



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

BIOLOGIA DA REGENERAÇÃO PERIODONTAL

Trabalho submetido por
Maria Teresa de Oliveira Moreira
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

junho de 2017



**INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
EGAS MONIZ**

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

BIOLOGIA DA REGENERAÇÃO PERIODONTAL

Trabalho submetido por
Maria Teresa de Oliveira Moreira
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Dr. Francisco Proença

junho de 2017

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, o Dr. Francisco Proença, que fez justiça à palavra. Agradeço toda a ajuda, iluminação e sobretudo sinceridade.

Aos meus pais, pela educação e princípios que me transmitiram, pelas oportunidades que me deram, pela estabilidade que me proporcionaram. Sem eles o meu percurso não teria sido possível.

À minha irmã que, cuja atitude positiva perante a vida, tornou este processo mais fácil.

Aos meus amigos, aos que me acompanham desde que me lembro e aos que passaram a acompanhar. Um obrigado por serem as pessoas fantásticas que são e por gostarem da pessoa que eu sou.

A todos os que tornaram o processo de realização deste projeto final de curso possível, um grande e sincero obrigado.

RESUMO

A presente revisão aborda conceitos e princípios relativos à regeneração periodontal. Existem muitos procedimentos aplicados na prática clínica atual com o intuito de restituir a forma e a função dos tecidos perdidos através da doença periodontal. Como tal, há que perceber como é fundamentada, em termos biológicos, a utilização destes procedimentos, quais as suas limitações e qual a direção que os estudos realizados na área da regeneração periodontal estão a tomar.

Deste modo, foi feita uma pesquisa bibliográfica, utilizando o motor de busca Medline/Pubmed, inserindo as seguintes palavras-chave: “Periodontal Regeneration”, “Periodontal Development”, “Periodontal Biology”, “Bone Formation”, “Cementum Formation”, “Periodontal Ligament”, “Stem Cells”, “Periodontal Engineering”, “Tissue Engineering”, “Periodontal Wound Healing”.

Este trabalho foi realizado com o objetivo de perceber se as terapias regenerativas utilizadas na periodontologia atual estão de acordo com os mecanismos biológicos inerentes ao periodonto.

ABSTRACT

This review addresses concepts and principles related to periodontal regeneration. In current clinical practice, there are many procedures that can be applied to restore the form and the function of tissues lost through periodontal disease. As such, it is necessary to understand, biologically speaking, why these materials are used, their limitations and the course that the studies carried out in the field of periodontal regeneration are taking.

Thus, a bibliographic search was made using the Medline/Pubmed search engine, inserting the following keywords: “Periodontal Regeneration”, “Periodontal Development”, “Periodontal Biology”, “Bone Formation”, “Cementum Formation”, "Periodontal Ligament", "Stem Cells", "Periodontal Engeneerin", "Tissue Engeneering", "Periodontal Wound Healing".

This review was carried out in order to understand if the regenerative therapies used in the current periodontology are in agreement with the biological mechanisms inherent to the periodontium.

ÍNDICE GERAL

I. INTRODUÇÃO.....	9
II. DESENVOLVIMENTO.....	15
1. EMBRIOLOGIA DENTÁRIA, ANATOMIA E FORMAÇÃO DO PERIODONTO	15
1.1. DENTINOGENESE.....	17
1.2. CIMENTOGENESE	18
1.3. GÊNESE DO LIGAMENTO PERIODONTAL	19
1.4. OSTEOGENESE.....	21
2. BIOLOGIA DA REPARAÇÃO E DA REGENERAÇÃO PERIODONTAL	21
2.1. FATORES DE CRESCIMENTO E DIFERENCIAÇÃO	26
2.1.1. FATORES DE CRESCIMENTO DERIVADO DE PLAQUETAS	27
2.1.2. FATORES DE CRESCIMENTO INSULÍNICOS I E II.....	27
2.1.3. PROTEÍNAS ÓSSEAS MORFOGENÉTICAS.....	28
2.1.4. FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADOR BETA.....	29
2.1.5. FATOR DE CRESCIMENTO FIBROBLÁSTICO	29
2.2. MATRIZ EXTRACELULAR.....	30
2.3. PROTEÍNAS DA MATRIZ EXTRACELULAR E FATORES DE CONEXÃO.....	32
2.3.1. AMELOGENINAS	32
2.3.2. FIBRONECTINA.....	32
2.4. MEDIADORES DO METABOLISMO ÓSSEO	33
2.4.1. PROSTAGLANDINAS	33
2.4.2. GLUCOCORTICÓIDES.....	33
2.5. FORMAÇÃO DE NOVO CIMENTO	34
3. TERAPIAS REGENERATIVAS	35
3.1. ABORDAGENS CIRÚRGICAS.....	36
3.2. CONDICIONAMENTO RADICULAR	37
3.3. PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DE ESMALTE	38
3.4. ENXERTOS.....	38
3.5. REGENERAÇÃO TECIDULAR GUIADA	39
3.6. FATORES DE CRESCIMENTO.....	40
3.7. CÉLULAS ESTAMINAIS.....	41
3.8. ENGENHARIA TECIDULAR PERIODONTAL	42

3.8.1. CARATERÍSTICAS DO MATERIAL IDEAL.....	44
III. CONCLUSÃO.....	47
IV. BIBLIOGRAFIA.....	49

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - (A) Região de tecidos moles inflamados; (B) Reparação periodontal; (C) Regeneração periodontal. (Adaptado de Bartold & Sculean, 2009).....	10
Figura 2 - Imagem histológica microscópica ilustrativa da formação de um epitélio juncional longo (LJE) a terminar na porção coronal de cimento regenerado (C). Dentina (D). (Adaptado de Bosshard et al, 2015)	11
Figura 3 - Representação esquemática do desenvolvimento radicular. Dentina (D). Papila Dentária (DP). Esmalte (E). (Adaptado de Xiong et al, 2013)	16
Figura 4 - (A) Localização dos Restos Epiteliais de Malassez (setas) em dentes de ovelha descalcificados; (B) Restos Epiteliais de Malassez; Cimento (c); Ligamento periodontal (PDL) (Adaptado de Xiong et al, 2013)	19
Figura 5 - Imagem ilustrativa do ligamento periodontal (PL) e as suas fibras de colagénio que se estendem até ao cimento (C) e ao osso alveolar (AB). Dentina (D). (Adaptado de Bosshardt et al, 2015)	20
Figura 6 - Coloração com hematoxilina-eosina do ligamento periodonta (PL), cimento (CEM) e osso alveolar (AB). Vasos sanguíneos (BV)	20
Figura 7 - O papel das células estaminais na regeneração periodontal. As células das zonas paravasculares têm potencial para se diferenciar osteoblastos, fibroblastos e cimentoblastos. (Adaptado de Lin et al, 2008)	23
Figura 8- Representação esquemática da regeneração tecidual guiada. A membrana exclui os tecidos gengivais do local, fornecendo espaço para que se dê a migração das células do ligamento periodontal. (Adaptado de Lin et al, 2008)	39
Figura 9 - Origem das populações de células estaminais. Dependendo do local, da etapa de desenvolvimento e da cultura, podem ser classificadas como pluripotentes, multipotentes, totipotentes ou com poder pluripotente indutível. (Adaptado de Lin et al, 2008).....	41
Figura 10 - Representação esquemática da engenharia tecidual periodontal. Uma matriz obtida através da engenharia tecidual in vitro (esquerda) contendo as células necessárias e moléculas de sinalização, colocada no defeito periodontal (direita) para promover a regeneração (Adaptado de Lin et al, 2008).....	42

I. INTRODUÇÃO

A destruição dos tecidos periodontais é uma seqüela da doença periodontal e esta destruição pode ser exacerbada por diversos fatores como infecções, trauma, movimentos ortodônticos e doenças sistêmicas (Arzate et al., 2015; Bosshardt, 2005).

No processo de destruição periodontal existe uma inflamação da gengiva, o que leva a uma destruição das células do ligamento periodontal e uma migração apical do epitélio de união. O tratamento das seqüelas resultantes da doença periodontal é um desafio constante na periodontologia clínica (Arzate et al., 2015; Bartold et al., 2006).

Quando o dano causado aos tecidos está associado a gengivite, é reversível com a remoção do agente causal. Os tecidos gengivais têm a capacidade de voltar à sua forma e função iniciais após o processo inflamatório ter sido eliminado. Estes factos são comprovados pela não formação de tecido cicatricial e pela sua capacidade de formar uma nova inserção conjuntiva e epitelial com a superfície dentária e com estruturas adjacentes após os tratamentos periodontais (Nanci & Bosshardt, 2006).

Contudo, quando os processos destrutivos atingem o osso alveolar, como acontece na periodontite, a regeneração pode não ocorrer de forma previsível (Bartold et al., 2000; Nanci & Bosshardt, 2006).

A reconstrução do periodonto não implica apenas a regeneração tecidual. É necessário ter em conta que o osso alveolar, o cimento e o ligamento periodontal são tecidos especiais com características individuais muito diversificadas (Bartold et al., 2006).

Histologicamente, os diversos procedimentos cirúrgicos periodontais podem levar a diferentes padrões de cicatrização. Quando há uma agressão ao periodonto, a resposta tecidual pode ocorrer por reparação ou regeneração, sendo que cada um destes processos acarreta diferentes resultados (Polimeni et al., 2006; Bosshardt & Sculean, 2009).

O processo de regeneração é definido como a reprodução ou reconstrução de uma parte do corpo perdida ou ferida, em que a arquitetura e a função dos tecidos afetados é restaurada. O objetivo das terapias de regeneração periodontal é restaurar a estrutura e a função do periodonto, isto é, estrutura e função da gengiva, do osso alveolar, do cimento radicular e do ligamento periodontal. Dentro destes tecidos, a gengiva é o único considerado não odontogênico, mas sim uma adaptação da mucosa oral (Bartold et al., 2000b; Bosshardt & Sculean, 2009; Xiong et al., 2013).

Para que se verifique se há realmente regeneração dos tecidos periodontais, foram descritos critérios que devem estar presentes após a terapia aplicada. Bartold et al. (2000) descreveu quatro critérios:

- i. Reestabelecimento de um selamento epitelial funcional na porção mais coronal dos tecidos, sem que este ultrapasse os 2 mm de comprimento;
- ii. Inserção de novas fibras de tecido conjuntivo (Fibras de Sharpey) na superfície radicular previamente exposta de modo a reproduzir o ligamento periodontal e o complexo de fibras dento-gengivais;
- iii. Formação de novo cimento acelular na superfície radicular previamente exposta.
- iv. Restauração da altura do osso alveolar a 2 mm da junção amelo-cimentária.

A reparação periodontal, ao contrário da regeneração, implica cicatrização sem restauração dos mecanismos de suporte do dente e está muitas vezes associada à formação de um epitélio juncional longo, isto é, um epitélio mais fino que se estende apicalmente entre a superfície radicular e o tecido conjuntivo de inserção (Figura 1 e Figura 2) (Polimeni et al., 2006; Bosshardt & Sculean, 2009).

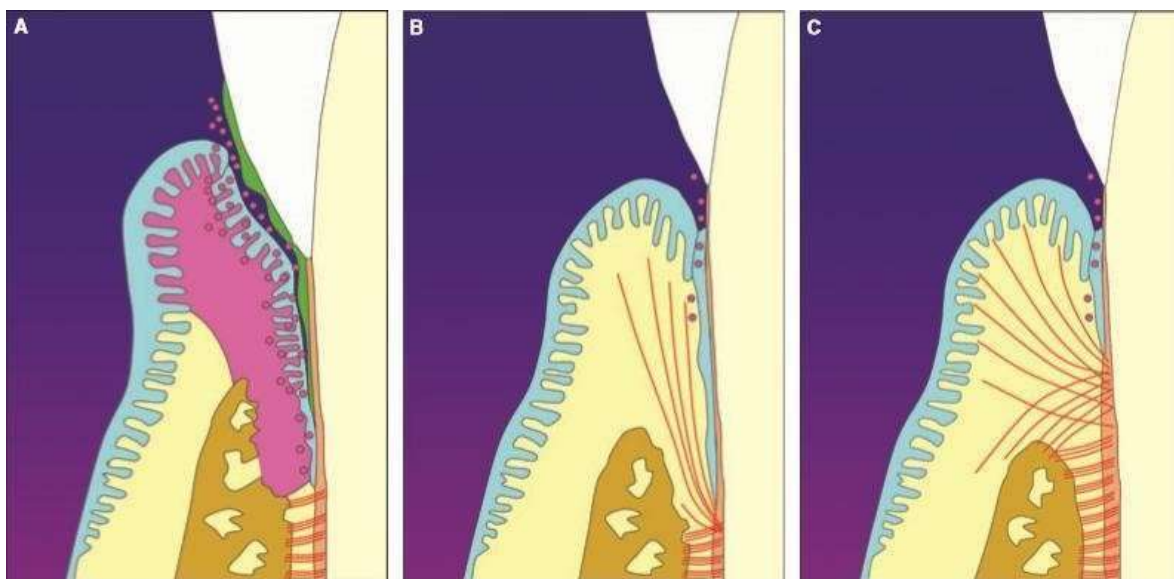


Figura 1 - (A) Região de tecidos moles inflamados; (B) Reparação periodontal; (C) Regeneração periodontal. (Adaptado de Bartold & Sculean, 2009)

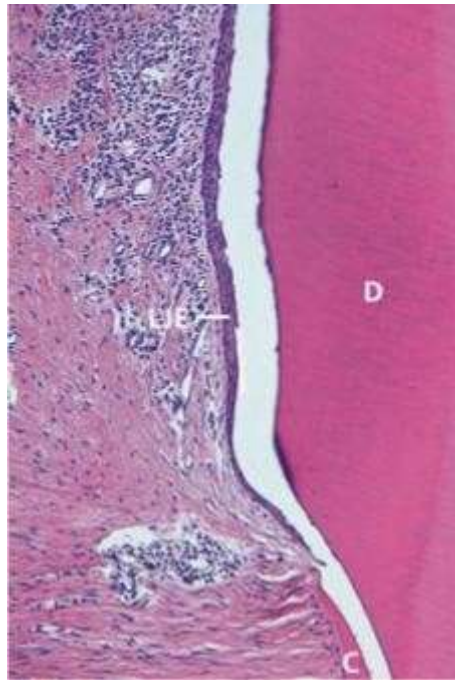


Figura 2 - Imagem histológica microscópica ilustrativa da formação de um epitélio juncional longo (LJE) a terminar na porção coronal de cimento regenerado (C). Dentina (D). (Adaptado de Bosshard et al, 2015)

Nos últimos 20 anos de investigação houve muitos avanços no conhecimento dos mecanismos celulares e moleculares envolvidos no processo de desenvolvimento periodontal. No entanto, as estratégias desenvolvidas para guiar e controlar a regeneração periodontal têm limitações. Os resultados não são previsíveis e a arquitetura periodontal original não é completamente reestabelecida (Arzate et al., 2015).

