núcleos grandes com nucléolos proeminentes (Figura 2.38).



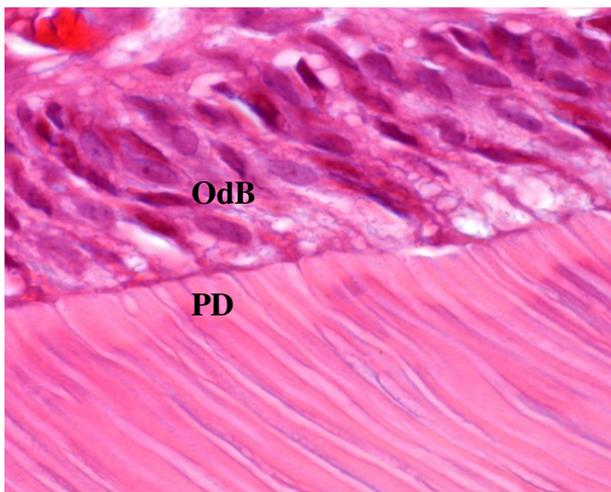
**Figura 2.38**

Pormenor de corte longitudinal de ligamento periodontal da raiz de dente não transplantado, onde se observam feixes de colagénio, com diversas orientações e restos epiteliais de Malassez (seta) (cão 1, dente 13- grupo C). (HE x200).

Ao nível da polpa dentária foi possível observar tecido conjuntivo laxo, formado por células dispersas na matriz extracelular, embebidas numa matriz extracelular, de aspecto mixóide. A limitar a camada de pré-dentina, observou-se a camada de odontoblastos, dispostos em paliçada à periferia do tecido pulpar e com núcleos alongados, bem visíveis, localizados no pólo basal da célula. Estas células polarizadas apresentavam um prolongamento celular único que se estendia para o interior dos túbulos da camada de pré-dentina e da dentina (Figuras 2.39 e 2.40).

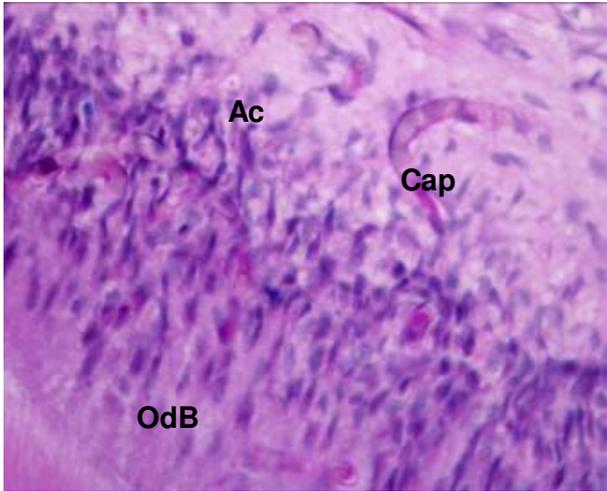


**Figura 2.39**  
 Imagem de material descalcificado, da polpa de dente não transplantado (cão 2, dente 13- grupo C). Camada de odontoblastos (OdB) revestindo a pré-dentina (PD), de forma linear. Dentina (D), matriz de polpa com suporte vascular (V). (HE x400).



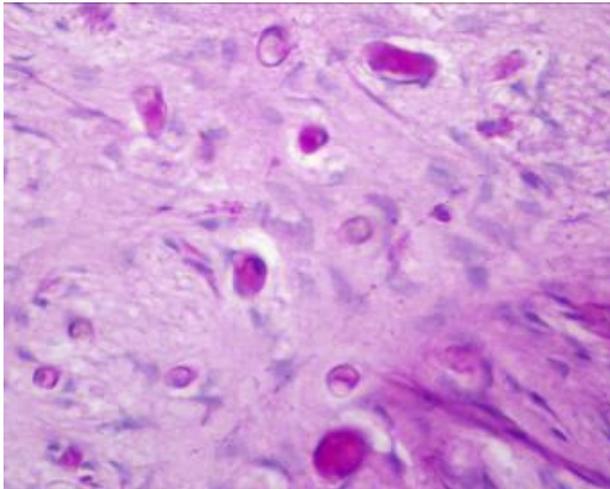
**Figura 2.40**  
 Maior ampliação da imagem anterior (cão 2, dente 13- grupo C). Camada de odontoblastos (OdB) revestindo a pré-dentina (PD), de forma linear. (HE x1000 com óleo de imersão).

Para o interior da polpa e a seguir à camada de odontoblastos, foi observada a porção sub-odontoblástica, com alguns vasos e capilares sanguíneos em ansas, insinuando-se em direcção aos odontoblastos, e uma região pobre em células (Figura 2.41).



**Figura 2.41**  
Pormenor da polpa, de dente não transplantado (cão 2, dente 13- grupo C). Camada de odontoblastos (OdB), a revestir a dentina (D). Camada subodontoblástica acelular (Ac), com capilar sanguíneo em "ansa" (Cap). (AA-PAS x400).

A ocupar a camada de tecido conjuntivo laxo através do tecido pulpar, os fibroblastos apresentavam uma forma variável, desde estelar, arredondada ou com aspecto de fuso. Nessa trama celular, pudemos ainda observar a presença de células mesenquimatosas indiferenciadas com núcleos de formato triangular (Figura 2.42).

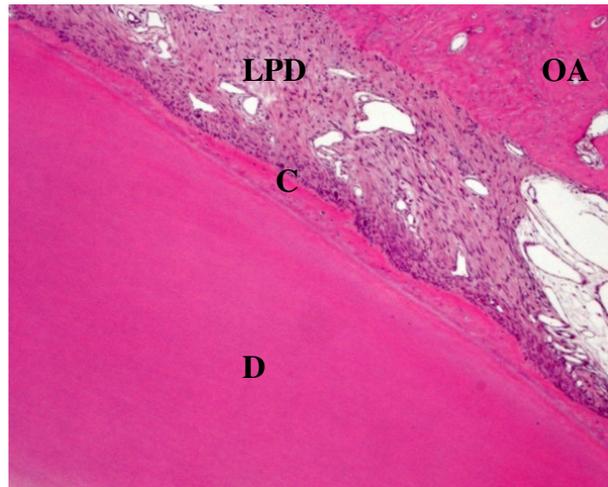
**Figura 2.42**

Aspecto de uma região ao nível da polpa, de dente não transplantado (cão 2, dente 13- grupo C). Tecido pulpar com fibroblastos e células indiferenciadas. (AA-PAS x400).

### 3.3.1.2. Dentes transplantados com soro fisiológico

#### a) Alvéolos recém formados – grupo A2

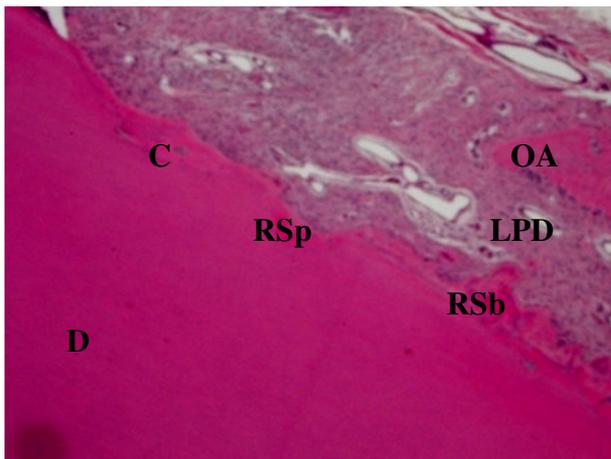
Os cortes histológicos deste grupo de dentes, observados ao microscópio de luz, correspondem aos dentes que foram transplantados imediatamente depois de ter sido criado o alvéolo e aplicado soro fisiológico na superfície radicular. Foi possível observar o restabelecimento do espaço periodontal entre o osso alveolar e o cimento da raiz, com identificação das zonas de inserção do ligamento periodontal já descritas no controlo negativo (Figura 2.43).



**Figura 2.43**

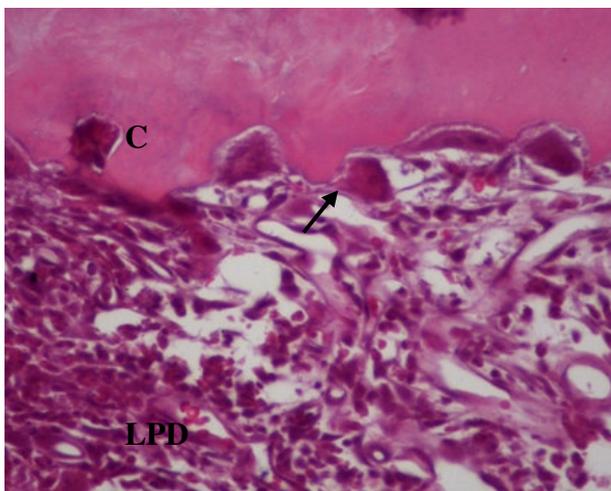
Corte longitudinal ao nível do ligamento periodontal e do dente transplantado (cão1, dente 21- Grupo A2). Ligamento periodontal (LPD), com espaço periodontal preenchido por tecido conjuntivo. Osso alveolar (OA); Cimento (C); Dentina (D). (HE x40; corte 30).

Em algumas secções histológicas foi observada na raiz, imediatamente a seguir ao sulco gengival, a presença de lacunas de reabsorção cementária. Em todas as amostras deste grupo estavam presentes zonas localizadas de descontinuidade na superfície periodontal do cimento, correspondendo a reabsorção superficial. Nas amostras analisadas pudemos verificar que as lacunas de reabsorção se estendiam à dentina radicular, encontrando-se em fase de reparação. Foram também identificadas zonas correspondentes ao espaço periodontal, preenchidas por tecido mineralizado, que traduzem a reabsorção de substituição (Figura 2.44).



**Figura 2.44**  
 Imagem do ligamento periodontal e da raiz do dente transplantado (cão1, dente 21-Grupo A2), com algumas zonas de reabsorção superficial (RSp) e de substituição (RSb). Cimento (C), ligamento periodontal (LPD), dentina (D), osso alveolar (OA). (HE x40; corte 30).

Na maioria das amostras deste grupo de estudo, foi possível observar áreas de reabsorção, com cementoclastos a destruir o cimento radicular e vasos sanguíneos marginalizados por neutrófilos e macrófagos, compatível com reabsorção inflamatória (Figura 2.45).



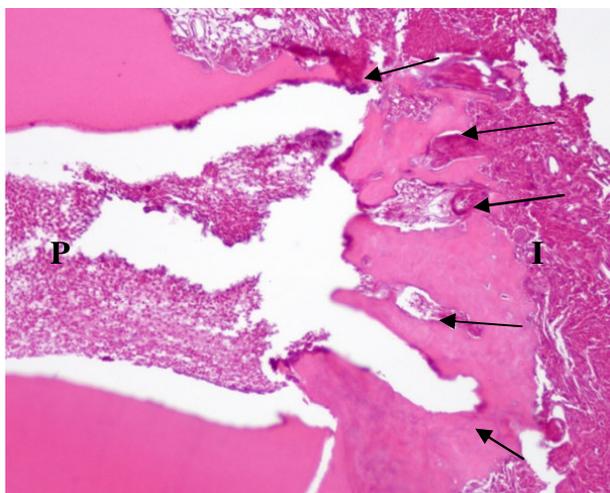
**Figura 2.45**  
 Imagem de reabsorção inflamatória ao nível do ligamento periodontal e do dente transplantado (cão3, dente 31-Grupo A2). Ligamento periodontal (LPD), com lacunas de reabsorção e cementoclastos (seta). Cimento (C). (HE x400; corte 25).

Na polpa dentária observou-se perda da morfologia habitual, estando presentes células necrosadas numa rede fibrilar. Neste grupo de dentes foi possível notar a nível pulpar, em 2 casos, a

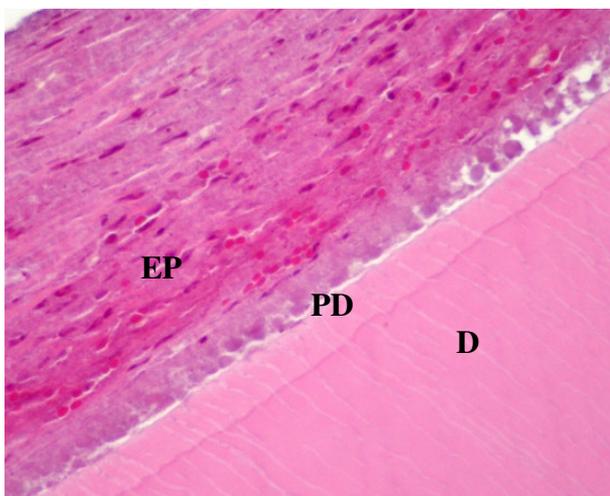
formação de tecido inflamatório com polimorfonucleares neutrófilos (PMN) (Figura 2.46).

A camada de pré-dentina, no entanto era regular, sem cavidades de reabsorção e revestida por uma camada de células com morfologia diferente dos odontoblastos (Figura 2.47).

A formação de tecido tipo osteodentina, no interior do espaço pulpar ocorreu apenas num dente deste grupo de estudo.



**Figura 2.46**  
Imagem da região apical de corte longitudinal do dente transplantado. Observa-se a existência de um delta apical (setas) e a existência de um processo inflamatório (I) a penetrar na polpa (P). (Cão3, dente 21-Grupo A2). (HE x100; corte 60).



**Figura 2.47**  
Imagem da polpa de corte longitudinal do dente transplantado (Cão 2, dente 41-grupo A2). Dentina (D), pré-dentina (PD), espaço pulpar (EP). (HE x400; corte 60).

Os resultados totais dos dentes pertencentes a este grupo A2, encontram-se resumidos no quadro 2.5.

**Quadro 2.5.**Resumo das alterações pulpares e da superfície radicular dos dentes do grupo A2.

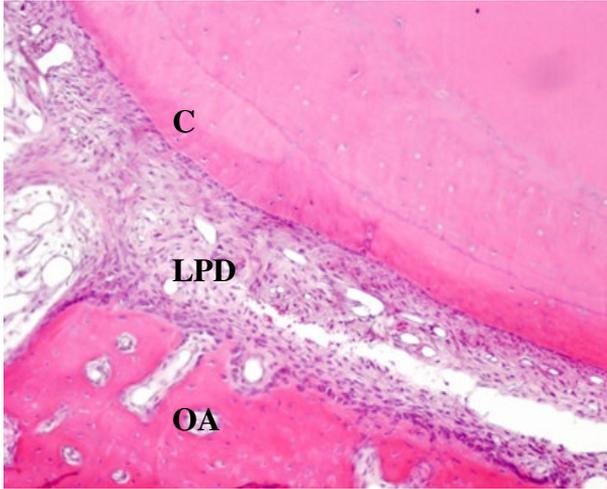
Cão. Dente	Polpa				Superfície radicular		
	I	N	O	R	RSp	RI	RSb
1.21		X			X		X
1.31	X				X	X	X
2.11		X			X	X	X
2.41		X			X		X
3.21	X				X	X	
3.31			X		X	X	X

Inflamação (I); Necrose (N); Osteóide (O); Reabsorção (R); Reabsorção superficial (RSp); Reabsorção inflamatória (RI); Reabsorção de substituição (RSb).

### **b) Alvéolos em cicatrização – grupo B2**

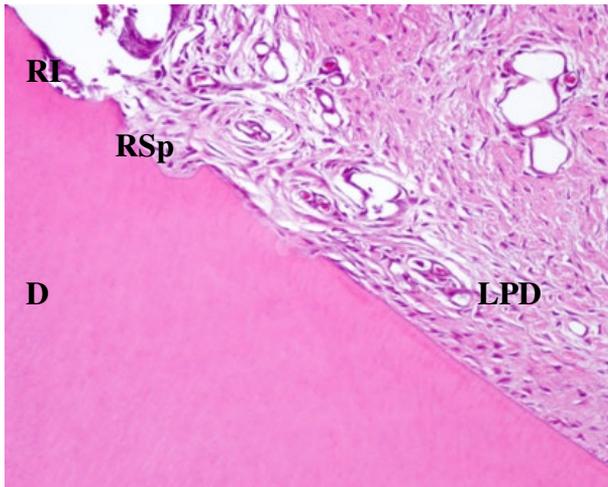
Os cortes histológicos deste grupo, observados ao microscópio óptico, correspondiam aos dentes que foram transplantados uma semana depois de ter sido criado o alvéolo, com aplicação de soro fisiológico na superfície radicular. Da análise dos resultados correspondentes a este grupo B2, podemos dizer que o ligamento periodontal foi restabelecido, apresentando-se o tecido fibrillar com diversas orientações, com fibras oblíquas e perpendiculares ao osso e ao cimento. O osso alveolar, na superfície do ligamento periodontal, mantinha uma camada de células mononucleadas e cubóides, regularmente distribuídas, correspondendo aos osteoblastos (Figura 2.48).

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares



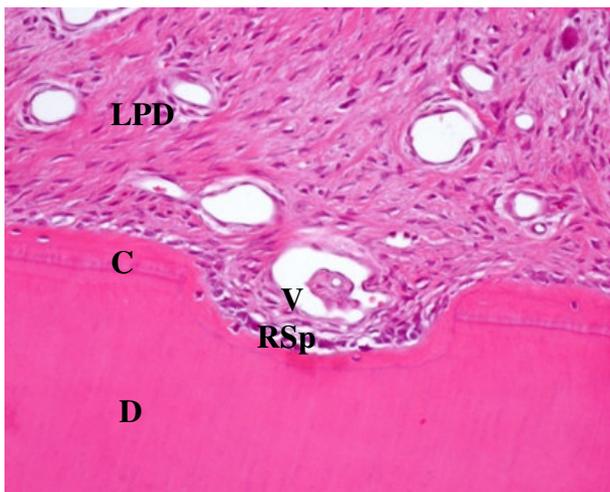
**Figura 2.48**  
Corte longitudinal ao nível do periodonto de inserção, do dente transplantado (Cão3, dente 22-Grupo B2). Ligamento periodontal (LPD); Cimento (C); Osso alveolar (OA). (HE x40, corte 40).

Imediatamente a seguir ao sulco gengival, existiam cavidades de reabsorção inflamatória, muitas vezes contínuas a lacunas de reabsorção superficial, em cicatrização (Figura 2.49).



**Figura 2.49**  
Corte longitudinal ao nível do periodonto de inserção, do dente transplantado (Cão 1, dente 33-Grupo B2). Ligamento periodontal (LPD; Reabsorção inflamatória (RI); reabsorção superficial (RSp). (HE x40, corte 50).

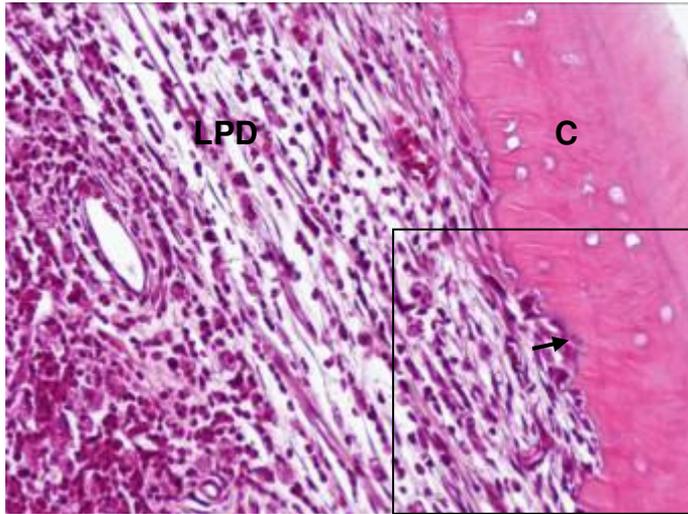
Em todos os dentes deste grupo de estudo, houve desenvolvimento localizado de reabsorção superficial. Essas cavidades de reabsorção encontravam-se revestidas por cementoblastos e observava-se a formação de cimento novo, considerando-se este processo, cicatrização favorável (Figura 2.50).



**Figura 2.50**

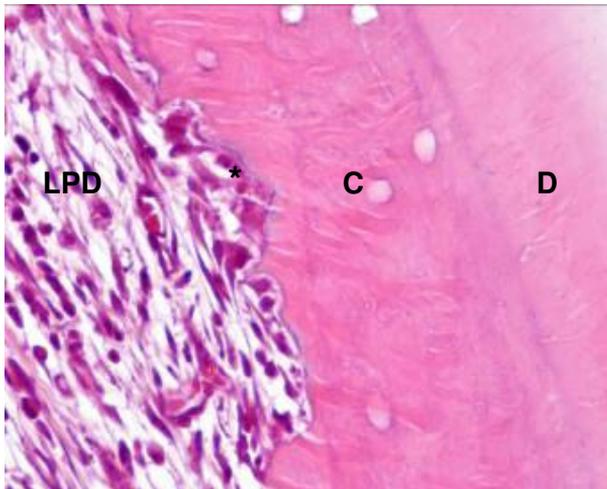
Corte de material de dente descalcificado, ao nível do ligamento periodontal (Cão1, dente 22-Grupo B2). Ligamento periodontal (LPD), com cavidade de reabsorção superficial (RSp) e formação de novo cimento. Dentina (D); Vaso (V). (HE x200, corte 60).

Em duas amostras foi possível observar um infiltrado inflamatório com PMN e linfócitos, localizado a nível do ligamento periodontal. Nesses dentes, a superfície periodontal do cimento, apresentava lacunas de reabsorção inflamatória, com células multinucleadas (cementoclastos), correspondendo assim a zonas de reabsorção inflamatória (Figura 2.51 e 2.52).



**Figura 2.51**

Corte longitudinal através do ligamento periodontal e do dente transplantado (Cão 2, dente 12 -Grupo B2). Ligamento periodontal (LPD), com infiltrado inflamatório e cavidades de reabsorção inflamatória com células multinucleadas (seta). (HE x200, corte 55).

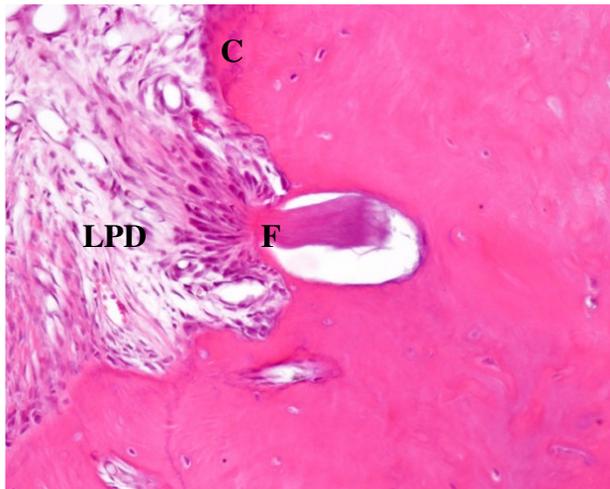


**Figura 2.52**

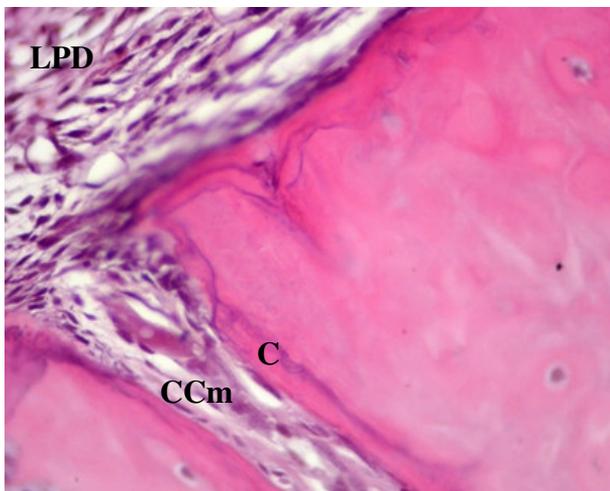
Maior ampliação da microfotografia anterior, correspondente à zona assinalada com o rectângulo. Ligamento periodontal (LPD), com infiltrado inflamatório e cavidades de reabsorção inflamatória com células multinucleadas (\*). C-cemento; D-dentina. (HE x400, corte 55).

Em dois dentes observou-se preenchimento do espaço periodontal por tecido mineralizado, correspondente a fenômenos de reabsorção de substituição ou anquilose. Num espécimen pode observar-se o tecido novo a penetrar o forâmen radicular, com

abundantes células e uma camada de cemento a revestir o canal cementário (Figura 2.53 e 2.54).



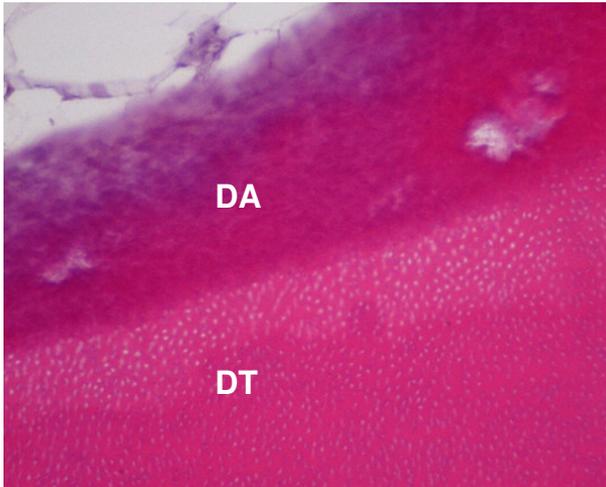
**Figura 2.53**  
Corte longitudinal do dente transplantado (Cão 3, dente 2.2-Grupo B2). Forâmén apical (F), com tecido a penetrar na polpa. Cimento (C) e ligamento periodontal (LPD). (HE x200, corte 30).



**Figura 2.54**  
Corte longitudinal do dente transplantado (Cão 3, dente 2.2-Grupo B2). Ligamento periodontal (LPD), forâmén apical, com canal cementário (CCm) e cimento (C) a revestir as paredes do canal . (HE x400, corte 40).

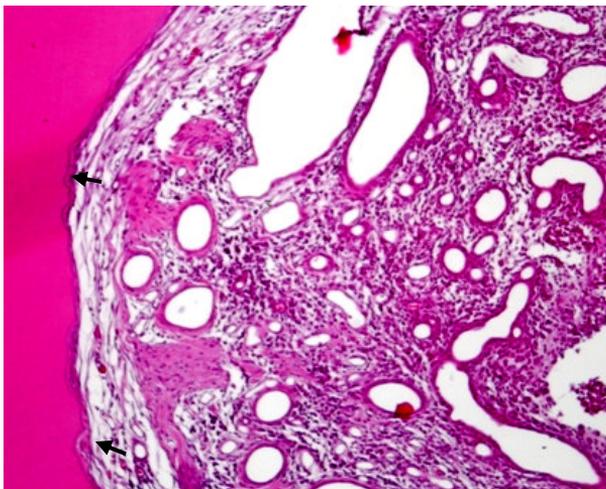
No espaço pulpar pudemos observar sinais de viabilidade celular numa amostra, tendo ocorrido inflamação em outra e necrose pulpar nos dentes restantes, deste grupo. Numa amostra, observou-se a existência de tecido do tipo osteodentina, formado no interior da cavidade pulpar; nessa amostra, a ladear a camada

de pré-dentina, havia células que poderão corresponder a odontoblastos ou células tipo odontoblasto (Figura 2.55).

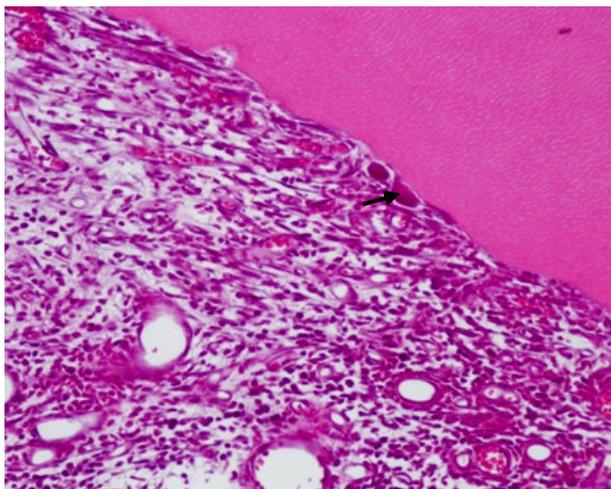


**Figura 2.55**  
Corte longitudinal do dente transplantado (Cão1, dente 22-grupo B2). Dentina amorfa (DA), formada na parede pulpar da dentina. Dentina tubular (DT). (HE x400, corte 50).

Na maioria dos dentes deste grupo B2, a superfície pulpar da dentina, apresentava-se regular. Num espécimen onde ocorreu inflamação pulpar, pôde ser observada reabsorção inflamatória na superfície dentinária da parede pulpar (Figuras 2.56 e 2.57).



**Figura 2.56**  
Corte longitudinal ao nível da polpa (Cão 1, dente 33 -Grupo B2). Polpa com infiltrado inflamatório (PMN), angiogênese e cavidades de reabsorção (setas). (HE x100, corte 30).



**Figura 2.57**  
 Pormenor da figura 2.55 - corte longitudinal ao nível da polpa coronária do dente transplantado (Cão 1, dente 33 -Grupo B2). Tecido pulpar inflamatório e cavidades de reabsorção dentinária com células tipo dentinoclastos (seta). HEX200.

Os resultados globais dos dentes pertencentes a este grupo encontram-se resumidos no quadro 2.6.

**Quadro 2.6.** Resumo das alterações pulpares e da superfície radicular dos dentes do grupo B2.

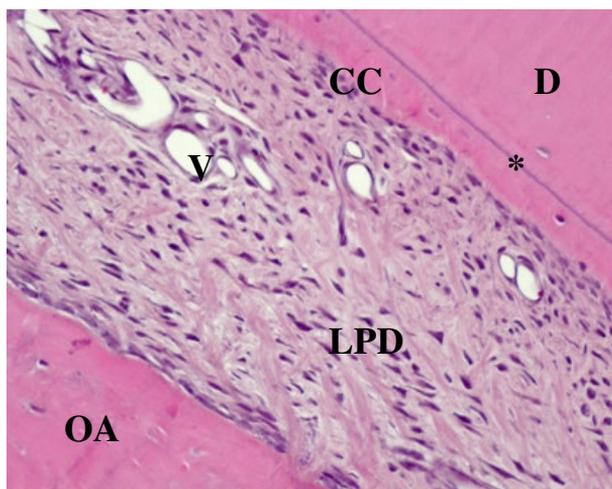
Cão. Dente	Polpa				Superfície radicular		
	I	N	O	R	RSp	RI	RSb
1.22		X			X		
1.33	X			X	X		
2.12		X			X	X	
2.43		X			X		X
3.22			X		X		
3.33		X			X	X	X

Inflamação (I); Necrose (N); Osteóide (O); Reabsorção (R); Reabsorção superficial (RSp); Reabsorção inflamatória (RI); Reabsorção de substituição (RSb).

### 3.3.1.3. Dentes transplantados com Emdogain®

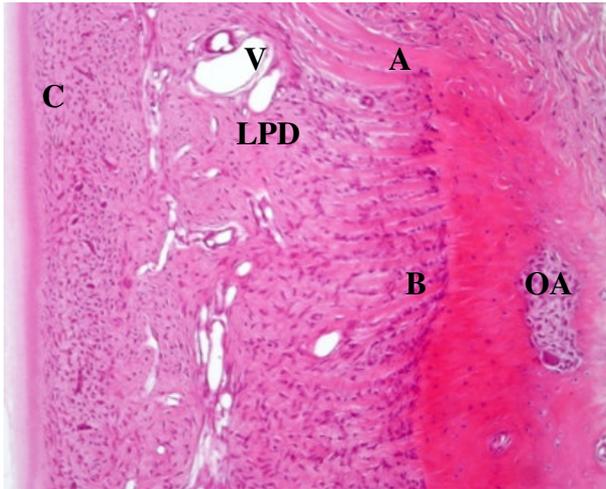
#### a) Alvéolos recém formados – grupo A1

Foram também observados cortes histológicos deste grupo, em microscópio de luz. Correspondiam aos dentes que foram transplantados imediatamente depois de ter sido criado o alvéolo e aplicado Emdogain® na superfície radicular. A região correspondente ao espaço periodontal foi restabelecida, com o ligamento periodontal a apresentar repetidamente três zonas distintas. Uma correspondendo à inserção no osso, rica em células e vasos sanguíneos, outra intermédia com fibras de colagénio e poucas células e a zona relacionada com o cimento, caracterizada por feixes mais densos de colagénio. Em algumas amostras foi possível observar uma camada que apresentava uma coloração mais intensa, separando a camada de cimento da dentina radicular, a que corresponde a camada hialina (Figura 2.58 e 2.59).



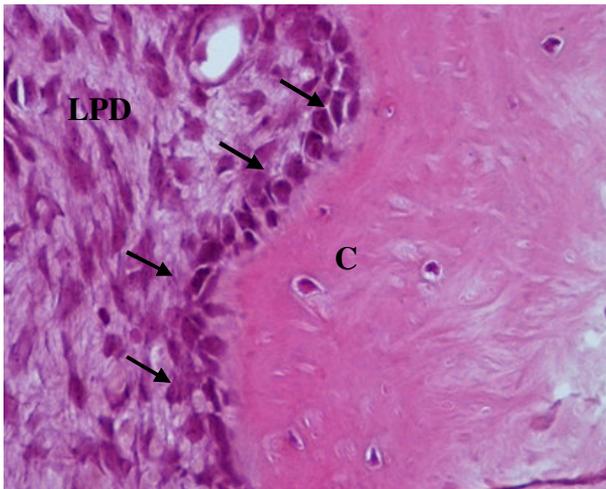
**Figura 2.58**

Corte histológico de dente descalcificado (cão 1, dente 11- Grupo A1). Feixes do LPD inseridos no osso alveolar e no cimento radicular (Setas). Interface cimento-dentina (\*); Cimento celular(CC); Dentina (D); Osso alveolar (OA); Vaso sanguíneo (V). (HE x200, corte 50).



**Figura 2.59**  
Corte longitudinal através do LPD a nível da crista alveolar, de dente descalcificado (cão 2, dente 21-Grupo A1). Observam-se feixes cristodontais (A) inseridos na crista alveolar e feixes horizontais (B), perpendiculares ao osso alveolar (OA); (C) cemento; (V) vaso sanguíneo. (HE x100 Corte 25).

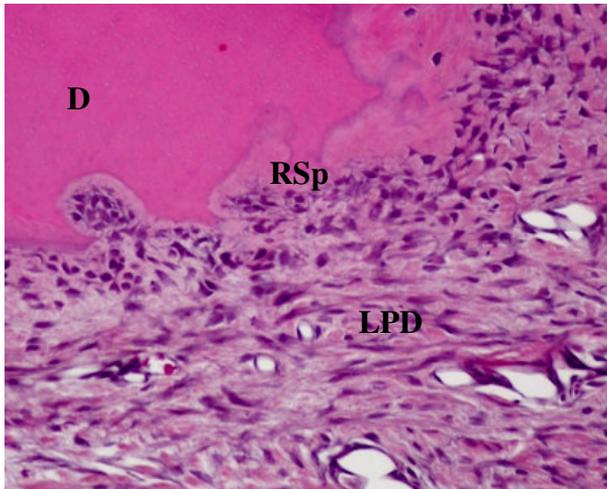
A contornar a camada de cemento foi possível observar uma quantidade abundante de células relativamente cúbicas, os cementoblastos. (Figura 2.60).



**Figura 2.60**  
Pormenor de área do ligamento periodontal (LPD) e do cemento radicular (C), com cementoblastos (setas), dispostos ordenadamente sobre a superfície radicular (cão 2, dente 21-Grupo A1). (HE x400, corte 25).

O osso alveolar, na continuidade com o ligamento periodontal, apresentava uma camada de células mononucleadas, de forma cúbica, regularmente distribuídas, correspondendo a osteoblastos.

Na maioria das amostras, foram ainda observadas lacunas no cimento radicular, correspondendo a zonas de reabsorção superficial, revestidas por nova camada de cimento (Figura 2.61).

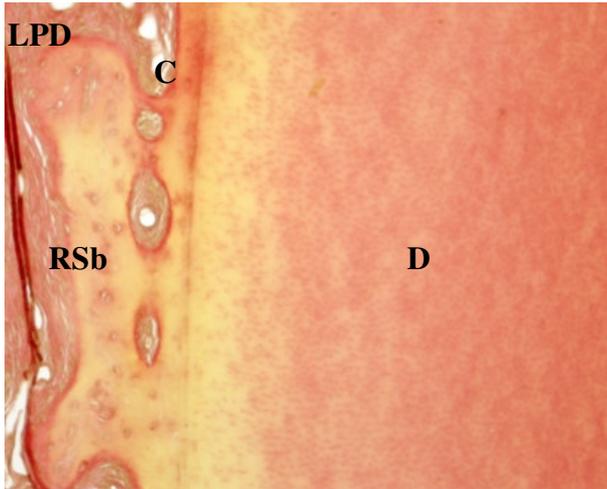


**Figura 2.61**

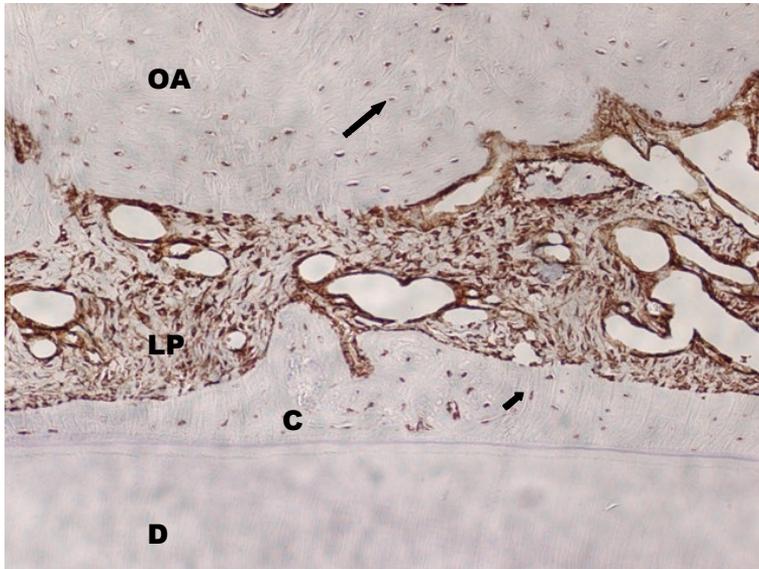
Corte longitudinal da raiz de dente transplantado (cão1, dente 11- Grupo A1). Reabsorção de superficial (RSp), Dentina (D); Ligamento periodontal (PD). (HE x200, corte 50).

Numa amostra analisada observaram-se lacunas que se estendem à dentina radicular, contendo algumas células multinucleadas, morfológicamente compatíveis com cementoclastos.

Em duas amostras estavam presentes zonas de substituição do ligamento periodontal por uma matriz osteóide, em íntima aposição à superfície radicular e correspondendo a reabsorção de substituição (Figura 2.62 e 2.63).

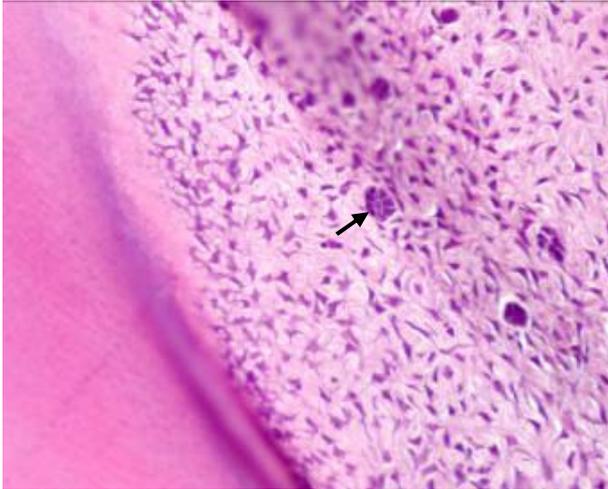


**Figura 2.62**  
Imagem de corte descalcificado do dente 11, cão 1- Grupo A1, com reabsorção de substituição por matriz osteóide (RSb); Ligamento periodontal (LPD); Dentina (D). (VG x100, corte 50).

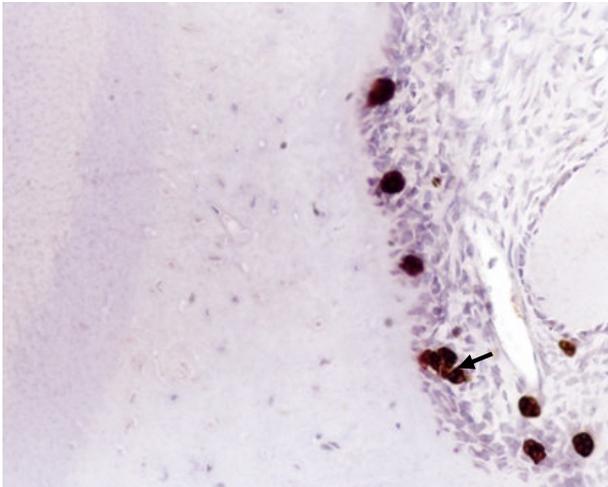


**Figura 2.63** Corte longitudinal de material descalcificado, ao nível do ligamento periodontal (LPD) (Cão 2, dente 31- Grupo A1). Osteócitos (seta longa) presentes no osso alveolar (OA) e cementócitos (seta curta) no cimento (C) apresentam uma forte expressão de vimentina, indicando a origem mesenquimatosa desses tecidos. Dentina (D). (VM x200, corte 45).

Estavam presentes fibroblastos e conjuntos de células epiteliais, correspondentes aos restos epiteliais de Malassez (Figura 2.64 e 2.65).

