

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**



**REABSORÇÕES RADICULARES EXTERNAS APÓS O REIMPLANTE
DE DENTES PERMANENTES AVULSIONADOS:
OCORRÊNCIA E ASSOCIAÇÃO COM FATORES DEMOGRÁFICOS,
CLÍNICOS E GENÉTICOS**

DANIELA AUGUSTA BARBATO FERREIRA

**Belo Horizonte
2016**

**UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS
FACULDADE DE ODONTOLOGIA
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA**

DANIELA AUGUSTA BARBATO FERREIRA

**REABSORÇÕES RADICULARES EXTERNAS APÓS O REIMPLANTE
DE DENTES PERMANENTES AVULSIONADOS:
OCORRÊNCIA E ASSOCIAÇÃO COM FATORES DEMOGRÁFICOS,
CLÍNICOS E GENÉTICOS**

**Dissertação apresentada ao Programa de Pós-
Graduação em Odontologia da Universidade
Federal de Minas Gerais, como requisito à
obtenção do título de Mestre em Odontologia.
Área de Concentração: Endodontia**

Orientadores:

Prof. Dr. Ricardo Santiago Gomez

Profa. Dra. Juliana Vilelas Bastos

Belo Horizonte

2016

FICHA CATALOGRÁFICA

F383r
2016
T
Ferreira, Daniela Augusta Barbato.
Reabsorções radiculares externas após o reimplante de dentes permanentes avulsionados: ocorrência e associação com fatores demográficos, clínicos e genéticos / Daniela Augusta Barbato Ferreira. – 2016.

85 f. : il.

Orientador: Prof. Dr. Ricardo Santiago Gomez
Co-orientadora: Profa. Dra. Juliana Vilelas Bastos

Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal de Gerais,
Faculdade de Odontologia.

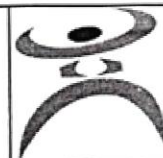
1. Interleucina-10. 2. Reabsorção da raiz. 3. Reimplante. 4. Polimorfismo genético. I. Gomez, Ricardo Santiago. II. Bastos, Juliana Vilelas. III. Universidade Federal de Minas Gerais. Faculdade de Odontologia. IV Título.

BLACK – D047



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



FOLHA DE APROVAÇÃO

REABSORÇÕES RADICULARES EXTERNAS APÓS O REIMPLANTE DE DENTES PERMANENTES AVULSIONADOS: OCORRÊNCIA E ASSOCIAÇÃO COM FATORES DEMOGRÁFICOS, CLÍNICOS E GENÉTICOS

DANIELA AUGUSTA BARBATO FERREIRA

Dissertação submetida à Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Odontologia, como requisito para obtenção do grau de Mestre em Odontologia, área de concentração Endodontia.

Aprovada em 30 de junho de 2016, pela banca constituída pelos membros:

Prof(a). Ricardo Santiago Gomez - Orientador
UFMG

Prof(a). Juliana Vilela Bastos
UFMG

Prof(a). Maria Ilma de Souza Gruppioni Côrtes
PUC-MG

Prof(a). Paula Rocha Moreira
UFMG

Belo Horizonte, 30 de junho de 2016.



UNIVERSIDADE FEDERAL DE MINAS GERAIS

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA



ATA DA DEFESA DE DISSERTAÇÃO DA ALUNA DANIELA AUGUSTA BARBATO FERREIRA

Aos 30 dias de junho de 2016, às 08:00 horas, na sala 3403 da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais, reuniu-se a Comissão Examinadora composta pelos professores Ricardo Santiago Gomez (Orientador) – FO/UFMG, Juliana Vilela Bastos – FO/UFMG, Maria Ilma de Souza Gruppioni Côrtes – PUCMG e Paula Rocha Moreira – ICB/UFMG, para julgamento da dissertação intitulada: **Reabsorções radiculares externas após o reimplante de dentes permanentes avulsionados: ocorrência e associação com fatores demográficos, clínicos e genéticos.** O Presidente da Banca, abriu os trabalhos e apresentou a Comissão Examinadora. Após a exposição oral do trabalho pela aluna e arguição pelos membros da banca, a Comissão Examinadora considerou a candidata:

Aprovada

Reprovada

Finalizados os trabalhos, lavrou-se a presente ata que, lida e aprovada, vai assinada por mim e pelos demais membros da Comissão. Belo Horizonte, 30 de junho de 2016.

Prof(a). Ricardo Santiago Gomez

Prof(a). Juliana Vilela Bastos

Prof(a). Maria Ilma de Souza Gruppioni Côrtes

Prof(a). Paula Rocha Moreira

COLABORADORES:

Programa de Traumatismos Dentários – FO/UFMG

Pbext – PROEx - UFMG

FMP– CENEX – FO – UFMG

LABIC - Laboratório de Interações Celulares – ICB/UFMG

CNPq, FAPEMIG, INCT-DT, SCTIE-DECIT-MS

Laboratório de Biologia Celular – FO/UFMG

CNPq, FAPEMIG, CAPES

**"E aprendi que se depende sempre,
de tanta, muita, diferente gente.**

**Toda pessoa sempre é as marcas
das lições diárias de outras tantas
pessoas.**

**E é tão bonito quando a gente
entende que a gente é tanta gente
onde quer que a gente vá.**

**E é tão bonito quando a gente sente
que nunca está sozinho, por mais
que pense estar."**

Gonzaguinha

Agradecimentos

“Eu gosto de quem facilita as coisas. De quem aponta caminhos ao invés de propor emboscadas. Eu sou feliz ao lado de pessoas que vivem sem códigos, que estão disponíveis sem exigir que você decifre nada. Eu quero andar de mãos dadas com quem sabe que entrelaçar os dedos é mais do que um simples ato que mantém mãos unidas. É uma forma de trocar energia, de dizer: você não se enganou, eu estou aqui. Porque, por mais que os obstáculos nos desafiem, o que realmente permanece costuma vir de quem não tem medo de ficar.”

Fernanda Gaona

Agradecimento especial aos mestres desta jornada:

Prof. Dr. Ricardo Santiago Gomez, pela oportunidade e confiança, pelas orientações, ensinamentos e pelo exemplo profissional. Obrigada por disponibilizar sua equipe e colocar sua infraestrutura, sabedoria e expertise à disposição deste projeto.

Profa. Dra. Juliana Vilela Bastos, pessoa sem a qual este trabalho não teria sido realizado. Agradeço de coração pela amizade, pelo apoio incansável, pela generosidade em transmitir seus conhecimentos e por acreditar em mim e me mostrar o caminho da ciência. Nossa parceria começou muito cedo, e eu só posso agradecer por todas as oportunidades que você me proporcionou, pelo crescimento pessoal e profissional, além da contribuição decisiva na minha formação. Jú, tenha certeza que sem seu incentivo constante nada disso seria possível!!

Profa. Dra. Maria Ilma Souza Côrtes, que acompanhou minha trajetória desde muito cedo também, igualmente me inspirando e colaborando de forma significativa em minha formação profissional.

À Profa. Dra. Walderez Ornelas Dutra, pela contribuição fundamental ao disponibilizar a infraestrutura no Laboratório de Interações Celulares (ICB), viabilizando a execução desta pesquisa.

À minha família, meus pais e irmãos, pelo incentivo e apoio durante todo o meu mestrado. Obrigada por terem compreendido cada dificuldade e ausência e por possibilitarem a transformação de meus ideais em realidade. Vocês foram (e continuam sendo) os meus primeiros grandes exemplos. Agradeço especialmente ao meu marido, Fabrício, pelo amor, carinho e paciência fundamentais para que eu alcançasse esse objetivo, por suportar as ausências e as chatices e por estar sempre ao meu lado. À todos vocês, o meu amor e a minha sincera gratidão.

Ao Léó, pela inestimável amizade, por sua presença fiel e marcante e pelo incentivo e apoio em TODAS as horas!

A todos os colegas e professores do Programa de Mestrado da UFMG, que de braços abertos me receberam. Agradeço pelos saberes compartilhados, pelo companheirismo constante e pelos laços de amizade que estreitamos ao longo destes dois anos de estudo.

Aos companheiros do Laboratório de Biologia Celular pelas ajuda e pelas orientações. Agradecimento especial a Sara pela delicadeza e pelo auxílio e disponibilidade na execução dos experimentos.

Ao Programa de Traumatismos Dentários da FO-UFMG, seus alunos, bolsistas e voluntários, pacientes e à Cris. Todos representam parte essencial da metodologia deste trabalho. Obrigada pela valiosa colaboração, por me acolher e por gentilmente colocarem sua experiência à disposição da ciência e por estarem presentes sempre que solicitado. À vocês, meu respeito e gratidão.

Enfim, agradeço a Deus, pela oportunidade de encontrar pessoas tão especiais e pela dádiva desse enorme aprendizado!

RESUMO

As Reabsorções Radiculares Externas (RRE) representam a complicação mais frequente da cicatrização periodontal de dentes reimplantados, podendo levar à perda do elemento dental. São classificadas em inflamatórias e por substituição e, embora apresentem quadros histopatológicos e manifestações clínicas distintas, poucos estudos investigaram seus determinantes clínicos e demográficos específicos. O presente estudo teve como objetivo avaliar o papel dos fatores demográficos, clínicos e genéticos na prevalência e extensão das Reabsorções Radiculares Externas (RRE) após reimplante de dentes permanentes avulsionados. Dados clínicos e radiográficos de 208 pacientes atendidos na Clínica de Traumatismos Dentários da FO-UFMG (CTD-FO-UFMG) portadores de 269 dentes permanentes reimplantados foram coletados de seus prontuários e avaliados quanto à associação da atividade de RRE na consulta de início do tratamento endodôntico radical (TER). Para estudo dos efeitos dos fatores genéticos na atividade de reabsorção inicial, os pacientes foram genotipados para polimorfismos nos genes que codificam para as citocinas IL-10 (rs 1800896), RANK (rs 8086340), RANKL (rs 2277438) e OPG (rs 2073618) pelo método de RT-PCR. Para verificar quais variáveis exerciam influência no Índice de Reabsorção, foi ajustada uma Regressão Marginal Log-Linear (Poisson). Os resultados obtidos demonstraram que o índice de RREI em pacientes com menos de 11 anos foi 50% maior quando comparada com aquela dos pacientes maiores de 11 anos no momento do trauma ($p < 0,001$). Quando considerado o ponto de corte de 16 anos, o efeito da idade foi mais pronunciado demonstrando maiores índices de reabsorção tanto de RREI quanto de RRES nos pacientes menores de 16 anos que nos pacientes maiores de 16 anos no momento do trauma. Os resultados demonstraram que a demora para o início do tratamento endodôntico após o reimplante aumentou o risco de ocorrência de RRE e foi diretamente proporcional ao aumento nos índices de reabsorção. Para estudar o efeito da idade e das variáveis clínicas e genéticas no tipo de RRE observada no início da terapia endodôntica, realizou-se regressão logística multivariada no modelo de GEE. A análise dos genótipos mostrou que a presença da variante alélica C+ (CC+CG) no SNP rs 2073618 do gene que codifica para OPG apresentou associação significativa com o tipo de RRE inicial ($p = 0,022$), mas não influenciou a extensão da reabsorção. Concluiu-se que a ocorrência e os índices de reabsorção inicial na presente amostra estiveram fortemente influenciados pelo tempo decorrido entre o reimplante e o início do TER e pela idade do paciente no momento do trauma. Em contrapartida, fatores genéticos apresentaram associação significativa com o tipo de reabsorção observada, entretanto estes não influenciaram na extensão da mesma.

Palavras-chave: reimplante, reabsorção radicular externa, polimorfismos genéticos, interleucina-10, RANK/RANKL/OPG

ABSTRACT

External Root Resorption in Permanent Replanted Teeth: Occurrence and Association with Demographic, Clinical and Genetic Factors

External root resorption (ERR) is a serious complication following replantation and its progressive inflammatory and replacement forms are significant causes of tooth loss. This retrospective study aimed to evaluate the factors related to the occurrence of Inflammatory External Root Resorption (IERR) and Replacement External Root Resorption (RERR) shortly after permanent tooth replantation in patients treated at the Dental Trauma Clinic at the School of Dentistry of Federal University of Minas Gerais (DTC – SD – FUMG) in Belo Horizonte, Brazil. Case records and radiographs of 269 teeth from 208 patients were evaluated for the presence, type, and extension of ERR and tested for their association with age, clinical factors related to the management and acute treatment of the avulsed tooth and the presence of SNPs rs1800896 in the IL-10 (rs 1800896), RANK (rs 8086340), RANKL (rs 2277438) e OPG (rs 2073618). A multivariate Poisson Regression in the GEE model was performed to test the effect of age, clinical and genetic factors in the occurrence and extension of ERR. The patient's age at the moment of trauma and time elapsed between replantation and the onset of endodontic therapy had a marked effect on the ERR prevalence and extension. The progression rate of IERR was 50% higher in patients younger than 11 years when compared to that of patients older than 11 years at the time of trauma ($p < 0.001$). When considered the cutoff point of 16 years, the age effect was more pronounced showing highest rates of reabsorption of both RREI as RRES in patients under 16 years than in patients over 16 years at the time of trauma. The results showed that the time elapsed between replantation and the onset of endodontic therapy progressively affected the prevalence and severity of ERR and was directly proportional to the increase in rates of reabsorption. To study the effect of age, clinical and genetic variables in the type of ERR observed at the onset of endodontic therapy a multivariate logistic regression model in the GEE model was performed. The presence of the allelic variant C + (CC + CG) in SNP rs 2073618 of the gene encoding OPG was significantly associated with the occurrence of IERR ($p = 0.022$). It was concluded that while demographic and clinical factors did not influence the type of RRE after replantation of permanent teeth, the occurrence and the indexes were strongly influenced by the time elapsed between the replantation and the beginning of the endodontic treatment and the age of the patient time of injury. On the other hand, genetic factors were significantly associated with the type of resorption observed but did not affect.

Keywords: tooth replantation, external root resorption, single nucleotide polymorphism, interleukin-10, RANK/RANKL/OPG

LISTAS DE ABREVIATURAS E SIGLAS

CTD - FO-UFMG - Clínica de Traumatismos Dentários - Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Minas Gerais

COEP - Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG

DNA - Deoxyribonucleic acid (Ácido desoxirribonucleico)

EHW - Equilíbrio de Hardy-Weinberg

GEE - Generalized Estimation Equation (Equações de Estimação Generalizadas)

IADT - International Association of Dental Traumatology (Associação Internacional de Traumatologia Dentária)

IL1 α - Interleucina 1 α

IL1 β - Interleucina 1 β

IL6 - Interleucina 6

IL8 - Interleucina 8

IL12 - Interleucina 12

IL10 - Interleucina 10

LPS - Lipopolissacarídeos

OPG - Osteoprotegerina

PCR-RT - Polymerase Chain Reaction - Real Time (Reação em cadeia da polimerase em tempo real)

LP - Ligamento periodontal

PGE2 - Prostaglandina 2

PMN - Neutrófilos polimorfonucleares

RANK - Receptor ativador do fator nuclear kappa

RANKL - Ligante do receptor de ativação do fator nuclear kappa

RRE - Reabsorção radicular externa

RREA - Reabsorção radicular externa apical

RREI - Reabsorção radicular externa inflamatória

RRES - Reabsorção radicular externa por substituição

TER - Tratamento Endodôntico radical

SCR - Sistema de Canais Radiculares

SNPs - Single Nucleotide Polymorphism (Polimorfismos de nucleotídeo único)

TCCB - Tomografia Computadorizada Cone Beam

TIMPs - Tissue Inhibitor of Metalloproteinase (Inibidores teciduais de metaloproteinases)

TNF α - Tumor Necrosis Factor α (Fator de necrose tumoral α)

TNF β - Tumor Necrosis Factor β (Fator de necrose tumoral β)

LISTA DE TABELAS

TABELA O1	Reagentes utilizados na PCR-RT.....	39
TABELA O2	Distribuição de frequência dos dentes segundo o meio de armazenamento extra-alveolar.....	44
TABELA O3	Distribuição de frequências dos genótipos e alelos dos SNPs estudados nos genes IL10, TNFRSF11A (RANK), TNFRSF11B (OPG) e TNFSF11 (RANKL).....	45
TABELA O4	Efeito da idade e fatores clínicos no tipo de reabsorção radicular.....	48
TABELA O5	Efeito da idade e fatores clínicos no índice de reabsorção radicular.....	50
TABELA O6	Efeito dos SNPs estudados no tipo de reabsorção radicular.....	52
TABELA O7	Modelo de Regressão Logística – Análise Multivariada do efeito do SNP rs 2073618 no gene TNFSRF11B (OPG), meio de armazenamento e período extra-alveolar no tipo de reabsorção radicular na consulta inicial.....	53
TABELA O8	Tabela 08: Efeito dos SNPs estudados no índice de reabsorção radicular.....	55

LISTA DE FIGURAS

FIGURA O1	Desenho esquemático do critério para cálculo do índice radiográfico de reabsorção.....	37
FIGURA O2	Gráficos representativos do PCR em tempo real para a análise do SNP OPG 1181 G>C rs2073618.....	40

LISTA DE GRÁFICOS

GRÁFICO 01	Distribuição de frequência da amostra de acordo com o dente acometido.....	43
GRÁFICO 02	Distribuição da amostra segundo o tipo de reabsorção radicular externa observada na consulta inicial.....	46
GRÁFICO 03	Distribuição da amostra segundo o tipo de reabsorção radicular externa observada na consulta inicial.....	46

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	16
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	19
2.1	Determinantes demográficos e clínicos das Reabsorções Radiculares Externas Pós-traumáticas.....	20
2.2	Mecanismos celulares e moleculares das reabsorções dentárias e o papel dos polimorfismos genéticos.....	26
3	OBJETIVOS.....	32
4	MATERIAIS E MÉTODOS.....	34
4.1	Seleção da amostra.....	35
4.2	Avaliação radiográfica do índice de reabsorção.....	36
4.3	Análise de Polimorfismo	
4.3.1	Obtenção do DNA.....	37
4.3.2	Identificação dos genótipos.....	38
4.4	Análise estatística.....	40
5	RESULTADOS.....	42
5.1	Distribuição de frequência das variáveis explicativas e dos indicadores da atividade de reabsorção.....	43
5.1.1	Distribuição de frequência das variáveis relacionadas ao manejo e tratamento dos dentes avulsionados.....	44
5.1.2	Distribuição de frequência das variáveis genéticas.....	45
5.1.3	Distribuição de frequência dos indicadores da atividade de reabsorção.....	46
5.2	Estudo do efeito da idade e dos fatores clínicos na atividade de reabsorção inicial.....	47
5.2.1	Estudo do efeito da idade e fatores clínicos no tipo de reabsorção inicial.....	47
5.2.2	Estudo do efeito da idade e fatores clínicos no índice de reabsorção inicial.....	49
5.3	Estudo do efeito dos SNPs estudados na atividade de reabsorção inicial.....	51
5.3.1	Estudo do efeito dos SNPs estudados no tipo de reabsorção inicial.....	51
5.3.2	Estudo do efeito dos SNPs estudados no índice de reabsorção inicial.....	54
6	DISCUSSÃO.....	56
7	CONCLUSÕES.....	67
8	REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	69
9	ANEXOS.....	81

1. Introdução

Reabsorção é o termo utilizado na literatura médica e odontológica para definir o processo pelo qual tecidos mineralizados formados são destruídos pela ação de células especializadas, os clastos, que dissolvem os componentes mineralizados, degradam a matriz orgânica e posteriormente eliminam seus subprodutos através do sistema sanguíneo e linfático (BECKS e MARSHALL, 1932).