O pensamento atual sobre a biologia integrativa sugere que várias respostas celulares e tecidulares são reguladas por cadeias celulares que permitem a adaptação a uma imensa variedade de estímulos ambientais. Pelo que, um apropriado funcionamento das células e tecidos que asseguram a saúde dos organismos multicelulares está muito dependente da sua capacidade de fornecer respostas apropriadas a sinais originados no meio extracelular. Estes sinais incluem estímulos químicos e físicos provenientes de células e tecidos vizinhos (Bartold & McCulloch, 2013; Barrientos et al., 2014).

Contudo, a complexidade de muitos órgãos e tecidos, como o periodonto, impede a identificação de cadeias de resposta que possam ser estudadas de forma isolada e atualmente ainda não se percebe como as atividades biológicas das moléculas expressas no periodonto funcionam, isto é, como são reguladas no tempo e no espaço para manutenção da hemostase dos tecidos, como influenciam a resposta inflamatória e participam na regeneração tecidual (MacNeil & Somerman, 1999; Bartold & McCulloch, 2013).

Não obstante, o desenvolvimento, a hemostase, a patologia, a reparação e a regeneração do periodonto são resultado de interações coordenadas entre células que comunicam entre si. As moléculas expressas pelas células periodontais determinam não só a estrutura e a função do periodonto, mas também influenciam a forma como esses tecidos respondem às forças físicas, às infecções e à inflamação (Bartold & McCulloch, 2013; Bosshardt et al., 2015).

Durante a década de 1950 e até aos anos 60, a terapia cirúrgica ressetiva, com ou sem remodelação óssea, era considerada a norma, uma vez que a obtenção de bolsas menos profundas era o objetivo a alcançar. Contudo, mais recentemente, as atenções têm-se focado nas terapias de regeneração e reconstrução do periodonto (Bartold et al., 2000; Bartold et al., 2006).

Desde os anos 70, têm sido investigados inúmeros procedimentos com o objetivo de restaurar os tecidos periodontais perdidos e mais recentemente as atenções têm sido direcionadas para duas abordagens. Por um lado, temos a utilização de um material de preenchimento no defeito periodontal, ficando a aguardar a formação óssea, por outro estão a ser desenvolvidas técnicas para guiar os diferentes tipos celulares especializados do periodonto para que estas venham a participar no processo regenerativo, a engenharia tecidual (Bartold et al., 2000; Polimeni et al., 2006).

Atualmente, existem diversas técnicas de engenharia tecidual, podendo ser utilizadas diferentes estratégias. A que é mais frequentemente utilizada é a regeneração tecidual guiada (RTG) que consiste em aproveitar o potencial de renovação dos tecidos periodontais, estabelecendo um ambiente favorável à proliferação e diferenciação de células como os osteoblastos e os cimentoblastos, permitindo que estas formem uma matriz extra-celular (Ferraris & Muñoz, 2009).

O uso de enxertos autólogos é, também uma forma de induzir o desenvolvimento de novos tecidos periodontais, uma vez que o osso autólogo tem propriedades osteogénicas e a sua utilização tem demonstrado capacidade de reestabelecer os constituintes periodontais perdidos (Ferraris & Muñoz, 2009).

A utilização de fatores de crescimento e outras proteínas também pode servir como estímulo à formação de novos tecidos periodontais. Estes compostos podem ser utilizados de forma isolada ou em associação com outros procedimentos regenerativos (Ferraris & Muñoz, 2009).

As terapias regenerativas têm, geralmente, sido direcionadas para a produção de um tipo de tecido periodontal com base na hipótese de que regenerando um dos tecidos, a regeneração dos restantes vai ocorrer, conseqüentemente, de forma apropriada. O que não se tem verificado (Cochran & Wozney, 1999).

Deste modo, a combinação de diversas técnicas parece apresentar a melhor hipótese de obtenção de um resultado positivo. Através da combinação de diversos biomateriais transplantados, surgem novas técnicas e terapias com potencial clínico significativo. Deste modo deve ser combinada uma seleção celular apropriada a uma mistura de fatores reguladores e a componentes extracelulares da matriz (Bartold et al., 2006).

A engenharia tecidual é uma área em desenvolvimento e pesquisa biomédica que tem vindo a atrair a atenção tanto do setor privado como do público devido ao seu interesse, quer terapêutico quer económico (Bartold et al., 2006).

Tendo em conta o conhecimento atual nas áreas da biologia molecular e celular aplicadas ao desenvolvimento e regeneração periodontal há que colocar a hipótese de que a simples colocação de um material de preenchimento num defeito periodontal já não se revele adequado (Bartold et al., 2000; MacNeil & Somerman, 1999).

A relação entre os componentes do periodonto, bem como a capacidade regenerativa inerente a estes tecidos devem ser consideradas simultaneamente. O desenvolvimento do periodonto é um bom exemplo da interação celular, uma vez que é necessário que haja uma relação entre as células epiteliais e ectomesenquimais para que este processo ocorra. Este processo pode ocorrer por contacto direto entre células ou através do moléculas secretadas que se ligam a recetores expressos na membrana da célula alvo ou efetora. Para além da comunicação parácrina, temos também a regulação autócrina e endócrina, outras formas de regulação celular essenciais e que conferem ainda uma maior complexidade aos sistemas biológicos (Bartold et al., 2000; Bosshardt et al., 2015).

Muitos estudos têm vindo a ser desenvolvidos na área da regeneração periodontal mas nem em todos os estudos que afirmam ter sucesso, foram utilizadas técnicas histológicas para confirmação (Bosshardt & Sculean, 2009).

Segundo o World Workshops in Periodontics of the American Academy of Periodontology (1996), para que um tratamento periodontal possa ser considerado regenerativo têm que se verificar as seguintes características:

- i. Histologia que revele novo cimento, ligamento periodontal e osso alveolar a um nível mais coronal do que a base do defeito;
- ii. Ensaio clínico controlado em humanos que demonstrem melhorias na sondagem e nos níveis ósseos;
- iii. Estudos histológicos controlados em animais que revelem novo cimento, ligamento periodontal e osso.

A histologia continua a ser o único método fidedigno para avaliar a eficácia de um tratamento com o objetivo de atingir a regeneração periodontal. Clinicamente, o resultado de uma terapia periodontal regenerativa é avaliado por parâmetros clínicos como a sondagem, métodos radiográficos e por nova intervenção e observação da zona onde foi realizado o tratamento. Contudo, estes métodos não são apropriados para demonstrar que se tenha conseguido uma nova inserção (Bosshardt & Sculean, 2009).

II. DESENVOLVIMENTO

1. EMBRIOLOGIA DENTÁRIA, ANATOMIA E FORMAÇÃO DO PERIODONTO

De acordo com a sua função, podemos dividir o periodonto em compartimento superior ou de barreira e compartimento inferior ou de inserção (Cho & Garant, 2000).

O compartimento superior inclui a gengiva aderida e a gengiva livre. Estes tecidos, ao contrário dos tecidos componentes do periodonto de inserção, derivam da ectoderme e do ectomesenquima (Cho & Garant, 2000; Ferraris & Muñoz, 2009; Xiong et al., 2013).

O compartimento inferior é composto por três estruturas que formam uma unidade funcional. São essas estruturas o cimento, o ligamento periodontal e o osso alveolar. A origem embriológica destes tecidos é a mesma, todos derivam da camada interna do saco dentário, aquando da formação da raiz dentária (Cho & Garant, 2000; Ferraris & Muñoz, 2009).

O desenvolvimento dos tecidos periodontais ocorre durante o desenvolvimento e formação do dente. Este processo tem início precoce na fase embriológica quando as células da crista neural migram para o primeiro arco braquial, onde vão formar uma banda de células ectomesenquimais por baixo do epitélio do estomódeo (Zhang et al., 2005; Mitsiadis & Graf, 2009; Lindhe & Lang, 2015).

As células epiteliais do estomódeo vão libertar fatores que vão dar início a interações epitélio-mesenquimais com as células da crista neural, dando início ao desenvolvimento coronal que irá desencadear o desenvolvimento radicular e periodontal (Bosshard et al., 2015; Lindhe & Lang, 2015).

A regeneração periodontal é essencialmente a reprodução do processo de desenvolvimento periodontal, incluindo a mimetização do microambiente, o recrutamento de células progenitoras ao local, o reestabelecimento da matriz extracelular, a produção de fatores de crescimento e o encaminhamento de células progenitoras até à sua diferenciação final (Xiong et al., 2013; Bosshardt et al., 2015).

A compreensão dos mecanismos celulares e moleculares que regulam o normal desenvolvimento da raiz é uma boa forma de melhorar os métodos já existentes e desenvolver novos tratamentos periodontais regenerativos, uma vez que esta formação é

considerada o elemento crítico no desenvolvimento do periodonto e portanto, na sua regeneração (MacNeil & Somerman, 1999; Chen et al., 2014; Bosshardt et al., 2015).

A formação radicular tem início quando as células do epitélio dentário interno e externo começam a proliferar no sentido apical, formando a Bainha Epitelial de Hertwig (Figura 3), sendo que o seu início propriamente dito é quando se dá a fusão da Bainha Epitelial de Hertwig, abaixo da margem cervical da coroa. Esta estrutura interage de forma recíproca e sequencial com o mesenquima circundante promovendo processos de histodiferenciação que levam à especialização de células formadoras de tecido duro (Lin et al., 2008; Akimoto et al., 2010; Bosshardt et al., 2015).

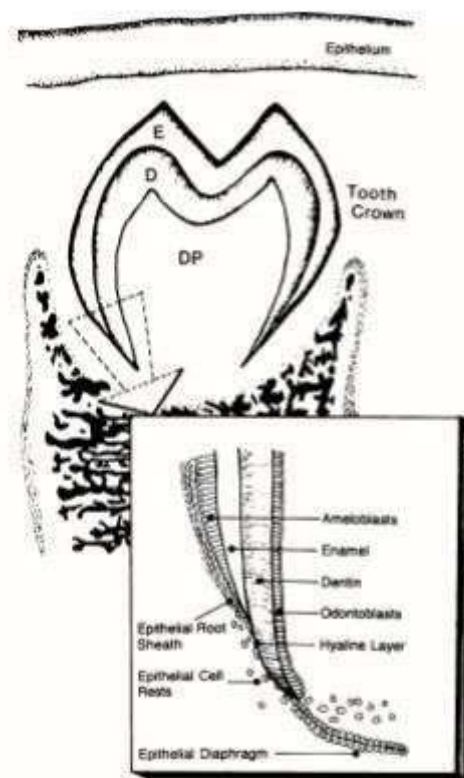


Figura 3 - Representação esquemática do desenvolvimento radicular. Dentina (D). Papila Dentária (DP). Esmalte (E). (Adaptado de Xiong et al, 2013)

É aceito que a Bainha Epitelial de Hertwig desempenha um papel significativo na formação dos tecidos de suporte dentários, mas a natureza desta função ainda permanece pouco clara. Pensa-se que esta estrutura funcione como indutor e regulador da formação da raiz, isto é, o número de raízes, a sua forma e tamanho. Esta unidade funcional atua desde a divisão estrutural dos tecidos dentários ectomesenquimais até ao folículo ou papila dentária,

induzindo a diferenciação de células estaminais (Mitsiadis & Graf, 2009; Thesleff & Sharpe, 1997; Xiong et al., 2013).

Por sua vez, a nível molecular, a Bainha Epitelial de Hertwig é determinada pela interações epitelio-mesenquimais entre fatores de crescimento e diferenciação, e deriva da hélice epitelial localizada no órgão de esmalte, adquirindo a forma de um tubo com dupla camada (Xiong et al., 2013).

Uma vez formada esta unidade, a raiz continua o seu alongamento. A Bainha Epitelial de Hertwig é mantida na porção apical da raiz em desenvolvimento e a porção mais coronal é desintegrada dando origem aos restos epiteliais de Malassez (Akimoto et al., 2010; Thesleff & Sarpe, 1997; Xiong et al., 2013).

Os Restos Epiteliais de Malassez são as únicas células odontogénicas de origem epitelial que permanecem no periodonto adulto, juntamente com diversas populações de células mesenquimais como fibroblastos, cimentoblastos e osteoblastos (Miniggio & Raubenheimer, 2016; Xiong et al., 2013).