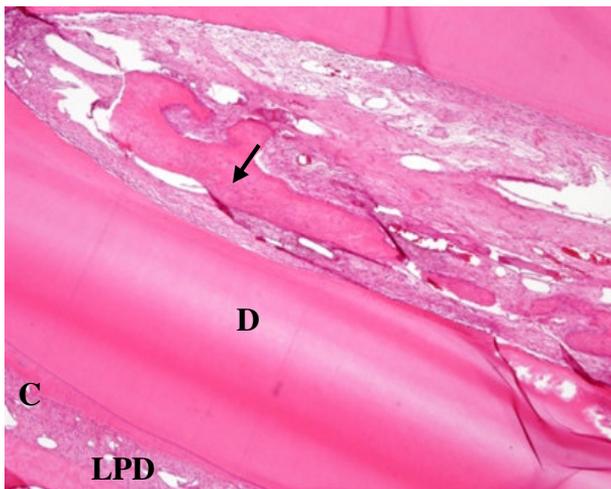


**Figura 2. 64**  
Corte descalcificado do dente 11, cão 1- Grupo A1. Restos epiteliais de Malassez (seta), junto à superfície radicular. (HE x200, corte 50).

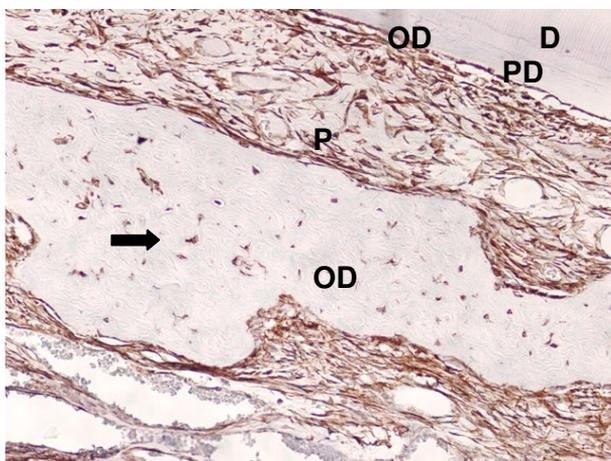


**Figura 2. 65**  
Corte do dente 21, cão 2- Grupo A1. Restos epiteliais de Malassez (seta), junto à superfície radicular, identificados com anticorpos anti-queratina. (MNF116 x200, corte 25).

No espaço da polpa dentária observou-se tecido mumificado, formado por uma combinação de matriz hialina homogênea acelular e espaços sanguíneos. Também foi possível identificar em duas amostras, células tipo osteoblasto, a recobrir a parede de dentina e um tecido ósseo metaplásico central, tipo osteodentina (Figura 2.66, 2.67 e 268).



**Figura 2.66**  
Corte longitudinal ao nível da polpa de dente transplantado (Cão 2, dente 31- Grupo A1). Polpa com matriz osteóide (seta); Dentina (D); Cimento (C); Ligamento periodontal (LPD). (HE x40, corte 30).



**Figura 2.67**  
Corte longitudinal ao nível da polpa de dente transplantado (Cão 2, dente 31- Grupo A1). Material descalcificado. Osteócitos (seta) presentes na osteodentina com forte expressão de vimentina, indicando a origem mesenquimatosa desse tecido. Polpa (P) com osteodentina (OD). Dentina (D); (PD) pré-dentina Cimento (C); (VM x200, corte 45).



**Figura 2. 68**  
Aspecto de uma região do tecido pulpar (P), com células tipo odontoblasto (seta grande), junto à camada de tecido tipo osteodentina (OD); Dentina (D). Cão 2, dente 31- Grupo A1. (VM x 100, corte 45).

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

O resumo dos resultados das observações histológicas, das alterações pulpares e das superfícies radiculares que ocorreram nos dentes transplantados, pertencentes ao grupo A1 (transplantes para alvéolos recém-formados, com aplicação de Emdogain® na superfície radicular) é apresentado no quadro 2.7.

**Quadro 2.7.** Resumo das alterações pulpares e da superfície radicular dos dentes do grupo A1.

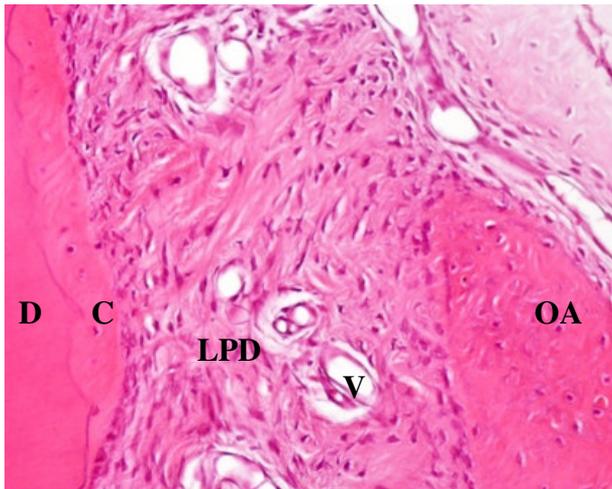
Cão. Dente	Polpa				Superfície radicular		
	I	N	O	R	RSp.	RI	RSb
1.11		X			X		X
1.41		X			X		
2.21		X			X		
2.31			X		X		X
3.11			X			X	
3.41		X			X		

Inflamação (I); Necrose (N); Osteóide (O); Reabsorção (R); Reabsorção superficial (RSp); Reabsorção inflamatória (RI); Reabsorção de substituição (RSb).

**b) Alvéolos em cicatrização – grupo B1**

Os dentes que foram transplantados para alvéolos em cicatrização, com aplicação de Emdogain® na superfície radicular e que constituíram o grupo B1, foram posteriormente processados para observação em microscopia óptica. Em todas as amostras, foi possível observar a restituição do espaço periodontal, com feixes de fibras de colagénio a unir o osso alveolar ao cimento radicular. Na região correspondente ao espaço periodontal ocorreu reposição das fibras do ligamento periodontal, com orientações distintas. O ligamento periodontal apresentava também as três zonas: uma correspondente à inserção no osso, rica em células e vasos sanguíneos, outra intermédia com fibras de colagénio e

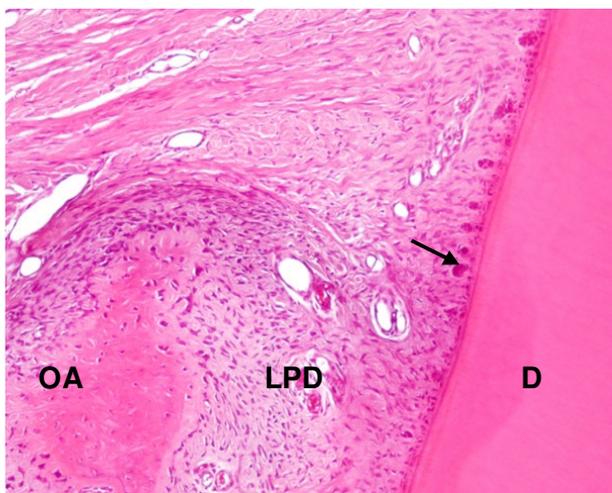
poucas células e uma zona relacionada com o cimento, caracterizada por feixes mais densos de colagénio (Figura 2.69).



**Figura 2.69**

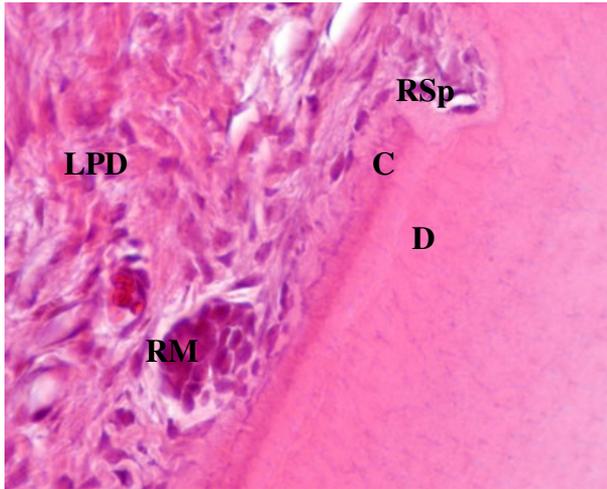
Corte histológico de dente descalcificado. (Cão 1, dente 43-Grupo B1). Observam-se feixes do LPD inseridos no osso alveolar (OA) e no cimento radicular (C); Dentina (D); (V) vaso sanguíneo. (HE x200, corte 60).

A lajear a camada de cimento podiam observar-se, além de fibroblastos, também conjuntos de células epiteliais, correspondentes aos restos epiteliais de Malassez e cavidades de reabsorção de superfície em cicatrização (Figura 2.70 e 2.71).



**Figura 2.70**

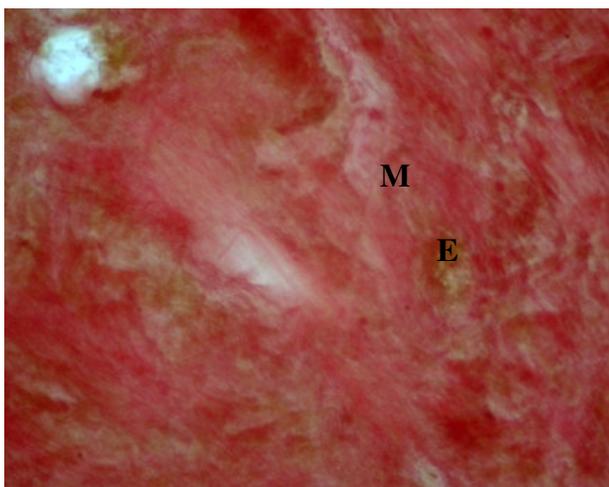
Imagem de corte longitudinal ao nível da raiz de dente transplantado. (Cão 1, dente 43- grupo B1). Identifica-se a nível do ligamento periodontal (LPD), restos epiteliais de Malassez (seta). Dentina (D); Osso alveolar (AO). (HE x200, corte 60).



**Figura 2.71**  
Imagem de corte histológico, longitudinal ao nível da raiz de dente transplantado. (Cão1, dente 12- Grupo B1). Identificam-se cavidades de reabsorção superficial (RSp), na região apical. Dentina (D); Osso alveolar (OA); Cimento (C); Ligamento periodontal (LPD); Restos de Malassez (RM). (HE x400, corte 30).

O osso alveolar apresentava variação de intensidade da matriz osteóide, o que sugere a presença de glicosaminoglicanos, correspondendo a osso jovem e zonas com reabsorção osteoclástica. Na superfície do ligamento periodontal, o osso alveolar apresentava uma camada de células mononucleadas, cubóides, regularmente distribuídas, correspondentes a osteoblastos (Figura 2.70).

Como já tinha sido observado nos dentes de controlo e no grupo A1, ao nível da polpa dentária observou-se novamente a presença de tecido conjuntivo com características de mumificação e matriz fibrilar (Figura 2.72). A superfície pulpar da dentina era regular, com ausência de cavidades de reabsorção.



**Figura 2.72**  
 Imagem de corte longitudinal ao nível da polpa de dente transplantado. (Cão 2, dente 33-Grupo B1). No interior do espaço pulpar observa-se um tecido com matriz fibrilar(M) e vasos com eritrócitos mumificados (E). (VG x400, corte 41).

No quadro 2.8, encontra-se um resumo das observações histológicas efectuadas. Podemos ver as alterações pulpares e das superfícies radiculares que ocorreram nos dentes transplantados, pertencentes ao grupo B1 (transplantes para alvéolos em cicatrização, com aplicação de Emdogain® na superfície radicular).

**Quadro 2.8:** Resumo das alterações pulpares e da superfície radicular dos dentes do grupo B1.

Cão. Dente	Polpa				Superfície radicular		
	I	N	O	R	RSp.	RI	RSb
1.12		x			x	x	
1.43			x		x		
2.22	x				x		
2.33		x			x		
3.12		x			x		
3.43		x			x		

Inflamação (I); Necrose (N); Osteóide (O); Reabsorção (R); Reabsorção superficial (RSp); Reabsorção inflamatória (RI); Reabsorção de substituição (RSb).

### **3.3.2. Histomorfometria**

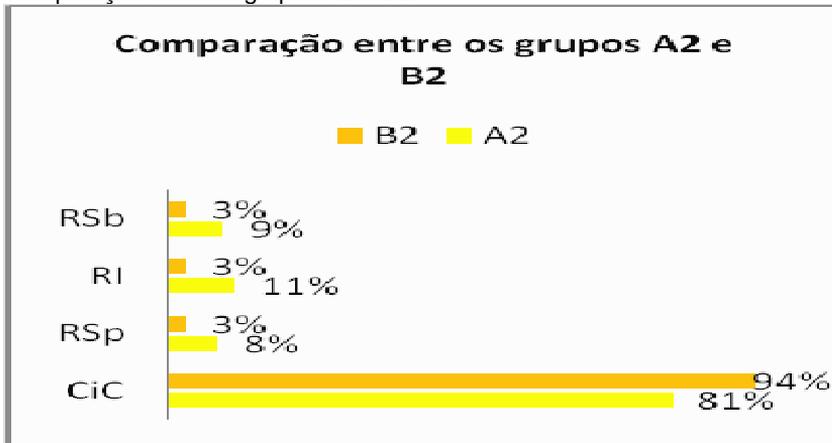
Como foi descrito no capítulo de materiais e métodos, a histomorfometria foi efectuada utilizando para o processamento, um *software* para análise de imagem, ImageJ 1.30 (Image Processing and Analysis in Java – National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA). Este programa permitiu medir o perímetro das zonas onde ocorreram os vários tipos de reabsorção e também nos casos que não sofreram qualquer alteração, para cálculos comparativos.

As dimensões avaliadas referem-se a pixels. Uma vez que o objectivo foi estabelecer uma comparação entre os grupos, optámos por não fazer a conversão de pixels para o sistema métrico.

#### **3.3.2.1. Comparação entre os grupos com SF (Grupos A2 e B2)**

No grupo de estudo A2, os valores encontrados referentes à percentagem (%) de reabsorção inflamatória, superficial e de substituição, foi superior ao do grupo B2, sem haver no entanto diferença estatisticamente significativa ( $p=0,135$ ;  $p=0,142$  e  $p=0,081$  respectivamente). Por outro lado, a % de cicatrização completa foi superior no grupo B2 (Gráfico 2.2), sem haver também diferença estatisticamente significativa ( $p=0,053$ ), (Tabela 2.2).

**Gráfico 2.2.** Alteração da superfície radicular.  
Comparação entre os grupos A2 e B2.

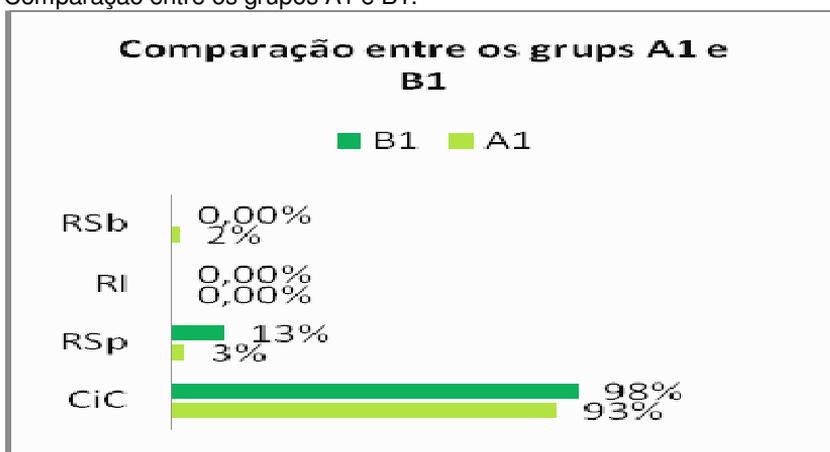


RSb-Reabsorção de substituição; RI-Reabsorção inflamatória;  
RSp-Reabsorção de superfície; CiC-Cicatrização completa.

### 3.3.2.2. Comparação entre os grupos com EMD (Grupos A1 e B1)

No grupo de estudo A1, os valores encontrados referentes à % de reabsorção de substituição, foram superiores aos do grupo B1 sem haver no entanto diferença estatisticamente significativa ( $p=0,317$ ). Por outro lado, a % de reabsorção superficial, inflamatória e de cicatrização completa foi superior no grupo B1 (Gráfico 2.3), mas sem diferença estatisticamente significativa ( $p=0,289$ ;  $p=0,317$  e  $p=0,902$  respectivamente) (Tabela 2.2).

**Gráfico 2.3.** Alteração da superfície radicular.  
Comparação entre os grupos A1 e B1.

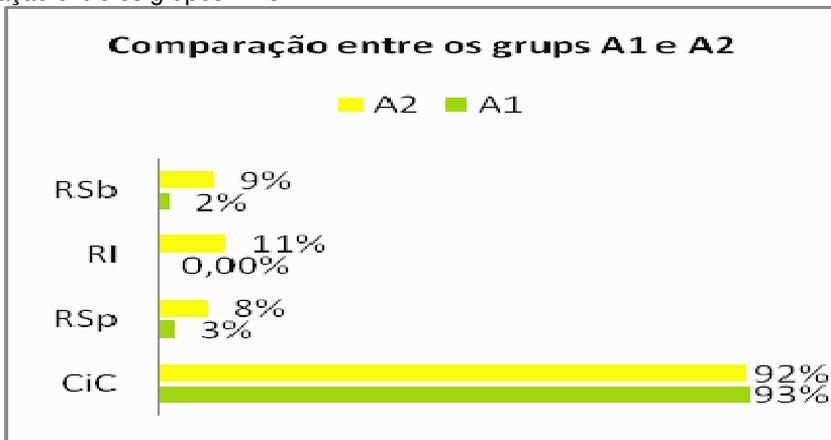


RSb-Reabsorção de substituição; RI-Reabsorção inflamatória;  
RSp-Reabsorção de superfície; CiC-Cicatrização completa.

### 3.3.2.3. Comparação entre os grupos de transplantes para alvéolos recém-criados (Grupos A1 e A2)

No grupo de estudo A2, os valores encontrados referentes à % de reabsorção de substituição e inflamatória, foram superiores aos do grupo A1, com diferença estatisticamente significativas ( $p=0,041$  e  $p=0,015$ ). Por outro lado, a % de reabsorção superficial, foi superior no grupo A2 sem diferença estatisticamente significativa ( $p=0,818$ ). A cicatrização completa foi superior no grupo A1, sem diferença estatisticamente significativa ( $p=0,3029$ ) (Gráfico 2.4), (Tabela 2.2).

**Gráfico 2.4.** Alteração da superfície radicular. Comparação entre os grupos A1 e A2.

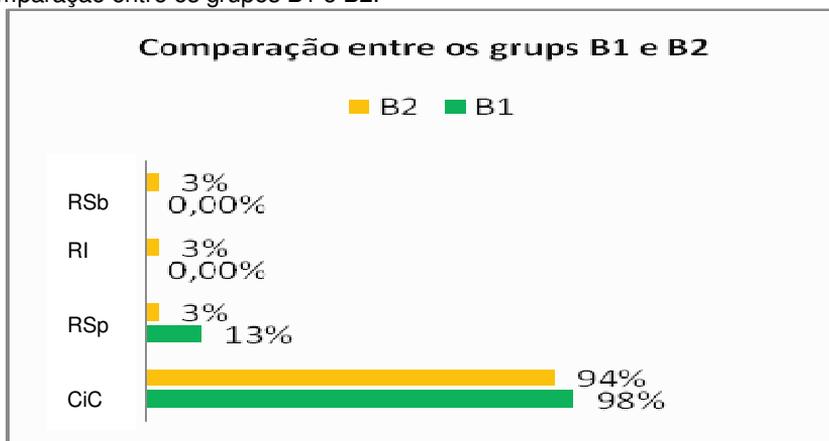


RSb-Reabsorção de substituição; RI-Reabsorção inflamatória; RSp-Reabsorção de superfície; CiC-Cicatrização completa.

**3.3.2.4. Comparação entre os grupos de transplantes para alvéolos em cicatrização (Grupos B2 e B1)**

No grupo de estudo B2, os valores encontrados referentes à % de reabsorção de substituição e inflamatória, foram superiores aos do grupo B1, sem haver no entanto diferenças estatisticamente significativas ( $p=0,140$  e  $p=0,528$  respectivamente). Por outro lado, a % de reabsorção superficial, e de cicatrização completa foi superior no grupo B1, em relação aos do grupo B2 (Gráfico 2.5), sem haver também diferença estatisticamente significativa ( $p=0,081$  e  $p=0,216$ ) (Tabela 2.2).

**Gráfico 2.5.** Alteração da superfície radicular. Comparação entre os grupos B1 e B2.



RSb-Reabsorção de substituição; RI-Reabsorção inflamatória; RSp-Reabsorção de superfície; CiC-Cicatrização completa.

**Tabela 2.2.** Valores-p, na comparação dos diversos parâmetros na cicatrização pulpar e radicular, consoante a técnica e o material utilizado.

	A1 vs A2	A1 vs B1	A2 vs B2	B1 vs B2
CiC	0.3029	0.902	0.053	0.216
RSp	0.818	0.289	0.142	0.081
RI	<b>0.015</b>	0.317	0.135	0.528
RSb	<b>0.041</b>	0.317	0.081	0.140
IPulp	0.699	0.317	0.523	0.523

Cicatrização completa (CiC); reabsorção de substituição (RSb); reabsorção superficial (RSp); reabsorção inflamatória (RI); inflamação pulpar (IPulp).

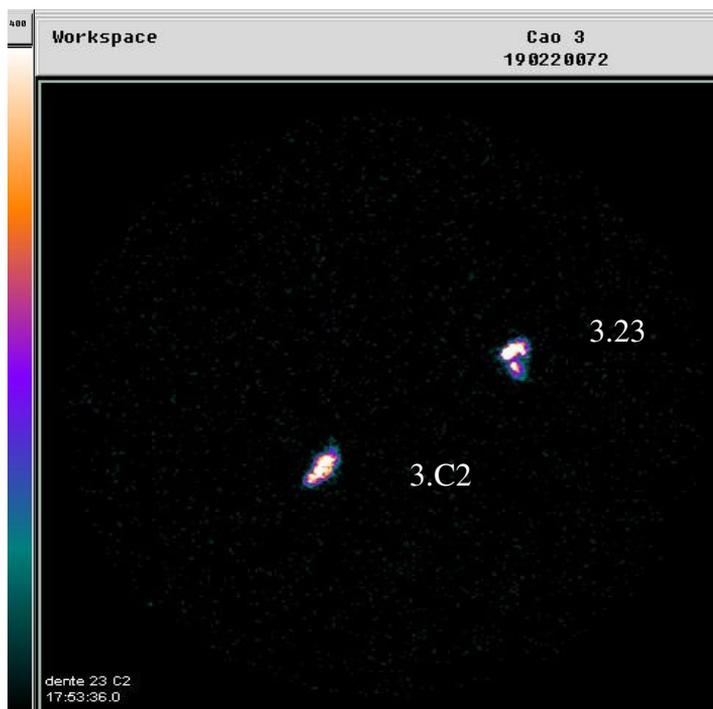
## 3.4. AMOSTRAS CALCIFICADAS

### 3.4.1. Estudos funcionais com radiofármacos

O cálculo da % da actividade administrada de  $^{99m}\text{Tc-HMDP}$  por grama de tecido, nos dentes experimentais e de controlo, correspondentes aos animais 4, 5 e 6, através da contagem em contador de poço e na câmara gama, permitiu inferir sobre a biodistribuição do radiofármaco a nível dentário (Figura 2.73).

### 3.4.1.1. Dentes não transplantados

Os dentes que não foram transplantados, apresentaram uma percentagem da actividade administrada de radiofármaco por grama de tecido (%AD/g), correspondente a  $0,0081 \pm 0,0028$  (Med  $\pm$  DP) (Gráfico 2.6).



**Figura 2.73**

Imagem dos dentes 23 e C2, do cão 3, que não foram transplantados (controles negativos), 4 horas após a injeção de  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP.

### 3.4.1.2. Dentes transplantados com soro fisiológico

#### 3.4.1.2.1. Alvéolos recém-formados – grupo A2

Os dentes transplantados com soro fisiológico, para alvéolos recém-formados, apresentaram uma percentagem da actividade administrada de radiofármaco por grama de tecido (%AD/g), semelhante à do grupo de controlo negativo, correspondendo a  $0,0082 \text{ %AD/g} \pm 0,0040$  (Med  $\pm$  DP) (Gráfico 2.6).

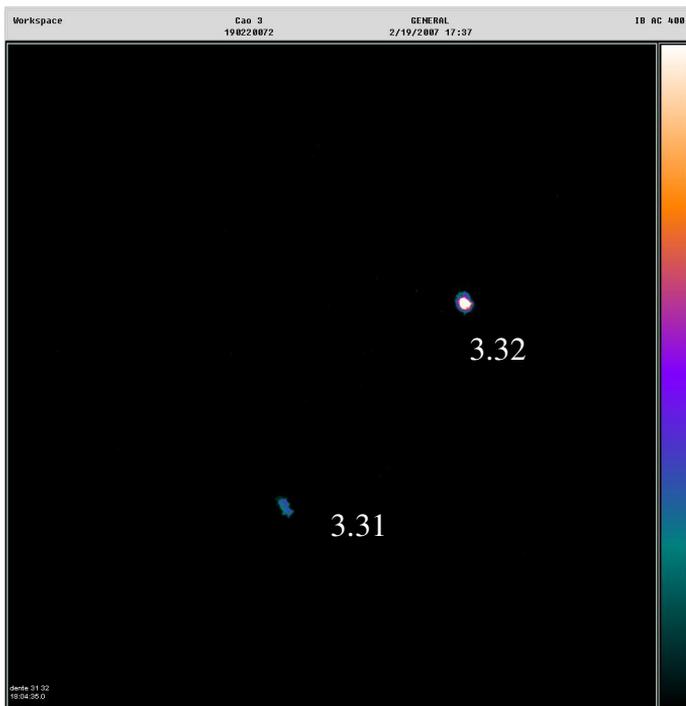
#### **3.4.1.2.2. Alvéolos em cicatrização – grupo B2**

Os dentes transplantados com soro fisiológico, para alvéolos em cicatrização, apresentaram uma percentagem da actividade administrada de radiofármaco por grama de tecido, inferior à dos dentes do grupo A2, correspondendo a  $0,0064 \%AD/g \pm 0,0014$  (Med  $\pm$  DP) (Gráfico 2.6).

#### **3.4.1.3. Dentes transplantados com Emdogain®**

##### **3.4.1.3.1. Alvéolos recém formados – grupo A1**

Os dentes transplantados com Emdogain®, para alvéolos recém-formados, apresentaram uma percentagem da actividade administrada de radiofármaco por grama de tecido semelhante à do grupo de controlo negativo, correspondendo a  $0,0080 \%AD/g \pm 0,0030$  (Med  $\pm$  DP) (Figura 2.74 e Gráfico 2.6).



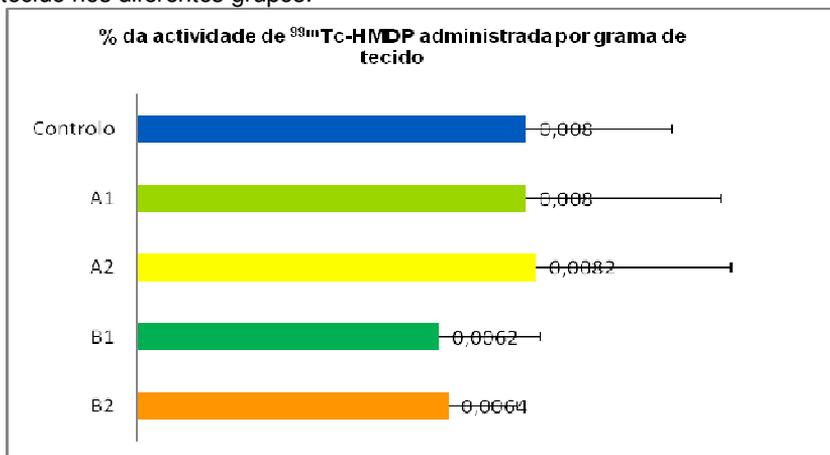
**Figura 2.74**

Imagem dos dentes 3.31 onde se usou a técnica A2 e o dente 3.32 que funciona como controlo negativo, 4 horas após a injeção de  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP.

### 3.4.1.3.2. Alvéolos em cicatrização – grupo B1

Os dentes transplantados com Emdogain®, para alvéolos em cicatrização, apresentaram uma percentagem da actividade administrada de radiofármaco por grama de tecido, correspondente a  $0,0062$  (%AD/g)  $\pm$   $0,0020$  (Med  $\pm$  DP). Este valor é inferior ao dos grupos correspondentes aos transplantes para alvéolos recém-criados e próximo do apresentado pelos dentes do grupo B2 (Gráfico 2.6).

**Gráfico 2.6.** Percentagem da actividade administrada de radiofármaco por grama de tecido nos diferentes grupos.

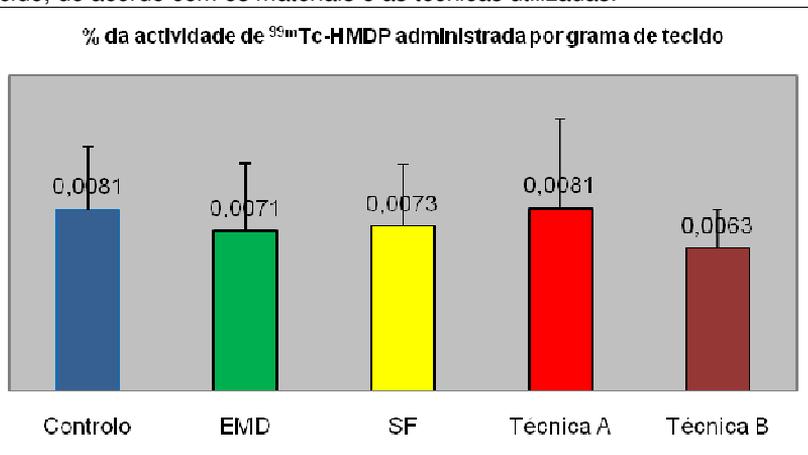


A1-alvéolo recém-criado e aplicação de EMD; A2-alvéolo recém-criado e aplicação de SF; B1-alvéolo em cicatrização e aplicação de EMD; B2-alvéolo em cicatrização e aplicação de SF.

#### 3.4.1.4. Comparação entre as técnicas e os materiais

No gráfico 2.7 encontram-se os valores da percentagem de actividade administrada de radiofármaco por grama de tecido, de acordo com os materiais e as técnicas utilizadas.

**Gráfico 2.7.** Percentagem da actividade administrada de radiofármaco por grama de tecido, de acordo com os materiais e as técnicas utilizadas.



Técnica A - transplantes para alvéolos recém-criados; Técnica B – transplantes para alvéolos em cicatrização; EMD- Emdogain®; SF- soro fisiológico.

Da análise estatística foi possível verificar que não existe diferença estatisticamente significativa, consoante a técnica utilizada, o material ou entre a técnica/material com os controlos, uma vez que todos os valores-p encontrados são superiores a 0,05 (Tabela 2.3).

**Tabela 2.3.** Valores-p, na comparação do coeficiente de captação de radiofármaco, consoante a técnica utilizada, o material ou entre a técnica/material com os controlos.

Técnica / material				Controlo vs transplantes			
A1vsA2	A1vsB1	A2vsB2	B1vsB2	A1	A2	B1	B2
p=0,715	p=0,200	p=0,464	p=0,748	p=0,356	p=0,713	p=0,329	p=0,157

A1-alvéolo recém-criado e aplicação de EMD; A2-alvéolo recém-criado e aplicação de SF; B1-alvéolo em cicatrização e aplicação de EMD; B2-alvéolo em cicatrização e aplicação de SF.

### 3.4.2. Quantificação com *Polimerase Chain Reaction* através da transcriptase reversa (*RT-PCR*)

A quantificação da expressão de ácido ribonucleico mensageiro (ARNm) da fosfatase alcalina (ALP), do factor básico de crescimento dos fibroblastos (bFGF), do ligando do receptor nuclear K (RANKL) e do factor de crescimento vascular endotelial (VEGF) foi feita através de *RT-PCR* em tempo real como já descrito. A quantificação foi efectuada no tecido do ligamento periodontal e da polpa, ao nível dos terços apical e cervical, para se avaliar a actividade dos osteoblastos, dos osteoclastos e dos odontoblastos, na cicatrização do complexo cimento-ligamento periodontal-osso alveolar e da revascularização pulpar.

Como referido nos materiais e métodos, a curva de dissociação para cada gene pesquisado foi feita depois da amplificação, para garantir que o sinal detectado era apenas referente ao produto de PCR específico e não resultante da formação de dímeros de

*primers*. Procedeu-se sempre à dissociação dos fragmentos amplificados e à análise dos picos da curva de dissociação, uma vez que obtivemos sempre apenas um pico por gene e com a  $T_m$  esperada.

Das amostras de tecido recolhido, houve algumas em que a quantificação por PCR não funcionou e outras em que não foi possível efectuar a extracção de ARN. Porém, a extracção de ARN foi possível, fundamentalmente ao nível do tecido do ligamento periodontal.

#### **3.4.2.1. Dentes não transplantados (controlo negativo)**

Os genes pesquisados nos dentes de controlo, considerados como genes alvo, foram utilizados como controlo endógeno. Foi assim utilizado como calibrador, a quantificação relativa (QR), da média dos controlos, considerada como  $QR = 1$ .

#### **3.4.2.2. Dentes transplantados com soro fisiológico**

##### **3.4.2.2.1. Alvéolos recém formados – grupo A2**

###### **a) RT-PCR no ligamento periodontal**

###### **ARNm da ALP no LPD**

A nível do ligamento periodontal estes dentes apresentaram uma quantidade relativa média de expressão do ARNm, para a fosfatase alcalina correspondente a  $0,59 \pm 0,46$  (Med  $\pm$  DP). Este valor foi variável de dente para dente, variando desde o valor mínimo de 0,03 ao máximo de 1,32 (Gráfico 2.8).

### **ARNm do FGF no LPD**

A nível do tecido do ligamento periodontal foi possível quantificar a expressão de ARNm, para o FGF correspondente a um valor médio de  $0,72 \pm 0,66$  (Med  $\pm$  DP). Este valor foi variável de dente para dente, variando desde o valor mínimo de 0,08 ao máximo de 2,31 (Gráfico 2.9).

### **ARNm do RANKL no LPD**

Nos dentes do grupo A2, foi possível quantificar no ligamento periodontal a expressão de ARNm, para o RANKL correspondentes a um valor médio de  $0,35 \pm 0,40$  (Med  $\pm$  DP).

### ***b) RT-PCR no tecido pulpar***

#### **ARNm da ALP na polpa**

A nível do tecido pulpar os dentes do grupo A2 apresentavam uma quantidade relativa de expressão do ARNm, para a fosfatase alcalina correspondente a  $4,4 \pm 4,6$  (Med  $\pm$  DP). Este valor foi variável de dente para dente, desde o valor mínimo de 0,58 ao máximo de 11,64.

#### **ARNm do FGF na polpa**

A nível do tecido pulpar os dentes do grupo A2 apresentavam uma quantidade relativa de expressão do ARNm, para o FGF correspondente a  $0,69 \pm 0,47$  (Med  $\pm$  DP). Este valor foi variável de dente para dente, desde o valor mínimo de 0,21 ao máximo de 1,5.

#### **ARNm do VEGF na polpa**

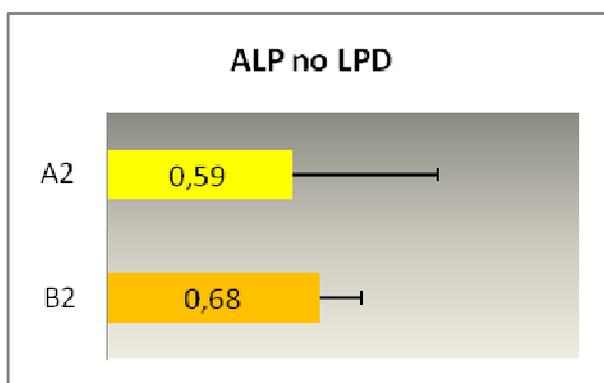
Nos dentes do grupo A2, foi possível quantificar no tecido pulpar a expressão de ARNm, para o VEGF correspondente a um valor médio de  $1,26 \pm 0,94$  (Med  $\pm$  DP).

### 3.4.2.2.2. Alvéolos em cicatrização – grupo B2

#### a) RT-PCR no ligamento periodontal

##### ARNm da ALP no LPD

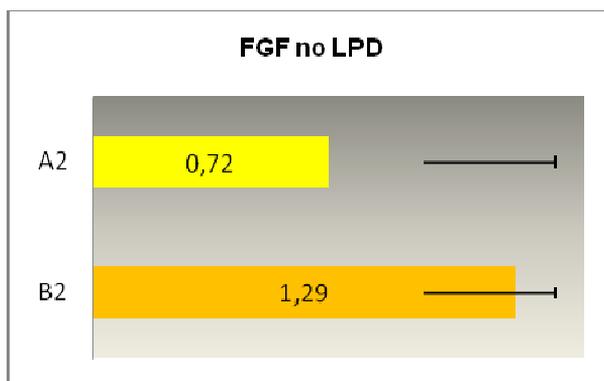
A nível do ligamento periodontal estes dentes apresentaram uma quantidade relativa de expressão do ARNm, para a fosfatase alcalina correspondente a  $0,68 \pm 0,13$  (Med  $\pm$  DP). Este valor foi variável de dente para dente, com o valor mínimo de 0,48 e o máximo de 0,77 (Gráfico 2.8).



**Gráfico 2.8**  
Expressão relativa de ARNm, para a ALP a nível do ligamento periodontal. Comparação entre os dentes dos grupos A2 e B2.

##### ARNm do FGF no LPD

No tecido do ligamento periodontal foi possível quantificar o nível de expressão de ARNm, para o FGF correspondente a um valor de  $1,29 \pm 0,98$  (Med  $\pm$  DP). Este valor foi variável de dente para dente, variando desde o valor mínimo de 0,24 ao máximo de 2,43 (Gráfico 2.9).



**Gráfico 2.9**  
Expressão relativa de ARNm, para o FGF a nível do ligamento periodontal. Comparação entre os dos grupos A2 e B2.

### **b) RT-PCR no tecido pulpar**

#### **ARNm da ALP na polpa**

A nível do tecido pulpar, nos dentes do grupo B2, apenas foi possível quantificar a expressão do ARNm, para a fosfatase alcalina, numa amostra, a que correspondeu o valor de  $1,47 \pm 0,20$  (Med  $\pm$  DP).

#### **ARNm do FGF na polpa**

Nos dentes do grupo B2, a nível do tecido pulpar, foi possível quantificar a expressão do ARNm, para o FGF, apenas numa amostra, a que correspondeu o valor de  $0,67 \pm 0,88$  (Med  $\pm$  DP).

#### **ARNm do VEGF na polpa**

Nos dentes do grupo B2, foi possível quantificar no tecido pulpar a expressão de ARNm, para o VEGF apenas numa amostra correspondente a um valor de  $0,53 \pm 0,13$  (Med  $\pm$  DP).

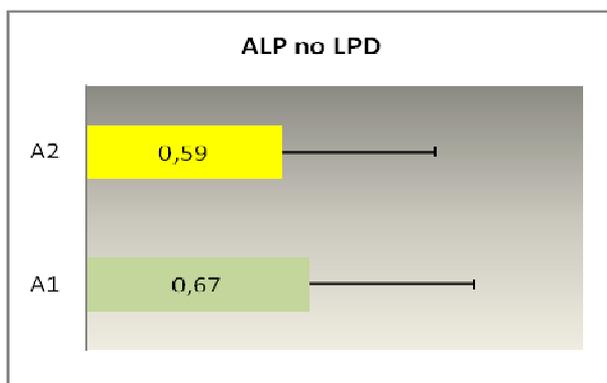
### 3.4.3.3. Dentes transplantados com Emdogain®

#### 3.4.3.3.1. Alvéolos recém formados – grupo A1

##### a) RT-PCR no ligamento periodontal

#### ARNm da ALP no LPD

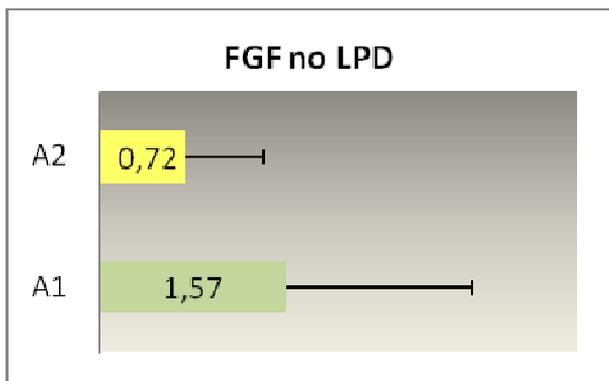
A nível do ligamento periodontal estes dentes apresentaram uma quantidade relativa de expressão do ARNm, para a fosfatase alcalina correspondente a  $0,67 \pm 0,50$  (Med  $\pm$  DP). Este valor foi variável de dente para dente, variando desde o valor mínimo de 0,01 ao máximo de 1,42 (Gráfico 2.10).



**Gráfico 2.10**  
Expressão relativa de ARNm, da ALP a nível do ligamento periodontal. Comparação entre os dos grupos A1 e A2.

#### ARNm do FGF no LPD

A nível do ligamento periodontal foi possível quantificar o nível de expressão de ARNm, para o FGF correspondente a um valor médio de  $1,57 \pm 1,56$  (Med  $\pm$  DP). Este valor foi variável de dente para dente, variando desde o valor mínimo de 0,23 ao máximo de 4,03. (Gráfico 2.11).



