

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVANÇOS TECNOLÓGICOS NA REGENERAÇÃO TECIDULAR GUIADA

Trabalho submetido por
Mathilde Lanusse-Cazale
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

julho de 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

AVANÇOS TECNOLÓGICOS NA REGENERAÇÃO TECIDULAR GUIADA

Trabalho submetido por
Mathilde Lanusse-Cazale
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutor Ricardo Castro Alves

julho de 2025

AGRADECIMENTO

Gostaria de começar por agradecer ao Prof. Doutor Ricardo Alves. Ao longo destes anos, as suas aulas despertaram o meu interesse e fizeram-me gostar da periodontologia. Foi graças à qualidade do seu ensino que senti vontade de me especializar nesta área. Agradeço também toda a ajuda e os conselhos que me deu durante a redação desta tese.

Quero igualmente agradecer ao Instituto Universitário Egas Moniz, que me permitiu, tal como a muitos outros estudantes estrangeiros, realizar o sonho de me tornar dentista. Graças ao ensino dos professores e ao espírito de entreajuda entre os alunos, tive a oportunidade de crescer, aprender e preparar-me para a profissão com que sempre sonhei.

Um agradecimento muito especial aos meus pais, que sempre me apoiaram ao longo de todo o meu percurso académico e da minha vida. Acreditaram em mim mesmo após o fracasso na PACES, em França, e confiaram ao permitir-me estudar em Portugal, numa língua que não era a minha. Foi graças ao seu apoio que consegui viver esta experiência tão rica e alcançar este diploma tão desejado. Sei bem os sacrifícios que fizeram por mim, e espero poder retribuir, primeiro com esta tese, e depois exercendo esta profissão com todo o empenho.

Por fim, quero agradecer à minha parceira Noa, que esteve ao meu lado desde o primeiro dia do primeiro ano. Na altura não imaginava que seria ela a acompanhar-me até ao fim, mas esteve sempre presente ao longo destes cinco anos. Apoiou-me nos momentos difíceis, nas dúvidas e no stress, e conseguimos sempre seguir em frente juntas. Tenho a certeza de que será uma excelente dentista e fico muito feliz por termos aprendido lado a lado e por nos termos apoiado mutuamente durante todo este percurso.

RESUMO

A regeneração tecidual guiada, introduzida em 1982, representou um avanço decisivo no tratamento periodontal, permitindo restaurar o ligamento periodontal, o cimento e o osso alveolar. Como base teórica, é essencial distinguir entre reparação, simples restabelecimento da continuidade tecidual e regeneração, que implica a restauração total da estrutura e função dos tecidos danificados.

Apesar da sua eficácia comprovada, a regeneração tecidual guiada apresenta limitações clínicas e resultados variáveis. Por isso, a investigação tem-se voltado para novas estratégias que complementem ou melhorem esta técnica.

Entre estas inovações, destaca-se a engenharia de tecidos e a impressão 3D introduzem uma abordagem revolucionária ao permitir a criação de *scaffolds* biomiméticos personalizados. Estes suportes estruturais favorecem a regeneração ao manter o espaço, estabilizar a ferida e controlar o processo de cicatrização periodontal de forma precisa. Paralelamente, surge a abordagem acelular, que utiliza agentes terapêuticos para atrair células estaminais endógenas, superando assim alguns dos riscos e limitações associados à terapia celular.

Outras estratégias complementares têm-se mostrado promissoras, como a aplicação de plasma rico em fatores de crescimento, que acelera a cicatrização dos tecidos orais e melhora o conforto pós-operatório dos pacientes.

Da mesma forma, as membranas poliméricas impregnadas com antibióticos visam prevenir infecções que é uma das principais causas de insucesso da regeneração.

Objetivo: O objetivo desta revisão da literatura é identificar e descrever novas técnicas e materiais utilizados em regeneração periodontal

Método: Foi efetuada uma pesquisa bibliográfica recorrendo às bases de dados Pubmed, Google scholar e Scopus. Critérios de inclusão: artigos em inglês; francês e português publicados entre Fevereiro de 2020 e Fevereiro de 2025

Palavras-Chave: Regeneração tecidual guiada; novas tecnologias; engenharia de tecidos; biomateriais.

ABSTRACT

Guided tissue regeneration, introduced in 1982, marked a decisive advancement in periodontal treatment by enabling the restoration of the periodontal ligament, cementum, and alveolar bone. From a theoretical standpoint, it is essential to distinguish between repair, the mere re-establishment of tissue continuity and regeneration, which involves the complete restoration of the structure and function of damaged tissues.

Despite its proven effectiveness, guided tissue regeneration presents clinical limitations and variable outcomes. Consequently, research has increasingly focused on new strategies to complement or enhance this technique.

Among these innovations, tissue engineering and 3D printing stand out by introducing a revolutionary approach that enables the creation of customised biomimetic *scaffolds*. These structural supports promote regeneration by maintaining space, stabilising the wound, and allowing precise control of the periodontal healing process.

In parallel, the acellular approach has emerged, which uses therapeutic agents to attract endogenous stem cells, thereby overcoming some of the risks and limitations associated with cell-based therapies.

Other complementary strategies have also shown promise, such as the application of plasma rich in growth factors, which accelerates the healing of oral tissues and enhances patients' postoperative comfort.

Similarly, polymeric membranes impregnated with antibiotics aim to prevent infections, one of the main causes of regeneration failure.

Objective: The objective of this literature review is to identify and describe new techniques and materials used in periodontal regeneration.

Method: A bibliographic search has been carried out using the PubMed, Google Scholar, and Scopus databases. Inclusion Criteria: Articles in English, French, and Portuguese published between February 2020 and February 2025.

Keywords: Guided tissue regeneration, new technologies, tissue engineering, biomaterials.

I	Introdução	9
II	Desenvolvimento	11
1	A periodontite	11
1.1	Descrição do periodonto.....	11
1.2	Princípios de reparação e regeneração	12
1.3	Mecanismos de cicatrização dos tecidos	12
2	Fundamentos teóricos da Regeneração tecidual guiada	14
2.1	A Cirurgia Regenerativa.....	14
2.1.1	Objetivos.....	14
2.1.2	Princípios biológicos	15
2.2	Situação atual e revisão das práticas tradicionais da RTG	16
2.2.1	Objetivos e princípios.....	16
2.2.2	Utilização clínicas e indicações	18
2.2.3	RTG + substitutos ósseos	20
2.2.4	Limitações.....	25
3	Avanços tecnológicos na RTG	26
3.1	As membranas.....	26
3.1.1	Os diferentes tipos de membranas	26
3.1.2	Membrana de barreira com suporte de magnésio.....	34
3.1.3	Membranas nanofibrosas.....	35
3.1.4	Membranas de barreira poliméricas revestidas com antibióticos	37
3.1.5	Membranas do âmnio-corion (ACMs).....	38
3.2	Aplicações de Biomateriais na RTG	39
3.2.1	Definição	40
3.2.2	O seu objetivo e aplicação a RTG	40
3.2.3	Inovação neste domínio	41
3.2.3.1	A combinação de biomateriais com moléculas bioativas e fatores de crescimento.....	41
3.2.3.2	Os hydrogeis.....	43
3.2.3.3	A proteína do cimento 1 para regeneração de cimento	44
3.2.3.4	Proteínas derivadas da matriz do esmalte.....	46
3.2.3.5	O fosfato tricálcico beta	47
3.2.3.6	Poli-lático-co-ácido glicólico	48
3.2.3.7	E7- Microsfera de gelatina nanofibrosa	49
3.3	Engenharia de tecidos	50
3.3.1	Definição	50
3.3.2	A sua aplicação à RTG.....	51

3.3.2.1	Os diferentes scaffolds.....	52
3.3.2.2	Moléculas Bioativas	54
3.3.3	Terapias celulares	55
3.3.3.1	Definição	55
3.3.3.2	Células estaminais dentárias (DSCs) na RTG	56
3.3.3.3	Fatores de crescimento	58
3.3.3.4	Limitações.....	61
3.3.4	Terapias acelular	61
3.3.4.1	Definição	61
3.3.4.2	Mecanismo endógeno de cicatrização ERM.....	62
3.3.4.3	Matriz extracelular descelularizada	62
3.3.4.4	Vesículas extracelulares	64
3.3.4.5	microRNAs	66
3.4	Impressão 3D.....	68
3.4.1	Definição	68
3.4.2	Os diferentes polímeros utilizados	70
3.4.3	Bio-impressão.....	71
3.4.4	Utilização com moléculas bioativas, medicamentos, terapia genética e células.....	72
3.4.5	Nanotecnologias e Scaffolds de nanocompósitos.....	73
3.4.6	Métodos de fabrico híbridos	75
3.4.7	Os diferentes tipos de Scaffolds	77
III	Conclusão	79
IV	Bibliografia.....	80

LISTA DE ABREVIATURES/SIGLAS

AM = Fabricação aditiva

β-TCP = Fosfato beta-tricálcico

BGMs = Microesferas de vidro bioativo

BMSC = Células estaminais mesenquimais da medula óssea

C-dECM = Cell-derived dECM

CAD = Conceção assistida por computador

CAL = Nível de inserção clínica

CEMP1 = Proteína do cimento 1

CM = Fabricação subtrativa

COM = Medida de resultado composto

d-PTFE = Politetrafluoroetileno de alta densidade

dECM = Matriz extracelular descelularizada

DFDBA = Enxerto ósseo liofilizado desmineralizado

DLP = Processamento digital por luz

DPSC = Células estaminais da polpa dentária

DSCs = Células estaminais dentárias

ECM = Matriz extracelular

EDC-NHS = 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide/N-hydroxysuccinimide

E7-NFG-MS = E7 - Microsfera de gelatina nanofibrosa

EMD = Derivados da matriz do esmalte

e-PTFE = Politetrafluoroetileno expandido

EVs = Vesículas extracelulares

FDA = Food and Drug Administration

FDDBA = Enxerto ósseo liofilizado

FDM = Fabrico por deposição de filamento fundido

FGF = Fator de crescimento de fibroblastos

FImp = Encerramento de furca

GF = Fatores de crescimento

GelMA = Gelatina metacrilolada

GECs = Queratinócitos gengivais

GMSCs = Células estaminais gengivais

HA = Hidroxiapatite

HANP = Hidroxiapatite sintetizada ambientalmente

HEMA = Poli-hidroxil-etil-metacrilato
HPMC = Hidroxipropilmetilcelulose
I-PRF = Injectable platelet-rich fibrin
IGF = Fatores de crescimento semelhantes à insulina
LDP = Ligamento periodontal
L-PRP = Plasma rico em plaquetas e leucócitos
Mg = Magnésio
MgO = Óxido de magnésio
miRNAs = microRNAs
MSCs = Células estaminais mesenquimais
MSNs = Nanopartículas de sílica mesoporosa
OFD = Desbridamento com retalho aberto
PCL = Poli-ε-caprolactona
PD = Profundidade de sondagem
PDGF = Fator de crescimento derivado de plaquetas
PDLSC = Células estaminais do ligamento periodontal
PDME = Proteínas derivadas da matriz do esmalte
PLA = Ácido poli-lático
PLCL = poli-lático-co-caprolactona
PLGA = Poli-lático-co-ácido glicólico
PMMA = Polimetilmetacrilato
PRF = Fibrina rica em plaquetas
PTFE = Politetrafluoroetileno
REC = Recessão gengival
rh-PDGF = Fator de crescimento humano recombinante derivado de plaquetas
RTG = Regeneração tecidual guiada
SLS = Sinterização seletiva por laser
SLM = Fusão seletiva por laser
T-dECM = Tissue-derived dECM
TGF-β = Fator de crescimento transformador beta
TiO₂ = Dióxido de titânio
VCAL = Nível de fixação vertical
VEGF = Fator de crescimento endotelial vascular
ZnO = Óxido de zinco

I Introdução

A periodontite é a sexta doença mais prevalente no mundo e a primeira causa de perda de dentes em adultos (Balta et al., 2021, p.798).

A periodontite é uma doença inflamatória multifatorial, que tem como principal causa a presença de um biofilme disbiótico. Esta doença provoca a destruição progressiva dos tecidos de suporte dos dentes, com redução do suporte dos tecidos periodontais, evidenciada pela perda de nível inserção clínica (CAL) e perda radiográfica do osso alveolar.

Isto faz da periodontite um importante problema de saúde pública porque, para além da sua elevada prevalência, as suas consequências, como a perda de dentes, terão um efeito deletério na função mastigatória e na estética dos pacientes. Isto pode levar a desigualdades sociais e a uma perda de qualidade de vida da população (Papapanou et al., 2018).

Para além disso, esta doença tem consequências financeiras importantes devido ao tratamento dentário necessário, devido à elevada proporção de edentulismo e disfunção mastigatória que pode causar. Consequentemente, pode ter um impacto significativo na saúde geral (Papapanou et al., 2018).

O biofilme dentário desempenha um papel central no desenvolvimento da maioria das doenças periodontais. Também está bem estabelecido que as respostas imunitárias e inflamatórias aos elementos do biofilme resultam nos sinais e sintomas caraterísticos destas condições. A intensidade desta interação é influenciada por vários fatores de risco, tanto genéticos como ambientais, que têm um grande impacto no aparecimento e desenvolvimento dos diferentes fenótipos da doença periodontal (Dentino et al., 2013).

A periodontite tem sido associada a diversas doenças sistémicas, como a doença arterial coronária, o acidente vascular cerebral e a diabetes (Liu et al., 2008).

O objetivo do tratamento da periodontite é prevenir a sua progressão, aliviar os sintomas, restaurar os tecidos danificados e ajudar os pacientes a manter uma saúde periodontal ideal (Graziani et al., 2017).

Para o conseguir, os tratamentos centram-se na infeção microbiana. O primeiro passo é o desbridamento mecânico não cirúrgico para remover o biofilme. Em alguns casos, este tratamento pode ser combinado com adjuvantes.

Numa segunda fase, se o tratamento não cirúrgico não for suficiente, pode ser necessário recorrer a um tratamento cirúrgico que permitirá aceder às lesões periodontais e assim corrigir os contornos gengivais e ósseos desfavoráveis, substituindo-os por uma arquitetura periodontal que facilitará a higienização desta zona, otimizando assim a manutenção periodontal a longo prazo.

Para manter a estabilidade periodontal, os tratamentos devem ser complementados por terapias de suporte periodontal (Dentino et al., 2013).

Embora os procedimentos não cirúrgicos padrão ajudem a retardar a progressão da doença periodontal, resultam frequentemente em recessão dos tecidos moles, o que pode afetar a aparência dos dentes anteriores. Geralmente, os tratamentos periodontais, quer sejam não invasivos ou invasivos, resultam em melhorias clínicas, com redução da profundidade de sondagem (PD) e ganho de CAL, mas a cicatrização é essencialmente conseguida através da criação de um epitélio juncional longo, com pouca ou nenhuma regeneração dos tecidos periodontais (Villar & Cochran, 2010).

A regeneração tecidual guiada (RTG) foi introduzida em 1982. Trata-se de uma técnica cirúrgica que revolucionou o tratamento periodontal. Como o seu nome indica, este princípio terapêutico tem como objetivo regenerar o ligamento periodontal (LDP), o cimento e o osso alveolar *ad integrum* (Melcher, 1969). O seu objetivo é restaurar completamente o aparelho de suporte do dente perdido (Villar & Cochran, 2010).

Os avanços na engenharia de tecidos ofereceram abordagens novas e inovadoras para a regeneração e reparação de defeitos periodontais, com base nos princípios da RTG e na utilização de fatores de crescimento (GF) e mediadores biológicos (Graziani et al., 2017). Embora a RTG tenha sido uma revolução no tratamento periodontal e tenha provado o seu valor, esta técnica tem, no entanto, mostrado as suas limitações e variabilidade nos resultados clínicos (Raveau & Jordana, 2020).

É por isso que estão a ser desenvolvidas tecnologias para complementar e melhorar a RTG que vamos estudar nesta revisão.

II Desenvolvimento

1 A periodontite

1.1 Descrição do periodonto

O periodonto é definido como o conjunto dos tecidos que suportam os dentes. O periodonto é um órgão complexo composto por tecido epitelial e tecido conjuntivo que é simultaneamente mole e mineralizado (Ivanovski, 2009).

É constituído por 4 elementos: a gengiva, o LDP, o cemento e o osso alveolar. Cada um destes quatro elementos difere em termos de localização, composição bioquímica e química e arquitetura dos tecidos. No entanto, apesar das suas respetivas distinções, estes quatro elementos unem-se para funcionar como um todo (Fiorellini et al., 2011).

No entanto, podemos distinguir duas partes dentro do periodonto: por um lado, a gengiva, cuja principal função é proteger os tecidos subjacentes. Por outro lado, temos o que se pode chamar de “aparelho de fixação”, que é constituído pelo LDP, cemento e osso alveolar (Fiorellini et al., 2011).

Podemos especificar que o cemento e o osso servem de suporte ou de fixação para as fibras do ligamento. O periodonto sofre alterações funcionais e morfológicas, nomeadamente com a idade. Num adulto, a gengiva saudável envolve o osso alveolar e a raiz dentária até um nível ligeiramente acima da junção cemento-esmalte. Anatomicamente, a gengiva divide-se em regiões marginais, inserida e interdentária. Apesar das diferenças substanciais entre os diferentes tipos de gengiva em termos de diferenciação, histologia e espessura com base nas suas funções, todas elas são concebidas com precisão para resistir eficazmente a danos mecânicos e microbiológicos (Fiorellini et al., 2011).

O LDP é um tecido conjuntivo especializado e flexível que se situa entre o cemento que cobre a raiz do dente e o osso que forma a parede do alvéolo. Trata-se de um tecido conjuntivo particularmente adaptado à sua função principal, que consiste em manter os dentes nos alvéolos e, simultaneamente, permitir-lhes suportar as poderosas forças da mastigação. Além disso, o LDP atua como um recetor sensorial essencial para

alinhamento correto da mandíbula durante a mastigação e, acima de tudo, serve de reserva celular para a homeostase e a regeneração/reparação dos tecidos (Nanci & Bosshardt, 2006).

O cimento é um tecido mesenquimal avascular e calcificado que reveste a parte externa da raiz do dente. Existem duas formas principais de cimento em humanos, o cimento acelular e o cimento celular, que diferem na sua localização e papel. O cimento acelular liga as fibras principais do LDP à superfície cervical da raiz e desempenha um papel crucial na adesão dentária e na função periodontal. O cimento celular cobre a parte apical da raiz e tem uma função adaptativa na manutenção da posição oclusal do dente (Foster, 2017).

A parte da maxila e da mandíbula que forma e mantém os alvéolos dentários é chamada de processo alveolar. Desenvolve-se durante a erupção dentária para fornecer uma âncora óssea para o LDP em desenvolvimento, desaparece gradualmente após a perda dos dentes. O processo alveolar é uma estrutura que depende dos dentes e a sua morfologia é, portanto, determinada pelo tamanho, forma, localização e função dos dentes (Fiorellini et al., 2011).

1.2 Princípios de reparação e regeneração

A regeneração pode ser definida como a reconstituição de uma parte do corpo que foi perdida na sequência de uma lesão. Esta reconstituição ou reprodução é idêntica, o que significa que a arquitetura dos tecidos perdidos e as suas funções são completamente restauradas.

No entanto, a reparação apenas envolve a cicatrização do tecido sem restaurar a função ou a antiga arquitetura do tecido lesado.

O objetivo da terapia periodontal regenerativa é, portanto, restaurar o periodonto à sua função e estrutura originais, ao passo que a reparação periodontal não pode restaurar o sistema de fixação do dente. Apenas permite a cicatrização, o que frequentemente resulta na formação de um epitélio juncional longo (Bosshardt & Sculean, 2009).

1.3 Mecanismos de cicatrização dos tecidos

A junção dento-gengival é uma estrutura essencial para a proteção do tecido ósseo e do LDP. Os tratamentos periodontais, sejam eles cirúrgicos ou não, podem danificar tecidos

já inflamados. A qualidade da cicatrização depende, por isso, fortemente das respostas celulares e moleculares que ocorrem após a intervenção (Aukhil, 2000).