1.1. DENTINOGENESE

As células do interior da Bainha Epitelial de Hertwig têm um papel fundamental na iniciação da dentinogénese por indução da diferenciação das células da papila dentária em odontoblastos. Neste processo o fator nuclear I-C é um fator de transcrição essencial, que se relaciona exclusivamente com a formação de dentina radicular. A ausência deste fator leva a alterações na formação radicular sem interferência na a formação da coroa (Xiong et al., 2013).

Por outro lado, foi comprovado que na ausência de um mediador central na cadeia de sinalização do fator de crescimento beta e da proteína óssea morfogénica, responsáveis pelo desenvolvimento radicular efetuado pela Bainha Epitelial de Hertwig, a formação radicular é interrompida (Ferraris & Muñoz, 2009).

1.2.CIMENTOGÉNESE

O cimento é um tecido conjuntivo mineralizado, não vascularizado, sendo a sua principal função a inserção das fibras de Sharpey, o principal grupo de fibras do ligamento periodontal (Xiong et al., 2013; Arzate et al., 2015).

O cimento cobre a dentina, ainda que apenas na porção radicular, mas ao contrário do ligamento periodontal e do osso alveolar, o cimento não está em constante renovação, aumenta de espessura ao longo da vida (Xiong et al, 2013; Huang et al, 2016).

Ao longo da raiz dentária, o cimento sofre variações morfológicas, histológicas e funcionais, o que leva a que seja classificado da seguinte forma (Arzate et al., 2015):

- i. Cimento intermédio (encontrado na junção amelo-cimentária)
- ii. Cimento acelular (encontrado nas porções coronal e média da raiz)
- iii. Cimento celular (encontrado na porção apical e inter-radicular da raiz, contendo cimentoblastos)

Tal como ocorre com outros tecidos mineralizados, na formação do cimento temos uma camada inicial não mineralizada designada cimentóide, composta por cimentoblastos, que posteriormente sofre mineralização (Nanci & Bosshardt, 2006).

Este processo pode ser dividido em duas fases. Uma primeira que inclui os períodos pré-eruptivo e eruptivo, na qual se dá a formação do cimento acelular ou primário, coincidindo com a mineralização inicial da dentina do manto. É possível que a Bainha Epitelial de Hertwig desempenhe um papel regulador no que diz respeito à quantidade de cimento acelular (Nanci & Bosshardt, 2006; Xiong et al., 2013).

É também nesta fase que se dá a deposição da camada hialina de Hopewell Smith. Após a formação da dentina do manto, as células mais internas da Bainha Epitelial de Hertwig começam a secretar proteínas de esmalte, bem como proteínas associadas à dentina, para o espaço entre a Bainha Epitelial de Hertwig e a camada de dentina formada. Quando estas proteínas são mineralizadas formam a camada hialina de Hopewell Smith, que pode ser encontrada em toda a superfície radicular desde a junção amelo-cimentária até ao terço apical (Ferraris & Muñoz, 2009).

Numa segunda fase, quando o dente contacta com o seu oponente, inicia-se a formação de cimento secundário ou celular e há uma diminuição abrupta da proliferação da

Bainha Epitelial de Hertwig, sendo que algumas células desta estrutura e do folículo dentário ficam aprisionadas no cimento recém formado (Nanci & Bosshardt, 2006; Xiong et al., 2013).

1.3. GÊNESE DO LIGAMENTO PERIODONTAL

O ligamento periodontal é uma fina camada de tecido conjuntivo, que através das suas fibras une o dente ao osso alveolar (Ferraris & Muñoz, 2009; Bright et al., 2015).

Este tecido apresenta como funções a manutenção do dente no alvéolo, suportar e resistir às forças exercidas aquando da mastigação, sendo também um recetor sensorial (Nanci & Bosshardt, 2006).

Apresenta elevada densidade celular, entre as quais as células precursoras do cimento e osso alveolar, células de reabsorção como cimentoclastos e osteoclastos, células de defesa, células provenientes da destruição da Bainha Epitelial de Hertwig e os Restos Epiteliais de Malassez (Figura 4) (Beertsen et al., 1997).

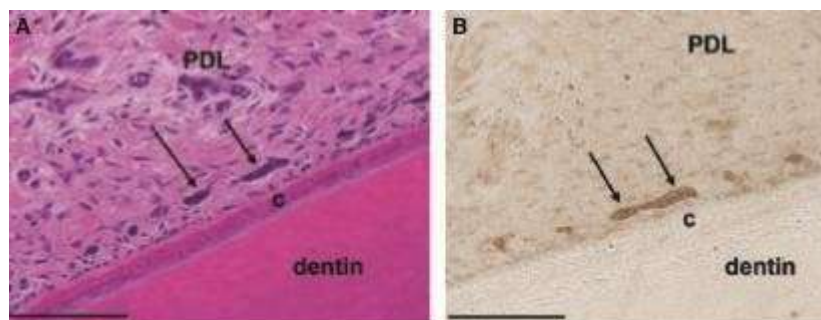


Figura 4 - (A) Localização dos Restos Epiteliais de Malassez (setas) em dentes de ovelha descalcificados; (B) Restos Epiteliais de Malassez; Cimento (c); Ligamento periodontal (PDL) (Adaptado de Xiong et al, 2013).

A formação do ligamento periodontal inicia-se numa posição mais coronal relativamente ao desenvolvimento radicular, onde as fibras de colagénio recém formadas se vão difundir pela nova camada de cimento, adquirindo a sua estrutura definitiva quando o dente entra em função. O tecido mesenquimatoso que forma o ligamento periodontal está contido na camada interna do saco dentário. Esta camada vai dar origem aos cimentoblastos, aos fibroblastos e osteoblastos. Deste modo, aquando da erupção vamos ter três zonas distintas: uma cimentogénica, com aposição sobre a dentina radicular; uma intermédia, com fibras que vão inserir no osso e no cimento; uma osteogénica, onde ocorre

a mineralização do tecido osteóide (Figura 5 e Figura 6) (Nanci & Bosshardt, 2006; Zhang et al., 2008; Ferraris & Muñoz, 2009).

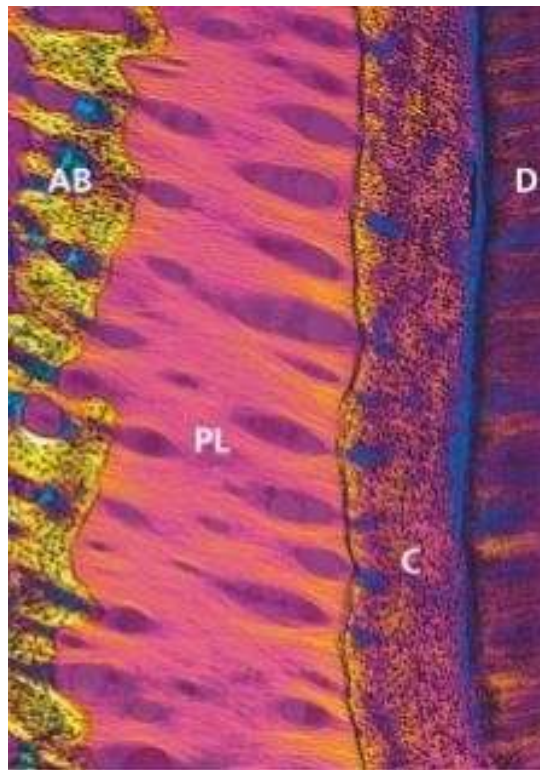


Figura 5 - Imagem ilustrativa do ligamento periodontal (PL) e as fibras de colagénio que se estendem até ao cimento (C) e ao osso alveolar (AB). Dentina (D). (Adaptado de Bosshardt et al, 2015)

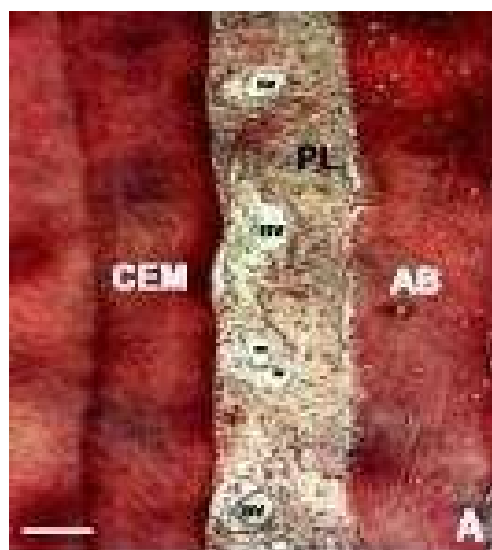


Figura 6 - Coloração com hematoxilina-eosina do ligamento periodonta (PL), cimento (CEM) e osso alveolar (AB). Vasos sanguíneos (BV).

1.4. OSTEOGÉNESE

O osso alveolar tem uma origem e função distintas do osso basal, no entanto, não existe um limite anatômico preciso entre os dois. Os processos alveolares correspondem às porções dos ossos maxilares que rodeiam e contêm os alvéolos dentários (Bosshard, 2005; Nanci & Bosshardt, 2006).

O desenvolvimento dos processos alveolares é concomitante com a formação dentária, e tem fim quando termina a erupção (Ferraris & Muñoz, 2009).

As células osteogénicas são provenientes do folículo dentário que, uma vez estimulado o desenvolvimento radicular pela HERS, se aproximam da superfície radicular e sofrem diferenciação. Posteriormente estas células vão sofrer processos de mineralização, formando trabéculas constituídas por um tecido osteóide imaturo, que mais tarde é remodelado e substituído por tecido ósseo secundário ou laminar (Nanci & Bosshardt, 2006).

2. BIOLOGIA DA REPARAÇÃO E DA REGENERAÇÃO PERIODONTAL

A regeneração de qualquer tipo de tecido é um processo biológico complexo que requer interações entre células reguladas intrinsecamente, fatores de crescimento locais e sistêmicos, hormonas e uma matriz extracelular. Deste modo, é de esperar que os eventos associados à regeneração periodontal sejam de uma grande complexidade, necessitando da participação diferentes componentes celulares do periodonto (Cochran & Wozney, 1999; Bartold et al., 2000; Barrientos et al., 2014).

Para que a regeneração tecidual tenha sucesso é necessário estimular uma cascata de acontecimentos que conseguem, através de coordenação e complementação, formar tecidos (Cochran & Wozney, 1999).

A cicatrização é o processo através do qual um tecido danificado se repara e consiste em três fases distintas que se sobrepõem: a fase inflamatória; a formação de tecido de granulação; a remodelação dos tecidos recém formados. A cicatrização de feridas extra-orais tem vindo a ser estudada ao pormenor e os princípios gerais da cicatrização e os mecanismos celulares e moleculares que se observam nessas localizações extra-orais também se aplicam ao processo de cicatrização periodontal (Polimeni et al., 2006; Lin et al., 2008).

No caso da cirurgia periodontal, o trauma causado pelo procedimento vai levar ao dano dos capilares e hemorragia, formando-se um coágulo sanguíneo. A formação deste coágulo é a primeira resposta ao trauma e tem duas funções primárias: proteção temporária dos tecidos expostos e servir de matriz provisória para a migração celular (Lin et al., 2008; Susin et al., 2015).

O coágulo sanguíneo é constituído pelos os elementos celulares sanguíneos: eritrócitos, leucócitos e plaquetas, incorporados numa matriz de fibrina, fibronectina, vitronectina e trombosporina (Susin et al., 2015).

Após a formação do coágulo inicia-se uma fase de inflamação primária. Horas após o trauma, células inflamatórias, predominantemente neutrófilos e monócitos, começam a proliferar no coágulo. Estas células eliminam bactérias e tecido necrótico através de fagocitose e libertação de radicais livres (Polimeni et al., 2006).

O processo de epitelização inicia-se horas após o trauma. As células epiteliais da camada basal proliferam e migram através do coágulo de fibrina (Montevecchi et al., 2016; Polimeni et al., 2006).

Três dias após o seu início, o processo inflamatório entra na fase tardia. Nesta fase dá-se a migração das células macrofágicas para a zona da ferida, onde vão interferir no desbridamento da mesma e secretar polipéptidos mediadores que estão envolvidos no processo de cicatrização. Os macrófagos desempenham um papel importante na formação de tecido de granulação, bem como na secreção de fatores de crescimento e citocinas, que vão intervir na proliferação e migração de fibroblastos, células endoteliais e células do músculo liso (Hammerle & Giannobile, 2013; Susin et al., 2015).

Posteriormente, este tecido de granulação rico em células vai sofrer maturação e remodelação. A matriz extracelular provisória que contém células endoteliais formadoras de neovasos, através da atividade fibroblástica, é substituída por uma matriz rica em colagénio. Por sua vez, as células endoteliais, uma vez que matriz sofre maturação, estão programadas para iniciar o processo de apoptose, levando assim à diminuição do número de unidades vasculares (Montevecchi et al., 2016; Burkhardt & Lang, 2015).

Uma vez sintetizada a matriz de colagénio, aproximadamente uma semana após trauma, algumas das células fobroblásticas sofrem alterações e passam a denominar-se miofibroblastos e começam a expressar actina “ α -smooth”. Esta transformação e consequente síntese molecular vai ser responsável pela contração da ferida (Polimeni et al., 2006).

A maturação do tecido de granulação vai levar à regeneração ou à reparação dos tecidos danificados, o que vai depender de dois fatores cruciais: disponibilidade das células necessárias; ausência ou presença de sinais necessários para o recrutamento e estimulação das referidas células (Burkhardt & Lang, 2015; Lin et al., 2008).