**Gráfico 2.11**  
Expressão relativa de ARNm do FGF a nível do ligamento periodontal. Comparação entre os grupos A1 e A2.

**ARNm do RANKL no LPD**

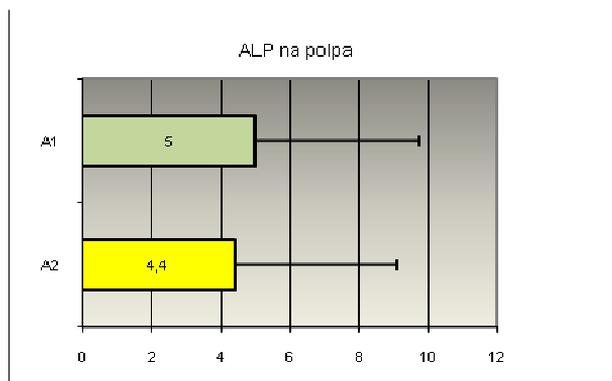
Nos dentes do grupo A1, foi possível quantificar no ligamento periodontal a expressão de ARNm, para o RANKL em apenas uma amostra, correspondente a um valor de  $5,18 \pm 3,22$  (Med  $\pm$  DP).

**b) RT-PCR no tecido pulpar**

**ARNm da ALP na polpa**

A nível da polpa a expressão de ARNm, para a ALP correspondeu ao valor médio de  $5 \pm 4,7$  (Med  $\pm$  DP).

Nos dentes do grupo A1 ocorreu maior expressão do gene para a ALP do que nos dentes do grupo A2 (Gráfico 2.12).



**Gráfico 2.12**  
Expressão relativa de ARNm, da ALP a nível da polpa. Comparação entre os grupos A2 e A1.

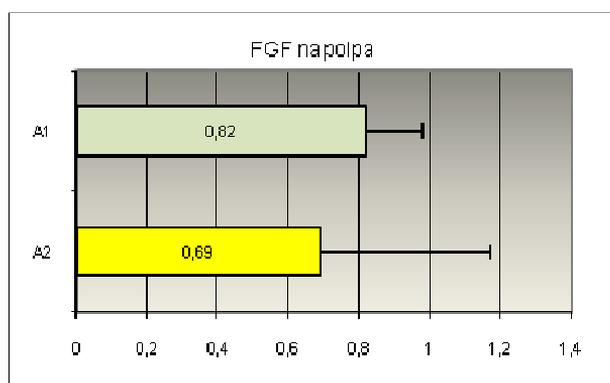
### ARNm do FGF na polpa

A nível do tecido pulpar, nos dentes do grupo A1, a expressão do ARNm, para o FGF, foi de  $0,82 \pm 0,15$  (Med  $\pm$  DP).

Nos dentes do grupo A1 ocorreu maior expressão do gene para ao FGF do que no grupo A2 (Gráfico 2.13).

### ARNm do VEGF na polpa

Nos dentes do grupo A1, foi possível quantificar no tecido pulpar a expressão de ARNm, para o VEGF, correspondente a um valor de  $0,91 \pm 0,67$  (Med  $\pm$  DP).



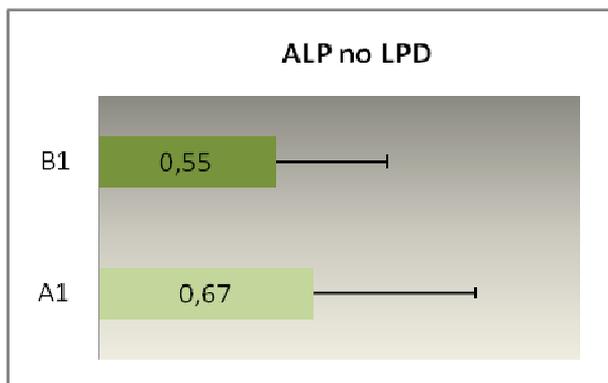
**Gráfico 2.13**  
Expressão relativa de ARNm, do FGF a nível da polpa. Comparação entre os dentes dos grupos A2 e A1.

### 3.4.3.3.2. Alvéolos em cicatrização – grupo B1

#### a) RT-PCR no ligamento periodontal

#### ARNm da ALP no LPD

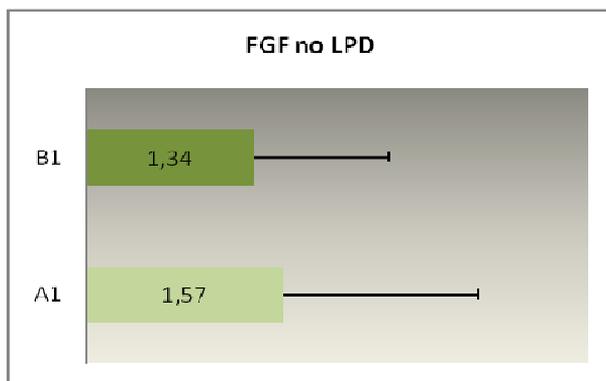
A nível do ligamento periodontal, os dentes do grupo B1, apresentaram uma quantidade relativa de expressão do ARNm, para a fosfatase alcalina correspondente a  $0,55 \pm 0,35$  (Med  $\pm$  DP). Este valor foi variável de dente para dente, com o valor mínimo de 0,17 e o máximo de 1,36 (Gráfico 2.14).

**Gráfico 2.14**

Expressão relativa de ARNm, para o ALP a nível do ligamento periodontal. Comparação entre os dentes dos grupos A1

### ARNm do FGF no LPD

A nível do ligamento periodontal dos dentes do grupo B1, foi possível quantificar o nível de expressão expressão relativa de ARNm, para o FGF, a que correspondeu um valor médio de  $1,34 \pm 1,07$  (Med  $\pm$  DP). Este valor foi variável de dente para dente, desde o valor mínimo de 0,17 ao máximo de 3,05. (Gráfico 2.15).

**Gráfico 2.15**

Expressão relativa de ARNm do FGF a nível do ligamento periodontal nos dentes dos grupos A1 e B1.

### ARNm do RANKL no LPD

Nos dentes do grupo B1, foi possível quantificar no ligamento periodontal a expressão de ARNm para o RANKL, correspondente a um valor médio de  $1,47 \pm 0,57$  (Med  $\pm$  DP).

**b) RT-PCR no tecido pulpar**

**ARNm da ALP na polpa**

A nível do tecido pulpar, nos dentes do grupo B1, só foi possível obter numa amostra, o nível de expressão de ARNm para a ALP, a que corresponde o valor de  $0,77 \pm 0,13$  (Med  $\pm$  DP).

**ARNm do FGF na polpa**

A nível do tecido pulpar, nos dentes do grupo B1, só foi possível quantificar a expressão do ARNm, para o FGF, numa amostra cujo valor foi de  $0,66 \pm 0,16$  (Med  $\pm$  DP).

**ARNm do VEGF na polpa**

Nos dentes do grupo B1, foi possível quantificar no tecido pulpar a expressão de ARNm, para o VEGF apenas numa amostra correspondente a um valor de  $0,37 \pm 0,18$  (Med  $\pm$  DP).

**3.4.3.3. Comparação entre os grupos, da expressão da ALP e do FGF no LPD e na polpa**

Para as comparações entre os grupos A1/A2, A1/B1, A2/B2 e B1/B2 foi utilizado o teste de Mann-Whitney. Verifica-se que apenas existe diferença estatisticamente significativa entre os grupos A e B, com o material 1, para a fosfatase alcalina (ALP) no ligamento apical ( $p=0,020$ ). Nos restantes casos, a técnica utilizada (A ou B), ou o material utilizado (1 ou 2) não permitem diferenciar os valores (Tabela 2.4).

Para o factor de crescimento dos fibroblastos (FGF) no LPD, não existe diferença estatisticamente significativa, entre as técnicas e os produtos utilizados (Tabela 2.4).

Para o FGF e ALP no tecido pulpar, não se verificam diferenças

estatisticamente diferentes (Tabela 2.5).

**Tabela 2.4.** Comparação da expressão do RNA<sub>m</sub> da ALP e do FGF no ligamento periodontal, consoante a técnica e o material utilizado (Valores-p).

		FGF	ALP
LC	A1 vs A2	0.624	0.624
	A1 vs B1	0.327	0.539
	A2 vs B2	0.245	0.699
	A2 vs B2	0.699	0.699
LA	A1 vs A2	0.773	0.157
	A1 vs B1	0.394	<b>0.020</b>
	A2 vs B2	1.000	0.355
	A2 vs B2	0.505	0.402

Ligamento apical (LA); ligamento cervical (LC); fosfatase alcalina (ALP); factor de crescimento dos fibroblastos (FGF). A1-alvéolo recém-criado e aplicação de EMD; A2-alvéolo recém-criado e aplicação de SF; B1-alvéolo em cicatrização e aplicação de EMD; B2-alvéolo em cicatrização e aplicação de SF.

**Tabela 2.5.** Comparação da expressão do RNAm da ALP e do FGF no tecido pulpar, consoante a técnica e o material utilizado (Valores-p).

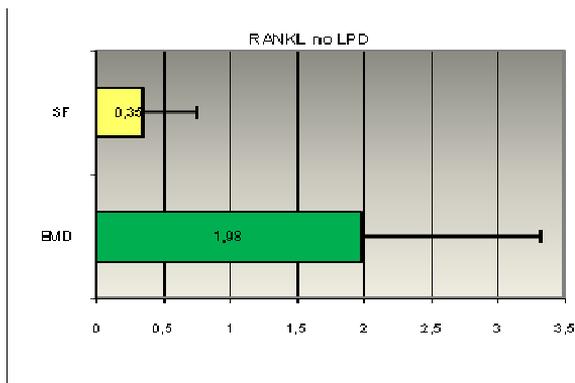
		FGF	ALP
PA	A1 vs A2	0.564	1.000
	A1 vs B1	0.221	1.000
	A2 vs B2	-	-
	A2 vs B2	-	-
PC	A1 vs A2	0.655	0.655
	A1 vs B1	-	-
	A2 vs B2	0.180	0.655
	A2 vs B2	-	-

Polpa apical (PA); polpa cervical (PC); fosfatase alcalina (ALP); factor de crescimento dos fibroblastos (FGF). A1-alvéolo recém-criado e aplicação de EMD; A2-alvéolo recém-criado e aplicação de SF; B1-alvéolo em cicatrização e aplicação de EMD; B2-alvéolo em cicatrização e aplicação de SF.

#### **3.4.3.4. Expressão de RANKL no ligamento periodontal. Comparação entre os dentes transplantados com EMD e com SF**

Nos dentes em que foi utilizado Emdogain®, foi possível quantificar no ligamento periodontal a expressão de RNAm, para o RANKL, correspondente a um valor médio de  $1,98 \pm 1,34$  (Med  $\pm$  DP).

Nos dentes em que foi utilizado soro fisiológico, foi possível quantificar no ligamento periodontal a expressão de RNAm, para o RANKL, correspondente a um valor médio de  $0,35 \pm 0,40$  (Med  $\pm$  DP) (Gráfico 2.16).

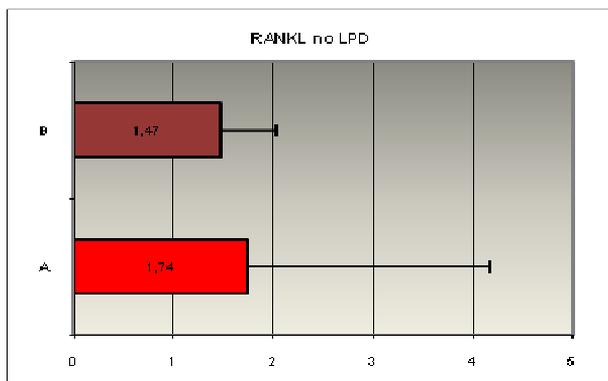


**Gráfico 2.16**  
Expressão relativa de ARNm do RANKL a nível do ligamento periodontal nos dentes transplantados com EMD e SF.

### 3.4.3.5. Expressão de RANKL no ligamento periodontal. Comparação entre os dentes transplantados pela técnica A e B

Nos dentes em que foi utilizada a técnica cirúrgica A (transplantes de dentes para alvéolos recém formados), foi possível quantificar no ligamento periodontal, a expressão de ARNm do RANKL, correspondente a um valor médio de  $1,74 \pm 2,43$  (Med  $\pm$  DP).

Nos dentes em que foi utilizada a técnica cirúrgica B (transplantes de dentes para alvéolos em cicatrização), foi possível quantificar no ligamento periodontal, a expressão de ARNm do RANKL, correspondente a um valor médio de  $1,47 \pm 0,57$  (Med  $\pm$  DP) (Gráfico 2.17).

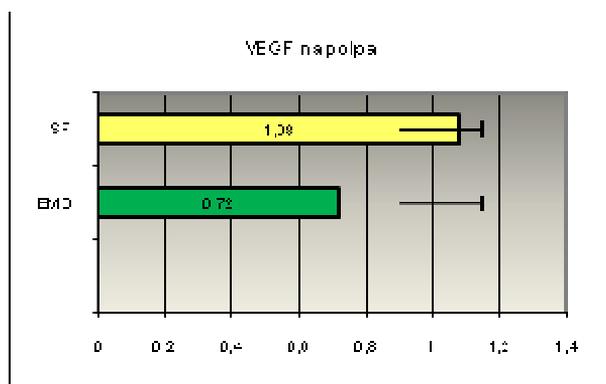


**Gráfico 2.17**  
Expressão relativa de ARNm do RANKL a nível do ligamento periodontal nos dentes transplantados pela técnica A e B.

### 3.4.3.6. Expressão de VEGF no tecido pulpar. Comparação entre os dentes transplantados com EMD e SF

Nos dentes em que foi utilizado Emdogain®, foi possível quantificar no tecido pulpar a expressão de ARNm, para o VEGF, correspondente a um valor médio de  $0,72 \pm 0,58$  (Med  $\pm$  DP).

Nos dentes em que foi utilizado soro fisiológico, foi possível quantificar no tecido pulpar a expressão de ARNm, para o VEGF, correspondente a um valor médio de  $1,08 \pm 0,85$  (Med  $\pm$  DP) (Gráfico 2.18).

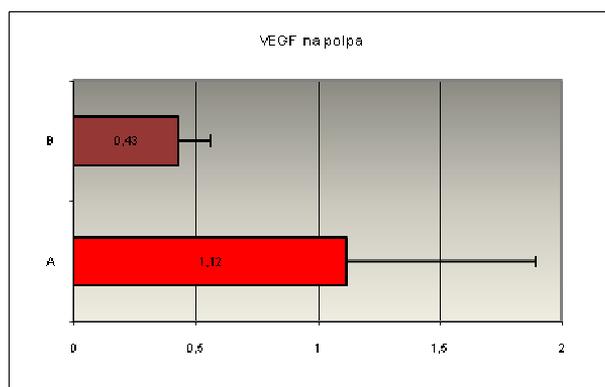


**Gráfico 2.18**  
Expressão relativa de ARNm do VEGF a nível do tecido pulpar dos dentes transplantados com EMD e SF.

### 3.4.3.7. Expressão de VEGF no tecido pulpar. Comparação entre os dentes transplantados pela técnica A e B

Nos dentes em que foi utilizada a técnica cirúrgica A (transplantes de dentes para alvéolos recém formados), foi possível quantificar no tecido pulpar, a expressão de ARNm do VEGF, correspondente a um valor médio de  $1,12 \pm 0,77$  (Med  $\pm$  DP).

Nos dentes em que foi utilizada a técnica cirúrgica B (transplantes de dentes para alvéolos em cicatrização), foi possível quantificar no tecido pulpar, a expressão de ARNm do VEGF, correspondente a um valor médio de  $0,43 \pm 0,13$  (Med  $\pm$  DP) (Gráfico 2.19).



**Gráfico 2.19**  
Expressão relativa de ARNm do VEGF a nível do tecido pulpar dos dentes transplantados pela técnica A e B.

#### 3.4.4. Observação com microscópio de fluorescência

A injeção intravital por via subcutânea de fluorocromos, *xilenol orange*, calceína e oxitetraciclina em três fases distintas, (antes dos transplantes, três semanas depois e 24 horas antes da eutanásia), e as secções verticais, executadas em sentido vestibulo-lingual, (VL), permitiram demonstrar cronologicamente os acontecimentos da fisiologia pulpar, que ocorreram durante o período experimental, na formação de dentina.

A imagem foi captada através de um microscópio óptico Nikon Eclipse 80i, acoplado a uma câmara digital Nikon DXm 1200C, com ampliação constante x100. Para visualização dos fluorocromos foram utilizados os filtros G2A para ao *xilenol orange* (excitação 510 a 560 nm), o B2A para a calceína (excitação 450 a 490 nm) e o UV2A para a oxitetraciclina (excitação 330 a 380 nm).

As imagens foram analisadas pelo mesmo operador, depois de realizada uma calibração intra-examinador.

As dimensões avaliadas referem-se a pixels. Uma vez que o objectivo foi estabelecer uma comparação entre os grupos, optámos por não fazer a conversão de pixels para o sistema métrico.

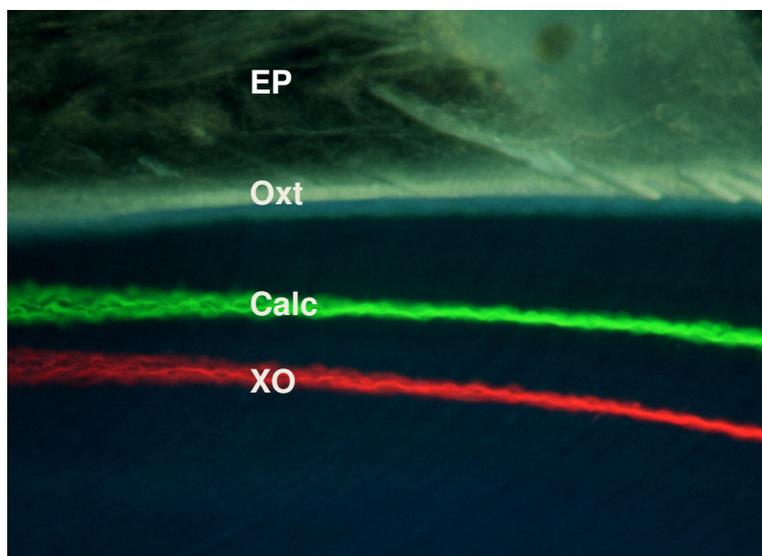
Com recurso ao microscópio óptico de fluorescência, confirma-se as observações de outros estudos prévios, sobre a fluorescência própria dos tecidos dentários. Além disso, possibilitou avaliar o

comportamento biológico sobre a sobrevivência dos odontoblastos e das células da polpa, na produção de dentina.

#### 3.4.4.1. Dentes não transplantados (controle negativo)

Nas preparações dos dentes que não foram sujeitos a qualquer manipulação, observados ao microscópio de fluorescência, foi possível observar todos os marcadores, sugerindo que a formação de dentina ocorreu, em função da vascularização pulpar.

Confirmou-se a formação de dentina (D1), durante as 3 semanas a seguir ao transplante, e que se encontra limitada pelo *xilenol orange* (fluorescência vermelho alaranjado) e a calceína (fluorescência verde). Esta espessura de dentina formada durante as três primeiras semanas foi de  $87,2 \pm 54,2$  (Med $\pm$ SD), e aquela que se formou entre a 3<sup>a</sup> e a 9<sup>a</sup> semana (D2), limitada pela calceína e a oxitetraciclina (cor amarela) foi de  $146,6 \pm 85,5$  (Med $\pm$ SD), (Figura 2.75), (Tabela 2.6), (Gráfico 2.20).



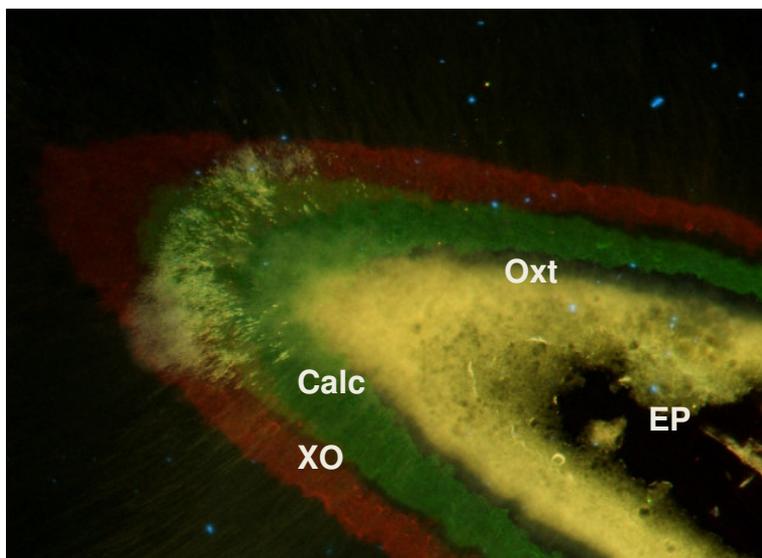
**Figura 2.75** Corte longitudinal, de um dente não transplantado, com 100 $\mu$ m de espessura e sem coloração histológica. Observa-se a formação de dentina, entre a oxitetraciclina (Oxt), a Calceína (Calc) e o *xilenol orange* (XO). Espaço pulpar (EP), (cão 6, dente 13). Observação com microscópio de fluorescência (x100)

### 3.4.4.2. Dentes transplantados com SF (controle positivo)

#### 3.4.4.2.1. Alvéolos recém-formados – grupo A2

As secções destes dentes, observados ao microscópio de fluorescência, correspondem aos que foram transplantados imediatamente depois de ter sido criado o alvéolo e aplicado soro fisiológico na superfície radicular.

Na maioria destas amostras foi possível confirmar os resultados histológicos sobre a necrose pulpar, quando não houve formação de dentina, demarcada pelos fluorocromos. Nos dentes em que ocorreu a revascularização pulpar, foi possível observar a formação de dentina, entre os corantes (Figura 2.76), (Tabela 2.6).

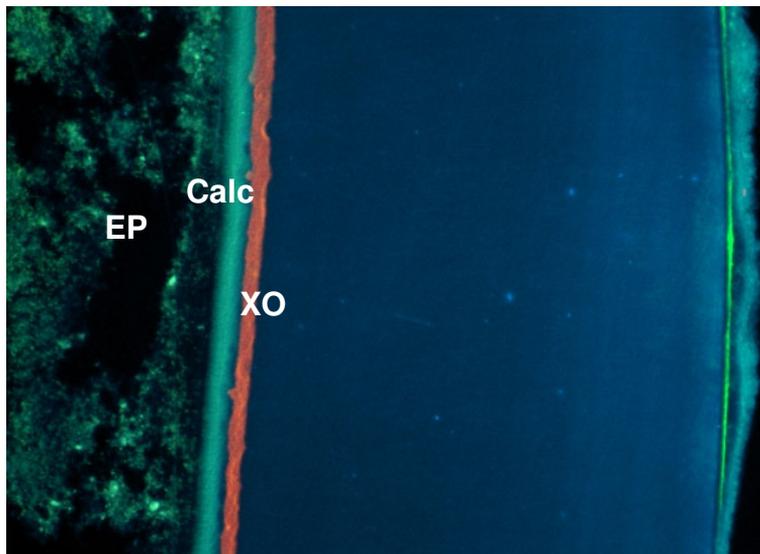


**Figura 2.76** Corte longitudinal, de um dente transplantado, (cão 4, dente 41-grupo A2) com 100 $\mu$ m de espessura e sem coloração histológica. Observa-se a formação de dentina, entre a oxitetraciclina (Oxt), a Calceína (Calc) e o *xileno/orange* (XO). Espaço pulpar (EP), Observação com microscópio de fluorescência (x100).

### 3.4.4.2.2. Alvéolos em cicatrização – grupo B2

As secções destas amostras, observadas ao microscópio de fluorescência, correspondem aos dentes em que foi aplicado soro fisiológico na superfície radicular e que foram transplantados 7 dias depois de ter sido criado o alvéolo.

Na maioria destas amostras foi possível confirmar os resultados histológicos sobre a necrose pulpar, quando não houve formação de dentina, demarcada pelos fluorocromos. Nos dentes em que ocorreu a revascularização pulpar, foi possível observar a formação de dentina, entre os corantes (Figura 2.77), (Tabela 2.6).



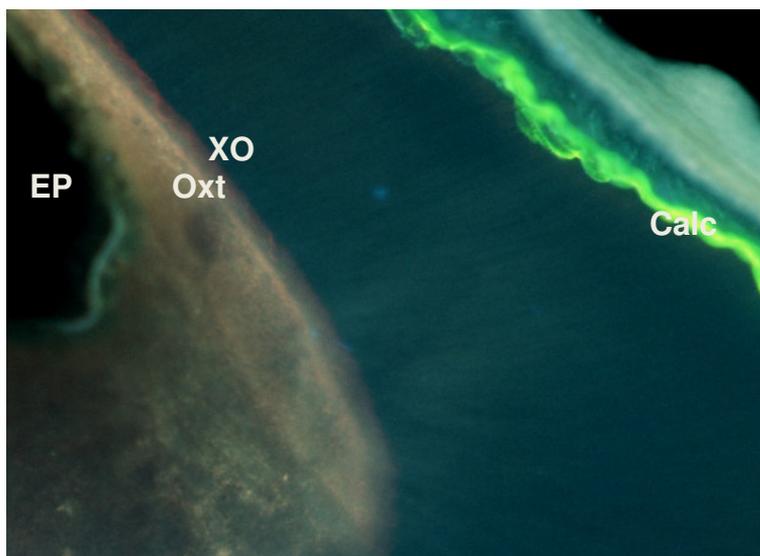
**Figura 2.77** Corte longitudinal, de um dente transplantado, (cão 6, dente 43-grupo B2) com 100µm de espessura e sem coloração histológica. Observa-se a formação de dentina, entre a Calceína (Calc) e o *xilenol orange* (XO). Espaço pulpar (EP), Observação com microscópio de fluorescência (x100).

### 3.4.4.3. Dentes transplantados com EMD

#### 3.4.4.3.1. Alvéolos recém formados – grupo A1

As secções destes dentes, observados ao microscópio de fluorescência, correspondem aos que foram transplantados imediatamente depois de ter sido criado o alvéolo e aplicado Emdogain® na superfície radicular.

Na maioria destas amostras foi possível confirmar os resultados histológicos sobre a necrose pulpar, quando não houve formação de dentina, demarcada pelos fluorocromos. Nos dentes em que ocorreu a revascularização pulpar, foi possível observar a formação de dentina, entre os três corantes (Figura 2.78), (Tabela 2.6).

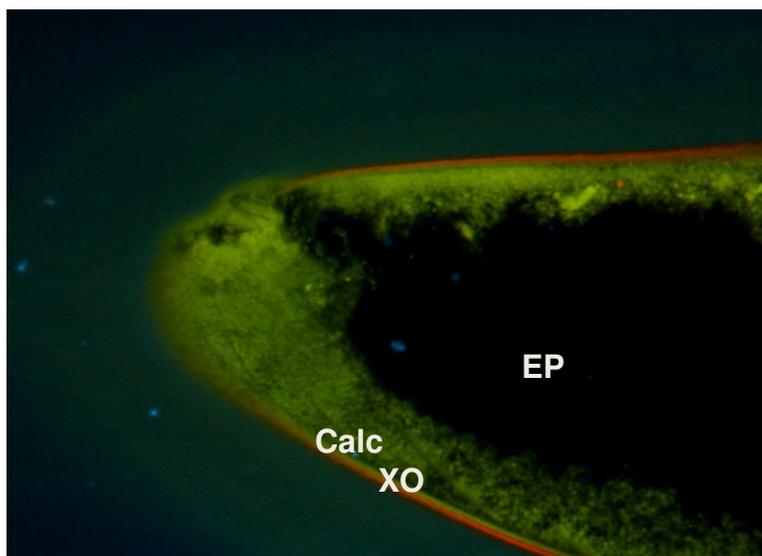


**Figura 2.78** Corte longitudinal, de um dente transplantado, (cão 4, dente 31-grupo A1) com 100µm de espessura e sem coloração histológica. Observa-se a formação de dentina, entre a oxitetraciclina (Oxt) e o *xilenol orange* (XO). Espaço pulpar (EP), Notar a calceína a marcar a deposição de cemento em cavidade de reabsorção externa. Observação com microscópio de fluorescência (x100).

### 3.4.4.3.2. Alvéolos em cicatrização – grupo B1

As secções destas amostras, observadas ao microscópio de fluorescência, correspondem aos dentes em que foi aplicado Emdogain® na superfície radicular e que foram transplantados 7 dias depois de ter sido criado o alvéolo.

Nestas amostras foi possível confirmar os resultados histológicos sobre a necrose pulpar, quando não houve formação de dentina, demarcada pelos fluorocromos. Nos dentes em que ocorreu a revascularização pulpar, foi possível observar a formação de dentina, entre os três corantes (Figura 2.79), (Tabela 2.6).



**Figura 2.79** Corte longitudinal, de um dente transplantado, (cão 5, dente 12-grupo B1) com 100µm de espessura e sem coloração histológica. Observa-se a formação de dentina, entre a Calceína (Calc) e o *xileno/ orange* (XO). Espaço pulpar (EP), Observação com microscópio de fluorescência (x100).

### 3.4.4.4. Morfometria

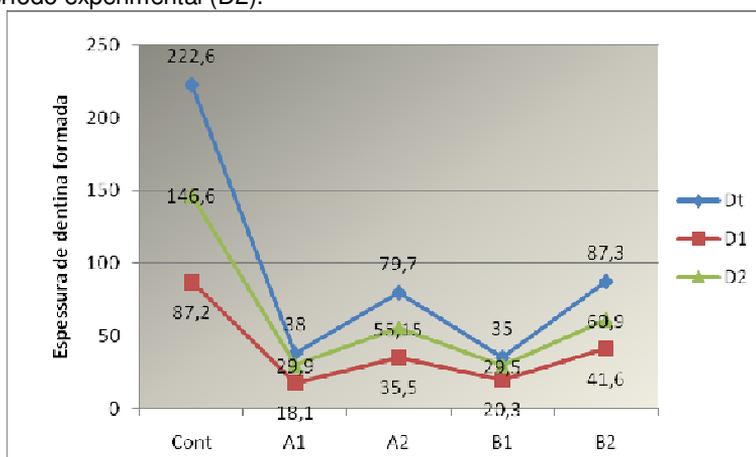
Como foi descrito no capítulo de materiais e métodos, a morfometria foi efectuada utilizando para o processamento, um *software* para análise de imagem, ImageJ 1.30 (Image Processing and Analysis in Java – National Institute of Mental Health, Bethesda, Maryland, USA). Este programa permitiu medir nas secções coronais dos dentes, a espessura de dentina formada em dois períodos distintos. As dimensões avaliadas referem-se a pixels. Uma vez que o objectivo foi estabelecer uma comparação entre os grupos, optámos por não fazer a conversão de pixels para o sistema métrico. Dos resultados podemos verificar que a espessura de dentina formada foi maior nos dentes de controlo (não transplantados), do que nos dentes que foram transplantados (Tabela 2.6 e Gráfico 2.20).

**Tabela 2.6.** Espessura de dentina formada nos vários grupos.

	Dt (Média±DP)	D1 (Média±DP)	D2 (Média±DP)
Controlo	222,6±145,6	87,2±54,2	146,6±85,5
A1	38±24,3	18,1±8,2	29,9±22,6
A2	79,7±62,1	35,5±25,3	55,15±36,3
B1	35±31,9	20,3±14,1	29,5±19,5
B2	87,3±45,5	41,6±18,1	60,9±24,3

Espessura de dentina total (Dt); Espessura de dentina formada nas três primeiras semanas (D1); Espessura de dentina formada entre a 3<sup>a</sup> e a 9<sup>a</sup> semana (D2).

**Gráfico 2.20** Espessura de dentina formada nos dentes de controlo e nos dentes transplantados. Espessura total de dentina (Dt), espessura de dentina formada durante as três primeiras semanas (D1) e durante as últimas seis semanas do período experimental (D2).



Dentes de controlo negativo (Ct); A1) alvéolo recém-criado (RC) + EMD; (A2) RC+ SF; (B1) alvéolo em cicatrização (Cic) + EMD; (B2) Cic+ SF).

Na comparação dos grupos de dentes experimentais, verifica-se que não há diferença estatisticamente significativa entre eles.

Na comparação entre os grupos de dentes em estudo com os dentes de controlo, verifica-se que existe diferença estatisticamente significativa nos grupos A1 e B1, enquanto nos grupos A2 e B2 essa diferença não existe (Tabela 2.7).

**Tabela 2.7.** Valor-p, na comparação da espessura de dentina formada, entre os grupos.

Valor-p		Dt	D1	D2
A1 vs B1		0,858	0,748	0,975
A2 vs B2		0,999	0,999	0,998
A1 vs A2		0,162	0,144	0,191
B1 vs B2		0,147	0,238	0,158
Controlo vs	A1	<b>0,046</b>	<b>0,045</b>	<b>0,039</b>
	A2	0,121	0,135	0,097
	B1	<b>0,046</b>	0,054	<b>0,037</b>
	B2	0,126	0,162	0,102

Espessura total de dentina (Dt); Espessura de dentina formada nas três primeiras semanas (D1); Espessura de dentina formada entre a 3ª e a 9ª semana (D2).

## **CAPÍTULO III**

### **Estudo clínico**

---

#### **1. OBJECTIVOS**

A dentição definitiva pode sofrer perdas de peças dentárias, devido a causas variadas. A cárie dentária, a doença periodontal, as fracturas radiculares, as complicações durante o tratamento endodôntico e a inserção de espigões radiculares são as causas mais frequentes. Além das situações mencionadas, devemos considerar ainda os traumatismos e as agenesias. A terapêutica destas situações clínicas apresenta diversas dificuldades, podendo a colocação de implantes osteo-integrados ou autotransplantes de pré-molares e terceiros molares constituir uma solução viável para substituir os dentes ausentes.

O transplante dentário consiste na remoção do gérmen dentário ou dente, do alvéolo dum paciente, seguida da sua inserção num alvéolo do mesmo ou de outro indivíduo. O autotransplante, transplante autólogo ou autógeno consiste no deslocamento cirúrgico de um dente de uma zona para outra, do mesmo maxilar ou do maxilar oposto, no mesmo indivíduo. Por outro lado, no homotransplante, transplante homólogo ou alógeno, o dador e o receptor são diferentes, mas pertencentes à mesma espécie (Clokie C.M.L., *et al.*, 2001).

A implantologia é uma das áreas da medicina dentária que mais se tem desenvolvido nos últimos anos, com aceitação generalizada, clínica e cientificamente, parecendo, no entanto, ser

consensual que o melhor implante é o próprio dente (Paulsen *et al.*, 1995, Clokie *et al.*, 2001, Andreasen J., *et al.*, 1990).

As complicações responsáveis pelo insucesso e perda do órgão transplantado são as reabsorções, sejam de causa inflamatória ou de substituição. No entanto, vários estudos apresentam resultados satisfatórios em autotransplantes, tendo em conta, como pré requisito para sucesso da terapêutica, o conhecimento minucioso dos procedimentos operatórios e das considerações clínicas (Andreasen *et al.*, 1990a; Clokie C.M.L., *et al.*, 2001).

Estas reabsorções radiculares externas, são complicações, que podem levar à perda da peça dentária transplantada (Andreasen J. *et al.*, 1990). Assim sendo, o sucesso clínico depende de procedimentos criteriosos que devem ser observados antes, durante e após a fase do autotransplante (Thomas H.F., *et al.*, 1998).

Neste contexto, o trabalho por nós realizado, tem como objectivos a avaliação clínica e radiográfica de autotransplantes dentários, permitindo:

1. Avaliar as alterações pulpares e das superfícies radiculares que ocorrem em transplantes de dentes autólogos, através da comparação de duas técnicas cirúrgicas, respectivamente a técnica convencional (autotransplantes para alvéolos recém-formados), referida como *técnica A* e uma técnica alternativa, referida como *técnica B* (autotransplantes para alvéolos em fase inicial de cicatrização).

2. Avaliar o efeito da utilização de um derivado das Proteínas da Matriz do Esmalte denominado Emdogain® (EMD), (Biora AB, Malmö, Suécia), na prevenção da reabsorção radicular externa e na cicatrização pulpar de transplantes de dentes autólogos,

utilizando como controlo o Soro Fisiológico (SF), (Solução Isotónica de Cloreto de Sódio – Paracélsia – Indústria Farmacêutica, S.A. Porto- Portugal).

## **2. MATERIAL E MÉTODOS**

### **2.1. AMOSTRA**

Este trabalho foi realizado em doentes da consulta do Departamento de Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra. Estes tinham como critérios de inclusão o serem saudáveis e com boa higiene oral; a aceitação de consentimento informado para o tratamento proposto (doc. em anexo I); a destruição irrecuperável dos primeiros ou segundos molares definitivos, e terceiros molares que apresentassem a raiz formada ou em formação; a agenesia de dentes pré-molares, com indicação para terapêutica ortodôntica com extracções e também reimplantes intencionais de dentes em que ocorreu insucesso na terapêutica endodôntica não cirúrgica e impossibilidade pela proximidade estruturas anatómicas, para a realização de microcirurgia apical.

O modelo de estudo foi previamente aprovado pela Comissão de Ética dos Hospitais da Universidade de Coimbra e autorizado pelo Conselho de Administração do mesmo Hospital (doc. anexos II e III).

Os casos foram seleccionados com análise de radiografias panorâmicas. A sequência terapêutica para cada caso clínico foi total ou parcialmente fotografada com máquina fotográfica Yashica Dental Eye II®. Em todos os controlos foram efectuadas radiografias peri-apicais pela técnica de cone longo.

Foram realizados 28 autotransplantes, em 26 pacientes, com idade média de  $22,34 \pm 8,14$  anos (Med  $\pm$  SD), compreendida entre os 11 e os 43 anos.

Destes 26 pacientes, 12 pertenciam ao sexo masculino e 14 ao sexo feminino. Em dois doentes, um do sexo masculino e outro do sexo feminino, foram realizados dois transplantes. Das terapêuticas realizadas, quatro dentes foram reimplantes intencionais (Tabela 3.1).

**Tabela 3.1.** Distribuição dos dentes transplantados, de acordo com o sexo e o estado de maturação radicular.

Sexo \ Ápex	Ápex aberto	Ápex encerrado	Reimplante intencional	Total de dentes
Masculino (N=12)	4	8	1	13
Feminino (N=14)	9	3	3	15
Total	13	11	4	28

Os dentes dadores consistiram em terceiros molares, pré-molares maxilares, caninos maxilares e um primeiro molar mandibular.

As indicações dos transplantes foram: 21 dentes perdidos, devido a cárie; 2 caninos inclusos, por insucesso na tracção ortodôntica; 1 canino, por insucesso no tratamento endodôntico não cirúrgico e cirúrgico, devido a calcificação pulpar; 1 pré-molar, com insucesso no retratamento endodôntico cirúrgico; 1 molar inferior por insucesso no retratamento endodôntico não cirúrgico e impossibilidade de terapêutica endodôntica cirúrgica e 2 pré-molares, devido agenesia.

A identificação dos dentes foi feita pelo método dos dois dígitos, proposto por Viehl (Berlim) e aprovado pela Federação Dentária Internacional (FDI). O primeiro dígito, que vai de 1 a 4, refere-se ao quadrante e o segundo que identifica o dente vai de 1 a 8 (Figún &

Garino 2003). A distribuição dos dentes dadores e das zonas receptoras encontram-se descritas na tabela 3.2.

**Tabela 3.2.** Identificação dos dentes transplantados, de acordo com a nomenclatura da FDI, distribuídos pelos locais receptores.

Local receptor	Dente dador									Total
	18	28	38	48	36	13	14	24	25	
Maxilar Dt <sup>o</sup>	1					3	1			5
Mandibular Dt <sup>o</sup>	2		2							4
Mandibular Esq <sup>o</sup>	2	1	9	4	1			1	1	19
Total	5	1	11	4	1	3	1	1	1	28

## 2.2. MATERIAIS

Para aplicação tópica na superfície radicular do dente a transplantar, foi utilizado Emdogain® (Biora AB, Malmö, Suécia) em 14 dentes ou Soro Fisiológico (Solução isotónica de Cloreto de Sódio – Paracélsia – Indústria Farmacêutica, S.A. Porto- Portugal) também em 14 dentes.

O Emdogain® (EMD) é um derivado da matriz de esmalte, que contém proteínas da família das amelogeninas, extraídas do esmalte embrionário porcino. Este produto, não só estimula a proliferação dos pré-odontoblastos e a diferenciação de osteoblastos imaturos, como tem acção antibacteriana, devido ao seu pH ser entre 4 e 5, (Schwartz Z., *et al.*, 2000; Ninomiya M., *et al.*, 2002; Spahr S., *et al.*, 2002; Cochran D.L. *et al.*, 2003; Jiang J. *et al.*, 2006).

Como controlo negativo, usámos o soro fisiológico.

Foi utilizado como anestésico local, o cloridrato de lidocaína anidra, 20 mg/ml com tartrato de adrenalina, correspondente a 12,5 µg/ml de adrenalina, Xilocaína Adrenalina®.

## 2.3. MÉTODOS E TÉCNICAS CIRÚRGICAS

### 2.3.1. Constituição dos grupos de estudo

Foram aplicadas duas técnicas cirúrgicas, respectivamente a técnica convencional (autotransplantes para alvéolos recém-formados), referida como *técnica A* e a *técnica B* (autotransplantes para alvéolos em fase inicial de cicatrização) (Figuras 3.1 e 3.2).



**Figura 3.1**  
Fotografia de alvéolo, 10 dias depois de ter sido formado.



**Figura 3.2**  
Abertura do alvéolo em cicatrização, para inserção do transplante (*técnica B*).

Em ambas as técnicas cirúrgicas foram utilizadas na superfície radicular de forma aleatória, o Emdogain® (EMD) ou o soro fisiológico (SF).

