

UNIVERSIDADE TUIUTI DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PÓS-GRADUAÇÃO, PESQUISA E
EXTENSÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA –
MESTRADO
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: ENDODONTIA

INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS DO
RECEPTOR TLR4 NA EVOLUÇÃO DO DENTE AVULSIONADO E
REIMPLANTADO

GIORDANO OLIVEIRA ZANDONÁ

CURITIBA

2026

GIORDANO OLIVEIRA ZANDONÁ

**INFLUÊNCIA DE POLIMORFISMOS GENÉTICOS DO
RECEPTOR TLR4 NA EVOLUÇÃO DO DENTE AVULSIONADO E
REIMPLANTADO**

Dissertação apresentada como requisito parcial
para obtenção do título de Mestre em Odontologia
pela Universidade Tuiuti do Paraná, no curso de
Mestrado em Odontologia – Área de Concentração:
Endodontia.

Orientador: Prof. Dra. Liliane Roskamp
Co-orientador: Prof. Dr. Flares Baratto Filho

CURITIBA

2026

Dados Internacionais de Catalogação na fonte
Biblioteca "Sidnei Antonio Rangel Santos"
Universidade Tuiuti do Paraná

Z27 Zandoná, Giordano Oliveira.

Influência de polimorfismo genéticos do receptor TLR4 na evolução do dente avulsionado e reimplantado / Giordano Oliveira Zandoná; orientadora Prof.^a Dra. Liliane Roskamp; coorientador Prof. Dr. Flares Baratto Filho.

46f.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Tuiuti do Paraná, Curitiba, 2026

1. Avulsão dentária. 2. Polimorfismo genético. 3. Reabsorção radicular. 4. Reimplante dentário. 5. TLR4. I. Dissertação (Mestrado) Programa de Pós-Graduação em Odontologia / Mestrado em Odontologia. II Título.

CDD – 617.693

Bibliotecária responsável: Heloisa Jacques da Silva – CRB 9/1212

INSTITUIÇÕES PARTICIPANTES



**Universidade
Tuiuti do
Paraná**

Esta dissertação foi desenvolvida no Laboratório de Pesquisa em Odontologia da Universidade Tuiuti do Paraná – UTP, na Clínica de Odontologia da Pontifícia Universidade Católica do Paraná – PUCPR e no Laboratório de Pesquisa em Odontologia da Universidade Federal Fluminense – UFF.

AGRADECIMENTOS

À **Universidade Tuiuti do Paraná**, pela oportunidade de realizar este curso e por todo o suporte oferecido ao longo da jornada acadêmica.

À minha orientadora, **Prof.^a Dra. Liliane Roskamp**, pela paciência, dedicação e por conduzir este trabalho com sabedoria e sensibilidade. Sua orientação foi essencial para o desenvolvimento desta pesquisa e para o meu crescimento como profissional e pesquisador.

Ao **Prof. Dr. Flares Baratto Filho**, por todas as oportunidades concedidas e pelo voto de confiança depositado em mim desde o início da minha trajetória na Endodontia.

Aos professores **Dr. Luiz Fernando Fariniuk**, **Dra. Thais Sobral** e **Dr. Alison Kirchhoff**, pelos ensinamentos que vão muito além da Endodontia e que me acompanham desde a época da graduação, moldando não apenas meu conhecimento técnico, mas também minha postura ética e humana.

À minha **mãe** e ao meu **irmão**, por todo amor, incentivo e apoio incondicional. Ao meu cachorro **Austin**, que é minha alegria constante e um refúgio em todos os momentos difíceis.

Aos meus amigos, em especial **Daniel Hemming**, **Luis Fernando Azzolin**, **Vitor Shaw** e **o Black Phillip**, por estarem sempre ao meu lado, com lealdade e amizade sincera.

Aos professores **Dra. Vania Westphalen** e **Dr. Leonardo dos Santos Antunes** pelo imenso auxílio dentro do trabalho.

Aos paciente, pela confiança, ensinamentos e contribuições valiosas para meu crescimento pessoal e profissional.

E, por fim, a **mim mesmo**, por nunca desistir. Pelo esforço, pela perseverança e pela dedicação que me trouxeram até aqui.

Zandoná GO. Influência de polimorfismos genéticos do receptor tlr4 na evolução do dente avulsionado e reimplantado [Dissertação de Mestrado]. Curitiba: Universidade Tuiuti do Paraná; 2026.

RESUMO

Introdução: A avulsão dentária é um dos traumatismos dentoalveolares mais graves e complexos, frequentemente associada a sequelas inflamatórias e reabsortivas, mesmo quando o manejo clínico segue protocolos estabelecidos. A variabilidade nos desfechos clínicos sugere que fatores genéticos possam influenciar a resposta imuno-inflamatória e o prognóstico dos dentes reimplantados. O receptor Toll-like 4 (TLR4), fundamental na ativação da imunidade inata, tem papel reconhecido em processos imuno-inflamatórios e de reabsorção tecidual. **Objetivo:** Investigar a associação entre polimorfismos genéticos no gene *TLR4* e a evolução clínica e radiográfica de dentes avulsionados e reimplantados após um ano de acompanhamento. **Metodologia:** O estudo incluiu 87 pacientes, 58 homens e 29 mulheres, entre 5 e 50 anos com dentes avulsionados e reimplantados. Após um ano, os dentes foram classificados em prognóstico favorável ou desfavorável com base em critérios clínicos e radiográficos. Foram analisados cinco Tag SNPs do gene *TLR4* (rs2737190, rs2149356, rs1927914, rs1927911 e rs1927907), genotipados por Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real (qPCR). As análises estatísticas univariadas e multivariadas foram realizadas por regressão logística, adotando-se $p < 0,05$. **Resultados:** O tempo extra-alveolar inferior a 1 hora ($OR = 2,93$; $p = 0,016$) e o uso de meio de armazenamento adequado ($OR = 2,50$; $p = 0,046$) associaram-se significativamente ao prognóstico favorável. Nenhum dos polimorfismos do *TLR4* apresentou associação estatisticamente significativa com o desfecho clínico e radiográfico ($p > 0,05$). **Conclusão:** Os polimorfismos avaliados no gene *TLR4* não se associaram aos desfechos clínicos de dentes avulsionados e reimplantados após um ano

de acompanhamento. Fatores clínicos, como tempo extra-alveolar e meio de armazenamento, mantêm-se como determinantes prognósticos fundamentais. A condição apresenta caráter multifatorial, possivelmente influenciada por múltiplos genes e variáveis ambientais.

Palavras-chave: Avulsão dentária; Polimorfismo genético; Reabsorção radicular; Reimplante dentário; TLR4.

Zandoná GO. Influence of TLR4 receptor genetic polymorphisms on the outcome of avulsed and replanted teeth [Master's Dissertation]. Curitiba: Tuiuti University of Paraná; 2026.

ABSTRACT

Introduction: Dental avulsion is one of the most severe and complex dental trauma injuries, often leading to inflammatory and resorptive sequelae even when clinical management follows established protocols. The variability in clinical outcomes suggests that genetic factors may influence the inflammatory response and prognosis of replanted teeth. The Toll-like receptor 4 (TLR4), a key component of innate immunity, plays a critical role in inflammatory and resorptive processes. **Objective:** To investigate the association between *TLR4* gene polymorphisms and the clinical and radiographic outcomes of avulsed and replanted teeth after one year of follow-up. **Methods:** This study included 87 patients, 58 males and 29 females; aged 5–50 years, with avulsed and replanted teeth managed according to *International Association of Dental Traumatology* (IADT) guidelines. After one year, teeth were classified as having favorable or unfavorable outcomes based on clinical and radiographic criteria. Five *TLR4* single nucleotide polymorphisms (rs2737190, rs2149356, rs1927914, rs1927911, and rs1927907) were genotyped by real-time PCR. Univariate and multivariate logistic regression analyses were performed, with a significance level set at $p < 0.05$. **Results:** Extra-alveolar time less than one hour (OR = 2.93; $p = 0.016$) and adequate storage medium (OR = 2.50; $p = 0.046$) were significantly associated with favorable outcomes. None of the analyzed *TLR4* polymorphisms showed a statistically significant association with clinical or radiographic prognosis ($p > 0.05$). **Conclusion:** The evaluated *TLR4* gene polymorphisms were not associated with clinical outcomes of avulsed and replanted teeth after one year of follow-up. Clinical factors, particularly extra-alveolar time and storage

medium, remain decisive prognostic determinants. The condition appears multifactorial, likely influenced by multiple genetic and environmental factors.