Na cavidade oral, três tecidos são susceptíveis a este processo: osso alveolar, cemento e dentina. Entretanto, embora possuam a mesma origem mesenquimal e componentes estruturais básicos similares - colágeno e hidroxiapatita, estes tecidos diferem na susceptibilidade à reabsorção. O osso alveolar é constantemente reabsorvido durante o processo fisiológico de remodelação óssea, necessário para o crescimento e manutenção dos maxilares, bem como para a homeostasia de cálcio e fosfato séricos. Ao contrário do osso alveolar, os tecidos dentais mineralizados não são normalmente reabsorvidos, exceto durante a esfoliação dos dentes decíduos, única situação de reabsorção dentária considerada fisiológica (HAROKOPAKIS-HAJISHENGALLIS, 2007). Esta resistência à atividade de reabsorção dos dentes permanentes é creditada principalmente ao ligamento periodontal e à camada cementoblástica que recobrem a superfície externa da raiz. Sendo assim, as reabsorções radiculares externas (RRE) são um fenômeno estritamente local e podem ser induzidas por meio de fatores que resultam em dano à estas camadas, expondo as áreas mineralizadas da raiz à ação das células clásticas. A pressão excessiva gerada por movimentação ortodôntica, a presença de processos neoplásicos e dentes impactados, trauma oclusal, a remoção mecânica do LP durante procedimentos cirúrgicos ou traumatismos dentários são fatores etiológicos das RRE (TRONSTAD, 1988, NE *et al.*, 1999).

A avulsão dentária se caracteriza pela completa exarticulação do dente de seu alvéolo, na qual há ruptura total das fibras do ligamento periodontal e sua exposição ao meio externo além de dano irreversível à superfície externa da raiz. Além disso, ocorre o rompimento do feixe vaso-nervoso apical, fazendo com que a necrose pulpar seja esperada na maioria dos casos. Embora o reimplante dental seja o tratamento de escolha para as avulsões dentárias e a literatura seja unânime quanto às vantagens do reimplante imediato, o que se observa no dia a dia é que

este é uma exceção, na medida em que na maioria das vezes, os dentes são perdidos ou mantidos inadequadamente. Esta situação leva à perda da integridade das células do LP (HAMMARSTRÖM *et al.*, 1986) e da camada cementoblástica predispondo a raiz à RRE, a qual constitui-se a sequela mais frequente após reimplantes dentais, com prevalência relatada na literatura entre 74 e 96% (TRONSTAD, 1988).

Estudos clínicos e experimentais relacionaram o prognóstico após reimplantes dentários a fatores demográficos e clínicos relacionados ao manejo e tratamento do dente avulsionado. Entretanto, embora estes fatores possam atuar na etiopatogenia das RRE, eles não são capazes de explicar completamente as diferenças interindividuais observadas. Por outro lado, observa-se na literatura uma escassez de informações sobre o papel da resposta imune do paciente na patogênese das RRE. Sabendo-se da importância das citocinas na biologia dos tecidos ósseos e nos processos de reabsorção patológica dos tecidos mineralizados, variações na sua expressão podem determinar diferentes respostas inflamatórias dos indivíduos frente a um estímulo padrão. Nos últimos anos, vários estudos têm demonstrado que polimorfismos em genes que codificam para as citocinas podem influenciar na suscetibilidade a doenças, uma vez que podem alterar a taxa de transcrição gênica, produzir proteínas incompletas ou inativas (CHORLEY *et al.*, 2008), tendo sido considerados como fatores de risco para várias desordens da cavidade oral (DUTRA *et al.*, 2009), entre elas as RRE após reimplantes (BASTOS, 2014; BASTOS *et al.*, 2015).

Considerando-se que as RRE representam a complicação mais frequente da cicatrização periodontal de dentes avulsionados, levando a um grande número de perda de dentes permanentes anteriores e as consequências que a perda precoce dos incisivos centrais superiores (dentes mais afetados na grande maioria dos casos) pode acarretar para a faixa etária mais acometida, crianças e adolescentes, é de grande relevância a compreensão da patogênese e dos fatores de susceptibilidade envolvidos no desenvolvimento de formas graves destes quadros. Esse conhecimento representa um primeiro passo para que se possam desenvolver tratamentos mais específicos que, em última instância, viabilizem e favoreçam a cicatrização dos dentes avulsionados, mesmo quando reimplantados tardiamente.

2. Revisão de Literatura

2.1 DETERMINANTES DEMOGRÁFICOS E CLÍNICOS DAS REABSORÇÕES RADICULARES EXTERNAS PÓS-TRAUMÁTICAS:

As RRE após o reimplante dental podem ser classificadas em dois grandes grupos: inflamatórias - RREI, e por substituição - RRES. Os fatores desencadeantes que estabelecem condições propícias à formação e ativação de células clásticas a princípio são os mesmos em ambos os tipos de reabsorção, a saber: a lesão das estruturas de sustentação do elemento dental representada pela ruptura total das fibras do ligamento periodontal e por danos à camada cementoblástica (ANDREASEN & ANDREASEN, 1992).

No caso das RREI, a camada de cimento e cemento intermediárias, tendo sido atingidas pela reabsorção de superfície, acaba por expor os túbulos dentinários. Considerando que a necrose pulpar é esperada na maioria dos casos de avulsão dentária e que o tecido pulpar necrosado é extremamente susceptível à contaminação microbiana, a exposição dos túbulos dentinários ao ambiente intracanal infectado propicia uma via de acesso para bactérias e suas toxinas atingirem a superfície externa da raiz. A combinação de microrganismos presentes no interior do SCR com o dano à camada cementoblástica na superfície externa da raiz resultam em RREI que pode ser bastante grave e levar a uma rápida perda do elemento dental (ANDREASEN & HJORTING-HANSEN, 1966[B]; ANDREASEN, 1981[B]; HAMMARSTROM *et al.*,1986[A]; TRONSTAD, 1988; BLOMLOF *et al.*,1982; TROPE, 2011). O principal mecanismo de indução da RREI está relacionado com a presença de bactérias no canal radicular (ANDREASEN & HJORTING-HANSEN, 1966[B]; ANDREASEN, 1981[B]; TROPE, 2011), sugerindo que os mecanismos imuno-inflamatórios da RREI sejam, por conseguinte, bastante semelhantes aos da reabsorção óssea periapical em resposta à uma infecção endodôntica (PIERCE, 1989; PIERCE *et al.*,1991; GRAVES *et al.*,2011; SASAKI, 2003). Histologicamente, as RREI são caracterizadas pela destruição de cimento e dentina, com muitas Lacunas de Howship adjacentes, ocasionalmente preenchidas por osteoclastos. No ligamento periodontal vizinho, observa-se tecido inflamatório com linfócitos, plasmócitos e neutrófilos polimorfonucleares (ANDREASEN, 1981[C]; PETINI & PETINI, 1988).

A RRES foi primeiramente descrita por Andreasen & Hjørting-Hansen (1966[B]) como uma união direta do osso alveolar e superfície da raiz, seguida de reabsorção e substituição progressiva da estrutura radicular por tecido ósseo (ANDREASEN, 1980[A]; ANDREASEN 1981[C]; ANDREASEN e KRISTERSON, 1981; LINDSKOG *et al.*, 1988[A]; NISHIOKA *et al.*, 1998). Estudos experimentais posteriores confirmaram que uma lesão extensa do ligamento periodontal leva à perda de vitalidade das células precursoras dos fibroblastos e cementoblastos, resultando no repovoamento da superfície radicular por células tronco derivadas da medula do osso alveolar (MCCULLOCH *et al.*, 1987; PITARU *et al.*, 1994). Os mecanismos indutores e reguladores da RRES ainda não são completamente conhecidos. Acredita-se que, ao perder a camada cementoblástica decorrente do evento traumático e uma vez cessada a inflamação inicial responsável pela remoção dos restos necróticos do ligamento periodontal da área, a superfície radicular desnuda é colonizada por osteoblastos e osteoclastos, normalmente presentes no osso medular, que competem para repovoá-la. A superfície dentinária da raiz passa assim a integrar o processo de remodelação fisiológica do tecido ósseo (HAMMARSTROM *et al.*, 1986[B]).

Vários estudos clínicos e experimentais avaliaram o papel de fatores clínicos e demográficos relacionados ao manejo e tratamento de dentes avulsionados e reimplantados na etiopatogenia das RRE pós-traumáticas. De acordo com a literatura, um prognóstico favorável após reimplantes dentários depende de algumas variáveis como período e meio de armazenamento extra-alveolar do dente avulsionado, idade do paciente no momento do trauma bem como o grau de rizogênese, emprego de antibioticoterapia sistêmica no momento do reimplante e momento da pulpectomia (ANDREASEN, 1981[A][B]).

O fator mais importante para assegurar um resultado favorável após o reimplante é a rapidez com que o dente avulsionado é reimplantado (ANDREASEN 1975; ANDERSON & BODIN, 1990; ANDREASEN *et al.*, 1995[D]; HARKACZ *et al.*, 1997; PETTIETTE *et al.*, 1997; BOYD *et al.*, 2000; CHAPPUIS e VON ARX, 2005; ANDREASEN & ANDREASEN, 2007; PETROVICK *et al.*, 2010). O reimplante imediato é único fator que mais eficientemente melhora o prognóstico dos dentes avulsionados, pois a diminuição do período extra-alveolar aumenta a probabilidade

de ocorrer cicatrização do LP danificado durante o evento traumático (ANDREASEN, 1981[C]; ANDERSON & BODIN, 1990; ANDREASEN *et al.*, 1995[D]; POHL *et al.*, 2005). A completa cicatrização tecidual somente poderá ser esperada quando o reimplante é realizado nos primeiros 5 minutos após o trauma (ANDREASEN *et al.*, 1995[D]; DONALDSON & KINIRONS, 2001). Muitos dos trabalhos que buscaram investigar a relação entre a presença de RRE e o período extra-alveolar do dente avulsionado chegaram a semelhante conclusão: o intervalo entre a avulsão e reimplante afeta a incidência e severidade das reabsorções radiculares (ANDREASEN & HJORTING-HANSEN, 1966[A]; ANDRESEN, 1981[C]; KINIRONS *et al.*, 1999). Dentes reimplantados após um período extra-alveolar de até 15 ou 20 minutos apresentam prognóstico a longo prazo favorável sem evidência de reabsorção radicular ou reabsorção limitada a uma pequena área (ANDREASSEN, 1981[C]; ANDERSSON *et al.*, 1989; ANDERSSON & BODIN, 1990; PETTIETTE *et al.*, 1997). As células do ligamento periodontal podem sobreviver a seco dentro deste período (DONALDSON & KINIRONS, 2001), mas um aumento de 10 minutos no período extra-alveolar aumenta a probabilidade de reabsorção em 29% (KINIRONS *et al.*, 2000), sendo poucas as probabilidades de sobrevivência por um período superior a 60 minutos (SODER *et al.*, 1977; ANDERSSON *et al.*, 1989; TROPE, 2011; PETROVICK *et al.*, 2010; WERDER *et al.*, 2011).

Como na maioria das vezes o fator período extra-alveolar não pode ser adequadamente controlado, a principal medida a ser adotada é colocar o elemento dental avulsionado em um meio de armazenamento apropriado que seja capaz de manter as células do ligamento periodontal hidratadas, preservando sua viabilidade, minimizando a resposta inflamatória após o reimplante e permitindo o reparo por regeneração das fibras do LP (ANDREASSEN *et al.*, 1995[4]; POHL *et al.*, 2005[B]). Quando desidratadas, as células sofrem alteração do seu metabolismo fisiológico normal e da sua morfologia celular, e aparentemente isto pode estar relacionado ao desenvolvimento de uma resposta inflamatória não específica no tecido adjacente após o reimplante (TROPE, 2011).

A busca por um meio de armazenamento ideal, capaz de manter a viabilidade das células do LP e que ao mesmo tempo apresente propriedade antioxidante, nenhuma ou mínima contaminação microbiana, pH fisiológico, osmolaridade

compatível, disponibilidade, acessibilidade e baixo custo é um dos principais interesses da pesquisa em traumatismos dentários (POI *et al.*,2013). Os meios de armazenamento sugeridos na literatura em ordem de preferência são: leite, solução salina, saliva ou água (ANDREASEN, 1981[C]; HILTZ & TROPE, 1991; UDOYE *et al.*, 2012).

A idade do paciente no momento do trauma também tem sido descrita na literatura como sendo uma variável importante na evolução e severidade da RRE. É amplamente aceita a afirmativa de que quanto mais jovem é o paciente maior é o índice de reabsorção (ANDERSON *et al.*,1989; PETROVICK *et al.*, 2010; RHOUMA *et al.*, 2012; BASTOS *et al.*,2014; SOARES *et al.*, 2015). Na RRES este efeito pode ser explicado pela maior taxa de remodelação óssea nos pacientes mais jovens (ANDERSON *et al.*,1989; BASTOS *et al.*, 2014), enquanto que na RREI este efeito é atribuído ao diâmetro dos túbulos dentinários de dentes jovens, o que permite que micro-organismos colonizem essas áreas mais facilmente (BASTOS *et al.*, 2014).

Além disso, o estágio de desenvolvimento radicular no momento do reimplante foi relacionado á sobrevida dos dentes reimplantados. Dentes com completo desenvolvimento radicular e forame apical constricto demonstraram maior índice de sobrevida que dentes com formação radicular incompleta (BARRETT & KENNY, 1997[B]; PETROVIC *et al.*, 2010). A explicação para maior perda dental entre o grupo de dentes imaturos traumatizados está indubitavelmente relacionada à maior velocidade da reabsorção e a menor quantidade de estrutura radicular a ser reabsorvida (ANDREASEN *et al.*,1995 [4]; BARRETT & KENNY, 1997[B]). O reimplante de dentes com ápice abertos apresentaram 4,2 vezes (BARRETT & KENNY, 1997[B]) a 6,4 vezes (PETROVIK *et al.*, 2010) mais chance de perda dental que o reimplante de dentes com completa formação radicular. Entretanto, em seu estudo Pohl *et al.* (POHL *et al.*,[A][B][C]) observaram que o grau de maturidade radicular não esteve relacionada com os padrões de cicatrização periodontal e com a incidência de RREI nem mesmo com a perda dentária ou índice de sobrevida.

O tempo decorrido entre o reimplante e o início da terapia endodôntica afeta progressivamente a prevalência e severidade da RREI (ANDERSSON & BODIN, 1990; HINCKFUSS & MESSER, 2009[A]; BASTOS *et al.*, 2014; SOARES *et al.*, 2015). Um estudo recente demonstrou que cada dia passado entre o reimplante e o

início da terapia endodôntica aumenta o risco de desenvolvimento de RREI em 1,2% (BASTOS *et al.*, 2014), ou seja, a RREI progride continuamente e sua paralisação exige a intervenção profissional. A eliminação do fator bacteriano do interior do canal radicular e/ou túbulos dentinários por terapia endodôntica interromperá o processo reabsortivo (TRONSTAD, 1988; TSILINGARIDIS *et al.*, 2015), o que significa dizer que o sucesso ou insucesso do tratamento da reabsorção inflamatória depende do protocolo de terapia endodôntica implementado (TROPE *et al.*, 1992; TROPE, 2002; STEWART *et al.*, 2008). Nesse sentido, é recomendação da maioria dos autores, que o tratamento endodôntico deva ser efetuado cerca de 7 a 14 dias após o reimplante nos dentes nos quais não se pode esperar uma revascularização da polpa (ANDREASEN *et al.*, 1995[B]; TROPE, 2002; POHL *et al.*, 2005[A][B]; ANDREASEN & ANDREASEN, 2007; TROPE, 2011; ANDERSSON *et al.*, 2012). A recomendação acima é baseada não apenas na premissa de que 10 a 14 dias após a avulsão a polpa provavelmente estará isquêmica, necrótica e minimamente infectada (HAMMARSTROM *et al.*, 1986[A]; TRONSTAD, 1988), como também nos achados de Andreasen (ANDREASEN, 1975; ANDREASEN, 1981[B]), nos quais a reabsorção inflamatória pode ser vista histologicamente após 7 dias do reimplante. Essa observação foi confirmada posteriormente em uma pesquisa que induziu experimentalmente RREI em cães no prazo de 7 a 14 dias (TROPE *et al.*, 1992). Na intenção de buscar evidências clínicas que sustentem essa recomendação, Hinkfuss e Messer (2009[A]) conduziram uma meta-análise a partir da qual foi possível concluir que o TER tardio para além de 14 dias após o reimplante está associado com um risco aumentado de desenvolver RREI. Uma vez a reabsorção inflamatória tenha sido contida por meio da terapia endodôntica, o defeito resultante é reparado por cemento ou tecido ósseo, de acordo com o tipo de tecido vital encontrado adjacente ao local de reabsorção. A cicatrização tecidual pode ocorrer independentemente da extensão da reabsorção e da quantidade de substância radicular perdida e a anquilose pode ocorrer no local (CVEK *et al.*, 1994).

A partir do reconhecimento de que a presença de bactérias no ligamento periodontal, nos túbulos dentinários ou na polpa são fatores de risco responsáveis pelo desenvolvimento de RREI (ANDREASEN, 1981[A][B]; NISHIOKA *et al.*, 1993), surge a recomendação do uso de antibioticoterapia sistêmica como procedimento padrão após reimplantes dentários (ANDREASSEN *et al.*, 2006[B]; ANDERSSON *et*

al., 2012). Andreassen e colaboradores (ANDREASEN & ANDREASEN, 2007) acrescentam ainda que a severidade das complicações após o reimplante pode ser alterada drasticamente se bactérias obterem acesso ao local da lesão. Isso pode mudar uma revascularização da polpa em curso para necrose pulpar e uma reparação relacionado a reabsorção (reabsorção de superfície ou RRES) para uma reabsorção progressiva de caráter inflamatório-infeccioso (RREI) (ANDREASEN, 2012). Com essa conexão trauma/bactérias estabelecida, uma abordagem lógica seria excluir ou limitar a carga bacteriana na fase de cicatrização para otimizar o reparo pulpar e periodontal através da administração de antibioticoterapia sistêmica (ANDREASEN & ANDREASEN, 2007). Essa abordagem é baseada nos achados de Hammarström e colaboradores (1986[B]) e defendida pela IADT Guidelines (ANDERSSON *et al.*, 2012). Especula-se que a administração sistêmica de antibióticos pode afetar a ocorrência de RREI através de dois mecanismos: o primeiro, reduzindo a reação inflamatória no ligamento periodontal decorrente da presença bacteriana e segundo, impedindo que as bactérias adentrem a polpa radicular através do forame apical (HAMMARSTROM *et al.*, 1986[B]; SAE-LIM *et al.*, 1998[B]). Estudos experimentais em animais mostraram que o uso de antibiótico otimiza a cicatrização pulpar e periodontal, exibindo efeitos positivos quando administrado sistemicamente (HAMMARSTROM *et al.*, 1986[B]; SAE-LIM *et al.*, 1998[A][B]; MELO *et al.*, 2014; GOMES *et al.*, 2015) e localmente diminuindo significativamente a frequência de RREI (CVEK *et al.*, 1990; MA & SAE-LIM, 2003). No entanto, o valor da administração sistêmica de antibióticos em humanos após o reimplante é questionável (SHAH e ASHLEY, 2010), haja vista que ainda não há evidência clínica científica suficiente que suporte seu uso (ANDREASEN & HJORTING-HANSEN, 1966[A]; ANDERSSON & BODIN, 1990; ANDREASEN, 1995[4]; HINKFUSS & MESSER, 2009[B]; BASTOS *et al.*, 2014).

O papel do tipo e período de imobilização na cicatrização do LP e nos índices de RRE após o reimplante dentário é controverso, uma vez que existem divergências entre os resultados obtidos a partir dos levantamentos clínicos e dos estudos experimentais disponíveis. A associação entre imobilização prolongada e maiores índices de anquilose foi relatada nos levantamentos clínicos de Kinirons *et al.* (1999) e Bastos (2014) e em alguns estudos experimentais (ANDREASEN, 1975; NASJLETI *et al.*, 1982; ANDERSSON *et al.*, 1985). Entretanto não foi observada no

estudo experimental de Berude *et al.* (1988) e não pode ser comprovada em outros acompanhamentos clínicos (ANDERSSON & BODIN, 1990; ANDREASEN *et al.*, 1995[B]; SAE-LIM & YUEN, 1997; HINCKFUSS & MESSER, 2009[A][B]).