A cicatrização começa com uma fase inflamatória: os vasos sanguíneos danificados provocam a formação de um coágulo rico em fibrina. Este coágulo atua como uma barreira protetora e também como um reservatório de fatores que atraem as células envolvidas na reparação dos tecidos.

Os neutrófilos e monócitos limpam a zona afetada eliminando bactérias e detritos, e, em seguida, os macrófagos libertam substâncias que estimulam o processo de reparação. Rapidamente, as células epiteliais migram para cobrir a ferida, enquanto novos vasos sanguíneos se formam e os fibroblastos produzem colagénio e outros componentes da matriz extracelular (ECM) (Grzesik & Narayanan, 2002).

A partir do quarto dia, forma-se tecido de granulação, composto por capilares, macrófagos, fibroblastos e tecido conjuntivo. Este tecido produz citocinas e outros estímulos que promovem a multiplicação celular e a produção da matriz. Os fibroblastos e a ECM atuam de forma coordenada para apoiar a regeneração (Aukhil, 2000).

Na fase final, este tecido é substituído por um tecido mais organizado e resistente. Caso o organismo não consiga regenerar totalmente a estrutura original, forma-se uma cicatriz fibrosa. Todo este processo é regulado por substâncias naturais que promovem ou limitam a cicatrização.

Resumindo, a cicatrização periodontal é um processo complexo, mas bem coordenado, que depende da resposta do corpo à lesão, da migração e multiplicação celular, e da reconstrução progressiva dos tecidos afetados (Aukhil, 2000).

2 Fundamentos teóricos da Regeneração tecidual guiada

2.1 A Cirurgia Regenerativa

2.1.1 Objetivos

Nas últimas décadas, a regeneração periodontal tem sido um dos tópicos mais amplamente discutidos em periodontologia, atraindo a atenção de investigadores e clínicos (Cirelli et al., 2021, p1).

O principal objetivo da terapia periodontal é tratar a infecção causada pelo biofilme disbiótico, a fim de travar ou, pelo menos, abrandar a perda de inserção e a perda óssea, prevenindo assim a perda de dentes. O tratamento é considerado eficaz e bem-sucedido quando se verifica uma redução clínica da inflamação e, por conseguinte, uma resolução da supuração e uma redução da hemorragia à sondagem, bem como uma redução da (PD), o que indica uma redução das bolsas. Para que o tratamento seja bem-sucedido, é também necessário que exista um ambiente dento-gengival que permita a adoção de boas medidas de higiene oral. Idealmente, estes resultados devem também ser acompanhados por um ganho ósseo radiográfico e por um ganho de CAL (Jepsen et al., 2023).

A cirurgia periodontal regenerativa é definida como um conjunto de técnicas cirúrgicas especificamente concebidas para preservar os tecidos periodontais. As cirurgias são seguidas da aplicação de vários biomateriais concebidos para facilitar ao máximo a regeneração dos tecidos perdidos. Estas cirurgias permitem obter reduções da (PD) e um ganho de CAL, bem como uma recessão gengival limitada. Estas cirurgias podem assim melhorar significativamente o prognóstico a longo prazo dos dentes com defeitos infraósseos ou lesões de furca (Jepsen et al., 2023).

Podemos, portanto, resumir que a regeneração periodontal consiste na restauração do LDP, cimento e osso alveolar. A regeneração periodontal assenta em técnicas que visam regenerar o tecido danificado em torno de dentes periodontalmente comprometidos. O processo regenerativo visa a utilização de estruturas, células e GF para aumentar a atividade biológica (Mancini et al., 2021).

Para o conseguir, graças a uma melhor compreensão do processo de cicatrização dos tecidos, ao longo dos anos ocorreu gradualmente uma transição da cirurgia ressetiva para

a cirurgia regenerativa. Esta transição foi possível graças ao desenvolvimento de biomateriais, instrumentos e técnicas que permitiram uma verdadeira regeneração dos tecidos e a formação de um novo LDP funcional (Cho et al., 2021).

2.1.2 Princípios biológicos

Com base em observações clínicas e em crânios humanos, os defeitos ósseos causados pela doença periodontal podem ser divididos em dois tipos principais: defeitos supracrestais e defeitos subcrestais.

- Defeitos supracrestais ocorrem quando a base da bolsa periodontal está acima da crista óssea.
- Defeitos subcrestais (ou infra-ósseos) acontecem quando essa base está abaixo da crista óssea (Siaili et al., 2018).

Os defeitos infra-ósseos podem ser:

- Intraósseos, quando afetam apenas um dente
- Cratériformes, quando atingem igualmente dois dentes adjacentes (Siaili et al., 2018).

Um defeito infra-ósseo pode ser classificado, de acordo com o número de paredes ósseas remanescentes, em três categorias: defeitos de uma parede, de duas paredes e de três paredes (Siaili et al., 2018).

As lesões de furca também são consideradas defeitos periodontais. Eles são classificados de acordo com a classificação proposta por Hamp et al (1975) que é a mais simples de implementar clinicamente. Ela divide as lesões de furca em três graus.

- O grau I corresponde a uma perda óssea horizontal que não ultrapassa um terço da largura do dente.
- O grau II corresponde a uma perda óssea horizontal que excede um terço da largura do dente, mas não envolve toda a largura da zona de furca.
- O grau III corresponde à destruição óssea de todo o osso interradicular (defeito de lado a lado) (Siaili et al, 2018, p28).

Para que a regeneração periodontal ocorra, tem de haver a formação de uma nova inserção na superfície da raiz do dente previamente exposta a agentes patogénicos, o que implica a regeneração prévia das fibras do LDP, bem como a inserção destas fibras no cimento que foi formado na superfície da raiz. Está provado que nem as células do tecido

conjuntivo gengival nem as células do osso alveolar têm a capacidade de formar uma ligação deste tipo. Por outro lado, se forem as células do LDP a repovoar a superfície da raiz, pode formar-se uma nova ligação de tecido conjuntivo que inclui um novo cimento com fibras de colagénio inseridas. Em conclusão, é o LDP que permite a regeneração, sendo por isso crucial neste processo (Ivanovski, 2009).

Para isso, as células progenitoras do ligamento devem migrar para a superfície desnudada da raiz dentária. Aí devem fixar-se, proliferar e formar um aparelho de fixação fibroso, organizado e funcional que se insere no cimento neoformado. No entanto, as células progenitoras do osso também devem migrar para o mesmo local e em sincronia com as células do LDP.

O princípio de regeneração periodontal baseia-se, portanto, no facto de as células saudáveis remanescentes, ou as que são atraídas para a zona de cicatrização, terem a capacidade de promover a regeneração. No entanto, é complicado obter clinicamente condições que favoreçam o repovoamento seletivo por células do LDP (Ivanovski, 2009).

2.2 Situação atual e revisão das práticas tradicionais da RTG

2.2.1 Objetivos e princípios

A RTG é um procedimento representativo da cirurgia regenerativa no local periodontal comprometido e é definida como: “procedimentos com o objetivo de regenerar estruturas periodontais perdidas através de uma resposta tecidual diferencial” (Cho et al, 2021, p 6).

Nos anos 80, estudos hoje considerados fundamentais provaram que apenas as células do LDP eram capazes de promover a regeneração periodontal e não as células do osso ou do tecido conjuntivo. Estes estudos chegaram a esta conclusão, em particular, a partir da observação de que a cirurgia periodontal convencional deixava a superfície do dente em contacto com o osso e o tecido conjuntivo, com a formação de um epitélio juncional longo, anquilose ou reabsorção radicular (Hägi et al, 2014).

Em princípio, as lesões periodontais quer se trate de tecido mole ou duro não podem ser restauradas à sua estrutura original através de reparação. Para uma regeneração efetiva, as células capazes de produzir cimento, LDP e osso devem deslocar-se para a área defeituosa e desencadear o potencial de diferenciação a partir de células progenitoras. Na prática, porém, são as células epiteliais que se deslocam mais rapidamente para o local da

lesão. Como são as primeiras a chegar, vão inibir a diferenciação e a proliferação das células progenitoras do cemento, LDP e do osso. Podemos então dizer que a reparação é naturalmente superior ou, pelo menos, mais rápida do que a regeneração. É por isso que foi introduzido o conceito de regeneração tecidual “guiada”, para contrariar a reparação e abrir caminho à regeneração. Através de uma barreira, podemos favorecer a repopulação, a proliferação e a diferenciação seletiva das células. Estas barreiras são, de facto, membranas, que podem ser reabsorvíveis ou não reabsorvíveis, que servem para impedir que o tecido conjuntivo e as células epiteliais penetrem no local do defeito, para que a osteogénese e a regeneração do LDP possam ter lugar. A membrana cria um espaço que favorece a vascularização e o crescimento celular, atua como uma barreira que impede a invasão do espaço por células ou bactérias indesejáveis e proporciona um ambiente propício à cicatrização, contribuindo assim para estabilidade do coágulo sanguíneo e salvaguardando a interface entre a superfície da raiz e o tecido de cicatrização (Hägi et al, 2014).

De facto, para além da origem das células responsáveis pela regeneração, existe um outro fator que influencia o potencial de regeneração de um defeito periodontal, nomeadamente o espaço disponível, que deve ser suficiente para que o processo de regeneração ocorra. Tanto o espaço disponível como a estabilidade do coágulo sanguíneo são fatores cruciais que têm um grande impacto no resultado da cirurgia regenerativa (Hägi et al, 2014).

Historicamente, têm sido utilizados diferentes tipos de membranas para preservar o espaço entre a lesão e a superfície radicular, de forma a promover o repovoamento celular do LDP, bem como a multiplicação e implantação de LDP e estruturas ósseas (Siaili et al, 2018).

No entanto, qualquer que seja o tipo de membrana utilizado, todas elas devem satisfazer determinados critérios que são:

- Integração tecidual - O objetivo da integração tecidual é evitar o crescimento epitelial rápido na superfície exterior do material ou o encapsulamento do material, e assegurar a estabilidade do retalho sobreposto.
- Exclusão celular - O material deve atuar como uma barreira para evitar que tipos de células indesejáveis entrem no espaço isolado adjacente à superfície da raiz.
- Facilidade de manuseamento clínico - O material deve ser fornecido em configurações que sejam fáceis de cortar e aplicar.

- A criação de um espaço - O material de barreira é capaz de criar e manter um espaço adjacente à superfície da raiz. Isto permite o crescimento do tecido do LDP.
- Biocompatibilidade - O material não deve provocar uma resposta imunitária, sensibilização ou inflamação crónica que possa interferir com a cicatrização e representar um risco para o paciente (Sam & Pillai, 2014, p14).

2.2.2 Utilização clínicas e indicações

A grande maioria dos estudos clínicos envolvendo a RTG identifica benefícios significativos no tratamento de defeitos infraósseos e de furcas mandibulares Classe II. O tratamento de furcas Classe III com RTG não é apoiado pela literatura (Ivanovski, 2009).

Uma revisão sistemática comparou os resultados clínicos, radiográficos e relatados pelos pacientes em defeitos infraósseos tratados com cirurgia regenerativa versus o desbridamento com retalho aberto (OFD). Este estudo incluiu não só a RTG mas também a utilização de derivados da matriz do esmalte (EMD), e o preenchimento ósseo ou por substitutos, os GF ou combinações destes métodos.

As medidas de desfecho incluíram: o ganho de CAL, a PD, a perda dentaria, a redução da recessão gengival (REC) e o ganho ósseo radiográfico. Os resultados obtidos foram os seguintes:

- Os procedimentos regenerativos melhoraram o ganho de CAL, a redução de PD e o ganho ósseo em comparação com o OFD isolado, com heterogeneidade moderada a substancial.
- A utilização de EMD resultou num maior ganho de CAL, redução da PD e aumento ósseo em comparação com o OFD isolado, com uma heterogeneidade substancial a considerável.
- O OFD + fibrina rica em plaquetas (PRF) resultou num maior ganho de CAL e numa maior redução da PD em comparação com o OFD, com uma heterogeneidade substancial a considerável.
- Os estudos parecem mostrar uma maior probabilidade de encerramento da bolsa para os procedimentos RTG em comparação com o OFD isolado.
- Os procedimentos regenerativos, principalmente EMD ou membranas, melhoraram os resultados clínicos 12 meses após a cirurgia em comparação com o OFD isolado.

O EMD e a RTG são o *gold standard* para o tratamento cirúrgico de defeitos infraósseos profundos, que não foram resolvidos após a conclusão da terapia não cirúrgica (Nibali et al., 2020).

Uma outra revisão sistemática comparou as diferenças entre o desempenho clínico da RTG no tratamento de defeitos de furca e o OFD. De facto, os defeitos de furca representam um desafio para o clínico devido à sua anatomia, à sua acessibilidade e à complexidade da cicatrização. O objetivo desta revisão sistemática foi avaliar o desempenho e o valor acrescentado das técnicas regenerativas cirúrgicas em termos de perda de dentes, encerramento de furca (FImp), ganho de nível ósseo horizontal, aumento do nível de fixação vertical (VCAL), CAL e PD de dentes afetados por defeitos de furca relacionados com a periodontite, pelo menos 12 meses após a cirurgia. As conclusões deste estudo foram as seguintes:

- A probabilidade de obter FImp é significativamente maior para as técnicas regenerativas do que para o OFD.
- As técnicas regenerativas coadjuvantes conduzem a um ganho significativo de CAL, VCAL e redução de PD em comparação com a OFD.
- Não é possível definir *um gold standard* no tratamento regenerativo de furcas de classe II.

Com base nos dados disponíveis, o encerramento da furca após a terapia regenerativa não pode ser considerado previsível (Jepsen et al., 2019).

A classificação de 2018 das doenças e condições periodontais criou o conceito de estabilidade periodontal quando a PD é inferior ou igual a 4 mm sem hemorragia à sondagem (Thayil et al., 2022).

Tradicionalmente, têm sido utilizadas medidas surrogadas para avaliar o resultado clínico da terapia periodontal regenerativa (CAL e PD). Um estudo recente investigou um novo critério de sucesso para o tratamento periodontal, a medida de resultado composto (COM), que incorpora, para além dos critérios de sucesso habituais, como o ganho de CAL, a redução de PD e da REC. Este estudo compara estes resultados entre pacientes que foram submetidos a RTG e pacientes que foram submetidos a desbridamento com OFD, com um seguimento a seis meses (Thayil et al., 2022). A cirurgia com retalho de acesso para tratar defeitos infraósseos profundos mostrou um ganho médio ponderado de CAL de 1,65 mm enquanto os doentes submetidos a RTG apresentaram um ganho

adicional de CAL de 0,82 mm. Todas as localizações tratadas com RTG apresentaram um ganho de CAL estatisticamente significativo e uma redução da PD aos 6 meses de avaliação pós-tratamento (Thayil et al., 2022).

Para além disso, os resultados desta investigação mostram que a combinação do tratamento de defeitos intraósseos com RTG e um xenoenxerto resultam num ganho significativo de CAL após 6 meses, em comparação com o OFD isolado. Em ambos os grupos, o encerramento da bolsa foi semelhante. Os fatores decisivos para o encerramento da bolsa incluíram a PD inicial e o índice da placa. Não houve diferença significativa após 6 meses nas taxas de sucesso e fracasso do tratamento entre os dois grupos, calculadas usando o COM (Thayil et al., 2022).

Outros estudos demonstraram que a utilização de biomateriais, tais como EMD, membranas de barreira ou materiais de enxerto, proporcionam um ganho adicional de CAL em comparação com a cirurgia de retalho.

2.2.3 RTG + substitutos ósseos

O preenchimento ósseo é definido como a restauração clínica do tecido ósseo num defeito periodontal tratado. O preenchimento ósseo não se refere à presença ou ausência de evidência histológica de uma nova ligação do tecido conjuntivo ou da formação de um novo LDP (Wang et al., 2005).

Em paralelo com o acesso cirúrgico, durante a RTG podem ser adicionados osso ou substitutos ósseos ao defeito periodontal para promover a regeneração periodontal (Ivanovski, 2009).

Esta associação com substitutos ósseos baseia-se na necessidade pontual de suporte da membrana (Cirelli et al., 2021).

O osso é um tecido muito interessante porque é capaz de se regenerar graças à sua capacidade de autorrenovação. O osso é, portanto, um órgão dinâmico que sofre uma remodelação constante da sua estrutura para preservar a sua função. No entanto, na realidade clínica, existem situações em que os doentes apresentam dificuldades de cicatrização óssea. Por conseguinte, é necessária uma intervenção cirúrgica para regenerar o tecido danificado. Durante estas operações, os cirurgiões utilizam enxertos ósseos (Battafarano et al., 2021).

O enxerto ósseo é um processo dinâmico que é considerado bem-sucedido quando cicatriza, se incorpora no tecido, revasculariza e assume a forma desejada (Balaji et al., 2020).

O enxerto ósseo pode ser realizado com materiais ósseos naturais ou sintéticos, que são implantados para preencher o espaço da lesão e produzir a osteogênese (Zhang & Liu, 2024).

Os enxertos ou substitutos ósseos podem, portanto, ter um impacto positivo nos níveis ósseos, aumentar os níveis de inserção e reduzir a PD em comparação com o OFD (Cirelli et al., 2021).

Os enxertos ósseos são uma boa opção para tratar a perda óssea devida à doença periodontal. Os enxertos ósseos devem cumprir determinados critérios para serem tão eficazes quanto possível: devem provir de um local onde seja possível remover tecido suficiente sem danificar a área doadora, devem ter a capacidade de estimular o crescimento ósseo, não devem causar uma reação imunitária do hospedeiro, devem promover uma revascularização rápida, devem ter uma morbidade mínima e, por último, o osso deve ser capaz de substituir completamente o enxerto, tendo a mesma quantidade e qualidade que o osso original do hospedeiro (Ashfaq et al, 2024).

Os materiais utilizados no enxerto ósseo devem também ser capazes de facilitar a regeneração óssea através de determinados mecanismos que são:

- Osteogênese: O enxerto tem células que funcionam como sementes para o crescimento contínuo do tecido, formando uma matriz óssea.
- Osteoindução: O enxerto pode libertar fatores e sinais bioquímicos que estimulam as células a formar novo osso.
- Osteocondução: O enxerto funciona como um suporte sobre o qual o osso do hospedeiro se desenvolve (Alqahtani, 2023).

Uma revisão sistêmica avaliou exaustivamente os resultados clínicos obtidos pelos enxertos ósseos e substitutos ósseos na regeneração de defeitos infraósseos e de furca.

Esta revisão apresenta dados de 17 estudos sobre defeitos de furca e 49 ensaios clínicos randomizados sobre defeitos intraósseos. Para o tratamento de defeitos intraósseos, os autores constataram que os enxertos ósseos apresentam um maior ganho de CAL e

redução da PD em comparação com os procedimentos de OFD. Não foram observadas variações nos resultados clínicos entre os diferentes tipos de materiais utilizados. Além disso, os autores concluem que os resultados obtidos com a associação de enxertos com o uso de uma membrana mostram um aumento no nível de CAL e uma diminuição na PD em comparação com enxertos isolados. No tratamento de defeitos de furca, alguns benefícios clínicos têm sido observados para o tratamento de furca classe II. No entanto, a falta de comparações homogêneas tem dificultado uma avaliação definitiva (Reynolds et al., 2003).

Existem diferentes tipos de materiais de enxerto: autógenos, alógenos, xenogênicos e materiais aloplásticos (Ivanovski, 2009).

Enxertos autógenos:

Um enxerto autógeno refere-se ao enxerto proveniente do mesmo indivíduo (Ivanovski, 2009).

Os enxertos autógenos são considerados o *gold standard* devido à sua capacidade de promover a osteogênese, a osteocondução e a osteoindução, bem como a ausência de uma reação adversa a um corpo estranho (Mancini et al., 2021).