Keywords: Genetic polymorphism; Root resorption; TLR4; Tooth avulsion; Tooth replantation.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 110

Dos autores. Fluxograma do estudo.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1.	14
Características demográficas e clínicas	
Tabela 2	16
As frequências genotípicas	
Tabela 3	17
Análise univariada de fatores associados ao desfecho	
Tabela 4	18
Análise multivariada de cada gene ajustado para tempo extra alveolar e IADT p/ armazenamento	

LISTA DE SIGLAS E ABREVIATURAS

UTP – Universidade Tuiuti do Paraná

ATP – Adenosina Trifosfato

DNA – Ácido Desoxirribonucleico

RNA – Ácido Ribonucleico

DAMPs – *Damage-Associated Molecular Patterns* (Padrões Moleculares Associados a Dano)

PAMPs – *Pathogen-Associated Molecular Patterns* (Padrões Moleculares Associados a Patógenos)

LPS – Lipopolissacarídeo

TLR – Toll-like Receptor (Receptor Toll-like)

TLR4 – Toll-like Receptor 4 (Receptor Toll-like 4)

TLR4 – gene do Receptor Toll-like 4

MyD88 – *Myeloid Differentiation Primary Response 88* (Proteína Adaptadora MyD88)

MAPKs – *Mitogen-Activated Protein Kinases* (Quinases Ativadas por Mitógenos)

PI3K – *Phosphoinositide 3-Kinase*

Akt – Proteína serina/treonina quinase envolvida em sinalização celular

NF- κ B – *Nuclear Factor kappa B* (Fator Nuclear kappa B)

RANKL – *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand* (Ligante do Receptor Ativador do NF- κ B)

RANK – *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B* (Receptor Ativador do NF- κ B)

OPG – Osteoprotegerina

SNP – *Single Nucleotide Polymorphism* (Polimorfismo de Nucleotídeo Único)

PCR – *Polymerase Chain Reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase)

qPCR – *Polymerase Chain Reaction* (Reação em Cadeia da Polimerase em Tempo Real)

IADT – *International Association of Dental Traumatology*

OR – *Odds Ratio* (Razão de Chances)

IC95% – Intervalo de Confiança de 95%

HSPs – *Heat Shock Proteins* (Proteínas de Choque Térmico)

HMGB1 – *High Mobility Group Box 1* (Proteína HMGB1)

IL - Interleucina

IL-1 β – Interleucina 1 beta

TNF- α – Fator de Necrose Tumoral alfa

PDL – Periodontal ligament

COX-2 – Cyclooxygenase-2

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	4
2. OBJETIVOS	8
3. MATERIAIS E MÉTODOS	9
4. RESULTADOS	14
5. DISCUSSÃO	16
6. CONCLUSÃO	20
7. REFERÊNCIAS.....	21
8. APÊNDICE.....	35

MANUSCRITO 1,

1. INTRODUÇÃO

Os traumatismos dentoalveolares configuram um importante problema de saúde pública, com elevada prevalência em crianças e adolescentes, principalmente em decorrência de atividades esportivas e quedas acidentais (1, 2). Estima-se que cerca de 25% das crianças em idade escolar sofram algum tipo de lesão dentária traumática (LDT), enquanto aproximadamente 33% dos adultos relatem ao menos um episódio de trauma envolvendo a dentição permanente, com maior incidência antes dos 19 anos (3). Entre as LDTs, a avulsão dentária destaca-se por sua gravidade e complexidade, representando de 0,5% a 16% dos casos (4). Caracteriza-se pelo deslocamento completo do dente para fora do alvéolo, ocasionando danos severos aos tecidos periodontais e à polpa dentária (1, 5). Acredita-se que prognóstico do reimplante depende fundamentalmente do tempo extra-alveolar e do meio de armazenamento do dente (1, 5, 6, 7). Mesmo quando conduzido dentro dos parâmetros ideais, o desfecho a longo prazo é imprevisível, podendo evoluir com reabsorção radicular externa, inflamatória ou substitutiva, culminando na perda do elemento dentário (4, 8).

A resposta inflamatória desencadeada pela avulsão exerce papel determinante na evolução clínica do elemento dentário reimplantado. O rompimento do ligamento periodontal e a necrose pulpar resultam na ativação de células e mediadores pró-inflamatórios, cuja intensidade e perfil influenciam a ocorrência e progressão das reabsorções radiculares (1, 2). A reabsorção inflamatória está principalmente associada à contaminação bacteriana e à ativação osteoclástica persistente, enquanto a substitutiva

decorre da perda irreversível dos componentes do ligamento periodontal e subsequente substituição da raiz por tecido ósseo (1, 5, 8).

A reabsorção inflamatória externa não constitui um processo passivo decorrente apenas da presença bacteriana, mas resulta de uma complexa interação celular. Sob estímulos inflamatórios, como lipopolissacarídeos (LPS) bacterianos e hipóxia, as células passam a expressar mediadores osteoclastogênicos, incluindo RANK, RANKL, M-CSF, TNF- α e IL-1 β , promovendo a diferenciação de macrófagos ou células clásticas inativas em clastos. Evidências experimentais indicam que o contato direto entre essas células potencializa significativamente a atividade clástica, contribuindo para a progressão da reabsorção radicular inflamatória (9).

Embora fatores extrínsecos, como tempo extra-alveolar, meio de transporte e manejo do dente no seu reimplante sejam amplamente reconhecidos, evidências destacam o papel de fatores intrínsecos do hospedeiro, notadamente os genéticos, na determinação dos desfechos pós-trauma (4, 6, 10). Nesse contexto, os receptores Toll-like (TLRs) exercem papel essencial na resposta imune inata, reconhecendo padrões moleculares associados a patógenos (PAMPs) e a danos teciduais (DAMPs) sinais que permitem ao sistema imune identificar tanto a presença de microrganismos quanto lesões celulares endógenas. Entre eles, o TLR4 tem relevância em processos inflamatórios ósseos e periodontais, ao reconhecer LPS de bactérias Gram-negativas. Sua ativação desencadeia uma cascata de sinalização intracelular complexa, envolvendo vias MyD88-dependente, MAPKs e PI3K-Akt, responsáveis pela transdução do sinal até o núcleo celular. Essas vias promovem a ativação de fatores de transcrição, como o NF- κ B, culminando na produção de citocinas pró-inflamatórias e mediadores que regulam a reabsorção e a aposição de tecidos mineralizados (11). Estudos prévios demonstram que o equilíbrio entre mediadores pró e anti-inflamatórios regula a estabilidade ou a progressão da

reabsorção radicular, especialmente por meio do sistema do ligante do receptor ativador de NFkB (RANKL), do receptor ativador de NFkB (RANK) e de seu antagonista, a osteoprotegerina (OPG) (8, 12–14). Entretanto, essa rede é mais complexa do que o modelo clássico, o qual descreve a reabsorção radicular como um simples desequilíbrio entre mediadores pró-reabsortivos, representado pelo RANK, e mediadores antirreabsortivos, como OPG. Essa concepção tradicional, de caráter linear, tem sido gradualmente substituída por uma visão mais abrangente, segundo a qual o processo é modulado por múltiplos fatores interdependentes, incluindo a virulência bacteriana, a localização da infecção e a predisposição genética do hospedeiro (14). Assim, a reabsorção deve ser compreendida como o resultado de uma intrincada rede de interações imuno-inflamatórias, e não apenas como o produto de um desequilíbrio entre mediadores opostos. No contexto da avulsão, a ativação do TLR4 pode exercer papel dual: contribuir para o recrutamento celular e o início dos processos reparativos, mas, quando exacerbada ou desregulada, pode desencadear respostas inflamatórias intensas, favorecendo reabsorção radicular externa (1, 6, 14). Polimorfismos no gene *TLR4* poderiam influenciar a expressão e a funcionalidade do receptor, pois SNPs podem alterar a transcrição do gene ou a eficiência da sinalização intracelular, modulando a intensidade e a duração da resposta inflamatória frente ao trauma. A compreensão dessas variações genéticas pode elucidar a heterogeneidade clínica observada entre indivíduos submetidos ao reimplante dentário, mesmo sob condições clínicas semelhantes.

Dessa forma, o *TLR4* se destaca como um elo promissor entre a genética do hospedeiro e os desfechos clínicos de dentes avulsionados e reimplantados. Considerando que receptores imuno-inflamatórios, como o TLR4, são codificados por genes, pressupõe-se que polimorfismos genéticos nesse gene possam influenciar a resposta tecidual e, consequentemente, a evolução clínica desses dentes.

2. OBJETIVOS

Objetivo Geral:

Investigar a associação entre variáveis clínicas e radiográficas e polimorfismos no gene Receptor Toll-like 4 (*TLR4*) com a evolução de dentes avulsionados e reimplantados.

Objetivos Específicos:

1. Analisar os polimorfismos nos SNPs rs2737190, rs2149356, rs1927914, rs1927911, e rs1927907 do gene *TLR4* em pacientes com dentes avulsionados e reimplantados.
2. Avaliar a relação desses polimorfismos com a características demográficas e clínicas dos pacientes com dentes reimplantados após 1 ano.
3. Investigar radiograficamente a influência dos polimorfismos no gene *TLR4* do dente avulsionado e reimplantado.