O sistema de regeneração periodontal é único porque, para que as novas fibras de tecido conjuntivo se insiram no cimento e no osso alveolar a cicatrização dos tecidos duros e moles tem de ocorrer de forma coordenada e integrada. Os processos regenerativos do periodonto envolvem diversos tipos celulares como os fibroblastos para os tecidos moles, os cimentoblastos para o cimento, os osteoblastos para a formação óssea e células endoteliais para os processos de angiogénese (Figura 7). Para promover a formação de novos tecidos, estas células vão interagir com mediadores presentes na matriz extracelular e estes, por sua vez, vão estimular outros componentes da matriz ou outras células. Estes processos ainda estão pouco estudados e sabe-se muito pouco relativamente aos sinais que iniciam e regulam estas interações *in vivo* (Bartold et al., 2000; Montecvecchi et al., 2016; Sanz et al., 2015).

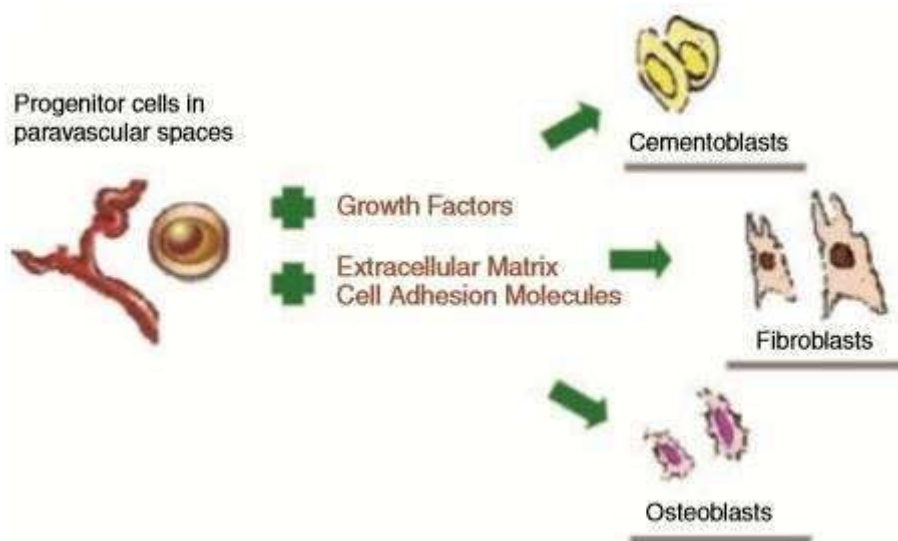


Figura 7 - O papel das células estaminais na regeneração periodontal. As células das zonas paravasculares têm potencial para se diferenciar osteoblastos, fibroblastos e cimentoblastos. (Adaptado de Lin et al, 2008)

Não obstante, quando falamos na cicatrização periodontal, o processo torna-se ainda mais complexo pois o retalho vai ser aposto à superfície radicular, privada dos elementos periodontais de ligação. Neste caso, as margens da ferida diferem entre si. Por um lado temos a superfície dentária que é rígida, mineralizada e não vascularizada, por outro lado temos o tecido do retalho constituído por tecido conjuntivo e epitélio. Portanto a formação de um coágulo neste interface depende do sangue que lá se deposita aquando da cirurgia e no encerramento da ferida cirúrgica. Inicia-se então um processo em que há absorção e adesão das proteínas plasmáticas à superfície radicular formando um coágulo de fibrina, desencadeando-se o normal processo de cicatrização (Montevecchi et al., 2016; Susin et al., 2015).

A evidência sugere que a formação de novo tecido de suporte periodontal em vez de um epitélio juncional longo está intimamente relacionada com a manutenção do coágulo de fibrina que se forma aderido à superfície radicular. Por outro lado, o coágulo de fibrina apenas consegue manter a sua integridade se a ferida cirúrgica for estável, dependendo de uma boa sutura (Burkhardt & Lan, 2015).

No entanto, atuando o coágulo como matriz para a proliferação e migração celular, não é possível atingir a regeneração periodontal sem as células com potencial pluripotente existentes no ligamento periodontal (Polimeni et al., 2006; Susin et al., 2015).

No tecido conjuntivo do periodonto existem populações celulares muito heterogénias que diferem na sua linhagem, nas propriedades metabólicas, na expressão genética e na função. Cada compartimento celular do periodonto pode conter, em diferentes concentrações, as células necessárias à regeneração de outra estrutura periodontal, podendo a regulação da sua participação ocorrer por meio de outros fatores (Bartold et al., 2000).

O processo de seleção destas células ocorre através de cadeias de sinalização, nas quais participam agonistas, proteínas da matriz e recetores celulares de superfície que vão iniciar respostas ao nível da expressão genética por meio de sinais intracelulares bem definidos (Pitaru et al., 1994; Bartold et al., 2000).

A informação necessária para que ocorram as atividades celulares são fornecidas por moléculas presentes no local e que se vão ligar aos recetores membranares. Quando estes mediadores se ligam à superfície celular vão ativar inúmeros processos de sinalização intracelulares, que levam a uma resposta celular, incluindo a migração celular, alterações

na morfologia ou produção de determinadas macromoléculas e a sua secreção para a matriz extracelular (Bartold et al., 2000).

Adicionalmente, a expressão de outras moléculas da superfície celular, como as integrinas, é influenciada pelos mediadores da matriz, resultando em interações entre células e das mesmas com a matriz (Pitaru et al., 1994; Susin et al., 2015).

Recentemente têm sido conseguidos avanços na compreensão da regulação genética e como esta pode ser utilizada em processos de manipulação genética. Estes avanços são de elevada significância pois sabe-se que os genes contêm informação codificada que é necessária à produção proteica (Bartold et al., 2000; Burkhardt & Lang, 2015).

Nos processos genéticos existem diversos mecanismos reguladores e de controlo, através dos quais a síntese proteica é controlada. Em cada etapa da expressão genética, síntese de RNA ou de péptidos, existe sempre uma oportunidade de controlo e regulação, o que nos permite pensar que estas áreas oferecem perspectivas positivas em termos de manipulação da expressão genética e regulação da função celular (Bartold et al., 2000).

De modo a facilitar, as moléculas necessárias à regeneração periodontal são agrupadas em três grupos: fatores de crescimento peptídicos; proteínas de ligação ou adesão; componentes estruturais. O resultado da ação de cada um destes grupos pode variar dependendo da fase em que o processo de cicatrização se encontra e das células alvo disponíveis (Burkhardt & Lang, 2015).

Muitas destas moléculas já foram identificadas no cimento e na matriz do osso alveolar. Nesta incluem-se as proteínas de adesão como a osteopontina, a sialoproteína óssea e a fibronectina sobre as quais já foi provada a expressão em fases precoces da cimentogenese. A ativação biológica de muitas destas substâncias tem sido estudada em detalhe em estudos *in vitro* e sistemas modelo de cicatrização mas apenas algumas conclusões gerais e de baixa relevância podem ser apontadas no que diz respeito à regeneração periodontal (Susin et al., 2015).

2.1. FATORES DE CRESCIMENTO E DIFERENCIAÇÃO

Os fatores de crescimento são proteínas mediadoras da matriz extracelular que atuam de forma local ou sistêmica, afetando o crescimento e funções celulares (Cochran & Wozney, 1999; Smith et al., 2015).

Durante o processo inflamatório e na cicatrização estas moléculas são secretadas pelas células inflamatórias, células do tecido conjuntivo circundante ou podem derivar da matriz extracelular (Qiao et al., 2016).

Podem atuar de forma autócrina ou parácrina. Na regulação autócrina, as células que produzem os fatores de crescimento também são afetadas pelos próprios. Na regulação parácrina, os fatores de crescimento produzidos por uma determinada célula vão afetar a função de outro tipo celular (Cochran & Wozney, 1999).

Estes fatores podem controlar o crescimento celular, bem como o metabolismo de um certo tipo celular, e aumentar a quantidade de células disponíveis para a produção de um determinado tecido (Cochran & Wozney, 1999; Smith et al., 2015).

Por sua vez, os fatores de diferenciação vão controlar o fenótipo celular, levando células precursoras a adquirirem a sua forma final, madura e completamente funcional (Smith et al., 2015).

Existem diversos fatores de crescimento: fator de crescimento derivado de plaquetas; fator de crescimento transformador β ; fator de crescimento fibroblástico; fatores de crescimento insulínicos I e II; proteínas ósseas morfogenéticas. Estes têm vindo a ser estudados devido ao seu potencial regenerativo no periodonto, tanto isolados como em conjunto, pois apresentam uma ampla variedade de atividades biológicas sobre as células periodontais, afetando a sua migração, proliferação e diferenciação (Bartold et al., 2000; Cochran & Wozney, 1999).

A presença destas substâncias pode estar limitada a alguns tecidos periodontais e a sua atividade pode variar consoante os diferentes tipos celulares existentes no periodonto (Bartold et al., 2000; Qiao et al., 2016).

Não obstante, o mesmo fator de crescimento pode desempenhar papéis diferentes consoante a fase de cicatrização, o tipo de célula alvo e a disponibilidade dos componentes da matriz. O mesmo fator de crescimento pode ter inicialmente uma função proliferativa durante fases precoces da cicatrização, mas com o desenrolar do processo esta função pode alterar-se consoante a necessidade celular (Smith et al., 2015).

2.1.1. FATORES DE CRESCIMENTO DERIVADO DE PLAQUETAS

Este fator de crescimento foi, originalmente, identificado nas plaquetas, no entanto já foram identificados diversos tipos celulares com capacidade de produzir este fator e de forma recíproca as células, especialmente as de origem mesenquimal, respondem a estes (Kobayashi et al., 2017; Qiao et al., 2016).

Trata-se de uma molécula dimérica, mas já existe uma enorme variedade de subtipos que consistem em homodímeros e heterodímeros dos produtos genéticos dos fatores A e B (Kobayashi et al., 2017; Smith et al., 2015).

O principal efeito deste fator de crescimento é a estimulação da divisão celular, sendo por isso considerado uma molécula com efeitos mitogénicos. Em muitos estudos realizados com células fibroblásticas foi considerado um fator de competência, isto é, confere competência às células para que se dividam. No entanto, um fator deste género necessita de ser acompanhado por um fator de progressão. Deste modo, o fator de crescimento derivado de plaquetas é muitas vezes utilizado conjuntamente com o fator de crescimento insulínico – I, funcionando este como fator de progressão (Cochran & Wozney, 1999; Smith et al., 2015).

Contudo, existem células que respondem ao fator de crescimento derivado de plaquetas com divisão imediata sem que haja necessidade de adicionar outros fatores de crescimento, possivelmente devido à produção e estimulação autócrina de fatores de progressão. Este fenómeno ocorre com as células osteoblásticas e células do ligamento periodontal (Smith et al., 2015).

2.1.2. FATORES DE CRESCIMENTO INSULÍNICOS I E II

Os fatores de crescimento insulínicos I e II são fatores de crescimento peptídicos com funções bioquímicas e funcionais similares às da insulina (Cochran & Wozney, 1999; Reckenbeil et al., 2017).

Como foi referido anteriormente, são moléculas mitogénicas e em sistemas fibroblásticos atuam como fatores de progressão, necessitando da ação de fatores de competência para ativar a sua ação (Reckenbeil et al., 2017).

Nas células ósseas, estes fatores estimulam a proliferação dos pré-osteoblastos e a sua diferenciação em osteoblastos. Deste modo, os fatores de crescimento insulínicos aumentam não só o número de células capazes de sintetizar osso, mas também a quantidade de matriz extracelular depositada por cada célula (Cochran & Wozney, 1999).

A função destes fatores é regulada pela presença de uma família de proteínas de ligação específicas para estes fatores, podendo diminuir ou aumentar a sua atividade (Cochran & Wozney, 1999; Smith et al., 2015).

2.1.3. PROTEÍNAS ÓSSEAS MORFOGENÉTICAS

As proteínas ósseas morfogénéticas constituem uma grande família de fatores reguladores que, originalmente, foram descobertas com base na sua presença em extratos de osso com capacidades de osteoindução (Cochran & Wozney, 1999; Rao, 2013).

A capacidade osteoindutora da matriz óssea tem sido amplamente reconhecida, mas só após diversos processos extensos de purificação de osso bovino e posterior clonagem é que se indentificaram as proteínas contidas na matriz óssea, responsáveis pelo seu potencial para a formação óssea (Rao et al., 2013; Smith et al., 2015).

Estes fatores de crescimento têm a capacidade de estimular a produção de osso numa ampla variedade de localizações anatómicas e são os únicos com capacidade osteoformadora. Estudos demonstram que estas moléculas podem levar à diferenciação de células derivadas de tecido mole em células com capacidade de formar osso (Cochran & Wozney, 1999; Ripamonti & Renton, 2006).

As proteínas ósseas morfogénéticas têm uma atividade de grande relevância ao nível do desenvolvimento embriológico do esqueleto, dentes e muitos outros órgãos e tecidos. Têm também influência direta na regeneração de tecidos periodontais. De facto, estudos mostraram que estes fatores conseguem afetar o fenótipo das células do ligamento periodontal (Ripamonti & Renton, 2006; Smith et al., 2015).

2.1.4. FATOR DE CRESCIMENTO TRANSFORMADOR BETA

Trata-se de um fator de crescimento que em termos estruturais se relaciona com a família das proteínas ósseas morfogenéticas mas em termos funcionais é bastante diferente (Cochran & Wozney, 1999; Smith et al., 2015).

É sintetizado por vários tipos celulares e tem a capacidade de afetar quase todos os tipos celulares. De uma forma geral as células que sofrem o efeito deste tipo de fator de crescimento aumentam a sua produção de matriz extracelular e no local onde atua, verificando-se processos de fibrose (Qiao et al., 2016).

Sendo um fator predominante na matriz óssea, tem sido alvo de inúmeros estudos que demonstram a sua capacidade quimiotática para as células ósseas e que, consoante a sua concentração, o estado de diferenciação celular e as condições da cultura, pode aumentar ou diminuir a sua proliferação (Smith et al., 2015).