Os enxertos autógenos têm, portanto, certas vantagens, como a sua capacidade osteogénica e o facto de não apresentarem qualquer risco de transmissão de doenças. Por outro lado, apresentam também algumas desvantagens, nomeadamente a necessidade de uma segunda cirurgia num segundo local, o que aumenta o risco de complicações e de dor pós-operatória para o paciente, e a disponibilidade limitada, o que dificulta a sua utilização quando o defeito ósseo é grande.

Quando o defeito ósseo é significativo, o enxerto é frequentemente colhido em locais extra-orais (Mancini et al., 2021).

Os principais locais extra-orais são o osso esponjoso e o osso ilíaco, uma vez que têm um excelente potencial osteogénico e induzem a regeneração óssea e a reinserção das fibras.

Os enxertos ilíacos podem ser utilizados frescos ou congelados, no entanto, os primeiros podem causar reabsorção radicular.

Alguns estudos de caso sugerem que o preenchimento ósseo e a regeneração parcial podem ocorrer após a utilização de enxertos de osso esponjoso ilíaco autógeno em combinação com medula óssea. No entanto, os problemas na obtenção de material de

enxerto e o risco de reabsorção radicular associado à utilização de enxertos frescos têm limitado a sua aplicação em contextos clínicos (Wang et al., 2005).

Os enxertos intra-orais são retirados da tuberosidade maxilar, de áreas alveolares edêntulas e de áreas retro molares. Com enxertos autógenos, quase não há reação inflamatória, o que permite uma revascularização rápida. Existe uma potencial libertação de GF e de diferenciação contidos nos enxertos (Balaji et al., 2020).

As análises histológicas de enxertos autógenos são baseadas em relatos de casos. Os autores apresentaram evidências histológicas de regeneração e reinserção de tecido conjuntivo após esses procedimentos, e estudos histológicos de cicatrização após procedimentos de enxerto também mostraram a presença de um epitélio juncional longo entre o osso alveolar regenerado e a superfície radicular. Deste modo, os estudos indicam que a presença clínica de preenchimento ósseo não é necessariamente um indicador fiável da regeneração histológica de uma inserção periodontal após procedimentos regenerativos (Wang et al., 2005).

Enxertos ósseos alogénicos:

Os enxertos alogénicos são derivados indivíduos da mesma espécie, geneticamente diferentes (Ivanovski, 2009, p 120).

Ao contrário dos enxertos autógenos, a vantagem dos enxertos alogénicos é a eliminação de um segundo local cirúrgico e a disponibilidade de tecido, enquanto as desvantagens incluem o risco de uma reação de corpo estranho e o risco de transmissão de doenças, apesar do recente estabelecimento de protocolos rigorosos para minimizar este risco. No entanto, os enxertos alogénicos são designados pelos cientistas como recursos seguros para a técnica de regeneração, uma vez que podem funcionar como biomateriais osteocondutores ou osteoindutores contendo proteínas na sua matriz. A descalcificação do enxerto alogénico leva à exposição das proteínas morfogénicas ósseas (BMPs), que são moléculas eficazes na regeneração óssea, pois estimulam a formação de novo osso. Embora as BMPs promovam a regeneração óssea, a sua exposição após o enxerto alogénico tem sido associada a um aumento da reabsorção óssea (Mancini et al., 2021). Isto significa que, quando os doentes são acompanhados após a implantação de enxertos alogénicos, perde-se mais osso do que o esperado, o que pode constituir um problema

para a resistência e durabilidade do enxerto. Além disso, a disponibilidade de enxertos alogénicos é limitada em alguns países por razões legais (Mancini et al., 2021).

A utilização de enxertos alogénicos no tratamento periodontal estende-se pelas últimas três décadas. É comumente utilizado numa de duas modalidades: enxerto ósseo liofilizado (FDBA) e enxerto ósseo liofilizado desmineralizado (DFDBA).

Os dois tipos de material de enxerto atuam através de mecanismos distintos. O FDBA atua como suporte osteocondutor e induz a reabsorção quando inserido em tecido mesenquimal. O DFDBA também fornece uma superfície osteocondutora mas atua também como uma fonte de fatores osteoindutores. Quando colocado em osso bem vascularizado, estimula a migração, a fixação e a osteogénese das células mesenquimatosas. Além disso, quando é inserido num tecido que normalmente não formaria osso, leva à criação de osso endocondral (Committee on Research, Science and Therapy of the American Academy of Periodontology., 2001).

Xenoenxertos:

Um xenoenxerto, também conhecido como heteroenxerto, é um enxerto que provém de um dador de uma espécie diferente (Wang et al., 2005).

No domínio dentário, o osso bovino desproteínizado, é a fonte mais frequentemente utilizada para materiais de xenoenxerto. O processo de transformação do osso bovino envolve um recozimento gradual seguido de um tratamento químico à base de NaOH para obter um material poroso de hidroxiapatite (HA), composto unicamente pelos elementos inorgânicos presentes no osso bovino. A estrutura porosa obtida é muito semelhante à do osso humano, capaz de fornecer um suporte mecânico eficaz e promover a cicatrização óssea através da osteocondução. A estrutura porosa proporciona uma grande área de superfície que estimula a angiogénese e promove a formação de novos vasos sanguíneos, ajudando a aumentar a massa óssea (Zhao et al., 2021).

Um estudo de caso investigou a utilização de um xenoenxerto de osso bovino em quatro pacientes voluntários, cada um dos quais com pelo menos um dente a ser extraído devido a periodontite avançada. O procedimento cirúrgico envolveu o descolamento de um retalho, desbridamento dos tecidos moles, estabelecimento de um entalhe no cálculo como marco histológico, alisamento radicular, aplicação de um xenoenxerto bovino e de uma membrana reabsorvível, e encerramento do retalho. O exame histológico revelou a formação de novo osso, novo cemento e um LDP coronal ao corte de referência em três

das quatro amostras. Esta investigação demonstra que a regeneração periodontal pode ser conseguida após a utilização de um xenoenxerto bovino (Mellonig, 2000).

Enxertos aloplásticos:

Um enxerto aloplástico é um implante sintético ou um material estranho inerte inserido num tecido (Wang et al., 2005 p 1604).

Experiências *in vivo* em ratos, miniporcosp e humanos confirmaram que os materiais sintéticos demonstram um comportamento biológico superior no processo de formação óssea.

Apesar de os enxertos aloplásticos não terem o poder de gerar e induzir a formação óssea, têm a capacidade de promover a osteocondução, estimulando o crescimento de novo osso com o mínimo de morbilidade. Garantem também uma maior estabilidade dimensional e um fornecimento adequado de material com capacidade de retenção de volume, o que promove a infiltração e remodelação celular, minimizando ou eliminando o risco de infeção.

Os implantes aloplásticos são uma alternativa económica capaz de promover o crescimento ósseo, permitindo aos profissionais contornar as desvantagens associadas aos transplantes de osso natural. Na medicina dentária regenerativa, os enxertos aloplásticos frequentemente utilizados incluem HA não porosa, cimento de HA, HA porosa, fosfato beta-tricálcico (β -TCP), vidro bioativo, bem como polímeros PMMA (polimetilmetacrilato) e HEMA (poli-hidroxil-etil-metacrilato). Foi relatado que as substâncias HA, tanto porosas como não porosas, bem como os polímeros PMMA e HEMA, apresentam uma baixa reabsorção, enquanto o β -TCP e o vidro bioativo são biodegradáveis. Entre estas opções, o β -TCP é uma alternativa biocompatível comumente utilizada com capacidade de crescimento vascular e celular e uma taxa de decomposição aceitável (Ashfaq et al., 2024).

2.2.4 Limitações

Os métodos regenerativos atualmente utilizados na prática clínica baseiam-se principalmente na RTG. Embora estes métodos tenham produzido resultados encorajadores para defeitos de pequena e média dimensão, a previsibilidade dos resultados clínicos é fortemente influenciada pela forma do defeito e pela escolha do caso

clínico. Em muitas situações, a obtenção de resultados regenerativos previsíveis utilizando os métodos atuais continua a ser um desafio (Galli et al., 2021).

O emprego da bioengenharia tecidual tem trazido grandes avanços para terapia de regeneração periodontal, porém os resultados são limitados por diversos fatores que estão associados ao grau de severidade da doença, o tipo de defeito ósseo presente e os fatores locais e sistêmicos envolvidos na patogênese da doença. Por esta razão, a regeneração tecidual representa um dos grandes desafios no combate às sequelas doença periodontal (Calado et al., 2021).

3 Avanços tecnológicos na RTG

3.1 As membranas

3.1.1 Os diferentes tipos de membranas

As membranas de barreira são utilizadas para otimizar o prognóstico da regeneração dos tecidos periodontais. Desempenham um papel essencial na prevenção da invasão pelo epitélio gengival e células do tecido conjuntivo na lesão. Para além desta função protetora, mantêm o espaço necessário para a regeneração e orientam seletivamente as células do LDP ou as responsáveis pela formação óssea para a zona danificada. Para promover uma regeneração periodontal eficaz, o período de proteção proporcionado por estas membranas deve prolongar-se por um período de quatro a seis semanas (Alauddin et al., 2022).

Para utilização clínica, as membranas de barreira têm de cumprir uma série de critérios: devem ser altamente biocompatíveis, limitar a permeabilidade celular, aderir firmemente aos tecidos do recetor, oferecer uma resistência mecânica adequada, comportar-se corretamente durante o armazenamento e ser fáceis de manusear. Do ponto de vista mecânico, a membrana deve ser capaz de suportar a pressão exercida pela gengiva, mantendo a sua forma, de modo a conservar o espaço de regeneração. É igualmente essencial que possa sofrer deformações plásticas sem quebrar e que mantenha a sua morfologia após a implantação (Sasaki et al., 2021).

Um procedimento de regeneração ideal baseia-se em quatro princípios fundamentais, resumidos pelo acrónimo “PASS”. Estes são:

- Assegurar o encerramento primário da ferida sem tensão para promover a cicatrização por intenção primária
- Estimular a angiogénese para assegurar um bom fornecimento de sangue à zona de regeneração
- Assegurar a estabilidade do coágulo para permitir que as células osteogénicas se expandam e proliferem
- Preservar o espaço necessário para a adesão de células mesenquimatosas indiferenciadas (Wang & Boyapati, 2006).

As membranas de barreira podem ser classificadas em três gerações distintas. A primeira geração corresponde às membranas não reabsorvíveis, a segunda às membranas reabsorvíveis e a terceira às membranas de engenharia de tecidos (Solomon et al., 2022).

Membranas de primeira geração:

As membranas de barreira de primeira geração são feitas de materiais não reabsorvíveis. Caracterizam-se por uma excelente estabilidade mecânica, o que evita os problemas associados à degradação dos seus componentes. O seu tempo de atuação é fácil de controlar e são geralmente fixadas ao suporte anatómico por meio de pinos ou mini-parafusos (Solomon et al., 2022).

Estas membranas foram concebidas principalmente para manter o espaço livre após a cirurgia, o que é essencial para a reconstrução de defeitos ósseos. As suas propriedades mecânicas tornam-nas adequadas para este fim (Gao et al., 2022).

No entanto, o seu principal inconveniente é a necessidade de um segundo procedimento cirúrgico para remover a membrana após a regeneração dos tecidos. Este passo adicional aumenta o risco de complicações pós-operatórias, como a infeção ou o atraso na cicatrização (Solomon et al., 2022).

O momento da remoção também é crucial: se for efetuada demasiado cedo, pode levar à reabsorção do osso recém-formado, enquanto a remoção demasiado tardia expõe o local a um risco acrescido de contaminação bacteriana (Alauddin et al., 2022).

As principais membranas não reabsorvíveis utilizadas incluem a malha de titânio, o politetrafluoroetileno (PTFE) e as membranas de PTFE reforçadas com titânio.

Dependendo da sua estrutura, as membranas de PTFE dividem-se em duas categorias: PTFE expandido (e-PTFE) e PTFE de alta densidade (d-PTFE) (Gao et al., 2022).

Malha de titânio:

O titânio é normalmente utilizado no fabrico de malhas metálicas não absorvíveis. Desenvolvidas em 1969, as malhas de titânio têm excelentes propriedades mecânicas, incluindo elevada rigidez, elasticidade, resistência ao desgaste, maleabilidade e leveza. Estas propriedades tornam-nas particularmente adequadas para grandes defeitos ósseos. Graças à sua baixa densidade e elasticidade, estas podem ser facilmente dobradas e moldadas para se adaptarem ao defeito ósseo, evitando a compressão da mucosa.

O titânio é também biocompatível, pode ser passivado para resistir à corrosão e pode suportar a esterilização a alta temperatura antes da implantação. Além disso, a presença de macrósporos nas malhas de titânio ajuda a preservar o fornecimento de sangue ao tecido subjacente, o que é benéfico para a regeneração (Inamuddin et al., 2022).

Polímeros sintéticos não biodegradáveis:

O PTFE, conhecido comercialmente como Teflon®, foi descoberto no final da década de 1930. É amplamente utilizado em medicina devido à sua biocompatibilidade, inércia química e resistência mecânica. Em medicina dentária, o PTFE é utilizado sob a forma de membranas de barreira, disponíveis nas versões e-PTFE ou d-PTFE, com ou sem reforço de titânio.

As membranas de e-PTFE são compostas por uma rede de nós interligados por fibrilhas, formando uma estrutura mais ou menos aberta, consoante a orientação das fibrilhas. São bem integradas no tecido, o que favorece a sua adesão ao tecido conjuntivo. No entanto, se estas membranas forem expostas durante a fase de cicatrização, são suscetíveis de infeção bacteriana precoce, o que pode comprometer o sucesso da regeneração. Para ultrapassar este inconveniente, foi desenvolvida a membrana de d-PTFE. Esta membrana não elástica e muito densa tem uma porosidade extremamente baixa (entre 0,2 e 0,3 μm) e uma espessura entre 0,13 e 0,25 mm. Uma das suas principais vantagens é o facto de ser impermeável às bactérias, razão pela qual é utilizada em procedimentos de regeneração (Mizraji et al., 2023).

Os estudos demonstraram que a remoção cirúrgica das membranas de d-PTFE é mais simples do que a das membranas de e-PTFE, limitando os danos nos tecidos circundantes.

(Solomon et al., 2022) Além disso, existe uma correlação positiva entre a taxa de regeneração óssea e a capacidade de manter o espaço regenerativo. As membranas de d-PTFE reforçadas com titânio demonstraram ter uma maior capacidade regenerativa do que as membranas de e-PTFE, em parte devido ao suporte mecânico adicional fornecido pelo titânio contra as pressões dos tecidos moles (Bajpai, 2022).

As membranas não reabsorvíveis, como o PTFE ou o titânio, são particularmente eficazes na manutenção do espaço necessário para a regeneração. No entanto, têm uma permeabilidade biológica limitada e podem induzir reações inflamatórias. Embora sejam eficazes para a regeneração de tecidos duros, proporcionam poucos benefícios a longo prazo para a cicatrização de tecidos moles (Choi et al., 2023).

Por este motivo, nos últimos anos, a investigação tem-se centrado no desenvolvimento de membranas reabsorvíveis, quer sintéticas, quer de origem natural. O objetivo é maximizar a eficácia dos procedimentos de RTG, evitando as complicações associadas à remoção de membranas não reabsorvíveis, que podem danificar o local regenerado (IA et al., 2018).

Membranas de segunda geração:

As membranas de segunda geração, todas elas reabsorvíveis, dividem-se em duas categorias principais: as fabricadas a partir de polímeros naturais e as fabricadas a partir de materiais sintéticos. A sua principal vantagem é o facto de apenas necessitarem de uma única intervenção cirúrgica, reduzindo assim a morbilidade e os danos nos tecidos e melhorando significativamente o conforto do doente. No entanto, estas membranas também têm as suas limitações, nomeadamente um tempo de reabsorção difícil de prever e uma degradação por vezes demasiado rápida, o que pode comprometer o sucesso dos procedimentos de regeneração (Duarte et al., 2025).

Polímeros naturais:

As membranas à base de colagénio são as mais utilizadas devido à sua biocompatibilidade natural. A sua combinação com enxertos ósseos tem produzido excelentes resultados clínicos. Para otimizar o seu desempenho, o colagénio pode ser combinado com outras biomoléculas, como a fibronectina ou o sulfato de heparano, para ajudar a manter o espaço e promover o recrutamento de células (Alauddin et al., 2022).

No entanto, existem ainda algumas limitações: o risco de transmissão de doenças, a fraca resistência mecânica num ambiente húmido e uma taxa de degradação que é frequentemente demasiado rápida.

As suas propriedades variam em função de vários parâmetros tais como: a origem (suíno, bovino, etc.), o órgão de extração (pele, tendão, pericárdio), mas também fatores físicos como a porosidade, a espessura ou o peso da membrana (Abtahi et al., 2023).

A degradação ocorre principalmente sob a ação de enzimas como as collagenases e as proteases, produzidas pelos macrófagos e por certas bactérias patogénicas (Inamuddin et al., 2022).

Para ultrapassar estas limitações, as membranas de colagénio são frequentemente modificadas, nomeadamente através de ligações cruzadas. Este processo consiste em reforçar as ligações entre as fibras de colagénio, aumentando assim a sua rigidez, estabilidade enzimática e resistência mecânica. Existem várias abordagens para a reticulação: física, química, enzimática ou natural, cada uma com as suas próprias vantagens e limitações.

Os métodos físicos, como a desidrotermia e a irradiação ultravioleta, são os mais utilizados. A irradiação UV gera ligações covalentes através da formação de radicais livres, mas também pode levar à desnaturação parcial do colagénio. Por outro lado, a desidrotermia, que utiliza temperaturas elevadas no vácuo, demonstrou ser mais eficaz na melhoria da estabilidade térmica e na redução da solubilidade do colagénio.

A reticulação química, utilizando agentes como o 1-Ethyl-3-(3-dimethylaminopropyl)carbodiimide/N-hydroxysuccinimide (EDC-NHS), é outra estratégia generalizada, e permite a formação de ligações covalentes sem agentes residuais tóxicos, conferindo às membranas uma boa resistência à degradação enzimática e uma excelente integração nos tecidos. No entanto, alguns estudos sugerem que estas modificações podem ter um impacto negativo nas interações célula-membrana.

Com o objetivo de melhorar a biocompatibilidade, estão também a ser explorados agentes naturais como a genipina. Esta molécula tem baixa citotoxicidade e propriedades anti-inflamatórias, o que a torna uma alternativa promissora. No entanto, o seu elevado custo continua a limitar a sua utilização a aplicações experimentais.

Paralelamente, a reticulação enzimática, em particular através da enzima transglutaminase, pode ser utilizada para criar ligações isopeptídicas entre proteínas da ECM. Este método melhora a adesão, a proliferação e a diferenciação das células,

mantendo uma boa biocompatibilidade. No entanto, o seu impacto nas propriedades mecânicas é ainda inferior ao dos métodos químicos e o seu custo continua a impedir a sua utilização generalizada (Ren et al., 2022).

Para além do colagénio, outros polímeros naturais estão a suscitar um interesse crescente. O quitosano, por exemplo, é reconhecido pela sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e propriedades antibacterianas e anti-inflamatórias. Promove a cicatrização de feridas e a osteogénese, enquanto atua como uma barreira eficaz durante várias semanas.

O seu desempenho pode ser otimizado através do ajuste do seu peso molecular e da utilização de técnicas como a fiação eletrostática. Além disso, as membranas compósitas que combinam colagénio e quitosano apresentam uma melhor estabilidade e uma maior resistência mecânica (Yang et al., 2022).

Por último, a fibroína da seda é outro material natural muito prometedora. Extraída dos bichos-da-seda ou das aranhas, caracteriza-se pela sua permeabilidade ao oxigénio e ao vapor de água, pela sua fraca resposta inflamatória e, sobretudo, pela sua elevada resistência mecânica. Assim, mantém o espaço necessário para uma regeneração eficaz. Estudos recentes demonstram que as membranas de fibroína da seda superam até mesmo o PTFE e as membranas de colagénio reticulado em termos de crescimento ósseo e de resistência, o que a torna uma séria candidata a aplicações de RTG (Inamuddin et al., 2022).