3. MATERIAL E MÉTODOS

População de Estudo

Este estudo retrospectivo partiu de uma amostra inicial de 426 dentes avulsionados atendidos na PUCPR entre 2003 e 2015, dos quais 231 foram reimplantados. Após a aplicação dos critérios de exclusão, a amostra final foi composta por 87 pacientes, 58 homens e 29 mulheres, caucasianos, com idade entre 5 e 50 anos, que sofreram avulsão dentária e realizaram o reimplante, acompanhados clínica e radiograficamente por 1 ano (Figura 1). A adoção desses critérios permitiu a obtenção de uma amostra metodologicamente mais homogênea quanto às condições clínicas e ao protocolo de acompanhamento. Os dados foram obtidos retrospectivamente a partir dos prontuários clínicos e radiográficos da clínica odontológica da PUCPR.

O protocolo de reimplante dentário vigente na época e recomendado pela International Association of Dental Traumatology (IADT) foi seguido (1, 5). Todos os dentes foram tratados com a mesma técnica endodôntica na mesma clínica odontológica. Na primeira consulta, realizada entre 7 e 21 dias após o atendimento de urgência, todos os dentes foram submetidos ao preparo químico-mecânico, e uma medicação intracanal à base de hidróxido de cálcio foi inserida no interior do canal radicular. Os dentes foram definitivamente obturados com cones de guta-percha e cimento endodôntico pela técnica da condensação lateral, ao se verificar condições clínicas e radiográficas favoráveis. O acompanhamento foi realizado a cada três meses. Após 1 ano de controle clínico e radiográfico, os pacientes foram divididos em dois grupos: o grupo com prognóstico favorável, composto por 41 pacientes cujos dentes não apresentaram reabsorção dentária, e o grupo com prognóstico desfavorável, formado por 46 pacientes cujos dentes apresentaram reabsorção radicular externa ou foram extraídos neste período.

Todos os pacientes foram informados sobre os objetivos e os procedimentos do estudo, e o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido foi assinado por cada um e/ou seu responsável. O estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Pesquisa, sob o número 02320084000-10, e seguiu o protocolo para estudos genéticos “Strengthening the Genetics Association Study Report” (STREGA) (15).

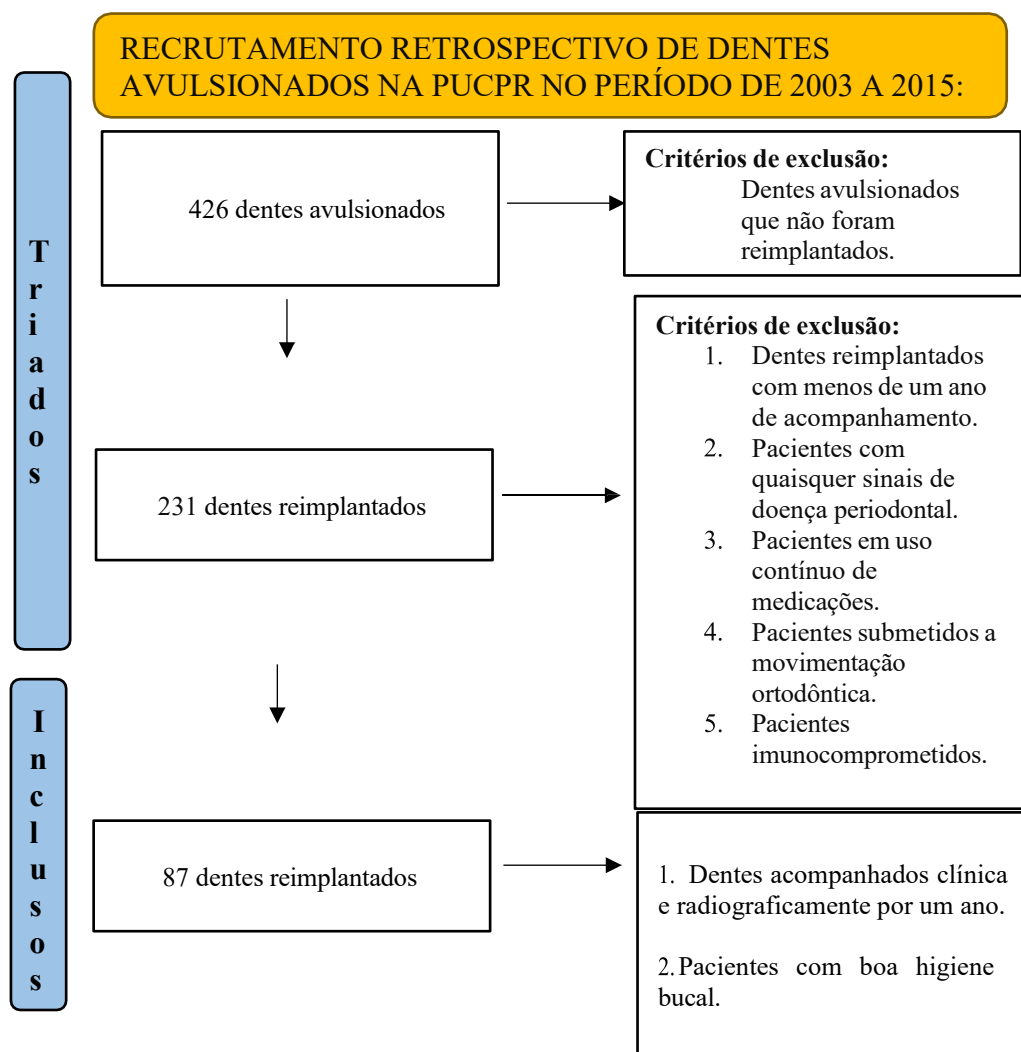
Critérios de Inclusão

1. Pacientes de ambos os sexos atendidos em Clínica Odontológica, submetidos a reimplante dentário em decorrência de avulsão.
2. Dentes permanentes reimplantados, acompanhados clínica e radiograficamente por um período mínimo de 1 ano.
3. Pacientes com boa higiene bucal.
4. Pacientes que perderam seus dentes reimplantados exclusivamente devido à reabsorção radicular externa.

Critérios de Exclusão

1. Pacientes com doenças periodontais.
2. Indivíduos portadores de patologias orais.
3. Pacientes em uso contínuo de medicações.
4. Pacientes que usaram ou em uso de aparelhos ortodônticos.
5. Pacientes imunocomprometidos por doenças sistêmicas.
6. Pacientes portadores de doenças ósteo-metabólicas.
7. Fumantes.
8. Gestantes ou lactantes.

FIGURA 1:

Fluxograma do estudo**Avaliação Clínica e Radiográfica**

As radiografias periapicais dos dentes reimplantados selecionados para este estudo foram obtidas com posicionadores radiográficos da marca JON (São Paulo, SP, Brasil) logo após o reimplante e 1 ano após. A avaliação clínica e radiográfica foi realizada por dois endodontistas. A análise de concordância entre os examinadores foi verificada com diferença de 15 dias entre cada avaliação. Os escores Kappa intraexaminadores foram de 0,98 e 0,97, e uma excelente concordância interexaminador de 0,95% para a avaliações dos exames radiográficos. Os seguintes sinais foram observados: presença ou ausência de reabsorção radicular externa, integridade da lâmina

dura, anquilose, mobilidade, respostas à percussão horizontal e vertical, e presença de dor espontânea ou à palpação.

Embora a amostra seja composta predominantemente por indivíduos de fenótipo caucasiano, é reconhecida a elevada heterogeneidade genética da população brasileira. Devido à extensa miscigenação, não se recomenda a segmentação de brasileiros com base em etnia, cor ou origem geográfica, uma vez que há ampla sobreposição genética entre indivíduos classificados como brancos ou negros (16).

Análise de Variáveis Clínicas e Ambientais

As variáveis demográficas, como idade e sexo, bem como os fatores clínicos incluindo o estágio de desenvolvimento radicular, o tempo extra-alveolar e o meio de armazenamento do dente até o reimplante, foram considerados na análise do prognóstico do elemento dentário após um ano do procedimento.

Coleta e Purificação de DNA

Para a coleta de material biológico, os pacientes foram orientados a bochechar durante 1 minuto com uma solução de glicose a 3%. Após o bochecho, utilizou-se uma espátula de madeira esterilizada para raspar a mucosa jugal. A ponta da espátula foi agitada na solução de bochecho, permitindo que as células epiteliais bucais se sedimentassem por centrifugação a 2000 rpm durante 10 minutos. O sobrenadante foi descartado e o sedimento foi ressuspensão em 1300 µL de tampão de extração [10 mM Tris-HCl (pH 7,8), 5 mM EDTA, 0,5% SDS]. Em seguida, adicionou-se 10 µL de proteinase K (20 mg/mL) e a mistura foi incubada a 65°C durante a noite. O DNA foi purificado adicionando-se acetato de amônio 10 M, seguido de precipitação com

isopropanol e etanol 70%. O DNA precipitado foi ressuspensão em 50 µL de tampão Tris 10 mM (pH 7,6) e EDTA 1 mM (17).