2.2 MECANISMOS CELULARES E MOLECULARES DAS REABSORÇÕES DENTÁRIAS E O PAPEL DOS POLIMORFISMOS GENÉTICOS:

Os mecanismos celulares das reabsorções dentárias são bastante semelhantes aos da reabsorção óssea, diferindo apenas nos seus respectivos substratos. As células clásticas envolvidas nas reabsorções radiculares, os odontoclastos, são células morfológica e funcionalmente semelhantes aos osteoclastos, cuja ativação também é resultado de um processo de interações complexas entre células, receptores e seus respectivos ligantes, citocinas e fatores de crescimento (PIERCE *et al.*,1991; NE *et al.*, 1999; SASAKI, 2003). O equilíbrio entre as expressões desses componentes é considerado o principal mecanismo regulatório da atividade dos clastos (KATAGIRI & TAKAHASHI, 2002; BOYLE *et al.*, 2003; TAKAYANAGI, 2005; BOYCE & XING 2008).

A interação entre o RANK e RANKL é absolutamente crucial para a diferenciação e ativação da célula clástica. RANKL, uma proteína transmembrana pertencente à família TNF que se manifesta particularmente em osteoblastos e em células do estroma da medula óssea, é necessária e suficiente para a completa diferenciação de células precursoras em clastos maduros (FULLER *et al.*,1998; LACEY *et al.*,1998; YASUDA *et al.*,1998[A]). Seu sinal é reconhecido pelo receptor específico, RANK, que se localiza na superfície celular de pré-osteoclastos, fazendo com que a interação célula-célula seja essencial para a indução da osteoclastogênese (FULLER *et al.*,1998; LACEY *et al.*,1998; KATAGIRI & TAKAHASHI, 2002; BOYLE *et al.*,2003; TAKAYANAGI, 2005). Além de estimular a diferenciação e atividade dos osteoclastos (LACEY *et al.*,1998), outro importante papel da RANKL é o de regular a sobrevivência do osteoclasto maduro e, conseqüentemente, sua participação na reabsorção óssea ao inibir sua apoptose (FULLER *et al.*,1998). Células T ativadas também expressam RANKL, porém em sua forma solúvel, o que significa que RANKL é funcionalmente capaz de induzir

osteoclastogênese na ausência de interação célula-célula (LACEY *et al.*,1998; TYROVOLA *et al.*, 2008). As células T ativadas, portanto, promovem reabsorção óssea através de dois mecanismos: diretamente via expressão de RANKL como proteína solúvel, e indiretamente via expressão de citocinas pró-inflamatórias que influenciam a expressão de RANKL nos osteoblastos, o que reforça a inter-relação entre os sistemas ósseo e imune (KATAGIRI & TAKAHASHI, 2002; BOYLE *et al.*, 2003; TAKAYANAGI, 2005; BOYCE & XING, 2008).

Esse evento é regulado pela osteoprotegerina (OPG), a qual é um receptor solúvel chamariz de RANKL, que fortemente inibe osteoclastogênese na medida em que impede a interação entre RANK-RANKL (SIMONET *et al.*,1997; YASUDA *et al.*,1998[B]). A OPG é uma citocina pertencente à família TNF, produzida por osteoblastos, células do estroma da medula óssea e células T e B. A OPG liga-se à RANKL, impedindo sua ligação com a RANK, num mecanismo de ação simples que não envolve qualquer atividade direta de sinalização. Portanto, por ser um antagonista competitivo da RANK, a OPG atua de forma protetora ao inibir a diferenciação dos osteoclastos (KATAGIRI & TAKAHASHI, 2002; BOYLE *et al.*, 2003; TAKAYANAGI, 2005; BOYCE & XING, 2008) *in vitro* e *in vivo* (SIMONET *et al.*,1997; YASUDA *et al.*,1998[B]; LACEY *et al.*,1998). Além disso, a OPG é capaz de induzir a apoptose de precursores de osteoclastos e osteoclastos maduros (SASAKI, 2003; LIU *et al.*, 2015). Assim, RANKL e OPG exercem um controle positivo ou negativo na ativação do RANK nos pré-osteoclastos, e o equilíbrio entre os membros dessa tríade molecular está envolvido na regulação do processo de reabsorção óssea, fisiológica ou patológica (KATAGIRI & TAKAHASHI, 2002; BOYLE *et al.*, 2003; TAKAYANAGI, 2005; BOYCE & XING, 2008).

Existem evidências de que as proteínas do eixo RANK/RANKL/OPG também estão envolvidas no processo de reabsorção dos tecidos dentários durante a reabsorção fisiológica dos dentes decíduos (HAROKOPAKIS-HAJISHENGALLIS, 2007), nas reabsorções radiculares externas apicais decorrentes da movimentação ortodôntica (WISE & KING, 2008) e nas reabsorções radiculares externas inflamatórias de origem endodôntica (LIN *et al.*, 2013). Estudos recentes no campo da endodontia confirmaram que lesões ósseas perirradiculares, primárias e secundárias, decorrentes da presença de infecção intracanal expressam níveis

elevados de RANKL e expressão diminuída de OPG, reforçando a evidência de que essas lesões exibem maior potencial de reabsorção óssea que tecidos periapicais saudáveis (ARMADA *et al.*, 2015; ESTRELA *et al.*, 2016).

A participação das proteínas do eixo RANK/RANKL/OPG nas RRE após reimplantes dentários foi sugerida em estudos experimentais que analisaram a expressão dessas moléculas na cronologia do processo de reparo após reimplante imediato e tardio em dentes de ratos (PANZARINI *et al.*, 2013; MANFRIN *et al.*, 2013). Os resultados destes estudos confirmam por imunohistoquímica a migração e diferenciação de células odontoblásticas nas primeiras horas após o reimplante com a expressão de OPG, RANK e RANKL variando de acordo com o período analisado e tipo de reimplante (imediato ou tardio). Na verdade, a expressão elevada da RANKL em todos os grupos e períodos analisados sugere a sua participação em todas as fases do processo de reabsorção de dentes reimplantados (MANFRIN *et al.*, 2013), ficando claro que a dinâmica da expressão dos biomarcadores RANK/RANKL/OPG tem efetiva participação nos eventos celulares no reimplante dental, estando associadas não apenas a diferenciação de osteoclastos, mas também com a proliferação celular.

No contexto de um processo inflamatório, além do eixo RANK/RANKL/OPG, várias citocinas podem atuar influenciando diretamente a diferenciação e função dos osteoclastos, ou indiretamente através da modulação da expressão das citocinas do eixo RANK-RANKL-OPG (ZUPAN *et al.*, 2013). Entre o grupo de citocinas anti-inflamatórias destaca-se a IL10 sabidamente uma importante citocina moduladora da resposta imunológica (GRAVES *et al.*, 2011). *In vivo*, as principais fontes de IL10 incluem linfócitos Th2, monócitos, macrófagos e células dendríticas, no entanto inúmeros outros tipos celulares são capazes de produzir IL10 em determinados contextos, incluindo células B, as células T citotóxicas, células NK, mastócitos e neutrófilos (SASCHA *et al.*, 2011).

O efeito inibitório da IL10 é um importante fator limitante da duração e do dano patológico das respostas inflamatórias (MOORE *et al.*, 2001; PESTKA *et al.*, 2004; GRAVES *et al.*, 2011). Este efeito protetor pode ser atribuído à sua capacidade de inibir a síntese de vários mediadores pró-inflamatórios normalmente secretados por monócitos/macrófagos ativados no sítio da inflamação, tais como

IL1(α e β), IL6, IL8, IL12 e TNF- α (FIORENTINO *et al.*,1991). Além disso, a IL10 demonstrou ter um efeito inibitório na osteoclastogênese durante a reabsorção radicular fisiológica na dentição primária, atuando diretamente sobre os precursores dos osteoclastos inibindo sua diferenciação e proliferação (Xu *et al.*, 1995; LIU *et al.*, 2006). A IL10 induz também a produção de um grupo de proteínas endógenas chamado inibidores de tecido de metaloproteinases (TIMPs), que são capazes de inibir quase todos os membros da família MMP de forma inespecífica (BAKER *et al.*, 2002; GARLET *et al.*, 2004), além de regular a expressão de RANKL e estimular a produção de OPG, inibindo fortemente o processo de reabsorção óssea ao impedir a interação RANK-RANKL (KATAGIRI e TAKAHASHI, 2002; GARLET *et al.*, 2004; PESTKA *et al.*, 2004; LIU *et al.*, 2006).

Muito embora os fatores clínicos e demográficos discutidos anteriormente participem na etiopatogenia das RRE, eles não são capazes de explicar completamente as diferenças interindividuais observadas na sua evolução clínica. Isso nos permite hipotetizar que fatores genéticos relacionados ao indivíduo possam ser responsáveis, em parte, por essas diferenças. Considerando-se a importância das citocinas na biologia dos tecidos ósseos em condições fisiológicas ou patológicas, variações na sua expressão podem determinar diferentes respostas inflamatórias frente a um estímulo padrão. É dentro deste contexto que o estudo dos polimorfismos de genes codificadores de moléculas envolvidas na modulação da reabsorção de tecidos mineralizados deve receber atenção especial.

Polimorfismo genético é a denominação dada à coexistência de mais de uma forma variante de um gene num dado locus, na frequência acima de 1-2% na constituição genética de uma população. Os polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) são o tipo mais comum de variação genética do DNA humano. São sítios no genoma onde a sequência de DNA de uma porcentagem de indivíduos da população difere por uma única base (DE NARDIN, 2009). A grande maioria dos SNPs são variantes neutras, tendo pequeno impacto sobre a saúde humana e apenas uma pequena fração deles influencia a expressão de genes ou a atividade de uma determinada proteína. Nos últimos anos, vários estudos têm demonstrado que polimorfismos funcionais em genes que codificam para as citocinas podem influenciar na suscetibilidade a diversas condições patológicas (FURUYA *et al.*,

2007; LIN *et al.*, 2011; NIE *et al.*, 2012), uma vez que podem alterar a taxa de transcrição gênica, produzindo assim proteínas incompletas ou inativas (CHORLEY *et al.*, 2008).

Um grande número de polimorfismos de nucleotídeo único (SNPs) foi identificado no sítio promotor do gene de IL10. O SNP rs 1800896, localizado no locus -1082 da região promotora, tem um importante efeito na expressão da proteína uma vez que a substituição de uma base A pela G aumenta a afinidade com o fator de transcrição Sp1 aumentando desta forma a expressão gênica (TURNER *et al.*, 1997; LARSSON *et al.*, 2011). Tendo em vista o importante papel da IL10 na regulação da reabsorção dos tecidos mineralizados, e considerando que a modulação dos níveis da proteína pode se dar a nível genético, a influência deste SNP na susceptibilidade à reabsorção patológica de tecido ósseo tem sido amplamente estudada na doença periodontal (BERGLUNDH *et al.*, 2003; SCAREL-CAMINAGA *et al.*, 2004; CLAUDINO *et al.*, 2008; CULLINAN *et al.*, 2008; PARK *et al.*, 2008; LARSSON *et al.*, 2011; LOO *et al.*, 2012; JARADAT *et al.*, 2012), na periimplantite (GUROL *et al.*, 2011; PIGOSSI *et al.*, 2012; KADKHODAZADEH *et al.*, 2012;2013;2014), abscessos periapicais (DE SÁ *et al.*, 2007), artrite reumatóide (ZHANG *et al.*, 2011) e hérnia de disco (LIN *et al.*, 2011).

Da mesma maneira, polimorfismos nos genes do RANK, RANKL e OPG afetam a transcrição e expressão destas proteínas, alterando a relação RANKL e OPG e comprometendo o processo de remodelação óssea. No gene TNFRSF11B que codifica para a OPG situa-se o SNP rs2073618 no locus +1181 e consiste na troca de uma base G para C. Isso provoca uma mudança de aminoácido de lisina (AAG) para asparagina (AAC). Estes dois aminoácidos têm características diferentes, mas essencialmente, a lisina é um aminoácido básico, enquanto que a asparagina é um aminoácido polar não carregado, e tal mudança de aminoácido pode influenciar tráfico de proteína (LEE *et al.*, 2010). Foi demonstrado que este SNP está associado ao maior risco de reabsorção radicular externa apical (RREA) decorrente de movimentação ortodôntica (HARTSFIELD, 2009). Esta associação também foi demonstrada em relação à periodontite agressiva (PARK *et al.*, 2008), à periimplantite (KADKHODAZADEH *et al.*, 2012) e à osteonecrose mandibular induzida pelo uso de bifosfonados (KATZ *et al.*, 2011). Já o SNPs no gene TNFSF11

[290A>G (rs2277438)], que codifica RANKL, consiste na troca de uma base A para G, onde a presença do alelo G (genótipos AG e GG) está igualmente associada com alterações de densidade e fragilidade óssea e risco de fratura na população geral (HSU *et al.*, 2006; FURUYA *et al.*, 2007; BONFÁ *et al.*, 2015). E finalmente, devido ao papel central da RANK no metabolismo ósseo e na biologia dos osteoclastos, variações no gene que a codifica têm sido exploradas quanto à uma possível associação com doenças que envolvem atividade osteolítica patológica. Nesse sentido, há evidência de que mutações no gene TNFSRF11A que codifica para RANK podem estar associadas à osteólise expansiva familiar, uma desordem caracterizada por lesões osteolíticas dos ossos longos e por reabsorção espontânea de dentes e perda de dentição (HUGHES *et al.*, 2000). A susceptibilidade para desenvolver RREA após terapia ortodôntica também foi correlacionada com variações no gene TNFSRF11A que codifica para RANK (AL-QAWASMI *et al.*, 2003).

Diante do exposto e considerando-se a importância do papel das citocinas RANK, RANKL, OPG e IL-10 na patogênese da reabsorção dos tecidos mineralizados e sua possível modulação por polimorfismos genéticos, o presente estudo tem como objetivo investigar a associação entre estes polimorfismos e a ocorrência e severidade de RRE em uma amostra de dentes permanentes reimplantados. A hipótese é que polimorfismos funcionais nos genes que codificam para essas citocinas podem estar associados a fatores de susceptibilidade determinantes da evolução das RRE pós-traumáticas. É relevante considerar ainda o fato de que os traumatismos dentários são mais prevalentes entre crianças e adolescentes, as quais encontram-se num período da vida caracterizado por um intenso desenvolvimento hormonal, fisiológico e cognitivo, além de mudanças psicológicas que poderão ser afetadas pela perda precoce dos dentes anteriores. Por essa razão, torna-se imprescindível a compreensão acerca dos fatores de susceptibilidade que favorecem o desenvolvimento das complicações associadas ao reimplante de dentes avulsionados. Desta forma, o presente trabalho busca trazer contribuições para a elucidação dos processos envolvidos no desenvolvimento da RRE em dentes reimplantados após avulsão traumática.

3. Objetivos

3.1 OBJETIVO GERAL

O presente trabalho teve como objetivo estudar a ocorrência de reabsorções radiculares externas após o reimplante de dentes permanentes avulsionados e sua associação com fatores demográficos, clínicos e genéticos.

.

3.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS

a) Avaliar radiograficamente a atividade inicial de RRE em pacientes encaminhados para a CTD-FO-UFMG após o reimplante de dentes permanentes avulsionados, determinando tipo e extensão.

b) Avaliar o papel da idade no momento do trauma, as condições de armazenamento e período extra-alveolar dos dentes avulsionados, o tempo decorrido entre o reimplante e o início da terapia endodôntica, uso de antibioticoterapia sistêmica no momento do reimplante e período de imobilização no tipo e extensão de RRE após reimplantes de dentes permanentes.

c) Avaliar a associação entre polimorfismos nos genes que codificam para as citocinas RANK-RANKL-OPG e IL-10 e o tipo e extensão de RRE após reimplante de dentes permanentes.

4. Materiais e Métodos

4.1 SELEÇÃO DA AMOSTRA

O grupo de estudo avaliado constituiu-se de 208 pacientes portadores de 269 dentes reimplantados após avulsão traumática. O tratamento emergencial da avulsão foi realizado no Pronto Socorro Odontológico do Hospital Municipal Odilon Beherens (PSO-HMOB) e os pacientes encaminhados para continuidade do tratamento na Clínica de Traumatismos Dentários da Faculdade de Odontologia da UFMG (CTD-FO-UFMG), ambos os serviços integrantes do Programa Traumatismos Dentários da FO-UFMG. O reimplante de todos os dentes incluídos no estudo foi realizado de acordo com o protocolo adotado no Programa desde 1994, o qual é baseado na literatura disponível (ANDERSSON *et al.*, 2012). As manobras adotadas consistiram na remoção do coágulo pela irrigação do alvéolo com soro fisiológico e introdução do dente avulsionado no alvéolo com pressão digital lenta e gradual até atingir a região apical. Nenhum tipo de tratamento da superfície radicular foi utilizado. Após a verificação radiográfica do correto posicionamento, o dente foi imobilizado utilizando-se fio de aço inox para amarrilho (0,12" 0,25mm), fixado com resina composta fotopolimerizável.

Dados relativos à idade do paciente no momento do trauma, as condições de armazenamento e período extra-alveolar dos dentes avulsionados, o uso de antibioticoterapia sistêmica no momento do reimplante, o tempo decorrido entre o reimplante e o início da terapia endodôntica e a duração do período de imobilização foram coletados dos prontuários dos pacientes. Somente os dentes com completo desenvolvimento radicular e ápices fechados foram incluídos neste estudo. Foram excluídos pacientes que apresentavam alterações sistêmicas debilitantes e/ou usuários de fármacos capazes de modificar a resposta inflamatória padrão do indivíduo. Também foi realizado exame clínico intraoral para a avaliação da presença de comprometimentos periodontais de natureza infecciosa e outras lesões da mucosa oral. Para inclusão na amostra os pacientes não poderiam apresentar alterações periapicais de origem endodôntica ou periodontal não relacionadas à reabsorção radicular pós-traumática, lesões traumáticas prévias ou adicionais no elemento avulsionado, presença de restaurações extensas e sinais radiográficos de reabsorção radicular ou tratamento endodôntico radical anterior ao evento traumático que tenha desencadeado o processo reabsortivo.

Os pacientes ou os representantes legais daqueles menores de idade foram esclarecidos quanto aos objetivos e metodologia do projeto para então optarem ou não pela participação no estudo, preenchendo do Termo de Consentimento Livre e Esclarecido (Anexo A e B). A pesquisa atendeu aos preceitos éticos de autonomia, beneficência, não maleficência, justiça e equidade e recebeu parecer favorável do COEP – Comitê de Ética em Pesquisa da UFMG (Parecer no. ETIC 003.0.203.000-11).

4.2 AVALIAÇÃO RADIOGRÁFICA DO ÍNDICE DE REABSORÇÃO

Para estudo da atividade de reabsorção, radiografias periapicais realizadas imediatamente após o reimplante e no início da terapia endodôntica foram examinadas por dois examinadores, de forma independente para avaliação de dois indicadores: o tipo de reabsorção, classificadas em reabsorção radicular externa inflamatória (RREI) e reabsorção radicular externa por substituição (RRES) de acordo com o critério radiográfico descrito por Andreasen & Hjørting-Hansen (1966). Neste, a presença de áreas radiolúcidas em forma de concha ao longo da superfície da raiz e no osso alveolar adjacente determina a classificação de RREI, enquanto que a presença de áreas de irregularidade da superfície radicular, sem LP e com imbricamento do osso alveolar determina a classificação de RRES.