Polímeros sintéticos biodegradáveis:

Os polímeros sintéticos biodegradáveis desempenham um papel importante na RTG graças à sua boa biocompatibilidade e à sua capacidade de reabsorção natural no corpo. Os materiais mais frequentemente utilizados incluem poliésteres, como o ácido poliglicólico (PGA), o ácido poli-lático (PLA) e a poli- ϵ -caprolactona (PCL), bem como os seus copolímeros, como o poli-lático-co-ácido glicólico (PLGA) e o poli-lático-co-caprolactona (PLCL). Estes polímeros são amplamente utilizados tanto em estudos pré-clínicos em modelos animais como na prática clínica.

A sua principal vantagem é o facto de não necessitarem de remoção cirúrgica após a fase de regeneração, uma vez que se integram gradualmente no tecido hospedeiro. No entanto, apesar desta integração vantajosa, a sua biodegradação pode provocar reações tecidulares

indesejáveis, uma vez que não são materiais inertes. A velocidade da sua degradação é também variável, dependendo nomeadamente do pH local, da temperatura e da composição química do polímero utilizado (Sam et al., 2014).

Outra questão importante diz respeito à interação destas membranas com o microbioma oral. Em teoria, o seu papel é promover a regeneração dos tecidos, limitando a proliferação de fibroblastos a favor dos osteoblastos. No entanto, na prática, estas membranas podem ser colonizadas por bactérias endógenas, o que pode levar a reações inflamatórias secundárias e comprometer a eficácia do tratamento (Choi et al., 2023).

Além disso, embora as membranas reabsorvíveis ofereçam a vantagem da integração de tecidos sem a necessidade de remoção, carecem frequentemente de estabilidade dimensional e estrutural. Esta falta de rigidez pode limitar a sua capacidade de manter um espaço propício à neoformação de tecidos a longo prazo, particularmente no caso de defeitos complexos (Choi et al., 2023).

Apesar destas limitações, as membranas à base de poliéster continuam a ser mais fáceis de manusear no contexto clínico do que as membranas de PTFE não absorvíveis. Também promovem uma melhor integração biológica, tornando-as atrativas para muitos procedimentos (Bajpai, 2022).

Finalmente, embora os polímeros sintéticos biodegradáveis representem uma alternativa prática e promissora, nenhuma membrana atualmente no mercado é capaz de satisfazer perfeitamente todos os requisitos mecânicos, biológicos e clínicos da RTG. A investigação atual centra-se no desenvolvimento de novos polímeros ou formulações híbridas para melhorar o desempenho destes dispositivos e obter resultados cirúrgicos mais fiáveis e previsíveis (Solomon et al., 2022).

Membranas de terceira geração:

Tendo em conta as limitações observadas com as membranas reabsorvíveis e não reabsorvíveis de primeira e segunda geração, existe atualmente um interesse crescente no desenvolvimento de membranas de terceira geração. Estas novas membranas, também conhecidas como membranas funcionais, visam não só atuar como uma barreira física, mas também desempenhar um papel ativo na regeneração dos tecidos, nomeadamente

através da libertação de agentes benéficos como biocerâmicas, antibióticos, GF ou fatores de adesão. A libertação destas substâncias deve ser controlada e adaptada ao ambiente específico do local do enxerto, a fim de otimizar os efeitos terapêuticos (Alqahtani, 2023).

Deste ponto de vista, certas membranas são descritas como não funcionais, na medida em que não provocam uma resposta biológica específica. São constituídas por combinações de materiais que, embora biologicamente inertes, podem ser estruturados para otimizar as suas propriedades mecânicas e a sua degradação. Estas misturas podem incluir materiais naturais, materiais sintéticos ou uma combinação de ambos.

Entre as misturas naturais, o quitosano e a gelatina são frequentemente combinados para compensar as suas respetivas fraquezas. O quitosano, embora interessante pelas suas propriedades antimicrobianas e biocompatíveis, é limitado pela sua baixa resistência mecânica mesmo que tenha uma taxa de degradação adequada. A gelatina, por outro lado, degrada-se demasiado depressa. Combinando-os, obtém-se uma membrana com melhores propriedades de adesão celular, proliferação e propriedades mecânicas em comparação com os componentes isolados.

Quanto aos polímeros sintéticos, o copolímero PLGA é amplamente utilizado devido à sua biocompatibilidade e degradação controlada. As membranas compósitas *electrospun* baseadas em PDLLA/PLGA foram desenvolvidas para RTG, mostrando boas propriedades de oclusão celular.

Este tipo de membrana atua eficazmente como uma barreira física, impedindo a infiltração celular indesejada e mantendo o espaço necessário para a regeneração dos tecidos. Além disso, a PCL é frequentemente combinada com PLA ou PLGA para melhorar o desempenho mecânico e controlar a reabsorção (Inamuddin et al., 2022).

As misturas de polímeros naturais e sintéticos também representam uma via promissora, tirando partido das vantagens respetivas de cada tipo de material. Por exemplo, uma combinação de gelatina e PCL produz um material que é biocompatível, mecanicamente estável e quimicamente funcional. Estas misturas têm aplicações não só em RTG e regeneração óssea guiada, mas também noutros campos, como a engenharia de tecidos para cartilagem e nervos.

Finalmente, os compósitos que combinam polímeros e biocerâmicas são de particular interesse, nomeadamente pela sua capacidade de imitar a estrutura da matriz óssea extracelular. A incorporação de componentes biocerâmicos, como a HA ou os bioverses,

confere às membranas valiosas propriedades osteocondutoras e osteoindutoras. Estes componentes não só promovem a mineralização e a atividade celular, como também melhoram as propriedades mecânicas das membranas. Além disso, a sua presença neutraliza os subprodutos ácidos gerados pela degradação de polímeros como o PLA ou o quitosano. A HA, em particular, acelera a regeneração óssea e proporciona uma ligação direta com o osso neoformado. Quanto aos bioversos, compostos por uma matriz $\text{SiO}_2\text{-CaO-P}_2\text{O}_5$, estimulam tanto a osteogénese como a angiogénese e promovem a formação de compósitos de colagénio de alto desempenho, imitando o processo natural de mineralização óssea (Alqahtani, 2023).

3.1.2 Membrana de barreira com suporte de magnésio

Recentemente, as ligas de magnésio (Mg) têm atraído um interesse crescente como potenciais candidatos para o fabrico de membranas de barreira na RTG (Chen et al., 2022).

O Mg, um metal essencial ao metabolismo humano, está envolvido em mais de 300 reações enzimáticas, incluindo a produção de energia, a síntese de ADN e a proliferação celular. Cerca de 60% do Mg presente no organismo é armazenado no tecido ósseo, o que o torna naturalmente ligado à biologia óssea.

Uma das suas maiores vantagens é o facto de ser biodegradável, ou seja, pode ser absorvido pelo corpo ao longo do tempo. Durante esse processo, liberta substâncias que, em quantidades controladas, podem estimular a formação óssea. No entanto, se a degradação for muito rápida, pode libertar demasiado gás e alterar o ambiente local, o que pode dificultar a cicatrização.

As membranas de Mg destacam-se por serem resistentes, biocompatíveis, antibacterianas e capazes de manter o espaço necessário para a regeneração. Além disso, são flexíveis, o que ajuda na adaptação a diferentes tipos de defeitos ósseos.

Contudo, ainda existem desafios a superar, como a corrosão rápida e irregular, que pode enfraquecer o material. Para melhorar o desempenho do Mg, os investigadores estão a testar diferentes técnicas de revestimento e tratamento de superfície para tornar a degradação mais controlada (Vujović et al., 2022).

Apesar destes desafios, as membranas à base de Mg oferecem um potencial considerável graças à sua combinação única de propriedades mecânicas, biológicas e antibacterianas.

Para maximizar o seu desempenho, a investigação está a explorar a integração de estruturas híbridas. Uma abordagem promissora envolve a incorporação de uma malha de Mg bioreabsorvível, previamente tratada com ácido fluorídrico (HF), numa membrana de colagénio nativo. Esta estratégia tem como objetivo estabilizar o volume ósseo e regular a taxa de degradação, aumentando assim a segurança e a eficácia do material (Barbeck et al., 2020).

Por último, a avaliação destas membranas num contexto pré-clínico continua a ser um desafio crucial. Os modelos animais atualmente utilizados nem sempre reproduzem fielmente as condições encontradas na prática clínica. Por conseguinte, são necessários estudos mais representativos para validar a utilização das ligas de Mg na RTG e para garantir a sua segurança a longo prazo.

3.1.3 Membranas nanofibrosas

As nanofibras, obtidas por métodos eficientes como a *electrospinning*, estão a suscitar um interesse crescente como membranas para a RTG. Embora existam várias técnicas para produzir nanofibras como a separação de fases, o estiramento mecânico ou a auto-montagem, o *electrospinning* continua a ser o método mais utilizado devido à sua simplicidade, baixo custo e capacidade de processar muitos polímeros biocompatíveis e biodegradáveis.

As membranas nanofibrosas produzidas por *electrospinning* oferecem uma estrutura ideal para a RTG. A sua elevada porosidade e grande área de superfície específica imitam a ECM, promovendo a adesão, proliferação e diferenciação celular. Permitem também a difusão do oxigénio e dos nutrientes necessários ao crescimento dos tecidos, enquanto impedem a migração de células indesejáveis. Entre os polímeros utilizados, o PCL destaca-se pela sua boa biocompatibilidade, biodegradabilidade e propriedades mecânicas favoráveis (Ren et al., 2025).

O PLA também é amplamente utilizado na engenharia de tecidos por razões semelhantes. No entanto, cada um destes polímeros tem certas limitações: o PCL tem um tempo de degradação relativamente longo e uma elevada hidrofobicidade, reduzindo a adesão celular, enquanto o PLA, embora tenha uma biodegradabilidade satisfatória, tem

propriedades mecânicas limitadas em suportes altamente porosos, bem como interações celulares sub-ótimas (Abdelaziz et al., 2021).

Para ultrapassar estes inconvenientes, foram desenvolvidas várias estratégias, incluindo a modificação da superfície e a associação com polímeros naturais. A combinação de polímeros sintéticos e naturais permite melhorar a hidrofiliabilidade, acelerar a degradação e otimizar as interações celulares. Esta abordagem permite tirar partido da robustez mecânica dos polímeros sintéticos e, ao mesmo tempo, beneficiar da bioatividade dos polímeros naturais, melhorando assim o desempenho global das membranas nanofibras (Ren et al., 2025).

Neste contexto, um estudo teve como objetivo desenvolver uma nova geração de estruturas nanofibras *electrospun* para RTG. Estas estruturas são feitas de polímeros PLA/acetato de celulose (PLA/CA) ou PCL, enriquecidos com nanopartículas de prata (AgNP) e HA sintetizada ambientalmente (HANP). As estruturas foram fabricadas por *electrospinning* a partir de misturas de PCL ou PLA/CA (rácio 7:3), com a adição de 0%, 10% ou 20% de HANP e 0%, 1% ou 2% de AgNP. Foram efetuadas várias análises para avaliar as suas propriedades físico-químicas, a atividade antibacteriana, a viabilidade celular e o potencial de regeneração óssea.

Os resultados são prometedores. As nanofibras desenvolvidas melhoraram a viabilidade celular em cerca de 50% e mantiveram a atividade antibacteriana até 32 dias. Mecanicamente, demonstraram um módulo de tração de cerca de 20 MPa para as fibras à base de PCL e de 38 MPa para as fibras à base de PLA/CA. A sua degradação em fluido corporal simulado mostrou uma perda de peso progressiva, atingindo 30-40% para as estruturas de PCL e 40-70% para as estruturas de PLA/CA após oito semanas. Além disso, os suportes enriquecidos com HANP promoveram a formação de apatite e estimularam a proliferação de células estaminais mesenquimais (MSC) *in vitro*, indicando um elevado potencial para a regeneração óssea (Abdelaziz et al., 2021).

Para além dos polímeros tradicionais, as carrageninas que são polissacáridos extraídos de algas vermelhas, também se estão a revelar promissoras para a engenharia de tecidos. A sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e capacidade osteogénica tornam-nos candidatos interessantes para a regeneração tecidual. Sob a forma de nanofibras *electrospun*, as carrageninas promovem a adesão e a proliferação de osteoblastos.

Num estudo recente, foram desenvolvidas membranas nanofibrosas de duas e três camadas à base de carragenina para tratar a perda óssea induzida pela periodontite. As membranas de três camadas incluíam uma camada exterior de PCL, uma camada intermédia de PCL e nanofibras de poli(L-glutamato) -Ca, e uma camada interior de nanofibras de carragenina-Ca ou Na. As membranas em bicamada combinavam PCL com carragenina-Ca ou poli(L-glutamato) -Ca. Estas membranas demonstraram uma excelente estabilidade durante 28 dias numa solução de saliva simulada, bem como uma libertação prolongada de Ca^{2+} durante três semanas, promovendo o crescimento de osteoblastos. A sua resistência mecânica foi comparável à das membranas reabsorvíveis utilizadas na prática clínica, e as análises de expressão genética confirmaram o seu potencial osteoindutor, particularmente para as membranas de três camadas que incorporam sais de cálcio (Kikionis et al., 2023).

Por último, as nanofibras estão também a emergir como vetores promissores para a administração controlada de fármacos, graças à sua espessura, flexibilidade e robustez, que se adequam bem aos requisitos biomédicos.

3.1.4 Membranas de barreira poliméricas revestidas com antibióticos

As membranas poliméricas são amplamente utilizadas na cirurgia oral e periodontal para a RTG como já mencionado.

No entanto para limitar o risco de contaminação bacteriana que pode comprometer o sucesso da regeneração dos tecidos, as membranas poliméricas estão a ser cada vez mais consideradas como um meio para a administração local de antibióticos, tornando possível atuar assim que a operação é realizada e durante toda a fase de cicatrização. Esta estratégia melhora significativamente a previsibilidade clínica em comparação com a terapia antibiótica sistémica, que é frequentemente limitada pela baixa concentração local e pelos efeitos secundários sistémicos (Petrescu et al., 2022).

Os antibióticos são incorporados em membranas poliméricas para garantir uma libertação controlada e prolongada, abrangendo todo o período de cicatrização. Materiais como o colagénio ou o PCL foram combinados com antibióticos como a tetraciclina ou o metronidazol para conceber membranas antimicrobianas. Estudos *in vitro* e *in vivo* confirmaram a sua eficácia na inibição do crescimento bacteriano e na promoção da regeneração dos tecidos (Toledano-Osorio et al., 2022).

Existem vários métodos de carregamento de antibióticos: dissolução em polímeros, enxerto em nanofibras ou encapsulamento em nanopartículas (Wang et al., 2023).

Alguns destes medicamentos não só combatem as bactérias, como também reduzem a degradação do colagénio, promovendo assim a migração de células progenitoras (Florjanski et al., 2019).

Entre os desenvolvimentos recentes, as membranas de PLGA/PCL carregadas com metronidazol e amoxicilina demonstraram uma libertação bifásica eficaz até 7 dias *in vitro* e 5 dias *in vivo*. Outras membranas, desenvolvidas por *electrospinning* PCL e gelatina, conseguiram uma libertação controlada de metronidazol durante 45 dias e uma persistência antibacteriana até 24 semanas (Mirzaeei et al., 2022).

No entanto, esta técnica apresenta uma série de limitações: apesar dos resultados promissores, a utilização prolongada de antibióticos constitui um problema devido ao risco de desenvolvimento de resistência bacteriana e de efeitos secundários. Para ultrapassar estas limitações, foram estudadas novas abordagens, nomeadamente a incorporação de metais com propriedades antimicrobianas (Cu, Ag, Zn) nas membranas de barreira. Estes metais, capazes de gerar espécies reativas de oxigénio e de alterar as membranas bacterianas, constituem uma alternativa interessante. Além disso, certos iões metálicos, como o Mg e o zinco (Zn), favorecem igualmente a diferenciação celular e a osteogénese, proporcionando um duplo benefício: antimicrobiano e pró-regenerativo.

No entanto, a sua utilização levanta grandes desafios: potencial citotoxicidade e difícil controlo da libertação de iões, dois parâmetros essenciais para garantir a segurança e a eficácia a longo prazo (Chen et al., 2025).

3.1.5 Membranas do âmnio-corion (ACMs)

A membrana amniótica é a camada mais interna da placenta, composta por uma membrana basal espessa e uma matriz estromal avascular. Associada ao córion, que forma o invólucro exterior do saco fetal, contém vários tipos de colagénio e componentes bioativos que favorecem a adesão celular. Graças às suas propriedades regenerativas e protetoras, estas membranas são utilizadas há vários anos na cirurgia regenerativa.

As membranas amnióticas, em particular, ajudam a reduzir a inflamação, limitam a formação de cicatrizes e aceleram a cicatrização de feridas através de uma ECM rica em GF. O tecido amniótico é fácil de colher e armazenar após o parto, o que o torna um suporte natural ideal para a engenharia de tecidos. Robson e Krizekl desenvolveram um método de preparação que garante a sua esterilidade durante seis semanas utilizando uma solução de hipoclorito de sódio a 0,025% e armazenamento a 4°C (Shankar et al., 2020).

Biologicamente, a membrana amniótica contém proteínas-chave como a fibronectina, a laminina, os proteoglicanos, os glicosaminoglicanos e o colagénio (tipos IV, V e VII), que desempenham um papel essencial na migração e proliferação celular.

Funcionalmente, o âmnio atua como uma barreira protetora contra a contaminação bacteriana e o córion, enriquecido com inibidores da metaloproteinase, limita a penetração das células inflamatórias e controla a inflamação.

Histologicamente, a membrana do córion é constituída por três camadas: a camada reticular (colagénio, proteoglicanos), a membrana basal (colagénio IV, fibronectina, laminina) e a camada trofoblástica (Shankar et al., 2020).

As membranas amnióticas e coriônicas têm várias vantagens em relação às membranas de colagénio convencionais:

- Aumento da vascularização
- Degradação mais previsível
- Menor risco de transmissão de doenças

A membrana do córion, que é cerca de quatro vezes mais espessa do que a do âmnio, contém uma maior concentração de citocinas e GF, aumentando o seu potencial regenerativo. Apesar de estruturalmente diferentes, as membranas do âmnio e do córion apresentam uma eficácia semelhante na regeneração de defeitos periodontais intra-ósseos, particularmente quando combinadas com um enxerto ósseo como o DFDBA, especialmente para defeitos de furca de grau II em molares mandibulares (Mallapragda et al., 2024).

3.2 Aplicações de Biomateriais na RTG

3.2.1 Definição

De acordo com a segunda conferência de consenso da Sociedade Europeia de Biomateriais, um biomaterial é definido como um material destinado a interagir com sistemas biológicos a fim de promover, restaurar ou substituir um tecido, um órgão ou uma função biológica. De um modo geral, os biomateriais são classificados de acordo com as suas propriedades físico-químicas, incluindo polímeros, biopolímeros, cerâmicas, certos metais bioativos e respetivos compósitos. Podem também ser classificados de acordo com a resposta biológica que induzem nos tecidos vivos. É feita uma distinção entre materiais biologicamente inertes, materiais biomiméticos, materiais bioativos e materiais biodegradáveis (Biswal et al., 2020).

3.2.2 O seu objetivo e aplicação a RTG

Os *scaffolds* e os biomateriais são componentes cruciais na regeneração dos tecidos dentários. Servem como pontos de ancoragem para as células regenerativas dos tecidos adjacentes, como referência para a regeneração dos tecidos, como fornecedor de células odontogénicas implantáveis capazes de se transformarem nos diferentes tipos de células necessários, e como agentes bioativos, nomeadamente GF que amplificam o potencial regenerativo. Os biomateriais bioativos têm a capacidade de estimular a resposta biológica dos tecidos e promover a osteogénese através do estabelecimento de fortes ligações químicas com o seu ambiente (Matichescu et al., 2020).