Um espectrofotômetro (Nanodrop® 1000, Thermo Fisher Scientific, Wilmington, NC, EUA) foi utilizado para determinar a quantidade e a pureza do DNA. Foi utilizado apenas amostras de DNA com uma razão A260 nm/A280 nm próximo de 1,8.

Seleção de Marcadores Genéticos

Para a investigação dos polimorfismos do gene *TLR4*, foram selecionados marcadores do tipo *tag SNP*, com o objetivo de capturar toda a informação genética relevante desse gene. A seleção dos marcadores foi baseada nas informações disponíveis no International HapMap Project, versão III/Rel#2 () (18, 19). Os critérios utilizados na escolha dos *tag SNPs* incluíram: a população de base, a frequência alélica mínima (FAM) de 5% e um valor de corte de 80% ($r^2 < 0,8$) para definir o desequilíbrio de ligação (DL), de forma a garantir que o gene fosse investigado de maneira detalhada. Para a análise do gene *TLR4*, foram selecionados os seguintes SNPs: rs2737190, rs2149356, rs1927914, rs1927911 e rs1927907. Esses SNPs foram escolhidos com base em critérios semelhantes de frequência alélica e desequilíbrio de ligação.

Os *tag SNPs* selecionados foram genotipados por meio da técnica de Reação em Cadeia da Polimerase em tempo real (qPCR), utilizando o aparelho AriaMx da Agilent (Santa Clara, USA). A amplificação e detecção dos marcadores genéticos foram realizadas com a utilização dos reagentes e protocolos específicos fornecidos pela Applied Biosystems.

O ciclo térmico foi iniciado com uma etapa de 95 °C por 10 minutos, seguida por 40 ciclos de amplificação a 92 °C por 15 segundos e 60 °C por 1 minuto. O limiar de ciclo (cycle threshold - CT) foi definido como o número de ciclos necessários para que o sinal

fluorescente ultrapassasse o limite estabelecido. No ensaio de qPCR, uma reação positiva foi detectada pelo acúmulo de sinais fluorescentes, sendo que os valores de CT foram inversamente proporcionais à quantidade de ácido nucleico-alvo na amostra.

Análise estatística

Os dados obtidos foram organizados em planilhas do Microsoft Excel® e analisados com o programa estatístico IBM SPSS Statistics, versão 30.0.0 (IBM Corp., Armonk, NY, EUA).

Para cada uma das variáveis analisadas, testou-se a hipótese nula de que não há associação entre a variável e a probabilidade de prognóstico favorável, versus a hipótese alternativa de que há associação.

Variáveis quantitativas foram descritas por média, desvio padrão, valores mínimo e máximo, e variáveis categóricas por frequência absoluta e percentual. Para as análises univariada e multivariada de fatores associados ao prognóstico favorável foram ajustados modelos de Regressão Logística. A significância dos coeficientes foi analisada pelo teste de Wald e a medida de associação estimada foi a odds ratio (OR) com intervalos de confiança de 95% (IC95%). O nível de significância adotado foi de 5% ($p < 0,05$).

Para avaliar a associação de cada *tag* SNP, considerado em sua forma “dominante” ou “não dominante”, com a probabilidade de prognóstico favorável, foram ajustados modelos de regressão logística multivariada individualmente para cada *tag* SNP, incluindo o tempo extra-alveolar e o tipo de meio de armazenamento como covariáveis. Dessa forma, estimou-se o efeito de cada SNP sobre o desfecho, ajustado para esses dois potenciais fatores de confusão.

4. RESULTADOS

Características Demográficas, Clínicas e Genéticas

A amostra foi composta por 87 pacientes com dentes avulsionados e reimplantados, com idade entre 05 e 50 anos ($14,6 \pm 9,5$), sendo 58 (66,7%) do sexo masculino e 29 (33,3%) do feminino. A principal etiologia foi queda sendo 39 (44,8%), seguida por acidentes com bicicleta sendo 19 (21,8%) e batida 17 (19,5%). A maioria dos dentes apresentava rizogênese completa, sendo um total de 64 (73,6%). O tempo extra-alveolar foi superior a 1 hora em 46 (52,9%) dos casos. Quanto ao meio de armazenamento, o mais frequente foi o meio seco sendo 36 (42,9%), seguido pelo alvéolo 22 (26,2%) e leite 13 (15,5%)

(TABELA 1).

TABELA 1: características demográficas e clínicas

Variável	n válido	Classificação	Resultado	
			n	%
Idade (anos)	87	Média $\pm$ dp (min-max)	87	IC= $14,6 \pm 9,5$ (4,6-50,5)
Sexo	87	Feminino	29	33,3%
		Masculino	58	66,7%
Etiologia	87	2-Queda	39	44,8%
		1-Bicicleta	19	21,8%
		3-Batida	17	19,5%
		4-Agressão	6	6,9%
		5-Auto	6	6,9%
Rizogênese	87	1-Completa	64	73,6%
		2-Incompleta	23	26,4%
Tempo extra alveolar	87	- 1 hora	41	47,1%
		+ 1 hora	46	52,9%
IADT p/ armazenamento	87	Não	33	37,9%
		Sim	54	62,1%
Meio armazenamento (3 dados perdidos = não relatado)	84	1 - Seco	36	42,9%
		2 - Leite	13	15,5%
		4 - Alvéolo	22	26,2%
		3 - Soro	7	8,3%
		8 - Gelo	3	3,6%
		5 - Saliva	2	2,4%
		7 - Água	1	1,2%

No presente estudo, o prognóstico favorável foi definido como a manutenção do dente reimplantado em condições clínicas e radiográficas estáveis, sem evidências de

reabsorção progressiva que comprometessem a viabilidade do elemento dentário. O prognóstico desfavorável, por sua vez, correspondeu aos casos em que se observaram reabsorções externas inflamatórias ou substitutivas com evidências de reabsorção progressiva que comprometessem a viabilidade do elemento dentário.

Na análise do desfecho clínico, 46 (52,9%) dentes apresentaram prognóstico desfavorável, enquanto 41 (47,1%) evoluíram de forma favorável.

As frequências genotípicas dos SNPs rs1927907, rs1927911, rs1927914, rs2149356 e rs2737190 estão descritas na **TABELA 2**.

TABELA 2 - As frequências genotípicas

SNPS	n válido	Genotipagem	n	%
rs1927907	86	AA	2	2,3%
		AG	12	14,0%
		GG	72	83,7%
rs1927907	86	AG+GG	84	97,7%
		AA (dominante)	2	2,3%
rs1927911	86	CC	42	48,8%
		CT	37	43,0%
		TT	7	8,1%
rs1927911	86	CT+TT	44	51,2%
		CC (dominante)	42	48,8%
rs1927914	87	AA	9	10,3%
		AG	44	50,6%
		GG	34	39,1%
rs1927914	87	AG+GG	78	89,7%
		AA (dominante)	9	10,3%
rs2149356	74	GG	8	10,8%
		GT	37	50,0%
		TT	29	39,2%
rs2149356	74	GT+TT	66	89,2%
		GG (dominante)	8	10,8%
rs2737190	83	AA	9	10,8%
		AG	42	50,6%
		GG	32	38,6%
rs2737190	83	AG+GG	74	89,2%
		AA (dominante)	9	10,8%

Fatores Associados ao Desfecho

Na análise univariada, o tempo extra-alveolar inferior a 1 hora associou-se a maior chance de prognóstico favorável (OR = 2,93; IC95%: 1,22–7,01; p = 0,016). Da mesma

forma, o uso de meio de armazenamento adequado, conforme as diretrizes da IADT, esteve relacionado a melhores resultados (OR = 2,50; IC95%: 1,02–6,16; p = 0,046) (TABELA 3). As demais variáveis clínicas não apresentaram associação significativa com o desfecho.

Na tabela abaixo são apresentadas estatísticas descritivas das variáveis de acordo com o desfecho, os valores de p dos testes estatísticos e os valores estimados da medida de associação odds ratio (OR) com respectivos intervalos de confiança de 95%.