O segundo indicador da atividade de reabsorção utilizado foi o índice radiográfico de reabsorção radicular descrito por Andersson *et al.*(1989). Para cálculo do índice, as superfícies mesial e distal da raiz foram divididas em três seções iguais a partir do nível da crista óssea até o ápice. A cada seção da raiz foi atribuída uma pontuação (0, 1 ou 2), dependendo da presença e profundidade das cavidades de reabsorção a partir da superfície externa da raiz até a cavidade pulpar (Fig.01). As pontuações de cada seção foram adicionadas para se calcular o índice de reabsorção radicular de cada radiografia (0-12).

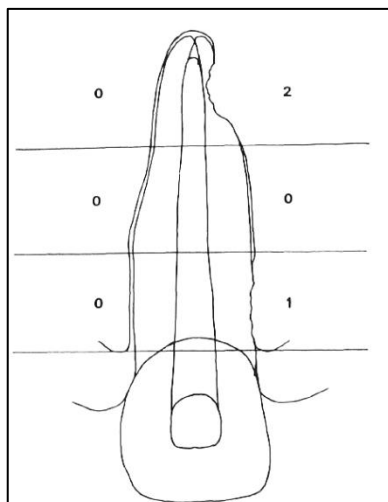


Figura 01: Desenho esquemático do critério para cálculo do índice radiográfico de reabsorção: Critérios para pontuação da profundidade da cavidade de reabsorção a partir da superfície externa da raiz nos terços apical, médio e cervical das faces mesial e distal da raiz: 0= ausência de reabsorção, espaço do LP normal; 1= profundidade da lacuna de reabsorção \leq metade da distância entre a superfície externa da raiz e a cavidade pulpar; 2= profundidade da lacuna de reabsorção $>$ metade da distância entre a superfície externa da raiz e a cavidade pulpar.

Fonte: Andersson et al. (1989).

4.3 ANÁLISE DE POLIMORFISMO

4.3.1 Obtenção do DNA

Após a seleção clínica e radiográfica dos casos que atendiam aos critérios de inclusão no estudo, os pacientes foram convocados para obtenção das amostras de DNA por meio de raspagem bilateral da mucosa oral com o auxílio de um swab estéril, o qual foi imediatamente imersa em microtubos estéreis de 2ml contendo 1,5 ml de tampão de Krebs (KCl 4 mM, mM de NaCl 124, C₆H₁₂O₆ 10 mM, C₈H₁₇N₂NaO₄S de 23 mM, MgSO₄ 1 mM). As amostras foram estocadas em freezer a -20°C até o processamento.

O DNA genômico foi extraído utilizando o protocolo de extração DNeasy Blood and Tissue Kit (Qiagen®). Um pellet de células epiteliais foi obtido por centrifugação a 12400 RPM por 5 min. O sobrenadante foi descartado e o pellet foi resuspendido em 200 μ l de BPS, 20 μ l de proteinase K e 200 μ l Buffer AL

adicionados aos microtubos. As amostras foram homogeneizadas em um vortex por 10 segundos e incubadas durante 10 min a 56° C. Posteriormente, adicionou-se 200 µl de etanol (96 A 100%) e as amostras foram novamente submetidas à homogeneização em vórtex. A solução foi então pipetada e transferida para o tubo contendo a membrana DNeasy Mini Spin Column posicionada em um tubo coletor de 2ml fornecido pelo fabricante. As amostras foram centrifugadas a 8000 RPM por 1 minuto. O tubo coletor e a solução residual foram descartados e o tubo contendo a membrana foi transferido para um segundo tubo coletor de 2ml fornecido pelo fabricante. Aos tubos contendo a membrana, adicionou-se 500 µl de AW1. As amostras foram novamente submetidas à centrifugação a 8000 RPM por 1 minuto e o tubo coletor e a solução residual foram descartados (1ª lavagem). Em seguida, o tubo contendo a membrana foi transferido para um terceiro tubo coletor de 2 ml fornecido pelo fabricante. Adicionou-se 500 µl de AW2 aos tubos contendo a membrana, que foram centrifugados a 12000 RPM por 4½ minutos a fim de secar a membrana DNeasy. O tubo coletor e a solução residual foram descartados (2ª lavagem).

Finalmente, para 1ª extração do DNA, o tubo contendo a membrana DNeasy Mini Spin Column foi posicionada em um microtubo de 1,5ml. Diretamente sobre a membrana foi adicionado 30 µl de Buffer de diluição AE. Após incubação por 2 minutos em temperatura ambiente, as amostras foram centrifugadas a 8000 RPM por 1 minuto. Para 2ª extração do DNA, seguiram-se estes mesmos passos.

A qualidade e integridade do DNA foram avaliadas por espectrofotometria em equipamento Nanodrop ND-1000 (NanoDrop tecnologia, Wilmington, DE), com leitura da absorbância nos comprimentos de ondas A_{260} e A_{280} . As amostras contendo DNA extraído foram armazenadas em freezer a -20°C até o uso.

4.3.2 Identificação dos genótipos

A determinação do genótipo dos polimorfismos selecionados foi realizada pelo método do *Real Time(PCR)*, utilizando-se kits comerciais TaqMan® confeccionados pela Applied Biosystems, contendo o par de primers e sondas para os SNPs a serem estudados. O sistema TaqMan utiliza, além dos iniciadores, uma sonda (oligonucleotídeo) que libera um sinal fluorescente quando a polimerase começa a

sintetizar o fragmento de DNA. Foram avaliados polimorfismos nos genes TNFS11(RANKL) [290 A>G rs2277438], TNFSRF11B(OPG) [1181 G>C rs2073618], TNFSRF11A(RANK) [8086340] e IL-10 [-1082 G>A rs 1800896].

Para a reação de PCR, além dos pares de iniciadores e sondas específicos para cada SNP (TaqMan® SNP Genotyping assay), foi utilizado um mix contendo desoxirribonucleotídeos fosfatados (dNTP's), a enzima Taq polimerase e tampão de incubação (Genotyping Master Mix), e DNA genômico. Diferentes concentrações de DNA foram testadas, obtendo-se o melhor resultado com a alíquota de 50ng. A quantidade dos demais reagentes de acordo com as informações do fabricante e são apresentadas na Tabela 01.

Tabela 01: Reagentes utilizados na PCR-RT

Reagentes	Quantidade
Genotyping Master Mix	10µL
Genotyping assay (20X)	1µL
DNA genômico	50ng
H2O de injeção	q.s.p 20µL

A reação de PCR foi realizada utilizando o termociclador CFX96™ *Real-Time PCR Detection System* (BioRad) e consistiu em uma desnaturação inicial a 95°C por 10min, seguida de 40 ciclos de 95°C por 15 segundos e 60°C por 1 minuto. Essas reações foram realizadas em placas de 96 poços, sendo incluídos um controle negativo e um positivo. A determinação dos genótipos para cada polimorfismo estudado foi realizada utilizando-se o *software CFX-Manager* da Bio-Rad. Considerando que cada alelo está associado a um fluoróforo diferente, a apresentação de apenas um sinal fluorescente refere-se ao genótipo homocigoto, enquanto a apresentação de dois sinais fluorescentes refere-se ao genótipo heterocigoto (Fig.02)

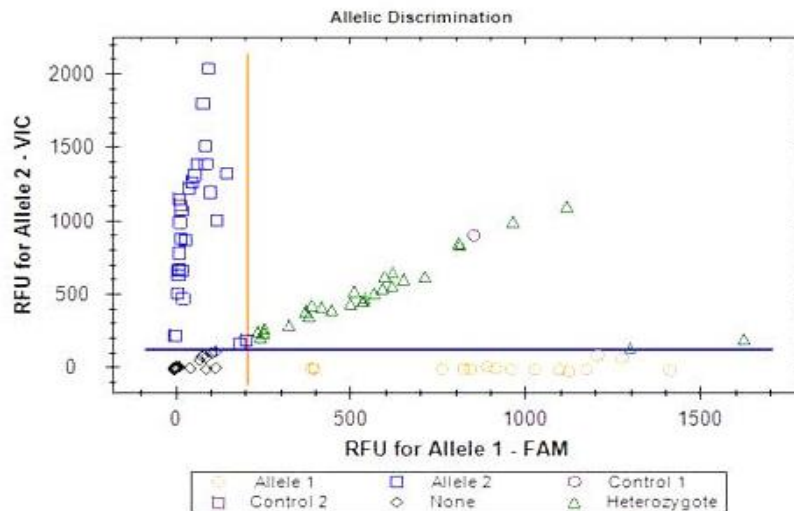


Figura 02: Gráfico representativo da PCR em tempo real para a análise do SNP OPG 1181 G>C rs2073618. Discriminação alélica: homozigoto FAM (círculos alaranjados - GG), homozigoto VIC (quadrado azul - CC), heterozigoto (triângulos verdes - CG), controle positivo (círculo roxo) e controle negativo (losango preto).

4.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA

A distribuição de frequência dos genótipos de cada um dos polimorfismos estudados foi testada quanto ao *Equilíbrio de Hardy-Weinberg*, utilizando-se o teste qui-quadrado. Os testes de associação entre os SNPs estudados e os indicadores da atividade de reabsorção foram realizados para cada genótipo separadamente e para os genótipos agrupados de acordo com a presença/ausência do alelo polimórfico de acordo com critérios sugeridos na literatura (SASIENE, 1997; ZOU & DONNER, 2006).

O Modelo de Regressão Logística Binária foi utilizado para testar o efeito do genótipo, da idade do paciente no momento do trauma e das variáveis clínicas relacionadas ao manejo e tratamento do dente avulsionado (meio de armazenamento, período extra-alveolar, uso de antibioticoterapia sistêmica, tempo de imobilização e momento da pulpectomia) em relação à presença e tipo de RRE. Para verificar quais variáveis exerciam influência no Índice de Reabsorção, foi ajustada uma Regressão Marginal Log-Linear (Poisson). Variáveis que apresentarem valores de $p < 0.20$ na análise univariada foram testadas no modelo de

Regressão Logística Multivariada. Considerando-se a possibilidade de interdependência nos casos em que mais de um dente foi reimplantado no mesmo paciente os dados foram analisados utilizando-se o modelo para a média GEE (Generalized Estimation Equation) com matriz de correlação com simetria composta que é o padrão para avaliação de dados correlacionados (DIGGLE et al., 2002).

O nível de significância foi estabelecido a 0.05. As análises estatísticas foram realizadas utilizando-se o software estatístico Statistical Package for Social Sciences (SPSS versão 21.0 – IBM corporation, NY, USA).

5. Resultados

5.1 DISTRIBUIÇÃO DE FREQUÊNCIA DAS VARIÁVEIS EXPLICATIVAS E DOS INDICADORES DA ATIVIDADE DE REABSORÇÃO

Para o estudo da ocorrência, tipo e extensão das reabsorções radiculares externas na consulta inicial após o reimplante, a amostra selecionada constituiu-se de 208 pacientes sendo 151 do sexo masculino (72,6%) e 57 do sexo feminino (27,4%) com um total de 269 dentes reimplantados após avulsão traumática. A distribuição segundo o dente envolvido está ilustrada no gráfico 01. Os dentes mais afetados foram os incisivos centrais superiores.

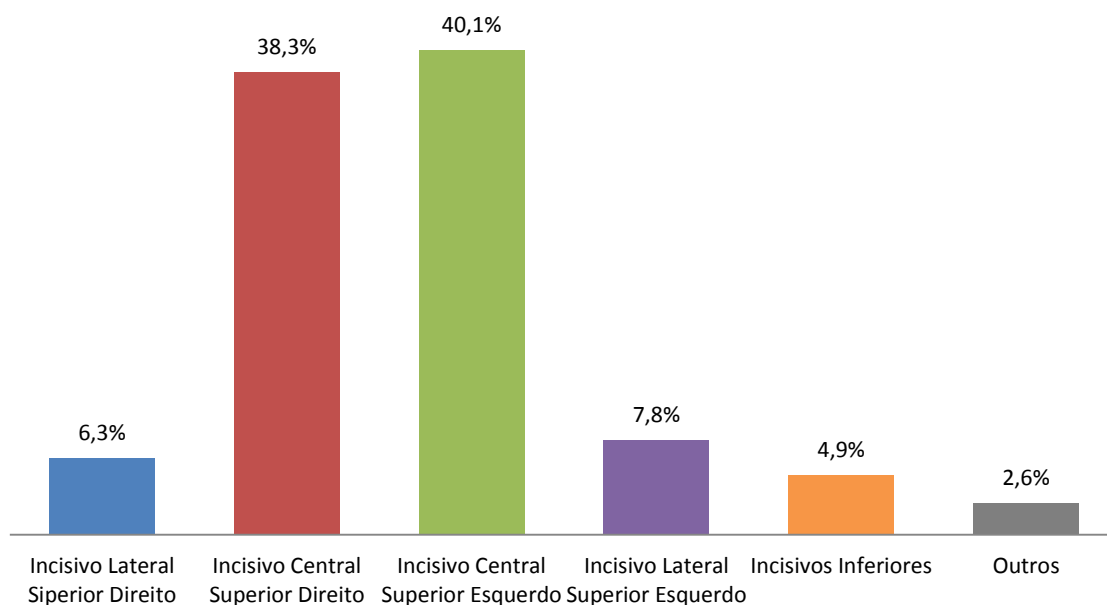


Gráfico 01: Distribuição de frequência da amostra de acordo com o dente acometido.

A idade dos pacientes no momento do trauma variou de 6,5 a 35,2 anos (média de 13,2 anos \pm 4,8anos).

5.1.1 Distribuição de frequência das variáveis relacionadas ao manejo e tratamento dos dentes avulsionados:

O período extra-alveolar dos dentes reimplantados variou entre 5 min e 7 dias sendo que a mediana foi de 120 min. 7,8% dos casos foram reimplantados dentro do período de 15 min após o trauma. A Tabela 02 apresenta a distribuição da amostra de acordo com as condições de armazenamento do dente durante o período extra-alveolar.

Tabela 02: Distribuição de frequência dos dentes segundo o meio de armazenamento extra-alveolar	
Meio de Armazenamento	Total n(%)
Meio seco	105 (39,1)
Leite	60 (22,3)
Soro Fisiológico	49 (18,2)
Água	38 (14,1)
Saliva	17 (6,3)
Total	269 (100,0)

Os dados relativos ao tempo decorrido entre o momento do trauma e a consulta inicial na CTD-FO-UFMG demonstraram que este período variou de 1 dia a 70,6 meses, sendo que o período mediano para início do tratamento na CTD-FO-UFMG foi de 2,2 meses após o reimplante. Todos os dentes reimplantados receberam imobilização flexível utilizando-se fio para osteossíntese 0.12" fixado com resina composta. O período de imobilização variou de 7 dias a 2,9 anos sendo que o período mediano foi de 44 dias. Dados sobre a prescrição de antibioticoterapia sistêmica estavam disponíveis em 62,5% da amostra tendo sido prescrita em 30,8% dos casos.

5.1.2 Distribuição de frequência das variáveis genéticas:

A distribuição de frequência dos genótipos dos polimorfismos estudados nos genes IL10, TNFRSF11A (RANK), TNFRSF11B (OPG) e TNFSF11 (RANKL) é apresentada na tabela 03. Inicialmente foi realizada a avaliação da frequência esperada dos genótipos *versus* observada para verificação quanto ao *Equilíbrio de Hardy-Weinberg* (EHW). De acordo com os dados obtidos, verifica-se que a distribuição dos genótipos dos polimorfismos nos genes IL10, TNFRSF11B (OPG) e TNFSF11 (RANKL) encontravam-se em equilíbrio de *Hardy-Weinberg*. A frequência observada para o polimorfismo de RANK não estava em equilíbrio e, portanto este polimorfismo não foi incluído nos estudos de associação.

Tabela 03: Distribuição de frequências dos genótipos e alelos dos SNPs estudados nos genes IL10, TNFRSF11A (RANK), TNFRSF11B (OPG) e TNFSF11 (RANKL)			
Polimorfismos		n (%)	EHW
<i>IL10</i> (-1082A/G) rs 1800896			
	AA	98 (47,1)	
Genótipos	AG	86 (41,3)	p=0.443
	GG	24 (11,5)	
<i>TNFRSF11A</i> (RANK) (+35579C/G) rs 8086340			
	GG	64 (30,8)	
Genótipos	GC	87 (41,8)	p=0.027
	CC	55 (26,4)	
<i>TNFSF11</i> RANKL (A/G) rs 2277438			
	AA	121(58,2)	
Genótipos	AG	67 (32,2)	p=0.129
	GG	16 (7,7)	
<i>TNFRSF11B</i> (OPG) (+1181 C/G) rs 2073618			
	GG	24 (11,5)	
Genótipos	GC	90 (43,3)	p=0.781
	CC	92 (44,2)	

OBS: Não houve amplificação do DNA impedindo a determinação do genótipo em 2 amostras de RANK e OPG e em 4 amostras de RANKL.

5.1.3 Distribuição de frequência dos indicadores da atividade de reabsorção:

Para estudo da atividade de reabsorção foram utilizados dois indicadores: o tipo e o índice de reabsorção observados radiograficamente. O gráfico 02 apresenta a distribuição da amostra de acordo com o tipo de reabsorção radicular observado no momento do início do tratamento na CTD-FO-UFMG.

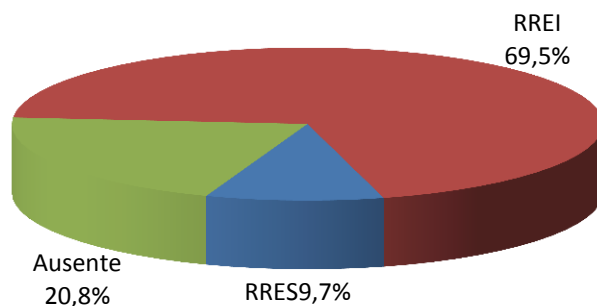


Gráfico 02: Distribuição da amostra segundo o tipo de reabsorção radicular externa observada na consulta

O índice de reabsorção radicular, medido em cada dente na radiografia realizada na consulta inicial, variou de 1 a 12 para os casos de RREI e de 1 a 10 para os casos de RRES. Observa-se que, independentemente do tipo, 53,3% dos casos apresentou reabsorções leves com índices menores que 4. Entretanto, reabsorções moderadas (índice entre 5 e 8) e graves (índices maiores que) também foram observados em ambos os tipos, porém em menores proporções (38,5% e 8,2%, respectivamente). A distribuição do índice inicial de acordo com o tipo de reabsorção radicular externa é apresentada no gráfico 03.

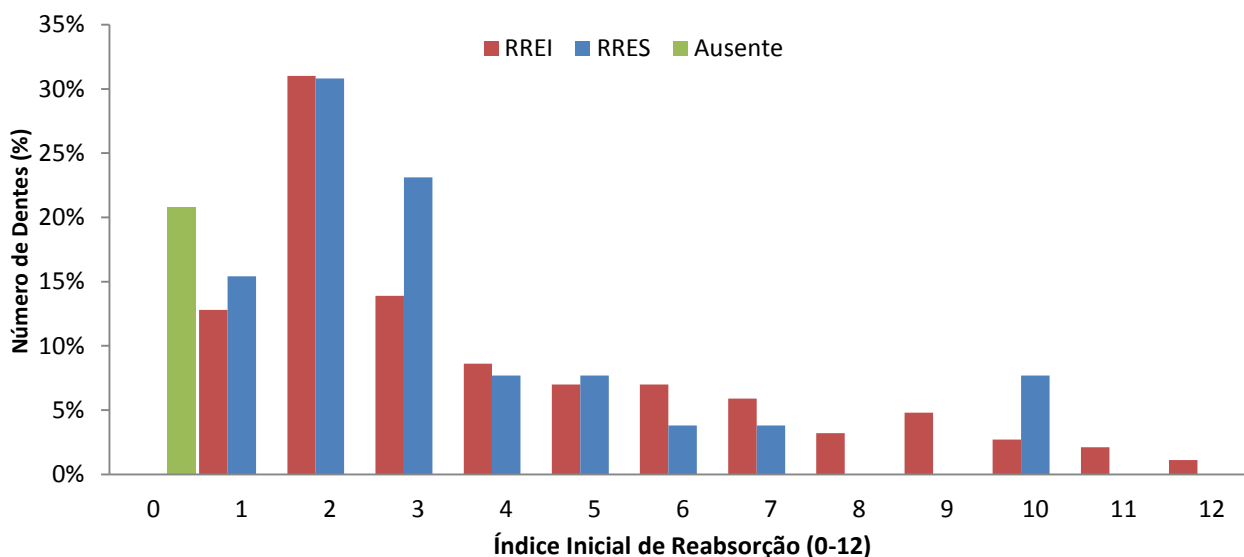


Gráfico 03: Distribuição da amostra segundo o índice de reabsorção radicular externa, observada na consulta inicial.