A escolha do biomaterial é crucial para o sucesso da RTG. Um material ideal deve ser biocompatível para não induzir uma reação imunitária indesejável. Deve também favorecer a fixação e a proliferação das células envolvidas no processo de regeneração. Finalmente, no caso dos biomateriais reabsorvíveis, a taxa de degradação deve ser adaptada para evitar qualquer intervenção cirúrgica adicional para a sua remoção (Munshi et al., 2024).

Para ultrapassar as limitações dos materiais absorvíveis e não absorvíveis, os investigadores desenvolveram materiais híbridos ou compósitos. Estes novos biomateriais combinam a biocompatibilidade dos materiais naturais com as propriedades de degradação controlada dos materiais sintéticos. Graças a esta combinação, os materiais

híbridos oferecem um equilíbrio entre o suporte mecânico e a integração dos tecidos. Para além disso, os seus perfis de degradação podem ser ajustados para corresponder às diferentes fases de cicatrização do tecido alvo. À medida que o campo dos biomateriais continua a evoluir, a melhoria das suas propriedades de biocompatibilidade e de degradação é uma prioridade. Estes avanços visam otimizar os resultados clínicos e oferecer soluções cada vez mais eficazes para a RTG (Munshi et al., 2024).

3.2.3 Inovação neste domínio

3.2.3.1 A combinação de biomateriais com moléculas bioativas e fatores de crescimento

A combinação de biomateriais com moléculas bioativas, como os GF, representa uma estratégia promissora na regeneração periodontal, ao permitir uma atuação sinérgica entre suporte estrutural e estímulo biológico. Os agentes bioativos, quer de origem biológica, quer sintética, apresentam propriedades antibacterianas e osteogénicas demonstradas *in vitro*, *in vivo* e em estudos clínicos. Estes compostos mostraram capacidade de inibir patógenos periodontais como *Porphyromonas gingivalis* e *Streptococcus mutans*, enquanto favorecem a proliferação e diferenciação de células essenciais à regeneração tecidular, como os fibroblastos do ligamento periodontal humano (hPDLFCs), células do ligamento periodontal (hPDLs) e células estaminais mesenquimais da medula óssea (BMSCs) (Huang et al., 2021).

Apesar das vantagens destes agentes como a biocompatibilidade, a dupla funcionalidade e a acessibilidade persistem limitações, nomeadamente a compreensão incompleta dos seus mecanismos de ação, o que justifica a necessidade de mais investigação, sobretudo *in vivo*. Paralelamente, os biomateriais utilizados como suportes têm evoluído ao longo de três gerações: os de primeira geração são bioinertes, os de segunda geração são bioativos, capazes de interagir com os tecidos do hospedeiro, e os de terceira geração foram concebidos para modular respostas celulares específicas através da incorporação de materiais biodegradáveis e bioativos (Farag, 2023).

Estes suportes, para além de fornecerem estrutura, desempenham um papel essencial na proteção e libertação controlada dos GF, cuja ação biológica é crucial nos processos de quimiotaxia, proliferação, diferenciação, síntese de ECM e angiogénese. Entre os GF mais estudados incluem-se o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), as proteínas morfogenéticas ósseas (BMPs), os fatores semelhantes à insulina (IGF), o fator

de crescimento transformador beta (TGF- β) e o fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), todos eles regulando etapas fundamentais da regeneração celular (Oliveira et al., 2021).

O fator de crescimento humano recombinante derivado de plaquetas (rh-PDGF), comercialmente disponível como GEM 21S combinado com β -TCP, demonstrou eficácia clínica significativa, enquanto os concentrados plaquetários como o plasma rico em plaquetas, plasma rico em plaquetas puro, plasma rico em plaquetas e leucócitos (L-PRP) ou PRF, ricos em GF e altamente biocompatíveis, promovem vascularização e infiltração celular, embora com resultados clínicos ainda inconsistentes (Pranathi et al., 2024).

As BMP-2 e BMP-7, aprovadas pela *Food and Drug Administration* (FDA), destacam-se pelo seu forte potencial osteoindutor, ao estimular a diferenciação de células estaminais mesenquimais em osteoblastos. A rhBMP-2, comercializada como Infuse® Bone Graft (Medtronic), é utilizada com um suporte de esponja de colagénio absorvível aprovado para promover a libertação e a estabilidade do fator no local da lesão utilizada clinicamente em conjunto com suportes colagénicos. No entanto, a aplicação de BMPs em periodontologia não é isenta de riscos, como anquilose ou reabsorção radicular (Oliveira et al., 2021).

O FGF-2 (de crescimento de fibroblastos), com propriedades mitogénicas, revelou-se eficaz na formação de novo osso, cimento e LDP, e combinações de GF, como VEGF com PDGF ou BMP-2 com FGF-2, mostraram efeitos sinérgicos superiores aos obtidos com fatores isolados. Uma revisão sistemática de ensaios clínicos em humanos efetuada por Khoshkam et al. constatou um aumento significativo do preenchimento ósseo no tratamento de defeitos intra-ósseos utilizando FGF-2, com evidências pré-clínicas de formação de novo cimento, LDP e osso alveolar. O GDF-5, por sua vez, demonstrou promover a regeneração do LDP, especialmente quando combinado com β -TCP (Galli et al., 2021).

Ainda assim, a utilização clínica dos GF enfrenta obstáculos importantes, nomeadamente a sua instabilidade *in situ*, libertação rápida e eliminação precoce, o que compromete a sua eficácia terapêutica. A conceção de sistemas de libertação controlada, integrados em biomateriais inteligentes que assegurem proteção, estabilidade e apresentação eficaz dos GF às células-alvo, revela-se fundamental. Estes sistemas devem igualmente ser reprodutíveis, seguros, fáceis de fabricar e compatíveis com processos de esterilização. Assim, o acoplamento racional entre biomateriais avançados e GF representa uma via

promissora para alcançar uma regeneração periodontal previsível, funcional e segura (Oliveira et al., 2021).

3.2.3.2 Os hydrogeis

Os hidrogéis são redes tridimensionais de polímeros hidrofílicos reticulados capazes de absorver e reter grandes quantidades de água, mantendo a sua estrutura. Graças a este elevado teor de água, imitam de perto o microambiente dos tecidos biológicos, o que os torna particularmente adequados para aplicações biomédicas, especialmente na engenharia de tecidos. Vários tipos de biomateriais podem ser formulados sob a forma de hidrogel, incluindo polímeros naturais como o colagénio ou o alginato e polímeros sintéticos como o polyéthylène glycol ou o hidroxipropilmetilcelulose (HPMC). As suas principais vantagens residem na sua biocompatibilidade, flexibilidade de desenho e injectabilidade, bem como na sua capacidade de encapsular células, fármacos ou GF, tornando-os candidatos ideais para a regeneração dos tecidos periodontais. Vários estudos realçaram a eficácia dos hidrogéis neste domínio. Por exemplo, uma comparação entre uma membrana de colagénio combinada com BCP e uma membrana de hidrogel combinada com HPMC mostrou resultados superiores com a formulação HPMC/BCP. Esta demonstrou uma inibição eficaz da invasão de tecidos moles num defeito periodontal e uma regeneração óssea significativa após 12 semanas num modelo canino (Woo et al., 2021).

Outros trabalhos, como o de Choi et al, demonstraram que o tratamento de géis de colagénio com proantocianidinas aumentou a rugosidade da superfície do material e promoveu a fixação de células do LDP, contribuindo assim para uma melhor regeneração funcional.

Os hidrogéis estão também a ser amplamente explorados como sistemas de entrega de biomoléculas. A sua capacidade de encapsular e libertar GF, citocinas ou células explica-se pela sua estrutura porosa, pela facilidade de formulação e pela sua capacidade de manter a bioatividade das moléculas encapsuladas. No entanto, a libertação de agentes terapêuticos dos hidrogéis depende de vários fatores, incluindo a química do polímero, o grau de reticulação, a cinética de degradação e as interações físico-químicas entre o material e as biomoléculas. Apesar destas vantagens, uma das principais limitações dos

hidrogéis em aplicações de regeneração de tecidos é a sua fraca estabilidade mecânica, que pode comprometer a sua capacidade de manter um espaço aberto num defeito periodontal sujeito a forças mecânicas (Woo et al., 2021).

Para ultrapassar esta limitação, foram desenvolvidas variantes mais avançadas, como os hidrogéis *photocrosslinked* e os hidrogéis sensíveis ao calor. Os hidrogéis *photocrosslinked* são polimerizados *in situ* utilizando fotoiniciadores e uma fonte de luz, permitindo um controlo espacial preciso da sua solidificação. Os hidrogéis termossensíveis, por outro lado, mantêm uma forma fluida a baixa temperatura, facilitando a sua injeção através de agulhas finas, uma vez expostos à temperatura corporal, formam um gel sólido no local do defeito oferecendo uma retenção prolongada de ingredientes ativos e uma adaptação morfológica ótima a lesões complexas (Deng et al., 2022).

O interesse crescente por estes polímeros gelificantes *in situ* baseia-se no seu potencial para se adaptarem a geometrias irregulares e proporcionarem uma libertação prolongada e localizada de agentes terapêuticos. Por exemplo, Wang et al. desenvolveram um hidrogel inovador termorreversível carregado com doxiciclina ou lipoxina A4, administrado num estado líquido ligeiramente arrefecido e depois gelificado no defeito periodontal sob o efeito do calor corporal. Este tipo de hidrogel pode ser personalizado para administrar medicamentos antimicrobianos ou anti-inflamatórios de acordo com o perfil patológico do paciente (Galli et al., 2021).

Os hidrogéis representam, portanto, uma plataforma versátil, injetável e personalizável que satisfaz muitos dos requisitos da engenharia de tecidos periodontais. O seu desempenho pode ser melhorado através de modificações químicas específicas, da incorporação de cargas bioativas ou da sua combinação com suportes mais rígidos para ultrapassar as suas limitações mecânicas intrínsecas.

3.2.3.3 A proteína do cimento 1 para regeneração de cimento

A proteína do cimento 1 (CEMP1) é um biomarcador específico e central para a regeneração do cimento, o tecido mineralizado que cobre a raiz dentária (Torii et al., 2015).

Sintetizada pelos cementoblastos, a CEMP1 desempenha um papel essencial na cementogénese, estimulando não só a fixação e proliferação de células do LDP, mas

também a formação de cristais de HA, um elemento fundamental no processo de mineralização. A sua expressão é restrita aos cementoblastos e a uma subpopulação específica de células progenitoras derivadas do LDP, o que a torna um marcador molecular altamente específico da formação de cimento. Em particular, tem a capacidade notável de modular o fenótipo celular: pode induzir a transformação de fibroblastos gengivais humanos (fenótipo não mineralizante) em células semelhantes a osteoblastos ou cementoblastos (fenótipo mineralizante), influenciando tanto a proliferação celular como a expressão de genes ligados à mineralização (Astuty et al., 2017).

Esta propriedade confere à CEMP1 um potencial terapêutico significativo no domínio da regeneração dos tecidos periodontais. A nível molecular, a CEMP1 é uma proteína glicosilada, fosforilada e termoestável, o que a torna uma molécula estável e funcional numa variedade de condições biológicas (Santana et al., 2020).

É capaz de se ligar a superfícies mineralizadas, em particular à HA, e de nuclear o crescimento de cristais, como demonstrado *in vitro*. *In vivo*, o CEMP1 demonstrou ter um efeito osteogénico e osteoindutor, promovendo a regeneração óssea e a diferenciação de células multipotentes do LDP em linhagens mineralizantes.

Mais recentemente, a atenção centrou-se nos peptídeos derivados da proteína CEMP1, nomeadamente o CEMP1-p1 e o CEMP1-p3, que mantêm as propriedades bioativas da proteína inteira. O péptido CEMP1-p1 demonstrou a sua capacidade de induzir um fenótipo mineralizante nas células do LDP, promovendo simultaneamente a formação óssea *in vivo*. Quanto ao péptido CEMP1-p3, demonstrou uma afinidade específica pelos cristais de fosfato octacálcico e tem a capacidade de promover a sua transformação em HA, uma forma mais estável de mineral ósseo. Esta capacidade de iniciar e estabilizar a mineralização em condições fisiológicas abre caminho a abordagens biomiméticas inovadoras com o objetivo de desenvolver materiais para a reparação de tecidos mineralizados (Santana et al., 2020).

Em suma, o CEMP1 parece ser não só um marcador da formação de cimento, mas também um ator ativo na regeneração periodontal, capaz de estimular a diferenciação celular, a biomimética mineral e a reconstrução funcional do periodonto. A sua utilização potencial sob a forma de recombinante ou de péptido abre perspectivas promissoras para terapias de regeneração orientadas para os tecidos periodontais.

3.2.3.4 Proteínas derivadas da matriz do esmalte

As proteínas derivadas da matriz do esmalte (PDME), constituem um fator biológico amplamente utilizado na regeneração clínica dos tecidos periodontais. As PDME está disponível comercialmente sob a forma de uma suspensão de proteínas purificadas da matriz do esmalte (EMPs) em alginato de propilenoglicol, numa formulação comercializada como Emdogain®. Esta formulação facilita a precipitação e adesão das EMPs à superfície radicular durante o processo de cicatrização.

A utilização das PDME baseia-se no princípio da replicação dos eventos envolvidos no desenvolvimento periodontal. De forma sucinta, as PDME são secretadas por células de origem epitelial, os ameloblastos, durante a formação dentária. Presume-se ainda que a bainha epitelial de Hertwig, estrutura que orienta o desenvolvimento radicular através de sinalização epitélio-mesenquimatosa, possa igualmente secretar PDME ou proteínas estruturalmente semelhantes, contribuindo assim para a indução da formação do cimento (Fraser et al., 2022).

Biologicamente, as PDME atuam imitando os processos de desenvolvimento periodontal embrionário. Promove o recrutamento de cementoblastos, a formação de cimento e do LDP, e também estimula a osteogénese. Contribui para a diferenciação das células mesenquimais em cementoblastos, fibroblastos e osteoblastos, enquanto induz a formação de cimento acelular por deposição temporária de proteínas na superfície radicular (Oliveira et al., 2020).

Além disso, as PDME aumentam a produção de fatores angiogénicos, nomeadamente o fator VEGF, e modula a libertação de outros fatores como o TGF- β , as BMPs e o PDGF, participando assim na regeneração profunda e multifatorial dos tecidos (Dumitriu et al., 2021).

Histologicamente, as PDME interagem favoravelmente com as células do LDP, influenciando a resposta inflamatória local e melhorando a cicatrização de feridas através da modulação do ambiente celular. Os agregados de amelogenina do esmalte em desenvolvimento ligam-se às células do LDP, regulando positivamente os processos de reparação e regeneração dos tecidos (Oliveira et al., 2020).

A aplicação isolada do derivado da matriz do esmalte é geralmente limitada a defeitos bem circunscritos, dado que a natureza viscosa do veículo à base de alginato de propilenoglicol não favorece a manutenção do espaço necessário para a regeneração. Estudos pré-clínicos demonstraram que as PDME apresentam maior eficácia em defeitos intraósseos estreitos em comparação com defeitos mais amplos. Além disso, mostrou resultados inferiores aos obtidos com a RTG em furcas de Classe III (Fraser et al., 2022).

Embora os resultados sejam melhores nas furcas mandibulares do que nas maxilares, as PDME continuam a ser uma alternativa terapêutica fiável no tratamento de defeitos complexos.

Uma revisão sistemática que comparou os resultados clínicos das PDME, RTG e do OFD no tratamento de defeitos intraósseos profundos (≥ 3 mm) concluiu que as PDME e a RTG eram superiores ao OFD em termos de ganho de CAL, embora não tenham sido observadas diferenças significativas noutros parâmetros clínicos ou radiográficos. Além disso, as evidências atuais apoiam o uso adjuvante das PDME para procedimentos de recobrimento radicular, particularmente em situações de recessão gengival, atrofia do rebordo ou defeitos ósseos extensos (Pranathi et al., 2024).

Por fim, as PDME têm a vantagem de serem mais fáceis de manusear e menos invasivas do que as técnicas que envolvem biomateriais ou membranas, enquanto apresentam resultados de regeneração comparáveis aos da RTG, com menos complicações pós-operatórias. Estas propriedades fazem das PDME uma opção de escolha no arsenal terapêutico da engenharia de tecidos periodontais (Galli et al., 2021).

3.2.3.5 O fosfato tricálcico beta

β -TCP é um material cerâmico biocompatível amplamente utilizado em diversas aplicações médicas, particularmente como substituto ósseo ou suporte em estratégias de engenharia do tecido ósseo. Além das suas propriedades osteocondutivas, o β -TCP atua como substrato favorável à adesão celular na área óssea, promovendo a diferenciação osteogénica e a proliferação celular (Abtahi et al., 2023).

A sua utilização no tratamento de defeitos intraósseos e em procedimentos regenerativos demonstrou uma reabsorção completa do enxerto ósseo num intervalo de seis meses a um ano. Quando aplicado isoladamente ou em combinação com aloenxertos ou xenonxertos,

o β -TCP revelou resultados promissores, tanto em termos de ganho percentual de osso alveolar como na formação de osso maduro nas zonas do defeito (Varghese et al., 2022).

Estruturalmente, o β -TCP é comercializado como grânulos com uma macroporosidade controlada entre 100 e 600 μm , que promove a osteocondução ao facilitar a invasão celular e vascular. Esta macroporosidade pode representar até 85% do volume total do biomaterial. Além disso, a sua microporosidade ($< 100 \mu\text{m}$), induzida pela sinterização dos grãos de fosfato de cálcio, permite a troca ativa de iões (Ca^{2+} e PO_4^{3-}) com o microambiente, estimulando assim a aposição de osso lamelar e a remodelação osteoblástica.

O β -TCP atua principalmente como um suporte osteocondutor, apoiando a colonização celular e a formação de neo-tecido ósseo, embora não tenha atividade osteoindutora intrínseca. No entanto, a sua estrutura e degradação progressiva sensibilizam as células osteoprogenitoras, promovendo a diferenciação osteoblástica e a neoformação óssea. Imunologicamente, os estudos demonstraram que os grânulos de β -TCP induzem uma resposta inflamatória moderada a baixa, o que é essencial para evitar complicações pós-operatórias e promover uma regeneração harmoniosa.

Foram obtidos resultados promissores com a utilização combinada de β -TCP com uma membrana bioabsorvível de RTG. Esta combinação melhora significativamente o preenchimento de defeitos ósseos em comparação com a utilização de β -TCP isolado, criando um microambiente mais favorável para uma regeneração óssea estruturada e previsível (Gonçalves et al., 2020).

Graças às suas propriedades de bioreabsorção, biocompatibilidade e osteocondução, o β -TCP é uma opção fiável e comprovada para aplicações clínicas na substituição óssea e regeneração de tecidos.

3.2.3.6 Poli-lático-co-ácido glicólico

Os biomateriais desempenham um papel central na regeneração dos tecidos periodontais, particularmente quando combinados com sistemas de administração controlada de fármacos. Estes materiais, sejam eles inorgânicos, poliméricos ou compósitos, são selecionados de acordo com os tecidos que se pretendem regenerar (Matichescu et al., 2020).

O PLGA é um copolímero sintético biodegradável composto por dois monómeros, o ácido láctico e o ácido hidroxacético, polimerizados de forma aleatória. Trata-se de um composto orgânico funcional amplamente utilizado nas indústrias farmacêutica e biomédica, devido à sua biocompatibilidade elevada, não toxicidade e boas propriedades de formação de cápsulas e membranas. No âmbito da engenharia tecidual e da regeneração óssea, as membranas de PLGA destacam-se como barreiras sintéticas reabsorvíveis eficazes.