Ao contrário das proteínas ósseas morfogenéticas, este fator em contacto com o tecido extra-ósseo, não induz a formação de células ósseas. Contudo, consegue induzir a formação de cartilagem quando colocado em contacto com tecido ósseo (Cochran & Wozney, 1999; Qiao et al., 2016).

2.1.5. FATOR DE CRESCIMENTO FIBROBLÁSTICO

São membros de uma família constituída por, pelo menos, nove produtos genéticos que se relacionam entre si pelos seus efeitos gerais de crescimento celular e por estimularem principalmente células fibroblásticas. No entanto, apresentam outras funções como estimulação da angiogénese, cicatrização e migração celular. Estudos realizados em espécies celulares individualizadas demonstraram que o fator de crescimento fibroblástico consegue estimular células endoteliais e periodontais a migrarem e a proliferarem (Qiao et al., 2016).

Tem sido comprovado que este fator aumenta a formação de osso e acelera o processo de reparação de fraturas ósseas. Pensa-se que estas ações poderão resultar do aumento da produção do fator de crescimento transformador beta, também mediada pelo fator de crescimento fibroblástico (Cochran & Wozney, 1999; Smith et al., 2015).

2.2. MATRIZ EXTRACELULAR

Para que a área da regeneração periodontal seja compreendida e possa progredir, é necessário estabelecer o conceito de que os fatores de crescimento necessitam de uma matriz extracelular para exercer as suas funções de recrutamento e diferenciação celular (Bartold et al., 2016).

As células interagem de forma dinâmica com os componentes da matriz extracelular tal como interagem com os seus componentes solúveis internos. A matriz extracelular não promove diretamente a regeneração periodontal mas desempenha um papel importante na regulação de eventos necessários para que esta ocorra. De facto, a deposição de macromoléculas da matriz extracelular numa sequência de tempo e espaço durante a reparação tecidual e regeneração é intimamente regulada por uma sequência de síntese e recrutamento de mediadores, os quais resultam em mecanismos de controlo de feedback homeostático (Bartold et al., 2000; Xu et al., 2014).

Os mecanismos específicos pelos quais a matriz regula a expressão genética não são claros, mas pensa-se que diferem substancialmente dos mecanismos intracelulares previamente descritos (Ugawa et al., 2017).

As células interagem com vários componentes da matriz extracelular através de integrinas presentes na membrana, o que leva à reorganização das proteínas que constituem o citoesqueleto, criando espaço para a formação de novos complexos com outras proteínas intracelulares, funcionando como moléculas de transdução. Adicionalmente, a reorganização do citoesqueleto pode levar ao bloqueio da ação dos recetores de citocinas bem como localizar e captar fatores de crescimento para ligação aos recetores de superfície (Xu et al., 2014).

A matriz extracelular é genericamente constituída por colagénio, fibronectina, laminina, proteoglicanos e outras proteínas não-colagénicas e, apesar de não controlar na totalidade, regula muitas atividades celulares, tendo efeito sobre a migração, divisão e diferenciação celular. Por outro lado, também serve como substrato para a adesão celular, a organização do citoesqueleto e a propagação celular. Funciona também como proteção para a célula contra os mecanismos apoptóticos, através de processos que envolvem integrinas e outras cascatas de acontecimentos nas quais estão presentes fatores insulínicos (Bartold et al., 2000).

Claramente, os elementos da matriz dos diferentes compartimentos periodontais contêm as mensagens de sinalização básicas para que se dê um normal funcionamento celular (Bartold et al., 2000; Xu et al., 2014).

No que diz respeito à regeneração periodontal é importante que se venha a compreender quais os componentes da matriz extracelular que regulam a expressão genética dos fatores de crescimento, os seus recetores, como é a resposta celular aos diferentes agonistas e a regulação genética dos movimentos, proliferação e diferenciação celulares (Xu et al., 2014).

As interações adesivas com a matriz são de elevada relevância durante o desenvolvimento e na tomada de decisão entre divisão e diferenciação celular. Quando os mediadores se ligam às integrinas na superfície da célula, inicia-se uma cascata de reações de sinalização que incluem a fosforilação de uma quinase de adesão local por uma tirosina, ativação da cascata de proteína quinase ativada por mitogénios, expressão de *c-fos* e elevação dos níveis celulares de certas ciclinas (Bartold et al., 2000; Ugawa et al., 2017).

Através das suas moléculas de adesão a matriz extracelular consegue também, participar no recrutamento de certos tipos celulares. Um exemplo desta situação observa-se quando a fibronectina e o colagénio tipo I permitem a adesão da maior parte dos tipos celulares, enquanto que a laminina e o colagénio tipo IV são mais seletivos permitindo apenas a ligação de alguns tipos celulares e a tenascina é antiadesivo, não permitindo a adesão de qualquer tipo celular (Bartold et al., 2000).

As cadeias de sinalização induzidas tanto pela matriz extracelular como pelos fatores de crescimento cooperam na mediação das suas funções biológicas. Como exemplo temos a interação das integrinas com fatores de crescimento, necessária para a expressão de ciclinas, que por sua vez vão regular a progressão do ciclo celular. Desta forma é perceptível que o controlo da proliferação celular através da utilização de fatores de crescimento é de extrema complexidade, o que nos permite compreender que as abordagens utilizadas atualmente com o objetivo de alcançar a regeneração periodontal utilizando unicamente fatores de crescimento têm um carácter um tanto simplista. Possivelmente são necessários meios mais precisos de marcar mecanismos de controlo intracelulares para que seja possível controlar o comportamento celular durante a cicatrização (Ugawa et al., 2017; Xu et al., 2014).

A matriz extracelular, juntamente com qualquer fator de crescimento que se encontre disponível, é capaz de determinar se a cicatrização vai ocorrer por reparação ou

regeneração. Deste modo, há que colocar a hipótese de que a não formação de cimento numa superfície radicular exposta poderá ter na sua origem a ausência de uma matriz extracelular (Bartold et al., 2000).

2.3. PROTEÍNAS DA MATRIZ EXTRACELULAR E FATORES DE CONEXÃO

Existe uma ampla variedade de proteínas e outros componentes extracelulares que controlam a migração celular, como estas aderem e como funcionam (Cochran & Wozney, 1999).

2.3.1. AMELOGENINAS

As amelogeninas são uma família de proteínas e encontram-se na matriz extracelular. Esta família é responsável pela regulação do crescimento e deposição dos cristais de hidroxiapatite durante processo de mineralização do esmalte. Com base no conhecimento de que estas proteínas estão envolvidas no desenvolvimento embriológico, é de esperar que a sua presença possa intervir na formação de cimento. Contudo, também foi demonstrado que estas proteínas, quando associadas a células do ligamento periodontal levam a um aumento da proliferação celular e de síntese proteica (Cochran & Wozney, 1999).

2.3.2. FIBRONECTINA

A fibronectina é uma proteína de elevado peso molecular produzida por diversos tipos celulares (Komboli et al., 2009).

A sua função principal consiste em promover a adesão celular à matriz extracelular. Desempenha um papel importante na regeneração periodontal e na cicatrização, uma vez que a maioria dos diferente tipos celulares necessita de uma matriz extracelular para uma completa diferenciação (Cochran & Wozney, 1999; Murillo et al., 2008).

No que diz respeito à cicatrização periodontal a fibronectina tem sido utilizada juntamente com a desmineralização da superfície radicular, utilizando ácido cítrico. Esta união tem como propósito a exposição do colagénio para que a fibronectina facilite a

interação entre os fibroblastos do tecido gengival e a superfície dentária, aumentando a adesão. (Komboli et al., 2009; Murillo et al., 2008).

2.4. MEDIADORES DO METABOLISMO ÓSSEO

A utilização de outros agentes com capacidade de afetar o crescimento ósseo tem sido praticada de forma a potenciar a regeneração periodontal. Tanto isolados como combinados com fatores de crescimento (Cochran & Wozney, 1999; Sodek & McKee, 2000).

2.4.1. PROSTAGLANDINAS

Tal como outros eicosanoides, as prostaglandinas são importantes no metabolismo ósseo (Cochran & Wozney, 1999).

A mediação de processos através de fatores de crescimento e citocinas está dependente da produção endógena de prostaglandinas (Sodek & McKee, 2000).

No que diz respeito ao periodonto, as prostaglandinas são vistas como precursores da reabsorção óssea, representando mediadores importantes na perda óssea periodontal. Contudo, também são capazes de estimular a formação óssea uma vez que também atuam como mitogénicos para os osteoblastos (Cochran & Wozney, 1999; Serhan, 2017).

Estudos realizados *in vivo*, demonstraram a capacidade das prostaglandinas de aumentar a formação de osso, tanto periósteo como endósteo, pelo que se pensa que a obtenção de maior quantidade de osso alveolar na presença desta molécula seja possível. (Serhan, 2017).

2.4.2. GLUCOCORTICÓIDES

Os glucocorticóides apresentam uma ação sobre as células ósseas e o seu metabolismo semelhante à das prostaglandinas, podendo essa ação ser direta ou indireta (Cochran & Wozney, 1999; Sodek & McKee, 2000).

Sabe-se que a administração continuada de glucocorticóides provoca uma perda óssea, quer por diminuição da atividade osteoblástica, quer por aumento das unidades ósseas remodeladoras. No entanto, sabe-se que esta molécula interfere na atividade de

alguns fatores de crescimento, aumentando-a, e de forma sinérgica promove a diferenciação das células osteoblásticas. Estudos *in vitro* comprovaram que os glucocorticóides podem ter, ao nível do osso, uma capacidade anabólica ou catabólica, dependendo da concentração utilizada e do estado de diferenciação das células ósseas (Cochran & Wozney, 1999; Serhan, 2017).

2.5. FORMAÇÃO DE NOVO CIMENTO

A formação de uma nova camada de cimento ao longo da superfície radicular exposta é considerada, em diversos estudos e por diversos autores, como um acontecimento crucial no processo de regeneração periodontal uma vez que este tecido, não só tem componentes necessários à sua formação e diferenciação como também ao recrutamento de células precursoras dos restantes tecidos periodontais, à sua proliferação e diferenciação (Bartold et al., 2000; Song et al., 2012).

No entanto, a regulação da formação do cimento no adulto humano ainda não é um mecanismo compreendido na totalidade. O que se sabe relativamente à biologia do processo foi adquirido através de estudos realizados em ratos. Deste modo, levantam-se questões relativamente à suposta origem das populações de células progenitoras cimentogénicas e a sua localização, bem como quais as moléculas que controlam a sua proliferação e migração para perto da raiz, a sua adesão à mesma e diferenciação final (Park et al., 2010).

Sabe-se que o tecido conjuntivo da matriz cimentária capta diversos fatores de crescimento bem como outros polipéptidos que, como já foi referido, vão desempenhar papéis reguladores dos processos de migração, adesão e proliferação das células periodontais mas, apresentam também uma característica que se revela mais importante: a especificidade celular e tecidual dentro do mesmo tipo celular (Song et al., 2012).

3. TERAPIAS REGENERATIVAS

Atualmente, a investigação científica tem-se focado em diversas técnicas para a regeneração periodontal em oposição às técnicas cirúrgicas ressetivas (Bartold et al., 2006; Lindhe & Lang, 2015).

Uma das abordagens requer a colocação de um material de preenchimento no defeito periodontal com a intenção de induzir a regeneração óssea. Diversos tipos de substitutos ósseos têm vindo a ser estudados ao longo dos anos com o intuito de determinar a sua capacidade de estimular a formação de novo tecido ósseo. Dentro dos quais os seguintes têm sido estudados de forma intensiva (Bartold et al., 2006):

- i. Materiais aloplásticos, que consistem geralmente em materias de preenchimento sintéticos;
- ii. Enxertos autólogos, em que o enxerto é proveniente do próprio indivíduo;
- iii. Enxertos alógenos provenientes de indivíduos da mesma espécie;
- iv. Xenoenxertos, em que a espécie dadora é diferente da espécie do recetor.

A utilização destes materiais de enxerto podem conduzir ao ganho em termos de suporte clínico e radiográfico mas uma análise histológica mais detalhada normalmente revela fraca capacidade osteoindutiva, ficando muitas vezes encapsulados por fibrose (Bartold et al., 2006; Bosshardt, 2008).

Para induzir a regeneração periodontal têm sido utilizados fatores de crescimento polipéptidos, aplicados localmente na superfície radicular de forma a facilitar a cicatrização tecidular, acelerando a cadeia de eventos que levam à formação de novo cimento e inserção conjuntiva (Bröseler et al., 2017).

Existem diversos materiais caracterizados e disponíveis para utilização neste tipo de abordagem. Foram realizados estudos em animais que demonstraram que os fatores de crescimento derivados das plaquetas bem como os fatores de crescimento insulínico afetam positivamente o processo de regeneração de defeitos periodontais (Bartold et al., 2006; Bröseler et al., 2017).

Outro grupo de fatores de crescimento, como as proteínas ósseas morfogenéticas, têm vindo a demonstrar capacidade de induzir a osteogénese e cimentogénese (Bartold et al., 2006).

A aplicação de matrizes acelulares na superfície radicular, apesar de não se inserir neste grupo de fatores de crescimento, estimula a repopulação celular e desta forma proporciona melhores condições ao processo de regeneração. Como exemplo temos a proteínas derivadas da matriz de esmalte, para as quais já foram realizados estudos e sabe-se que estes materiais podem potencializar a regeneração periodontal, não como fator de crescimento, uma vez que têm a capacidade de criar um ambiente propício para o crescimento e diferenciação celular (Bosshardt, 2008; Bröseler et al., 2017).