A distribuição dos produtos e das técnicas pelos dentes, e segundo o estado de desenvolvimento radicular, foi realizada de forma aleatória. Deste modo a amostra ficou constituída por 4 grupos de estudo (Gráfico 3.1):

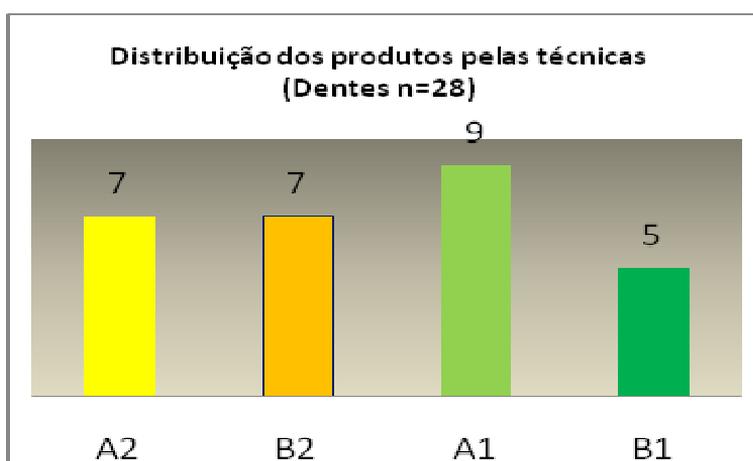
Grupo A1- transplantes de dentes para alvéolos recém-formados e aplicação tópica de EMD;

Grupo A2 - transplantes de dentes para alvéolos recém-formados e aplicação tópica de SF;

Grupo B1- transplantes de dentes para alvéolos em cicatrização e aplicação tópica de EMD;

Grupo B2 - transplantes de dentes para alvéolos em cicatrização e aplicação tópica de SF;

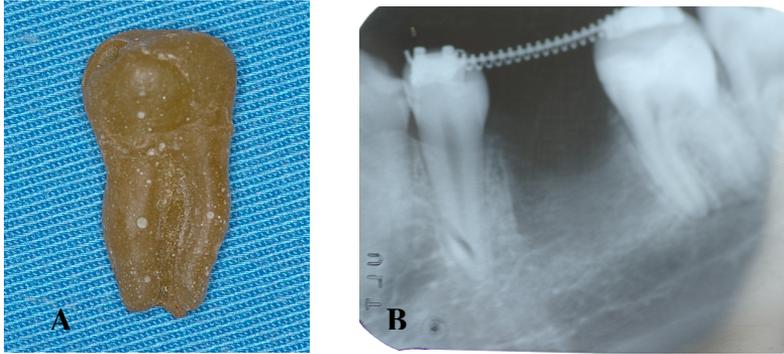
**Gráfico 3.1.** Distribuição dos materiais Emdogain® (EMD) e soro fisiológico (SF) nos dentes e técnicas cirúrgicas.



(A2) alvéolo recém-criado e colocação de SF; (B2) alvéolo em cicatrização e colocação de SF; (A1) alvéolo recém-criado e colocação de EMD; (B1) alvéolo em cicatrização e colocação de EMD.

### 2.3.2. Preparação do leito receptor

O espaço do local receptor foi avaliado clinicamente e na radiografia. Avaliou-se o espaço mesio-distal, vestibulo-lingual e vertical. O dente dador foi medido na radiografia peri-apical e construído em acrílico um dente modelo, com a mesma forma e dimensões do dente a transplantar. Este modelo foi utilizado na preparação do alvéolo receptor (Figura 3.3 A e B).



**Figura 3.3**

Imagem do modelo de dente fabricado em resina acílica (A), e radiografia periapical (B), depois da confecção do alvéolo receptor, na região do dente 46 (Caso clínico 3).

Deste modo, e como atrás foi referido, o leito receptor foi preparado para transplante imediato ou deferido para dez dias depois.

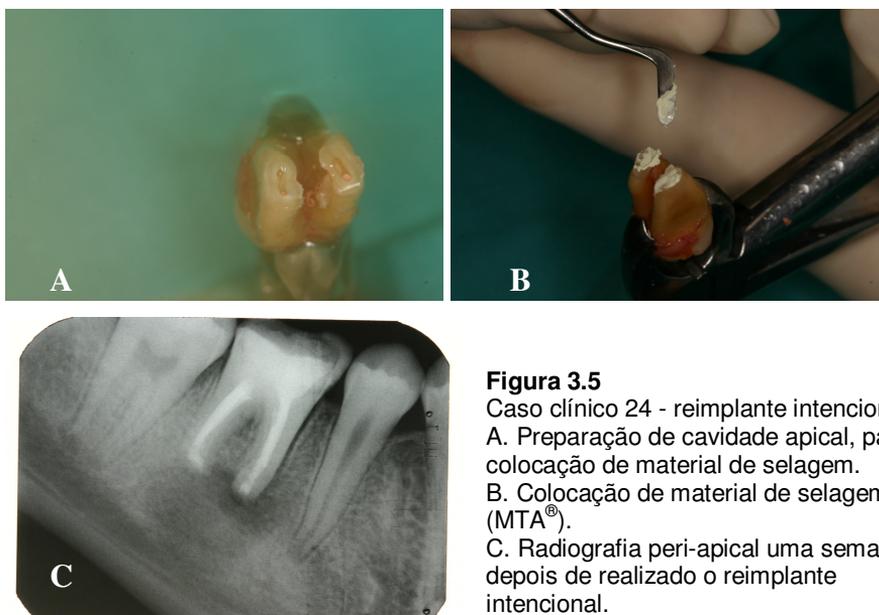
### **2.3.3. Transplante dos dentes**

Os dentes a transplantar foram higienizados com escova de polimento e pasta, e foi feita desinfecção da cavidade oral com solução de digluconato de clorhexidina, 0,1%; clorbutanol hemidratado 0,1% (Eludril® - Pierre Fabre Dermo-Cosmétique, Portugal). A extracção foi realizada de forma atraumática, após anestesia local, e os dentes manipulados pela coroa, para prevenir a lesão do ligamento periodontal (Figura 3.4).



**Figura 3.4**  
Manipulação do dente a transplantar, pela coroa, evitando lesar o ligamento periodontal.

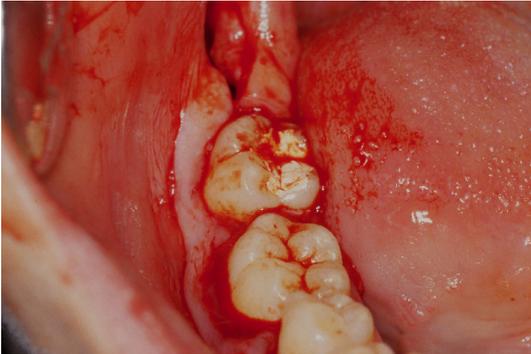
O tempo extra alveolar foi mínimo (inferior a 5 minutos), de forma a manter a vitalidade do ligamento periodontal. Nos casos em que foi efectuado reimplante intencional, o tempo extra-oral foi mais longo (cerca de 15 minutos), devido à realização de apicectomia, à preparação da cavidade apical e à colocação do material de selagem (figura 3.5).



**Figura 3.5**  
Caso clínico 24 - reimplante intencional.  
A. Preparação de cavidade apical, para colocação de material de selagem.  
B. Colocação de material de selagem (MTA®).  
C. Radiografia peri-apical uma semana depois de realizado o reimplante intencional.

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

Depois da aplicação tópica de SF ou de EMD, na superfície da raiz dos dentes a transplantar, estes foram suavemente inseridos no alvéolo, de modo a ficarem em infra-oclusão (Figuras 3.6 e 3.7).



**Figura 3.6**

Colocação do dente no alvéolo, depois de aplicado EMD ou SF na superfície radicular.



**Figura 3.7**

Fotografia do dente transplantado, em posição de infra-oclusão

A oclusão foi verificada e controlada com papel interarticular *blue/red* 60  $\mu$ m, Bausch KG<sup>®</sup>, (Köln- Germany) (Figura 3.8).



**Figura 3.8**  
Controlo da oclusão,  
com papel interarticular  
Bausch KG®.

A fixação dos dentes foi efectuada durante um período de dez dias, utilizando para o efeito, fio de seda 3/0, a cruzar a face oclusal do dente (Figura 3.9).



**Figura 3.9**  
Fixação, do dente  
transplantado, com fio de  
sutura 3/0, a cruzar a face  
oclusal.

## 2.4. PERÍODO PÓS-OPERATÓRIO

### 2.4.1. Medicação

Em todos os pacientes foi realizada antibioterapia, com início 24 horas antes da intervenção (amoxicilina – comprimidos de 1 grama; 1 comprimido de 12 em 12 horas), e por um período posterior de seis dias.

Foram dadas indicações para terapêutica analgésica (paracetamol, comprimidos de 500 mg em SOS de 6 em 6 horas) e

aplicação de saco de gelo na face da intervenção, protegida com tecido ou papel.

#### **2.4.2. Alimentação**

Foi aconselhada dieta mole durante 48 horas após o transplante.

Foi contra-indicada a mastigação com o quadrante interven-  
cionado, por um período de sete dias. Igualmente se recomendou  
higiene oral cuidada, seguida de bochechos com digluconato de  
clorhexidina a 1mg/ml (Eludril® - Pierre Fabre Dermo-  
Cosmétique, Portugal), diluído em 5 ml de água, até à remoção da  
sutura, 10 dias de pós-operatório.

#### **2.4.3. Consultas de controlo**

No dia seguinte ao tratamento o doente foi observado e  
questionado quanto à ocorrência de dor, edema e hemorragia.

Os controlos foram efectuados decorridos 10 dias, um mês, três  
meses, seis meses e anualmente após o transplante.

Em cada consulta de controlo, foram realizados o exame  
radiográfico, a observação da gengiva, do sulco marginal, a  
mobilidade dentária e os testes de sensibilidade ao frio e de  
percussão. Esses dados ficaram todos referenciados em protocolo,  
previamente definido (doc. anexo IV).

No início dos testes, o doente foi informado da possibilidade de  
dor, pedindo-lhe que elevasse o braço se tal acontecesse e assim  
o mantivesse enquanto ela persistisse. Os testes foram iniciados  
nos dentes homólogos, seguidos dos dentes a avaliar.

## **2.5. MÉTODOS DE ANÁLISE**

### **2.5.1. Exame radiográfico**

Foram efectuadas radiografias peri-apicais, através da técnica ortogonal, sendo avaliadas quanto à existência de patologia peri-apical, o estado do desenvolvimento radicular, a presença de encerramento apical e o estado da lâmina dura alveolar.

Para a execução das radiografias, utilizou-se como fonte geradora de raios X, um aparelho portátil Port-X II (Genoray Co. Ltd.), produzindo até 60 KVp, para uma intensidade corrente de 2mA.

O temporizador foi regulado para o valor mínimo de 0,03 s.

Estas imagens foram visualizadas em monitor de computador, utilizando para o efeito, o Software VixWin Pro, version 1.5 (KaVo Dental Gendex Dental Systems, Germany), e feita uma avaliação qualitativa.

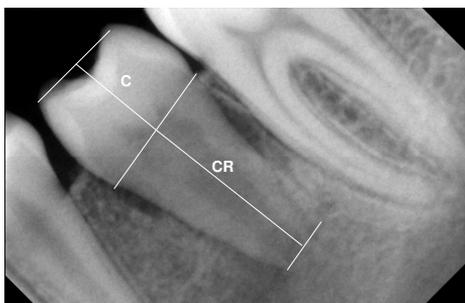
A manutenção da vitalidade pulpar e do desenvolvimento radicular ocorre quando o dente dador se encontra com o ápex aberto na altura de ser transplantado (Andreasen J.O., 1995). Um dos sinais para avaliar a vitalidade pulpar é a consequente obliteração total ou parcial do canal e o desenvolvimento radicular (Andreasen J.O., 1995; Tsukiboshi M., 2001). Para avaliação do crescimento radicular, elaborámos um protocolo, a seguir descrito, que foi adoptado nos controlos dos dentes com o ápex aberto.

As radiografias peri-apicais foram digitalizadas com um Scanner Epson Expression 1680 Pro<sup>®</sup>, (Harbour Front Place #03-02 Harbour Front Tower 1, Singapore 098633) e avaliadas num programa informático Nemocef 5.0<sup>®</sup> (Nemotec Dental Systems, Spain). Este programa permitiu que fossem efectuadas medições com aproximação até às centésimas de milímetro.

Desta forma obtivemos valores para o comprimento da raiz (desde a junção amelo – cementária até ao ponto mais apical da raiz). O incremento radicular foi calculado, subtraindo o comprimento inicial ao comprimento final da raiz. Foi introduzido um factor de correcção (f), para corrigir qualquer diferença entre a radiografia inicial e final:

$f = C1:C2$ , onde C1 corresponde à altura da coroa na radiografia inicial e C2 à altura da coroa na radiografia final (Bauss O. *et al.* 2004).

A altura da coroa foi definida como a distância entre o ponto médio, da linha de união da junção amelo-cementária e o ponto médio da linha que une as pontas das cúspides (Figura 3.10).



**Figura 3.10**  
Método utilizado para avaliar o desenvolvimento radicular.  
C= altura da coroa;  
CR= comprimento da raiz

De seguida o incremento de crescimento radicular foi calculado de acordo com a seguinte fórmula (Bauss O. *et al.* 2004):

$$CFR = MFR \times f$$

$$IR = CFR - CIR$$

Onde CFR= comprimento final da raiz; MFR= medida final da raiz; CIR= comprimento inicial da raiz e IR= incremento radicular. Foi considerado que ocorreu crescimento da raiz quando houve um incremento mínimo de 0,5 mm.

Estas medidas foram registadas em tabelas elaboradas para cada transplante que possuía o ápex aberto (Doc. Anexo V).

A avaliação do encerramento apical e do espaço pulpar foi feita de forma qualitativa.

### **2.5.2. Testes de sensibilidade térmica e de percussão**

O teste ao frio foi feito com uma pequena bola de algodão embebida em cloreto de etilo, colocada sobre o terço cervical do dente seco, o qual foi isolado com rolos de algodão. Sempre que existiu referência de dor, a sua duração foi medida em segundos.

Para o teste térmico ao frio considerámos quatro gradações: T0 para ausência de resposta ao teste, T1 para resposta positiva, que cessa quando termina o estímulo, T2 para duração da resposta entre 6 a 9 segundos e T3 para duração da sensibilidade superior ou igual a 10 segundos.

O teste de percussão foi realizado com o cabo do espelho clínico, exercendo uma pancada suave na superfície oclusal do dente em avaliação. Para o teste de percussão considerámos P0, para ausência de dor, P1 para a presença de dor e P2 quando o som à percussão era metálico.

### **2.5.3. Profundidade de sondagem e testes de mobilidade**

A altura do sulco marginal foi medida, com sonda periodontal milimétrica (UNC 15, Hu-Friedy, Leimen- Germany), em todas as superfícies do dente, ou seja, na vestibular, na palatina ou lingual, em mesial e em distal, com início 3 meses depois de realizado o transplante.

O teste de mobilidade foi realizado com uma sonda clínica, exercendo força suave nos sentidos lateral e vertical, sobre a coroa dos dentes a avaliar.

Na interpretação do teste de mobilidade considerámos a seguinte escala: M0 a ausência de mobilidade; M1 a mobilidade considerada fisiológica; M2 a mobilidade aumentada da coroa em

sentido lateral superior a 1 mm e M3 a mobilidade em sentido lateral e vertical.

Dos métodos de análise utilizados, foi feita uma avaliação da cicatrização pulpar e radicular, adaptada aos parâmetros adotados por Paulsen H.U., *et al.*, (1995).

Considerámos haver necrose pulpar quando se observava uma área radiotransparente peri-apical, ou havia reabsorção inflamatória e quando se verificava ausência de obliteração pulpar e de resposta aos testes térmicos. Ocasionalmente podia haver dor espontânea, ou à percussão vertical e lateral.

Considerámos haver patologia peri-radicular sempre que se verificou gengivite, bolsas com profundidade superior a 3 mm, mobilidade de grau 2, perda de osso marginal ou aumento do espaço periodontal.

A reabsorção externa superficial foi diagnosticada, na presença de imagem radiográfica com pequenas zonas de erosão, localizadas na superfície radicular.

A reabsorção inflamatória foi definida pela presença de cavidades de reabsorção na superfície radicular do dente, associadas a cavidades semelhantes, localizadas no osso alveolar adjacente, com alteração da lâmina dura (Paulsen H.U. *et al.*, 1995).

Foi considerada anquilose, quando clinicamente não se detectou mobilidade, quando o som à percussão foi metálico e, quando radiograficamente, não se observou a existência de espaço periodontal (Paulsen H.U. *et al.*, 1995).

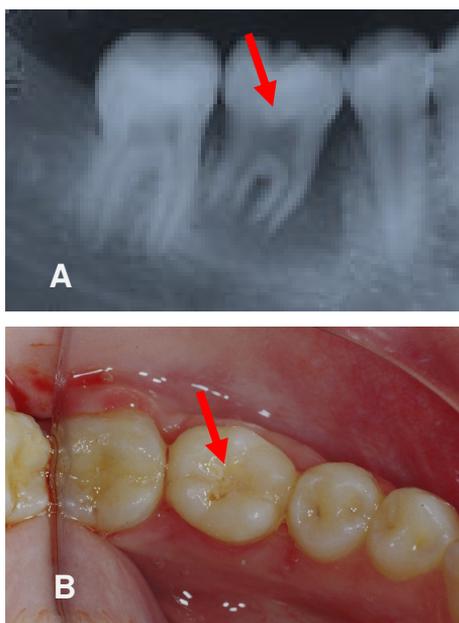
## 2.6. ANÁLISE ESTATÍSTICA DOS DADOS

Neste capítulo (estudo clínico), apenas foi utilizado o teste do Qui-quadrado dado que foram comparadas proporções. Os testes, tal como no modelo animal, foram avaliados ao nível de significância de 0,05.

## 3. RESULTADOS

### 3.1. 1ºCONTROLO – 10 dias

Este controlo foi realizado ao 10º dia, com a remoção da sutura, utilizada na fixação do autotransplante (Fig. 3.11 A e B).



**Figura 3.11**

Caso clínico 3. A) Radiografia periapical do dente 48, transplantado para alvéolo criado na região do 46. Utilização de EMD, 10 dias de evolução (Grupo B1- 1º controlo). B) Fotografia intra-oral do dente transplantado (seta) 1º controlo.

Nenhum doente referiu dor ou edema considerável, na zona dadora e receptora. Não se obteve resposta aos testes de sensibilidade térmica ao frio, realizados nos dentes transplantados.

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

Todos os dentes transplantados apresentavam alguma mobilidade com exceção do caso clínico 15 e 24, que apresentavam mobilidade considerada fisiológica e um aumento nos casos 6 e 13, cujo leito ósseo, não possuía parede vestibular (Tabela 3.3).

**Tabela 3.3.** Resultados do 1º controle, realizado 10 dias depois do transplante.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	3	2

	15 *	16	17	18	19 *	20 *	21	22	23	24 *	25	26	27	28
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
T	-	0	0	0	-	-	0	0	0	-	0	0	0	0
M	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2

(P) Teste de percussão; (T) Teste térmico; (M) Teste de mobilidade.

(\*) Reimplante intencional.

### 3.2. 2ºCONTROLO – 30 dias

A consulta para o 2º controlo foi realizada 30 dias após o transplante, onde se efectuou igualmente exame radiográfico e clínico (Figura 3.12).



**Figura 3.12**

Caso clínico 3. Radiografia periapical do dente 48, transplantedo para alvéolo criado há 10 dias na região do 46. Utilização de EMD, (Grupo B1- 2º controlo).

Dos doentes que compareceram ao controlo, todos apresentavam ausência de dor ao teste de percussão nos dentes transplantedos (P0), excepto os casos 10, 11, 12, 13, 17, 18 e 21, que apresentavam dor à percussão (P1).

Na reacção ao teste de sensibilidade térmica, houve ausência de sensibilidade (T0) em todos os dentes intervencionados.

Os dentes transplantedos apresentavam alguma diminuição da mobilidade, em relação ao 1º controlo, com excepção do caso clínico 15 e 24, que mantinham mobilidade considerada fisiológica e dos casos 6 e 13, nos quais persistia mobilidade de grau 3 (Tabela 3.4).

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

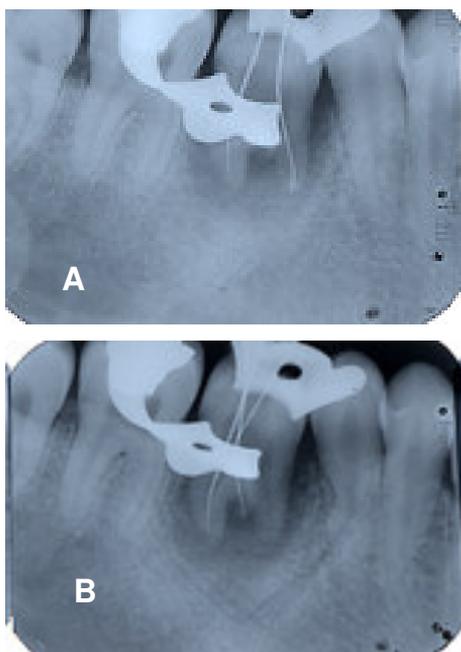
**Tabela 3.4.** Resultados do 2º controlo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10 &	11 &	12 &	13 &	14
P	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1	1	1	1	0
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M	2	2	2	2	2	3	2	2	2	2	2	2	3	2

	15 *	16 §	17 &	18 &	19 *	20 *	21 &	22	23	24 *	25	26	27	28
P	0	0	1	1	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0
T	-	0	0	0	-	-	0	0	0	-	0	0	0	0
M	1	2	2	2	2	2	2	2	2	1	2	2	2	2

(§) O doente não veio ao controlo. (&) Efectuado tratamento endodôntico com colocação de pasta de Ca(OH)<sub>2</sub>. \* Reimplante intencional.  
P= teste de percussão; T= Teste térmico; M = teste de mobilidade.

Aos casos clínicos 10, 11, 12, 13, 17, 18 e 21 que apresentavam ausência de sensibilidade ao teste térmico pelo frio (T0), com sinais clínicos e radiográficos de periodontite apical, foi realizada terapêutica endodôntica (Figura 3.13).

**Figura 3.13**

Caso clínico 10 (Grupo A2) - 2º controle.  
Transplante realizado para alvéolo recém-criado, com utilização de EMD. Realização de terapêutica endodôntica. Radiografias A e B, determinação do comprimento de trabalho.

Após a execução da cavidade de acesso aos canais radiculares, foi determinado o comprimento de trabalho (CT), pela técnica radiográfica. As preparações químicas e mecânicas foram efectuadas com instrumentos em rotação contínua (300 rpm), através de limas em níquel-titânio, do sistema Profile® (Dentsply, Maillefer, CH-1338 Ballaigues), e irrigação com hipoclorito de sódio a 2,5%, entre a utilização de cada instrumento.

Secaram-se os canais com cones de papel esterilizados (Roeko®), número 35 ISO, limitados ao CT.

Como terapêutica entre sessões, optou-se pela colocação no interior dos canais, de uma pasta de hidróxido de cálcio,  $[Ca(OH)_2]$ , inserida no canal com o auxílio de espiral de *lentulo* colocado em contrângulo de baixa rotação (20.000 rpm).

A câmara pulpar foi selada com pequena bola de algodão estéril e a cavidade encerrada com óxido de zinco eugenol reforçado (IRM®).

### 3.3. 3ºCONTROLO – 3 meses

A consulta para o terceiro controlo foi efectuada 3 meses após o transplante. Foram realizados exames radiográficos e clínicos, como os referidos anteriormente. Seis doentes não compareceram à consulta. Nos controlados, não sujeitos a terapêutica endodôntica, só o caso clínico 28 apresentava resposta positiva ao teste de sensibilidade térmica (T1), e não apresentavam dor ao teste de percussão (P0), excepto o caso 19 que apresentava dor à percussão (P1). A mobilidade era fisiológica (M1), excepto o caso clínico 19, que além de dor à percussão, apresentava mobilidade de grau 2 e edema. Este dente foi extraído e considerado um insucesso da terapêutica. Os dentes correspondentes aos casos clínicos 10, 11, 12 e 20, apresentavam um som metálico ao teste de percussão (P2), sinal patognomónico de anquilose alvéolo-dentária (Tabela 3.5).

**Tabela 3.5.** Resultados do 3º controlo.

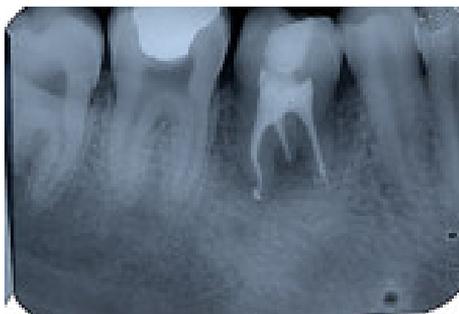
	1	2	3	4	5	9 &	10 &&	11 &&	12 &	13 &	14
P	0	0	0	0	0	0	2	2	2	0	0
T	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
M	1	1	1	1	1	1	0	0	0	3	1

	15 *	18 &&	19 *	20 *	21 &&	23	24 *	25	26	27	28
P	0	0	1	2	0	0	0	0	0	0	0
T	-	0	-	-	0	0	-	0	0	0	1
M	1	1	2	0	1	1	1	1	1	1	1

(&) Efectuado tratamento endodôntico e colocação de pasta de Ca(OH)<sub>2</sub> como terapêutica no interior do canal; (&&) obturação dos canais com guta-percha termoplástica (Thermafil<sup>®</sup> e Top Seal<sup>®</sup>) e restauração coronária com resina composta. (P) Teste de percussão; (T) Teste térmico; (M) Teste de mobilidade. (\*) Reimplante intencional; (†) Extracção.

Nesta consulta de controlo, foi iniciada terapêutica endodôntica e colocado pasta de hidróxido de cálcio como terapêutica, no interior do canal, ao caso clínico 9, que apresentava sinais de necrose pulpar.

Nos casos clínicos 10, 11, 18 e 21, foi finalizado o tratamento endodôntico, com a obturação do espaço pulpar, com guta-percha termoplástica Thermafil<sup>®</sup>, (Dentsply, Maillefer, CH-1338 Ballaigues), e cimento de selamento Top Seal<sup>®</sup> (Dentsply, Maillefer, CH-1338 Ballaigues) (Figura 3.14).



**Figura 3.14**  
Obturação dos canais radiculares do caso clínico 10 (Grupo A2); 3<sup>o</sup> controlo.

A restauração coronária foi feita com resina composta, decorrida uma semana, depois de terminada a obturação dos canais radiculares.

### 3.4. 4º CONTROLO – 6 meses

A quarta consulta para controlo foi efectuada 6 meses após o transplante. De acordo com o protocolo, foram igualmente realizados controlos radiográficos e clínicos.

Destes doentes, 10 não compareceram ao controlo e os restantes apresentaram teste à percussão (P0), com mobilidade fisiológica (M1), excepto o caso clínico 13, que mantinha mobilidade (M3) e os casos 10,11, 12 e 20, que não apresentavam mobilidade e som metálico à percussão. A resposta ao teste de sensibilidade térmica ao frio foi T1 para 4 dentes (Tabela 3.6).

**Tabela 3.6.** Resultados do 4º controlo.

	1	2	3	4	10	11	12	13	14	15	20
							&			*	*
P	0	0	0	0	2	2	2	0	0	0	2
T	0	1	1	1	-	-	-	-	1	-	-
M	1	1	1	1	0	0	0	3	1	1	0

(&) Efectuado tratamento endodôntico e colocação de pasta de  $\text{Ca}(\text{OH})_2$  / obturação com guta- percha termoplástica (Thermafil® e Top Seal®) e restauração coronária com resina composta.

(P) Teste de percussão; (T) Teste térmico; (M) Teste de mobilidade.

(\*) Reimplante intencional.

Para o caso clínico 1, o teste de sensibilidade térmica ao frio foi ausente (T0), mas com sinais radiográficos de desenvolvimento radicular e sem indícios de periodontite apical (Fig. 3.15).

**Figura 3.15**

Caso clínico 1; (Grupo A2),  
dente com sinais de  
desenvolvimento radicular  
e de obliteração pulpar.

A) Radiografia realizada no  
1º controle.

B) Radiografia realizada no  
4º controle (seis meses  
após o transplante).

No caso clínico 12, foi terminado o tratamento endodôntico, com a obturação do espaço pulpar, através de guta-percha termoplástica Thermafil<sup>®</sup>, (Dentsply, Maillefer, CH-1338 Ballaigues) e cimento de selamento Top Seal<sup>®</sup> (Dentsply, Maillefer, CH-1338 Ballaigues). A restauração coronária foi feita com resina composta, uma semana depois de terminado o tratamento endodôntico.

### 3.5. 5º CONTROLO – 12 meses

Na consulta para a realização do 5º controlo foram também efectuados controlos radiográficos e clínicos. Esta avaliação ocorreu em 15 transplantes, correspondentes a 12 meses após realização da terapêutica (Tabela 3.7).

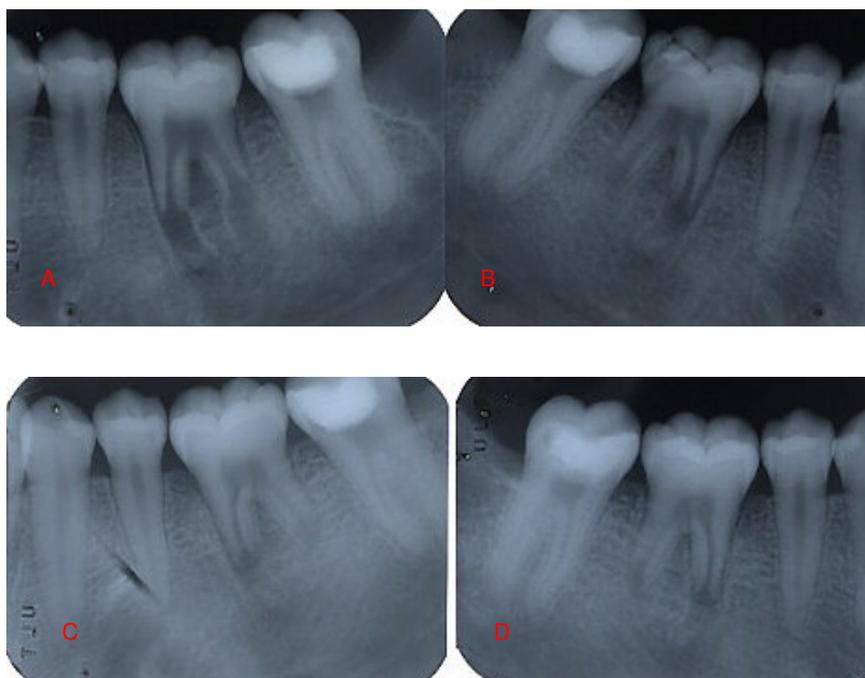
**Tabela 3.7.** Resultados do 5º controlo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	10	11	13	14	20	21	22
													*		
P	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	0	0	2	0	0
T	0	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-	1	-	-	1
M	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	3	1	0	1	1

(\*) Reimplante intencional.

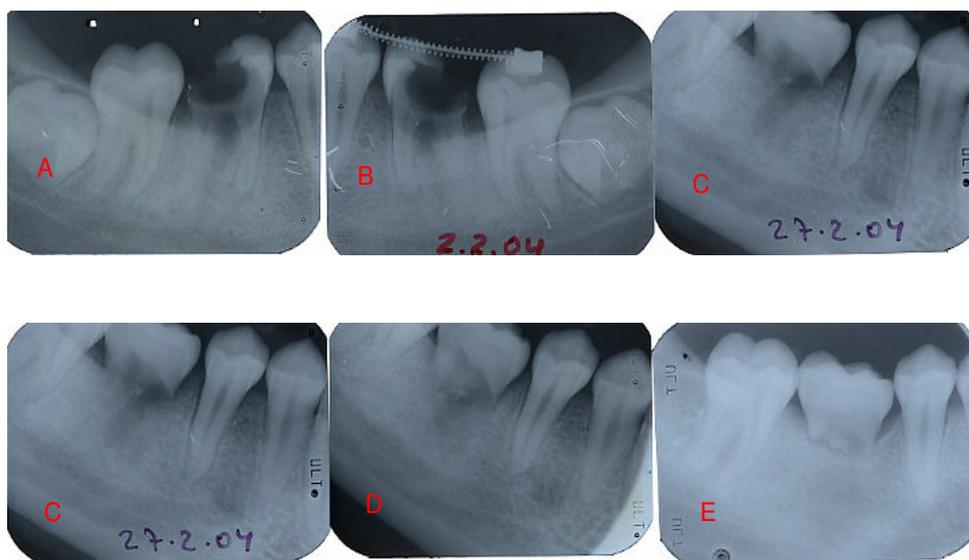
(P) Teste de percussão; (T) Teste térmico; (M) Teste de mobilidade

Todos os dentes apresentavam resposta normal ao teste de percussão (P0), sem sintomatologia dolorosa. Na resposta ao teste térmico com o frio, os dentes que não foram sujeitos a terapêutica endodôntica, apenas o caso clínico 1 manteve resposta negativa (T0), mas com sinais desenvolvimento radicular e ausência aparente de necrose pulpar (Fig.3.16).

**Figura 3.16**

Radiografias peri-apicais da evolução do caso clínico 1; (Grupo A2). A) 1 mês; B) 3 meses; C) 6 meses e D) 12 meses após o transplante.

No caso clínico 6, apesar de não haver sinais de desenvolvimento radicular, houve obliteração pulpar e o transplante apresentava resposta positiva (T1), ao teste de sensibilidade térmica(Fig.3.17).



**Figura 3.17**

Caso clínico 6 – Não houve sinais de desenvolvimento radicular. O dente apresenta sinais compatíveis de vitalidade pulpar. A) e B) RX pré – operatório; C) controlo ao fim de 1 mês; D) controlo aos 6 meses; E) controlo aos 12 meses.

### **3.6. 6º CONTROLO – 24 meses**

Nesta consulta, efectuada 24 meses após o transplante, foram realizados controlos radiográficos e clínicos, constituindo o 6º controlo. A este controlo foram sujeitos 12 transplantes. Destes, foi efectuada extracção do caso clínico 13, correspondente a um dente 46, devido a persistência de periodontite apical crónica, manutenção de fístula vestibular, mobilidade M3 e dor à percussão vertical (P1) (Tabela 3.8).

**Tabela 3.8.** Resultados do 6º controlo.

	4	5	7	10	11	13	14	15	18	20	21	22
						†						
P	0	0	0	2	2	1	0	0	0	2	0	0
T	1	1	1	-	-	-	1	-	-	-	-	1
M	1	1	1	0	0	3	1	1	1	0	1	1

(P) Teste de percussão; (T) Teste térmico; (M) Teste de mobilidade; (†) Efectuada extracção.

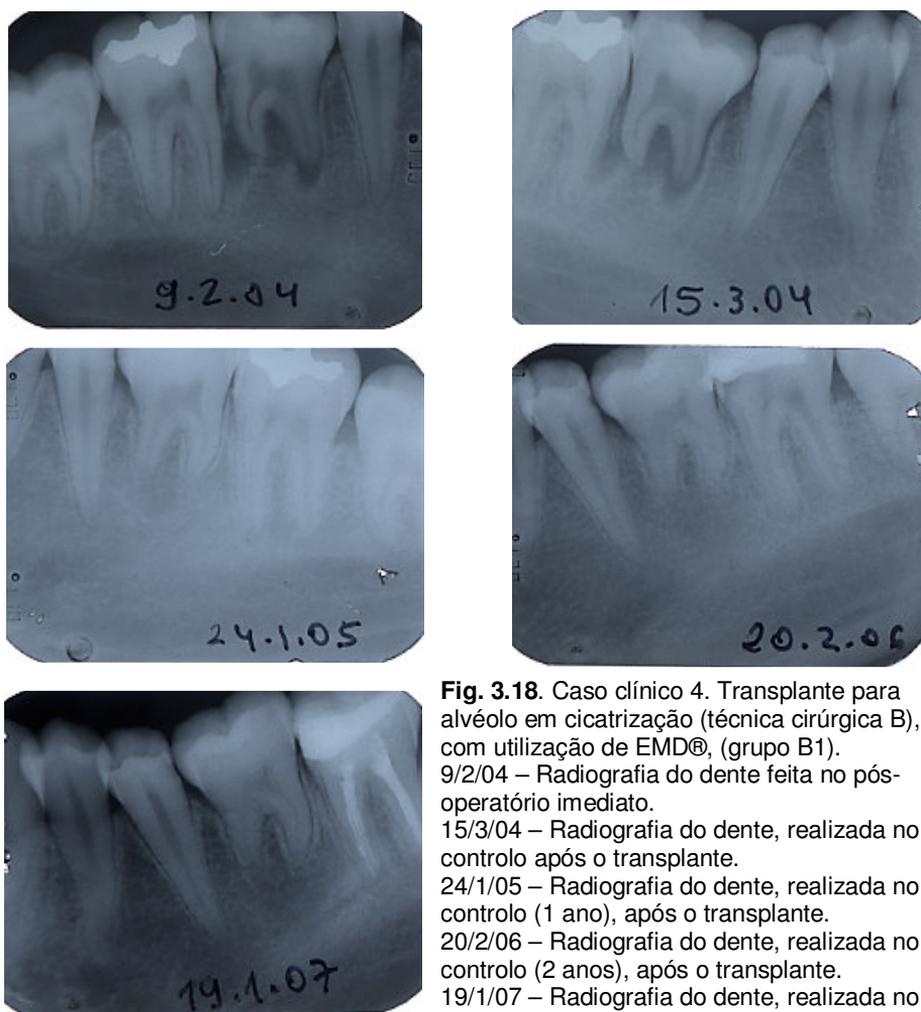
### 3.7. 7º CONTROLO – 36 MESES

A consulta para o 7º controlo foi efectuada 36 meses após o transplante. Foram realizados controlos radiográficos e clínicos, que abrangeu um total de 11 transplantes (Tabela 3.9, figura 3.18).

**Tabela 3.9.** Resultados do 7º controlo.

	1	2	3	4	5	6	7	8	10	11	12
P	0	0	0	0	0	0	0	0	2	2	2
T	0	1	1	1	1	1	1	1	-	-	-
M	1	1	1	1	1	1	1	1	0	0	0

(P) Teste de percussão; (T) Teste térmico; (M) Teste de mobilidade.

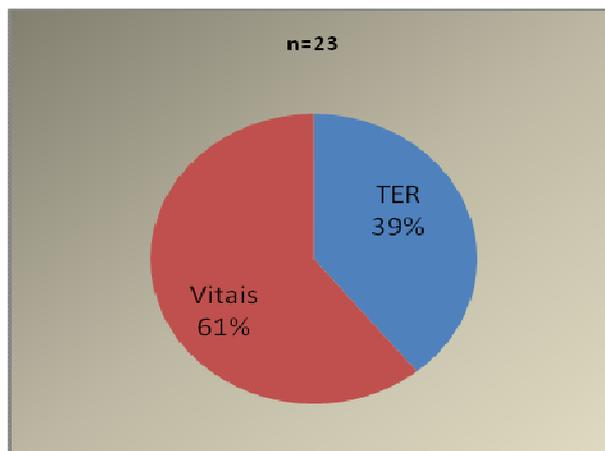


**Fig. 3.18.** Caso clínico 4. Transplante para alvéolo em cicatrização (técnica cirúrgica B), com utilização de EMD®, (grupo B1).  
9/2/04 – Radiografia do dente feita no pós-operatório imediato.  
15/3/04 – Radiografia do dente, realizada no 2º controlo após o transplante.  
24/1/05 – Radiografia do dente, realizada no 5º controlo (1 ano), após o transplante.  
20/2/06 – Radiografia do dente, realizada no 6º controlo (2 anos), após o transplante.  
19/1/07 – Radiografia do dente, realizada no 7º controlo (3 anos), após o transplante.

### 3.8. RESULTADOS GLOBAIS

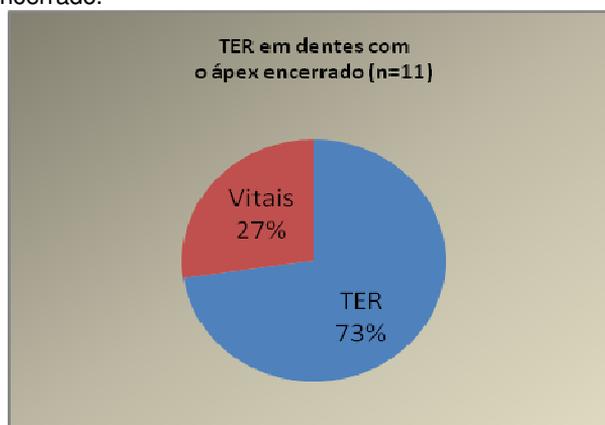
Dos 28 dentes transplantados, controlados durante 10 a 52 meses ( $35,07 \pm 12,9$  meses), 4 foram reimplantes intencionais, um, que possuía o ápex aberto e compareceu apenas à primeira consulta de controlo, foi excluído. Dos restantes 23 procedeu-se a terapêutica endodôntica em 9 dentes, 1 com o ápex aberto e 8 com o ápex encerrado, correspondendo a 39% dos transplantes realizados. Os 14 dentes restantes, não foram sujeitos a qualquer terapêutica endodôntica (Gráfico 3.2).