As membranas bifásicas de PLGA são geralmente constituídas por duas camadas funcionais: uma camada densa, responsável por impedir a migração de células de tecidos moles, e uma camada porosa microfibrilar, mais espessa, que favorece a estabilização do coágulo sanguíneo e proporciona um suporte propício à colonização por osteoblastos. A taxa de degradação deste tipo de membranas parece depender da proporção entre as duas camadas, sendo que, em geral, a sua reabsorção *in vivo* ocorre entre um a dois meses (Yang et al., 2022).

Comparativamente às membranas monofásicas as membranas bifásicas de PLGA apresentam menor resistência mecânica, mas maior facilidade de manuseamento durante a aplicação clínica. Estudos demonstraram que a sua estrutura porosa estimula a proliferação celular e a diferenciação osteogénica de MSC. Além disso, evidências *in vivo* indicam que estas membranas bifásicas promovem uma regeneração óssea significativamente superior à obtida com membranas monofásicas, reforçando o seu potencial terapêutico em procedimentos de regeneração periodontal e óssea (Sasaki et al., 2021).

3.2.3.7 E7- Microsfera de gelatina nanofibrosa

O peptídeo E7, cuja sequência de aminoácidos “EPLQLKM” foi identificada utilizando a tecnologia de *phage display*, tem uma elevada afinidade específica para as BMSC. Este péptido foi recentemente utilizado para visar a adesão e a proliferação das BMSC, o que sugere o seu potencial como barreira biológica para o enriquecimento seletivo das BMSC, excluindo as células epiteliais e os fibroblastos. Para o efeito, o péptido E7 foi quimicamente enxertado na superfície de microesferas de vidro funcionalizadas com fluoreto de sódio (NFG-MS), garantindo uma maior estabilidade da superfície do que a obtida apenas por adsorção física. Os resultados *in vitro* mostram que as NFG-MS

modificadas com E7 promovem significativamente a adesão de BMSCs e de células estaminais do ligamento periodontal (PDLSCs), inibindo simultaneamente a adesão de queratinócitos gengivais (GECs) e de fibroblastos gengivais. Mais especificamente, o E7-NFG-MS atingiu uma taxa de adesão de 44,5% para as BMSC, em comparação com apenas 1,3% para as GEC num ensaio competitivo que envolveu os quatro tipos de células.

As observações morfológicas confirmaram estes resultados: as BMSCs espalharam-se completamente na superfície do E7-NFG-MS logo após 6 horas de incubação, enquanto as GECs permaneceram esféricas e fracamente aderentes mesmo após 12 horas. Estes dados indicam que o sistema E7-NFG-MS exerce uma seletividade celular favorável à regeneração periodontal.

Finalmente, experiências in vivo realizadas num modelo de defeitos periodontais em ratos validaram a eficácia deste sistema, demonstrando uma melhoria significativa na regeneração periodontal funcional. Assim, o NFG-MS modificado com o péptido E7 parece ser uma estratégia promissora para a regeneração guiada dos tecidos (Hu et al., 2023).

Após a análise de alguns dos biomateriais mais utilizados na RTG, bem como de outros com potencial promissor, será agora abordada a forma como esses mesmos materiais são também aplicados na engenharia de tecidos, com o objetivo comum de promover a regeneração tecidual

3.3 Engenharia de tecidos

3.3.1 Definição

A engenharia tecidual representa um avanço relevante na regeneração periodontal, baseando-se na utilização de biomateriais que libertam agentes ativos de forma controlada e recriam o ambiente natural do tecido. Estes materiais funcionam como estruturas tridimensionais que promovem a adesão, proliferação e diferenciação celular, favorecendo a regeneração sem desencadear respostas imunes adversas. As estratégias de regeneração dividem-se em duas abordagens principais: sem suporte, com aplicação direta de células na lesão, e com suporte, que combina células-tronco, matrizes estruturais e sinais bioativos para mimetizar o tecido natural. Estas últimas podem ser enriquecidas com moléculas bioativas e associadas à RTG para maior eficácia, contando ainda com sistemas avançados de libertação gradual de sinais regenerativos (Angjelova et al., 2024).

A engenharia tecidual, na interseção entre biomateriais e biologia celular, visa restaurar estruturas e funções de tecidos danificados. Na periodontologia, o foco está na regeneração dos tecidos moles e do osso alveolar, requerendo três componentes essenciais: células regenerativas, matriz de suporte e moléculas sinalizadoras. Os biomateriais desempenham funções críticas como ancoragem celular, orientação da reconstrução tecidual e suporte à libertação de GF. Podem ser classificados em bioativos, biotolerantes, biodegradáveis e bioinertes, consoante o seu comportamento biológico (Angjelova et al., 2024).

O objetivo é projetar estruturas que imitem ao máximo os componentes naturais, capazes de manter, restaurar ou melhorar as funções biológicas quando implantadas *in vivo*.

3.3.2 A sua aplicação à RTG

A engenharia tecidual periodontal representa uma abordagem inovadora para restaurar a arquitetura complexa e as funções específicas dos tecidos periodontais. Esta baseia-se na integração coordenada de células progenitoras exógenas, de biomateriais que servem como suportes estruturais (*Scaffolds*), e de moléculas bioativas que atuam como sinais. Esta estratégia abre um caminho promissor para melhorar a regeneração periodontal (Chen et al., 2024).

A RTG assenta no princípio da inibição de contacto, com o objetivo de promover a regeneração do tecido periodontal. No entanto, apesar da sua eficácia parcial, esta abordagem não permite uma restauração ideal de todos os componentes dos tecidos periodontais. Podem ainda ocorrer fenómenos indesejáveis, como a reabsorção radicular ou a anquilose. Além disso, no caso de recidiva da periodontite, a capacidade regenerativa do LDP e do cimento pode ficar significativamente comprometida. Perante estas limitações, os *scaffolds* de biomateriais têm vindo a suscitar um interesse crescente. Estes oferecem uma plataforma personalizável que permite a libertação controlada de sinais bioativos que favorecem a regeneração tecidual. Ao contrário das estruturas inertes, estes *scaffolds* desempenham um papel ativo e multifuncional no processo de engenharia, apoiando tanto a organização dos tecidos como a sinalização celular e a diferenciação. Os avanços recentes no desenvolvimento destes *scaffolds* evidenciam a integração da ciência dos materiais avançados, da nanotecnologia e dos princípios do biomimetismo. O objetivo é conceber estruturas que reproduzam fielmente a ECM dos tecidos periodontais

nativos, de forma a criar um microambiente favorável à regeneração coordenada do osso alveolar, do cimento e do LDP (Chen et al., 2024).

3.3.2.1 Os diferentes scaffolds

Os avanços tecnológicos atuais permitem a fabricação de estruturas que reproduzem fielmente a arquitetura da ECM dos tecidos biológicos. Estas estruturas, denominadas *scaffolds*, desempenham um papel central nos processos de regeneração óssea e tecidual. Podem ser concebidas como suportes tridimensionais combinados, ou não, com células, genes ou GF. Permitem a distribuição controlada de medicamentos, material genético ou agentes biológicos, fornecendo simultaneamente um ambiente propício ao desenvolvimento de novos tecidos. Diversos métodos foram desenvolvidos para produzir estes *scaffolds*, como a liofilização, replicação por esponjas, electrofiação, formação por gás, transformação de fase, lixiviação de sais, bem como técnicas mais recentes de fabrico aditivo como a impressão 3D, que tem despertado um interesse crescente. Os dados clínicos confirmam que o uso de *scaffolds* favorece a reparação óssea e estimula os processos de osteogénese (Neves et al., 2021).

Os *scaffolds* são concebidos para imitar o mais possível as características da ECM natural, fornecendo suporte para a adesão, crescimento e diferenciação celular. A sua eficácia depende de vários parâmetros críticos, nomeadamente a sua composição, arquitetura interna, propriedades mecânicas, textura e química de superfície, capacidade de degradação controlada, bem como da interação com biomoléculas ou células eventualmente incorporadas. Todos estes elementos devem ser considerados desde a fase de conceção, pois influenciam diretamente a resposta celular e a evolução do material ao longo do tempo (Neves et al., 2021).

Para cumprir eficazmente a sua função, os *scaffolds* devem ser biocompatíveis, biodegradáveis e apresentar propriedades físicas e químicas adequadas, como porosidade, resistência mecânica e superfície favorável à adesão e diferenciação celular. No entanto, os *scaffolds* convencionais enfrentam limitações, incluindo ausência de atividade antibacteriana, estabilidade mecânica reduzida e capacidade limitada de promover regeneração tecidual completa (Chen & Huang, 2022).

É por isso que as investigações recentes se orientam para *scaffolds* chamados "bioactivos", capazes não apenas de servir como suporte passivo, mas também de interagir ativamente

com as células circundantes. Estas estruturas permitem, por exemplo, estimular a diferenciação das células do LDP e induzir a expressão de genes envolvidos na osteogénese e cementogénese, contribuindo para uma regeneração mais eficaz dos tecidos periodontais. Estes *scaffolds* oferecem um ambiente tridimensional que favorece a adesão e o crescimento celular, apoia a sua diferenciação, melhora a formação de novos vasos sanguíneos, modula a resposta imunitária local para favorecer um microambiente de cicatrização, e guia a regeneração tecidular pela sua estrutura porosa e interconectada (Chen et al., 2024).

Além disso, estes materiais podem ser enriquecidos com GF, como as BMP ou os FGF, que são libertados progressivamente para estimular a reparação dos tecidos. Proporcionam também suporte mecânico ao local de regeneração, mantendo a forma e estabilidade do tecido em formação. Com o desenvolvimento da medicina personalizada, é agora possível adaptar estes *scaffolds* às necessidades específicas de cada paciente, integrando células ou fatores biológicos direcionados, o que melhora a precisão e eficácia dos tratamentos de regeneração periodontal (Chen et al., 2024).

Neste contexto, e tendo em conta a complexidade arquitetónica do periodonto, que inclui tanto tecidos moles como tecidos duros interligados, o desenvolvimento de *scaffolds* hierárquicos multifásicos surge como uma via particularmente promissora para estratégias de regeneração periodontal mais eficazes. Estes *scaffolds* são concebidos com várias fases distintas, cada uma com composições e estruturas específicas, de forma a reproduzir os diferentes compartimentos funcionais do periodonto. Uma compartimentação espacial criteriosa permite assim favorecer a regeneração coordenada do osso alveolar, do cimento e do LDP, assegurando simultaneamente uma integração harmoniosa das fibras ligamentares nas suas interfaces ósseas e cementárias respetivas. Ao reproduzir as características biomiméticas dos tecidos nativos, estes *scaffolds* visam restaurar não só a estrutura, mas também a funcionalidade do complexo periodontal. Para atingir esse objetivo, é essencial que a conceção dos *scaffolds* considere a organização espaço-temporal das diferentes populações celulares do periodonto, facilitando a sua migração, proliferação e diferenciação em microambientes apropriados. Os *scaffolds* bifásicos, que representam um primeiro passo nesta abordagem hierárquica, são maioritariamente concebidos para promover a regeneração conjunta do osso alveolar e do LDP (Zhu et al., 2023).

Paralelamente, foram realizados estudos para desenvolver *scaffolds* multicamadas especificamente orientados para a regeneração do LDP. Implementados em defeitos de fenestração periodontal em ratos, estes *scaffolds* permitiram obter fibras de colagénio mais maduras, com uma orientação semelhante à observada num LDP saudável. O surgimento de *scaffolds* hierárquicos funcionalmente graduados, capazes de imitar tanto a composição bioquímica como a organização estrutural do periodonto, marca um avanço importante na direção de uma regeneração compartimentada e simultânea de vários tecidos especializados. Os resultados pré-clínicos obtidos em modelos animais confirmam a capacidade destes *scaffolds* multifásicos para induzir a formação concomitante de novo osso alveolar, cimento e LDP (Santos et al., 2024).

3.3.2.2 Moléculas Bioativas

Na continuidade destes avanços, a escolha dos materiais constituintes dos *scaffolds* desempenha um papel determinante na eficácia das estratégias de regeneração periodontal. Os *scaffolds* podem ser elaborados a partir de materiais de origem natural ou sintética e concebidos sob diversas formas arquitetónicas, tais como filmes, fibras, folhas, géis ou estruturas esponjosas. Entre os polímeros naturais mais utilizados destacam-se o colagénio, a gelatina e a quitosana, um derivado da quitina que apresenta propriedades antibacterianas particularmente interessantes no contexto periodontal. Os polímeros sintéticos, como a PCL, o PLA ou o PLGA, são também amplamente utilizados na fabricação de *scaffolds*. Estes materiais oferecem propriedades mecânicas controláveis, uma degradabilidade ajustável e uma reprodutibilidade de produção favorável à sua utilização em larga escala. No entanto, a sua natureza inerte limita frequentemente a bioatividade, sendo necessária a integração de modificações químicas ou a adição de componentes bioativos para favorecer a adesão e a proliferação celular. Para além destes polímeros, as biocerâmicas como a HA ou o TCP ocupam um lugar de destaque devido à sua grande semelhança com a fase mineral do osso e à sua excelente bioatividade. Estes materiais apresentam um interesse relevante na promoção da osteocondução, embora a sua fragilidade mecânica e a fraca resistência à tração possam limitar a sua utilização em certos contextos clínicos que exijam maior robustez (Santos et al., 2024).

Paralelamente, o desenvolvimento de nanofibras tem suscitado um interesse crescente no domínio da engenharia tecidual periodontal, devido à sua capacidade de reproduzir com precisão a arquitetura da ECM nativa. Graças à sua elevada razão superfície/volume e à

sua porosidade interconectada, os *scaffolds* nanofibrosos oferecem um microambiente favorável à adesão celular, à difusão controlada de fatores bioativos e à ativação de vias de sinalização essenciais à regeneração tecidular. Contribuem assim para a expressão de genes específicos, para a síntese de proteínas da matriz e para a promoção da diferenciação celular, participando significativamente numa regeneração periodontal mais dirigida e eficaz (Chen & Huang, 2022).

Com o objetivo de otimizar as propriedades dos *scaffolds* destinados à regeneração periodontal, foram integradas diversas combinações de polímeros e biocerâmicas ativas nas estruturas nanofibrosas. A adição de biocerâmicas inorgânicas, nomeadamente a nano-hidroxiapatite e os vidros bioativos, contribui não só para melhorar a regeneração óssea, mas também para reforçar as propriedades físicas dos *scaffolds*. Para prevenir infecções num ambiente periodontal inflamado, nanomateriais antibacterianos foram integrados nas nanofibras, como nanopartículas metálicas de prata, óxido de zinco (ZnO), dióxido de titânio (TiO₂) e óxido de magnésio (MgO), que atuam gerando espécies reativas de oxigénio, danificando membranas bacterianas e ADN, e penetrando biofilmes resistentes. A prata destaca-se pela eficácia antimicrobiana e biocompatibilidade, enquanto ZnO e MgO favorecem a osteocondução. O TiO₂, com ampla atividade antibacteriana, é facilmente incorporado em polímeros. O grafeno e seus derivados, como o óxido de grafeno, apresentam potencial promissor, combinando ação antimicrobiana e capacidade de estimular mineralização e diferenciação osteogénica, embora ainda pouco explorados em engenharia periodontal. Além disso, os nanomateriais ganham destaque nos sistemas de libertação controlada de fármacos, como as nanopartículas de sílica mesoporosa (MSNs), conhecidas pela elevada área superficial e capacidade de carga, permitindo libertação sequencial e prolongada dos princípios ativos. A incorporação de MSNs em *scaffolds* de PLGA revela-se eficaz no tratamento de patologias complexas, como a periodontite associada à diabetes (Chen & Huang, 2022).

3.3.3 Terapias celulares

3.3.3.1 Definição

A terapia celular representa um avanço significativo no domínio da regeneração periodontal, ao explorar o potencial das células estaminais para restaurar as estruturas tecidulares danificadas. Estas células indiferenciadas possuem a capacidade de auto-renovação e de diferenciação em vários tipos celulares fundamentais, como os

osteoblastos, fibroblastos e cementoblastos, essenciais para a reconstrução dos tecidos periodontais. As estratégias baseadas na utilização de células estaminais envolvem o seu isolamento e expansão *in vitro*, seguidos da sua transplantação para as lesões periodontais, onde promovem a regeneração tecidual. A sua eficácia assenta não apenas na sua capacidade de se diferenciarem em células periodontais especializadas, mas também na sua secreção de fatores tróficos que estimulam a cicatrização e regulam a resposta imunitária local (Kiran, 2021).

Diversas fontes de células estaminais foram identificadas como promissoras para a regeneração periodontal, nomeadamente as células estaminais da polpa dentária (DPSC), PDLSC, da medula óssea (BM-MSC), do tecido adiposo (ASC), assim como as células estaminais pluripotentes induzidas. Estas células, acessíveis a partir de tecidos pouco invasivos, apresentam uma elevada plasticidade celular e um potencial de diferenciação em múltiplas linhagens, tornando a sua utilização adequada para terapias regenerativas (Li et al., 2020).

Os dados provenientes de modelos animais e de ensaios clínicos preliminares confirmaram o potencial destas abordagens para promover uma regeneração funcional do complexo periodontal. Em particular, as células estaminais demonstraram a capacidade de induzir a formação de osso alveolar, de novo cimento e de LDP, sugerindo uma restauração completa da unidade periodontal (Li et al., 2020).

Na prática clínica, a terapia celular é frequentemente associada a outras modalidades, como a RTG, o enxerto ósseo ou a administração de GF, observando-se efeitos sinérgicos na regeneração e nos resultados clínicos. No entanto, persistem alguns desafios, nomeadamente a ausência de protocolos padronizados para o isolamento, expansão e transplantação celular, bem como o desenvolvimento de sistemas de administração seguros e eficazes. Para além disso, preocupações relacionadas com os potenciais riscos tumorígenos e com as questões éticas associadas à utilização de células estaminais requerem investigações e regulamentações aprofundadas (Kiran, 2021).

3.3.3.2 Células estaminais dentárias (DSCs) na RTG

As células estaminais têm suscitado um interesse crescente na engenharia tecidual devido às suas notáveis capacidades regenerativas e às suas propriedades imunomoduladoras. Entre elas, destacam-se as células estaminais dentárias (DSCs), um

subtipo de MSCs, pelo seu potencial de diferenciação em múltiplas linhagens celulares, como os odontoblastos ou os osteoblastos, consoante as condições de indução.

A utilização *in situ* de MSCs homogêneas representa uma estratégia terapêutica promissora para restaurar os tecidos periodontais afetados por desequilíbrios crônicos do microbiota. Assim, as terapias celulares baseadas em DSCs emergem como abordagens inovadoras na regeneração periodontal, especialmente para a restauração funcional do LDP. As DSCs têm origem na crista neural, uma estrutura embrionária multipotente com elevado potencial migratório, e incluem vários tipos bem caracterizados: as DPSCs, as células estaminais provenientes de dentes decíduos exfoliados, as PDLSCs, as células estaminais gengivais (GMSCs), as células estaminais da papila apical e as do folículo dentário (Wen et al., 2024).

Ferrarotti et al. (2018) conduziram um ensaio clínico controlado em humanos com o objetivo de avaliar o potencial regenerativo periodontal de células estaminais mesenquimatosas autólogas indiferenciadas, isoladas da polpa dentária. O estudo incluiu 29 pacientes com defeitos periodontais angulares localizados em dentes maxilares e mandibulares, dos quais 14 foram alocados no grupo controlo e 15 no grupo experimental. O grupo controlo foi tratado unicamente com uma esponja de colagénio, enquanto, no grupo experimental, as DPSC foram incorporadas na esponja. Ao longo do período de observação, que variou entre 6 e 12 meses, os resultados demonstraram um ganho superior da CAL, uma redução mais acentuada na PD e um maior preenchimento dos defeitos ósseos radiográficos no grupo tratado com DPSC (Carvalho et al., s.d.).