TABELA 3 - Análise univariada de fatores associados ao desfecho

Variável	Classificação	Total	Desfecho		p*	OR (IC95%)
			Prognóstico desfavorável	Prognóstico favorável		
			n (%)	n (%)		
Idade (anos)	Média ± dp (min-max)	87	13,6 ± 9,2 (4,6-50,5)	15,8 ± 9,8 (5,9-47,4)	0,290	1,03 (0,98 - 1,07)
Sexo	Masculino (referência)	58	32 (55,2%)	26 (44,8%)	0,544	1,32 (0,54 - 3,22)
	Feminino	29	14 (48,3%)	15 (51,7%)		
Etiologia	2-Queda	39	22 (56,4%)	17 (43,6%)	-	
	3-Batida	17	9 (52,9%)	8 (47,1%)		
	1-Bicicleta	19	10 (52,6%)	9 (47,4%)		
	5-Auto	6	3 (50,0%)	3 (50,0%)		
	4-Agressao	6	2 (33,3%)	4 (66,7%)		
Rizogenese	1-Completa (referência)	64	32 (50,0%)	32 (50,0%)	0,372	0,64 (0,24 - 1,70)
	2-Incompleta	23	14 (60,9%)	9 (39,1%)		
Tempo extra alveolar	+ 1 hora (referência)	46	30 (65,2%)	16 (34,8%)	0,016	2,93 (1,22 - 7,01)
	- 1 hora	41	16 (39,0%)	25 (61,0%)		
IADT p/ armazenamento	1-Não (referência)	33	22 (66,7%)	11 (33,3%)	0,046	2,50 (1,02 - 6,16)
	2-Sim	54	24 (44,4%)	30 (55,6%)		
Meio armazenamento	4 - Alvéolo	22	3 (16,6%)	18 (86,4%)	-	-
	8 - Gelo	3	1 (33,3%)	2 (66,7%)		
	2 - Leite	13	5 (38,5%)	8 (61,5%)		
	5 - Saliva	2	1 (50,0%)	1 (50,0%)		
	1 - Seco	36	28 (77,8%)	8 (22,2%)		
	3 - Soro	7	5 (71,4%)	2 (28,6%)		
rs1927907	GG	72	40 (55,6%)	32 (44,4%)	-	-
	AG	12	6 (50,0%)	6 (50,0%)		
	AA	2	0 (0%)	2 (100%)		
rs1927907	AG+GG (referência)	84	46 (54,8%)	38 (45,2%)	0,213**	-
	AA (dominante)	2	0 (0%)	2 (100%)		
rs1927911	TT (1) (referência)	7	5 (71,4%)	2 (28,6%)	0,338	2,37 (0,41 - 13,8)
	CT (2)	37	19 (51,4%)	18 (48,6%)		

	CC (3)	42	21 (50%)	21 (50,0%)	0,304	2,50 (0,44 - 14,4)
rs1927911 dominante CC	CT+TT (referência)	44	24 (54,5%)	20 (45,5%)		
	CC (dominante)	42	21 (50,0%)	21 (50,0%)	0,673	1,20 (0,51 - 2,80)
rs1927914	AA (1) (referência)	9	6 (66,7%)	3 (33,3%)		
	GG (2)	34	19 (55,9%)	15 (44,1%)	0,562	1,58 (0,34 - 7,38)
	AG (3)	44	21 (47,7%)	23 (52,3%)	0,308	2,19 (0,49 - 9,89)
rs1927914 dominante AA	AG+GG (referência)	78	40 (51,3%)	38 (48,7%)		
	AA (dominante)	9	6 (66,7%)	3 (33,3%)	0,387	0,53 (0,12 - 2,26)
rs2149356	GG (1) (referência)	8	5 (62,5%)	3 (37,5%)		
	TT (2)	29	17 (58,6%)	12 (41,4%)	0,843	1,18 (0,24 - 5,89)
	GT (3)	37	18 (48,6%)	19 (51,4%)	0,481	1,76 (0,37 - 8,46)
rs2149356 dominante GG	GT+TT	66	35 (53,0%)	31 (47,0%)		
	GG (dominante) (referência)	8	5 (62,5%)	3 (37,5%)	0,613	0,68 (0,15 - 3,07)
rs2737190	AA (1) (referência)	9	6 (66,7%)	3 (33,3%)		
	GG (2)	32	18 (56,3%)	14 (43,8%)	0,577	1,56 (0,33 - 7,34)
	AG (3)	42	20 (47,6%)	22 (52,4%)	0,307	2,20 (0,49 - 9,98)
rs2737190 dominante AA	GT+TT (referência)	74	38 (51,4%)	36 (48,6%)		
	GG (dominante)	9	6 (66,7%)	3 (33,3%)	0,391	0,53 (0,12 - 2,27)

Dp: desvio padrão; OR: odds ratio; IC95%: intervalo de confiança de 95%

*Modelo de Regressão Logística univariado e teste de Wald, $p < 0,05$

**Teste exato de Fisher, $p < 0,05$

Para avaliar a associação de cada tag SNP, considerado segundo o modelo dominante, com a probabilidade de prognóstico favorável, foram ajustados modelos de regressão logística multivariada individualmente para cada tag SNP, incluindo o tempo extra-alveolar e o tipo de meio de armazenamento como covariáveis. Dessa forma, estimou-se o efeito de cada SNP sobre o desfecho, ajustado para esses dois potenciais fatores de confusão.

Na tabela abaixo são apresentados os resultados obtidos. Não foi possível avaliar adequadamente o SNP rs1927907 no modelo dominante, devido à baixa frequência genotípica (apenas dois casos, ambos com prognóstico favorável).

TABELA 4 – Análise multivariada de cada gene ajustado para tempo extra alveolar e IADT p/ armazenamento

SNPs	Alelos	Total	Desfecho	p*	
------	--------	-------	----------	----	--

			Prognóstico desfavorável	Prognóstico Favorável		OR (IC95%)
			n (%)	n (%)		
rs1927911 dominante CC	CT+TT	44	24 (54,5%)	20 (45,5%)		
	CC (dominante)	42	21 (50,0%)	21 (50,0%)	0,585	1,28 (0,53 – 3,09)
rs1927914 dominante AA	AG+GG	78	40 (51,3%)	38 (48,7%)		
	AA (dominante)	9	6 (66,7%)	3 (33,3%)	0,494	0,59 (0,13 – 2,67)
rs2149356 dominante GG	GT+TT	66	35 (53,0%)	31 (47,0%)		
	GG (dominante)	8	5 (62,5%)	3 (37,5%)	0,718	0,75 (0,15 – 3,63)
rs2737190 dominante AA	GT+TT	74	38 (51,4%)	36 (48,6%)		
	GG (dominante)	9	6 (66,7%)	3 (33,3%)	0,535	0,62 (0,14 – 2,82)

Dp: desvio padrão; OR: odds ratio; IC95%: intervalo de confiança de 95%

*Modelo de Regressão Logística multivariado e teste de Wald, $p < 0,05$; ajustado para tempo extra alveolar e IADT p/ armazenamento

**Teste exato de Fisher, $p < 0,05$

Nenhum dos SNPs avaliados demonstrou associação estatisticamente significativa com o prognóstico, tanto na análise univariada (**TABELA 3**) quanto na multivariada (**TABELA 4**) ajustada para tempo extra-alveolar e meio de armazenamento. O polimorfismo rs1927907 não pôde ser adequadamente avaliado em modelo dominante devido à baixa frequência do genótipo AA.

5. DISCUSSÃO

Observou-se que um tempo extra-alveolar inferior a 1 hora aumentou em quase três vezes a chance de sucesso do reimplante (OR = 2,93; IC95%: 1,22–7,01; $p = 0,016$), enquanto o armazenamento em meio adequado, conforme as recomendações da IADT, elevou essa chance em 2,5 vezes (OR = 2,50; IC95%: 1,02–6,16; $p = 0,046$). Esses achados reforçam a importância de intervenções rápidas e adequadas na fase inicial do manejo do dente avulsionado e corroboram as diretrizes clínicas atuais (1).

A influência dessas variáveis clínicas sobre o prognóstico está diretamente relacionada à preservação das células do ligamento periodontal, cuja viabilidade exerce papel determinante no processo de reparo após o reimplante. De acordo com as diretrizes da IADT, dentes reimplantados em até 15 minutos apresentam maior probabilidade de manutenção da viabilidade dessas células, o que favorece o reparo funcional e reduz o risco de reabsorção radicular. Em contrapartida, tempos extra-alveolares superiores a 60 minutos, especialmente quando o dente é mantido em meio seco, estão associados à necrose celular quase total. A perda dessa viabilidade promove a exposição de estruturas radiculares mineralizadas e intensifica a resposta inflamatória local, criando um ambiente propício ao desenvolvimento de reabsorções radiculares externas, tanto inflamatórias quanto substitutivas, e comprometendo o prognóstico (1,2,5).