**Gráfico 3.2.** Terapêutica endodôntica (TER), realizada nos dentes transplantados.



Dos resultados deste estudo clínico, foi feita uma avaliação analítica, onde verificámos que houve diferenças significativas entre os dentes com ápex aberto, relativamente àqueles que apresentavam o ápex encerrado. Nestes, dos 11 transplantes realizados foi necessário efectuar terapêutica endodôntica em 8 dentes, correspondente a 73% dos casos (Gráfico 3.3).

**Gráfico 3.3.** Terapêutica endodôntica (TER) efectuada nos dentes transplantados com o ápex encerrado.



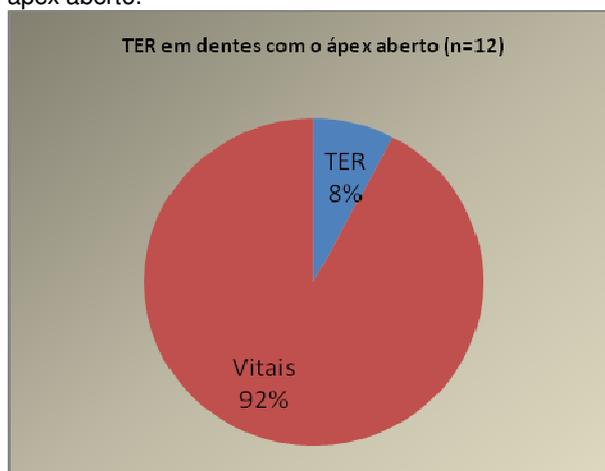
Da análise estatística, verifica-se uma tendência para que, a necessidade de terapêutica endodôntica ocorra significativamente

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

mais vezes ( $p=0,083$ ), embora não se confirme a significância ao nível dos 5%.

Nos 12 dentes com o ápex aberto, apenas foi necessário realizar terapêutica endodôntica num caso, correspondendo ao valor de 8% e uma diferença estatisticamente significativa ( $p=0,0002$ ), (Gráfico 3.4).

**Gráfico 3.4.** Terapêutica endodôntica (TER) efectuada nos transplantes de dentes com o ápex aberto.



A relação entre o comprimento radicular e a revascularização, apesar de esta ter ocorrido com mais frequência nos dentes com raízes curtas, não existe diferença estatisticamente significativa ( $p=0,149$ ), (Tabela 3.12).

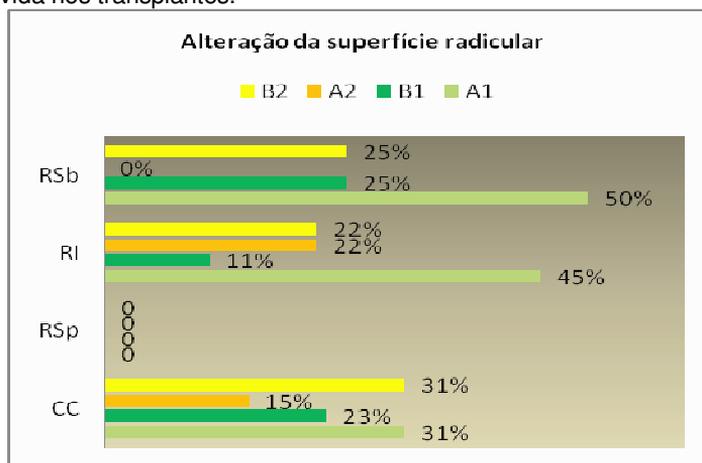
**Tabela 3.12.** Comparação entre o comprimento da raiz e a revascularização.

	Apex aberto (N=12)	Apex fechado (N=11)
Comprimento da raiz (mm)	8,07±2,88	10,82±1,89
Revascularização	n=11	n=3

Dos transplantes realizados, foram perdidos dois dentes. Um devido à manutenção de reabsorção inflamatória e outro devido à persistência de periodontite apical.

Em relação à cicatrização periodontal, houve dentes em que a cicatrização se deu com ausência de reabsorção, enquanto outros, desenvolveram reabsorção inflamatória e de substituição (Gráfico 3.5).

**Gráfico 3.5.** Distribuição em percentagem, dos vários tipos de alteração radicular, desenvolvida nos transplantes.

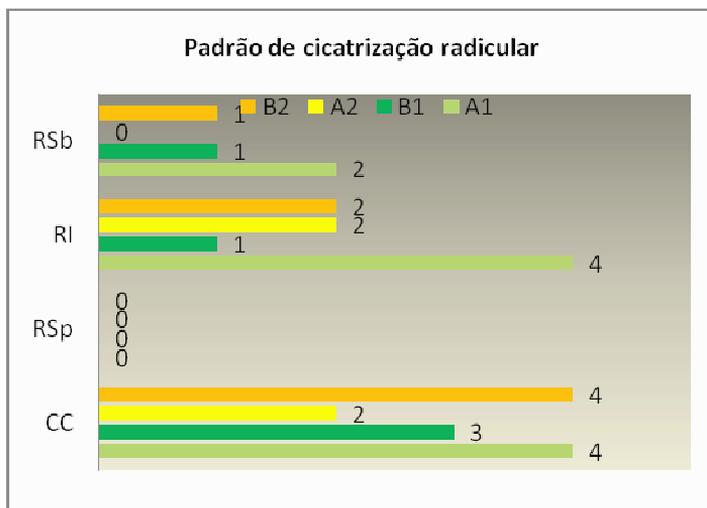


(A1) alvéolo recém-criado; (RC) + EMD; (A2) RC+ SF; (B1) alvéolo em cicatrização (Cic) + EMD; (B2) Cic+ SF).

Cicatrização completa (CC); Reabsorção Inflamatória (RI); Reabsorção de superfície (RSp); Reabsorção de substituição (RSb).

A reabsorção inflamatória ocorreu em 9 dentes, 4 na técnica A1, 1 na técnica B1, 2 na técnica A2 e 2 na técnica B2, enquanto a reabsorção por substituição com anquilose, ocorreu em 4 dentes transplantados, 2 na técnica A1, 1 na B2 e 1 na B1. Em relação à cicatrização completa, esta ocorreu com maior frequência nas técnicas A1 e B2, do que nas técnicas A2 e B1 (Gráfico 3.6).

**Gráfico 3.6.** Padrão de cicatrização radicular desenvolvida, de acordo com a técnica utilizada.



(A1) alvéolo recém-criado (RC) + EMD; (A2) RC+ SF; (B1) alvéolo em cicatrização (Cic) + EMD; (B2) Cic+ SF).  
Cicatrização completa (CC); Reabsorção Inflamatória (RI); Reabsorção de superfície (RSp); Reabsorção de substituição (RSb).

Na comparação entre as técnicas e os materiais utilizados, não se verificaram diferenças estatisticamente significativas (Tabela 3.13).

**Tabela 3.13.** Comparação da cicatrização radicular desenvolvida, entre as técnicas e o material utilizado.

Valor-p	A1vsB1	A2vsB2	A1vsA2	B1vsB2
RSb	0,470	0,661	0,099	0,499
RI	0,207	0,480	0,668	0,772
RSp	-	-	-	-
CC	0,929	0,962	0,099	0,723

A1) alvéolo recém-criado (RC) + EMD; (A2) RC+ SF; (B1) alvéolo em cicatrização (Cic) + EMD; (B2) Cic+ SF).  
Cicatrização completa (CC); Reabsorção Inflamatória (RI); Reabsorção de superfície (RSp); Reabsorção de substituição (RSb).

Considerámos que houve sucesso da terapêutica, sempre que o dente se apresentava funcional, com ausência de patologia

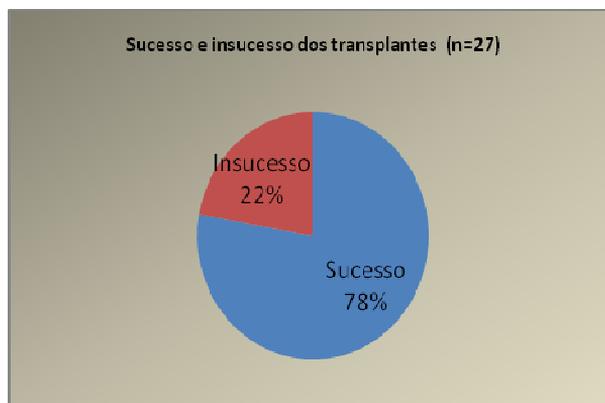
periapical, reabsorção inflamatória e de anquilose alvéolo-dentária. Desta forma, o sucesso dos transplantes realizados foi de 78%. Este valor deve-se à extracção de dois dentes e à presença de anquilose em 4 (Gráfico 3.7).

Houve deste modo, significativamente mais transplantes com sucesso do que insucesso ( $p=0,001$ ).

Na comparação dos materiais quanto ao sucesso, verificamos que o Emdogain® em relação ao soro fisiológico não apresenta diferença estatisticamente significativa ( $p=0,505$ ).

Ao compararmos as técnicas cirúrgicas, verificamos que também não existem diferenças estatisticamente significativas, no sucesso obtido com a técnica A ou B ( $p=0,764$ ).

**Gráfico 3.7.** Gráfico representativo do sucesso e insucesso, dos transplantes realizados.



Por outro lado, considerámos que houve sobrevivência do transplante, sempre que o dente se manteve presente na arcada, funcional e sem desconforto para o doente.

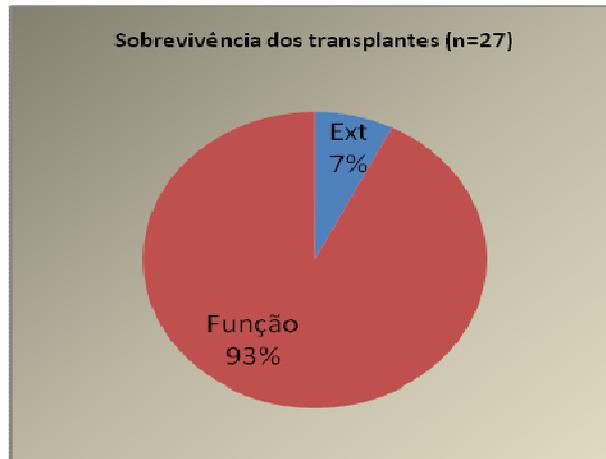
Dos 28 dentes transplantados, foram perdidos dois, um devido a reabsorção inflamatória e outro devido à persistência de periodontite apical, e um foi excluído por abandono e ter comparecido apenas à primeira consulta de controlo. Dos dentes

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

que se mantêm em função, correspondem a uma taxa de sobrevivência de 93% dos transplantes realizados (Gráfico 3.8).

Dos resultados podemos verificar que há uma percentagem de casos que se mantêm em função, significativamente superior aos que foram extraídos ( $p=0,0001$ ).

**Gráfico 3.8.** Gráfico representativo da sobrevivência dos transplantes.



## **CAPÍTULO IV**

### **DISCUSSÃO**

---

Os transplantes de dentes autólogos constituem em certos casos de perdas dentárias ou de aplasia, uma alternativa ao tratamento com prótese. Este estudo situa-se no âmbito da substituição de dentes irremediavelmente perdidos, ausentes por agenesias, por avulsões e em casos de insucesso na terapêutica endodôntica convencional ou cirúrgica.

Perante a falta de dentes, a planificação adequada da reabilitação oral apresenta condicionantes de ordem estética, funcional e económica, que devem ser devidamente ponderados pelo operador e aceites pelo paciente, depois de convenientemente informado.

Na actualidade, o desenvolvimento tecnológico em implantologia, possibilita de forma adequada, a reabilitação oral de dentes perdidos ou ausentes. No entanto, sob o ponto de vista histológico e fisiológico os implantes, por não apresentarem um ligamento periodontal, não dão resposta proprioceptiva nem protegem o sistema estomatognático. Os mecanismos proprioceptivos protegem não só os maxilares, como também a articulação temporo-mandibular. Além disso existem situações clínicas, de adolescentes que ainda não terminaram o crescimento facial, em que a terapêutica com implantes não deve ser realizada, pois corre-se o risco de as coroas sobre os implantes ficarem em infra-oclusão, à medida que ocorre o crescimento facial, em sentido vertical (Oesterle L.J., 2000).

As agenesias dentárias e as avulsões são algumas das indicações mais importantes dos transplantes. Como a colocação de implantes em adolescentes não deve ser realizada, os transplantes autólogos constituem uma opção viável de tratamento, com algumas vantagens sobre os implantes. Estes promovem a formação de osso alveolar, com tempo de reabilitação rápido, mantêm a estética natural proporcionada pelos dentes e são económicos (Tsukiboshi M., 2001). No entanto, apesar das vantagens referidas, este tipo de terapêutica não constitui uma conduta relacionada com a prática clínica diária.

As agenesias do terceiro molar são as mais frequentes, seguidas do segundo pré-molar. No caso de existir uma discrepância dento-maxilar, os dentes decíduos podem ser extraídos e o seu espaço ser utilizado para corrigir o apinhamento ou a protrusão existente. Porém, este procedimento nem sempre é possível devido ao padrão de crescimento braquifacial e à estética da face (Bjerklin & Bennett 2000).

Em caso de avulsão, o sucesso do reimplante depende do tempo de permanência extra-oral e tem como complicação frequente o desenvolvimento de reabsorção de substituição e anquilose alvéolo-dentária. A raiz dentária vai sendo reabsorvida e gradualmente substituída por osso, remanescendo o dente em infra-oclusão. O posicionamento progressivo do dente em infra-oclusão depende da idade do paciente e da intensidade e direcção do crescimento facial. Na região onde está a decorrer a anquilose, não se dá o crescimento vertical do maxilar, dificultando a posterior reabilitação. Nesta situação, as opções de tratamento são a remoção do dente afectado e o encerramento ortodôntico do espaço, a colocação de prótese removível, a colocação de prótese

fixa ou a substituição por autotransplante dentário (Malmgren & Malmgren 2007).

Os autotransplantes, tal como na implantologia, terão a sua popularidade aumentada quando houver conhecimentos adequados sobre a técnica e sobre a cicatrização, bem como quando surgirem novos produtos que funcionem como adjuvantes desta terapêutica.

O mecanismo do aparelho de inserção periodontal é complexo, porém a promoção da sua regeneração fisiológica é determinante no sucesso dos transplantes, constituindo um desafio investigar a forma de promover e mimetizar os eventos biológicos que ocorrem durante o desenvolvimento dos tecidos periodontais. Durante o desenvolvimento radicular, a bainha epitelial de *Hertwig* encontra-se envolvida na cascata desses eventos. Depois de ter ocorrido a mineralização da matriz de dentina primária, esta vai influenciar as células do mesênquima a diferenciarem-se em cementoblastos que posteriormente vão depositar matriz de cimento, sobre a dentina radicular (Ferraris 2004).

Como referimos na introdução deste trabalho, o Emdogain® é um material que tem na sua composição amelogeninas e que é utilizado na regeneração periodontal, por estimular o crescimento das células do ligamento periodontal e inibir o crescimento bacteriano (Gestrelius S., *et al.*, 2000; Hoang A.M., *et al.*, 2000; Hamamoto Y., *et al.*, 2002; Arweiler N.B., *et al.*, 2002; Spahr A., 2002; Schwartz F., *et al.*, 2004).

Baseado nestes pressupostos, avaliámos a influência do Emdogain® e compará-lo com o soro fisiológico, no processo de cicatrização dos transplantes dentários, a nível pulpar e da superfície radicular, recorrendo a duas técnicas cirúrgicas diferentes.

No estudo experimental em modelo animal, procurámos avaliar esses efeitos, ao nível histológico, histomorfométrico, molecular e de captação de  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP, em transplantes de dentes autólogos.

No estudo clínico, foram efectuados auto-transplantes dentários, e feitas avaliações clínicas e radiográficas das alterações pulpares e das superfícies radiculares, que ocorreram nesses dentes.

## **1. ESTUDO DE EXPERIMENTAÇÃO ANIMAL**

A concepção deste trabalho teve como objectivos avaliar a influência do ambiente biológico do local receptor, na cicatrização de dentes transplantados, quando os transplantes foram feitos para alvéolos que se encontravam em fase inicial de cicatrização, ou para alvéolos recém-formados.

Na literatura existem descritos trabalhos de investigação sobre transplantes de dentes, utilizando para o efeito diferentes animais como modelo experimental (Pedroso J., *et al.*, 1993; Mine K., *et al.*, 2005; Yanpiset K., *et al.*, 2000; Ritter A.L.S., *et al.*, 2004).

Apesar de vários autores terem usado roedores como modelo experimental (Pedroso J., *et al.*, 1993; Mine K., *et al.*, 2005), no nosso estudo optámos pelo cão de raça *beagle*. De facto o cão constitui um modelo animal com características excelentes para a realização de estudos experimentais, na área da endodôncia, especificamente em traumatologia, nos reimplantes intencionais e em autotransplantes dentários, como provam os numerosos estudos disponíveis (Trope M., *et al.*, 1992; Trope M., *et al.*, 1995; Levin L., *et al.*, 2001; Laureys W., *et al.*, 2001; Nethander G., *et al.*, 2003).

Sem dúvida que o modelo animal mais adequado para este tipo de estudos é o chimpanzé, dado tratar-se de um primata, com anatomia dentária semelhante à do homem, de acordo com

Andreasen JO. & Kristerson L., (1981); Bosco A.F., *et al.*, (2000); Khin M. M. & Sae-Lim V., (2003).

Claro que a utilização de cães tem inconvenientes quando os comparamos com os primatas, pois possuem variação anatômica do ápex radicular, com deltas apicais e forâmenes múltiplos, bem como dificuldade de extração dentária (Levin L., *et al.*, 2001).

Neste nosso estudo, a questão da variabilidade anatômica da região apical não interfere com o trabalho experimental, no que se refere à avaliação das alterações da superfície radicular de transplantes de dentes autólogos. No entanto, essa variação anatômica poderia influenciar o processo de revascularização pulpar, uma vez que os dentes não possuem um forâmen apical único e suficientemente amplo. Para obviar esse inconveniente foram utilizados animais com apenas 6 meses de idade, o que, para além de salvaguardar que os dentes definitivos se encontravam erupcionados, pressupunha que o ápex ainda era imaturo. Para evitar eventuais interferências hormonais, era vantajoso ainda, que houvesse uniformização quanto ao sexo. Assim, foram utilizados animais do sexo masculino, evitando desta forma os ciclos hormonais característicos das fêmeas (Shabestari L., *et al.*, 1967).

No que se refere à dificuldade de extração, não foi sentida neste estudo, presumivelmente devido à idade jovem dos animais, assim como à utilização de dentes monorradiculares. Deste modo reduziu-se o traumatismo exercido sobre o ligamento periodontal e sobre a superfície radicular, durante o procedimento de extração.

Outra vantagem do nosso modelo animal deve-se às características do cimento radicular, à espessura relativa do espaço periodontal e à velocidade de formação do cimento, consideradas semelhantes às do Homem (Araújo M.G., *et al.*,

2007). Porém como a cicatrização se processa a um ritmo aproximadamente duas vezes superior à dos primatas (Nethander G., *et al.*, 2003), esta aparente desvantagem pode, contudo, funcionar a nosso favor, pois possibilita um tempo experimental mais reduzido.

Quanto ao tipo de técnica cirúrgica, no presente trabalho, realizámos 48 autotransplantes, com utilização de duas abordagens cirúrgicas diferentes, no sentido de avaliar o efeito das condições locais dos alvéolos receptores sobre os dentes transplantados. Numa, designada por técnica cirúrgica A, os dentes foram transplantados para alvéolos, imediatamente depois de terem sido formados. Na outra (técnica B), após extracção, os alvéolos foram ampliados, suturados e 7 dias depois, realizados os transplantes (Skoglund A. & Hasselgren G., 1992; Nethander G., *et al.*, 2003).

Na superfície radicular dos dentes a transplantar, foi feita a aplicação tópica, de proteínas derivadas da matriz do esmalte (Emdogain®) ou de soro fisiológico, de acordo com o protocolo apresentado, para se avaliar a influência destes materiais na cicatrização pulpar e radicular.

As duas técnicas cirúrgicas revelaram ser acessíveis, para este tipo de trabalho de investigação, sem complicações pós-operatórias e possíveis de serem executadas, por uma equipa com algum treino e experiência cirúrgica.

Para a realização dos procedimentos cirúrgicos, todos os animais foram sujeitos ao protocolo anestésico em 2 fases (indução e anestesia) atrás descrito, não tendo surgido qualquer complicação, nem na fase anestésica, nem no pós-operatório.

Como a utilização de animais de experiência, em procedimentos cirúrgicos levanta dificuldades, relacionadas com o controlo da infecção, no nosso estudo para além da cobertura anti-biótica, durante 5 dias por via sistémica, com início imediatamente após a cirurgia, realizou-se também higienização diária com escova dentária e um gel de clorhexidina (Gregoriou A.P., *et al.*, 1994; Skoglund A. & Hasselgren G., 1992; Nethander G., *et al.*, 2003).

De facto durante todo o período experimental não tivemos qualquer intercorrência infecciosa, pelo que podemos garantir a ausência de variáveis não controladas a influenciar o processo biológico de cicatrização pulpar e do ligamento periodontal.

Durante a primeira semana, todos os animais usaram um colar isabelino para protecção da cabeça, no sentido de prevenir o traumatismo dos dentes transplantados, com as patas, ou pela mastigação de objectos duros, durante o tempo de recreio (Coelho P.J., 2003).

Da análise dos resultados pudemos verificar que, não houve perda de nenhum dos 48 dentes transplantados, tendo apenas ocorrido fractura coronorradicular do dente 11, no animal 5, o que parece indicar que as diversas abordagens de protecção utilizadas foram eficazes.

Como referido no capítulo de materiais e métodos, em cada acto cirúrgico realizámos transplantes dentários pela técnica A (transplantes para alvéolos recém-criados) e pela técnica B (transplantes para alvéolos em cicatrização). Em qualquer destas técnicas, houve especial cuidado em manter o dente fora do alvéolo o menor tempo possível. O pouco tempo de permanência

fora do alvéolo, dos dentes a transplantar, prende-se com o facto de ser crucial manter vivas as células do ligamento periodontal, uma vez que o ligamento periodontal possui um conjunto de células progenitoras, que se podem diferenciar em fibroblastos, osteoblastos e cementoblastos. De facto, estes procedimentos decorreram em todos os casos sem complicações e sem necessidade de se utilizarem meios de conservação (Comfort M.B., 1980; Hiltz J. & Trope M., 1991; Trope & Friedman 1992; Siang-Chih *et al.*, 1996; Azevedo P.C., *et al.*, 2007).

De acordo com o descrito, imediatamente antes da implantação, foi aplicado na superfície radicular dos dentes a transplantar ou soro fisiológico ou Emdogain®.

O soro fisiológico foi utilizado como parâmetro de comparação, uma vez que é somente uma solução isotónica aquosa de cloreto de sódio.

A aplicação de Emdogain® tem por base não só o seu efeito antibacteriano, mas também a capacidade de promover e estimular a mineralização, induzindo a formação de osteoblastos, através da inter-acção com o RANKL (Gestrelus S., *et al.*, 2000; Hoang A.M., *et al.*, 2000; Hamamoto Y., *et al.*, 2002; Arweiler N.B., *et al.*, 2002; Spahr A., 2002; Newman S.A., *et al.*, 2003; Schwartz F., *et al.*, 2004).

Apesar de, o fabricante aconselhar a aplicação de ácido diamino tetracético (EDTA) na superfície radicular antes da aplicação do Emdogain®, para remover a *smear layer* e expôr a matriz de cimento, a nossa opção não foi essa. Assim, optámos por não condicionar esta superfície com nenhum produto. Esta opção resulta de várias especificidades do mesmo procedimento. Em primeiro lugar, com o nosso protocolo não se desenvolveu *smear*

layer, uma vez que não foi feita instrumentação da raiz. Por outro lado, resultados apresentados por diversos autores mostram que o condicionamento com EDTA, além de não apresentar qualquer vantagem clínica acrescida (Sculean A., *et al.*, 2006; Parashis 2006), pode ainda estar na base do aparecimento de erosão e necrose epitelial na zona de aplicação (Poiars I., 2006) e o de apresentar um significativo padrão citotóxico sobre os macrófagos (Amaral K.F., *et al.*, 2007).

Associadamente, evitámos a remoção química e mecânica dos tecidos periodontais aderidos ao dente, de modo a facilitar a cicatrização do complexo dento-alveolar, uma vez que um dos cuidados fundamentais a ter, durante o procedimento em reimplantes e em transplantes dentários, é o de preservar ao máximo a actividade celular do ligamento periodontal e do cimento radicular (Thomas S., *et al.*, 1998; Tsubura *et al.*, 2003; Fong M.M., *et al.*, 2007).

De facto, os resultados obtidos com esta metodologia levaram à reinserção do dente no alvéolo, com formação dos tecidos de suporte envolvidos, o que veio não só reforçar a nossa opção na reduzida agressividade do procedimento cirúrgico, como também na interacção do Emdogain® no biomimetismo dos eventos celulares e na prevenção da reabsorção de substituição (Ninomiya M., *et al.*, 2002; Sculean A., *et al.*, 2003-b; Filippi A., *et al.*, 2006).

Depois de realizado o transplante, a ferulização constitui um aspecto importante a considerar. A nossa opção foi a de fixar os transplantes durante 7 dias, através da aplicação de um fio de sutura com seda 3/0, cruzado sobre o bordo incisal desses dentes. Este procedimento revelou-se adequado, com restabelecimento da

aparência normal dos tecidos circundantes, após a remoção da fixação.

A escolha do fio de sutura para a fixação tem por base o facto de as imobilizações funcionais ou semi-rígidas serem preconizadas porque previnem a anquilose após o transplante, o que não acontece com as ferulizações rígidas (Andersson L., *et al.*, 1985; Oikarinen K., 1991).

Quanto ao tempo de fixação ter sido de sete dias, prende-se não só com o facto de ser considerado suficiente para a ferulização semi-rígida (Andreasen J.O., *et al.*, 1994 e Nasjleti C., *et al.*, 1982), mas também o de outros resultados terem demonstrado que ao fim de 7 dias após o reimplante, já existia reinserção das fibras com restabelecimento das propriedades mecânicas do ligamento periodontal (Shinohara J., *et al.*, 2004).

Como corolário da metodologia usada, as observações clínicas e macroscópicas dos dentes transplantados e dos tecidos gengivais circundantes, não mostraram qualquer reacção adversa aos procedimentos cirúrgicos e aos materiais utilizados, não tendo ocorrido perda de nenhum transplante dentário.

O período experimental utilizado no nosso trabalho de investigação foi de 9 semanas, o que se revelou ser adequado para o estudo das alterações que nos propusemos avaliar. A escolha deste tempo pretendeu validar um tempo diferente do avaliado por outros autores, no sentido de evidenciar ou não a maior precocidade do processo de reabsorção/revascularização (Skoglund & Hasselgren 1981; Skoglund & Hasselgren 1992; Trope M., *et al.*, 1995; Levin L., *et al.*, 2001; Laureys W., *et al.*, 2001; Claus I., *et al.*, 2004; Azevedo P.C., *et al.*, 2007). Durante as 9 semanas que envolveram o período experimental, os animais foram observados diariamente e feita escovagem dos dentes com

escova dentária e gel de clorhexidina. Semanalmente foram pesados e o peso registado. Como referido nos resultados, o peso dos animais não mostrou alterações significativas, o que prova a boa recuperação funcional, assim como a cuidada manutenção.

A eutanásia dos animais foi feita 9 semanas depois de terem sido realizados os transplantes. Nos animais 1, 2 e 3 foi feita injeção nas carótidas de 40 ml de formol tamponado a 10%, depois de anestesiados como para a fase cirúrgica. Nos animais 4, 5 e 6 foi feita injeção endovenosa de cloreto de potássio, depois da aquisição de imagens de cintigrafia, de todo o esqueleto e após anestesia com ketamina (3 mg/ kg).

Após o período experimental os dentes foram avaliados, segundo o protocolo previamente descrito.

Quando se realiza um transplante, o objectivo maior é manter o dente e respectiva função. Assim, um dos objectivos é a recuperação da revascularização cuja avaliação é crucial para podermos caracterizar o processo de formação de dentina no dente transplantado.

Um dos métodos utilizados para essa avaliação é a radiologia, a qual nos permite medir o comprimento radicular e o encerramento apical, que são sinais indirectos do processo de revascularização.

Contudo, a realização de radiografias dentárias, mesmo digitais, levanta problemas, quando não é possível colocar o detector sempre na mesma posição, o que invalida a possibilidade de se fazerem medições.

Essa foi uma das dificuldades encontradas neste trabalho de investigação, mesmo recorrendo à utilização de posicionadores de películas, devido à anatomia da cavidade oral do cão.

Deste modo, a avaliação radiográfica só permitiu apreciar a ocorrência de obliteração do espaço pulpar, a presença de lesões peri-apicais e o estado da lâmina dura.

No entanto, em relação a estes parâmetros, os resultados obtidos, no final do período experimental, foram pouco conclusivos, no que se refere às técnicas cirúrgicas utilizadas e aos materiais aplicados na superfície radicular.

Esta dificuldade em avaliar a revascularização pulpar, através da radiologia, levou a que nos socorrêssemos de outras abordagens.

Uma foi a avaliação com microscopia de rotina e de fluorescência, após a injeção de corantes vitais durante o período experimental e antes da eutanásia, como foi descrito no capítulo de materiais e métodos. A administração em três tempos distintos, de três fluorocromos diferentes, permitiu estabelecer a dinâmica dos processos de formação de dentina, em cada um desses períodos.

Outra abordagem foi a avaliação do metabolismo fosfo-cálcico da dentina em formação, através da utilização de radiofármacos.

Finalmente, a abordagem através da biologia molecular permitiu-nos avaliar e quantificar a presença de factores de crescimento envolvidos no processo de revascularização pulpar, que culmina com a produção de dentina.

Para a microscopia de rotina, foi feita a observação histológica de dentes descalcificados, tão importante em estudos de investigação como este. As imagens apresentadas, demonstram que a metodologia seguida durante a preparação do material de estudo foi bem sucedida, comprovada pela qualidade dos cortes. O método de coloração utilizado foi essencialmente o da

hematoxilina eosina. Além desta, sempre que considerámos conveniente, realizámos o Azul Alcian PAS e o de Van Giesson, corando selectivamente as fibras de colagénio (Moral R.G.,1993). Pontualmente recorreremos à imunohistoquímica, keratina - MNF 116 para caracterização dos restos epiteliais de *Malassez* e à vimentina para caracterizar a existência da preservação celular no tecido pulpar.

Nos transplantes que efectuámos, ocorreu necrose pulpar na maior parte dos dentes, tanto nos transplantados com soro fisiológico, como naqueles em que foi utilizado o Emdogain®. Os nossos resultados são diferentes dos de Skoglund e Hasselgreen. Estes autores referem no seu trabalho que ao fim de 30 dias, na metade apical de todos os dentes já existe revascularização e que ao fim de 90 dias toda a polpa possui vasos funcionais (Skoglund A. & Hasselgreen G., 1992).

Um aspecto a considerar no trabalho de Skoglund e Hasselgreen (1992), que poderia ter influenciado os seus resultados, foi a utilização de cães com 4 meses de idade, com os dentes definitivos ainda por erupcionar, na altura dos transplantes. No nosso estudo todos os dentes se encontravam erupcionados e a idade dos animais era de 6 meses, no início do trabalho experimental.

De facto, a polpa é constituída por um tecido que se encontra envolvida por um tecido mineralizado, cuja irrigação sanguínea está totalmente dependente dos vasos que penetram através do foramen apical e não possuem circulação colateral.

Uma vez que o factor mais importante para ocorrer revascularização pulpar é a anatomia do ápex radicular e a maturação radicular, considera-se que os dentes com o diâmetro do *forâmen* superior a 1 mm, possuem um risco reduzido no

desenvolvimento de necrose pulpar (Andreasen JO., *et al.*, 1990b; Andreasen JO., *et al.*, 1990c).

É de referir que nos dentes transplantados, apenas houve inflamação pulpar em 4 dentes e naqueles em que ocorreu necrose isquémica, foi provavelmente motivada pela falta de restabelecimento da circulação pulpar, devido à forma da região apical dos dentes do cão e condicionantes técnicas.

No nosso estudo, observámos histologicamente de forma esporádica, em algumas amostras, a formação no espaço pulpar, de um tecido tipo osteodentina, que é considerada uma forma de cicatrização pulpar (Natiella J.R., *et al.*, 1979).

Para avaliarmos a formação dessa osteodentina utilizámos o microscópio de fluorescência na observação de material calcificado, obtido por desgaste dos dentes em estudo. No processo de formação de dentina, a utilização de fluorocromos foi fundamental para podermos avaliar a quantidade de dentina que se formou e a cronologia desses eventos. A decisão de realizar a injeção de Xilenol Orange antes das intervenções, da Calceína três semanas depois dos transplantes e da Oxitetraciclina 48 horas antes da eutanásia, fundamentou-se no comportamento biológico espectável da cicatrização pulpar. Assim, o primeiro fluorocromo permitiu marcar a quantidade de dentina que existia antes do transplante. A partir da terceira semana depois do transplante, é esperado que em 3/4 a 4/4 do canal já exista revascularização, e consequente formação de dentina, optando então pela injeção de Calceína (Skoglund A., Hasselgren G., 1992). A injeção da Oxitetraciclina permitiu quantificar a dentina formada entre a terceira e a nona semana, após o transplante e deste modo inferir sobre os aspectos da revascularização.

É evidente que durante o procedimento de transplante dentário, o tecido pulpar é interrompido a nível do *forâmen* apical, o que

provoca a secção do feixe nervoso e dos vasos sanguíneos, com o conseqüente compromisso de todas as células da polpa. A revascularização inicia-se então a partir da região apical, dependendo, entre outros factores, da interface existente entre o dente e o tecido circundante (Skoglund A., *et al.*, 1992; Laureys W., *et al.*, 2001; Schwartz O. & Andreasen J.O., 2002; Claus I., *et al.*, 2004).

Resultados histológicos referem que 2 dias depois de realizado o transplante, a camada de odontoblastos separa-se da parede de dentina e aparece um infiltrado crónico associado a uma hiperémia pulpar. Aos 14 dias, a polpa apresenta uma proliferação de fibroblastos e manutenção da inflamação crónica. Ao fim de 1 mês, diminui a inflamação da polpa e evidencia-se a formação de um tecido tipo dentina, com a regeneração nervosa aos 90 dias. Aos 720 dias, toda a polpa é substituída por um tecido tipo osso (Natiella J.R., *et al.*, 1979).

A formação de dentina e a sua mineralização requerem a mobilização de uma quantidade significativa de iões existentes no plasma, para locais da matriz extra-celular, onde são depositados sobre a forma de cristais de hidroxiapatite. A nível pulpar, os capilares do plexo sub-odontoblástico encontram-se bem localizados para possibilitarem esta transferência de iões. Deste modo, a forte correlação entre o suprimento sanguíneo e a extensão de mineralização, fornece-nos uma íntima conexão entre angiogénese e dentinogénese.

A capacidade de regeneração e de cicatrização da polpa dentária é bem conhecida. Como em qualquer outro tecido, a seguir à lesão ocorre um aumento de macrófagos, que é seguido pela proliferação de fibroblastos, de capilares e da formação de colagénio principalmente do tipo I.

No nosso estudo, a formação de osteodentina, no interior do espaço pulpar, que é considerada como um sinal de revascularização da polpa, ocorreu nos dentes com raízes curtas e cuja erupção ocorreu mais tarde, que foram os pré-molares transplantados (Natiella J.R., *et al.*, 1979).

Deste modo, confirmamos que a revascularização está, não só dependente do comprimento radicular, mas essencialmente do diâmetro do forâmen, como atrás referimos (Andreasen J.O., 1995-b).

A formação deste tecido pulpar é precedida de eventos biológicos complexos, que necessitam do recrutamento de células progenitoras da polpa, para se diferenciarem em células do tipo odontoblastos. As células indiferenciadas da zona celular rica de Höhl têm sido sugeridas como a fonte dessas células progenitoras. Além destas, as células estaminais, células pluripotentes existentes no tecido pulpar, oferecem a oportunidade de regeneração de células tipo odontoblastos, em resposta a determinados sinais como os factores de crescimento e de diferenciação (Tziafas D., *et al.*, 1998, Modino S.A.C., *et al.*, 2005).

Em relação aos estudos histológicos e histomorfométricos, os achados mais evidentes revelaram que o espaço periodontal e a cicatrização do ligamento periodontal foram restabelecidos em todos os dentes transplantados e que esta cicatrização ocorreu em todos os transplantes, independentemente da técnica cirúrgica ou do material aplicado na superfície radicular.

No nosso estudo foi possível observar em microscópio óptico, quer nas amostras onde utilizámos o soro fisiológico, quer naquelas onde se utilizou o Emdogain®, a presença de uma quantidade apreciável de restos epiteliais de Malassez, dispersos ao longo do ligamento periodontal e na proximidade da raiz (Fig.2.64 e 2.65).

Essas células epiteliais, encontradas no espaço periodontal e bem identificadas por imunohistoquímica (queratina-MNF 116), poderão exercer um papel fundamental na manutenção do espaço periodontal.

No final do período experimental foi também notório, em todas as amostras, a presença de cementoblastos anexados à face externa da raiz. O mesmo papel na manutenção do espaço periodontal tem sido atribuído aos cementoblastos existentes junto à raiz dos dentes (Fig.2.60) e à proteína Noggin, que se liga a outras da família das TGF- $\beta$ , para inibir as proteínas ósseas morfogenéticas (BSP e BMP) na diferenciação osteoblástica, na mineralização e na fusão do dente ao osso.

Em todos os cortes efectuados foi evidente a formação abundante de novo osso, com linhas de reversão bem patentes e sinais de glicosaminoglicanos, correspondente à região onde foi feita a instrumentação para confecção do novo alvéolo. Esse osso apresenta uma inserção profusa de fibras de Sharpey do ligamento, com a restituição da inserção periodontal e o restabelecimento do espaço periodontal correspondente, como referido. A ladear a superfície óssea, nota-se abundante quantidade de osteoblastos, envolvidos no processo de osteogénese (Fig.2.69). Estes nossos resultados são confirmados por trabalhos recentes, os quais também demonstram que o ligamento periodontal possui células progenitoras que participam na regeneração do osso alveolar (Ferraris G., *et al.*, 2004; Kim J.Y., *et al.*, 2007).

Em todas as amostras ocorreu reabsorção de superfície que cicatrizou com a deposição de novo cimento. Histologicamente, este tipo de cicatrização é caracterizado por áreas localizadas ao longo da superfície radicular, com aspecto de lacunas de reabsorção reparadas por novo cimento (Fig.2.71). Esta forma de

reabsorção é devida à lesão localizada do cimento ou do ligamento periodontal, que acaba por cicatrizar, graças à presença de células aí existentes ou derivadas do ligamento periodontal.

À luz dos conhecimentos actuais, os cementoblastos expressam genes e proteínas que também são comuns aos osteoblastos, possuindo o cimento grande semelhança com o osso. Os cementoblastos e os osteoblastos são fenotipicamente semelhantes, diferindo do ambiente onde se encontram. Conceitos recentes referem que sob o ponto de vista histológico, o tipo de cimento que se forma na regeneração periodontal é semelhante ao osso e diferente daquele que se forma durante o desenvolvimento radicular (Nanci A., *et al.*, 2003).

No nosso trabalho não ocorreu em nenhuma amostra, a substituição completa do espaço periodontal por tecido ósseo. O que observámos foi a formação localizada de um tecido osteóide aderente à superfície da raiz e insinuado no espaço periodontal (Fig.2.62). Esta forma de reabsorção pode ser considerada reabsorção de substituição transitória, como refere Andreasen J.O., (2007).

A quantificação histomorfométrica das zonas de reabsorção dos dentes em estudo, revelou haver diferença entre os grupos, relativas à cicatrização radicular, ao desenvolvimento de reabsorção de substituição e inflamatória.

Os resultados revelaram maior percentagem de cicatrização nos dentes transplantados com Emdogain®, comparativamente com os transplantes de dentes com soro fisiológico, não havendo, contudo, diferença estatisticamente significativa entre os grupos A1 e B1. Nestes grupos de dentes, a percentagem de reabsorção de substituição foi no entanto maior no grupo A1, enquanto a inflamatória foi mais extensa no grupo B1.

Rinkon e colaboradores referem que a adesão dos restos de Malassez, aumenta com a aplicação de 50 a 100 µg de EMD, conduzindo ao aumento de síntese de ADN (Rinkon J.C., *et al.*, 2005).

Ora a regeneração do cemento requer a existência de cementoblastos e de factores moleculares que regulem o seu recrutamento e diferenciação. Nas observações histológicas feitas aos dentes que transplantamos, verificámos o restabelecimento dessa reinserção e também uma quantidade abundante de células junto à superfície radicular, que estariam envolvidas no processo de reparação das lacunas de reabsorção. O ligamento periodontal poderá ser a fonte destas células ou também, poderão ser derivadas das células estaminais aí existentes (Grzesik W.J. & Narayanan A.S., 2002).

Na segunda abordagem para apreciação da revascularização pulpar, tirámos partido da informação capaz de ser fornecida pela Medicina Nuclear. Para isso usámos como radiofármaco, um derivado dos difosfonatos – o hidroximetileno difosfonato (HMDP) marcado com o  $^{99m}\text{Tc}$  ( $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP). Como já explicámos, este fármaco tem grande afinidade para os iões metálicos como o cálcio e o ferro, ao mesmo tempo que é capaz de dar informação sobre a distribuição local e regional do fluxo sanguíneo (Ziessman H.A., *et al.*, 2005).