No âmbito de uma revisão sistemática acompanhada de uma meta-análise em rede, cinco tipos de células estaminais (ADSCs, BM-MSCs, DPSCs, GMSCs e PDLSCs) foram comparados em modelos animais de defeitos periodontais. Os resultados evidenciaram a superioridade das PDLSCs e das BM-MSCs na regeneração do osso alveolar, do cemento e do LDP. Além disso, as DPSCs mostraram-se mais eficazes do que as células controlo na regeneração óssea, enquanto as ADSCs demonstraram melhor desempenho na regeneração do cemento. A ausência de discordância entre comparações diretas e indiretas reforça a robustez destas conclusões (Li et al., 2020).

Quanto às metodologias de administrar células para fins terapêuticos, a injeção de células em suspensão continua a ser uma abordagem tradicional. Esta técnica é valorizada

por ser minimamente invasiva, mas tem desvantagens importantes, como a baixa sobrevivência das células e a sua fraca retenção no local da lesão. Para superar estas limitações, surgiu a técnica de "*cell sheeting*", na qual as células são cultivadas até cobrirem completamente a superfície do recipiente. Depois, são retiradas mantendo a sua ECM e as ligações entre células intactas. Isso melhora a sua funcionalidade e integração com os tecidos. Estes folhetos celulares podem ser empilhados para criar estruturas em três dimensões, mais semelhantes ao tecido natural.

Outra alternativa promissora é a cultura esferoidal, uma tecnologia emergente baseada na auto-organização das células em pequenos agregados esféricos, onde as interações entre células são favorecidas. Existem vários métodos para criar estes esferoides, como a técnica da gota suspensa, a centrifugação em "*pellet*" ou o uso de *microchips* com pequenos poços. Comparados com as células injetadas isoladamente, os esferoides conseguem produzir quantidades mais elevadas de ECM e de GF. Esferoides criados a partir de hPDL-MSCs, especialmente os gerados com *microchips*, mostraram maior capacidade para formar osso e expressar fatores que combatem a inflamação e promovem a formação de vasos sanguíneos. No entanto, em alguns casos, como nos esferoides formados por centrifugação em *pellet*, pode ocorrer morte celular no centro da estrutura, o que reduz o seu potencial regenerativo (Zeng et al., 2021).

Em conclusão, as DSCs representam um recurso valioso para a regeneração periodontal, tanto pela sua origem neural como pelo seu perfil imunobiológico favorável. As abordagens avançadas, como o "*cell sheeting*" e a cultura esferoidal, permitem ultrapassar algumas limitações dos métodos clássicos, maximizando a viabilidade e o potencial funcional das células implantadas. Estas inovações abrem caminho para uma regeneração tecidual mais completa, embora ainda exijam otimizações técnicas e validação clínica rigorosa.

3.3.3.3 Fatores de crescimento

As plaquetas representam uma fonte importante destes fatores, ao libertarem um cocktail de moléculas bioativas como o PDGF, o TGF- β 1 (fator de crescimento transformador beta-1), VEGF-A, bFGF/FGF-2, HGF (fator de crescimento de hepatócitos) e EGF (fator de crescimento epidérmico) e o IGF-1, cada um desempenhando um papel distinto, mas complementar na orquestração da reparação dos tecidos. Estes dados levaram, nas duas

últimas décadas, ao desenvolvimento de estratégias terapêuticas baseadas na aplicação direcionada de GF autólogos, com o objetivo de estimular a regeneração. Entre estas abordagens, uma das primeiras formulações validadas foi o PRGF, uma forma de plasma enriquecido obtido a partir do sangue total do paciente, segundo a tecnologia PRGF®-Endoret desenvolvida pelo BTI *Biotechnology Institute* (Anitua et al., 2016).

O PRGF atua como um bioativador do processo regenerativo: favorece a migração de células estaminais indiferenciadas para o local da lesão, desencadeia a sua proliferação e pode também induzir a sua diferenciação, especialmente MSCs, acelerando assim os processos de reparação óssea. Do ponto de vista prático, a utilização do PRGF requer apenas uma pequena quantidade de sangue, adaptada às necessidades da intervenção cirúrgica. O sangue é centrifugado apenas uma vez, permitindo obter uma fração plasmática rica em proteínas bioativas. Esta simplicidade de uso possibilitou a sua aplicação transversal em várias especialidades médicas, incluindo medicina dentária, cirurgia ortopédica, dermatologia e medicina desportiva (Anitua et al., 2016).

Do ponto de vista clínico, as performances do PRGF foram amplamente avaliadas no tratamento de defeitos intra-ósseos periodontais. Um estudo comparativo avaliou o efeito do PRGF isolado em comparação com a RTG, utilizando os bovino inorgânico + membrana de colagénio em defeitos intra-ósseos ≥ 3 mm, com PD ≥ 6 mm. Os resultados demonstraram que o PRGF isolado é tão eficaz quanto a RTG para reduzir a PD e melhorar o nível de CAL (Solakoglu et al., 2020).

Por fim, outro estudo randomizado e controlado demonstrou que o uso adjuvante de PRGF com uma membrana de colagénio permitiu uma redução significativa da componente horizontal dos defeitos de furca de grau II, sublinhando o potencial sinérgico desta combinação terapêutica (Solakoglu et al., 2020).

Além do PRGF, outras abordagens baseadas em concentrados plaquetários têm sido exploradas no campo da engenharia tecidual, com destaque para a PRF, que apresenta características únicas e um elevado potencial regenerativo.

PRF é um biomaterial biológico inovador que tem despertado um crescente interesse no campo da engenharia tecidual devido às suas propriedades regenerativas. Caracteriza-se por uma concentração elevada de plaquetas, leucócitos e uma matriz fibrilar densa, obtida

por centrifugação lenta do sangue do paciente. Este processo gera coágulos de PRF que podem ser utilizados de várias maneiras para apoiar a regeneração tecidual, incluindo em aplicações de regeneração óssea. As plaquetas presentes no PRF desempenham um papel essencial na cicatrização, enquanto os leucócitos fornecem propriedades antibacterianas importantes para reduzir os riscos de infecção. O PRF liberta de forma lenta GF, como TGF- β 1, PDGF e VEGF, que estimulam a cura e regeneração dos tecidos (Agrawal, 2023).

Os autores de um estudo desenvolveram *scaffolds* compostos por nHA, quitosano, gelatina e alginato, nos quais integraram PRF liofilizado. A liofilização permite conservar o PRF e reidratá-lo durante a fabricação do *scaffold*, sem comprometer as suas propriedades biológicas. A adição de PRF alterou a estrutura do *scaffold*, resultando num aumento do tamanho dos poros e numa organização mais diversificada e menos compacta. Estas alterações estruturais facilitam a infiltração celular e a vascularização. A presença do PRF parece induzir interações químicas com os componentes do *scaffold*, contribuindo para estas modificações. Do ponto de vista biológico, o PRF liberta GF como o PDGF-BB e o FGF-B após 24 horas de imersão do *scaffold* em meio de cultura. Estes fatores promovem a viabilidade das DPSC e dos osteoblastos derivados de DPSC aumentando assim a sua proliferação e adesão ao scaffold. A integração do PRF melhora a compatibilidade biológica do *scaffold*, estimulando a regeneração óssea e o crescimento de novos tecidos através da libertação contínua de GF, mantendo simultaneamente uma estabilidade estrutural adequada à regeneração óssea (Anaya-Sampayo et al., 2024).

Em complemento ao PRF, uma versão injetável deste biomaterial, chamada de *injectable platelet-rich fibrin* (I-PRF), tem atraído recentemente uma atenção considerável devido às suas capacidades regenerativas aumentadas e à sua facilidade de aplicação em clínica. Ao contrário do PRF clássico, o I-PRF é uma formulação líquida enriquecida com leucócitos, obtida por uma centrifugação ajustada, o que permite aumentar a concentração de GF e regenerar eficazmente os tecidos duros e moles. Apresenta vantagens notáveis em termos de osteogénese, promovendo a proliferação celular, migração e vascularização necessárias para a regeneração óssea. O I-PRF também demonstrou resultados superiores em comparação com outros concentrados de plaquetas em termos de potencialidade de regeneração óssea e redução da resorção óssea, especialmente quando combinado com enxertos ósseos autólogos. Graças à sua facilidade de aplicação e à capacidade de libertar

GF de forma gradual, o I-PRF torna-se uma ferramenta valiosa nas estratégias de regeneração tecidual e regeneração óssea (Farshidfar et al., 2022).

3.3.3.4 Limitações

A medicina regenerativa, e em particular a engenharia de tecidos, tem mostrado potencial na reparação de tecidos danificados, recorrendo ao uso de células estaminais e biomoléculas. Entre estas, as células MSCs destacam-se pela sua capacidade de diferenciação e efeitos imunomoduladores.

Contudo, apesar do seu potencial terapêutico, a utilização clínica destas células enfrenta limitações significativas. Entre os principais obstáculos estão a rejeição imunológica, o risco de transmissão de agentes patogénicos, o potencial oncogénico, a instabilidade genética, a complexidade da manipulação *ex vivo*, a longa duração dos protocolos, os custos elevados e as exigências regulamentares rigorosas. Estes fatores comprometem a eficácia, a segurança e a viabilidade económica das terapias baseadas em células estaminais (Ivanov et al., 2021).

3.3.4 Terapias acelular

3.3.4.1 Definição

As abordagens acelulares têm ganho um interesse crescente no domínio da engenharia tecidual, devido à sua facilidade de aplicação clínica. Estas estratégias baseiam-se na utilização de biomateriais derivados de tecidos, capazes de estimular ou potenciar os mecanismos endógenos de autorreparação, promovendo assim a regeneração tecidual *in situ*.

As terapias acelulares visam a mobilização ou o recrutamento de MSCs endógenas ou de células progenitoras específicas do tecido para o local da lesão, influenciando o seu destino celular de forma a induzir a regeneração. Esta mobilização pode ser alcançada através da criação de gradientes quimiotáticos, sem a necessidade de cultivo celular *ex vivo*, geralmente por meio da administração de fatores bioativos, como quimiocinas, citocinas, GF ou componentes da ECM (Golebiowska et al., 2024).

Os produtos acelulares utilizados em medicina regenerativa demonstraram a sua capacidade de favorecer a migração, proliferação, diferenciação e atividade metabólica das células estaminais residentes. Estes produtos contribuem igualmente para organizar

especialmente estas células de forma adequada, promovendo assim a regeneração dos tecidos lesados sem recurso à transplantação celular exógena. A observação dos mecanismos naturais de cicatrização sugere que é possível explorar o potencial regenerativo intrínseco dos tecidos endógenos para a reparação tecidual, independentemente da introdução de células estaminais externas. No entanto, essa capacidade natural revela-se muitas vezes insuficiente para permitir uma regeneração completa de numerosos tecidos. Assim, as estratégias atuais em medicina regenerativa endógena visam ultrapassar essas limitações, facilitando o recrutamento das células reparadoras residentes para os locais lesados, nomeadamente através da promoção da sua mobilização e *homing*, constituindo uma alternativa promissora às terapias celulares clássicas (Wang et al., 2022).

3.3.4.2 Mecanismo endógeno de cicatrização ERM

A regeneração endógena baseia-se na criação de um microambiente favorável à proliferação e diferenciação celular, bem como na mobilização de quimiocinas e citocinas, de modo a promover a migração contínua e a agregação das células estaminais internas do organismo para a região lesada (Wang et al., 2022).

3.3.4.3 Matriz extracelular descelularizada

A matriz extracelular descelularizada (dECM) representa atualmente um biomaterial central na regeneração de defeitos periodontais, devido à sua capacidade única de preservar os elementos bioquímicos e estruturais essenciais presentes nos tecidos nativos. Em particular, conserva proteínas matriciais complexas (colagénios, fibronectina, laminina, etc.), glicosaminoglicanos, proteoglicanos e diversos GF, que em conjunto desempenham um papel fundamental na orquestração da regeneração tecidual. Graças a esta composição, a dECM fornece um microambiente biomimético ideal, favorecendo interações dinâmicas entre células e ECM. Estas interações desencadeiam sinais celulares fisiológicos que regulam funções-chave como a proliferação, adesão, migração, diferenciação e sobrevivência celular, indispensáveis para uma regeneração periodontal funcional. Os *scaffolds* derivados de dECM, obtidos a partir de tecidos biológicos naturais ou culturas celulares, mantêm uma arquitetura tridimensional semelhante à do tecido nativo, proporcionando suporte físico às células residentes e favorecendo a sua integração no local lesionado (Liang et al., 2023).

Do ponto de vista imunológico, a dECM apresenta vantagens significativas como a ausência de células que reduz consideravelmente o risco de rejeição imunitária e de reações inflamatórias, enquanto mantém as propriedades imunomoduladoras dos componentes matriciais nativos. Assim, é capaz de modular a resposta inflamatória local, atenuar fenómenos de fibrose e promover um ambiente reparador favorável à cicatrização.

A dECM pode ser classificada segundo a sua origem em duas categorias principais:

- A C-dECM (*cell-derived* dECM), derivada de culturas ou lâminas celulares, muitas vezes recolhida após a cultura de MSCs ou fibroblásticas.
- A T-dECM (*tissue-derived* dECM), proveniente diretamente de tecidos biológicos específicos como o LDP, a polpa dentária ou a mucosa gengival.

A C-dECM é particularmente interessante para a regeneração tecidular devido à sua plasticidade, capacidade de ser modificada fisicamente ou quimicamente, e às suas propriedades biomecânicas favoráveis (elasticidade, porosidade, difusão de nutrientes). Permite também uma melhor reprodutibilidade em condições controladas *in vitro*, podendo ser adaptada às necessidades clínicas específicas através de técnicas de engenharia tecidular (Liang et al., 2023).

As lâminas celulares descelularizadas são obtidas através de um processo controlado de descelularização enzimática, química ou mecânica, com o objetivo de eliminar os elementos celulares e nucleares (ADN, ARN, detritos citoplasmáticos) preservando simultaneamente a integridade arquitetónica, bioquímica e mecânica da ECM. Esta abordagem permite obter um material acelular altamente biocompatível, que conserva a matriz tridimensional natural, enquanto reduz os riscos de imunogenicidade e de reação a corpo estranho, problemas frequentes na utilização de implantes biológicos ou sintéticos convencionais (Phothichailert et al., 2024).

Estudos recentes demonstraram a eficácia da utilização de lâminas celulares descelularizadas na regeneração periodontal, especialmente quando combinadas com citocinas pró-regenerativas (como o TGF- β , PDGF ou BMP-2) ou com biomateriais inovadores (como hidrogéis, membranas poliméricas) para potenciar a sua atividade

bioindutiva. Entre as principais fontes celulares utilizadas na produção de C-dECM para regeneração periodontal encontram-se:

- Lâminas de células estaminais do ligamento periodontal,
- Lâminas de células estaminais mesenquimatosas da medula óssea,
- Lâminas de células estaminais mesenquimatosas urogenitais humanas (hUMSCs),
- E outros tipos celulares como as células estaminais do folículo dentário ou as células L929 (linhagem fibroblástica murina) (Liang et al., 2023).

As ECM derivadas de culturas *in vitro* são influenciadas pelas condições de cultura (meio, tempo, densidade celular, superfície), o que pode alterar a composição molecular da dECM e, conseqüentemente, os seus efeitos sobre as células. É, portanto, essencial controlar e padronizar os parâmetros de produção para garantir a eficácia e a reprodutibilidade do produto final. Para ser considerada adequada ao uso em engenharia tecidual, uma dECM deve cumprir vários critérios fundamentais:

- Preservar a estrutura tridimensional da ECM, essencial às propriedades mecânicas do tecido-alvo.
- Eliminar eficazmente os resíduos celulares (ADN, ARN, detritos), sem comprometer os componentes estruturais.
- Conservar as proteínas bioativas e os sinais matriciais necessários à atividade celular.
- Ser não citotóxica, não imunogénica e favorecer a adesão, proliferação e diferenciação celular.
- Apresentar homogeneidade estrutural entre os lotes produzidos.
- Ser escalável, ou seja, passível de ser produzida em quantidade suficiente para aplicações clínicas (Phothichailert et al., 2024).

3.3.4.4 Vesículas extracelulares

As vesículas extracelulares (EVs) são estruturas microscópicas rodeadas por uma bicamada lipídica, secretadas por numerosos tipos celulares, nomeadamente células imunitárias, endoteliais, epiteliais, neuronais, tumorais, células de Schwann e MSCs. Estas vesículas desempenham um papel essencial na comunicação intercelular, transportando diversos sinais biológicos envolvidos em processos fisiológicos e

patológicos como a imunidade, inflamação, angiogénese, homeostasia e até a progressão do cancro. Consoante a sua origem, as EVs dividem-se em três grandes categorias: os corpos apoptóticos, produzidos durante a apoptose; as microvesículas, que brotam diretamente da membrana plasmática; e os exossomas, provenientes da fusão dos corpos multivesiculares com a membrana celular. Adicionalmente, podem também ser classificadas segundo o seu tamanho em pequenas, médias ou grandes EVs (Ivanov et al., 2021).

Uma característica importante das EVs é a sua membrana lipídica, que assegura a proteção e a estabilidade do seu conteúdo durante o transporte até às células-alvo. Uma vez libertadas no ambiente extracelular, podem transmitir o seu conteúdo por diferentes mecanismos: podem ser internalizadas por endocitose, fundir-se diretamente com a membrana das células recetoras ou ainda aderir à sua superfície para transferir o conteúdo. A sua carga inclui, nomeadamente, ácidos nucleicos como os mRNAs, que modificam o comportamento das células-alvo (Wang & Pan, 2023).

Na medicina regenerativa dentária, as EVs demonstraram uma capacidade promissora para promover a reparação de diferentes tecidos, como a polpa dentária, a dentina e os tecidos periodontais. Por exemplo, as EVs derivadas das DPSCs conseguem ligar-se a proteínas da ECM, como o colagénio tipo I e a fibronectina, facilitando assim a sua incorporação em biomateriais implantáveis. Estas EVs podem ainda estimular a expressão de genes envolvidos na diferenciação odontogénica, participando ativamente na regeneração dos tecidos dentários. No que diz respeito à regeneração periodontal, estudos demonstraram que as EVs secretadas por PDLSCs têm efeitos terapêuticos sobre os defeitos ósseos causados pela periodontite. Estas vesículas são capazes de restaurar a capacidade osteogénica das células estaminais locais num ambiente inflamatório. Isto permite restabelecer o potencial de diferenciação das PDLSCs afetadas pela inflamação e promover a regeneração óssea alveolar. Além disso, as EVs provenientes de BMSC representam também uma estratégia acelular muito interessante para a regeneração periodontal. Atuam essencialmente através da ativação da via OPG-RANKL-RANK, que regula a atividade dos osteoclastos e, consequentemente, o equilíbrio ósseo. Modulam igualmente a polarização dos macrófagos e a expressão do TGF- β 1, o que contribui para limitar a resposta inflamatória e os danos imunológicos ao nível dos tecidos periodontais (Wang & Pan, 2023).

Assim, as EVs constituem uma ferramenta cada vez mais estudada na engenharia tecidual, pela sua capacidade de mimetizar os efeitos das células estaminais, evitando ao mesmo tempo complicações associadas à sua implantação direta, como o risco de rejeição imunológica ou de transformação tumoral (Ivanov et al., 2021).

3.3.4.5 microRNAs

Os microRNAs (miRNAs) são pequenos RNA não codificantes que desempenham um papel central na regulação da expressão génica. Atuam ligando-se a sequências complementares nos RNA mensageiros-alvo, o que provoca o bloqueio da tradução ou a degradação pós-transcricional destes. A sua expressão é específica de cada tipo celular e pode variar consideravelmente em função do estado fisiológico ou patológico do organismo. Os miARNs encapsulados nos exossomas secretados por MSCs desempenham um papel fundamental enquanto mediadores da comunicação intercelular. Regulam diversas funções das células efectoras e participam na atenuação das reações inflamatórias. Estes miARNs exossomais podem, por si só, iniciar processos de reparação e regeneração tecidual, enquanto promovem a angiogénese, a proliferação celular, a regulação da autofagia e a redução da apoptose, nomeadamente em contextos de periodontite (Ivanov et al., 2021).