Ainda como opção para abordagem da terapia de regeneração periodontal, temos a regeneração tecidual guiada. Nesta técnica são utilizadas membranas que servem como barreiras de modo a guiar e induzir a intervenção de componentes especializados do periodonto na regeneração (Bröseler et al., 2017).

Contudo, estas terapias regenerativas têm demonstrado resultados pouco satisfatórios uma vez que lhes falta a capacidade de controlar a formação de um epitélio juncional longo, de isolar de forma adequada o local da cicatrização do meio oral e prevenir a infecção, de manter a ferida cirúrgica um sistema fechado em vez de aberto, de definir de forma precisa quais os fatores de crescimento e diferenciação necessários ao processo de regeneração e ter em conta que estes poderão não ser suficientemente discriminatórios na sua capacidade de induzir a regeneração e portanto, a indução de certos fatores de transcrição pode ser garantida como um evento primário da estimulação celular. Por outro lado, também são muito direcionados para a formação de novas células ósseas, ignorando a regeneração dos compartimentos cimentogénico e fibroso (Bartold et al., 2000; Chen et al., 2012).

3.1. ABORDAGENS CIRÚRGICAS

Ao longo dos anos tem sido advogado que diversos procedimentos cirúrgicos seriam capazes de melhorar a resposta dos tecidos periodontais e consequentemente assegurar um meio favorável à regeneração periodontal (Lin et al., 2008; Sculean et al., 2015).

Contudo, os tecidos epiteliais apresentam sempre uma proliferação mais rápida do que os tecidos mesenquimais adjacentes, independentemente do procedimento cirúrgico realizado, levando à formação de um epitélio juncional longo. Este tipo de resposta parece complicar o processo de regeneração pois, tal como foi comprovado em estudos realizados em animais, o epitélio oral não promove a formação de cimento ou de

ligamento periodontal como acontece com o epitélio odontogénico aquando do desenvolvimento periodontal (Cairo et al., 2015).

A formação de um epitélio juncional longo pode considerar-se um resultado clínico positivo com obtenção de saúde periodontal mas esta forma de cicatrização classifica-se como reparação e não regeneração, uma vez que a forma e arquitetura originais dos tecidos não foi restaurada (Lee et al., 2012; Lin et al., 2008).

Este conhecimento levou ao aparecimento de modificações aos procedimentos cirúrgicos, aos quais se adicionou o condicionamento radicular e o uso de materiais de enxerto, com o intuito de obter como resultado final a regeneração periodontal (Bartold et al., 2000; Cairo et al., 2015; Lee et al., 2012).

3.2. CONDICIONAMENTO RADICULAR

O tratamento da superfície radicular tem sido estudado ao longo dos anos com diferentes tipos de materiais. Este condicionamento tem sido feito com base na premissa de que a superfície radicular deve ser limpa e preparada de forma a que facilite a adesão celular e posterior síntese de matriz extracelular (Lin et al., 2008).

Dentro dos materiais estudados tem sido atribuída maior relevância aos ácidos, para processos de desmineralização, e aos materiais de recobrimento radicular que integram na sua constituição agentes de adesão biológicos, ou uma combinação de ambos (Bartold et al., 2000).

Acreditava-se que o processo de desmineralização era capaz de reverter a hipermineralização induzida pela periodontite e de expor as fibras de colagénio da dentina permitindo uma melhor ligação das fibras recém-formadas. Por outro lado, a exposição das fibras de colagénio deveria evitar a ligação de células epiteliais (Bartold et al., 2000; Lin et al., 2008).

No entanto, este procedimento não forneceu um processo regenerativo previsível e muitas vezes foram evidenciados efeitos colaterais como anquilose ou reabsorção radicular (Bartold et al., 2000; Mariotti, 2003).

3.3. PROTEÍNAS DERIVADAS DA MATRIZ DE ESMALTE

As proteínas derivadas da matriz de esmalte são, tradicionalmente, associadas à amelogenese. Os ameloblastos sintetizam e secretam diversas proteínas como as amelogeninas, a ameloblastina e a enamelina. Contudo, é importante saber se as funções destas moléculas se estendem para lá da biomineralização do esmalte e até aos processos de cicatrização (Sculean et al., 2009).

Estas moléculas estão, também, envolvidas em processos de diferenciação celular que ocorrem aquando do desenvolvimento coronal. Por outro lado, foram descobertas evidências de que algumas proteínas derivadas da matriz de esmalte interagem com as células da Bainha Epitelial de Hertwig, o que as coloca, também, dentro do processo de desenvolvimento radicular (Bosshardt, 2008).

Para a prática clínica e na maior parte dos estudos realizados, utiliza-se um extrato de amelogenina purificado a partir de gérmens de dentes de porco. Este extrato é utilizado pelos clínicos para diversos procedimentos periodontais regeneradores (Bosshardt, 2008).

3.4. ENXERTOS

É prática comum, no tratamento de defeitos periodontais, focar a terapia na regeneração óssea, o que tem levado ao uso de diversos materiais de enxerto com esse propósito (Laurell et al., 1998; Bartold et al., 2000).

Pensa-se que os enxertos ósseos autólogos têm capacidade osteogénica enquanto que os restantes enxertos não autólogos têm capacidade osteocondutora. Numa visão geral, os enxertos ósseos são utilizados para o preenchimento dos defeitos ósseos, mas não podem ser considerados regeneradores pois a sua colocação nos defeitos periodontais não vai interferir com a neoformação cimentária e/ou do ligamento periodontal (Bartold et al., 2000, Sculean et al., 2015).

3.5. REGENERAÇÃO TECIDULAR GUIADA

A regeneração tecidual guiada consiste num procedimento em que se coloca, de forma cirúrgica, uma membrana entre o tecido conjuntivo do retalho e a superfície radicular (Cortellini & Tonetti, 2000).

Esta técnica surgiu nos anos 80 e tem como base as teorias dos domínios celulares e a repopulação das feridas por células específicas. A membrana vai prevenir a migração apical do epitélio gengival e do tecido conjuntivo, promovendo e facilitando a repopulação do defeito periodontal por células do ligamento periodontal (Figura 8) (Lin et al., 2008).

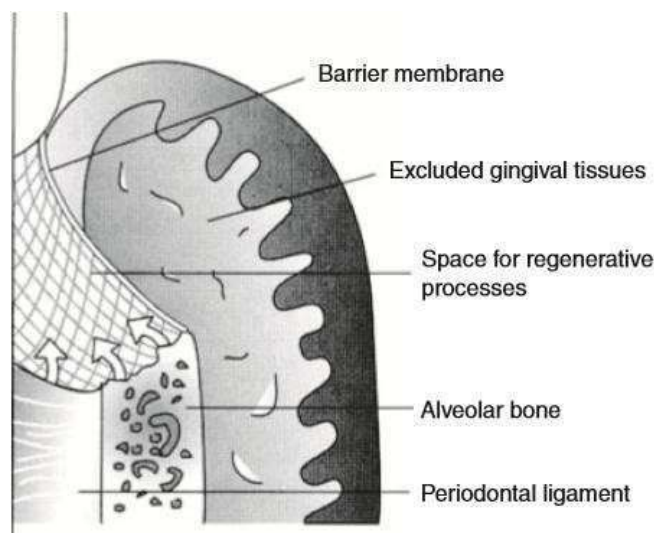


Figura 8- Representação esquemática da regeneração tecidual guiada. A membrana exclui os tecidos gengivais do local, fornecendo espaço para que se dê a migração das células do ligamento periodontal. (Adaptado de Lin et al, 2008)

A utilização deste procedimento baseia-se no facto de que o ligamento periodontal contém células progenitoras necessárias à sua reconstituição, bem como do cimento e do osso alveolar. No entanto, estudos a longo prazo têm indicado que os resultados obtidos através da utilização desta abordagem não se revelaram muito relevantes ou constantes. Os métodos histológicos utilizados para a confirmação dos processos de regeneração nem sempre mostram resultados favoráveis, contrariando muitas vezes o princípio da técnica que tem como objetivo excluir as células epiteliais e o tecido conjuntivo gengival (Bartold et al., 2000; Aichelmann-Reidy & Reynolds, 2008; Lin et al., 2008).

Outro fator que pode complicar a regeneração dos tecidos periodontais através da utilização desta técnica é o desenvolvimento de uma infeção após colocação da membrana. Adicionalmente, também não é possível ao clínico proteger o local da cirurgia do ambiente

oral. Se a ferida pudesse ser encerrada, como acontece para a regeneração óssea guiada, e a contaminação bacteriana pudesse ser prevenida, seria de esperar que a regeneração tecidual se revelasse muito mais previsível (Bartold et al., 2000; Cortellini & Tonetti, 2000).

3.6. FATORES DE CRESCIMENTO

Os fatores de crescimento são um grupo de agentes com características reguladoras, o que os torna muito apelativos como potenciais agentes regeneradores (Bartold et al., 2000).

Recentemente, devido às suas capacidades como a regulação da função imunitária, da proliferação e diferenciação de vários tipos celulares como epitélio, osso e tecidos moles, os fatores de crescimento e a sua aplicação nas superfícies radiculares com o objetivo de induzir a repopulação celular, têm sido investigados com maior detalhe (Qiao et al., 2016).

Diversos fatores têm sido alvo de estudos tanto *in vitro* como *in vivo*, dentro deste amplo grupo os fatores derivados de plaquetas e os fatores insulínicos I têm demonstrado melhorar a regeneração em estudos animais. O grupo de fatores de crescimento das proteínas ósseas morfogenéticas tem também demonstrado potencial no que diz respeito à estimulação de cimento e osso alveolar (Lin et al., 2008; Reckenbeil et al., 2017).

No entanto, atualmente ainda não existem estudos a longo prazo e bem controlados que permitam afirmar algo em concreto relativamente à utilidade clínica dos fatores de crescimento na regeneração periodontal na espécie humana. Certamente existe potencial na utilização de fatores de crescimento mas, tal como as abordagens mencionadas posteriormente, é possível que também se revelem insuficientes e pouco satisfatórios. O conhecimento dos processos de diferenciação das células constituintes do periodonto é limitado, portanto não é claro quais as células alvo destes fatores nem a estabilidade dos tecidos formados pela sua influência (Reckenbeil et al., 2017).

3.7. CÉLULAS ESTAMINAIS

As células estaminais são células capazes de se auto renovar e de se diferenciar em qualquer outro tipo celular. Estas desempenham um papel fundamental na hemostase dos tecidos ao longo do tempo, sendo responsáveis pela sua regeneração (Zhang et al., 2005; Mitsiadis & Graf, 2009; Chatzivasileiou et al., 2015).

Até à data, existem estudos descritivos e experimentais que apoiam a teoria de que se pode encontrar células estaminais tanto nos tecidos embrionários como nos tecidos adultos, sendo que já foram isolados seis tipos de células estaminais (Figura 9) (Coura et al., 2008; Lin et al., 2008).

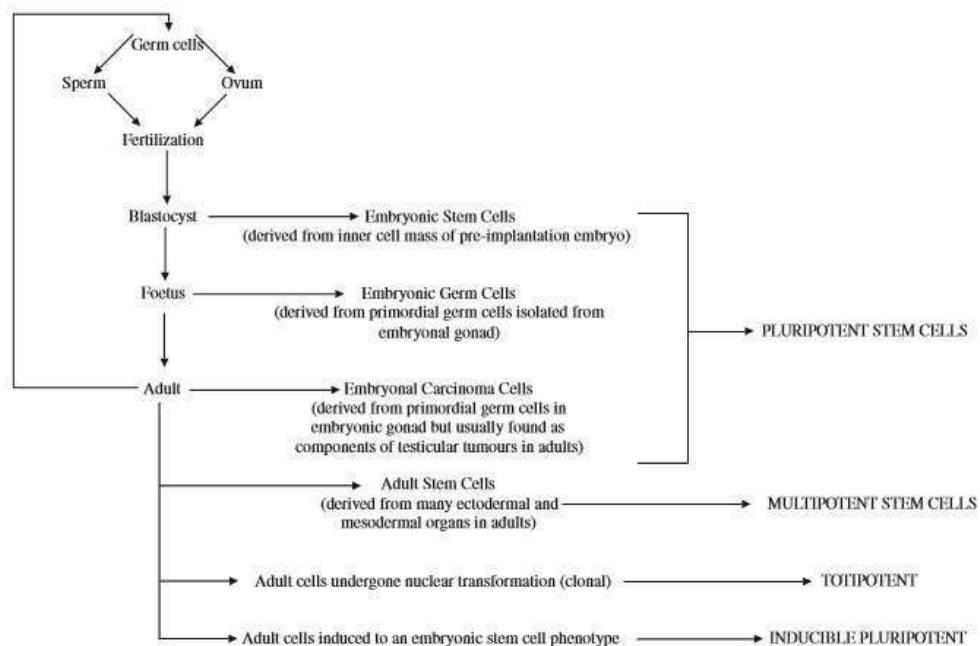


Figura 9 - Origem das populações de células estaminais. Dependendo do local, da etapa de desenvolvimento e da cultura, podem ser classificadas como pluripotentes, multipotentes, totipotentes ou com poder pluripotente indutível. (Adaptado de Lin et al, 2008)

Em 2004 foi reportado pela primeira vez o isolamento e identificação de células estaminais mesenquimais no periodonto humano e na polpa. Desde essa altura, têm sido realizados estudos para tentar compreender a função destas populações celulares e as suas interações com outras células, com o objetivo de estabelecer uma base para futuras aplicações clínicas no campo da periodontologia regenerativa (Lin et al., 2008; Catón et al., 2011; Hynes et al., 2012).

Em todos os estudos que foram realizados, quer em humanos, quer em animais, foi demonstrada a capacidade multipotente das células estaminais contidas no ligamento periodontal e na polpa dentária (Lin et al., 2008; Hynes et al., 2012).