Considerando que os difosfonatos têm uma elevada capacidade de adsorção ao fosfato de cálcio amorfo, como o que se encontra presente nas frentes de mineralização do osso, essa propriedade pode ser extrapolada para o processo de formação de dentina, que ocorre quando existem odontoblastos ou células tipo odontoblastos vitais para a produzirem. Apesar do mecanismo de ligação do

complexo do fosfato de tecnécio não estar ainda bem elucidado, parece que, as fibras de colagénio imaturas ou as enzimas dos tecidos como a fosfatase alcalina influenciam o processo (Ziessman H.A., *et al.*, 2005).

Também a mineralização da dentina é um processo que requer a transferência de grande quantidade de iões de cálcio, do plasma para os locais da matriz extra-celular, onde são depositados sobre a forma de cristais de hidroxiapatite. Foi esta analogia metabólica, que esteve na base da escolha da utilização dos derivados dos difosfonatos marcados com  $^{99m}\text{Tc}$ . Ao mesmo tempo, a forte correlação existente entre o aporte sanguíneo e a extensão de mineralização, fornece-nos uma íntima correspondência entre a angiogénese e a dentinogénese. Simultaneamente, dado que o processo de dentinogénese, se dá perante uma vascularização adequada do tecido pulpar e dos odontoblastos, o hidroximetildifosfonato (HMDP) constituiu uma forma adequada de análise sobre a vascularização sanguínea dos dentes em estudo, utilizando como controlo os dentes que não foram transplantados.

Deste modo, e como já referido nos materiais e métodos, após administração endovenosa de  $^{99m}\text{Tc}$ -HMDP e sacrifício dos animais, os dentes e restantes órgãos foram removidos, pesados e contada a radioactividade presente. Com os resultados obtidos, calcularam-se as contagens específicas por unidade de massa (g) de tecido.

Da análise deste método de avaliação verificámos que os dentes transplantados pela técnica A (alvéolos recém-criados), apresentavam uma maior captação de radiofármaco, quando comparados com os dentes submetidos à técnica B (alvéolos em cicatrização).

Do mesmo modo, os dentes transplantados com soro fisiológico apresentavam também um aumento discreto dessa captação, comparativamente com os dentes em que foi utilizado o EMD.

Como sabemos, o ligamento periodontal possui um papel fundamental na manutenção do dente no interior do alvéolo e na função oclusal. Contudo, não existe um conhecimento adequado sobre a contribuição e o papel dos diversos componentes celulares e moleculares do ligamento periodontal no desenvolvimento das estruturas de suporte do dente, como sejam o osso alveolar, o cimento radicular e a manutenção do espaço periodontal. O ligamento periodontal é o único tecido conjuntivo não mineralizado, capaz de ao mesmo tempo ser uma fonte de células para a formação de tecido mineralizado. Ele contém células progenitoras indiferenciadas que originam fibroblastos, osteoblastos e cementoblastos. Desconhece-se, no entanto, se é uma célula progenitora comum que dá origem a estes tipos celulares diferentes, ou se são células diferentes à partida. De facto, no nosso estudo, em todos os dentes transplantados, independentemente da técnica ou do material utilizado, houve a formação de um espaço periodontal, preenchido por fibras de Sharpey a inserirem-se no dente e no osso alveolar (Fig.2.58).

O método de quantificação por *RT-PCR* tornou-se na actualidade, numa ferramenta preciosa para análise de expressão de múltiplos genes, sendo esta abordagem pela biologia molecular, a nossa terceira avaliação.

O método utilizado para extrair e amplificar o ARNm para os produtos dos genes específicos, confirmou-se adequado para a detecção da fosfatase alcalina (ALP), relacionada com a actividade funcional dos odontoblastos, dos cementoblastos e dos osteoblastos, bem como dos factores de crescimento dos fibroblastos (FGF), do ligando do receptor nuclear K (RANKL), do factor de crescimento vascular endotelial (VEGF) e da

gliceraldeído fosfato desidrogenase (GADPH), utilizada como controlo interno das amostras. Os produtos de *RT-PCR* funcionaram nas amostras de controlo e também em algumas amostras experimentais.

Como, os factores de crescimento constituem um grupo de polipeptidos envolvidos na quimiotaxia, diferenciação e proliferação celular e na síntese da matriz extra-celular, os eventos que ocorrem durante a cicatrização dos tecidos, são fortemente influenciados por esses factores (Sørensen V., *et al.*, 2006; Gottrup F., 2007).

Quanto ao factor de crescimento vascular endotelial (VEGF), os resultados sobre a expressão do seu ARNm, mostraram que a sua presença ocorria a nível pulpar, com valores variáveis. Estes resultados confirmam as observações histológicas sobre o desenvolvimento de um tecido osteóide no espaço pulpar e de vasos, presentes em algumas amostras. Verificámos que nos transplantes efectuados pela técnica cirúrgica A (transplantes de dentes para alvéolos recém-criados), ocorreu maior expressão deste factor de crescimento, do que naqueles que foram efectuados pela técnica cirúrgica B (transplantes de dentes para alvéolos em cicatrização).

Estes resultados, obtidos através de biologia molecular, apontam para a possibilidade de revascularização dos transplantes, com formação de tecido mineral. Os nossos resultados são corroborados pelos de Tran-Hung L., *et al.*, (2008), ao referir que o tecido pulpar após injúria, segrega factores de crescimento angiogénicos que precedem a formação de dentina reparadora.

Quanto à fosfatase alcalina é de referir que os seus níveis de expressão foram maiores a nível pulpar do que no ligamento

periodontal. Essa diferença resulta da influência da fosfatase alcalina na formação de dentina e de tecido mineralizado tipo dentina. Os nossos resultados estão de acordo com os encontrados por outros autores os quais verificaram que as células pulpares possuem maior capacidade de formar nódulos de cálcio, do que as do ligamento periodontal (Zussman W.V., 1996).

Dos resultados obtidos por *RT-PCR*, verificámos a nível pulpar que nos dentes em que foi utilizado o Emdogain® ocorreu uma expressão mais elevada da fosfatase alcalina, a qual, como temos referido, está relacionada com a formação de tecidos mineralizados. Os resultados por nós obtidos, confirmam que o Emdogain®, possivelmente possui, um efeito semelhante, tanto nos osteoblastos como nos odontoblastos, não sendo necessário o contacto celular directo com o produto, para induzir a proliferação destas (Tziafas D., *et al.*, 1998; Jiang H-W., *et al.*, 2006).

A expressão deste gene é reveladora da existência de células pulpares vitais, com capacidade para produzirem tecidos mineralizados. Essa quantificação foi obtida nos grupos A1 e A2, onde foi possível comparar os resultados entre estes grupos de dentes. Verificámos que a expressão de ARNm para a fosfatase alcalina foi mais expressiva nos dentes do grupo A1 (QR=5±4,7) do que nos do grupo A2 (QR=4,4±4,6). Estes resultados corroboram a demonstração de Jiang (2006), que refere não ser necessário o contacto directo do Emdogain® com as células, para induzir a proliferação celular, podendo o seu efeito ser mediado por peptídeos do tipo dos factores transformantes beta (TGF-β1) e de proteínas ósseas morfogénicas (BMPs).

Os nossos resultados, mostraram que os dentes transplantados para alvéolos em cicatrização, apresentaram no ligamento

periodontal, maior expressão de ARNm para o factor de crescimento dos fibroblastos (FGF), do que nos dentes de controlo. No entanto, os dentes transplantados para alvéolos recém-criados, com utilização de Emdogain®, também apresentaram valores elevados deste gene. Esse aumento poderá estar relacionado com o efeito das proteínas utilizadas nos dentes pertencentes a esse grupo, podendo deste modo exercer alguma influência a nível celular. Este factor de crescimento foi já demonstrado *in vitro* que a sua aplicação tópica em células do ligamento periodontal, induz significativamente a regeneração dos tecidos, por aumento da angiogénese e da produção de ácido hialurónico (Shimabukuru Y., *et al.*, 2005).

Os nossos resultados estão de acordo com os de Katayama *et al.*, (2006) que referem que o transplante de tecidos em proliferação, poderá ser útil na indução da formação de cimento e de ligamento periodontal, melhorando consideravelmente os resultados nos transplantes dentários. Como o FGF aumenta a proliferação de fibroblastos do ligamento periodontal, enquanto leva à redução da expressão do ARNm para a ALP é possível que o transplante em duas fases seja benéfico para a cicatrização do LPD (Garant P.R., 2003).

O RANKL é uma proteína de membrana dos osteoblastos, mas, tal como a osteoprotegerina (OPG), também existe sob a forma circulante. Ambas pertencem à família dos factores de necrose tumoral (TNF). Para ocorrer a diferenciação dos osteoclastos, é necessário a activação do RANK dos pré-osteoclastos, pelo RANKL. No entanto, quando a osteoprotegerina se fixa ao RANK, impede que este se ligue ao RANKL e que desta forma, não ocorra actuação dos osteoclastos. A formação de células odontoclásticas é semelhante ao mecanismo de formação

dos osteoclastos, em que, no caso de reabsorção de substituição, o dente passa a fazer parte integrante deste sistema e a raiz é transformada gradualmente em osso (Andreasen J.O., 1992). Durante a fase de remodelação óssea, as células do ligamento periodontal expressam grandes quantidades de RANKL e existe uma redução da expressão de osteoprotegerina.

Como a avaliação da expressão de ARNm do RANKL, no ligamento periodontal dos dentes transplantados, através de RT-PCR em tempo real foi feita depois de ter sido quantificada a expressão de ARNm do FGF e do ALP, restou pouco material para quantificar a expressão deste gene. Nas amostras em que foi utilizado o Emdogain®, a expressão de RANKL foi superior à das amostras de controlo. Estes resultados estão de acordo com os trabalhos de Schjott M & Andreasen J.O., (2006), mas diferentes das conclusões de outros autores como Ninomiya M., *et al.*, (2002), Sculean A., *et al.*, (2003-b) e Filippi A., *et al.*, (2006), que mencionam a utilização do Emdogain®, na prevenção da reabsorção radicular. No entanto o aumento de expressão do RANKL, provocado por este produto, indica que este possui factores bioactivos que induzem a formação de osteoclastos e um efeito osteotrópico, participando na regeneração óssea através da reabsorção e da formação de osso.

Apesar de, o osso ser um tecido que se encontra em remodelação constante, ocorrendo a sua formação e a sua reabsorção respectivamente pelos osteoblastos e osteoclastos, desconhece-se qual o mecanismo que leva à manutenção do espaço periodontal. É possível que o Emdogain®, possua um efeito preventivo no desenvolvimento de reabsorção de substituição e de anquilose, ao estimular a produção de RANKL e desta forma regular a formação de osso e a reabsorção. Os nossos resultados

sobre o efeito do Emdogain<sup>®</sup>, na produção de RANKL, são coincidentes com os demonstrados por Otsuka (2005), em culturas *in vitro* de osso.

O cimento é um tecido mineralizado complexo que envolve a dentina radicular. O cimento acelular está associado com o início da cementogénese e encontra-se localizado na região mais coronária da raiz. À medida que nos aproximamos da região apical, a espessura de cimento aumenta e, histologicamente, apresenta-se como um cimento de tipo celular.

Algumas questões, no entanto persistem controversas, não se sabendo se os cementoblastos são células únicas que se diferenciam para formar o cimento, ou se pertencem ao mesmo fenotipo dos osteoblastos.

Numa análise global dos resultados, podemos dizer que os transplantes demonstraram ser eficazes na substituição de dentes ausentes, independentemente da técnica cirúrgica utilizada.

Quanto à técnica, o transplante em dois tempos cirúrgicos, separados por um intervalo de 7 dias, parece justificar-se uma vez que, a cicatrização do ligamento periodontal é melhor, como foi observado no estudo histomorfométrico. De facto, verificámos que nos dentes do grupo B (transplantes para alvéolos em cicatrização) houve um aumento da cicatrização da superfície radicular, quando comparado com os dentes do grupo A (transplantes para alvéolos recém- formados).

Quanto ao material de aplicação na superfície radicular, o Emdogain<sup>®</sup>, também influencia a cicatrização, como se observou no estudo histomorfométrico. Neste, observaram-se menos reabsorções de substituição e inflamatória, apesar de não haver

em relação à revascularização pulpar, diferença significativa entre os grupos de estudo.

## **2. ESTUDO CLÍNICO**

Escolhemos para participar neste estudo, doentes saudáveis e com boa higiene oral, mas que apresentassem uma destruição irrecuperável dos primeiros ou segundos molares definitivos, e tivessem terceiros molares com a raiz formada ou em formação. Dentro dos critérios de inclusão considerámos ainda doentes que possuíssem agenesia de pré-molares e indicação para terapêutica ortodôntica com extracções. Foram também incluídos neste estudo clínico, reimplantes intencionais de dentes em que ocorreu insucesso na terapêutica endodôntica não cirúrgica, onde houvesse impossibilidade de realizar microcirurgia apical, pela proximidade de estruturas anatómicas.

Todos os doentes tiveram de assinar o consentimento informado para o tratamento proposto, de acordo com o parecer da Comissão de Ética para a Saúde e a autorização do Conselho de Administração dos Hospitais da Universidade de Coimbra (Anexos II, III e IV).

De acordo com o objectivo do estudo clínico, pretendemos identificar as diferenças, relacionadas com as terapêuticas aplicadas e com o tipo de técnicas cirúrgicas usadas. Para isso, como referido no capítulo de materiais e métodos, os doentes foram seleccionados de forma aleatória, independentemente da idade ou do sexo. A separação em grupos foi feita de forma independente, de modo a que num grupo a superfície radicular fosse sujeita a tratamento tópico de Emdogain<sup>®</sup>, enquanto no outro, fosse sujeita a aplicação tópica de soro fisiológico.

Também a separação dos doentes sujeitos à técnica cirúrgica A (transplantes para alvéolos recém-criados) e à técnica cirúrgica B (transplantes para alvéolos em cicatrização), foi realizada de forma aleatória.

Assim, foram executados 28 transplantes autólogos em 26 pacientes, com idade média de 22,34 anos  $\pm$  8,14 (Med  $\pm$  DP), compreendida entre os 11 e os 43 anos. Os dentes dadores incluíram 22 molares, 3 pré-molares e 3 caninos.

Quando falamos de aplicações clínicas, não devemos distinguir somente entre o sucesso e o insucesso, pois um sucesso imediato pode vir a transformar-se num insucesso, devido ao desenvolvimento de anquilose ou de reabsorção de substituição. Assim, devemos ter em linha de conta, também a sobrevivência.

Sob o ponto de vista do sucesso, considerámos que a terapêutica teve sucesso, sempre que o dente manteve a função mastigatória, com ausência de patologia periapical, de reabsorção inflamatória e de anquilose alvéolo-dentária.

Sob o ponto de vista do sobrevivência considerou-se que existiu sobrevivência, sempre que o dente se manteve presente na arcada, contemplando as suas funções e sem desconforto para o doente. No nosso estudo clínico somente foram perdidos dois dentes transplantados, um devido a reabsorção inflamatória e o outro devido à persistência de periodontite apical. A taxa de sobrevivência foi assim de 93%, a qual é comparável com a de outros estudos (Andreasen J.O., 1990; Czochrowska *et al.*, 2002; Jonsson e Sigurdsson 2004).

De facto, a reabsorção de substituição é mencionada habitualmente como a complicação mais severa do transplante dentário, uma vez que não existe uma terapêutica adequada a

esta situação. No nosso estudo clínico ocorreu o desenvolvimento de anquilose, diagnosticada clínica e radiograficamente em 4 dentes transplantados, o que corresponde a um valor de 14,8%.

Outros autores também referem esta complicação nos transplantes por eles realizados (Andreasen J.O., *et al.*, 1990; Paulsen *et al.*, 1995; Czochrowska *et al.*, 2002; Jonsson & Sigurdsson 2004).

A percentagem por nós obtida de insucesso, de 22% pode ter a ver com o tipo de dente e o estado de maturação radicular. De facto, quanto menos raízes e mais imaturo for o dente a transplantar, melhor serão os resultados esperados (Andreasen J.O., *et al.*, 1990; Paulsen *et al.*, 1995; Czochrowska *et al.*, 2002; Jonsson & Sigurdsson 2004). Estas duas características estão na base de uma maior redução do traumatismo sobre os tecidos periodontais, no acto da extracção. No nosso caso, em que os dentes transplantados incluíam 22 molares, com duas e três raízes e a maior parte deles adultos, os três factores de agravamento de prognóstico (idade adulta, dentes plurirradiculares e traumatismo) estavam presentes.

Um outro processo de anquilose ocorreu num canino, o qual já apresentava anquilose anterior, confirmada na fase de reimplante.

Neste estudo os meios de diagnóstico utilizados foram os exames radiográficos, os testes de sensibilidade térmica ao frio, os testes de sensibilidade à percussão, os testes de mobilidade e a medição do sulco gengival. Estes foram sempre realizados nas consultas de controlo. Estas consultas foram efectuadas ao fim de 10 dias, 1 mês, 3 meses, 6 meses, 12 meses e anualmente, até aos  $35,07 \pm 12,9$  meses (Med  $\pm$  DP), compreendidos entre os 10 e os 52 meses.

Dos resultados obtidos considerámos a existência de necrose pulpar, quando os testes de sensibilidade se apresentavam negativos, quando havia dor à percussão vertical e quando radiograficamente havia sinais de reabsorção inflamatória com presença de uma área radiotransparente periapical (Andreasen J.O., 1995; Bauss O., 2002). Estes sinais permitem-nos tirar ilações sobre a revascularização ou não do dente transplantado. Nos dentes transplantados que apresentavam o ápex aberto, ocorreu revascularização em 92% dos casos, o que está de acordo com os dados da literatura (Andreasen J.O., *et al.*, 1990 b; Andreasen J.O., *et al.*, 1995; Tsukiboshi M., 2001).

Deve ser ainda tido em conta que a revascularização e a cicatrização pulpares estão dependentes do diâmetro do forâmen assim como do comprimento radicular.

Os nossos resultados indicam que quanto mais curta é a raiz ( $L < 8,07\text{mm}$ ) e quanto maior o diâmetro do forâmen ( $> 1\text{mm}$ ), maior é a possibilidade de revascularização pulpar.

Quando no nosso estudo apareceram sinais clínicos e radiográficos indicadores de patologia pulpar ou periapical realizámos terapêutica endodôntica, o que aconteceu em 39% dos transplantes realizados. Por outro lado, nos dentes com o ápex aberto só houve necessidade de realizar terapêutica endodôntica em apenas 8% dos mesmos.

Apesar de, os nossos resultados estarem de acordo com a literatura, (Andreasen J.O., *et al.*, 1990b; Andreasen J.O., *et al.*, 1995; Tsukiboshi M., 2001) uma questão que se mantém polémica, é saber o momento adequado para a realização da terapêutica endodôntica após o transplante. A nossa opção foi realizá-la logo que houvesse sinais clínicos e radiográficos compatíveis com necrose pulpar, e não num intervalo de tempo constante logo após

o transplante, como preconizado por outros autores (Gault & Warocquier-Clerout 2002).

A nosso favor, estão também resultados vindos de experimentação animal, os quais referem não haver diferenças em fazer o tratamento endodôntico aos 15 ou aos 40 dias após o transplante, uma vez que a reabsorção inflamatória não era significativamente diferente (Azevedo P.C., *et al.*, 2007).

De acordo com os nossos resultados e suportados por este estudo experimental, podemos dizer que, a realização do tratamento endodôntico, deve ser feito após a cicatrização completa do ligamento periodontal. Este facto tem grande importância e relevância clínica, pois um tratamento endodôntico muito precoce, pode encontrar o dente ainda com alguma mobilidade, o que é desconfortável para o doente e para o Médico Dentista.

Outros factores importantes que influenciam o sucesso dos transplantes são, além das condições relacionadas com o dente dador e com o hospedeiro, a técnica cirúrgica utilizada, o tipo de fixação aplicado, a destreza manual e a experiência do operador.

No estudo clínico que desenvolvemos, todos os transplantes foram realizados pelo mesmo operador e, como referimos, utilizadas duas técnicas cirúrgicas diferentes, a técnica cirúrgica A (transplantes para alvéolos recém-criados) e a técnica cirúrgica B (transplantes para alvéolos em cicatrização).

Na técnica cirúrgica A, não existiam células da membrana periodontal nas paredes alveolares, que deste modo pudessem influenciar o processo de cicatrização. Além disso, durante a fase de instrumentação para preparar o leito receptor, ocorrem reacções nos tecidos que podem afectar o processo de

cicatrização e de revascularização. É ainda de considerar nesta técnica cirúrgica, que a existência de um espaço desajustado entre o leito receptor e o transplante, ou a falta de adaptação do dente ao alvéolo, pode dificultar o desencadeamento dos processos biológicos envolvidos na cicatrização

O transplante em duas fases, (técnica cirúrgica B), teve por objectivo proporcionar ao enxerto um ambiente bem vascularizado e com biomoléculas activas, para que fosse facilitada a sua revascularização. Outro objectivo adicional desta técnica cirúrgica foi o de impedir o contacto directo da superfície radicular com o osso, prevenindo deste modo, o desenvolvimento da anquilose. Além destes objectivos, era também possibilitar a redução do tempo extra-oral do dente e assim reduzir a dissecação das células do ligamento periodontal.

Também durante a fase de extracção e da colocação do dente no interior do alvéolo receptor, houve o cuidado de manter as células do ligamento periodontal vivas, evitando serem lesadas. Nesse sentido, o alvéolo foi formado mecanicamente, de forma a possuir o espaço adequado para que o transplante não contactasse directamente com as paredes ósseas. Esse contacto directo poderia levar à invasão das células do osso alveolar, que por um lado iriam destruir a camada de cementoblastos, que se encontravam na superfície radicular, e por outro iriam competir com eles, conduzindo ao aparecimento de reabsorção de substituição.

De facto o espaço mesio-distal, vestibulo-lingual e vertical, do alvéolo receptor foram convenientemente avaliados, uma vez que são factores a ter em consideração e de fundamental importância neste tipo de terapêutica. Esta avaliação deve ser convenientemente analisada, para se considerar ou não a possibilidade de execução do transplante. Deste modo, em sentido vestibulo-

lingual, deve existir pelo menos 1 mm de osso cortical e 0,5 a 1 mm de osso esponjoso. Em sentido mesio-distal a espessura de 1 mm de osso transeptos, de cada lado, é também fundamental. Em sentido vertical, por vezes existem impossibilidades na realização desta terapêutica, devido à presença de estruturas anatómicas adjacentes, sendo necessário avaliar cuidadosamente o comprimento do dente a transplantar e também a existência de espaço disponível (Andreasen J.O., 1992).

É ainda de considerar que, a existência de um contacto óptimo entre o local receptor e o dente a transplantar, são de fundamental importância, para garantir um suprimento sanguíneo adequado à nutrição do ligamento periodontal e para facilitar a revascularização do tecido pulpar. Outros autores também atribuíram a taxa de insucesso dos transplantes dentários, à deficiente irrigação da superfície radicular destes dentes. Essa deficiente nutrição poderia ser motivada pelo espaço existente entre o leito receptor e a superfície radicular, que era ocupado pelo coágulo sanguíneo. Estes autores realizaram então um estudo clínico com 57 dentes, com as raízes completamente formadas. (Nethander G., *et al.*, 1988).

Quando praticámos a técnica cirúrgica A, constatámos a reabsorção radicular inflamatória em 22% dos casos e anquilose em 7,5%. No caso da técnica cirúrgica B, a reabsorção inflamatória diminuiu para 11% e a anquilose foi também de 7,5%. Apesar destes valores, não houve diferença estatisticamente significativa entre os dentes dos vários grupos (Tabela 3.13).

Após a selecção da técnica cirúrgica, é necessário escolher o material a colocar na superfície do dente a transplantar. A nossa opção, como referido no capítulo material e métodos, foi comparar

a aplicação de Emdogain<sup>®</sup>, com o soro fisiológico estéril, no sentido de avaliar a sua influência na cicatrização pulpar e do ligamento periodontal.

Dos resultados obtidos, não há diferenças estatisticamente significativas, quando comparamos os dois materiais entre si, nem quando os comparamos em relação às duas técnicas aplicadas (Tabela 3.13).

Estes resultados indicam que qualquer dos materiais usados induz a formação de ligamento periodontal, independentemente da técnica cirúrgica ou do estado de maturação radicular.

A fixação do transplante é um outro aspecto crítico a ter em consideração na técnica operatória. O propósito da ferulização do transplante é possibilitar a estabilidade adequada, durante a fase inicial de cicatrização, enquanto o dente se encontra com grande mobilidade.

No estudo clínico que desenvolvemos, realizámos a fixação do transplante com fio de seda 3/0, a cruzar a superfície oclusal e que se removeu ao fim de 10 dias. O método que praticámos, revelou ser adequado, para a fixação de transplantes e reimplantes dentários, o que é confirmado por outros autores (Andreasen J.O., 1992; Akkocaoglu M. e Kasaboglu O., 2005; Oikarinen K., 2007). Essa fixação pode ser realizada com fio ortodôntico flexível e resina composta, se as raízes são curtas, ou o dente transplantado não possui adjacente, para ajudar à sua estabilidade.

Como já referimos, optámos por usar a fixação com seda de sutura, o que constituiu um método fácil e efectivo para a estabilidade do dente no local receptor, durante o período inicial de cicatrização, o que mostrou ser eficiente (Andreasen J.O., 1992; Oikarinen K., 2007).

Com esta metodologia de fixação, é de crucial importância a higiene oral pelo que, este foi um aspecto importante a ter em atenção, para o sucesso da terapêutica. Nesse sentido, durante a primeira semana os doentes foram instruídos a fazer bochechos de clorhexidina depois da escovagem, bem como a manter uma higiene oral cuidada. Assim, com a utilização deste protocolo, não se verificou acumulação de placa bacteriana, que pudesse ter influenciado os resultados.

No que se refere à informação sobre a revascularização pulpar, ela é de extrema importância para manter a vitalidade do dente transplantado. Se estiver ausente, irá instalar-se necrose pulpar, com a consequente necessidade de intervenção endodôntica.

No estudo por nós realizado, os testes de sensibilidade térmicos, de percussão e os exames radiográficos permitiram detectar a necessidade de terapêutica endodôntica em 73% dos casos de dentes transplantados com o ápex encerrado, enquanto nos dentes com o ápex aberto, apenas foi necessário realizar tratamento endodôntico em 8%. Esta diferença, estatisticamente significativa ( $p=0,0002$ ), mostra que quando o ápex se encontra aberto, há maior probabilidade de ocorrer revascularização pulpar.

A terapêutica endodôntica aplicada às situações de necrose pulpar, seja em dentes com o ápex aberto ou encerrado, foi realizada na tentativa de controlar o processo inflamatório e aumentar a longevidade do dente transplantado. A preparação química e mecânica realizada obedeceram aos princípios de instrumentação mecanizada, com utilização do sistema Profile® e com o hipoclorito de sódio a 2,5%, para irrigação do canal.

No nosso estudo optámos pela colocação do hidróxido de cálcio, no interior do sistema de canais, apesar de outras terapêuticas

serem propostas para prevenirem a reabsorção inflamatória em transplantes e reimplantes dentários (Mori & Bramante (2007).

A nossa opção foi feita com base nas suas propriedades biológicas e na capacidade de ionização, responsável pela alcalinização do meio (Safavi e Nichols 1985; Safavi e Nichols 1993; Jiang *et al.*, 2003). Para conseguirmos um bom preenchimento do sistema de canais radiculares com hidróxido de cálcio, optámos pela injeção e utilização do *lentulo*, accionado através de contra-ângulo de baixa rotação (Teixeira & Trope 2005; Simcock *et al.*, 2006).

No que se refere à substituição do hidróxido de cálcio, em alguns casos, decidimos realizá-la mensalmente, até se controlar o processo inflamatório (Tsukiboshi 2001).

Na obturação dos canais radiculares optámos por utilizar esta técnica termoplástica, sistema Thermafil<sup>®</sup> e o cimento de resina Top-Seal<sup>®</sup>, para selamento. Esta opção foi feita por ser considerada uma técnica superior à compactação lateral de guta-percha ou a outras utilizadas na actualidade (Gutman J.L., 1993-I; Ferreira M.M., *et al.*, 2006; Lodiene G., Ørstavik D., 2008). O cimento de Top Seal<sup>®</sup> apesar de possuir na sua composição uma resina epoxi, foi utilizado porque apresenta uma toxicidade reduzida quando comparado com outros cimentos endodônticos à base de resina, de hidróxido de cálcio, ou de silicone (Eldeniz *et al.*, 2007; Lodiene G., Ørstavik D., 2008).

Quanto ao sucesso dos transplantes, o estudo clínico por nós realizado permitiu-nos dizer que não há diferenças significativas, em relação à cicatrização periodontal, pois os dentes transplantados pela técnica cirúrgica A, tiveram comportamento semelhante ao dos dentes da técnica B ( $p=0,764$ ), nem em relação

à utilização do Emdogain<sup>®</sup>, quando comparado com o soro fisiológico, ( $p=0,505$ ).

Como apreciação global, podemos dizer que o nosso estudo clínico suporta a hipótese de que os transplantes de terceiros molares e de pré-molares para substituir os dentes perdidos por cáries ou ausentes por agenesias, constituem uma alternativa viável à reabilitação com prótese convencional ou com implantes.

Também pensamos que os transplantes apresentam mais benefícios locais do que os implantes, uma vez que têm o potencial de indução óssea e de restabelecerem um processo alveolar normal. Além disso, ao preservarem a largura da crista alveolar, em caso de insucesso, permitem que mais tarde seja feita a colocação de um implante, sem necessidade de recorrer a terapêutica de regeneração óssea.

Por outro lado, esta forma de terapêutica, além de económica, possibilita uma reabilitação imediata, comparativamente com outros métodos. Assim, o tratamento pode ser realizado num só acto cirúrgico, e uma vez realizado o transplante, é restabelecida a função proprioceptiva e a cicatrização do ligamento periodontal, o que possibilita o reaparecimento da sensação mastigatória e fisiológica natural. Esta terapêutica tem ainda como vantagem, o facto de estes dentes poderem servir como pilares para prótese fixa e ainda serem movimentados ortodonticamente, bem como permitir que o crescimento alveolar se mantenha, nos adolescentes sem haver alterações funcionais e compromissos estéticas.

Contudo, esta terapêutica não está recomendada em pacientes com grandes áreas sem dentes e em doentes com alterações sistémicas, policariados ou que possuam má higiene oral (Kim E., 2005).

Dado que o curso biológico de um transplante é directamente influenciado por condições pré, per e pós-operatórias, é necessário que estas sejam conhecidas pelo operador e consideradas como factores de prognóstico para o sucesso da terapêutica.

Dos diversos aspectos a ponderar durante o transplante, o traumatismo cirúrgico induzido ao dente, constitui um dos factores fundamentais para o sucesso. Assim, a lesão do ligamento periodontal e do cemento radicular deve ser evitada. Para isso o dente deve ser mantido fora do alvéolo por um período de tempo mínimo, bem como, não tocar na superfície radicular durante a extracção e a sua colocação no local receptor. O mínimo traumatismo ao ligamento periodontal e o tempo extra-oral, são condições que garantem a sobrevivência das células do ligamento periodontal e previnem a eventual instalação de reabsorção radicular, considerada a complicação mais perniciosa para a sobrevivência do transplante.

A compatibilidade dimensional entre o dente a transplantar e o local receptor, irá adequar a posição de dente no alvéolo e na arcada dentária, garantindo o restabelecimento estético e funcional da terapêutica. Esta compatibilidade irá também influenciar a preservação das células do ligamento periodontal. Nesse sentido deve ser feita uma avaliação cuidadosa das dimensões do dente a transplantar e fabricar uma réplica em acrílico com a mesma forma e tamanho do dente dador. Esse dente modelo, irá ser então utilizado, para operar o alvéolo receptor, que deverá possuir uma dimensão um pouco maior do que a do dente a transplantar.

A técnica a usar no transplante, parece não influenciar o resultado entre as duas. O mesmo resultado surge quando consideramos os dois materiais usados.

Em relação às consultas de controlo programadas, foram aceites pela maioria dos pacientes.

Apesar de, quatro dos dentes transplantados terem desenvolvido reabsorção de substituição, observamos que se mantêm a desempenhar a função oclusal. É certo que, com o decorrer do tempo, possa haver a substituição completa da raiz por osso. No entanto, desse facto não resultou prejuízo estético ou funcional para os doentes, uma vez que eram adultos e já tinham terminado o crescimento vertical.

Com base nos nossos resultados, podemos também afirmar que os transplantes de dentes autólogos, quando indicados, oferecem um tratamento alternativo e por vezes único, para restaurar a gengiva, as faltas de dentes e possibilitar o crescimento ósseo sem alterações dimensionais. Todavia esta solução deve ser bem planeada e discutida com o paciente ou o seu responsável, no caso de se tratar de um doente menor.

Uma dificuldade que se coloca é a avaliação, durante as consultas de controlo, da vitalidade pulpar destes dentes. Esta avaliação é considerada de fundamental importância, para que, em caso de necrose pulpar, se proceda a terapêutica endodôntica.

## CAPÍTULO V

### CONCLUSÕES

---

#### 1. ESTUDO EXPERIMENTAL

Do estudo *in vivo* podemos concluir que:

1. O procedimento cirúrgico realizado revelou ser adequado a este tipo de trabalho experimental;
2. O osso alveolar formou-se, mantendo constante a presença de um espaço entre o osso e a superfície do cimento radicular, com o desenvolvimento de novo ligamento periodontal;
3. O ligamento periodontal tem a capacidade de induzir a formação de osso;
4. A utilização de *RT-PCR* na pesquisa de genes, pode ser útil na clarificação dos eventos moleculares que ocorrem nos transplantes dentários;
5. A utilização do Emdogain® mostrou ser tão eficaz como o soro fisiológico na prevenção da reabsorção de substituição e na cicatrização do cimento radicular;
6. A técnica cirúrgica de transplantes para alvéolos recém-criados, parece ser superior à técnica cirúrgica de transplantes para alvéolos em cicatrização, no que se refere ao desenvolvimento da revascularização pulpar;
7. A técnica cirúrgica de transplantes para alvéolos em cicatrização, é semelhante à técnica cirúrgica de transplantes para alvéolos recém-criados, no que se refere à prevenção da reabsorção de substituição;
8. A capacidade de revascularização da polpa, depende do diâmetro do forâmen e do comprimento da raiz.

## **2. ESTUDO CLÍNICO**

Do resultado clínico podemos concluir que:

1. A reinserção dos transplantes no seu novo local foi feita com sucesso, independentemente das técnicas cirúrgicas utilizadas;
2. Os transplantes dentários são uma terapêutica capaz de reabilitar fisiológica e esteticamente pacientes com perdas dentárias por cárie, por traumatismos e em situações de agenesia;
3. A periodicidade das consultas de controlo revelou ser adequada, para se averiguar sobre as alterações pulpares e a altura apropriada para realizar a terapêutica endodôntica, em caso de necrose pulpar;
4. O sucesso da terapêutica depende entre outros factores, de um rigoroso controlo durante a fase cirúrgica, evitando lesar as células do ligamento periodontal;
5. A utilização do Emdogain® mostrou ser tão eficaz como o soro fisiológico no sucesso dos transplantes;
6. A técnica cirúrgica não influencia o sucesso dos transplantes;
7. Os nossos resultados indicam que os transplantes de dentes autólogos constituem um método terapêutico fiável e com bom prognóstico, tanto para dentes com o ápex aberto, como encerrado;
8. Os dentes com rizogénese incompleta apresentam melhores resultados na cicatrização pulpar do que, os que possuíam rizogénese completa;
9. Os transplantes dentários devem fazer parte, dos planos de tratamento dos ortodontistas e dos médicos dentistas generalistas.

## **CAPÍTULO VI**

### **RESUMO**

---

A ausência de dentes perdidos por cárie, por traumatismo ou devido a agenesias, tem como sequelas a alteração da integridade do sistema estomatognático, com repercussão a nível estético, funcional, social e psicológico. Existem diversas possibilidades clínicas para substituir os dentes ausentes, tais como, a prótese parcial removível, a prótese fixa e os implantes orais. Outro meio de reabilitação pode passar pela utilização de transplantes dentários, desde que haja órgãos dentários passíveis de serem utilizados como transplantes. A utilização de implantes orais nem sempre constitui uma forma de tratamento, principalmente se o paciente ainda se encontrar em fase de crescimento.

Apesar de os transplantes dentários não serem utilizados com frequência na clínica diária, o nosso estudo mostra que esta abordagem terapêutica constitui uma forma de tratamento a considerar, com taxas de sucesso semelhantes à dos implantes.

Entre os diferentes tecidos que compõem o sistema de suporte dentário, o ligamento periodontal constitui o principal reservatório de células com capacidade de regenerar o próprio ligamento periodontal, o osso alveolar e o cimento radicular.

Por sua vez, a polpa dentária, que é constituída por um tecido fortemente irrigado encerrado num espaço envolvido por tecido duro, possui células indiferenciadas com capacidade de diferenciação que levam à produção de dentina.

Na tentativa de melhorar os cuidados de saúde dos pacientes, surgiu no mercado um derivado das proteínas da matriz do

esmalte (Emdogain®), indicado na terapêutica de regeneração periodontal. Baseado nesta indicação e em estudos *in vivo* e *in vitro* que demonstraram a influência deste material nas células epiteliais, osteoblásticas, cementoblásticas e no tecido pulpar, procurámos avaliar o seu efeito nos transplantes dentários.

A investigação consistiu em duas partes.

Na primeira, realizou-se um estudo experimental, para o qual se desenvolveu um modelo animal (tendo sido utilizados cães de raça Beagle). O estudo foi autorizado pela Direcção Geral de Veterinária e mostrou ser adequado aos objectivos desejados.

Na segunda, realizou-se um estudo clínico, devidamente autorizado pela Comissão de Ética para a Saúde e pelo Conselho de Administração dos Hospitais da Universidade de Coimbra.

## **1. ESTUDO EXPERIMENTAL**

Este estudo teve como objectivo principal avaliar as alterações pulpares e das superfícies radiculares de dentes autólogos transplantados.

Foram feitos 48 transplantes de dentes monorradiculares, de acordo com duas técnicas cirúrgicas, a técnica A (transplantes para alvéolos recém criados) e a técnica B (transplantes para alvéolos em cicatrização). Em qualquer uma destas foi utilizado, de forma aleatória, soro fisiológico ou Emdogain®. A amostra utilizada foi de seis animais machos, com cerca de seis meses de idade e com peso médio de 11,73 kg  $\pm$  1,13 (Med  $\pm$  DP). A identificação dos animais foi feita com *chips* subcutâneos e o alojamento e a manutenção realizados de acordo com a legislação em vigor.

As cirurgias foram feitas em duas fases, com anestesia geral. Na primeira fase, foi feita a extracção de quatro dentes incisivos, um em cada quadrante, e a ampliação dos respectivos alvéolos. A

segunda fase foi levada a cabo sete dias depois, altura em que foram realizados os transplantes de acordo com o protocolo das técnicas e dos materiais utilizados. A eutanásia decorreu 9 semanas após a realização dos transplantes, altura em que foram colhidos os espécimes para estudo.

Os métodos de análise utilizados para avaliação dos resultados foram: a avaliação clínica, as radiografias de contacto, a avaliação histomorfométrica, a captação de radiofármaco e a reacção em cadeia da polimerase usando a transcriptase reversa em tempo real (*RT-PCR*).

As observações clínicas e o aspecto macroscópico dos dentes transplantados e dos tecidos circundantes não revelaram reacções adversas. Durante o estudo foi feito o controlo de peso, que revelou um aumento progressivo.

Os resultados obtidos com a radiografia digital directa revelaram que houve formação de novo osso a circundar o transplante e ausência aparente de abcessos periapicais.

As observações histológicas revelaram-se esclarecedoras e proporcionaram uma visão sobre os aspectos biológicos que ocorreram a nível pulpar e das superfícies radiculares.

A captação do radiofármaco constituiu um método de análise adequado, por permitir calcular a percentagem de actividade administrada por grama de tecido, nos grupos de dentes em estudo.

As quantificações do ácido ribonucleico mensageiro (ARNm), da fosfatase alcalina, do factor de crescimento dos fibroblastos, do ligando do factor nuclear K e do factor de crescimento endotelial, através de *RT-PCR*, permitiram inferir sobre as alterações mole-

culares que ocorrem nos tecidos pulpares e no ligamento periodontal.

Ficou, assim, evidenciado que existe um mecanismo que envolve diversos factores de crescimento no processo de cicatrização dos transplantes que, quando bem conhecidos e controlados, irão permitir que os transplantes de dentes autólogos sejam a melhor forma de substituição de dentes ausentes.

## **2. ESTUDO CLÍNICO**

Neste estudo foram realizados 28 transplantes dentários em 26 pacientes, com idades compreendidas entre os 11 e os 43 anos.

Os dentes dadores incluíram 22 molares, 3 pré-molares e 3 caninos.

Os transplantes foram feitos de acordo com as mesmas técnicas e os mesmos materiais utilizados no estudo *in vivo*. Foram realizados com anestesia local e a sua fixação foi feita com fio de sutura a cruzar a superfície oclusal.

As consultas de controlo foram realizadas aos dez dias, um mês, três meses, seis meses e anualmente. Os métodos de análise foram a observação clínica, o exame radiográfico, a medição da profundidade de sondagem, o teste de sensibilidade térmico ao frio, o teste de percussão e o teste de mobilidade.

As observações clínicas e o aspecto macroscópico dos dentes transplantados e dos tecidos circundantes não revelaram reacções adversas e, no pós-operatório, os doentes não referiram dores ou edema.

Os resultados obtidos nas radiografias revelaram a formação de novo osso a circundar os transplantes e, nos casos em que não houve anquilose, observou-se a presença de lâmina dura e do espaço periodontal. Nos dentes transplantados que possuíam o

ápex aberto foi possível observar a continuação do desenvolvimento radicular e uma diminuição do espaço pulpar.