5.2 ESTUDO DO EFEITO DA IDADE E FATORES CLÍNICOS NA ATIVIDADE DE REABSORÇÃO INICIAL

A primeira etapa deste trabalho consistiu no estudo da associação entre fatores demográficos (idade), fatores relacionados ao manejo do dente avulsionado (meio de armazenamento e período extra-alveolar) e fatores clínicos relativos ao tratamento inicial após o reimplante (tempo de imobilização, tempo decorrido entre o reimplante e a consulta inicial na CTD-FO-UFMG e uso de antibioticoterapia sistêmica) e a atividade de reabsorção inicial.

5.2.1 Estudo do efeito da idade e fatores clínicos no tipo de reabsorção inicial:

Para os estudos de associação entre as variáveis explicativas e o tipo de reabsorção inicial, foi utilizado um modelo de Regressão Logística. Foram testados os efeitos destas variáveis comparando-se o grupo de dentes portadores de RREI (n=187) e RRES (n=26) na consulta inicial. As variáveis que apresentaram valores nominais de $p < 0,20$, a saber: meio de armazenamento, idade no momento do trauma (ponto de corte de 11 anos), momento da consulta inicial, período extra-alveolar e tempo de imobilização foram testadas em um modelo multivariado de regressão logística. O modelo final revelou que dentes com períodos extra-alveolares maiores apresentaram menores chances de desenvolver RRES inicial (RC 0,90; IC 95%; 0,08-1,73; $p=0,032$). Além disso, dentes armazenados no leite apresentaram maior chance de desenvolver RREI inicial (RC 2,23; IC 95%; -4,39- -0,64; $p=0,044$). Os resultados são apresentados na tabela 04.

Tabela 04: Efeito da idade e fatores clínicos no tipo de reabsorção radicular			
Fatores Demográficos e Clínicos	Tipo de RRE Inicial		Regressão Logística (RC (IC 95%) p value)
	RRES	RREI	Univariada
Idade n(%)			Multivariada**
≤11 anos	13 (17,8%)	60 (82,2%)	0,71 (-1,58 – 0,17) p= 0,114
>11 anos	13 (9,3%)	127 (90,7%)	Referência
≤16 anos	21 (11,2%)	166 (88,8%)	0,63 (-0,60 – 1,86) p= 0,312
>16 anos	5 (19,2%)	21 (80,8%)	Referência
Período extra-alveolar (min)			
Mediana (variação)	120 (5-360)	120 (5-10080)	0,81 (0,03 – 1,59) p= 0,041 *
Meio de Armazenamento			
Água, Soro, Saliva	11 (13,1%)	73 (86,9%)	0,25 (-0,66 – 1,17) p= 0,584
Leite	1 (2,2%)	45 (97,8%)	2,10 (0,02 – 4,28) p= 0,048
Seco	14 (16,9%)	69 (83,1%)	Referência
Antibiototerapia Sistêmica			
Sim	4 (10,8%)	33 (89,2%)	0,51 (- 0,84 – -1,86) p= 0,461
Não	14 (14,7%)	81 (85,3%)	Referência
Momento da Consulta Inicial (dias)			
Mediana (Variação)	122,5 (16-1782)	79 (14-2149)	-0,78 (-1,72 – 0,16) p= 0,102 *
Período de imobilização (dias)			
Mediana (Variação)	85 (7-339)	47 (7-1046)	-0,76 (-1,84 – 0,32) p= 0,168 *

*RC calculada após transformação logarítmica

** Modelo final incluindo as variáveis idade no ponto de corte 11 anos, período extra-alveolar, meio de armazenamento, momento da consulta inicial, período de imobilização.

5.2.2 Estudo do efeito da idade e fatores clínicos no índice de reabsorção inicial:

Para estudo dos fatores determinantes do índice de reabsorção inicial, foi utilizado um modelo de Regressão de Poisson para as sub-amostras, RREI e RRES, separadamente.

A idade do paciente nos pontos de corte de 11 e 16 anos, o momento da consulta inicial e o período de imobilização apresentaram valores de $p < 0,20$ na análise univariada e foram testadas conjuntamente em uma análise multivariada em dois modelos. O primeiro, considerando-se o ponto de corte de 11 anos e segundo, considerando o ponto de corte de 16 anos. Idades mais jovens apresentaram associação significativa com as maiores taxas de aumento do índice de reabsorção. Entretanto, este aumento foi diferente para os dois pontos de corte da idade. Pacientes com idades inferiores a 11 anos no momento do trauma, apresentaram aumento médio de 50% nos índices de RREI quando comparados com pacientes com idades superiores a 11 anos ($p < 0,0001$). Quando considerado o ponto de corte de 16 anos, este aumento foi de 150% para os pacientes com idades inferiores a 16 anos quando comparados aos pacientes com mais de 16 anos no momento do trauma ($p < 0,001$). De forma semelhante, idades mais jovens determinaram maiores taxas de aumento nos índices de RRES, especialmente quando considerado o ponto de corte de 16 anos.

O momento da consulta inicial também permaneceu significativo em ambos os modelos finais, sendo que a demora na continuidade do tratamento após o reimplante foi diretamente proporcional ao aumento nos índices de ambos os tipos de reabsorção ($p < 0,0001$). O efeito do aumento do tempo entre o reimplante até a consulta inicial foi determinante de um aumento nas taxas do índice de reabsorção na ordem de 180%.

O aumento da duração do período de imobilização determinou maiores índices de RRES. Enquanto que, considerando-se os casos portadores de RRES, o período de imobilização perdeu significância após análise conjunta. Estes resultados são apresentados na tabela 05.

Tabela 05: Efeito da idade e fatores clínicos no índice de reabsorção radicular

Fatores Demográficos e Clínicos	RREI		RRES	
	Univariada	Multivariada	Univariada	Multivariada
Idade				
≤11 anos	1,34 (1,02 - 1,76) p=0,037	1,50 (1,22 - 1,86) p<0,001	1,12 (0,91 - 4,94) p=0,083	2,45 (1,20 - 5,02) p=0,014
>11 anos	Referência	Referência	Referência	Referência
≤16 anos	3,02 (1,95 - 4,69) p<0,001	2,50 (1,65 - 3,79) p<0,001	4,49 (1,51 - 13,42) p=0,007	4,37 (1,63 - 11,72) p=0,003
>16 anos	Referência	Referência	Referência	Referência
Período extra-alveolar (min)*				
	0,89 (0,71 - 1,12) p=0,383		0,65 (0,38 - 1,10) p=0,110	
Meio de Armazenamento				
Água, Soro, Saliva	0,92 (0,68 - 1,24) p= 0,571		0,996 (0,999 - 1,002) p= 0,415	
Leite	0,97 (0,68 - 1,36) p= 0,841		0,13 (0,02 - 0,90) p= 0,038	
Seco	Referência		Referência	
Antibioticoterapia Sistêmica				
Sim	1,18 (0,81 - 1,70) p=0,389		1,30 (0,38 - 4,47) p=0,680	
Não	Referência		Referência	
Momento da Consulta Inicial* (dias)				
	2,91 (2,20 - 3,85) p<0,001	2,81 (2,13 - 3,70), p<0,001**	4,29 (2,38 - 7,75) p<0,001	2,80 (1,71 - 4,59), p<0,001**
Período de imobilização (dias)*				
	2,31 (1,67 - 3,22) p<0,001		6,84 (2,75 - 17,00) p<0,001	3,88 (1,87 - 8,05) p<0,001**

* Análises realizadas após transformação logarítmica

**Modelo multivariado utilizando-se a variável idade no ponto de corte de 16 anos

5.3 ESTUDO DO EFEITO DOS SNPs ESTUDADOS NA ATIVIDADE DE REABSORÇÃO INICIAL:

Para o estudo do efeito das variáveis genéticas na atividade de reabsorção inicial, os 3 genótipos foram testados individualmente ou agrupados de acordo com a presença/ausência do alelo polimórfico. Os SNPs que apresentaram valores de $p < 0,20$ na análise univariada, foram testados em um modelo multivariado juntamente com as covariáveis clínicas que permaneceram significativas.

5.3.1 Estudo do efeito dos SNPs estudados no tipo de reabsorção inicial:

Para o estudo do efeito das variáveis genéticas no tipo de reabsorção inicial, a distribuição genotípica de cada SNP foi testada em relação ao tipo de reabsorção inicial, RREI x RRES. A tabela 06 apresenta os resultados da análise univariada e multivariada da distribuição dos genótipos quando comparados os grupos portadores de RREI e RRES inicial, utilizando o modelo de regressão logística. Observa-se que o alelo polimórfico C no SNP rs 2073618 do gene TNFSRF11B que codifica para OPG apresentou associação nominal significativa com a maior chance de RREI inicial quando considerados os genótipos separadamente (genótipo CC $p=0,044$ e GC $p=0,013$). Este efeito foi mais pronunciado quando considerada a presença desta variante alélica C+ (CC+CG) ($p=0,012$). Sendo assim, este SNP foi testado em um modelo de regressão multivariada, juntamente com as variáveis clínicas que foram significativas, a saber: meio de armazenamento e período extra-alveolar. O efeito da homozigose para o alelo C (genótipo CC) perdeu significância no modelo final bem como as variáveis clínicas de manejo do dente avulsionado (meio de armazenamento e período extra-alveolar). Entretanto, no modelo multivariado que considerava a presença da variante alélica C+ (CC+CG) no SNP rs 2073618 do gene que codifica para OPG, esta variável genética permaneceu significativamente associada à ocorrência de RREI inicial (RC 1,2; IC95%; 0,18-2,29, $p=0,022$), enquanto as variáveis de manejo do dente avulsionado novamente perderam significância. Estes resultados são apresentados na Tabela 07.

Tabela 06: Efeito dos SNPs estudados no tipo de reabsorção radicular

Variáveis Genéticas	RRE Inicial			Regressão Logística (RC (IC 95%) p value)	
	RRES	RRE	RREI	Univariada	Multivariada*
IL10 (-1082 A/G) rs 1800896					
Genótipos					
AA	12 (11,3%)	94 (88,7%)		-0,17 (-1,78 – 1,45) p= 0,838	
AG	12 (14,3%)	72 (85,7%)		-0,39 (-2,03 – 1,26) p= 0,646	
GG	2 (8,7%)	21 (91,3%)		Referência	
Presença do Alelo A					
A+ (AA+AG)	24 (12,6%)	166(87,4%)		-0,26 (-1,82 – 1,31) p= 0,747	
A- (GG)	2 (8,7%)	21 (91,3%)		Referência	
Presença do Alelo G					
G+ (GG+AG)	14 (13,1%)	93 (86,9%)		-0,15 (-1,02 – 0,72) p= 0,740	
G- (AA)	12 (11,3%)	94 (88,7%)		Referência	
TNFSRF11B - OPG (+1181 C/G) rs 2073618					
Genótipos					
GG	8 (28,6%)	20 (71,4%)		Referência	Referência
CG	7 (8,0%)	81 (92,0%)		1,49 (0,32 – 2,65) p= 0,013	1,46 (0,24 – 2,68) p= 0,019
CC	10 (10,5%)	85 (89,5%)		1,16 (0,03 – 2,28) p= 0,044	1,13 (-0,13 – 2,19) p= 0,082
Presença do Alelo G					
G+ (GG+CG)	15 (12,9%)	101 (87,1%)		-0,16 (-1,07 – -0,75) p=0,732	
G- (CC)	10 (10,5%)	85 (89,5%)		Referência	
Presença do Alelo C					
C- (GG)	8 (28,6%)	20 (71,4%)		Referência	Referência
C+ (CC+CG)	17 (9,5%)	166 (90,7%)		1,31 (0,29 – 2,32) p= 0,012	1,23 (0,18 – 2,29) p= 0,022
TNFSF11 - RANKL (C/G) rs 2277438					
Genótipos					
AA	13 (11,2%)	103 (88,8%)		0,41 (-1,28 – 2,10) p= 0,632	
AG	10 (13,5%)	64 (86,5%)		0,29 (-1,44 – 2,03) p= 0,740	
GG	3 (15,8%)	16 (84,2%)		Referência	
Presença do Alelo A					
A+ (AA+AG)	23 (12,1%)	167(87,9%)		0,37 (-1,28 – 2,01) p= 0,663	
A- (GG)	3 (15,8%)	16 (84,2%)		Referência	
Presença do Alelo G					
G+ (GG+AG)	13 (14,0%)	80 (86,0%)		-0,18 (-1,06 – 0,70) p= 0,693	
G- (AA)	13 (11,2%)	103 (88,8%)		Referência	

* Valores corrigidos após análise conjunta com meio de armazenamento e período extra-alveolar

Tabela 7: Modelo de Regressão Logística – Análise Multivariada do efeito do SNP rs 2073618 no gene TNFSRF11B (OPG), meio de armazenamento e período extra-alveolar no tipo de reabsorção radicular medido na consulta inicial

Tipo de RRE inicial - RRES x RREI			
Variáveis	Regressão Logística (RC (IC 95%) p value)		
	Univariada	Multivariada*	
Meio de armazenamento			
Água, Soro, Saliva	0,25 (-0,66 – 1,17) p= 0,584	0,15 (-0,86 – 1,17) p= 0,769	
Leite	2,10 (0,22 – 4,28) p= 0,048	2,00 (-0,17 – 4,17) p= 0,071	
Seco	Referência		
Periodo extra-alveolar*			
	0,81 (0,03 – 1,59) p=0,041	0,62 (-0,22 – 1,46) p= 0,148	
TNFSRF11B - OPG (+1181 C/G) rs 2073618			
Genótipos	GG	Reference	Reference
	CG	1,49 (0,32 – 2,65) p= 0,013	1,46 (0,24 – 2,68) p= 0,019
	CC	1,16 (0,03 – 2,28) p= 0,044	1,13 (-0,13 – 2,19) p= 0,082
Presença do Alelo C	C- (GG)	Referência	Referencia
	C+ (CC+CG)	1,31 (0,29 – 2,32) p= 0,012	1,23 (0,18 – 2,29) p= 0,022

* RC calculada após transformação logaritimica

5.3.2 Estudo do efeito dos SNPs estudados no índice de reabsorção inicial:

A tabela 08 apresenta os resultados da análise univariada e multivariada da distribuição dos genótipos em relação ao índice inicial para o grupo de RREI e RRES, separadamente.

Observa-se que para os casos de RREI, na análise univariada, a presença do alelo A+ (AA+AG) no SNP rs 2277438 no gene TNFSF11 que codifica para a RANKL apresentou associação significativa com maiores índices de reabsorção ($p=0,046$). Para o grupo de RRES, a presença do alelo G+ (GG+AG) foi determinante de maiores índices de reabsorção. Entretanto, estas associações nominais não se mantiveram quando feita a correção por idade do paciente e momento da consulta inicial na análise multivariada conjunta com estes fatores clínicos ($p=0,414$ e $p=0,980$, respectivamente).

A análise multivariada dos SNPs rs 2073618 no gene TNFSRF11B que codifica para a OPG e rs 1800896 no gene IL10 apresentou resultados semelhantes nos grupos de RREI e RRES, uma vez que as associações nominais observadas na análise univariada não atingiram significância estatística quando testados conjuntamente com as variáveis clínicas: idade no momento do trauma e momento da consulta inicial.

Tabela 08: Efeito dos SNPs estudados no índice de reabsorção radicular

Variáveis Genéticas	RREI			RRES		
	Regressão Poisson (expβ (I.C. 95%) p value)					
	Univariada	Multivariada*	Univariada	Multivariada*	Univariada	Multivariada*
IL10 (-1082 A/G) rs 1800896						
Genótipos	AA	1,40 (0,85 - 2,30) p=0,188	1,59 (0,91 - 2,76) p=0,104	4,81 (1,11 - 20,90) p=0,036	1,59 (0,91 - 2,76) p=0,104	Referência
	AG	1,36 (0,82 - 2,26) p=0,228	1,72 (0,99 - 3,00) p=0,055	4,24 (0,98 - 18,37) p=0,054	1,72 (0,99 - 3,00) p=0,055	Referência
	GG	Referência	Referência	Referência	Referência	Referência
Presença do Alelo A	A+ (AA+AG)	1,38 (0,85 - 2,23) p=0,188	1,65 (0,96 - 2,83) p=0,073	4,54 (1,11 - 18,49) p=0,035	4,05 (0,87 - 18,99) p=0,076	Referência
	A- (GG)	Referência	Referência	Referência	Referência	Referência
Presença do Alelo G	G+ (GG+AG)	1,92 (0,70 - 1,20) p=0,532	Referência	0,70 (0,30 - 1,62) p=0,399	0,72 (0,35 - 1,45) p=0,356	Referência
	G- (AA)	Referência	Referência	Referência	Referência	Referência
TNFSRF11B - OPG (+1181 C/G) rs 2073618						
Genótipos	GG	Referência	Referência	Referência	Referência	Referência
	CG	1,27 (0,96 - 1,70) p=0,099	1,16 (0,92 - 1,47) p=0,204	2,37 (0,88 - 6,40) p=0,087	1,52 (0,74 - 3,11) p=0,257	Referência
	CC	1,18 (0,76 - 1,86) p=0,462	1,28 (0,88 - 1,85) p=0,200	0,71 (0,25 - 2,03) p=0,522	0,828 (0,34 - 1,96) p=0,659	Referência
Presença do Alelo G	G+ (GG+CG)	0,96 (0,63 - 1,45) p=0,833	1,18 (0,95 - 1,48) p=0,143	1,22 (0,50 - 2,97) p=0,663	Referência	Referência
	G- (CC)	Referência	Referência	Referência	Referência	Referência
Presença do Alelo C	C+ (CC+CG)	Referência	Referência	Referência	Referência	Referência
	C- (GG)	1,26 (0,96 - 1,65) p=0,103	1,18 (0,95 - 1,48) p=0,143	0,37 (0,15 - 0,90) p=0,029	0,70 (0,32 - ,54) p=0,378	Referência
TNFSF11 - RANKL (C/G) rs 2277438						
Genótipos	AA	1,57 (0,94 - 2,64) p=0,086	1,20 (0,75 - 1,91) p=0,450	0,92 (0,25 - 3,45) p=0,900	1,68 (0,59 - 4,79) p=0,334	Referência
	AG	1,85 (1,08 - 3,16) p=0,025	1,23 (0,75 - 2,00) p=0,407	2,75 (0,71 - 10,60) p=0,141	2,22 (0,74 - ,066) p=0,156	Referência
	GG	Referência	Referência	Referência	Referência	Referência
Presença do Alelo A	A+ (AA+AG)	1,67 (1,01 - 2,78) p=0,046	1,21 (0,47 - 1,91) p=0,414	1,51 (0,42 - 5,44) p=0,528	Referência	Referência
	A- (GG)	Referência	Referência	Referência	Referência	Referência
Presença do Alelo G	G+ (GG+AG)	1,07 (0,82 - 1,41) p=0,619	Referência	2,48 (1,11 - 5,54) p=0,027	0,98 (0,45 - 2,17) p=0,970	Referência
	G- (AA)	Referência	Referência	Referência	Referência	Referência

* Valores ajustados após análise conjunta com idade (ponto de corte de 16 anos) e tempo decorrido entre o reimplante e consulta inicial na CTD-FO-UFMG

6. Discussão

O reimplante dental é considerado a maneira mais efetiva de se preservar dentes avulsionados e tem sido aceito como o tratamento de escolha das avulsões dentárias. Entretanto é um tratamento paliativo e com prognóstico imprevisível, tendo em vista que é largamente dependente da tomada de decisão no momento do acidente. A rapidez com que o dente avulsionado é reimplantado e o meio de armazenamento extra-alveolar são descritos como determinantes do prognóstico, uma vez que a cicatrização periodontal está diretamente relacionada com a manutenção da viabilidade do LP remanescente na superfície radicular. (ANDREASEN, 1981[C]; ANDREASSEN *et al.*, 1995[D]; DONALDSON & KINIRONS, 2001; POHL *et al.* 2005[B]). A perda da integridade das células do LP e da camada cementoblástica decorrentes do evento traumático predispõem a raiz à reabsorção, principal sequela após reimplantes dentais com uma prevalência relatada na literatura entre 74% e 96% (TRONSTAD, 1988) e que não raro levam à perda do elemento dental acometido (ANDREASEN & HJORTING-HANSEN, 1966[B]; ANDREASEN, 1981[B]; HAMMARSTROM *et al.*, 1986[A]; BLOMLOF *et al.*, 1988; TROPE, 2011).