A identificação de células estaminais em tecidos dentários pós-natais e a capacidade de isolar as mesmas, vão permitir inúmeros avanços na área da engenharia tecidual e na sua aplicabilidade na medicina dentária reconstrutiva (Coura et al., 2008; Lin et al., 2008).

3.8. ENGENHARIA TECIDULAR PERIODONTAL

Os avanços na compreensão da biologia da cicatrização tecidual e das tecnologias periodontais de regeneração são aplicados de forma a melhorar os resultados a longo prazo de dentes periodontalmente comprometidos (Lindhe & Lang, 2015).

Engenharia tecidual define-se como a reconstrução de tecidos vivos para uso como substitutos de tecidos ou órgãos perdidos ou danificados de organismos vivos, com fundamento na biologia celular, biologia do desenvolvimento e ciência dos biomateriais (Figura 10). Neste campo da ciência, que tem vindo a ser cada vez mais considerado pelos investigadores, desenvolvem-se técnicas para fabrico de novos tecidos com o objetivo de substituir os referidos tecidos (Bartold et al., 2016).

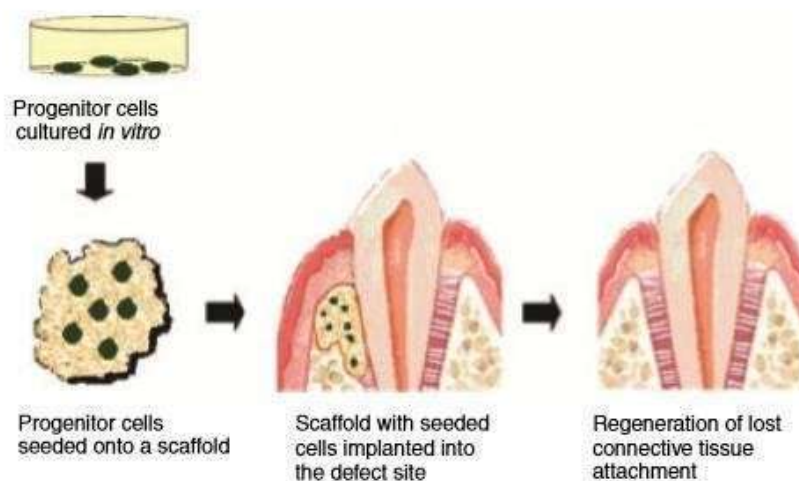


Figura 10 - Representação esquemática da engenharia tecidual periodontal. Uma matriz obtida através da engenharia tecidual *in vitro* (esquerda) contendo as células necessárias e moléculas de sinalização, colocada no defeito periodontal (direita) para promover a regeneração (Adaptado de Lin et al, 2008)

Ao contrário da regeneração tecidual guiada, que consiste na utilização de matrizes acelulares que são espontaneamente repopuladas pelo hospedeiro após implantação, a engenharia tecidual implica a implantação de células e matrizes cultivadas *in vitro* (Lin et al., 2008).

Para que a engenharia tecidual possa ter sucesso é necessária a interação de três componentes: as células obtidas através de cultura e implantadas que vão criar o novo tecido; um biomaterial que funcione como esqueleto ou matriz para as células; moléculas de sinalização biológica, que estimulem as células à formação do tecido pretendido (Osorio et al., 2017).

No periodonto, uma abordagem regenerativa com recurso à engenharia tecidual, implicaria a utilização das células com capacidade regeneradora que se encontram retidas no periodonto. Posteriormente essas células deveriam ser isoladas e ter capacidade de proliferação numa estrutura extracelular que depois seria implantada no defeito (Bartold et al., 2006; Chen et al., 2012).

Está claro que no processo de cicatrização periodontal é necessário o recrutamento de células progenitoras que tenham a capacidade de se diferenciar em células regenerativas especializadas. Seguidamente estas células devem proliferar e sintetizar componentes específicos do tecido conjuntivo que se pretende regenerar. Portanto, uma estratégia de engenharia tecidual que explore a capacidade das células contidas no periodonto poderia envolver a utilização das mesmas num modelo tridimensional e posterior implantação no local do defeito. Deste modo, a necessidade de recrutar células ao local da cicatrização é anulada, tornando os resultados mais previsíveis (Chen et al., 2012).

Através da aquisição de um estrutura tridimensional pré-fabricada com as células e sinalizações apropriadas poderá ser possível superar muitas das limitações que já foram descritas relativamente às técnicas regenerativas convencionais. Contudo, para que a engenharia tecidual periodontal venha a ser considerada uma técnica consensual, é necessário que uma diversidade de questões, relativamente à engenharia tecidual musculoesquelética na sua globalidade, sejam abordadas (Green et al., 2016; Osorio et al., 2017).

Os requisitos necessários para que uma técnica de engenharia celular se possa considerar bem sucedida são normalmente divididos em duas áreas principais: manutenção de uma cultura celular recolhida *in vivo*, que inclui as propriedades mecânicas da matriz, arquitetura geométrica e manutenção de espaço; funções biológicas da matriz desenhada como o recrutamento celular, possibilidade de neovascularização e aporte de fatores

morfogenéticos, regulatórios e de crescimento para a regeneração (Bartold et al., 2000; Chen et al., 2012).

3.8.1 CARACTERÍSTICAS DO MATERIAL IDEAL

Ao longo dos últimos 50 anos tem sido reconhecido e aceite que o crescimento ósseo se faz para um espaço tecidual adjacente desde que o espaço se mantenha e que o crescimento dos tecidos moles para esse mesmo espaço consiga ser evitado. Este fenómeno natural deve ser tido em conta como um acontecimento vantajoso quando consideramos a engenharia tecidual e a colocação de uma matriz produzida pela bioengenharia, para a regeneração (Bartold et al., 2000; Green et al., 2016).

Um material produzido através desta área deve ter uma forma e dimensão adequadas, para que a sua colocação no local do defeito seja possível e também para que o colapso dos tecidos, uma vez reposicionados, seja evitado. Portanto, o material deverá atuar de forma consistente com os princípios estabelecidos para a técnica de regeneração tecidual guiada e apresentar características semelhantes (Chen & Jin, 2010).

De forma a obter uma manutenção de espaço satisfatória, o material deve ser fácil de cortar ou moldar até se adquirir a forma desejada. A sua consistência deve ser tal que impeça o colapso dos tecidos moles para o local do defeito e deve permitir um manuseamento sem que haja alteração das suas propriedades (Chen & Jin, 2010; Chen et al., 2012).

Por outro lado, a arquitetura interna deve adotar uma forma que promova e potencie uma rápida colonização pelas células do fenótipo desejado e crescimento compatível com os tecidos a ser regenerados (Chen et al., 2012; Osorio et al., 2017).

Os materiais produzidos devem funcionar como barreira, excluindo o crescimento de tecidos não desejados, como epitélio ou tecido conjuntivo gengival, para o local do defeito mas também devem ser permeáveis e permitir o crescimento seletivo dos tecidos que se pretende regenerar. Para atingir este objetivo o desenho do material deve incorporar uma superfície externa com propriedades exclusivas, mas no seu interior deve apresentar propriedades condutoras e promotoras da formação de novos tecidos periodontais (Bartold et al., 2000; Green et al., 2016).

De novo, este objetivo vai coincidir com os desejados quando utilizada a técnica de regeneração tecidual guiada pois é desejável que o material seja capaz de impedir a

progressão de tecidos não desejados e ao mesmo tempo promover o crescimento, diferenciação e maturação de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar. Neste caso será benéfico ponderar a capacidade de selamento dos tecidos epiteliais aquando do processo de construção ou montagem deste novo material, visando que este não seja completamente excluído. Em vez disso, devem ser incluídos sinais que levem o tecido epitelial a formar de forma rápida um selamento biológico para que os eventos regenerativos mais delicados fiquem protegidos (Bartold et al., 2016).

A regeneração de tecidos com recurso à utilização de materiais obtidos através da engenharia tecidual está dependente da porosidade e da dimensão dos poros. Esta característica vai influenciar a ligação e incorporação celular e posteriormente, maturação dos tecidos (Bartold et al., 2016; Chen et al., 2012).

O conceito de biossegurança também deve estar presente aquando do processo de construção do material regenerador. Este não deve transmitir doenças, não deve induzir uma resposta inflamatória exacerbada e deve ser inerte em termos imunológicos (Bartold et al., 2000; Chen & Jin, 2010).

Em termos de biocompatibilidade, o material deve ser compatível com os tecidos a regenerar ou biodegradável permitindo a substituição pelos tecidos a ser regenerados (Lin et al., 2008; Osorio et al., 2017).

No peridonto seria desejável que se conseguisse um material de biodegradação lenta e substituição, concomitante, por tecido conjuntivo compatível com o ligamento periodontal, com novas fibras de colagénio inseridas no novo osso alveolar e cimento periodontal (Bartold et al., 2000).

O conhecimento relativo ao fenótipo das células periodontais com capacidade regenerativa tem vindo a aumentar, o que faz com que a recolha dessas células e consequentemente a sua cultura, se verifiquem hipóteses viáveis. A recolha destas células deve ser efetuada preferencialmente do hospedeiro contido, a capacidade de isolar as células progenitoras do cimento, do ligamento periodontal e do osso alveolar ainda está em desenvolvimento, bem como as técnicas necessárias à sua cultura (Bartold et al., 2016; Chen & Jin, 2010).

A matriz sintética deve ser reabsorvível, mas também deve ser constituída por um material com capacidade de adsorção de fatores de crescimento e diferenciação, integrinas, recetores celulares e outras moléculas com potencial regulador. As moléculas de sinalização necessárias ao processo de regeneração têm sido cada vez mais estudadas e,

através da engenharia tecidual, já é possível que estas sejam colocadas numa matriz sintética, no entanto, coloca-se em questão a localização onde estas moléculas vão atuar ponderando a hipótese da produção ectópica de determinados tecidos. O controlo e a restrição deste tipo de agentes deve ser imposto de modo a que o material produzido seja eficaz e seguro (Bartold et al., 2016).

III. CONCLUSÃO

A doença periodontal é uma patologia crônica que afeta uma grande parte da população mundial. O que se pretende, hoje em dia, nos países mais desenvolvidos, é que as comunidades sejam alertadas para esta condição e que se trabalhe no campo da prevenção, de modo a que as consequências sejam cada vez menos severas.

O pensamento atual sobre o tratamento da doença periodontal e das suas sequelas, tem vindo a focar-se mais na recuperação dos tecidos lesados em vez da simples eliminação das bolsas periodontais.

Ao longo dos últimos anos tem-se notado um grande aumento da investigação na área da periodontologia e, mais concretamente, na área da regeneração periodontal.

A regeneração periodontal é entendida como um processo em que a forma e função do cimento periodontal, do ligamento periodontal e do osso alveolar são reestabelecidas, sendo que verificação deve ser feita através de métodos histológicos.

Nem todos os métodos utilizados na prática clínica atual preenchem os requisitos necessários para serem considerados procedimentos regeneradores, focando a sua ação em um ou dois dos três tecidos periodontais que necessitam de ser regenerados.

A utilização de materiais de enxerto ou a associação dos mesmos a membranas tem vindo a ser estudada com frequência e a utilização destas técnicas na prática clínica passou a ser de uso regular. Os estudos realizados nesta área ainda não são consensuais no que diz respeito aos resultados obtidos. O sucesso destas terapias com intuito regenerativo ainda está muito dependente das características locais e do hospedeiro, o que não permite ao clínico utilizar estas técnicas com a previsibilidade ideal.

A aplicação de fatores de crescimento e de outros materiais com o objetivo de estimular os tecidos do paciente a formar uma nova inserção periodontal também é uma técnica que se tem revelado pouco previsível. A sua utilização está também muito dependente das características dos defeitos e da experiência do profissional.

Tendo em conta os materiais disponíveis à prática clínica, as suas limitações e a sua falta de previsibilidade é de esperar que sejam realizados mais estudos nesta área, para que num futuro próximo os clínicos possam ter acesso a um material para o tratamento das sequelas da doença periodontal e o utilizem com maior segurança no que diz respeito aos resultados obtidos.

IV. BIBLIOGRAFIA

- Aichelmann-Reidy, M. E., & Reynolds, M. A. (2008). Predictability of clinical outcomes following regenerative therapy in intrabony defects. *The Journal of Periodontology*, 79(March), 387–393. <https://doi.org/10.1902/jop.2008.060521>
- Akimoto, T., Fujiwara, N., Kagiya, T., Otsu, K., Ishizeki, K., & Harada, H. (2011). Establishment of Hertwig's epithelial root sheath cell line from cells involved in epithelial-mesenchymal transition. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 404(1), 308–312. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2010.11.112>
- Arzate, H., Zeichner-David, M., & Mercado-Celis, G. (2015). Cementum proteins: Role in cementogenesis, biomineralization, periodontium formation and regeneration. *Periodontology 2000*, 67(1), 211–233. <https://doi.org/10.1111/prd.12062>
- Barrientos, S., Brem, H., Stojadinovic, O., & Tomic-Canic, M. (2014). Clinical application of growth factors and cytokines in wound healing. *Wound Repair and Regeneration: Official Publication of the Wound Healing Society [and] the European Tissue Repair Society*, 22(5), 569–78. <https://doi.org/10.1111/wrr.12205>
- Bartold, P. M., Gronthos, S., Ivanovski, S., Fisher, A., & Hutmacher, D. W. (2016). Tissue engineered periodontal products. *Journal of Periodontal Research*, 51(1), 1–15. <https://doi.org/10.1111/jre.12275>
- Bartold, P. M., & McCulloch, C. A. (2013). Information generation and processing systems that regulate periodontal structure and function. *Periodontology 2000*, 63(1), 7–13. <https://doi.org/10.1111/prd.12037>
- Bartold, P. M., McCulloch, Christopher Narayanan, A., & Pitaru, S. (2000). Tissue engineering: a new paradigm for periodontal regeneration based on molecular and cell biology. *Periodontology*, 24, 253–269. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2240113.x>
- Bartold, P. M.; Walsh, Laurence J.; Narayanan, A. S. (2000). Molecular and cell biology of the gingiva. *Periodontology 2000*, 24, 28–55.
- Bartold, P. M., Xiao, Y., Lyngstaadas, S. P., Paine L., Mina, M. L., & Snead, M. L. (2006). Principles and applications of cell delivery systems for periodontal regeneration. *Periodontology*, 41, 123–135.
- Beertsen, W., McCulloch, C. A. G., & Sodek, J. (1997). The periodontal ligament: a unique, multifunctional connective tissue. *Periodontology 2000*, 13(1), 20–40. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1997.tb00094.x>
- Bosshardt, D. D. (2004). Are Cementoblasts a Subpopulation of Osteoblasts or a Unique Phenotype? *Critical Reviews In Oral Biology & Medicine*, 390–406.