Os resultados do presente estudo também podem ser interpretados à luz de evidências recentes que destacam o papel central das células do ligamento periodontal na modulação da resposta inflamatória pós-avulsão. Modelos experimentais demonstram que essas células, quando viáveis, mas expostas a um microambiente inflamatório, passam a estimular, por contato celular direto, a diferenciação de células

fagocíticas em clastos. Dessa forma, a associação observada entre menor tempo extra-alveolar, armazenamento adequado e maior taxa de sucesso do reimplante pode ser explicada pela preservação da viabilidade celular e pela contenção de uma resposta inflamatória exacerbada, mecanismo central para a ocorrência de sequelas nos tecidos de suporte (9).

Além da viabilidade celular, mediadores inflamatórios liberados após o trauma podem exercer papel relevante na modulação do reparo periodontal. Evidências experimentais demonstraram que a prostaglandina E2 (PGE2) apresenta aumento transitório no microambiente do ligamento periodontal após o reimplante dentário, atuando diretamente na proliferação e na sobrevivência de células-tronco desse tecido. Em modelo experimental, observou-se aumento da expressão de COX-2 e elevação temporária dos níveis de PGE2 nos tecidos periodontais após o reimplante, seguidos pela ativação do receptor EP4 e pela estimulação da via Wnt/ β -catenina, promovendo a proliferação celular e favorecendo o reparo do ligamento periodontal (35). Esses achados sugerem que os mediadores liberados precocemente após o trauma podem participar não apenas da resposta inflamatória inicial, mas também dos mecanismos regenerativos envolvidos na recuperação dos tecidos periodontais.

Nesse contexto, a participação do TLR4 decorre de sua capacidade de reconhecer tanto sinais endógenos de dano tecidual (DAMPs) quanto componentes microbianos (PAMPs), como o lipopolissacarídeo de bactérias Gram-negativas (20,21). Sua ativação desencadeia uma cascata de sinalização que culmina na produção de citocinas pró-inflamatórias e na modulação da atividade clástica, eventos fundamentais para o equilíbrio entre a reabsorção e o reparo dos tecidos duros (22,23). Além disso, a interação entre RANK e RANKL contribui para a progressão da resposta inflamatória local, podendo favorecer sua persistência e a progressão da reabsorção radicular externa

(9). Estudos recentes também demonstraram que os receptores Toll-like são amplamente expressos em células do ligamento periodontal e em células-tronco da papila apical, nas quais desempenham papel importante na modulação da resposta inflamatória diante de estímulos infecciosos ou traumáticos (19, 30).

Outro fator classicamente associado ao prognóstico de dentes avulsionados é o estágio de desenvolvimento radicular no momento do trauma. No presente estudo, entretanto, não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre dentes com rizogênese completa e incompleta em relação aos desfechos avaliados. Esse resultado pode ser explicado pelo fato de o sucesso do reimplante depender predominantemente da viabilidade das células do ligamento periodontal e das condições clínicas imediatamente posteriores à avulsão, especialmente o tempo extra-alveolar e o meio de armazenamento. Assim, embora a presença de ápice aberto represente uma condição biologicamente favorável, seu efeito pode ser modulado pela influência de outros fatores clínicos determinantes, o que reforça o caráter multifatorial do prognóstico nos casos de avulsão dentária (1,4,5,7,29).

Além dos fatores clínicos, a variabilidade observada entre pacientes submetidos a condições semelhantes sugere a influência de características intrínsecas do hospedeiro, incluindo predisposições genéticas capazes de modular a resposta imuno-inflamatória ao trauma dentário (10,22,24). Nesse cenário, os polimorfismos no gene TLR4 despontam como potenciais moduladores dessa resposta e, consequentemente, do desfecho clínico após o reimplante. Entre as variantes descritas nesse gene, o polimorfismo rs2149356 tem recebido atenção crescente por seu possível papel na modulação da expressão do receptor e da intensidade da resposta inflamatória. Estudos clínicos recentes demonstraram que indivíduos portadores do genótipo TT dessa variante podem apresentar maior carga inflamatória periodontal e maior gravidade da

doença periodontal, o que sugere uma possível interação entre fatores genéticos, microbiológicos e ambientais na modulação da inflamação local e sistêmica (34).

Apesar dessa plausibilidade biológica, nem a análise univariada nem os modelos multivariados ajustados para tempo extra-alveolar e meio de armazenamento identificaram associação estatisticamente significativa entre os polimorfismos analisados (rs1927907, rs1927911, rs1927914, rs2149356 e rs2737190) e a evolução clínica dos dentes reimplantados. Todos os SNPs apresentaram $p > 0,05$ e odds ratios próximas de 1. Esses resultados indicam que, na população estudada, tais variantes genéticas não exerceram impacto clinicamente relevante sobre o prognóstico dos dentes avulsionados e reimplantados.

A ausência de significância estatística pode refletir o tamanho amostral limitado ($n = 87$), a baixa frequência de determinados genótipos — como o AA do rs1927907, presente em apenas 2,3% da amostra — ou, ainda, o peso relativo de variáveis clínicas que possivelmente se sobrepõem aos efeitos genéticos isolados. Em um cenário de agressão tecidual intensa, como o da avulsão dentária, é possível que o efeito individual de variantes do TLR4 seja superado pela forte influência das condições clínicas imediatas.

Adicionalmente, deve-se considerar que a reabsorção radicular externa resulta de uma rede biológica complexa, na qual a ativação do TLR4 representa apenas um dos componentes da resposta inflamatória. Esse processo compartilha diversos mediadores moleculares com outras condições inflamatórias da cavidade oral, especialmente a doença periodontal. Citocinas pró-inflamatórias, como a interleucina-1 β (IL-1 β), a interleucina-6 (IL-6) e o fator de necrose tumoral alfa (TNF- α), bem como os mediadores da via RANK/RANKL/OPG, desempenham papel central na modulação da atividade clástica e na remodelação dos tecidos mineralizados. Produzidos por

diferentes células do periodonto, incluindo células do ligamento periodontal e do sistema imune, esses mediadores são capazes de amplificar a resposta inflamatória local e estimular a diferenciação dos clastos (10,13,27,31).

Embora compartilhem vias moleculares semelhantes, a natureza da resposta inflamatória na avulsão dentária difere substancialmente daquela observada na doença periodontal. A periodontite caracteriza-se por um processo inflamatório crônico e persistente, associado à exposição contínua ao biofilme bacteriano e à modulação prolongada da resposta imune do hospedeiro. A avulsão dentária, por sua vez, representa um evento traumático agudo, no qual a resposta inflamatória inicial é desencadeada principalmente pelo dano tecidual e pela liberação de sinais endógenos de perigo (DAMPs). Nesse contexto, a intensidade e a duração da resposta inflamatória após o reimplante tendem a ser fortemente influenciadas por fatores clínicos imediatos, como a viabilidade das células do ligamento periodontal e o controle da contaminação microbiana. Essa diferença pode explicar a participação distinta dos mediadores imunológicos em comparação com os processos inflamatórios crônicos do periodonto (8,13,27,31).

De fato, já foi demonstrado que polimorfismos do gene TLR4 estão associados a maior suscetibilidade a doenças inflamatórias crônicas, como a periodontite, nas quais há exposição contínua a estímulos microbianos e modulação persistente da resposta imune do hospedeiro (25). De maneira semelhante, investigações sobre condições inflamatórias sistêmicas indicam que variantes do TLR4 podem influenciar a intensidade da resposta inflamatória, embora esse efeito seja frequentemente dependente do contexto clínico e da interação com outros mediadores imunológicos (26).

Além disso, a diferenciação e a ativação das células clásticas responsáveis pela reabsorção são reguladas predominantemente pelo eixo RANK/RANKL/OPG,

considerado central na odontoclastogênese (27). A liberação de citocinas pró-inflamatórias após o trauma estimula a expressão de RANKL e a ativação de vias intracelulares, como NF- κ B e MAPKs, culminando na atividade reabsortiva. Nesse contexto, é plausível que variantes isoladas do TLR4 não exerçam influência independente suficiente para modificar significativamente o desfecho clínico, uma vez que o processo depende da interação entre múltiplos genes e fatores ambientais locais.

Evidências experimentais recentes reforçam essa interpretação ao demonstrarem que a ativação do TLR4 desencadeia a via de sinalização do NF- κ B, considerada uma das principais reguladoras da expressão de mediadores pró-inflamatórios. Estudos em modelos experimentais de inflamação periapical demonstraram aumento significativo da expressão de TLR4, NF- κ B e citocinas pró-inflamatórias, como IL-6 e TNF- α , indicando que a ativação desse eixo molecular desempenha papel central na amplificação da resposta inflamatória tecidual e na modulação da atividade clástica em tecidos mineralizados (27,32). Esses achados também sugerem que a magnitude da ativação dessa via está diretamente relacionada à intensidade do estímulo inflamatório local. Assim, em cenários clínicos caracterizados por agressão tecidual aguda e intensa, como a avulsão dentária seguida de reimplante, é plausível que fatores ambientais e clínicos imediatos exerçam influência mais determinante sobre a evolução dos tecidos periodontais do que variantes genéticas isoladas. Isso pode contribuir para explicar a ausência de associação significativa entre os polimorfismos do TLR4 e os desfechos clínicos avaliados no presente estudo.