No presente estudo buscou-se realizar uma avaliação clínica retrospectiva da ocorrência e fatores determinantes das reabsorções radiculares em dentes permanentes reimplantados. Estudos desta natureza constituem-se uma importante contribuição uma vez que a literatura relativa aos traumatismos dentários ainda é dominada por estudos experimentais e estudos clínicos de baixo poder de evidência científica, como relatos de casos ou estudos realizados com amostras relativamente pequenas (ANDERSSON *et al.*, 1985; HAMMARSTRÖM *et al.*, 1986[B]; ANDREASEN, 1981 [A][B][C]; BLOMLOF *et al.*, 1981, 1983, 1988; ANDREASEN, 1975; ANDERSON *et al.*, 1989; ANDERSON & BODIN, 1990; BARRETT & KENNY, 1997[B]; KINIRONS *et al.*, 1999, 2000; BOYD *et al.*, 2000; DONALDSON & KINIRONS, 2001; 2005; CHAPPUIS & VON ARX, 2005; POHL *et al.*, 2005[A][B][C]; STEWART *et al.*, 2005; PETROVIC *et al.*, 2010; RHOUMA *et al.*, 2012; PANZARINI *et al.*, 2013). Neste contexto, o presente estudo traz uma importante contribuição para a literatura odontológica tendo em vista o tamanho da amostra, constituída de 269 dentes reimplantados em 208 pacientes. Vale ressaltar que a estratégia adotada para análise estatística dos dados permitiu a inclusão de mais de um dente reimplantado no mesmo paciente através da utilização das Equações de Estimação

Generalizadas (GEE) com matriz de simetria composta (DIGGLE *et al.*, 2002). Essa abordagem soluciona uma importante limitação frequentemente encontrada na literatura sobre traumatismos dentários, geralmente solucionada com o descarte de casos ao acaso (ANDREASEN *et al.*, 1995[A][B]) ou através de critérios questionáveis de exclusão, como por exemplo a escolha do pior prognóstico (BARRETT & KENNY, 1997[B]).

Outra importante característica deste trabalho reside no fato de que houve padronização dos procedimentos adotados durante o reimplante bem como no registro de informações. Essa garantia se deu em virtude de os dois centros envolvidos no atendimento dos pacientes integrantes da amostra atual - Pronto Socorro Odontológico do Hospital Municipal Odilon Bherens, onde o atendimento de urgência foi realizado, e a Clínica de Traumatismos Dentários da Faculdade de Odontologia da UFMG, onde os pacientes receberam atendimento sequencial - integrarem o Programa Traumatismos Dentários da FO-UFMG, os quais adotam protocolos e formulários comuns desde 1994. Sendo assim, é possível assegurar que as manobras adotadas para a realização do reimplante foram rigorosamente as mesmas para toda a amostra.

No presente trabalho, avaliamos a ocorrência, extensão e o tipo de reabsorção presente, bem como seus determinantes clínicos, demográficos e genéticos, antes da intervenção endodôntica. A medida de reabsorção antes da consulta de início do tratamento endodôntico radical representa uma importante contribuição para compreensão dos mecanismos de cicatrização periodontal em dentes reimplantados, uma vez que a maioria dos estudos nesta área buscou avaliar a ocorrência de RRE ao final do período de acompanhamento.

Para estudo da atividade inicial de reabsorção após o reimplante, utilizamos dois indicadores radiográficos: o tipo de reabsorção (RREI x RRES) de acordo com o critério descrito por Andreasen & Hjørtting-Hansen (1966) e o índice radiográfico descrito por Andersson *et al.* (1989). Estes parâmetros representam uma medida objetiva e reproduzível, recomendada como procedimento padrão para avaliação da atividade de reabsorção. A adoção desses indicadores permitiu anular a variação e a subjetividade dos critérios de avaliação da evolução clínica dos reimplantes

dentários, viabilizando, dessa forma, a comparação de resultados realizados com diferentes amostras e a realização de meta-análises futuras (BARRETT & KENNY, 1997[A]). Os indicadores da atividade de reabsorção foram medidos de forma independente por 2 examinadores treinados e calibrados na radiografia periapical realizada no momento do início do TER. Embora atualmente as tomografias computadorizadas *Cone Beam* (TCCB) representem um importante recurso de diagnóstico por imagem para se mensurar a atividade de reabsorção radicular (NANCE *et al.*, 2000; ESTRELA *et al.*, 2009), escolhemos adotar o parâmetro radiográfico com intuito de preservar um número significativo de casos que compõem a casuística do Programa de Traumatismos Dentários da FO-UFMG, e que haviam sido atendidos antes do advento desta nova tecnologia. Além disso, embora as TCCB tenham se mostrado eficazes para o diagnóstico da RREI elas não fornecem medidas precisas para a RRES (NANCE *et al.*, 2000; ESTRELA *et al.*, 2009).

A primeira etapa deste trabalho constituiu na avaliação da distribuição de frequência dos dois indicadores de atividade de reabsorção. Os resultados demonstraram que a RREI representou o tipo de reabsorção mais prevalente até o início do TER (69,5% da amostra), corroborando dados da literatura (ANDERSSON *et al.*, 1989; ANDREASEN *et al.*, 1995[B]; DONALDSON & KINIRONS, 2001, BASTOS *et al.*, 2014), que atribuem à presença de bactérias no canal radicular ao maior risco de um dente reimplantado desenvolver RREI (ANDREASEN, 1981[B]; BLOMLOF *et al.*, 1988; TRONSTAD, 1988; ANDERSSON & BODIN, 1990; KINIRONS *et al.*, 1999; ANDREASEN & ANDREASEN, 2007; HINKFUSS & MESSER, 2009[A]). Chama atenção o fato de 8,2 % da amostra apresentarem quadros graves de RREI e 9,7% apresentarem RRES antes que fosse instituído o tratamento endodôntico radical.

A segunda etapa constitui-se no estudo do efeito da idade e dos fatores relacionados ao manejo e tratamento do dente avulsionado, como período extra-alveolar e condições de armazenamento do dente avulsionado, duração do período de imobilização, momento de início do TER e uso de antibioticoterapia sistêmica, na atividade de reabsorção na consulta de inicial.

A principal variável associada à prevalência e severidade de RRE pós-traumática foi o tempo decorrido entre o reimplante e o início da terapia endodôntica (ANDERSSON & BODIN, 1990; SOARES *et al.*, 2008; SOARES *et al.*, 2015; BASTOS *et al.*, 2014). Um estudo recente demonstrou que cada dia decorrido entre o reimplante e o início da terapia endodôntica aumenta o risco de desenvolvimento de RREI em 1,2% (BASTOS *et al.*, 2014). Nossos resultados chegaram a semelhante conclusão na medida em que demonstram que a demora para o início do TER após o reimplante foi diretamente proporcional ao aumento nos índices de reabsorção. A relação direta da pulpectomia tardia com aumento nas taxas do índice de reabsorção observada neste estudo é coerente com os achados da literatura que demonstraram o papel chave desempenhado pela infecção do canal radicular na etiopatogenia das RREI. A presença de bactérias no canal radicular é descrita como sendo necessária e suficiente para sustentar uma inflamação no ligamento periodontal e, conseqüentemente, capaz de incentivar a atividade clástica na superfície externa da raiz, resultando em alto risco de um dente reimplantado desenvolver RREI (ANDREASEN, 1981[B]; BLOMLOF *et al.*, 1988; TRONSTAD, 1988; ANDERSSON & BODIN, 1990; KINIRONS *et al.*, 1999; ANDREASEN & ANDREASEN, 2007).

A idade do paciente no momento do trauma também tem sido descrita na literatura como uma variável importante na evolução das RRE. É amplamente aceita a afirmativa de que quanto mais jovem o paciente maior é o índice de reabsorção (PETROVICK *et al.*, 2010; RHOUMA *et al.*, 2012; BASTOS *et al.*, 2014; SOARES *et al.*, 2015). Nossos dados estão de acordo com esta afirmativa. Para esta análise, utilizamos dois pontos de corte que haviam sido previamente associados na literatura com a atividade de REE. Pacientes com idades inferiores a 11 anos no momento do trauma apresentaram um aumento médio de 50% nos índices de RREI quando comparados com pacientes com idades superiores a 11 anos. Considerando que a presente amostra foi constituída exclusivamente por dentes com rizogênese completa e ápice fechado, este fato sugere que a idade influencia a atividade de reabsorção através de outros mecanismos além do efeito do grau de rizogênese. A maior extensão de RREI observada nos pacientes com idades inferiores a 11 anos de idade pode ser atribuída à maior amplitude dos túbulos dentinários que permite o trânsito livre e em maior quantidade de bactérias e suas toxinas do ambiente

intracanal para a superfície externa da raiz (ANDREASEN, 1981[D]; HAMMÄRSTROM *et al.*, 1986[A]). No entanto, os resultados dessa análise demonstraram que o efeito da idade foi mais pronunciado quando considerado o ponto de corte de 16 anos. Observamos que pacientes com idades inferiores à 16 anos no momento do trauma apresentaram um aumento nos índices tanto de RREI quanto de RRES. Considerando-se que a RRE é regulada pelos mesmos mecanismos moduladores da reabsorção do osso alveolar, pode-se especular que a maior atividade de RRES observada nos pacientes com idades inferiores a 16 anos se deve à maior taxa de remodelação óssea observada durante o pico de crescimento da adolescência (ANDERSSON *et al.*, 1989).

Para alguns autores, dentes reimplantados após um período extra-alveolar de até 15 ou 20 minutos apresentam prognóstico a longo prazo favorável com alta probabilidade de não apresentar reabsorção radicular ou limitada a uma pequena área (ANDREASSEN, 1981[C]; ANDERSSON *et al.*, 1989; ANDERSSON & BODIN, 1990; PETTIETTE *et al.*, 1997). Caso o elemento dental não possa ser reimplantado dentro deste período, ele deve ser mantido em um meio de armazenamento apropriado que seja capaz de manter as células do ligamento periodontal hidratadas, preservando sua viabilidade, minimizando a resposta inflamatória após o reimplante e permitindo o reparo das fibras do PDL (SODER *et al.*, 1977; ANDREASSEN *et al.*, 1995[D]; POHL *et al.*, 2005[2]). A mediana do período extra-alveolar dos dentes da amostra foi de 120 minutos e a distribuição segundo as condições de armazenamento foi: a seco (39%), meios úmidos como soro, água e saliva (38,7%) e leite (22,30%). Os resultados revelaram que estes fatores não tiveram associação com a progressão e severidade da RRE inicial, mas com o tipo de RRE, tendo em vista que o aumento do período entre a avulsão e o reimplante apresentou associação significativa com a maior chance de desenvolver RREI quando comparada com a RREI. Este resultado está de acordo com os resultados prévios da literatura que demonstraram que períodos extra-alveolares superiores a 60 minutos estão associados com anquilose e com aumento da frequência de RRES (ANDREASEN, 1981[A]; ANDERSSON *et al.*, 1989; ANDREASEN, 1995[D]; CHAPPUIS & VON ARX, 2005; WERDER *et al.*, 2011). Na presente amostra, a utilização do leite como meio de armazenamento foi associada à maior chance de desenvolver RREI em relação à RRES. A princípio estes resultados são intrigantes,

uma vez que, em estudos experimentais, o leite foi considerado um meio compatível com a manutenção da viabilidade e capacidade clonogênica das células do LP desde que os dentes fossem armazenados dentro de um período de 15 a 20 min (UDOYE *et al.*, 2012). As divergências encontradas entre os resultados atuais e os dados da literatura devem levar em consideração as características da amostra atual na qual 90,3% dos casos apresentaram período extra-alveolar superiores a 20 minutos, justificando o fato de o efeito protetor dos meios de armazenamento não ter sido observado na atividade inicial de RRE. Além disso, deve-se ter em mente que no presente estudo, buscou-se investigar a influência destas variáveis na atividade reabsorção inicial, ou seja, antes do início do tratamento endodôntico radical, o que permite inferir que a presença de infecção intracanal tenha sido a responsável por determinar a natureza da reabsorção radicular observada. Soma-se a isso, o início tardio para execução do TER nos dentes de nossa amostra, quando o período ideal recomendado pelos protocolos atuais é de 14 dias. Isso traz como consequência a exposição prolongada do LP danificado às bactérias e seus subprodutos tóxicos oriundos do SCR infectado, retardando ou mesmo impedindo a cicatrização (GRAVES *et al.*, 2011), e cujo efeito pode ter se sobreposto aos efeitos de um armazenamento favorável.

A recomendação para o uso de antibioticoterapia sistêmica como procedimento padrão após reimplantes dentários (ANDREASSEN *et al.*, 2006; ANDERSSON *et al.*, 2012) é baseada nos achados de Hammarström e colaboradores (HAMMARSTROM *et al.*, 1986[B]) e consta do protocolo da IADT. Entretanto, seu valor é questionável (SHAH & ASHLEY, 2010), haja vista que ainda não há evidência científica clínica suficiente que sustente seu uso (ANDREASEN e HJORTING-HANSEN, 1966[A]; ANDERSSON & BODIN, 1990). Nossos resultados demonstraram que o uso de antibioticoterapia sistêmica não influenciou a ocorrência ou gravidade de ambos os tipos de RRE inicial e estão de acordo com o levantamento clínico de Andreasen e colaboradores (1995[D]) e a revisão sistemática de Hinkfuss e Messer (2009[B]). Considerados em conjunto, estes resultados desafiam a relevância clínica desta estratégia uma vez que os benefícios na cicatrização pulpar e periodontal, observados experimentalmente, não foram comprovados clinicamente.

A duração do período de imobilização também tem sido associada com a atividade de reabsorção radicular em dentes reimplantados. Estudos experimentais demonstraram que períodos prolongados de imobilização podem aumentar a incidência de RRES (ANDREASEN, 1975; ANDERSSON *et al.*, 1985). A função da imobilização é estabilizar o dente reimplantado durante o período de cicatrização das fibras do LP (OIKARINEN, 1990) e o período ideal recomendado pelos protocolos atuais é de 15 dias. Na presente amostra, a mediana da duração do período de imobilização para aqueles dentes que apresentaram RRES inicial (85 dias) foi superior que para aqueles que apresentaram RREI inicial (47 dias), entretanto o prolongado período de imobilização observado não exerceu influência no tipo de RRE ($p=0,168$). Uma provável explicação para este resultado pode ser creditada à característica da amostra atual em que a distribuição desigual do tipo de RRE inicial - apenas 9,7% apresentaram RRES - pode ter impedido comparações mais consistentes. Em contrapartida, nossos resultados demonstraram que o aumento da duração do período de imobilização foi diretamente proporcional à taxa de aumento dos índices da RRES ($p<0,001$), confirmando resultados prévios do nosso grupo (BASTOS, 2014) e da literatura (ANDREASEN, 1975; NASJLETI *et al.*, 1982; ANDERSSON *et al.*, 1985; KINIRONS *et al.*, 1999).

A terceira etapa deste trabalho consistiu no estudo de polimorfismos em genes que codificam para as citocinas IL-10, RANK, RANKL e OPG na atividade de reabsorção na consulta de inicial. Considerando-se a importância dessas citocinas na biologia dos tecidos ósseos e nos processos de reabsorção patológica dos tecidos mineralizados, a avaliação do papel destes polimorfismos na atividade de RRE em dentes reimplantados se reveste da máxima importância. Estudos desta natureza são de grande relevância, pois buscam contribuir para o conhecimento da patogênese e controle das RRE, abrindo novas perspectivas para identificar fatores de susceptibilidade e prognósticos da evolução clínica. De um modo geral, os resultados obtidos no presente estudo demonstraram que o perfil genético do paciente apresentou associação com o tipo de reabsorção inicial, mas não influenciou a extensão da reabsorção, sugerindo que o padrão de resposta do paciente tem contribuição na susceptibilidade e no curso diferencial de RRE após o reimplante de dentes permanentes.

Para estudo de polimorfismos genéticos, algumas questões metodológicas merecem ser levadas em consideração antes de se discutir sua relação com os indicadores da atividade de reabsorção. Em primeiro lugar é a verificação do *Equilíbrio de Hardy-Weinberg* (EHW) na amostra estudada. O postulado de HW demonstra que frequências genóticas em um locus genético são estáveis nas sucessivas gerações desde que os acasalamentos ocorram ao acaso e não existam pressões evolutivas ou fluxo de genes (WITTIKE-THOMPSON *et al.*, 2005). O EHW, apesar de influenciado por diferenças étnicas, parece ser um pré-requisito básico para validar resultados que demonstrem uma associação positiva, enquanto que desvios no EHW podem sinalizar vieses importantes, tais como de seleção da amostra, podendo comprometer as inferências de estudos de associação genéticos (TRIKALINOS *et al.*, 2006). No presente estudo, a distribuição genotípica para o SNPs rs 8086340 no gene que codifica para a RANK foi o único que não entrou em *Equilíbrio de Hardy-Weinberg*, sendo portanto excluído das análises estatísticas. Os demais SNPs estudados estavam em equilíbrio e foram testados quanto ao seu efeito na ocorrência, extensão e tipo de reabsorção inicial. Em segundo lugar, cabe destacar a importância do rigor na definição dos indicadores clínicos de doença em estudos de associação de SNPs. Neste contexto, constituíram-se aspectos relevantes da nossa metodologia a adoção de parâmetros objetivos e passíveis de aferição para avaliação da atividade de reabsorção, seguindo recomendação de estudos relevantes na área (ANDERSSON *et al.*, 1989; ANDERSON & BODIN, 1990; BARRETT & KENNY, 1997[B]; BASTOS, 2014). Por fim, uma análise multivariada para avaliação conjunta de determinantes clínicos e genéticos nos estudos de associação de polimorfismos é obrigatória e, especialmente nos estudos do prognóstico de dentes reimplantados, devem levar em consideração a supremacia dos determinantes clínicos.