- Bosshardt, D. D., & Sculean, A. (2009). Does periodontal tissue regeneration really work? *Periodontol 2000*, 51(ii), 208–219. <https://doi.org/PRD317> [pii]n10.1111/j.1600-0757.2009.00317.x
- Bosshardt, D. D. (2008). Biological mediators and periodontal regeneration: A review of enamel matrix proteins at the cellular and molecular levels. *Journal of Clinical Periodontology*, 35(SUPPL. 8), 87–105. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2008.01264.x>
- Bosshardt, D. D., Stadlinger, B., & Terheyden, H. (2015). Cell-to-cell communication - periodontal regeneration. *Clinical Oral Implants Research*, 26(3), 229–239. <https://doi.org/10.1111/clr.12543>
- Bright, R., Hynes, K., Gronthos, S., & Bartold, P. M. (2015). Periodontal ligament-derived cells for periodontal regeneration in animal models: A systematic review. *Journal of Periodontal Research*, 50(2), 160–172. <https://doi.org/10.1111/jre.12205>
- Bröseler, F., Tietmann, C., Hinz, A.-K., & Jepsen, S. (2017). Long-term results of periodontal regenerative therapy: a retrospective practice-based cohort study. *Journal of Clinical Periodontology*, (March), 520–529. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12723>
- Cairo, F., Carnevale, G., Buti, J., Nieri, M., Mervelt, J., Tonelli, P., ... Tonetti, M. (2015). Soft-tissue re-growth following fibre retention osseous resective surgery or osseous resective surgery: A multilevel analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(4), 373–379. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12383>
- Catón, J., Bostanci, N., Remboutsika, E., Bari, C. De, & Mitsiadis, T. A. (2011). Future dentistry: cell therapy meets tooth and periodontal repair and regeneration. *Regenerative Medicina Review Series*, 15(5), 1054–1065. <https://doi.org/10.1111/j.1582-4934.2010.01251.x>
- Chatzivasileiou, K., Kriebel, K., Steinhoff, G., Kreikemeyer, B., & Lang, H. (2015). Do oral bacteria alter the regenerative potential of stem cells? A concise review. *Journal of Cellular and Molecular Medicine*, 19(9), 2067–2074. <https://doi.org/10.1111/jcmm.12613>
- Chen, F., & Jin, Y. (2010). Periodontal Tissue Engineering and Regeneration: Current Approaches and Expanding Opportunities. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, 16(2), 15–19.
- Chen, F., Sun, H., Lu, H., & Yu, Q. (2012). Biomaterials Stem cell-delivery therapeutics for periodontal tissue regeneration. *Biomaterials*, 33(27), 6320–6344. <https://doi.org/10.1016/j.biomaterials.2012.05.048>
- Chen, J., Chen, G., Yan, Z., Guo, Y., Yu, M., Feng, L., ... Tian, W. (2014). TGF- β 1 and FGF2 Stimulate the Epithelial-Mesenchymal Transition of HERS Cells Through a MEK-Dependent Mechanism. *Journal of Cellular Physiology*, 229(11), 1647–1659. <https://doi.org/10.1002/jcp.24610>

- Cho, Moon-II; Garant, P. R. (2000). Development and general structure of the periodontium. *Periodontology 2000*, 24, 9–27.
- Cochran, David L., Wozney, J. M. (1999). Biological mediators for periodontal and bone regeneration. *Periodontology 2000*, 19(6). <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.1999.tb00146.x>
- Cortellini, T., & Tonetti, M. S. (2000). Focus on intrabony defects: guided tissue regeneration. *Periodontology 2000*, 22, 104–132. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2220108.x>
- Coura, G., Garcez, R., Mendes De Aguiar, C., & Magini, R. (2008). Human periodontal ligament: a niche of neural crest stem cells. *Journal of Periodontal Research*, (6), 531–536. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2007.01065.x>
- Ferraris, M. E. G., & Muñoz, A. C. (2009). *Histología, Embriología e Ingeniería Tisular Bucodental* (3rd editio). México: Panamericana.
- Hämmerle, C. H. F., & Giannobile, W. V. (2014). Biology of soft tissue wound healing and regeneration - Consensus Report of Group 1 of the 10th European Workshop on Periodontology. *Journal of Clinical Periodontology*, 41(November 2013), S1–S5. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12221>
- Huang, L., Salmon, B., Yin, X., & Helms, J. A. (2016). From restoration to regeneration: periodontal aging and opportunities for therapeutic intervention. *Periodontology 2000*, 72(1), 19–29. <https://doi.org/10.1111/prd.12127>
- Hynes, Kim; Menicanin, Danijela; Gronthos, Stan; Bartold, M. P. (2012). Clinical utility of stem cells for periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, 59(111), 203–227.
- Kobayashi, E., Fujioka-Kobayashi, M., Sculean, A., Chappuis, V., Buser, D., Schaller, B., ... Miron, R. J. (2017). Effects of platelet rich plasma (PRP) on human gingival fibroblast, osteoblast and periodontal ligament cell behaviour. *BMC Oral Health*, 17, 1–10. <https://doi.org/10.1186/s12903-017-0381-6>
- Komboli, M. G., Kodovazenitis, G. J., & Katsorhis, T. a. (2009). Comparative immunohistochemical study of the distribution of fibronectin in healthy and diseased root surfaces. *Journal of Periodontology*, 80(5), 824–32. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.080549>
- Lamont, R., & Somerman, J. (2000). Development and regeneration of the periodontium: parallel & contrasts. *Periodontology 2000*, 19, 8–20.
- Laurell, L., Gottlow, J., Zybutz, M., & Persson, R. (1998). Treatment of Intrabony Defects by Different Surgical Procedures. A Literature Review. *J Periodontol*, 69(3), 303–313.

- Lee, K. L., Corbet, E. F., & Leung, W. K. (2012). Survival of molar teeth after resective periodontal therapy - A retrospective study. *Journal of Clinical Periodontology*, 39(9), 850–860. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2012.01918.x>
- Lin, N. H., Gronthos, S., & Bartold, P. M. (2008). Stem cells and periodontal regeneration. *Australian Dental Journal*, 53(2), 108–121. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2008.00019.x>
- Lindhe, J., & Lang, N. P. (2015). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*. (J. Lindhe, N. P. Lang, T. Berglundh, W. V. Giannobile, & M. Sanz, Eds.) (Sixth Edit). Wiley Blackwell.
- Mariotti, A. (2002). Efficacy of Chemical Root Surface Modifiers in the Treatment of Periodontal Disease . A Systematic Review, 205–226.
- Miron, R. J., Sculean, A., Cochran, D. L., Froum, S., Zucchelli, G., Nemcovsky, C., ... Bosshardt, D. D. (2016). Twenty years of enamel matrix derivative: the past, the present and the future. *Journal of Clinical Periodontology*, 43(8), 668–683. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12546>
- Mitsiadis, T. A., & Graf, D. (2009). Cell fate determination during tooth development and regeneration. *Birth Defects Research Part C - Embryo Today: Reviews*, 87(3), 199–211. <https://doi.org/10.1002/bdrc.20160>
- Murillo, J., Wang, Y., Xu, X., Klebe, R. J., Chen, Z., Zardeneta, G., ... Steffensen, B. (2008). Advanced glycation of type I collagen and fibronectin modifies periodontal cell behavior. *Journal of Periodontology*, 79(11), 2190–9. <https://doi.org/10.1902/jop.2008.080210>
- Nanci, Antonio; Bosshardt, D. D. (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease *. *Periodontology 2000*, 40, 11–28.
- Park, J. C., Um, Y. J., Jung, U. W., Kim, C. S., Choi, S. H., & Kim, C. K. (2010). Histological characteristics of newly formed cementum in surgically created one-wall intrabony defects in a canine model. *Journal of Periodontal and Implant Science*, 40(1), 3–10. <https://doi.org/10.5051/jpis.2010.40.1.3>
- Pitaru, S.; McCulloch, CA; Narayanan, S. (1994). Cellular origins and differentiation control mechanisms during periodontal development and wound healing. *Journal of Periodontal Research*, 29, 81–94.
- Polimeni, G., Xiropaidis, A. V., & Wikesjö, U. M. E. (2006). Biology and principles of periodontal wound healing/regeneration. *Periodontology 2000*, 41(1), 30–47. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2006.00157.x>
- Qiao, J., Duan, J., Zhang, Y., Chu, Y., & Sun, C. (2016). The effect of concentrated growth factors in the treatment of periodontal intrabony defects. *Future Science OA*, 2(4), fsoa-2016-0019. <https://doi.org/10.4155/fsoa-2016-0019>

- Rao, S. M., Ugale, G. M., & Warad, S. B. (2013). Bone morphogenetic proteins: Periodontal regeneration. *North American Journal of Medical Sciences*, 5(3), 161–168. <https://doi.org/10.4103/1947-2714.109175>
- Rathe, F., Junker, R., Chesnutt, B. M., & Jansen, J. A. (2009). The effect of enamel matrix derivative (Emdogain) on bone formation: a systematic review. *Tissue Engineering. Part B, Reviews*, 15(3), 215–24. <https://doi.org/10.1089/ten.teb.2008.0065>
- Reckenbeil, J., Kraus, D., Stark, H., Rath-Deschner, B., J??ger, A., Wenghoefer, M., ... G??tz, W. (2017). Insulin-like growth factor 1 (IGF1) affects proliferation and differentiation and wound healing processes in an inflammatory environment with p38 controlling early osteoblast differentiation in periodontal ligament cells. *Archives of Oral Biology*, 73, 142–150. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2016.10.010>
- Ripamonti, U., & Renton, L. (2006). Bone morphogenetic proteins and the induction of periodontal tissue regeneration. *Periodontology 2000*, 41, 73–87.
- Sanz, M., Jepsen, K., Eickholz, P., & Jepsen, S. (2015). Clinical concepts for regenerative therapy in furcations. *Periodontology 2000*, 68(1), 308–332. <https://doi.org/10.1111/prd.12081>
- Sculean, Anton; Nikolidakis, Dimitris; Nikou, George; Ivanovic, Aleksandar; Chapple, Ian L. C.; Stavropoulos, A. (2015). Biomaterials for promoting periodontal regeneration in human intrabony defects : a systematic review. *Periodontology 2000*, 68, 182–216.
- Serhan, C. N. (2017). Treating inflammation and infection in the 21st century: New hints from decoding resolution mediators and mechanisms. *FASEB Journal*, 31(4), 1273–1288. <https://doi.org/10.1096/fj.201601222R>
- Smith, P. C., Martínez, C., Cáceres, M., & Martínez, J. (2015). Research on growth factors in periodontology. *Periodontology 2000*, 67(1), 234–250. <https://doi.org/10.1111/prd.12068>
- Sodek, J. M. M. D. (2000). Molecular and cellular biology of alveolar bone. *Periodontology 2000*, 24, 99–126.
- Song, A., Cai, J., Pan, K., & Yang, P. (2012). Pre-existing root cementum may promote cementoblast differentiation of human periodontal ligament cells. *Cell Proliferation*, 45(3), 249–258. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2184.2012.00815.x>
- Susin, Cristina; Fiorini, Tiago; Lee, Jaebum; De Stefano, Jamie A.; Dichinson, Douglas P.; Wikesjo, U. M. E. (2015). Wound healing following surgical and regenerative periodontal. *Periodontology 2000*, 65, 1–17. <https://doi.org/10.1111/prd.12057>
- Thesleff, I., & Sharpe, P. (1997). Signalling networks regulating dental development, 67, 111–123.

- Ugawa, Yuki; Yamamoto, Tadashi; Kawamura, Mari; Yamashiro, Keisuke; Shimoe, Masayuki; Tomikawa, Kazuya; Hongo, Shoichi; Maeda, Hiroshi; Takashiba, S. (2017). Rho-kinase Regulates Extracellular Matrix-mediated Osteogenic Differentiation of Periodontal Ligament Cells †. *Cell Biology International*, (February), 1–28.
- Xiong, J., Gronthos, S., & Bartold, P. M. (2013). Role Of The Epithelial Cell Rests Of Malassez In The Development, Maintenance And Regeneration Of Periodontal Ligament Tissues. *Periodontology* 2000, 63(1), 217–233. <https://doi.org/10.1111/prd.12023>
- Zhang, Y. D., Chen, Z., Song, Y. Q., Liu, C., & Chen, Y. P. (2005). Making a tooth: growth factors, transcription factors, and stem cells. *Cell Research*, 15(5), 301–16. <https://doi.org/10.1038/sj.cr.7290299>