Entre as limitações do estudo, destacam-se a ausência de exames tomográficos em todos os casos, que pode ter levado à subestimação da detecção de reabsorções radiculares externas, e o tamanho amostral restrito pela inexistência de um centro de referência em trauma dentário na região, o que reduziu o poder estatístico das análises.

O período de acompanhamento clínico de apenas um ano também representa uma limitação, considerando que reabsorções tardias podem manifestar-se após intervalos mais prolongados (1,4,5,28). Essas limitações devem ser consideradas na interpretação dos resultados e reforçam a necessidade de estudos futuros com amostras maiores, seguimento prolongado e abordagens integrativas.

Ainda assim, o presente estudo contribui para a compreensão dos mecanismos biológicos envolvidos na evolução de dentes avulsionados e reimplantados. Mesmo na ausência de associação estatisticamente significativa entre os polimorfismos do TLR4 avaliados e os desfechos clínicos, os achados reforçam a natureza multifatorial da reabsorção radicular externa, na qual os fatores clínicos — particularmente o tempo extra-alveolar e o meio de armazenamento — permanecem como os principais determinantes do prognóstico. Ao mesmo tempo, a literatura recente sustenta a plausibilidade biológica da participação do TLR4 na modulação da resposta inflamatória, uma vez que esse receptor reconhece PAMPs e DAMPs e desencadeia vias centrais de sinalização, como MyD88, TRIF, NF- κ B e MAPKs, relacionadas à produção de citocinas pró-inflamatórias e à regulação da resposta tecidual (33). De forma complementar, evidências experimentais indicam que mediadores inflamatórios precoces, como a PGE2, também podem exercer papel regulador no reparo periodontal após o reimplante, favorecendo a proliferação de células-tronco do ligamento periodontal e a regeneração tecidual quando presentes de maneira transitória e controlada (35).

Dessa forma, os achados do presente estudo reforçam que a evolução dos dentes avulsionados e reimplantados resulta da interação dinâmica entre fatores clínicos, ambientais e biológicos do hospedeiro. Embora, nesta amostra, as variantes genéticas avaliadas não tenham demonstrado influência independente sobre o prognóstico,

estudos recentes sugerem que determinados polimorfismos do TLR4, como o rs2149356, podem modular a intensidade da resposta inflamatória em outros contextos, o que sustenta a continuidade da investigação dessa via nos traumatismos dentários (34). Estudos futuros com amostras maiores, seguimento prolongado e integração de dados clínicos, genéticos e moleculares poderão contribuir para uma compreensão mais abrangente da resposta do hospedeiro após a avulsão dentária, permitindo, futuramente, aprimorar a estratificação de risco e desenvolver abordagens terapêuticas mais individualizadas para o manejo de dentes traumatizados.

6. CONCLUSÃO

Os polimorfismos do gene *TLR4* avaliados neste estudo (rs1927907, rs1927911, rs1927914, rs2149356 e rs2737190) não demonstraram associação com os desfechos clínicos e radiográficos de dentes avulsionados e reimplantados após um ano de acompanhamento. Na população estudada, essas variantes genéticas não exerceram impacto clinicamente relevante na evolução dos dentes reimplantados.

Em contrapartida, fatores clínicos clássicos, especialmente o tempo extra-alveolar inferior a uma hora e o uso de meio de armazenamento adequado conforme as diretrizes da IADT, mantiveram-se como determinantes prognósticos fundamentais para o sucesso do reimplante dentário.

7. REFERÊNCIAS

1. Fouad AF, Abbott PV, Tsilingaridis G, Cohenca N, Lauridsen E, Bourguignon C, et al. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: 2. Avulsion of permanent teeth. **Dent Traumatol.** 2020 Aug;36(4):331-342. doi:10.1111/edt.12573.
2. Levin L, Day PF, Hicks L, O'Connell A, Fouad AF, Bourguignon C, Abbott PV. International Association of Dental Traumatology guidelines for the management of traumatic dental injuries: general introduction. **Dent Traumatol.** 2020 Aug;36(4):309-313. doi:10.1111/edt.12574.
3. Glendor U. Epidemiology of traumatic dental injuries--a 12 year review of the literature. **Dent Traumatol.** 2008 Dec;24(6):603-611. doi:10.1111/j.1600-9657.2008.00696.x.
4. Coste SC, Fernandes e Silva E, Santos LCM, Ferreira DAB, Côrtes MIS, Colosimo EA, et al. Survival of replanted permanent teeth after traumatic avulsion. **J Endod.** 2020;46(3):370-375. doi:10.1016/j.joen.2019.11.013
5. Andersson L, Andreasen JO, Day P, Heithersay G, Trope M, DiAngelis AJ, et al. Guidelines for the management of traumatic dental injuries: Avulsion of permanent teeth. **Dent Traumatol.** 2012;28(2):88-96.
6. Day PF, Duggal M, Nazzal H. Interventions for treating traumatised permanent front teeth: Avulsed (knocked out) and replanted. **Cochrane Database Syst Rev.** 2019;2:CD006542.
7. Trope M. Clinical management of the avulsed tooth: present strategies and future directions. **Dent Traumatol.** 2002;18(1):1-11.
8. Lin S, Moreinos D, Mavridou AM, Novak R, Rotstein I, Abbott PV. The role of infection in signalling root resorption: a narrative review. **Int Endod J.** 2024 Dec;57(12):1727-1744. doi:10.1111/iej.14132.

9. Revana Siddappa RH, Kishen A. Cellular crosstalk between periodontal ligament fibroblasts and macrophages: insights from 2D and 3D culture systems in external inflammatory root resorption. **J Endod.** 2025 Dec;51(12):1702-1718. doi:10.1016/j.joen.2025.07.021.
10. Roskamp L, Souza CM, Ignácio SA, Perin CP, Mattos NHR, Sunye IR, et al. Influence of clinical factors, IL4 and IL6 genes polymorphisms in functional healing in late replantation. **Braz Dent J.** 2022 Jan-Feb;33(1):13-21. doi:10.1590/0103-6440202204683.
11. Kang Y, Su G, Sun J, Zhang Y. Activation of the TLR4/MyD88 signaling pathway contributes to the development of human hepatocellular carcinoma via upregulation of IL-23 and IL-17A. **Oncol Lett.** 2018 Jun;15(6):9647-9654. doi:10.3892/ol.2018.8586.
12. Armada L, Marotta P dos S, Pires FR, Siqueira JF Jr. 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.** 2015;41(8):1281-1287.
13. Cavalla F, Araujo-Pires AC, Bigueti CC, Garlet GP. Cytokine networks regulating inflammation and immune defense in the oral cavity. **Curr Oral Health Rep.** 2014;1(2):104-113.
14. Xie X, Ma S, Li C, Liu P, Wang H, Chen L, et al. Expression of small integrin-binding ligand N-linked glycoproteins in the reparative dentin of rat molars. **Dent Traumatol.** 2014;30(4):285-295.
15. Little J, Higgins JP, Ioannidis JP, Moher D, Gagnon F, von Elm E, et al. Strengthening the reporting of genetic association studies (STREGA): an

- extension of the STROBE statement. **Genet Epidemiol.** 2009 Nov;33(7):581-598. doi:10.1002/gepi.20410.
16. Parra FC, Amado RC, Lambertucci JR, Rocha J, Antunes CM, Pena SD. Color and genomic ancestry in Brazilians. **Proc Natl Acad Sci U S A.** 2003 Jan 7;100(1):177-182. doi:10.1073/pnas.0126614100.
 17. Aidar M, Line SRP. A simple and cost-effective protocol for DNA isolation from buccal epithelial cells. **Braz Dent J.** 2007;18:148-152.
 18. Chelala C, Khan A, Lemoine NR. SNPnexus: a web database for functional annotation of newly discovered and public domain single nucleotide polymorphisms. **Bioinformatics.** 2009;25(5):655-661
 19. Thorisson GA, Smith AV, Krishnan L, Stein LD. The International HapMap Project Web site. **Genome Res.** 2005 Nov;15(11):1592-1593.
 20. Rôças IN, Siqueira JF Jr, Del Aguila CA, Provenzano JC, Guilherme BP, Gonçalves LS. Polymorphism of the CD14 and TLR4 genes and post-treatment apical periodontitis. **J Endod.** 2014 Feb;40(2):168-172. doi:10.1016/j.joen.2013.10.006.
 21. Liu Z, He Y, Xu C, Li J, Zeng S, Yang X, et al. The role of PHF8 and TLR4 in osteogenic differentiation of periodontal ligament cells in inflammatory environment. **J Periodontol.** 2021 Jul;92(7):1049-1059. doi:10.1002/JPER.20-0285.
 22. Qi W, Yang X, Ye N, Li S, Han Q, Huang J, et al. TLR4 gene in the regulation of periodontitis and its molecular mechanism. **Exp Ther Med.** 2019 Sep;18(3):1961-1966. doi:10.3892/etm.2019.7809.