Para o estudo do efeito dos SNPs na atividade de reabsorção inicial, os resultados demonstraram uma predominância dos determinantes clínicos na determinação do índice de progressão da RRE inicial, uma vez que nenhum dos SNPs estudado apresentou associação significativa. Por outro lado, quando considerado o tipo de reabsorção, os resultados sugerem uma participação do perfil genético do paciente. A presença da variante alélica C no SNP OPG1181G>C esteve significativamente associada com a maior chance de RREI. O SNP

rs2073618 situa-se no locus +1181, e consiste na troca de uma base G para C. Isso provoca uma mudança de aminoácido de lisina (AAG) para asparagina (AAC). Estes dois aminoácidos têm características diferentes, e tal mudança pode influenciar o tráfico de proteína (LEE *et al.*, 2010). O genótipo CC para este polimorfismo parece estar associado com menores níveis séricos de OPG (ZHAO *et al.*, 2005; MENCEJ-BEDRAC *et al.*, 2011) e conseqüentemente com reabsorção óssea aumentada. Nosso resultado está de acordo com estudos prévios na literatura, como aqueles que demonstraram associação entre este SNP e maior chance de desenvolver reabsorção radicular externa pós-ortodôntica (HARTSFIELD, 2009), maior predisposição a desenvolver necrose mandibular induzida pelo uso de bifosfonados (KATZ *et al.*, 2011) e também maior predisposição à peri-implantite (KADKHODAZADEH *et al.*, 2012). Estes resultados são coerentes com o papel regulador atribuído à OPG no metabolismo dos tecidos mineralizados, visto que a OPG é um antagonista competitivo da RANK, atuando de forma protetora ao inibir a diferenciação dos osteoclastos (KATAGIRI & TAKAHASHI, 2002; BOYLE *et al.*, 2003; TAKAYANAGI, 2005; BOYCE & XING, 2008).

O que chama atenção no presente estudo é que, no modelo de regressão logística multivariado que considerava a presença da variante alélica C+ (CC+CG) no SNP rs 2073618 do gene que codifica para OPG, após o ajuste para covariáveis clínicas associadas com o tipo de RRE observada - meio de armazenamento e período extra-alveolar dos dentes avulsionados, esta variável genética permaneceu significativamente associada com a ocorrência de RREI inicial (RC 1,24; IC95%; 0,18-2,30; $p=0,022$), enquanto o efeito das variáveis de manejo do dente avulsionado perderam significância.

Em síntese, os resultados relativos à associação entre os determinantes clínicos e demográficos na atividade de reabsorção radicular em dentes permanentes reimplantados confirmam a supremacia dos fatores relacionados ao manejo e tratamento nas taxas de progressão da doença. Por outro lado, a associação entre SNPs e RRE sugere que variações genéticas no perfil imunoinflamatório do indivíduo podem explicar, ao menos parcialmente, as diferenças no tipo da REE inicial, confirmando a hipótese de que polimorfismos funcionais podem estar associados a fatores de susceptibilidade determinantes da evolução das RRE

pós-traumáticas, deixando clara a participação fundamental das características genéticas do indivíduo na definição do tipo de resposta após reimplantes dentários de dentes permanentes avulsionados.

Todavia, considerando-se que a modulação da atividade de reabsorção fisiológica e patológica dos tecidos mineralizados é um processo resultante de interações complexas, na qual a interação entre os membros da tríade molecular RANK/RANKL/OPG é absolutamente crucial, faz-se necessário verificar um possível desequilíbrio na expressão destas citocinas no tecido perirradicular de dentes reimplantados portadores de diferentes padrões de reabsorção, tendo em vista que não pode ser descartada a possibilidade de que polimorfismos genéticos poderiam influenciar nos níveis locais destas citocinas. Desta forma, outros estudos ainda precisam ser realizados para confirmar esses dados. Além disso, a investigação de outros mecanismos reguladores da expressão genética que possam estar envolvidos na dinâmica dos processos reabsortivos, bem como no resultado clínico diferencial das RRE em dentes permanentes avulsionados reimplantados, deve ser contemplada em estudos futuros.

7. Conclusões

Os resultados obtidos no estudo do efeito da idade e dos fatores relacionados ao manejo e tratamento do dente avulsionado na atividade de reabsorção na consulta inicial após o reimplante de dentes permanentes nos permitiram concluir que:

- ❖ A idade do paciente no momento do trauma representou um fator determinante da ocorrência e severidade da reabsorção radicular externa após o reimplante no período que antecede o início do tratamento endodôntico radical;
- ❖ A demora para o início do tratamento endodôntico após o reimplante aumentou a chance de ocorrência de reabsorções radiculares externas e foi diretamente proporcional ao aumento nos índices de reabsorção;
- ❖ O período extra-alveolar e o meio de armazenamento do dente avulsionado, bem como o uso de antibioticoterapia sistêmica e o período de imobilização, não exerceram nenhuma influência na ocorrência ou gravidade de RRE inicial.

Os resultados obtidos no estudo do efeito dos fatores genéticos na atividade de reabsorção na consulta inicial após o reimplante nos permitiram concluir que:

- ❖ Os SNPs estudados não apresentaram uma associação significativa com a ocorrência e progressão da RRE inicial;
- ❖ A presença do alelo polimórfico C no SNP rs 2073618 no gene que codifica para a OPG apresentou associação significativa com ocorrência de RREI na consulta de início do tratamento endodôntico.

Considerados em conjunto, os resultados do presente estudo demonstraram que os fatores clínicos e demográficos foram determinantes da ocorrência e extensão das RRE pós-traumáticas no período que antecede a terapia endodôntica, contudo não tiveram influência no tipo de reabsorção observada. Variações genéticas, representadas pelos SNPs, podem estar associados a fatores de susceptibilidade determinantes de RRE inicial, mas não influenciaram a sua extensão.

8. Referências Bibliográficas

1. Al-Qawasmi R et al. Genetic predisposition to external apical root resorption in orthodontic patients: linkage of chromosome-18 marker. *Journal of Dental Research* 2003[A];82(5):356-60.
2. Al-Qawasmi R et al. Genetic predisposition to external apical root resorption. *American Journal Orthodontics and Dentofacial Orthopedics* 2003[B];123(3):242-52.
3. Andersson L, Andreasen JO, Day P, Heithersay G, Trope M, DiAngelis AJ, Kenny DJ, Sigurdsson A, Bourguignon C, Flores MT, Hicks ML, Lenzi AR, Malmgren B, Moule AJ, Tsukiboshi M. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. *Dental Traumatology* 2012;28:88-96.
4. Andersson L, Bodin I, Sörensen S. Progression of root resorption following replantation of human teeth after extended extraoral storage. *Endod Dent Traumatol.* 1989;5(1):38-47.
5. Andersson L, Bodin I. Avulsed human teeth replanted within 15 minutes--a long-term clinical follow-up study. *Endod Dent Traumatol.* 1990;6(1):37-42.
6. Andersson L. et al. Effect of masticatory stimulation on dentoalveolar ankylosis after experimental tooth replantation. *Endodontics Dental Traumatology* 1985;1(1):13-6.
7. Andreasen FM, Andreasen JO. Diagnosis of luxation injuries. The importance of standardized clinical, radiographic and photographic techniques in clinical investigation. *Endodontics Dental Traumatology* 1985;1(5):160-69.
8. Andreasen J, Borum M, Jacobsen H, Andreasen F. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 4. Factors related to periodontal ligament healing. *Endod Dent Traumatol.* 1995[D];11(2):76-89.
9. Andreasen JO, Andreasen FM. Avulsions. In Andreasen JO, Andreasen FM, Andersson L. *Textbook and color atlas of traumatic injuries to teeth.* 4.ed. Oxford: Blackwell Publishing; 2007. p.444-88.
10. Andreasen JO, Andreasen FM. Root resorption following traumatic dental injuries. *Proceedings of the Finnish Dental Society.* 1992;88(Suppl 1):95-114.
11. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 2. Factors related to pulpal healing. *Endod Dentol Traumatol* 1995[B];11:59-68.
12. Andreasen JO, Borum MK, Jacobsen HL, Andreasen FM. Replantation of 400 avulsed permanent incisors. 1. Diagnosis of healing complications. *Endod Dent Traumatol* 1995[A];11:51-8.
13. Andreasen JO, Hjorting-Hansen E. Replantation of teeth. II. Histological study of 22 replanted anterior teeth in humans. *Acta Odontol Scand.* 1966[B];24:287-306.

14. Andreasen JO, Hjorting-Hansen E. Replantation of teeth.I. Radiographic and clinical study of 110 human teeth replanted after accidental loss. *Acta Odontol Scand* 1966[A];24:263–86.
15. Andreasen JO, Jensen SS, Sae-Lim V. The role of antibiotics in preventing healing complications after traumatic dental injuries. A literature review. *Endod Topics*. 2006[B];14:80-92.
16. Andreasen JO, Kristerson L.The effect of limited drying or removal of the periodontal ligament on periodontal healing after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *Acta Odontologica Scandinavica*. 1981;30(1):1-13.
17. Andreasen JO, Malmgren B, Bakland LK. Tooth avulsion in children: to replant or not. *Endodontic Topics*. 2006[A];14:28–34.
18. Andreasen JO. Analysis of pathogenesis and topography of replacement root resorption (ankylosis) after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *Swedish Dental Journal* 1980a;4(6):231-40.
19. Andreasen JO. Effect of extra-alveolar period and storage media upon periodontal and pulpal healing after replantation of mature permanent incisors in monkeys. *Int J Oral Surg*. 1981[C];10:43-53.
20. Andreasen JO. Periodontal healing after replantation of traumatically avulsed young permanent incisors. *Endod Dent Traumatol*. 1975;33:325-35.
21. Andreasen JO. Pulp and periodontal tissue repair - regeneration or tissue metaplasia after dental trauma. A review. *Dental Traumatology*. 2012;28:19–24.
22. Andreasen JO. Relationship between surface and inflammatory resorption and changes in the pulp after replantation of permanente incisors in monkeys. *J Endod*. 1981[B];7: 294-301.
23. Andreasen JO. The effect of pulp extirpation or root canal treatment of periodontal healing after replantation of permanente incisors in monkeys. *J Endod*. 1981[A];7:245-52.
24. Andreasen JO. The effect of splinting upon periodontal healing after replantation of permanent incisors in monkeys. *Acta Odontol Scand*. 1975;33:313-23.
25. Armada L, Marotta PS, Pires FR, Siqueira Jr JF. Expression and Distribution of Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B, Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand, and Osteoprotegerin in Periradicular Cysts. *J Endod*. 2016;41:1281-7.
26. Baker AH, Edwards DR, Murphy G. Metalloproteinase inhibitors: biological actions and therapeutic opportunities. *Journal of Cell Science*. 2002; 115, 3719-27.
27. Barrett E, Kenny DJ. Survival of avulsed permanent maxillary incisors in children following delayed replantation. *Endod Dent Traumatol*. 1997[B];13:269-75.
28. Barrett EJ, Kenny DJ. Avulsed permanent teeth: a review of the literature and treatment guidelines. *Endod Dent Traumatol*.1997[A];13:153-63.

29. Bastos JV, Cortes MIS, Goulart EMA, Colosimo EA, Gomez RS, Dutra WO. Age and timing of pulp extirpation as major factors associated with inflammatory root resorption in replanted permanent teeth. *J Endod.* 2014;40:366-71.
30. Bastos JV, Cortes MIS, Silva JFC, Goulart EMA, Colosimo EA, Gomez RS, Dutra WO. Study of the interleukin-1 gene cluster polymorphisms and inflammatory external root resorption in replanted permanent teeth. *Int Endod J.* 2015; doi:10.1111/iej.12384.
31. Bastos, JV. Estudo da expressão de citocinas, quimiocinas e metaloproteinases e associação da ocorrência de seus polimorfismos, em reabsorções radiculares inflamatórias e por substituição após reimplante de dentes permanentes. 2014.206f. Tese (Doutorado em Biologia Celular) – Instituto de Ciências Biológicas. Universidade Federal de Minas Gerais, Belo Horizonte, 2014.
32. Becks H, Marshall J. Resorption or absorption? *J Am Den Ass.* 1932;19:1528-37.
33. Berglundh T, Donati M, Mahn-Zorii M, Hanson L-A, Padyukov: Association of the 1087 IL10 gene polymorphism with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *J Clin Periodontol* 2003;30:249-54.
34. Blomlof L, Lencheden A, Lindskog S. Endodontic infection and calcium hydroxide-treatment. Effects on periodontal healing in mature and immature replanted monkey teeth. *Journal Clinical Periodontology* 1992;19(9):652-58.
35. Blomlof L, Lindskog S, Andersson L, Hedstrom KG, Hammarstrom L. Storage of Experimentally Avulsed Teeth in Milk Prior to Replantation. *J Dent Res.* 1983; 62(8):912-6.
36. Blomlof L, Lindskog S, Hammarstrom L. Influence of Pulpal Treatments on Cell and Tissue Reactions in the Marginal Periodontium. *J Periodontol.* 1988.59; 577-83.
37. Blomlof L, Lindskog S, Hammarstrom L. Periodontal healing of exarticulated monkey teeth stored in milk or saliva. *J Dent Res.* 1981;89:251-9.
38. Bonfá AC, Seguro LPC, Caparbo V, Bonfá E, Pereira RMR. RANKL and OPG gene polymorphisms: associations with vertebral fractures and bone mineral density in premenopausal systemic lupus erythematosus. *Osteoporos Int.* 2015;26:1563-71.
39. Boyce BF, Xing L. Functions of RANK/RANKL/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives of Biochemistry and Biophysics.* 2008;473:139-46.
40. Boyd DH, Kinirons MJ, Gregg TA. A prospective study of factors affecting survival of replanted permanent incisors in children. *International Journal of Paediatric Dentistry.* 2000;10:200-5.
41. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003;432:337-42.
42. Chappuis V, von Arx T. Replantation of 45 avulsed permanent teeth: a 1-year follow-up study. *Dent Traumatol.* 2005;21:289–96.

43. Chorley BN et al. Discovery and verification of functional single nucleotide polymorphisms in regulatory genomic regions: current and developing technologies. *Mutation Research* 2008;659:147-57.
44. Claudino M, Trombone AP, Cardoso CR, Ferreira Jr SB, Martins Jr W, Assis GF, et al. The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and their association with periodontal disease outcome. *J Leukoc Biol.* 2008;84(6):1565–73.
45. Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, Palmer JE, Faddy MJ, Seymour GJ, et al. Progression of periodontal disease and interleukin-10 gene polymorphism. *J Periodontal Res.* 2008;43(3):328–33.
46. Cvek M, Cleaton-Jones P, Austin J, Khng M, Lownie J, Fatti P. Effect of topical application of doxycycline on pulp revascularization and periodontal healing in replanted monkey incisors. *Endod Dent Traumatol.* 1990;6:170-6.
47. Cvek M. In: Andreasen, JO, Andreasen, FM. *Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth.* 3rd ed. Copenhagen:Munksgaard;1994. p. 556-78.
48. De Nardin E. Genetic polymorphisms and immune responses. *Immunological Investigations* 2009;38:198-202.
49. De Sá AR, Moreira PR, Xavier GM, Sampaio I, Kalapothakis E, Dutra WO, Gomez RS. Association of CD14, IL1B, IL6, IL10 and TNFA functional gene polymorphisms with symptomatic dental abscesses. *Int Endod J.* 2007; 40, 563-72.
50. Diggle P., et al. *Analysis of longitudinal data.* 2nd ed. Oxford: Statistical Science Series;2003. p.369.
51. Donaldson M, Kinirons MJ. Factors affecting the time and onset of resorption in avulsed and replanted incisor in children. *Dent Traumatol* 2001;17: 205-9.
52. Dutra WO et al. Implications of cytokine polymorphisms on the orchestration of the immune response: lessons learned from oral diseases. *Cytokine & Growth Factor Reviews* 2009;20(3):223-32.
53. Estrela C et al. Method to evaluate inflammatory root resorption by using cone beam computed tomography. *Journal of Endodontics* 2009;35(11):1491-7.
54. Estrela C, Decurcio DA, Silva JA, Batista AC, Lima NCS, Silva BSF, Souza JAC, Costa CAS. Immune-Inflammatory Cell Profile and Receptor Activator of Nuclear Factor Kappa B Ligand/Osteoprotegerin Expression in Persistent Apical Periodontitis after Root Canal Retreatment Failure. *J Endod.* 2016;42:439-46.
55. Fiorentino DF, Zlotnik A, Mosmann TR, Howard M, O'Garra A. IL-10 inhibits cytokine production by activated macrophages. *J Immunol.*1991;147:3815-22.

56. Fuller K, Wong B, Fox S, Choi Y, Chambers TJ 1998 TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts. *J Exp Med.* 1998;997-1001.
57. Furuya T, Hakoda M, Ichikawa N, Higami K, Nanke Y, Yago T, Kamatani N, Kotake S. Associations between HLA-DRB1, RANK, RANKL, OPG and IL-17 genotypes and disease severity phenotypes in Japanese patients with early rheumatoid arthritis. *Clin Rheumatol.*2007;26:2137-41.
58. Garlet GP, Martins Jr W, Fonseca BAL, Ferreira BR, Silva JS. Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2004;31:671-79.
59. Gomes WDS, Silva CA, Melo ME, Silva VF, Almeida MM, Pedrini D, Poi WR, Sonoda CK, Panzarini SR. Delayed tooth replantation in rats: effect of systemic antibiotic therapy with amoxicillin and tetracycline. *Dental Traumatology.* 2015;31:448-56.
60. Graves DT, Oates T, Garlet GP. Review of osteoimmunology and the host response in endodontic and periodontal lesions. *Journal of Oral Microbiology.* 2011;3: 5304.
61. Gurol C, Ender Kazazoglu E, Dabakoglu B, Korachi M.A Comparative Study of the Role of Cytokine Polymorphisms Interleukin-10 and Tumor Necrosis Factor Alpha in Susceptibility to Implant Failure and Chronic Periodontitis. *Int J Oral Maxillofac Implants.* 2011;26:955-60.
62. Hammarstrom L, Blomlof L, Feiglin B, Andcrsson L, Lindskog S. Replantation of teeth and antibiotic treatment., *Endod Dent Traumatol.* 1986[B];2:51-7.
63. Hammarstrom L, Pierce A, Blomlof L, Feiglin B, Lindskog S. Tooth avulsion and replantation: a review. *Endod Dent Traumatol.* 1986[A];2:1–8.
64. Harkacz OM, Carries DL, Walker WA. Determination of Periodontal Ligament Cell Viability in the Oral Rehydration Fluid Gatorade and Milks of Varying Fat Content. *J Endod.* 1997;23(11):687-90.
65. Harokopakis-Hajishengallis E. Physiologic root resorption in primary teeth molecular and histological events. *Journal of Oral Science.* 2007;49:1-12.
66. Hartsfield J.J. Pathways in external apical root resorption associated with orthodontia. *Orthodontics Craniofacial Research.* 2009;12(3):236-42.
67. Hiltz J, Trope M. Vitality of human lip fibroblasts in milk, Hanks Balanced Salt Solution and Viaspan storage media. *Endod Dent Traumatol.* 1991;7:69.
68. Hinkfuss SE, Messer LB. An evidence-based assessment of the clinical guidelines for replanted avulsed teeth. Part I: timing of pulp extirpation. *Dental Traumatol.* 2009A]; 25: 32–42.