Os testes de sensibilidade utilizados para avaliação do estado pulpar, apesar de serem o meio de diagnóstico mais utilizado em clínica, não são os mais adequados. No entanto, associados a outros meios de análise, permitem avaliar as alterações pulpares e a necessidade de execução atempada da terapêutica endodôntica.

Nos transplantes em que foi diagnosticada necrose pulpar, realizou-se a preparação química e mecânica dos canais radiculares, obedecendo aos princípios de instrumentação mecanizada. Assim, foram utilizados o sistema Profile® e, como solução de irrigação, o hipoclorito de sódio a 2,5%. Entre as sessões, utilizou-se como terapêutica no interior do sistema de canais radiculares o hidróxido de cálcio. Este foi colocado com *lentulo*, o qual foi accionado através de contra-ângulo a baixa rotação. A obturação dos canais radiculares foi realizada com uma técnica mista de guta-percha termoplástica (Sistema Thermafil®) e cimento de selamento (Top-Seal®).

Houve necessidade de efectuar terapêutica endodôntica em nove transplantes, oito dos quais com o ápex encerrado e um com o ápex aberto.

Considerou-se que a terapêutica teve sucesso, sempre que o dente manteve a função mastigatória, com ausência de patologia periapical, de reabsorção inflamatória e de anquilose alvéolo-dentária. Desta forma, o sucesso dos transplantes realizados foi de 78%. Este valor deveu-se à extracção de dois dentes e à presença de anquilose em 4.

Por outro lado, considerou-se existir sobrevivência do transplante, sempre que o dente se manteve presente na arcada,

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

contemplando as suas funções e sem desconforto para o doente. No nosso estudo clínico, obteve-se uma taxa de sobrevivência de 93%, tendo sido perdidos somente dois dentes transplantados, um devido a reabsorção inflamatória e outro à persistência de periodontite apical.

## **CHAPTER VII**

### **SUMMARY**

---

The loss of teeth caused by caries, traumatic dental injury or dental agenesis results in the alteration of the integrity of the stomatognathic system, which consequently has aesthetic, functional, social and psychological repercussions. The replacement of missing teeth has several clinical responses such as the oral implant, the removable partial denture and the fixed prosthesis. One other mean of restoring missing teeth is dental transplant, depending on the existence of dental organs suitable for transplantation. Dental implants are not always possible, namely in the treatment of growing patients.

Although dental transplants are not frequently used in dental practice, this study proves that this therapeutic approach constitutes an option to be considered, having success rates similar to those of implants.

Among the different tissues which compose the teeth support system, the periodontal ligament constitutes the main cell reservoir with the ability of regenerating itself, the alveolar bone and the radicular cementum.

As for the dental pulp, which is comprised of a highly irrigated system confined to a cavity surrounded by hard tissue, it possesses undifferentiated cells with differentiation ability that led to dentin production.

In the attempt to improve patients' health care, an enamel matrix protein derivative has become available (Emdogain®), indicated for periodontal tissue regeneration therapy. This study evaluated this product's effect on teeth transplants, taking into consideration not

only the previously conveyed data but also *in vivo* and *in vitro* studies, which demonstrated this material's influence in epithelial, osteoblastic as well as cementoblastic cells and at pulpar level.

The study consisted of two parts.

The first part comprised an experimental study. For this purpose, an animal model, which used Beagle dogs, was developed. It was authorized by the *Direcção Geral de Veterinária* and has proved to be adequate for the study's goals.

The second part, presents a clinical study authorised by the *Comissão de Ética para a Saúde* and by the *Conselho de Administração dos Hospitais da Universidade de Coimbra*.

## **1. EXPERIMENTAL STUDY**

The study's primary goal was to evaluate the changes in dental pulp and in radicular surface of transplanted autologous teeth.

For the purpose, 48 monoradicular teeth were transplanted, in accordance to two surgical techniques: technique A (transplants into recently created alveoli) and technique B (transplants into healing alveoli). Both surgical techniques applied, randomly, either physiological saline or Emdogain®. The sample comprised six male animals, approximately six month old and with an average weight of 11,73 kg  $\pm$  1,13 (Mean  $\pm$  SD). Subcutaneous chips were used to identify the animals. Their implant and maintenance was made according to the law.

Surgeries were completed in two phases, under general anaesthesia. Phase one consisted in the extraction of four incisors, one in each quadrant, and in the enlargement of the exposed alveoli. During phase two, which happened seven days after, transplants were performed in accord with the protocol of the used techniques and materials. Euthanasia took place nine weeks after the transplants. Specimens were harvested at that time.

Analytical methods used to evaluate the results were: clinical evaluation, contact radiography, histomorphological assessment, radiopharmaceutical absorption and real-time reverse transcriptase - polymerase chain reaction (*RT-PCR*).

The clinical observations and macroscopic appearance of transplanted teeth and surrounding tissues did not present adverse reaction. Weight shifts were monitored throughout the study, and evidenced a progressive weight increase.

The results obtained from direct digital radiography have revealed new bone formation surrounding the transplant area and the apparent non-existence of periapical abscesses.

Histological observations were enlightening and showed us the biological changes which occurred at pulp level and on radicular surfaces.

Radiopharmaceutical absorption was an appropriate analytical method for calculating the percentage of activity injected dose (per gram of tissue) into study teeth groups.

The values of messenger ribonucleic acid (ARNm), alkaline phosphatase, fibroblast growth, nuclear factor K ligand and endothelial growth factor, by *RT-PCR*, allowed us to draw conclusions from the molecular changes which occurred in pulpar tissue and periodontal ligament.

Hence, the study proved the existence of a mechanism involving several growth factors in the healing process of transplants which, when perfectly understood and controlled, will allow transplants of autologous teeth to be the best possible response for replacing missing teeth.

## **2. CLINICAL STUDY**

In the present study, 28 dental transplants were performed on 26 patients, aged 11 to 43 years.

Donors' teeth included 22 molars, 3 premolars and 3 canines.

The implants were performed according to the same techniques and materials previously used in the *in vivo* study. During the procedures, local anaesthesia was administered to patients and implants were secured with suture thread crossing over the occlusal surface.

Follow-up appointments occurred ten days, a month, three months, six months after and, afterwards, annually. The analysis methods were: clinical observations, radiography examinations, probing depth measurement, cold sensitivity testing, percussion testing and mobility testing.

Clinical observations and macroscopic appearance of both transplanted teeth as well as surrounding tissues did not present adverse reactions. During the post-operative period patients did not mention pain or edema.

The results obtained in x-rays revealed new bone formation surrounding the transplants and, in cases where no ankylosis occurred, the presence of hard lamina and periodontal space. Transplanted teeth with open apex continued to present radicular development and diminishment of pulpar space.

Sensitivity testing used for pulpar evolution assessment, in spite of being the most commonly diagnostic method in medical practice, is not the most appropriate. Nevertheless, when associated to other analysis methods, it allows us to assess pulpar changes and the need for timely endodontic therapy.

In transplants with a diagnosis of pulpar necrosis, chemical and mechanical preparation of radicular canals was performed, in accord with mechanized dental instrument. Thus, Profile® system

and 2,5% sodium hypochlorite were used as irrigation solution. Between sessions, calcium hydroxide was placed inside the root canal system. Filling of the root canal was done using lentulo placed in a low-speed contra angle. Root canal obturation was achieved through a mixed technique of thermoplastic gutta-percha (Thermafil® System) and filling cement (Top-Seal®).

Endodontic therapy was needed in nine transplants, eight of which presented closed apex and one open apex.

The therapy was considered successful whenever the tooth retained its chewing function and did not present periapical pathology, inflammatory resorption and dentoalveolar ankylosis. This study's success rate was, hence, of 78%, considering the extraction of two teeth and four ankylosed teeth.

On the other hand, tooth survival was confirmed if the tooth kept itself in the arcade, retaining its functions without any discomfort for the patient. This study's clinical survival rate was 93%, since only two transplanted teeth were lost, one owing to inflammatory resorption the other to apical periodontitis.

## Anexo DGV



DGV  
Direção Geral  
de Veterinária  
Ministério da Agricultura,  
Pesca e Florestas

Direção de Serviços de Meio de Defesa da Saúde, Bem-estar e Alimentação Animal

2005-02-04 032194

Ex<sup>ma</sup> Senhor  
**Dr. Manuel Marques Ferreira**  
Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra  
Departamento de Medicina Dentária  
Blocos de Celas  
Av. Bissaya Barreto  
3000 – 075 COIMBRA

Sua referência

Sua comunicação de

Nossa referência

Assunto: **PROTECÇÃO DOS ANIMAIS UTILIZADOS PARA FINS EXPERIMENTAIS E/OU OUTROS FINS CIENTÍFICOS – PEDIDO DE LICENCIAMENTO DE PROJECTO EXPERIMENTAL**

Na sequência do pedido efectuado por V. Ex<sup>ma</sup> no sentido de poder ser autorizada a realização do projecto experimental designado "Estudo da superfície radicular de dentes autotransplantados: Utilização de Derivado da Matriz de Esmalte", cabe-me informar que o mesmo foi levado à consideração dos membros da Comissão Consultiva prevista na alínea b) do nº 49, da Portaria nº 1005/92, de 23 de Outubro.

Dado que os procedimentos a infligir aos animais lhes causarão um elevado grau de dor alertamos para a necessidade de se fazerem algumas alterações ao esquema de cobertura analgésica que inicialmente estava prevista, nomeadamente:

- O ideal seria fazer uma pré-medicação analgésica mas, dado que não será utilizada anestesia volátil, a administração da buprenorfina poderá iniciar-se imediatamente após a conclusão do procedimento cirúrgico, na dose de 0,01-0,02 mg/Kg, de 12/12 horas, e não apenas em caso de SOS.
- Como esta cirurgia causa um grande trauma tecidual, a administração de buprenorfina poderá estender-se a 72 horas.
- Aconselhamos, também, que seja feita a associação da buprenorfina com um anti-inflamatório não esteróide, como por exemplo, flunixin ou carprofeno, nas seguintes doses:

Flunixin  
1 mg/Kg, I.V. ou S.C., de 12/12 horas  
ou  
1 mg/Kg, PO, durante 3 dias

15/2/05  
Contacto com Dr. Ana Paula Monteiro?  
Considerar o projecto aceite.

Anexo DGV



DGV  
Direção Geral  
de Veterinária  
Ministério da Agricultura,  
Pesca e Floresta

Direção de Serviços de Medicos de Defesa da Saúde, Bem-estar e Alimentação Animal

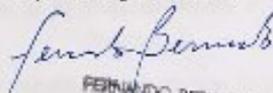
Carprofeno  
4 mg/Kg, I.V. ou S.C., uma vez por dia  
ou  
1 mg/Kg, PO . durante 7 dias

- Depois da combinação se concluir, a analgesia pode manter-se apenas com o anti-inflamatório não esteróide por mais 24-36 horas.

Com os melhores cumprimentos,

Director-Geral

As) Carlos Agrela Pinheiro

  
FERNANDO BERNARDO  
Subdirector-Geral

APM/



## Informação ao doente e consentimento informado

**HOSPITAIS DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**  
AV. BISSAYA BARRETO 3000- 075 COIMBRA

### 1 - INFORMAÇÃO AO DOENTE

**Descrição sumária do projecto de investigação sobre autotransplantes de dentes para alvéolos recém-criados ou em cicatrização: utilização de um derivado da matriz de esmalte (Emdogain®).**

Objectivos do estudo:

- Efectuar transplantes autógenos de dentes para alvéolos recém-criados ou em cicatrização, utilizando ou não Emdogain® (EMD);
- Pesquisar o possível efeito do EMD na prevenção das reabsorções radiculares e no sucesso dos transplantes.

Para isso é necessário efectuar:

- um exame clínico geral e da cavidade oral, para eliminar a possibilidade de existirem outros problemas associados à falta de dentes;
- um exame radiográfico (Ortopantomografia), para avaliar a zona dos dentes ausentes, ou dos dentes irremediavelmente perdidos, por acção da cárie dentária.

Todos os procedimentos envolvidos (consultas e realização de radiografias), serão suportadas pela entidade promotora deste projecto de investigação (Hospitais da Universidade de Coimbra).

Tomei conhecimento:

Data \_\_\_\_\_

Assinatura \_\_\_\_\_

---

---

**HOSPITAIS DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**  
AV. BISSAYA BARRETO 3000- 075 COIMBRA

**2 – CONSENTIMENTO INFORMADO**

De acordo com as recomendações da Declaração de Helsínquia da Legislação em vigor, como representante legal, fui informado/a, esclarecido/a e foi-me dada a oportunidade de apresentar as questões que considere relevantes sobre os procedimentos do estudo: Projecto de Investigação sobre autotransplantes de dentes para alvéolos recém-criados ou em cicatrização: utilização de derivado da matriz de esmalte, em que vai participar.

Nome do doente \_\_\_\_\_

Declaro que fui devidamente esclarecido/a acerca do facto de que toda a informação a meu respeito será codificada e que a ela só terá acesso o investigador responsável e também que os dados publicados nunca revelarão nenhum elemento relativo à minha identidade.

Data \_\_\_\_\_

O doente ou representante legal

\_\_\_\_\_

O Investigador

\_\_\_\_\_

(Manuel Marques Ferreira)

## Anexo II

## Parecer da Comissão de Ética para a Saúde dos HUC

Anexo II

S.  R.

MINISTÉRIO DA SAÚDE  
HOSPITAIS DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA  
Av. Bissaya Barreto  
c  
Praceta Prof. Mota Pinto  
3000-075 COIMBRA

Telefones { Bloco Central / Bloco de Celas { 239 400 400  
239 400 500  
239 400 600  
239 403 939  
Maternidade Dr. Daniel de Matos - 239 403 069  
Telêxto r/s 239 603 917

Visto / Ao  
G.A.I. para  
difusão  
HELIQUEIRA SA  
DIRECTOR CLINICO  
H.U.C.

COMISSÃO DE ÉTICA PARA A SAÚDE  
Presidente: Prof. Doutor João Manuel Pedroso Lima; Vice-Presidente:  
Dr. David Amador Rocha; Vogais: Dra. Maria Odete Isabel; Dr. José  
Gonçalo Pereira Diniz Vieira; Prof. Doutor Carlos Alberto Fontes Ribeiro  
Enfermeiro: José Mendes Bajanca; Jurista: Prof. Doutor José de Faria e Costa;  
Teólogo: Dr. Vasco Pinto de Magalhães

Exmº Senhor:  
Director Clínico  
HUC

N/Reº	Ofício Nº	Data
CES	143	09.02.2004

ASSUNTO: HUC/03/04 – Protocolo “Auto-transplantes de dentes para alvéolos recém-criados ou em cicatrização: utilização de derivado da matriz de esmalte.” – Dr. Carlos Leite da Silva – Director do Serviço de Estomatologia – (Investigador Principal – Dr. Manuel Marques Ferreira – Assistente Convidado da Licenciatura em Medicina Dentária da Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra.)

Cumpr-me informar V.Ex.ª que, na reunião da Comissão de Ética dos Hospitais da Universidade de Coimbra de 5 de Fevereiro de 2004, com a presença da maioria dos seus membros (Prof. Doutor João Manuel Pedroso Lima, Dr. David Amador Rocha, Dra. Odete Isabel, Dr. José Diniz Vieira, Enf.º Mendes Bajanca, Prof. Doutor Carlos Fontes Ribeiro e Prof. Doutor José de Faria e Costa), foi analisado o protocolo em epígrafe, que obteve **parecer favorável**, solicitando-se, no entanto, a elaboração em folhas separadas da Informação ao Doente e do Consentimento Informado.

Com os melhores cumprimentos.

  
H.U.C.  
Comissão de Ética para a Saúde  
O Presidente da Comissão de Ética,  
Prof. Doutor João Manuel Pedroso Lima

H. U. C. - Mod. 105 - 50.000 ex. - 80 grs. - Gráfica de Balmaceda - 04/2002

## Anexo III

## Autorização de ensaio clínico



Hospitais da Universidade de Coimbra  
Conselho de Administração

## AUTORIZAÇÃO DE ENSAIO CLÍNICO

HUC	03	04
-----	----	----

NOME DO ENSAIO:

AUTOTRANSPLANTES DE DENTES PARA ALVÉOLOS RECÉM-CRIADOS  
OU EM CICATRIZAÇÃO - UTILIZAÇÃO DE DERIVADO DA MATRIZ DE  
ESMALTE (EMDOGAIN)

INVESTIGADOR PRINCIPAL:

*Dr. Marques Ferreira*

De acordo com a Legislação em vigor, é autorizada a realização, nos Hospitais da  
Universidade de Coimbra, do Ensaio Clínico supracitado.

DATA: 01/03/04

Presidente do Conselho de Administração

  
Presidente do Conselho de Administração

(Prof. Doutor J. M. Nascimento Costa)

**Ficha clínica e tabela para consultas de controlo**

**HOSPITAIS DA UNIVERSIDADE DE COIMBRA**  
AV. BISSAYA BARRETO 3000- 075 COIMBRA

Processo Nº ...../.....Elemento nº .....

Nome .....

Data de nascimento \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_ Idade \_\_\_\_\_

Sexo: **(M)**; **(F)**

Residência:

Rua \_\_\_\_\_

Localidade \_\_\_\_\_

Código postal \_\_\_\_\_ Telefone \_\_\_\_\_

Motivo do transplante \_\_\_\_\_

Dente a transplantar \_\_\_\_\_

Técnica a utilizar: **A**(alvéolo recém-criado); **B**(alvéolo em cicatrização)

Material a utilizar: **1** (EMD); **2** (SF)

Data do transplante: \_\_\_\_/\_\_\_\_/\_\_\_\_

Terapêutica

\_\_\_\_\_

Observações \_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

### Tabela para consultas de controlo

Controlo/ Data			1º C	2º C	3º C	4º C	5º C
Testes e RX							
Gengiva marginal	Índice de hemorragia	V					
		M					
		D					
Sondagem Periodontal	L/P	V					
		L/P					
Mobilidade	M0 (ausente)						
	M1 (fisiológica)						
	M2 (lateral)						
	M3 (lat. e vertical)						
TPercussão	P0 (sem dor)						
	P1 (com dor)						
	P2 (Som metálico)						
TST	T0 (r. ausente)						
	T1 (dor < 5 seg)						
	T2 (dor 6- 9 seg)						
	T3 (dor > 9seg)						
RX	Patologia peri-apical	S (sim)					
		N (não)					
	Erosão radicular	S (sim)					
		N(não)					
	Perda osso marginal	S (sim)					
		N (não)					

1º C – 1º controlo aos 10 dias; 2º C – 2º controlo aos 30 dias; 3º C – 3º controlo aos 3 meses; 4º C- 4º controlo aos 6 meses; 5º C- 5º controlo aos 12 meses.

V- face vestibular; L/P – face lingual ou palatina; M- face mesial; D- face distal.

## Anexo V

**Tabela para avaliação do desenvolvimento radicular e da obliteração pulpar**

Caso clínico	Técnica	Tempo em meses				
		1	3	6	12	24
Comprimento da raiz	M					
	D					
Diâmetro do canal	1/3 médio	M				
		D				
	ápex	M				
		D				

M- raiz mesial; D raiz distal.

## Anexo VI

## Lista de abreviaturas

<b>ADN</b>	<b><i>acid desoxirribonucleic</i></b>	<b>ácido desoxirribonucleico</b>
<b>ALP</b>	<i>alkaline phosphatase</i>	fosfatase alcalina
<b>ARN</b>	<i>acid ribonucleic</i>	ácido ribonucleico
<b>BMP</b>	<i>bone morphogenetic proteins</i>	proteínas morfogenéticas ósseas
<b>BSP</b>	<i>bone sialoprotein</i>	sialoproteína óssea
<b>CPM</b>	<i>counts for minute</i>	contagem por minuto
<b>EDTA</b>	<i>ethylenediaminetetraacetic acid</i>	ácido etileno diamino tetra acético
<b>EFG</b>	<i>epidermal growth factor</i>	factor de crescimento epidérmico
<b>EMD</b>	<i>enamel matrix derivative</i>	derivado das proteínas da matriz do esmalte
<b>FGF</b>	<i>fibroblast growth factor</i>	factor de crescimento dos fibroblastos
<b>GADPH</b>	<i>gliceraldeíde phosphate desidrogenase</i>	gliceraldeído fosfato desidrogenase
<b>HMDP</b>	<i>hydroxyl metyl diphosphonate</i>	hidroxi metil difosfonato
<b>IGF</b>	<i>insulin growth factor</i>	factor de crescimento da insulina
<b>IL</b>	<i>interleukin</i>	interleucina
<b>LPS</b>	<i>lipopolysaccharides</i>	lipopolissacáridos
<b>MMP</b>	<i>metalloproteinases</i>	Metaloproteinases
<b>OC</b>	<i>osteocalcin</i>	Osteocalcina
<b>OPG</b>	<i>osteoprotegerin</i>	Osteoprotegerina
<b>PDGF</b>	<i>platelet-derived growth factor</i>	factor de crescimento derivado das plaquetas
<b>RANK</b>	<i>receptor activator of NF-kB</i>	ativador do receptor NFkB
<b>RANKL</b>	<i>receptor activator of NF-kB ligand</i>	ativador do ligando do receptor NF-kB
<b>RT-PCR</b>	<i>Reverse transcriptase</i>	reação em cadeia da polimerase

---

	<i>polymerase chain reaction</i>	transcriptase reversa
<b>TGF-<math>\beta</math></b>	<i>transforming growth factor beta</i>	factor de crescimento transformante beta
<b>Tm</b>	<i>temperature of melting</i>	temperatura de fusão
<b>TNF</b>	<i>tumour necrosis factor</i>	Factor de necrose tumoral
<b>TRAP</b>	<i>tartrate resistant acid phosphatase</i>	fosfatase ácida resistente ao ácido tartárico
<b>VEGF</b>	<i>vascular endothelial growth factor</i>	factor de crescimento vascular endotelial
<b>CGRP</b>	<i>Calcitonin gene-related peptide</i>	peptídeo relacionado com o gene da calcitonina
<b>C</b>	<i>Cytosin</i>	Citosina
<b>A</b>	<i>Adenin</i>	Adenina
<b>G</b>	<i>Guanin</i>	Guanina
<b>U</b>	<i>Uracil</i>	Uracila
<b>T</b>	<i>Thymine</i>	Timina
<b>Tm</b>	<i>Melting temperature</i>	Temperatura de fusão

---

## Anexo VII

## Unidades de medida, constantes físicas e factores de conversão

Unidades de medida	Nome da unidade	Símbolo
Comprimento	metro	m
Massa	quilograma	kg
Volume	metro cúbico	m <sup>3</sup>
Temperatura	kelvin	°K
Actividade	bequerel	Bq

Factores de conversão	
Grandeza física	Equivalência
Comprimento	1 cm = 10 <sup>-2</sup> m = 10mm = 10 <sup>4</sup> μm = 10 <sup>7</sup> nm
Massa	1g = 10 <sup>-3</sup> kg = 10 <sup>3</sup> mg = 10 <sup>6</sup> μg
Volume	1cm <sup>3</sup> = 10 <sup>-6</sup> m <sup>3</sup> 1ml = 1cm <sup>3</sup> = 10 <sup>-3</sup> litros = 10 <sup>3</sup> μl
Temperatura	°C = (5/9)(°F - 32)
Curie	3,70x10 <sup>10</sup> desintegrações s <sup>-1</sup>
Bequerel	1 desintegração s <sup>-1</sup>

Prefixos padrão		
Prefixo	Símbolo	Factor de conversão
quilo	k	10 <sup>3</sup>
centi	c	10 <sup>-2</sup>
mili	m	10 <sup>-3</sup>
micro	μ	10 <sup>-6</sup>
nano	n	10 <sup>-9</sup>
pico	p	10 <sup>-12</sup>
curie	Ci	3,70x10 <sup>10</sup> desintegrações s <sup>-1</sup>

---

**BIBLIOGRAFIA**

---

AKKOCAOGLU M., Kasaboglu O. Success rate of autotransplanted teeth without stabilisation by splints: a long-term clinical and radiological follow-up. *British Journal of oral an Maxillofacial Surgery* 2005; 43: 31-35.

AKIBA N., Sasano Y., Suzuki O., Sasaki K. Characterization of Dentin Formed in Transplanted Rat Molars by Electrón Probe Microanálisis. *Calcif Tissue Int* 2006; 78(3):143-151

AL-NAZHAN S. External root resorption after bleaching: A case report. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1991; 72 (5):607- 609.

AMARAL K.F., Rogero M.M., Gavini G. Cytotoxixity analysis of EDTA and citric acid applied on murine resident macrophages culture. *International Endodontic journal* 2007; 40: 338-343.

ANDERSSON L., Lindskog S., Blomlof L., Hedstrom K., Hammarstrom L. Effect of masticatory stimulation on dentoalveolar ankylosis after experimental tooth replantation. *End Dent Traumatol* 1985; 1 : 13-16

ANDERSSON L., Bodin I. Avulsed human teeth replanted within 15 minutes- a long-term clinical follow-up study. *End Dent Traumatol* 1990 ; 6(1) : 37- 42.

ANDREASEN J.O., Paulsen H. A long-term of 370 autotransplanted premolars. Part IV. Root development subsequeute to transplantation. *Eur J Ort* 1990; 12 : 38- 50

ANDREASEN J.O., Andreasen F.M, Bakland F.M, Flores M.F. *Traumatic dental injuries: a manual*, 1<sup>st</sup> ed. Copenhagen, Denmark: Munksgaard Publishers; 1999.

ANDREASEN J.O., Paulsen H.U., Yu Z., Bayer T., Schwartz O.A long-term study of 370 autotransplanted premolars. Part II.Tooth survival and pulp healing subsequent to transplantation.*Eur J Orthod* 1990b ; 12: 14- 24

ANDREASEN J.O., Paulsen H.U., Yu Z., Bayer T., Schwartz O. A long-term study of 370 autotransplanted premolars. Part III .Periodontal healing subsequent to transplantation. Eur J Orthod 1990c ; 12: 25- 37

ANDREASEN J.O., Paulsen H.U., Yu Z., Ahlquist R., Bayer T., Schwartz O. A long-term study of 370 autotransplanted premolars. Part I. Surgical procedures and standardized techniques for monitoring healing. Eur J Orthod 1990a ; 12: 3 - 13.

ANDREASEN J.O. Autotransplante de molars. In: Andreasen J.O.ed. Reimplantación y Transplante en Odontología Atlas. Ed. Panamérica S.A. Buenos Aires – Argentina 1994: 111 – 134.

ANDREASEN J.O. Reimplantación y transplante en odontologia. Atlas. Ed. Medica Panamericana, 1992

ANDREASEN J.O., Andreasen F.M. In: Andreasen (ed): Textbook and Color Atlas of Traumatic Injuries to the Teeth.3ª ed. 1994; Mostby, Copenhagen – Munksgaard.

ANDREASEN J.O., Borum M.K., Jacobsen H.L., Andreasen F.M. Replantation of 400 traumatically avulsed permanent incisors.2. Factors related to pulpal Healing. Endod Dent Traumatol 1995 ; 11: 59- 68

ANDREASEN J.O., Kristerson L. The effect of extra-alveolar root filling with calcium hydroxide on periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. Journal of Endodontics 1981; 7(8): 349-354

Andreasen J.O., Paulsen H.U., Yu Z., Bayer T. A long-term study of 370 autotransplanted premolars. Part IV .Root development subsequent to transplantation. Eur J Orthod 1990d ; 12: 38- 50

ARAÚJO M.G., Sukekava F., Linder E. Algumas características do cimento acelular com fibras extrínsecas em humanos e cães. Rev.Dental Press Periodontia Implantol. 2007; 1: 35-45

ARENS D.E. Introduction to Magnification in Endodontics. J Esthet Restor Dent 2003; 15: 426- 439.

ARWEILER NB, Donos L, Sculean A. Antibacterial effect of an enamel matrix derivative on in vivo dental biofilm vitality. *Cli Oral Invest* 2002; 6: 205- 209.

AZEVEDO P.C., Moura C.C.G., Barbosa D.Z., Bernadineli N. Time of endodontic treatment in autogenic transplants of mature teeth: histological study in dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 2007; 104: 287-293

BAILEY J. L.T., Sarver D.M., Turvey T.A., Proffit W.R. Class III problems. In: William R. Proffit (ed): *Contemporary Treatment of Dentofacial Deformity*. Copyright© 2003, Mosby. Inc

BAKER P.J, Evans R.T., Coburn R.A., Genco R.J. Tetracycline and its derivatives strongly bind to and are released from the tooth surface in active form. *J Periodontol* 1983; 54: 580- 585

BANCHS F., Trope M. Revascularization of immature permanent teeth with apical periodontitis: New treatment protocol. *Journal of Endodontics* 2004; 30(4):196-200

BARATIERI L.N., Caldeira A.M.A., Araújo E. Reconhecendo a etiologia das descolorações dentais. In: *Caderno de Dentística Clareamento Dental*. S.Paulo. Livraria Santos Ed.2004

BARRETT E., Kenny D.J. Avulsed permanent teeth: A review of the literature and treatment guidelines. *Endod Dent Traumatol* 1997; 13: 153- 163

BATES C.F. Longitudinal sealing ability of mineral trioxide aggregate as a root – end filling material. *J Endod* 1996; 22(11): 575- 578

BAUMRIND S., Korn E.L, Boyd R.L. Apical root resorption in orthodontically treated adults. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 1996; 110: 311- 320

BAUSS O., Schilke R., Fenske C., Engelke W., Kiliaridis S. Autotransplantation of immature third molars: influence of different splinting methods and fixation periods. *Dent Traumatol* 2002; 18: 322-328

BERG J.M., Tymoczko J.L., Stryer L. Explorando os genes. In: Berg JM et al., ed. *Bioquímica*. Ed. Guanabara Koogan SA 2004

BERKOVITZ B.K.B., Holland G.R., Moxham B.J. Cemento. In: Berkovitz B.K.B., Holland G.R., Moxham B.J. ed. Anatomia, Embriologia e Histologia Bucal. 3ª Ed. Artmed Editora 2004; 11:168-179

BHAMBANI S.M. Treatment and prognosis of avulsed teeth. A discussion and case report. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1993; 75(2): 233- 238.

BJERKLIN K., Bennett J. The long-term survival of lower second primary molars in subjects with agenesis of premolars. European Journal of Orthodontics 2000; 22: 245-255

BLAKE M., Woodside D.J., Pharoah M.J. A radiographic comparison of apical root resorption after orthodontic treatment with the edgewise and speed appliances. Am J Orthod Dentofac Orthop 1995; 108: 76- 84.

BOSCO A.F., Neto M.S., Nagata M.J.H., Pedrini D., Sundefeld M.L.M.M. Avaliação dos tecidos periodontais de dentes com rizogênese completa autotransplantados para alvéolos recém criados ou em fase inicial de cicatrização. Estudo histológico em macacos. Rev Odontol UNESP. S. Paulo 2000; 29: 1-23

BOSSHARDT D.D., Nanci A. Hertwig's epithelial root sheat, enamel matrix proteins, and initiation of cementogênese in porcine teeth 2004; 31: 184-192

BOYDE A., Ali N.N., Jones S.J. Resorption of dentine by isolated osteoclasts in vitro. Br Dent J 1984; 156: 216- 220

BRAMANTE C. M. & Ramos C.A.S. In: Bramante (ed): Endodontia Fundamentos Biológicos e Clínicos. Livraria Santos Editora, 2ª ed; 2001

BRAMANTE C.M., Berbert A. In: Bramante CM, ed. Recursos radiográficos no diagnóstico e no tratamento endodontico. Pancast Editora, 3ª ed (s.d.)

BRAMANTE C.M. In Bramante (ed): Acidentes e Complicações no Tratamento Endodontico - Soluções Clínicas. Livraria Santos Ed.; 2003

BRAUT A., Kollar E.J., Mina M. Análisis of the odontogenic and osteogenic potentials of dental pulp in vivo using a col1a1-2-3-GFP transgene. *Int.J.Dev.Biol.* 2003; 47: 281-292

BREZNIAK N., Wasserstein A. Orthodontically induced inflammatory root resorption. Part II: the clinical aspects. *Angle Orthod* 2002; 72 (2): 180-184

BREZNIAK N., Wasserstein A. Root resorption afer orthodontic treatment. Part I: Literature review. *Am J Orthod Dentofac Orthop* 1993; 103: 62- 66

BRIN I., Becker A., Zilberman Y. Resorbed lateral incisors adjacent to impacted canines have normal crown size. *Am J Orthod* 1993; 104: 60- 66

BRYSON E.C., Levin L., Banchs F., Trope M. Effect of minocycline on healing of replanted dog teeth after extended dry times. *Dent Traumatol* 2003; 19: 90-95.

BUTTKE T.M., Trope M. Effect of catalase supplementation in storage media for avulsed teeth. *Dent Traumatol* 2003; 19: 103-108

BYSTROM A., Claesson R., Sundqvist G. The antibacterial effect of camphorated paramonochlorophenol, camphorated phenol and calcium hydroxide in the treatment of infected root canals. *Dent Traumatol* 1985; 1: 170- 175

CARRILHO E.V.P. Branqueamento de dentes com terapêutica endodôntica. In: Carrilho EVP, ed. Branqueamento Dentário. Suas aplicações clínicas. Artes Gráficas Simões Ld<sup>a</sup> s.d.

CARTER N.E., Gillgrass T.J., Hobson R.S., Jepson N., Meehan J.G. Nohl F.S., Nunn J.H. The interdisciplinary management of hypodontia: Orthodontics. *British Dental Journal* 2003; 194 (7): 361- 366

CASTEL-BRANCO P., Cunha S., Tomé J.B., Coutinho P. A., Marques J. A., Azul A.M. Fisiologia dos autotransplantes na espécie humana. Análise histológica de dez polpas de caninos superiores transplantados. *STOMA* 1991;1:5:10

CHAPNICK L. External root resorption: an experimental radiographic evaluation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1989; 67: 578-582

CHERRY S.R., Sorenson J. Physics in Nuclear Medicine. 3ª ed. Saunders 2003

CHIVIAN N. Root resorption. In: Cohen S & Burns R., eds. Pathways of the pulp. 5ª Ed. St Louis Mosby 1991

CLAUS I., Laureys W., Cornelissen R., Dermaut L.R. Histologic analysis of pulpal revascularization of autotransplanted teeth after removal of the original pulp tissue. Am J Dentofacial Orthop 2004; 125: 93-99

CLOKIE C.M.L., Yau D.M., Chano L. Autogenous tooth transplantation : an alternative to dental implant placement ? J Can Dent Assoc 2001; 67: 92-96

COCHRAN D.L., Wennstrom J.L., Funakoshi E., Heijl L. Biomimetics. In: Periodontal Regeneration: Rational and Clinical Use of Enamel Matrix Derivative. Quintessence Publishing Co, Inc. 2003

COELHO P.J. Contribuição para o estudo da regeneração óssea mandibular consecutiva a perdas de substância. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina Dentária de Lisboa 2003: 152-153

COHEN S. Procedimentos para o Diagnóstico. In: Cohen S., Burns R.C., eds. Caminhos da polpa 7ª ed. Ed. Guanabara Koogan S.A. 2000; cap. 24: 749- 750

COMBE E.C., Cohen E.D., Cummings K. Alpha and beta forms of guta- percha in products for root canal filling. Intern Endod J 2001; 34: 447- 451.

COMFORT M.B. The prevention of contamination of teeth stored for transplantation. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1980; 49(3): 200-203

CVEK M., Cleaton – Jones P., Austin J., Kling M., Lownie J., Fatti P. Pulp revascularization in reimplanted immature monkey incisors- predictability and the effect of antibiotic systemic prophylaxis. Endod Dent Traumatol 1990; 6: 157 – 169

CVEK M. Prognosis of luxated non-vital maxillary incisors treated with calcium hydroxide and filled with guta-percha. A retrospective study. *Endod Dent Traumatol* 1992; 8: 45 – 55

CZOCHROWSKA E.M., Stenvik A., Zachrisson B.U. The esthetic outcome of transplanted premolars replacing maxillary incisors. *Dent Traumatol*, 2002; 18(5):237-45

D'SOUZA R. Development of the Pulpodentin Complex. In: Hargreaves K.R. & Goodis H.E., eds. *Seltzer and Benders Dental Pulp*. Published by Quintessence Publishing. Co, Inc. 2002; 13-37

DAHL E., Mjör I.A. The fine structure of the vessels in the human dental pulp. *Acta Odontol Scand* 1973 ;31: 349- 356

EBIHARA A., Tokita Y., Suda H. Pulpal blood flow assessed by laser doppler flowmetry in a tooth with a horizontal root fracture. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1996; 81: 229- 233

ELDENIZ A.U., Mustafa K., Orstavik D., Dahl J.E. Cytotoxicity of new resin- calcium hydroxide- and silicone- based root canal sealers on fibroblasts derived from human gingival and L929 cell lines. *Int End J* 2007; 40: 329- 337

EMSHOFF R., Kranewitter R., Gerhard S., Norer B., Hell B. Effect of segmental LeFort I osteotomy on maxillary tooth type related pulpal blood- flow characteristics. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 2000; 89: 749- 752

ERICSON S., KUROL J. Radiographic examination of ectopically eruption maxillary canines. *Am J Orthod* 1987; 91: 483- 492

ERICSON S., Kurol J. Resorption of maxillary lateral Incisors caused by ectopic eruption of the canines. *Am J Orthod* 1988; 94: 503- 513

Evans D., Reid J., Strang R., Stirrups D. A comparison of laser Doppler flowmetry with other methods of assessing the vitality of traumatised anterior teeth. *Endod Dent Traumatol* 1999; 15: 284- 290

FARGES J.C., Romeas A., Melin M., Pin J.J., Lebeque S., Lucchini M., Bleicher F., Magloire H. TGF-  $\beta$ 1 Induces Accumulation of Dendritic cells in the Odontoblastic Layer. *J Dent Res* 2003; 82(8): 652- 656

FERGUSON D.B. Calcified tissues. In: Ferguson D.B., ed; Oral Bioscience. Churchill Livingstone Ed, 1999; p.: 16- 46

FERRARIS G., Muños C. In: Ferraris F. & Muños C., eds. Histologia y Embriologia Bucodental. Editorial Medica Panamericana, 2ª ed. 2004;8: 209-234

FERREIRA M.M., Carrilho E.V., Leitão J. Mecanismo e classificação das reabsorções radiculares. Rev Port Estomat Med Dent e CMF 2006; 47 (4): 241-248)

FERREIRA M.M., Leitão J, Carrilho E.V. Reabsorção radicular interna. Rev Port Estomat Med Dent e CMF 2007; 48 (2): 121-126

FERREIRA M.M., Sanches F., Rodrigues B., Gonçalves D., Dias J.P. Estudo comparativo da infiltração apical de canais radiculares obturados por duas técnicas diferentes. Rev Port Estomat Med Dent e CMF 2006; 47(3): 133-138

FIGUEIREDO J.A.P. & Estrela C. Obturação do canal radicular. In: Estrela C. & Figueiredo J.A.P., eds. Endodontia Princípios Biológicos e Mecânicos. Ed. Artes Medicas L-dª 1999

FIGÚN M.E. & Garino R.R. Sistema Dental. In: Figún M.E. & Garino R.R., eds. Anatomia Odontológica Funcional e Aplicada. Artmed Ed. 2003; 8: 208-227.

FILIPPI A., PHOL Y., von Arx T. Treatment of replacement resorption with Emdogain ®- a prospective clinical study. Dent Traumatol 2002; 18: 138- 143

FILIPPI A., Pohl Y., von Arx T. Treatment of replacement resorption by intentional replantation, resection of the ankylosed sites, and Emdogain® - results of a 6 year survey. Dental Traumatology 2006; 22:307-311

FLORES M.T., Andreasen J.O., Bakland L.K. Guidelines for the evaluation and management of traumatic dental injuries. Dental Traumatol 2001; 17: 193-196

FONG M.M., Ali Darendeliler M., Hunter N., Shen G. Epithelial cells in PDL are critical in resuming the integral relation between tooth root and supporting bone after trauma- A transplantation experiment. *Archives of Oral Biology* 2007; 52: 182-188

FOREMAN P.C., Barnes I.E. A review of calcium hydroxide. *Int Endod J* 1990; 23: 283- 297

FRANK A.L., Torabinejad M. Diagnosis and treatment of extracanal invasive resorption. *J of Endod* 1998; 24(7): 500- 504

FUSS Z., Tsesis I., Lin S. Root resorption – diagnosis, classification and treatment choices based on stimulation factors. *Endod Den Traumatol* 2003; 19: 175- 182

GARANT P.R. Dentin. In: Garant P.R., ed. *Oral Cells and Tissues*. Quintessence Publishing Co, Inc Carol Stream, Illinois 60188. 2003; 2: 25- 52

GARANT P.R. Periodontal Ligament. In: Garant P.R., ed. *Oral Cells and Tissues*. Quintessence Publishing Co, Inc Carol Stream, Illinois 60188. 2003; 6: 153- 178

GARCIA DEL MORAL R. Laboratorio de anatomia patológica. McGraw-Hill/Interamericana de Espana, S.A.U. Madrid, 1<sup>a</sup>ed 1993

GARTNER A.H., Mark T., Somerlott R.G., Walsh L.C. Differential diagnosis of internal and external root resorption. *Journal of Endodontics* 1976; 2: 329-334

GAULT F.C. & Warocquier- Clerout R. Tooth Auto-transplantation with double periodontal ligament stimulation to replace periodontally compromised teeth. *J Periodontol* 2002; 73: 575-583

GAZELIUS B., Olgart L., Edwall B. Restored vitality in luxated teeth assessed by laser Doppler flowmeter. *Endod Den Traumatol* 1988; 4: 265-268

GAZELIUS B., Olgart L., Edwall B., Edwall L. Non-invasive recording of blood flow in human dental pulp. *Endod Den Traumatol* 1986; 2: 219-221

GESTRELIUSS, Lyngstadaas SP, Hammarstrom L. Emdogain-periodontal regeneration based on biomimicry. Clin Oral Invest 2000; 4: 120-125

GHAFARI J.G. Emerging paradigms in orthodontics-an essay. Am J Orthod Dentof Orthop 1997; 111: 573- 580

GHOSE L.J., Baghdady V.S., Hikmat B.Y. Apexification of immature apices of pulpless permanent anterior teeth with calcium hydroxide. J Endod 1987; 13 285- 290

GOHO Curt. Pulse oximetry evaluation of vitality in primary and immature permanent teeth. Pediatr Dent 1999; 21: 125- 127

GOLDSON L., Malmgren O. Orthodontic treatment of traumatized teeth. In: Andreasen JO; Traumatic Injuries to the Teeth. 3ª ed. Copenhagen: Munksgaard 1994: 587-633

GOMEZ A.V. Obturação de los conductos radiculares. In: Ponce AR, ed. Endodoncia Consideraciones Actuales. Actualidades Médico Odontológicas Latinoamericanas, C.A. 2003; p. 201- 205

GOON W., Cohen S., Borer E. External cervical root resorption following bleaching. Journal of Endodontics 1986; 12: 414- 418.