23. Zhang C, Hou BX, Li YJ, Zhang M. Expression of lipopolysaccharides signal receptors CD14 and TLR4 in human dental pulp tissue and fibroblasts. **Zhonghua Kou Qiang Yi Xue Za Zhi**. 2006 Jun;41(6):360-363. Chinese.
24. Araujo-Pires AC, Francisconi CF, Bigueti CC, Cavalla F, Aranha AMF, Letra A, et al. Simultaneous analysis of T helper subsets markers expression in periapical lesions reveals multiple cytokine clusters accountable for lesions activity and inactivity status. **J Appl Oral Sci**. 2014;22(4):336-346.
25. Castro-Casarrubias R, Castro-Alarcón N, Reyes-Fernández S, Salazar-Hernández E, Vázquez-Villamar M and Romero-Castro NS (2025) Subgingival microbiota and genetic factors (A-2570G, A896G, and C1196T TLR4 polymorphisms) as periodontal disease determinants. *Front. Dent. Med.* 6:1576429. doi: 10.3389/fdmed.2025.1576429
26. Mu J, Shen Y, Zhu F, Zhang Q. Association of TLR4 polymorphisms (Asp299Gly and Thr399Ile) with sepsis: a meta-analysis and trial sequence analysis. *APMIS*. 2024 Nov;132(11):869-880. doi: 10.1111/apm.13463. Epub 2024 Sep 2. PMID: 39222487.
27. Rostami G, Hadagalu Revana Siddappa R, Kishen A. Signaling Pathways in Root Resorption: Linking Inflammation, Odontoclastogenesis, and Tissue Remodeling. *J Endod*. 2026 Jan;52(1):47-61. doi: 10.1016/j.joen.2025.08.018. Epub 2025 Aug 28. PMID: 40885489.
28. Roskamp L, Perin CP, de Castro JP, Mattos NHR, Campos MCBP, Gabardo MCL, et al. Retrospective analysis of survival of avulsed and replanted permanent teeth according to 2012 or 2020 IADT guidelines. **Braz Dent J**. 2023;34(2):122-128. doi:10.1590/0103-6440202305255.

29. Andreasen JO, Andreasen FM. Avulsions. In: Andreasen JO, Andreasen FM, Andersson L, editors. **Textbook and color atlas of traumatic injuries to the teeth**. Oxford: Wiley-Blackwell; 2019. p. 486-520.
30. Takimoto K, Widbiller M, Diogenes A. Expression of Toll-like receptors in stem cells of the apical papilla and its implication for regenerative endodontics. **Cells**. 2023 Oct 21;12(20):2502. doi:10.3390/cells12202502.
31. Dixon DR, Bainbridge BW, Darveau RP. Modulation of the innate immune response within the periodontium. **Periodontol 2000**. 2004;35:53-74.
32. Pinto KP, da Cunha Degani I, de Souza JB, Neves RH, Brandão-Bezerra L, Sassone LM, da Silva EJNL. Multiple Periapical Lesions Influence the Expression of TLR4/NF- κ B Pathway Components and the Development of Hepatic Injuries in Healthy and Chronic Alcohol-Consuming Rats. *Int Endod J*. 2026 Jan 21. doi: 10.1111/iej.70104. Epub ahead of print. PMID: 41566139.
33. Stierschneider A, Wiesner C. Shedding light on the molecular and regulatory mechanisms of TLR4 signaling in endothelial cells under physiological and inflamed conditions. *Front Immunol*. 2023 Nov 24;14:1264889. doi: 10.3389/fimmu.2023.1264889. PMID: 38077393; PMCID: PMC10704247.
34. Abou-Bakr A, Hassanein FEA, Nagi N, Ibrahim M, Mekhemar M. TLR4 rs2149356 Polymorphism in Periodontitis and End-Stage Renal Disease: An Exploratory Analysis in Egyptian Patients. *Cells*. 2025 Sep 11;14(18):1421. doi: 10.3390/cells14181421. PMID: 41002387; PMCID: PMC12468950.
35. Zhang Y, Wu W, Sun J, Chen X, Zhang J, Chen Z. PGE2 Regulates Periodontal Ligament Repair after Tooth Replantation. *J Dent Res*. 2026 Feb 11:220345251407594. doi: 10.1177/00220345251407594. Epub ahead of print. PMID: 41673410.

8. APÊNDICE

PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.



PONTIFÍCIA UNIVERSIDADE CATÓLICA DO PARANÁ
Núcleo de Bioética
Comitê de Ética em Pesquisa
Ciência com Consciência

PARECER CONSUBSTANCIADO DE PROTOCOLO DE PESQUISA

Parecer Nº **0004360/10**

Protocolo CEP Nº **5707**

Título do projeto **Análise da associação de polimorfismos em genes da resposta imuno-inflamatória do hospedeiro em dentes traumatizados**

Grupo **III**
Versão **003**

Protocolo CONEP **0232.0.084.000-10**

Pesquisador responsável **VÂNIA DITZEL WESTPHALEN**

Instituição **Outros (na PUCPR)**

Objetivos

OBJETIVO(S) GERAL(ES)

O objetivo do presente trabalho é investigar a associação entre polimorfismos em genes da resposta imuno-inflamatória do hospedeiro e a reabsorção em dentes traumatizados.

OBJETIVO(S) ESPECÍFICO(S)

O objetivo do presente trabalho é investigar a associação entre polimorfismos em genes da resposta imuno-inflamatória do hospedeiro e a reabsorção radicular e periapical em dentes traumatizados.

Comentários e considerações

TIPO DE ESTUDO

Seleção da amostra

A amostra consistirá de 50 pacientes, de ambos os sexos, de todas as idades, atendidos na Clínica do Trauma, do Curso de Odontologia da PUCPR, em virtude de trauma dentário, a partir da aprovação deste CEP, pelo período aproximado de dois anos (estimado entre 2010 e 2012).

CRITÉRIOS E INCLUSÃO E EXCLUSÃO

1. todos os pacientes, de ambos os sexos, atendidos na Clínica do Trauma, do Curso de Odontologia da PUCPR, em virtude de trauma dentário.
2. pacientes que possam ser controlados clínica e radiograficamente por no mínimo 1 ano.
3. pacientes que não façam uso de medicação de uso contínuo.
4. pacientes com boa higiene bucal.

INSTRUMENTOS E METODOLOGIA

Obtenção de DNA

O DNA será obtido a partir de células epiteliais da mucosa bucal, por um bochecho com solução de glicose a 3%, por 1 min, e leve raspagem da mucosa jugal com espátula de madeira esterilizada. O DNA será purificado com acetato de amônio a 10 M e EDTA a 1 mM (Aidar & Line 2007).

Termo de consentimento livre e esclarecido e/ou Termo de compromisso para uso de dados.

Presente claro, objetivo e de acordo com as recomendações para as diferentes faixas etárias.

Conclusões

Aprovado

Devido ao exposto, o Comitê de Ética em Pesquisa da PUCPR, de acordo com as exigências das Resoluções Nacionais 196/96 e demais relacionadas a pesquisas envolvendo seres humanos, em reunião realizada no dia: **13/10/2010**, manifesta-se por considerar o projeto **Aprovado**.

Situação Aprovado

Lembramos aos senhores pesquisadores que, no cumprimento da Resolução 196/96, o Comitê de Ética em Pesquisa (CEP) deverá receber relatórios anuais sobre o andamento do estudo, bem como a qualquer tempo e a critério do pesquisador nos casos de relevância, além do envio dos relatos de eventos adversos, para conhecimento deste Comitê. Salientamos ainda, a necessidade de relatório completo ao final do estudo. Eventuais modificações ou emendas ao protocolo devem ser apresentadas ao CEP-PUCPR de forma clara e sucinta, identificando a parte do protocolo a ser modificado e as suas justificativas.

Se a pesquisa, ou parte dela for realizada em outras instituições, cabe ao pesquisador não iniciá-la antes de receber a autorização formal para a sua realização. O documento que autoriza o início da pesquisa deve ser carimbado e assinado pelo responsável da instituição e deve ser mantido em poder do pesquisador responsável, podendo ser requerido por este CEP em qualquer tempo.

Curitiba, 13 de Outubro de 2010.

Prof. MSc. **Naim Akel Filho**
Coordenador do Comitê de Ética em Pesquisa
PUC PR