69. Hinkfuss SE, Messer LB. An evidence-based assessment of the clinical guidelines for replanted avulsed teeth. Part II: prescription of systemic antibiotics *Dental Traumatol.* 2009[B]; 25: 158-64.
70. Hughes AE *et al.* Mutations in TNFRSF11A, affecting the signal peptide of RANK, cause familial expansile osteolysis. *Nature Genetics.* 2000;24(1):45-8.
71. Jaradat SM, Ababneh KT, Jaradat SA, Abbadi MS, Taha AH, Karasneh JA, Haddad HI. Association of interleukin-10 gene promoter polymorphisms with chronic and aggressive periodontitis. *Oral Diseases.* 2012;18(3):271-9.
72. Kadkhodazadeh M, Baghani Z, Ebadian AR, Kaghazchi Z, Amid R. Receptor activator of nuclear factor kappa-B gene polymorphisms in Iranian periodontitis and peri-implantitis patients. *J Periodontal Implant Sci.* 2014;44:141-6.
73. Kadkhodazadeh M, Ebadian AR, Gholami GA, Khosravi A, Tabari ZA. Analysis of RANKL gene polymorphism (rs9533156 and rs2277438) in Iranian patients with chronic periodontitis and periimplantitis. *Arch Oral Biol.* 2013;58:530-6.
74. Kadkhodazadeh M, Tabari ZA, Ardakeni MRT, Ebadian AR, Brook A. Analysis of RANKL gene polymorphism (rs9533156 and rs2277438) in Iranian patients with chronic periodontitis and periimplantitis. *Eur J Oral Implantol.* 2012;5(4):381-8.
75. Katagiri T, Takahash N. Regulatory mechanisms of osteoblast and osteoclast differentiation. *Oral Diseases.* 2002; 8:147-59.
76. Katz J, Gong Y, Salmasinia D, Hou W, Burkley B, Ferreira P, Casanova O, Langaee TY, Moreb JS. Genetic polymorphisms and other risk factors associated with bisphosphonate induced osteonecrosis of the jaw. *International Journal of Oral Maxillofacial Surgery.* 2011;40(6):605-11.
77. Kinirons MJ, Boyd DH, Gregg TA. Inflammatory and replacement resorption in reimplanted permanent incisor teeth: a study of the characteristics of 84 teeth. *Endod Dent Traumatol.* 1999;15:269–72.
78. Kinirons MJ, Gregg TA, Welbury RR, Cole BOI. Variations in the presenting and treatment features in reimplanted permanent incisors in children and their effect on the prevalence of root resorption. *British Dental Journal.* 2000;189(5):263-6.
79. Lacey DL, Timms E, Tan H-L, Kelly MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy F, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. Osteoprotegerin (OPG) ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-76.
80. Larsson L, Thorbert-Mros S, Rymo L, Berglundh T. Interleukin-10 genotypes of the -1087 single nucleotide polymorphism influence sp1 expression in periodontitis lesions. *Journal of Periodontology.* 2011;82(9):1376–82.

81. Lee YH, Woo JH, Choi SJ, Ji JD, Song GG. Associations between osteoprotegerin polymorphisms and bone mineral density: a meta-analysis. *Mol Biol Rep.* 2010;37:227-34.
82. Lin WP, Lin JH, Chen XW, Wu CY, Zhang LQ, Huang ZD, Lai JM. Interleukin-10 promoter polymorphisms associated with susceptibility to lumbar disc degeneration in a Chinese cohort. *Genetics and Molecular Research.* 2011;10 (3):1719-27.
83. Lin YP, Love RM, Friedlander LT, Shang HF, Pai MH. Expression of Toll-like receptors 2 and 4 and the OPG-RANKL-RANK system in inflammatory external root resorption and external cervical resorption. *Int Endod J.* 2013;46:971-81.
84. Lindskog S, Blomlof L, Hammarstrom L. Dentin resorption in replanted monkey incisors. Morphology of dentinoclast spreading in vivo. *Journal Clinical of Periodontology* 1988a;15(6):365-70.
85. Liu D, Yao S, Wise GE. Effect of interleukin-10 on gene expression of osteoclastogenic regulatory molecules in the rat dental follicle. *European Journal of Oral Sciences.* 2006;114:42-9.
86. Liu W, Xu C, Zhao H, Xia P, Song R, Gu J, Liu X, Bian J, Yuan Y, Liu Z. Osteoprotegerin Induces Apoptosis of Osteoclasts and Osteoclast Precursor Cells via the Fas/Fas Ligand Pathway. *PloS One.* 2015 Nov 16;10(11): DOI:10.1371/journal.pone.0142519.
87. Loo WTY, Fan CB, Bai LJ, Yue Y, Dou Y, Wang M, Liang H, Cheung MNB, Chow LWC, Li J, Tian Y, Qing L. Gene polymorphism and protein of human proand anti-inflammatory cytokines in Chinese healthy subjects and chronic periodontitis patients. *Journal of Translational Medicine* 2012,10(Suppl 1):S8.
88. Ma KM, Sae-Lim V. The effect of topical minocycline on replacement resorption of replanted monkeys' teeth. *Dent Traumatol.* 2003;19:96–102.
89. Manfrin TM, Poi WR, Okamoto R, Panzarini SR, Sonoda CK, Saito CT, Hamanaka EF, Martins CM. Expression of OPG, RANK, and RANKL proteins in tooth repair processes after immediate and delayed tooth. *J Craniofac Surg.* 2013;24(1):74-80.
90. McCulloch CA et al. Paravascular cells in endosteal spaces of alveolar bone contribute to periodontal ligament cell populations. *Anatomical Record* 1987;219(3): 233-42.
91. Melo ME, Silva CA, Gomes WDS, Silva VF, Brandini DA, Poi WP, Castilho LR, Sonoda CK, Panzarini SR. Immediate tooth replantation in rats: effect of systemic antibiotic therapy with amoxicillin and tetracycline. *Immediate tooth replantation in rats: effect of systemic antibiotic therapy with amoxicillin and tetracycline.* *Clin Oral Invest.* 2014.
92. Mencej-Bedrac S, Prezelj J, Marca J. TNFRSF11B gene polymorphisms 1181G > C and 245T > G as well as haplotype CT influence bone mineral density in postmenopausal women. *Maturitas.* 2011;69(3):263-67.

93. Moore KW, de Waal Malefyt R, Coffman RL, O'Garra A (2001). Interleukin-10 and the interleukin-10 receptor. *Annu Rev Immunol.* 2001: 683–765.
94. Nance RS et al. Diagnosis of external root resorption using TACT (tuned-aperture computed tomography). *Endodontics and Dental Traumatology* 2000;16(1):24-8.
95. Nasjleti CE, Castelli WA, Caffese R. The effect of different splinting times on replantation of teeth in monkeys. *Oral Surgery, Oral Medicine and Oral Pathology* 1982;53(6):557-66.
96. Ne RF, Witherspoon DE, Gutmann JL. Tooth resorption. *Quintessence Int.* 1999;30(1):9-25.
97. Nie W, Fang Z, Li B, Xiu QY. Interleukin-10 promoter polymorphisms and asthma risk: a meta-analysis. *Cytokine* 2012;60(3):849-55.
98. Nishioka M, Shiiya T, Ueno K, Suda H. Tooth replantation in germ-free and conventional rats. *Endod Dent Traumatol.*1998; 14:163-73.
99. Nishioka M. et al. Tooth replantation in germ-free and conventional rats. *Endodontics Dental Traumatology* 1998;14(4):163-73.
100. Oikarinen K. Tooth splinting: a review of the literature and consideration of the versatility of a wire-composite splint. *Endodontics Dental Traumatology* 1990;6(6):237-50.
101. Panzarini SR, Okamoto R, Poi WR, Sonoda CK, Pedrini D, Silva PE, Saito CTMH, Marão HF, Sedlacek P. Histological and immunohistochemical analyses of the chronology of healing process after immediate tooth replantation in incisor rat teeth. *Dental Traumatology* 2013; 29: 15–22.
102. Park OJ, Shin SY, Choi Y, Kim MH, Chung CP, Ku Y, *et al.* The association of osteoprotegerin gene polymorphisms with periodontitis. *Oral Dis* 2008;14:440-4.
103. Pestka S, Krause CD, Sarkar D, Walter MR, Shi Y, Fisher PB. Interleukin-10 and related cytokines and receptors. *Annu. Rev. Immunol.* 2004; 22:929-79.
104. Petrovic B, Markovic D, Peric T, Blagojevic D. Factors related to treatment and outcomes of avulsed teeth. *Dental Traumatology.* 2010; 26: 52–9.
105. Pettiette M, Hupp J, Mesaros S, Trope M. Periodontal healing of extracted dogs' teeth air-dried for extended periods and soaked in various media. *Endod Dent Traumatol* 1997;13:113–8.
106. Pettini F, Pettini P. Root resorption of replanted teeth: an SEM study. *Endod Dent Traumatol.* 1998;14(3):144-9.
107. Pierce AM, Lindskog S, Hammarstrom L. Osteoclasts: structure and function. *Electron Microscopical Review.* 1991;4:1-45.
108. Pierce AM. Experimental basis for the management of dental resorption. *Endod Dent Traumatol.* 1989;5(6):255-65.

109. Pigossi SC, Alvim-Pereira F, Montes CC, Finoti LS, Secolin R, Trevilatto PC, Scarel-Caminaga RM. Genetic association study between Interleukin 10 gene and dental implant loss. *Arch Oral Biol.* 2012;57:1256-63.
110. Pitaru S, McCulloch CA, Narayanan SA. Cellular origins and differentiation control mechanisms during periodontal development and wound healing. *Journal of Periodontal Research* 1994;29(2):81-94.
111. Pohl Y, Filippi A, Kirschner H. Results after replantation of avulsed permanent teeth. I. Endodontic considerations. *Dent Traumatol* 2005;21:80-92
112. Pohl Y, Filippi A, Kirschner H. Results after replantation of avulsed permanent teeth. II. Periodontal healing and the role of physiologic storage and antiresorptive-regenerative therapy. *Dent Traumatol* 2005;21:93-101.
113. Pohl Y, Wahl G, Filippi A, Kirschner H. Results after replantation of avulsed permanent teeth. III. Tooth loss and survival analysis. *Dent Traumatol* 2005;21:102-10.
114. Poi WR, Sonoda CK, Martins CM, Melo ME, Pellizzer EP, Mendonça MR, Panzarini SR. Storage media for avulsed teeth: a literature Review 2013; *Brazilian Dental Journal*;24(5): 437-45.
115. Rhouma O, McMahon AD, Welbury RR. Early Prognostic indicators and outcome prediction model for replanted avulsed tooth. *European Archives of Pediatric Dentistry* 2012; 13(4): 203-9.
116. Sae-Lim V, Wang CY, Trope M. Effect of systemic tetracycline and amoxicillin on inflammatory root resorption of replanted dogs' teeth. *Endod Dent Traumatol* 1998[B];14:216-20.
117. Sae-Lim V, Wang CY, Trope M. The effect of systemic tetracycline on resorption of dried replanted dogs' teeth. *Endod Dent Traumatol* 1998[A];14:127-32.
118. Sae-Lim V, Yuen KW. An evaluation of after-office-hour dental trauma in Singapore. *Endodontics and Dental Traumatology* 1997;13(4):164-70.
119. Sasaki T. Differentiation and functions of osteoclasts and odontoclasts in mineralized tissue resorption. *Microscopic Research an Technique.*2003;61,483-95.
120. Sascha R, Ouyang W. Regulation of interleukin-10 and interleukin-22 expression in T helper cells. *Current Opinion in Immunology.* 2011, 23:605–12.
121. Sasiene PD. From genotypes to genes: doubling the sample size. *Biometrics* 1997;53(4):1253-61.
122. Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Camargo LE, Line SR. Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2004;31(6):443–8
123. Shah P, Ashley P. Routine systemic antibiotic prescription in the management of permanent avulsed teeth-should we stop? *Dent Traumatol* 2010; 26:301

124. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davey E, Bucay N, Renshaw-Gregg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Boyle WJ. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89:309-19.
125. Soares AJ, Almeida Gomes BPF, Zaia AA, CCR Ferraz, Souza-Filho FJ. Relationship between clinical–radiographic evaluation and outcome of teeth replantation. *Dental Traumatology* 2008; 24: 183-8.
126. Soares AJ, Souza GA, Pereira AC, Vargas-Neto J, Zaia AA, Silva EJNL. Frequency of root resorption following trauma to permanent teeth. *Journal of Oral Science* 2015;57(2): 73-8.
127. Soder PC, Otteskog P, Andreasen JO, Modéer T. Effect of drying on viability of periodontal membrane. *Scand J Dent Res* 1977;85:164-8.
128. Stewart CJ, Elledge RO, Kinirons MJ, Welbury RR. Factors affecting the timing of pulp extirpation in a sample of 66 replanted avulsed teeth in children and adolescents. *Dental Traumatology* 2008; 24: 625–7.
129. Takayanagi H. Inflammatory bone destruction and osteoimmunology. *J Periodont Res* 2005;40:287–293.
130. Trikalinos TA, Salanti G, Khoury MJ, Ioannidis JP. Impact of violations and deviations in Hardy-Weinberg equilibrium on postulated gene-disease associations. *American Journal of Epidemiology*. 2006;163(4):300-9.
131. Tronstad L. Root resorption etiology, terminology and clinical manifestations,. *Endod Dent Traumatol* 1988;4:241.
132. Trope M, Yesiloy C, Koren L, Moshonov J, Friedman S. Effect of different endodontic treatment protocols on periodontal repair and root resorption of replanted dog teeth. *J Endod* 1992; 18:492-6.
133. Trope M. Avulsion of permanent teeth: theory to practice. *Dental Traumatol*. 2011;27:281-94.
134. Trope M. Clinical management of the avulsed tooth: present strategies and future directions. *Dent Traumatol* 2002;18:1–11.
135. Tsilingaridis G, Malmgren B, Caroline Skutberg¹, Malmgren O. The effect of topical treatment with doxycycline compared to saline on 66 avulsed permanent teeth – a retrospective case–control study. *Dental Traumatology* 2015; 31: 171–76.
136. Turner DM, Williams DM, Sakaran D, Lazarus M, Sinnott PJ, & Hutchinson IV. An investigation of polymorphism in the interleukin-10 gene promoter. *European Journal of Immunogenetics* 1997; 24:1–8.

137. Tyrovola JB, Spyropoulos MN, Makou M, Perrea D. Root resorption and the OPG/RANKL/RANK system: a mini review. *Journal of Oral Science* 2008; 50(4):367-76.
138. Udoe CI, Hamid J, Paul VA. Transport media for avulsed teeth: A review. *Australian Endodontic Journal*. 2012;38:129-36.
139. Werder P, von Arx T, Chappuis V. Treatment outcome of 42 replanted permanent incisors with a median follow-up of 2.8 years. *Schweiz Monatsschr Zahnmed* 2011; 121:312-20.
140. Wise GE, King GJ. Mechanisms of tooth eruption and orthodontic tooth movement. *J Den Res* 2008.87;5:414-3.
141. Wittke-Thompson JK, Pluzhnikov A, Cox NJ. Rational inferences about departures from Hardy-Weinberg equilibrium. *American Journal of Human Genetics*. 2005;76(6):967-86.
142. Xu LX, Kukita T, Kukita A, Otsuka T, Niho Y, Iijima T. Interleukin-10 selectively inhibits osteoclastogenesis by inhibiting differentiation of osteoclast progenitors into preosteoclast-like cells in rat bone marrow culture system. *Journal of Cellular Physiology*. 1995;165(3):624-29.
143. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinosaki M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA* 1998[A];95:3597-3602.
144. Zhang J, Zhang Y, Jin J, Li M, Xie K, Wena C, Cheng R, Chen C, Lu J. The -1082A/G polymorphism in the Interleukin-10 gene and the risk of rheumatoid arthritis: A meta-analysis. *Cytokine* 2011;56: 351-5.
145. Zhao HY, Liu JM, Ning G, Zhao YJ, Zhang LZ, Sun LH, Xu MY, Uitterlinden AG, Chen JL. The influence of Lys3Asn polymorphism in the osteoprotegerin gene on bone mineral density in Chinese postmenopausal women. *Osteoporos Int*. 2005;16:1519-24.
146. Zou GY, Donner A. The Merits of Testing Hardy-Weinberg Equilibrium in the Analysis of Unmatched Case-Control Data: A Cautionary Note. *Annals of Human Genetics* 2006;70:923-33.
147. Zupan J, Jeras M, Marc J. Osteoimmunology and the influence of pro-inflammatory cytokines on osteoclasts. *Biochemical Medicine* 2013;23(1):43-63.

9. Anexos

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO

TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO, CONFORME O ITEM IV DA
RESOLUÇÃO 196/96 DO CONSELHO NACIONAL DE SAÚDE

Eu, _____,
estou fazendo uma pesquisa para estudar os fatores que interferem no sucesso do reimplante dos dentes avulsionados (dentes que saíram inteiros por causa de uma pancada, queda, colisão). O objetivo deste trabalho é aumentar os conhecimentos a respeito das substâncias produzidas pelo seu organismo que podem protegê-lo ou torná-lo mais susceptível a desenvolver reabsorções radiculares que podem levar à perda do seu dente traumatizado. Para estudarmos as substâncias produzidas pelo seu organismo precisamos coletar um pouco da sua saliva (raspar sua bochecha), para se obter células e então avaliar as substâncias que sua célula estão produzindo. Os resultados da pesquisa serão sigilosos e divulgados apenas em veículos científicos e sem a identificação dos pacientes.

A participação neste estudo não é condição necessária para que você continue sendo atendido na Clínica de Traumatismo Dentário da Faculdade de Odontologia da UFMG. Você só participará deste trabalho se voluntariamente assinar o termo de consentimento e poderá desistir da participação nesta pesquisa sem nenhum prejuízo ao seu tratamento.

As despesas decorrentes da participação na pesquisa serão de responsabilidade única e exclusiva dos pesquisadores envolvidos, através das Instituições às quais pertencem, não estando prevista qualquer forma de remuneração para os voluntários.

Você dispõe de total liberdade para esclarecer qualquer dúvida que possa surgir durante o andamento da pesquisa através dos telefones: (31) 99727.0505 – Daniela Augusta Barbato Ferreira / (31) 3409 2454 – Profa. Juliana Vilela Bastos e (0xx31) / (31) 3248-9364 – Comitê de ética em Pesquisa da UFMG/COEP.

Autora

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Eu _____ declaro que fui suficientemente informado(a) a respeito da pesquisa a respeito dos fatores determinantes da evolução de reabsorções radiculares após avulsões traumáticas e que concordo em participar desta investigação. Declaro ainda que não recebi qualquer tipo de pressão para participar, que não receberei qualquer pagamento e que não sou responsável por nenhum tipo de despesa relacionada ao desenvolvimento desse trabalho. Estou ciente de que tenho a liberdade de desistir, a qualquer momento, sem necessidade de justificativa, de colaborar voluntariamente com a pesquisa em curso.

Belo Horizonte, _____ de _____ de 20_____

NOME DO PACIENTE:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE:

Assinatura do paciente

Assinatura do responsável pela pesquisa

TERMO DE CONSENTIMENTO PÓS-INFORMAÇÃO

Eu _____ declaro que fui suficientemente informado(a) a respeito da pesquisa a respeito dos fatores determinantes da evolução de reabsorções radiculares após avulsões traumáticas e que autorizo a participação de _____ nesta investigação. Declaro ainda que não recebi qualquer tipo de pressão para participar, que não receberei qualquer pagamento e que não sou responsável por nenhum tipo de despesa relacionada ao desenvolvimento desse trabalho. Estou ciente de que tenho a liberdade de desistir, a qualquer momento, sem necessidade de justificativa, de colaborar voluntariamente com a pesquisa em curso.

Belo Horizonte, _____ de _____ de 20_____

NOME DO PACIENTE:

NOME DO RESPONSÁVEL:

DOCUMENTO DE IDENTIDADE DO RESPONSÁVEL:

Assinatura do responsável pelo paciente

Assinatura do responsável pela pesquisa

“Eu não sou tão forte quanto eu
previa, nem tão fraca quanto
eu temia. Não tenho o passo
rápido como eu gostaria, nem
paraliso como poderia. Aprendi
a me equilibrar nos extremos.

Se não tenho o direito de
escolher todos os
acontecimentos, me posiciono
de acordo com os fatos.

No final, o que me move não é
forte o suficiente pra me
derrubar, mas é intenso o
bastante para me fazer ir
além.”

Fernanda Gaona