GORACCI G., Mori G., Baldi M. Terminal end of the human odontoblast process: a study using SEM and confocal microscopy. Clin Oral Invest, 1999; 3: 126-132.

GOSEKI M., Oida S., SasaKi S. Identification of Bone-type Alkaline Phosphatase mRNA from Human Periodontal Ligament Cells. J Dent Res 1995; 74(1): 319-322

GOTTRUP F., Jensen S., Andreasen J.O. Wound Healing Subsequent to Injuri. In: Andreasen J.O., Andreasen F.M., Andersson L., eds. Traumatic Injuries to the Teeth. 4ª Ed. Blackwell Munksgard 2007;1: 1- 61

GREGORIOU A.P., Jeansone B.G., Musselman R.J. Timing of calcium hydroxide therapy in the treatment of root resorption in replanted teeth in dogs. Endod Dent Traumatol 1994; 10: 268-275

Groeneveld M.C., Everts V., Beertsen W. A Quantitative Enzyme Histochemical Analysis of the Distribution of Alkaline Phosphatase Activity in the Periodontal Ligament of the Rat Incisor. *J Dent Res* 1993; 72(9): 1344-1350

GRONTHOS S., Brahim J., Li W. Stem Cell Properties of Human Dental Pulp Stem Cells. *J Dent Res* 2002; 81(8): 531- 535

GROSSMAN L.I. Diseases of the dental pulp. In:Grossman L.I. ed. *Endodontic Practice* 10th ed. Philadelphia: Lea & Febiger, 1981

GRZESIK W.J. & Narayanan A.S. Cementum and Periodontal Wound Healing and Regeneration. *Crit Rev Oral Biol Med* 2002; 13(6): 474-484.

GUERRA F.A.D. Biomimética Formulações haptotáticas para aplicação em regeneração óssea. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina da Universidade de Coimbra 2003: 78-82

GULABIVALA K. & Searson L.J. Clinical diagnosis of internal resorption: an exception to the rule. *Int End J* 1995; 28: 255-260

GUTMAN J.L., Saunders W.P., Saunders F.M., An assessment of the plastic Thermafil obturation techniques. Part I. Radiographic evaluation of adaptation and placement. *Int End J* 1993; 26: 173-178

GUTMANN J.L., Dumsha T.C., Lovdahl P.E., Hovland E.J. In: Gutmann ed; *Problem Solving in Endodontics*. Mosby 3<sup>a</sup> ed, 1997

HAMAMOTO N., Hamamoto Y., Kobayashi T. Tooth autotransplantation into the bone-grafted alveolar cleft: report of two cases with histologic findings. *J Oral Maxillofac Surg* 1998; 56: 1451-1456.

HAMAMOTO Y., Kawasaky N. Effects and distribution of the enamel matrix derivate Emdogain in periodontal tissues of rat molars transplanted to the abdominal wall. *Dent Traumatol* 2002; 18: 12-23

HAMMÄRSTROM L., Heijl L., Gestrelus S. Periodontal regeneration in a buccal dehiscence model in monkeys after application of enamel matrix proteins. *J Clin Periodontol* 1997; 24:669-677.

HARKACZ O.M., Carnes D.L., Walker W.A.III. Determination of periodontal ligament cell viability in the oral rehydration fluid Gatorade and milks of varying fat content. J Endod 1997; 23(11): 687- 690.

HARRIS E.F. Root resorption during orthodontic therapy. Semin Orthod 2000; 6: 183- 194.

HARRIS E.F., Robinson Q.C., Woods M.A. An analysis of causes of apical root resorption in patients not treated orthodontically. Quintes Int. 1993; 24: 417- 428.

HASSELGREN G., Olsson B., Harrison J.W. Effects of calcium hydroxide and sodium hypochlorite on the dissolution of necrotic porcine muscle tissue. J of Endod 1988; 14: 125- 127.

HÄYRINEN-IMMONEN R., Sane J., Perkki K., Malmöström M. A six-year follow-up study of sport-related dental injuries in children and adolescents. Endod Dent Traumatol 1990; 6: 208-212.

HE J., Jiang J., Safavi K.E., Spangberg L.S., Zhu Q. (2004). Endogain promotes osteoblast proliferation and differentiation and stimulates osteoprotegerin expression. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod; 97:239-45

HILTZ J., TROPE M. Vitality of human lip fibroblasts in milk, Hank's balanced salt solution and Viaspan storage media. Endod Dent Traumatol 1991; 7(2): 69- 72.

HOANG A.M., Klebe R.J., Steffensen B., Ryu O.H., Simmer J.P., Cochran D.L. Amelogenin is a cell adhesion protein. J Dent Res 2002; 81(7): 497-500.

HOFFMANN A.W. History of Dentistry-Quintessence Publishing Co.Inc.1981.

HOLCOMB J.B., Dodds R.N., England M.C. Endodontic treatment modalities for external root resorption associated with impacted mandibular third molars. J Endod 1983; 9: 335- 337.

HOVLAND E.J., Dumsha T.C. In: Gutmann (ed.). Problem Solving in Endodontics, Mosby 3<sup>a</sup> ed; 1997

HUANG S.C., Remeikis N.A., Daniel J.C. Effects of long-term exposure of human periodontal ligament cells to milk and other solutions. *J Endod* 1996; 22(1): 30- 33.

INGLE J.I. Modern Endodontic Therapy. In: Ingle (ed); *Endodontics* 4<sup>a</sup> ed. 1994: p. 3-48.

IQBAL M.K., Bamaas N.S. Effect of enamel matrix derivative (EMDOGAIN®) upon periodontal healing after replantation of permanent incisors in Beagle dogs. *Dental Traumatology* 2001; 17: 36-45.

ITOH N, KASAI H, NISHIHARA T. Mechanisms involved in the enhancement of osteoclast formation by enamel matrix derivative. *J Periodontal Res.* 2006 ;41(4):273-279.

JIANG H-W., Goodarzi G., He J., Li H., Safavi K.E., Spangberg L.S.W., Zhu Q. Emdogain-gel stimulates proliferation of odontoblasts and osteoblasts. *Oral Sug Oral Med Oral Pathol* 2006; 102:698-702.

JIANG J., Zuo J., Holliday S. Calcium hydroxide reduces lipopolysaccharide-stimulated osteoclast formation. *Oral Surg Oral Med Oral Pat Oral Radiol Endod* 2003; 95: 348-354.

JOHNSON B.R. & Witherspoon D.E. Periradicular Surgery. In: Cohen S. & Hargreaves eds. *Pathways of the Pulp*. Mosby Elsevier, 9<sup>a</sup> ed, 2006

JOHNSON T., Sigurdsson T.J. Autotransplantation of premolars to premolar sites. A long-term follow-up study of 40 consecutive patients. *Am J Dentofacial Orthop* 2004; 125: 668- 75

KAHAN S.R., Gulabivala K., Snook M., Setchell D.J. Evaluation of a pulse oximeter and customized probe for pulp vitality testing. *J Endod* 1996; 22(3) : 105- 109.

KALEY J., Phillips C. Factores related to root resorption in edgewise practice. *Angle Orthod* 1991; 61: 125- 132.

KATAYAMA A., Ota M., Sugito H., Shibukawa Y., Yamada S. Effect of proliferating tissue on transplanted teeth in dogs. *Oral Sug Oral Med Oral Pathol* 2006; 101: e110-e118.

KEUM K.Y., Kwon O.T., Spangberg L.S., Kim C.K., Kim J., Cho M.I.I., Lee S.J. Effect of Dexamethasone on Root Resorption After Delayed Replantation of Rat Tooth. *J Endod* 2003; 29(12): 810-813

KHIN M.M., Sae-Lim V. The effect of topical minocycline on replacement resorption of replanted monkeys' teeth. *Dent Traumatol* 2003; 19: 96-102.

KIERSZENBAUM A.L. Tecido Conjuntivo- osso. In: Kierszenbaum A.L., ed. *Histologia e Biologia Molecular*. Elsevier Ed. 2004

KILLIANY D.M. Root resorption caused by orthodontic treatment: an evidence- based review of literature. *Sem Orthod* 1999; 5: 128-133.

KIM E., Jung J.Y., Cha I.H., Kum K.Y., Lee S.J. Evaluation of the prognosis and causes of failure in 182 cases of autogenous tooth transplantation. *Oral Sug Oral Med Oral Pathol* 2005; 100(1): 1-12.

KIM J-Y, Cho S-W, Jung H-S. Evidence for expansion-based temporal BMP/NOGGIN interactions in specifying periodontium morphogenesis. *Cell Tissue Res* 2007; 330: 123-132.

KLING M., Cvek M., Mejare I. Rate and predictability of pulp revascularization in therapeutically replanted permanent incisors. *Endod Dent Traumatol* 1986; 2: 83 – 89.

KOBAYASHI K., Takahashi N., Suda T., et al (2000). Tumor Necrosis Factor  $\alpha$  Stimulates Osteoclast Differentiation by a Mechanism Independent of the ODF/RANKL-RANK Interaction. *J Exp Med*; 191(2): 275-285

KOH E.T., McDonald F., Pitt Ford T.R., Torabinejad M. Cellular Response to Mineral Trioxide Aggregate. *J Endod* 1998; 24(8): 543-547.

KOKICH V.G. Managing orthodontic-restorative treatment for the adolescent patient. In: McNamara J.A. & Brudon W.L., eds. *Orthodontics and Dentofacial Orthopedics*. Needan Press, Inc. ISBN 0-9635022-3-9, 2001; p.423-452.

KOULAOUZIDOU E., Lambrianidis T., Beltes P., Lyroudia K., Papadopoulos C. Role of cemento-enamel junction on the radicular penetration of 30% hydrogen peroxide during intracoronary bleaching in vitro. *Endod Dent Traumatol* 1996; 12:146-150.

KRASNER P. e Rankow H.J. New philosophy for the treatment of avulsed teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1995; 79:616- 23.

KRISTERSON L. Autotransplantation of human premolars. A clinical and radiographic study of 100 teeth. *Int J Oral Surg* 1985; 14: 200-213

KYTRIDOU V., Gutman J.L., Nunn M.M. Adaptation and sealability of two contemporary obturation techniques in the absence of dentinal smear layer. *Int End J* 1999; 32:464- 468

LADO E., Stanley H., Weisman M. Cervical resorption in bleached teeth. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1983; 55:78- 80.

LAUREYS W., Beele H., Cornelissen R., Dermaut L. Ravascularization after cryopreservation and autotransplantation of immature and mature apicectomized teeth. *Am J Orthod Dentofacial Orthop* 2001; 119: 346- 352

LEE G.P., Lee M.Y., Lum S.O.Y., Poh R.S.C., Lim K.C. Extraradicular diffusion of hydrogen peroxide and pH changes associated with intracoronary bleaching of discoloured teeth using different bleaching agents. *Int End J* 2004; 37:500- 506.

LEE S.J., Jungl Y., Choi S.Y., Kum K.Y. Clinical application of computer aided rapid prototyping for tooth transplantation. *Dental traumatology* 2001; 17:1114-119.

LEVIN L., Bryson E.C., Trope M. Effect of topical alendronate on root resorption of dried replanted dog teeth. *Dental Traumatol* 2001; 17:120-126.

LEVIN L., Trope M. Root resorption. In: Seltzer and Benders, ed; *Dental Pulp*. Quintessence Publ. 2002

LEVIN M.D. Digital Technology in Endodontic Practice. In: Cohen S. & Hargreaves, eds. *Pathways of the Pulp*. Mosby Elsevier, 9<sup>a</sup> ed, 2006

LEWINSTEIN I., Hirschfeld Z., Stabholz A. Effect of hydrogen peroxide and sodium perborate on the microhardness of human enamel and dentin. J Endod 1994; 20: 61- 63

LIN S., Zukerman O., Weiss E.I., Mazor Y., Fuss Z. Antibacterial efficacy of a new chlorhexidine slow-release device to disinfect dentinal tubules. J Endod 2003; 29(6): 416 – 418

LINDSKOG S., Blomlöf L. Influence of osmolality and composition of some storage media on human periodontal ligament cells. Acta Odontol Scand 1982; 40 (6): 435-441.

LINDSKOG S., Pierce A.M., Blomlöf L., Hammarström L. The role of necrotic periodontal membrane in cementum resorption and ankylosis. Endod Dent Traumatol 1985; 1: 96-101

LINGE L., Linge B.O. Patient characteristics and treatment variables associated with apical root resorption during orthodontic treatment. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1991; 99: 35-43.

LODIENE G., Morisbak E., Ørstavik D. Toxicity evaluation of root canal sealers in vitro. Int Endod J 2008; 41:72-77

LOGUERCIO A.D., Souza D., Floor A.S., Mesko M. Avaliação clínica de reabsorção radicular externa em dentes desvitalizados submetidos a clareamento. Pesqui. Odontol Bras. 2002; 16(2)

LOVE R.M. Bacterial penetration of the root canal of intact incisor teeth after a simulated traumatic injury. Endod Dent Traumatol 1996; 12: 289- 293.

LUMLEY P.J., Walmsley A.D., Laird W.R.E. Streaming patterns produced around endosonic files. Int Endod J 1991; 24: 290- 297.

LUNDBERG T., Isaksson S. A clinical follow-up study of 278 autotransplanted teeth. Int J Oral Maxillofac Surg 1996; 34: 181-185.

MACHEN D.E. Legal aspects of orthodontic practice: risk management concepts. Am J Orthod 1989; 95: 267- 268

MADISON S., Walton R. Cervical root resorption following bleaching of endodontically treated teeth. Journal of Endodontics 1990; 16 (12): 570- 574.

MALMGREN O. & Malmgren B. Orthodontic Management of the Traumatized Dentition. In: Andreasen J.O., Andreasen F.M., Andersson L., eds. Traumatic Injuries to the Teeth. 4<sup>a</sup> Ed. Blackwell Munksgard 2007

MALUEG L.A., Wilcox L.R., Johnson W. Examination of external root resorption with scanning electron microscopy. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod 1996; 82: 89- 93.

MALVIN E.R. História de la Odontologia- Ediciones DoYma 1985

MATSUMOTO H., Kitamura S., Araki T. Applications of fluorescence microscopy to studies of dental hard tissue. Frontiers Med Biol Engng. 2001; 10 (4):269-284.

MEECHAN J.G., Carter N.E., Gillgrass Hobson R.S., Jepson N.J., Nohl F.S., Nunn J.H. Interdisciplinary management of hypodontia. Oral surgery. British Dental Journal 2003; 194: 423-427.

MESAROS S.V., Trope M. Revascularization of traumatized teeth assessed by laser Doppler flowmetry: a case report. End Dent Traumatol 1997; 13: 24- 30

METZLER R.S., Montgomery S. The effectiveness of ultrasonics and calcium hydroxide for the debridment of human mandibular molars. Journal of Endodontics 1989; 15: 373- 378.

MINE K., Kanno Z., Soma K. Occlusal Forces promote Periodontal Healing of Transplanted teeth and Prevent Dentoalveolar Ankylosis: An Experimental Study in Rats. Angle Orthod 2005; 75:637-644

MIRABELLA A.D., Artun J. Prevalence and severity of apical root resorption of maxillary anterior teeth in adult orthodontic patients. Eur J Orthod 1995; 17: 93- 99.

MIURA M., Gronthos S., Zhao M., Lu B., Fisher L.W., Robey P.G., Shi S. SHED: Stem cells from human exfoliated deciduous teeth. PNAS 2003; 100(10): 5807-5812

MJÖR I.A. & Heyeraas K.J. Anatomia e fisiologia dentino-pulpar e periodontal. In: Ørstavik D., ed. Fundamentos de Endodontia. Livraria Santos Ed. 2004; 2: 9- 38

MJÖR I.A., Heyeraas K.J. Pulp-dentin biology in restorative dentistry. Part 1: Normal structure and physiology. Quint Int. 2001; 32: 427-446.

MODINO S.A.C., Sharpe P.T. Tissue engineering of teeth using adult stem cells. Archives of Oral Biology 2005; 50: 255-258

MOORER W.R. & Wesselink P.R. Factors promoting the tissue dissolving capability of sodium hypochlorite. Int Endod J 1982; 15: 186-187

MORI G.G., Garcia R.B., Moraes I.G., Bramante C.M., Bernardineli N. Morphometric and microscopic evaluation of the effect of a solution of alendronate as an intracanal therapeutic agent in rat teeth submitted to late reimplantation. Dental Traumatology 2007; 23: 218- 221.

MOSTAFA Y.A., Iskander K.G., El-Mangoury. Iatrogenic pulpal reactions to orthodontic extrusion. AJO-DO 1991; 99: 30-34

MYRLUND S., Stermer E.M., Álbum B., Stenvik A. Root length in transplanted premolars. Acta Odontol Scand 2004; 62: 132-136.

NAKASHIMA M., Akamine A. La aplicación de la ingeniería tisular a la regeneración de la pulpa y la dentina en endodoncia. Endodoncia 2006; 24(1): 24-35.

NAKATA T.T., Bae K.S., Baumgartner J.C. Perforation Repair Comparing Mineral Trioxide Aggregate and Amalgam Using an Anaerobic Bacterial Leakage Model. J Endod 1998; 24(3): 184-186.

NANCI A., Somerman M.J. Periodontium. In: Ten Cate's, ed. Oral Histology. Development, structure and function. Mosby. 6<sup>a</sup> ed. St Louis. 2003; 9: 240-274.

NASJELTI C., Castelli W., Caffese R. The effect of different splinting times on replantation of teeth in monkeys. Oral Surg Oral Med Oral Pathol 1982; 53: 557- 566.

NATIELA J.R., Armitage J.E., Greene G.W. The replantation and transplantation of teeth. Oral Surg, Oral Med Oral Pathol. 1979; 29(3): 397-415

NE R.F., Witherspoon D.E., Gutman J.L. Tooth resorption. *Quintessence Int* 1999; 30: 9- 25.

NETHANDER G., Anderson J.E., Hirsch J.M. Autogenous free tooth transplantation in man by a two stage operation technique. *Int.J. Oral maxillofac. Surg.* 1988; 17: 330- 336.

NETHANDER G., Skoglund A. Experimental Autogenous Tooth transplantation in the dog a comparison between one and two-stage surgical techniques. *Acta Odontol Scand* 2003; 61 : 223- 229.

NEUVALD L. & Consolaro A. Cementoenamel Junction: Microscopic Analysis and External Cervical Resorption. *Journal of Endodontic* 2000; 26 (9): 503- 508.

NEWMAN S.A., Coscia S.A., Iacono V.J, Cutler C.W. Effects of Enamel Matrix Derivative on Porphyromonas Gengivalis. *J Periodontol* 2003 74: 1191-1195.

NINOMIYA M., Kamata N., Fujimoto R., Ishimoto T., Kido J., Nagayama M., Nagata T. Application of enamel matrix derivative in autotransplantation of an impacted maxillary premolar: A case Report. *J Periodontol* 2002; 73: 346- 351.

NOBLETT CRAIG W., Wilcox L.R., Scamman F., Johnson W.T., Diaz-Arnold A. Detection of pulpal circulation in vitro by pulse oximetry. *J of Endodon* 1996; 22(1): 1-5

NORTHWAY W.M., Konigsberg S. Autogenic tooth transplantation. The "state of the art". *Am J Orthod* 1980; 77(2): 146- 162

OESTERLE L.J. Implant Considerations in the Growing Child. In: Higuchi K.W. ed. *Orthodontic Applications of Osseointegrated Implants*. 2000 Quintessence Publishing Co, Inc.

OGAWA R., Saito C., Jung H-S., Oshima H. Capacity of dental pulp differentiation after tooth transplantation. *Cell Tissue Res* 2006; 326:715-724

OIKARINEN K. Evaluation of various splinting procedures and their physical properties. *End Dent Traumatol* 1991; 6: 237- 250

OIKARINEN K. Splinting of Traumatized Teeth. In: Andreasen J.O., Andreasen F.M., Andersson L., eds. Traumatic Injuries to the Teeth. 4<sup>a</sup> Ed. Blackwell Munksgard 2007; 32: 842- 851.

OKUDA K., Miyazaki A., Momose M., Murata M., Nomura T., Kubota T., Wolff L.F., Yoshie H. Levels of tissue inhibitor of metalloproteinases-1 and matrix metalloproteinases-1 and 8 in gingival crevicular fluid following treatment with enamel matrix derivative (EMDOGAIN®). J Periodont Res 2001; 36: 309-316.

OLSON D.B., Mailhot J.M., Anderson R.W., Schuster G.S., Weller R.N. Comparison of various transport media on human periodontal ligament cell viability. J Endod 1997; 23 (11): 676- 679.

PALIOTO B., Coletta R.D., Graner E., Joly J.C., de Lima A.F. The influence of enamel matrix derivative associated with insulin-like growth factor-I on periodontal ligament fibroblasts. J Periodontol 2004; 75(4): 498-504.

PALOSAARI H., Wahlgren J., Larmas M., et al. The Expression of MMP-8 in Human Odontoblasts and Dental Pulp Cells is Down-regulated by TGF-  $\beta_1$ . J Dent Res 2000; 79(1): 77-84.

PARASHIS A., Tsiklakis K., Tanakis D. EDTA gel root conditioning: lack of the effect on clinical and radiographic outcomes of intracanal defect treatment with enamel matrix derivative. J Periodontol 2006; 77:103- 110.

PAULSEN H., Andreasen J. Eruption of premolars subsequent to autotransplantation. A longitudinal radiographic study. Eur J Orth 1998; 20 :45- 55.

PAULSEN H., Andreasen J., Schwartz O. Pulp and periodontal healing, root development and root resorption subsequent to transplantation and orthodontic rotation: A long-term study of autotransplanted premolars. AmJ Orthod Dentofac Orthop 1995; 108: 630-640.

PECORA J.D., Neto M.D.S., Estrela C. Soluções auxiliares do preparo do canal radicular. In: Estrela (ed). Endodontia Princípios Biológicos e Mecânicos. Ed. Artes Medicas L-d<sup>a</sup>, 1999

PEDROSO J.A., Neto M.S., Okamoto T., Nunes N.A. Transplante dental homogêneo para alvéolos imediatamente após a exodontia ou em fase inicial de cicatrização – análise histológica em ratos. Rev Odontol UNESP, São Paulo 1993; 22(1): 85-95.

PICHELBAUER O.E. La Avulsión Dentaria. In: Alvarez O.J.Q., ed. Ortodoncia Nueva Generación. Actualidades Médico Odontológicas Latinoamérica, C.A. Caracas – Venezuela 2003

PIERCE A. M. Experimental basis for management of dental resorption. End Dent Traumatol 1989; 6(5): 255- 265.

PINHO T.M.C. Agenesia de Incisivos Laterais Maxilares. Tese de Doutorado. Faculdade de Medicina Dentária da Universidade do Porto 2004

PISCHON N., Zimmermman B., Bernimoulin J.P., Hagewald S. Effects of an enamel matrix derivative on human osteoblasts and PDL cells grown in organoid cultures. Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Endod 2006; 102: 551- 57.

PITT FORD T.R., Torabinejad M., Abedi H., Bakland L.K., Kariyawasam S.P. Using Mineral Trioxide Agregate as a Pulp-Capping Material. JADA 1996; 127: 1491- 1493.

POPP T.W., Artun J., LingeL. Pulpal response to orthodontic tooth movement in adolescents: A radiographic study. AJO-DO 1992; 101: 228: 233

POSTLETHWAITE K.M. Resorption of premolar roots by ectopic canines. Br Dent J 1989; 167: 397- 398.

PROFIT W.R. The development of dentofacial deformity: Influences and etiologic factors. In: William R. Proffit, ed. Contemporary Treatment of Dentofacial Deformity. Copyright© Mosby 2003

RAHN B.A. Intra Vitam Staining Techniques. In Rahn B.A.; Handbook of Biomaterials Evaluation: Scientific, Technical and Clinical Testing of Implant Materials. Ed. Andreas F. von Recum. 2<sup>a</sup> ed. ISBN 1-56032-479-1; 1999

RAM D., Cohenca N. Therapeutic Protocols for Avulsed Permanent Teeth: Review and Clinical Update. Pediatr Dent 2004; 26: 251-255

RAMSAY D.S., Artur J., Bloomquist D. Orthognatic surgery and pulpal blood flow: a pilot study using laser Doppler flowmetry. J Oral Maxillofac Surg 1991; 49: 564- 570

RIMES ROWENA J., Mitchell C.N.T., Willmot D.R. Maxillary incisor root resorption in relation to the ectopic canine: a review of 26 patients. Eur J Orthod 1997; 19: 79- 84.

RINCON J.C., Haase H.R., Bartold P.M. Effect of EMDOGAIN® on human periodontal fibroblasts in an in vitro wound-healing model. J Periodont Res 2003; 38: 290-295.

RITTER A.L.S., Ritter A.V., Murrah V., Sigurdsson A., Trope M. Pulp revascularization of replanted immature dog teeth after treatment with minocycline and doxycycline assessed by laser Doppler flowmetry, radiography, and histology. Dental Traumatology 2004; 20: 75-84

ROTSTEIN I., Friedman S., Mor C. Histological characterization of bleaching – induced external root resorption in dogs. J Endod 1991; 17: 436- 441

ROTSTEIN I., Torek Y., Lewinstein I. Effect of bleaching time and temperature on the radicular penetration of hydrogen peroxide. Endod Dent Traumatol 1991; 7: 196- 198

ROY C.O., Jeansonne B.G., Gerrets T.F. Effect of an acid environment on leakage of root- end filling materials. J Endod 2001; 27(1): 7- 8.

SAFAVI K., Dowden W., Introcasso J., Langlang K. Comparison of antimicrobial effects of calcium hydroxide and iodine potassium iodine. Journal of Endodontics 1985; 11: 454- 456.

SAFAVI K., Nichols F.C. Effect of calcium hydroxide on bacterial lipopolysaccharide. Journal of Endodontics 1993; 19: 76- 78

SAGNE S., Thilander B. Transalveolar transplantation of maxillary canines. A follow-up study. European J Orthod 1990; 12: 140-147.

SAHLI C. Tratamiento del diente com el ápice imaturo. In: Sahli (ed); Endodoncia – Técnicas Clínicas e Bases Científicas 2001

- SAMPSON C.B. Textbook of Radiopharmacy (Nuclear Medicine); Taylor & Francis; 1<sup>a</sup> Ed. 1994.
- SCHATZ J.P., Joho JP. Indications of transplantation of teeth in orthodontic problem cases. Am JOrhod Dentofac Orthop 1994; 106: 351-357.
- SCHJØTT M., Andreasen J. O. Emdogain<sup>®</sup> does not prevent progressive root resorption after replantation of avulsed teeth: a clinical study. Dental Traumatology 2005; 21(1):46-50
- SCHMITT D., Lee J., Bogen J. Multifaceted Use of ProRoot™ MTA Root Canal Repair Material. Pediatr Dent 2001; 23: 326- 330
- SCHNETTLER J.M., Wallace J.A. Pulse oximetry as a diagnostic tool of pulpal vitality. J Endodon 1991; 17: 488- 490
- SCHWARTZ F., Rothamel D., Sculean A., Becker J. Effect of enamel matrix protein derivative on th attachment, proliferation and viability of human SaOs2 osteoblasts on titanium implants. Clin Oral Invest 2004; 8: 165-171
- SCHWARTZ O., Andreasen J.O. Allo-and autotransplantation of mature teeth in monkeys: a sequential time – related histoquantitative study of periodontal and pulpal healing. Dent Traumatol 2002; 18: 246-261
- SCHWARTZ O., Bergmann P., Klausen B. Resorption of autotransplanted teeth: A retrospective study of 291 transplantations over a period of 25 years. Int End J 1985; 18: 119-131.
- SCHWARTZ R.S., Mauger M., Clement D.J., Walker W.A. Mineral Trioxide Agregate: A New Material for Endodontics. JADA 1999; 130: 967- 975
- SCHWARTZ Z., Carnes D.L., Pulliman R., Lohmann C.H., Sylvia V.L., Liu Y., Dean D.D., Cochran D.L., Boyan B.D. Porcine fetal enamel matrix derivative stimulates proliferation but not differentiation of pre- osteoblastic 2T9 cells. Inhibits proliferation and stimulates differentiation of osteoblast- like MG63 cells and increases proliferation and differentiation of normal human NHOst cells. J Periodontol 2000; 71: 1287- 1296

SCULEAN A., Berakdar M., Willershause B., Aeweiler N., Becker J., Schwartz F. Effect of EDTA root conditioning on the healing of intrabony defects treated with an enamel matrix protein derivative. J Periodontol 2006; 77: 1167- 1172

SCULEAN A., Keglevich T., Gera I. Évaluations cliniques et histologiques des traitements chez l'homme des défauts intra-osseux avec protéines dérivées de matrice de l'émail et une xéno-greffe d'origine bovine. Parodont Dent Rest 2003 (b); 23: 47- 55.

SHABESTARI L., Taylor G.N., Angus W. Dental eruption pattern of the beagle. J Dent Res 1967; 46(1): 276-278.

SHEEHAN D.C. e Hrapchak B.B. Bone. In: Theory and practice of Histotechnology. Mosby 1980

SHEFFIELD E. Inflammation and repair. In: Sheffield E., ed. Pathology in Dentistry. Oxford University Press 1996

SHELLHART C.W., Jasper S., Abrams H., Wilson T. Case report: Management of significant incisor root resorption associated with maxillary canine impaction. Angle Orthod 1998 ; 68(2): 187-192

SHIMABUKURU Y., Ichicawa T., Murakami S. Fibroblast Growth Factor-2 Regulates the Synthesis of Hyaluronan by Human Periodontal Ligament Cells. J Cell Physiol. 2005; 203: 557-563.

SHIN S-J., LEE J-II., Baek S-H., Lim S-S. Tissue levels of matrix metalloproteinases in pulps and periapical lesions. J of Endod 2002; 28(4):313-315

SHINOHARA J., Komatsu K. The biomechanical properties of the healing periodontium of replanted rat mandibular incisors. Dental Traumatology 2004; 20: 212- 221

SIANG-CHIH H., Nijole A.R., Jon C.D. Effects of long-term exposure of human periodontal ligament cells to milk and other solutions. Journal of Endodontics 1996; 22(1): 30-33.

SIGALAS E., Regan J.D., Kramer P.R., Witherspoon D.E., Opperman L.A. Survival of human periodontal ligament cells in media proposed for transport of avulsed teeth. Dent Traumatol 2004; 20(1): 21-8

SIMCOCK R., Hicks L. Delivery of calcium hydroxide: a comparison of four filling techniques. *J Endod* 2006; 32: 680-682.

SJÖGREN U., Figdor D., Spangberg L., Sundqvist G. The antimicrobial effect of calcium hydroxide as a short-term intracanal dressing. *Int Endod J*. 1991; 24: 119- 125.

SKOGLUND A. Vascular changes in replanted and autotransplanted apicoectomized mature teeth of dogs. *Int J Oral Surg* 1981; 10: 100- 110.

SKOGLUND A., Hasselgren G. Tissue changes in immature dog teeth autotransplanted to surgically prepared sockets. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1992; 74: 789- 95.

SKOGLUND A., Tronstad L., Wallenius K. A microangiographic of vascular changes in replanted and autotransplanted teeth of young dogs. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol* 1978; 45: 17- 23.

SLAGSVOLD O., Bjercke B. Applicability of autotransplantation in cases of missing upper anterior teeth. *Am J Orthod* 1978; 74(4): 410-421

SLOAN A.J, Smith A.J. Stimulation of the dentine-pulp complex of rat incisor teeth by transforming growth factor-  $\beta$  isoforms 1-3 in vitro. *Archives of Oral Biology* 1999; 44: 149-156.

SØRENSEN V., Nilsen T., Wiedlocha A. Functional diversity of FGF-2 isoforms by intracellular sorting. *BioEssays* 2006; 28: 504-514

SPÅNGBERG L.S.W. Tratamento de dentes sem periodontite apical. In: Ørstavik D, PittFord TR, eds. *Fundamentos de Endodontia* 2004

SPHAR A., Lyngstadaas S.P., Boeckh C., Andersson C., Podbielski A., Haller B. Effect of the Enamel matrix derivative Emdogain on the growth of periodontal pathogens in vitro. *J Clin Periodontol* 2002; 29: 67-72.

STAMOS D.E., Stamos D.G. A new treatment for internal resorption. *Journal of Endodontics* 1986; 12: 315-319.

STEFFEN H., Spleth C.H., Behr K. Comparison of measurements obtained with and files or the canal Leader attached to electronic apex locators: an in vitro study. *Int End J* 1999; 32 (2): 103-107

Transplantes dentários: alterações pulpares e das superfícies radiculares

STEVENS A., LOWE J. Cell Injury and Death. In: Stevens § Lowe, Pathology. Mosby 1995

STROB H., Haas M., Norer B., Gerhard S., Emshoff R. Evaluation of pulpal blood flow after tooth splinting of luxated permanent maxillary incisors. Dent Traumatol 2004; 20: 36-41.

SUDA T., Udagawa N., Takahashi N. Cells of bone: osteoclast generation. In: Bilezikian J.P., ed. Principles of bone biology. Academic Press 1996

SULKALA M, Tervaharttiala T, Sorsa T, Larmas M, Salo T, Tjäderhane L. Matrix metallopeptidase-8 (MMP-8) is the major collagenase in human dentin. Archives of Oral Biology 2007; 52:121-127.

SUNDQVIST G. & Figdor D. Tratamento Endodôntico da Periodontite Apical. In: Ørstavik D. & Pitt Ford T.R., ed. Fundamentos de Endodontia. Livraria Santos Editora 2004

TAITHONGCHAI R., Sookkorn K., Killiany D.M. Facial and dentoalveolar structure and the prediction of apical root shortening. Am J Orthod Dentofacial Orthop 1996; 110: 296- 302.

TEIXEIRA F., Levin L., Trope M. Investigation of pH at different dentinal sites after placement of calcium hydroxide dressing by two methods. Oral Surg Oral Med Oral Pat Oral Radiol Endod 2005; 99: 511-516

TEN CATE A.R. Oral Histology. Development, structure and function. 6<sup>a</sup> ed; Mosby 2003.

THILANDER B., Rygh P., Reitan K. Tissue Reactions in Orthodontics. In: Graber, Vanarsdal, Vig, eds. Orthodontics Current Principles Techniques. 4<sup>a</sup> Ed. Elsevier inc. 2005

THOMAS H.F. & Carella P. Correlation of scanning and transmission electron microscopy of human dentinal tubules. Arch Oral Biol 1984; 29(8): 641- 646.

THOMAS S., Turner S. Autotransplantation of teeth: is there a role? Brit J Orth 1998; 25:275-82

TORABINEJAD M., Chivian N. Clinical applications of mineral trioxide aggregate. *J Endod* 1999; 25(3): 197- 205.

TORABINEJAD M., Smith P.W., Kettering J.D., Pitt Ford T.R. Comparative investigation of marginal adaptation of mineral trioxide aggregate and other commonly used root end filling materials. *J Endod* 1995; 21(6): 295- 299

TORABINEJAD M., Watson T.F., Pitt Ford T.R. Sealing ability of a mineral trioxide aggregate when used as a root end filling material. *Journal of Endodontics* 1993; 19(12): 591- 595.

TRAN-HUNG L., Laurent P., Camps J., About I. Quantification of angiogenic growth factors released by human dental cells after injury. *Archives of Oral Biology* 2008; 53: 9-13.

TRAVESS H, Roberts D. Orthodontics. Part 6: Risks in orthodontic treatment. *Br Dent J* 2004; 196: 71-77

TROMBELLI L., Scabbia A., Zangari F., Wikesjo U.M., Calura G. Effect of tetracycline HCl on periodontally affected human root surfaces. *J Periodontol* 1995; 66: 685- 691.

TRONSTAD L. Endodontic aspects of root resorption – In: Leif Tronstad; *Clinical Endodontics A Text Book* ed. Thieme Medical Publishers, Inc. 1991; cap.8 : 139- 149

TRONSTAD L. Root resorption – Etiology, terminology and clinical manifestations. *Endod Dent Traumatol* 1988; 4: 241- 252.

TROPE M. Clinical management of the avulsed tooth: present strategies and future directions. *Dent Traumatol* 2002; 18(1): 1- 11.

TROPE M., Friedman S. Periodontal healing of replanted dog teeth stored in Viaspan, milk and Hank's balanced salt solution. *Endod Dent Traumatol* 1992; 8 (5): 183- 188.

TROPE M., Moshonov J., Nissan R., Buxt P., Yesilsoy C. Short vs. long-term calcium hydroxide treatment of established inflammatory root resorption in replanted dog teeth. *Endod Dent Traumatol* 1995; 11: 124- 128.

TSUBURA S., IKEDA Y. The effect of a tooth gingival transplantation on periodontal healing. *Dent Traumatol* 2003; 19: 209-213

TSUKIBOSHI M. History and Future Prospects. In: Tsukiboshi M., ed. Autotransplantation of Teeth. 2ª Edição. 2001 Quintessence Publishing Co, Inc.

TZIAFAS D., Komnenou A. Effects of recombinant basic growth factor, insuline –like growth factor –II and transforming growth factor –  $\beta$ 1 on dog dental pulp cells in vivo. Archives of Oral Biology 1998; 43: 431-444

VAN DER BURGT T.P., Plasschaert A.J.M. Bleaching of tooth discoloration caused by endodontic sealers. Journal of Endodontics 1986; 12: 231- 234.

VASTARDIS H. The Genetics of human tooth agenesis: new discoveries for understanding dental anomalies. AJODO 2000; 117:650-6

WAIKAKUL A., Kasetsuwan J, Punwutikorn J. Response of autotransplanted teeth to electric pulp testing. Oral Sug Oral Med Oral Pathol 2002; 94: 249- 255.

WALTON R.E. & Torabinejad M. Diagnostico e Plano de Tratamento. In: Walton & Torabinejad, eds. Endodoncia Principios y Prática. McGraw- Hill Interamericana, 2ª ed. 1996

WEISENSEEL J.A., Hicks M.L., Pelleu G.B. Calcium hydroxide as an apical barrier. J Endod 1987; 13: 1-5.

WIEBKIN O.W, Cardaci S.C., Heithersay G.S., Pierce A.M. Therapeutic delivery of calcitonin to inhibit external inflammatory root resorption. Diffusion kinetics of calcitonin through the dental root. Endod Dent Traumatol 1996; 12: 265- 271

WISITHPHROM K., Murray P.E., Windsor J.L. Interleukin-1 $\alpha$  Alters the Expression of Matrix Metalloproteinases and Collagen Degradation by Pulp Fibroblasts. J Endod 2006; 32(3): 186-192

WOLCOTT J. Nickel- Titanium usage and breakage: an update. Compendium 2003; 24(11): 852- 869.

YANPISET K., Trope M. Pulp revascularization of replanted immature dog teeth after different treatment methods. Endod Dent Traumatol 2000; 16:211- 217

YATES J.A. Barrier formation time in non-vital teeth with open apices. *Int Endod J* 1989; 21: 313- 319.

YE L., Peng L., Tan H., Zhou X. HGF Enhanced Proliferation and Differentiation of Dental Pulp Cells. *J Endod* 2006; 32:736- 741.

ZEHNDER M., Delaleu N., Du Y., Bickel M. Cytokine gene expression – part of host defence in pulpitis. *Cytokine* 2003; 22: 84-88

ZIESSMAN H.A., O'Malley J.P., Thrall J.H. *Nuclear Medicine- The Requisites*. 3<sup>a</sup> Ed. Mosby 2005.

ZOLLE I. *Technetium-99m Pharmaceuticals: Preparation and Quality Control in Nuclear Medicine*. Springer; 1 ed 2006

ZUSSMAN W.V. Osteogenic Activity of Odontoblasts in Transplanted Tooth Pulp. *J Dent Res* 1996; 45: 144-151.

ZWEMER T.J. In: Zwemer T.J., ed. *Clinical Dental Terminology. A Glossary of Accepted Terms in all Disciplines of Dentistry*. 4<sup>a</sup> Ed. Mosby 1993

---



**Capa:** Imagem de corte longitudinal em dente de cão obtido por desgaste. (Microscópio de fluorescência x100).

**Execução Gráfica:** Xcópia - Coimbra

**Design Gráfico:** Carolina Rodrigues