Numerosos estudos recentes evidenciaram uma forte correlação entre os miARNs derivados de MSCs e os mecanismos patológicos da periodontite. No entanto, os resultados continuam a ser heterogêneos devido à diversidade dos miARNs estudados. Sabe-se atualmente que os miARNs podem existir sob duas formas principais: intracelular e extracelular. Estas duas formas diferem na sua origem, concentração, funções e mecanismos de ação. Os miARNs presentes nos exossomas são geralmente menos abundantes do que os seus homólogos intracelulares, mas apresentam uma maior estabilidade, graças à encapsulação que os protege da degradação enzimática e facilita o seu transporte para as células-alvo. Enquanto os miARNs intracelulares são produzidos no interior da célula por transcrição e maturação de precursores, os miARNs exossomais resultam do processo de secreção dos mesmos pelas células. O seu efeito biológico depende estreitamente da sua localização: os miARNs endógenos modificam a expressão génica na célula que os produz, influenciando diretamente as suas funções fisiopatológicas. Por outro lado, uma vez libertos nos exossomas, os miARNs podem ser

transferidos para outras células, onde atuam como mensageiros modulando um vasto leque de funções celulares (Zhang et al., 2024).

Do ponto de vista fisiopatológico, a inibição da síntese proteica pelos miARNs está implicada em numerosos processos, tanto normais como patológicos. Uma expressão anômala de certos miARNs pode perturbar as respostas imunitárias inata e adaptativa, contribuindo assim para o desenvolvimento de doenças inflamatórias crônicas, incluindo a periodontite, bem como de certos cânceros (Luan et al., 2018).

A periodontite é desencadeada por uma resposta imuno-inflamatória do hospedeiro face a uma flora bacteriana patogénica, o que leva à destruição dos tecidos periodontais e à perda do osso e do tecido conjuntivo que sustentam os dentes. A progressão da doença depende do equilíbrio dinâmico entre o microbiota oral e a resposta imunitária do hospedeiro. Esta envolve dois níveis: a imunidade inata e a imunidade adaptativa. Os miARNs desempenham um papel chave nestas respostas, nomeadamente regulando a função dos neutrófilos, a sua migração para os tecidos inflamados, assim como a estabilidade dos ARN mensageiros das quimiocinas. É atualmente aceite que certos componentes bacterianos presentes na placa dentária podem alterar a expressão dos miARNs, contribuindo para tornar ineficaz o sistema imunitário do hospedeiro ou desencadear uma resposta catabólica excessiva. Vários estudos observaram diferenças significativas nos perfis de expressão de miARNs entre tecidos periodontais saudáveis e doentes (Luan et al., 2018).

Os miARNs individuais podem também ser explorados como agentes terapêuticos. Ao visarem múltiplos genes, são capazes de modular simultaneamente diversas vias de sinalização. É mesmo possível combinar certos miARNs com os seus antagonistas para regular diferentes intervenientes numa mesma cascata molecular. Por exemplo, para limitar a reabsorção óssea, determinados miARNs podem restaurar a função de miARNs deficitários ligados à osteoblastogénese ou, inversamente, inibir aqueles que promovem a diferenciação ou a atividade dos osteoclastos (Santonocito et al., 2021).

Para permitir uma aplicação clínica, foram desenvolvidos diversos sistemas de entrega de miARNs. Estes vetores classificam-se em duas grandes categorias: virais e não virais. Os sistemas virais baseiam-se em vetores como os retrovírus, lentivírus ou adenovírus. Apesar da sua eficácia, estes vetores induzem frequentemente uma forte resposta

imunitária que pode limitar a sua aplicação. As abordagens não virais enfrentam o desafio do transporte intracelular dos miARNs, em particular para preservar a sua integridade até ao núcleo. Estas incluem sistemas à base de lípidos (como os lipossomas), ou de polímeros como a polietilenimina, o PLGA e o poli(amidoamina). Outros vetores mais recentes utilizam nanopartículas à base de ouro, ferro ou sílica, bem como materiais naturais como o quitosano, a protamina ou o colagénio (Santonocito et al., 2021).

3.4 Impressão 3D

3.4.1 Definição

A tecnologia de impressão 3D, também conhecida como fabrico aditivo(AM), foi comercializada nos anos 1980 por Charles W. Hull. Desde então, surgiram vários sistemas de impressão 3D, entre os quais o fabrico por deposição de filamento fundido (FDM), que utiliza termoplásticos, a sinterização seletiva por laser (SLS) ou a fusão seletiva por laser (SLM), que empregam uma fonte de laser de alta energia e pós, bem como o processamento digital por luz (DLP), baseado na fotopolimerização. Estas tecnologias permitem a criação rápida de protótipos a partir de materiais diversos (Park, 2022).

Nos últimos anos, a impressão 3D tem despertado um interesse crescente devido à melhoria das imagens médicas de alta resolução, obtidas nomeadamente através de scanners intraorais ou da tomografia computadorizada de feixe cónico (cone beam CT). Estes avanços permitiram a fabricação rápida, precisa e reproduzível de modelos digitalizados com arquiteturas à escala micrométrica. Assim, é atualmente possível produzir coroas temporárias, goteiras, guias cirúrgicos para implantes ou várias próteses dentárias utilizadas como substitutos tecidulares ou dispositivos descartáveis. Em particular, a impressão 3D permite a fabricação de estruturas porosas orientadas nos *scaffolds* ósseos. Estas arquiteturas facilitam a infiltração de tecidos mineralizados e permitem controlar a orientação das fibras de tecido conjuntivo em direção à superfície radicular dentária, imitando a estrutura natural do LDP (Park, 2022).

O processo de impressão 3D começa com a conceção de um modelo digital utilizando um software de desenho assistido por computador. Este modelo é depois dividido em fatias sucessivas e enviado para a impressora 3D, que deposita o material escolhido camada por camada até à obtenção do objeto final. Este método aditivo oferece várias vantagens em

relação às técnicas tradicionais de fabrico subtrativo (CM). Permite um controlo preciso da estrutura interna, reduz o desperdício de materiais, produz objetos monobloco e possibilita a transmissão digital dos ficheiros, o seu armazenamento ilimitado e partilha fácil. Como resultado, o tempo e os custos de produção são reduzidos (Nesic et al., 2020).

Na medicina dentária, as técnicas de impressão 3D mais utilizadas incluem a estereolitografia (SLA), a FDM, a SLS e o DLP.

- A SLA utiliza um feixe de luz UV dirigido por espelhos motorizados para polimerizar seletivamente uma resina líquida fotorreativa. Um rodo cobre depois a superfície endurecida antes da polimerização da camada seguinte. Podem ser aplicados corantes ou infiltrações localizadas.
- A tecnologia FDM, baseada na extrusão, aquece termoplásticos para criar filamentos que são depositados para formar objetos simples, de baixo custo e menos complexos, frequentemente utilizados em medicina dentária para modelos básicos.
- O SLS baseia-se num laser pulsado de alta potência que funde partículas de polímero termoplástico, metal, cerâmica ou vidro. Cada camada é renovada com um rolo ou uma lâmina. Uma das vantagens do SLS é que os modelos obtidos podem ser esterilizados em autoclave, tornando-os adequados para procedimentos clínicos.
- O DLP, por sua vez, utiliza um dispositivo de microespelhos digitais para projetar uma imagem UV em fatias sobre uma resina fotossensível. Partilha princípios semelhantes com o SLA, mas permite a polimerização rápida de uma camada inteira numa única exposição à luz. É particularmente adequado à utilização de resinas fotopolimerizáveis em medicina dentária (Pillai et al., 2021).

As imagens obtidas por imagiologia médica, como a tomografia, podem ser usadas para conceber moldes de cera impressos em 3D que servem de guias para a migração das células do LDP (Takkella et al., 2023).

Um dos principais trunfos da impressão 3D na fabricação de *scaffolds* tecidulares reside na flexibilidade de conceção. Permite controlar com precisão a porosidade, o tamanho e a interconexão dos poros, bem como a orientação das fibras, criando assim um gradiente

estrutural no interior do material. Este gradiente pode ser utilizado para orientar a organização dos tecidos no seio da estrutura regenerativa (Yamada et al., 2022).

3.4.2 Os diferentes polímeros utilizados

Hidrogéis e polímeros: Os materiais mais frequentemente utilizados na impressão 3D para aplicações biomédicas são os polímeros sintéticos. Os hidrogéis poliméricos representam candidatos ideais para o desenvolvimento de materiais imprimíveis, devido às suas propriedades físico-químicas adequadas. A impressão 3D de polímeros e hidrogéis baseia-se geralmente na utilização de materiais cuja viscosidade é rigorosamente controlada, sendo esta um fator determinante da capacidade da bio-tinta para ser impressa. As tintas poliméricas devem possuir uma viscosidade suficiente para garantir o suporte estrutural das camadas impressas sucessivas, mantendo-se suficientemente fluidas para evitar a obstrução do bico de extrusão. Atualmente, hidrogéis à base de gelatina metacrilatada, pré-polimerizados e encapsulando células, são utilizados com sucesso em aplicações de bioimpressão (Rakhewar et al., 2023).

Cerâmicas: Os *scaffolds* cerâmicos são geralmente compostos por fases minerais à base de cálcio e fosfato, como a HA ou o β -TCP. Embora estes materiais não sejam compatíveis com a encapsulação celular direta no contexto da bioimpressão, apresentam grande interesse devido à sua capacidade de estimular a osteogénese, através da libertação de iões bioativos no microambiente celular. Além disso, a sua resistência mecânica permite manter o espaço necessário à regeneração tecidual, tornando-os alternativas promissoras para a fabricação de estruturas tridimensionais (Espitia-Quiroz et al., 2022).

Materiais compósitos: Os materiais compósitos imprimíveis, geralmente sob a forma de copolímeros, misturas polímero-polímero ou polímero-cerâmica, permitem combinar várias propriedades vantajosas dos constituintes iniciais. Esta abordagem oferece uma flexibilidade considerável na conceção de biomateriais adaptados a aplicações específicas em engenharia tecidual (Rakhewar et al., 2023).

Policaprolactona (PCL): A PCL é um poliéster biodegradável por hidrólise, aprovado pela FDA para determinadas indicações clínicas. Pode ser transformada numa grande variedade de formas e porosidades, com propriedades mecânicas moduláveis. Estas características fazem dela um material de eleição para a fabricação de *scaffolds* multifásicos destinados à regeneração do periodonto. Graças à sua grande

compatibilidade com diferentes técnicas de fabrico, a PCL tem despertado um interesse crescente no domínio da engenharia tecidual (Antunovic et al., 2023).

Ácido polilático (PLA): O PLA é um poliéster alifático e hidrofílico, biodegradável e ecológico, o que o torna um material promissor para a impressão 3D. O PLA pode ser impresso por modelação por FDM. No entanto, o processo de impressão provoca uma redução do seu peso molecular e da sua temperatura de degradação, sem alterar a estrutura semi-cristalina do polímero. Importa referir que o PLA pode deformar-se a temperaturas superiores a 50 °C, o que limita a sua utilização em certas condições. Isto levou ao desenvolvimento de materiais híbridos em combinação com outros polímeros (Cai et al., 2023).

PLGA: O PLGA é considerado um material de eleição devido à sua biodegradabilidade e biocompatibilidade. Fabricado por diferentes métodos, o PLGA, combinado com reforços metálicos, apresenta vastas perspetivas de aplicação em medicina dentária. Estes compósitos permitem melhorar a proliferação celular e reforçar as propriedades antimicrobianas. Graças às suas características físico-químicas, o PLGA é compatível com a impressão 3D por FDM. No entanto, os parâmetros de impressão devem ser otimizados em função das proporções entre PLA e PGA, pois estas influenciam o peso molecular, a composição terminal do copolímero e propriedades como a viscosidade e a resposta térmica. Recomenda-se a utilização de uma proporção mais elevada de PLA para melhorar a sua imprimibilidade (Cai et al., 2023).

3.4.3 Bio-impressão

A tecnologia de impressão 3D permitiu avanços significativos no domínio da regeneração periodontal, tornando possível não apenas a impressão de membranas e de *scaffolds* biocompatíveis, mas também de células vivas e de componentes de suporte no seio de tecidos funcionais complexos em três dimensões. Esta abordagem inovadora é conhecida como bioimpressão.

A bioimpressão representa uma tecnologia de ponta que permite a criação de estruturas arquitetónicas hierarquizadas e biofuncionais através da impressão 3D, integrando um ou mais tipos de células vivas. Consiste em imprimir os elementos constituintes de um tecido específico, incluindo células vivas incorporadas em matrizes, com o objetivo de reproduzir estruturas teciduais análogas. Ao contrário da impressão 3D convencional, a

bioimpressão confere funcionalidade biológica às estruturas impressas, reproduzindo as interações célula-célula e célula-matriz. Os materiais utilizados na bioimpressão são agrupados sob o termo bio-tintas, e incluem células vivas, hidrogéis, fatores químicos e biomoléculas (Sufaru et al., 2022).

Os hidrogéis constituem materiais de eleição para a formulação de bio-tintas, devido à sua biocompatibilidade, baixa citotoxicidade, elevado teor em água, bem como às suas propriedades químicas e mecânicas moduláveis. Um hidrogel adequado à bioimpressão 3D deve apresentar uma viscosidade suficiente para manter a sua forma durante a impressão sem comprimir as células, além de possuir uma capacidade de reticulação que permita conservar a estrutura tridimensional após a impressão. Entre as técnicas utilizadas, destaca-se a bioimpressão por jato de tinta, que consiste na projeção de um volume definido de fluido sobre uma plataforma, de modo a obter um padrão preciso. A deposição das gotículas é assegurada por fontes de energia térmica ou piezoelétrica. Esta técnica apresenta como principal vantagem uma elevada rapidez de fabrico, bem como a possibilidade de utilizar cabeças de impressão múltiplas para depositar diferentes tipos celulares ou biomateriais. Contudo, uma limitação desta técnica reside no facto de que as células ou moléculas bioativas devem estar em fase líquida para poderem ser depositadas, sendo depois necessário solidificá-las para formar a estrutura desejada. Os hidrogéis utilizados neste tipo de processo são geralmente reticulados através de métodos físicos, químicos, ou ainda por variações de pH ou exposição a radiações ultravioleta (Nesic et al., 2020).

3.4.4 Utilização com moléculas bioativas, medicamentos, terapia genética e células

A evolução da impressão 3D tem melhorado significativamente a eficácia da incorporação e libertação celular nos *scaffolds*. Duas estratégias principais são utilizadas: a sementeira celular após a impressão do scaffold, e a bioimpressão 3D, onde células e biomateriais são impressos simultaneamente.

A sementeira pós-impressão é tecnicamente simples, mas apresenta limitações como baixa taxa de adesão celular e reduzida densidade celular. Uma alternativa eficaz é a encapsulação de células em hidrogéis, que são posteriormente inseridos nos *scaffolds* impressos.

A bioimpressão 3D, por sua vez, permite incorporar diretamente as células nas bio-tintas, oferecendo uma maior eficiência de carga celular e um controlo espacial mais preciso da sua distribuição. No entanto, esta técnica exige a otimização rigorosa das bio-tintas e dos parâmetros de impressão, dado que as células são sensíveis às condições do processo (Xue et al., 2023).

Relativamente aos materiais utilizados, os polímeros sintéticos, embora estáveis e personalizáveis, são biologicamente inertes. O seu carácter hidrofóbico pode comprometer a infiltração sanguínea e a integração tecidular. Para ultrapassar esta limitação, utilizam-se técnicas de funcionalização, como ativação por plasma ou a incorporação de moléculas bioativas. Estas incluem proteínas da ECM (colagénio, fibronectina, gelatina), GF (BMP-2, BMP-7, FGF-2, PDGF-BB), mediadores pró-resolutivos (como a resolvina D1), antibióticos e anti-inflamatórios, melhorando a bioatividade sem comprometer as propriedades mecânicas (Yamada et al., 2022).

Entre os biomateriais mais promissores destaca-se a gelatina metacrililada (GelMA), uma gelatina fotossensível amplamente estudada na engenharia óssea. Devido às suas fracas propriedades mecânicas e sensibilidade à temperatura, a GelMA é muitas vezes combinada com alginato de sódio, formando hidrogéis com melhores características de impressão e suporte celular. Além disso, a adição de compostos inorgânicos como a HA, nanoargilas e microesferas de vidro bioativo (BGMs) permite aumentar a bioatividade, promovendo a osteogénese e a regeneração de tecidos moles.

Um estudo recente combinou GelMA, SA e BGMs para criar um hidrogel composto impresso por extrusão 3D. Este *scaffold* demonstrou excelente biocompatibilidade e capacidade osteogénica. A inclusão de GF como BMP-2 e PDGF promoveu, respetivamente, a diferenciação osteoblástica e a regeneração dos tecidos moles, sem comprometer a imprimibilidade do material. Testado num modelo de defeito periodontal em cães, o *scaffold* bioimpresso contribuiu significativamente para a regeneração do osso alveolar e da gengiva (Miao et al., 2023).

3.4.5 Nanotecnologias e Scaffolds de nanocompósitos

A nanotecnologia é uma disciplina interdisciplinar em plena expansão, definida como o conjunto de processos de fabrico, caracterização e aplicação de materiais, dispositivos ou sistemas à escala nanométrica (geralmente compreendida entre 1 e 100 nanómetros). Esta

área permite um controlo preciso do tamanho, da forma e das propriedades de superfície dos materiais, o que abre caminho a aplicações inovadoras na medicina regenerativa (Zhang et al., 2023).

No contexto da engenharia tecidual, a nanotecnologia revela-se particularmente valiosa para o design de *scaffolds* tridimensionais biofuncionalizados, capazes de imitar de forma precisa o ambiente natural dos tecidos. Ao contrário dos materiais tradicionais, os nanomateriais apresentam uma escala de estruturação que se alinha com a dos componentes biológicos. Assim, nanofibras, nanopartículas, nanocristais ou *nanosheets* são integrados nos *scaffolds* de modo a aumentar a sua área superficial específica, melhorar a sua permeabilidade e proporcionar uma melhor organização arquitetónica às células. Estas características são cruciais para orientar a atividade celular de forma controlada e eficaz. Os materiais de *scaffold* clássicos apresentam várias limitações significativas, como a ausência de direcionamento terapêutico específico, baixa interação com as células, ou ainda uma libertação passiva e pouco controlada de agentes bioativos (Funda et al., 2020).

Em resposta a estas limitações, surgem os *nanoscaffolds*, materiais de suporte à escala nanométrica, que permitem criar estruturas que imitam de forma mais fiel os tecidos naturais. De facto, o desenvolvimento da nanotecnologia permitiu a produção de *scaffolds* com propriedades próximas às da ECM nativa, abrindo novas perspetivas para a regeneração tecidual. Os nanomateriais apresentam várias vantagens fundamentais, em comparação com os materiais convencionais, no contexto periodontal. Tem elevada biocompatibilidade, propriedades antibacterianas reforçadas e capacidade regenerativa superior. Em termos de biocompatibilidade, as estruturas à escala nanométrica imitam de forma mais fiel a arquitetura da ECM, promovendo a adesão, proliferação, diferenciação celular e sinalização intracelular. Os *scaffolds* nanofibrosos, em particular, demonstraram a capacidade de induzir a diferenciação em osteoblastos e odontoblastos, contribuindo para a reconstrução dos tecidos de suporte dentário. Relativamente às propriedades antibacterianas, as nanopartículas metálicas (Ag, ZnO, TiO₂, MgO) apresentam elevada eficácia antimicrobiana, sobretudo contra biofilmes bacterianos associados à periodontite. Devido ao seu reduzido tamanho, superfície reativa e elevada carga, interagem

eficazmente com as membranas bacterianas, perturbando as suas funções essenciais (Chen & Huang, 2022).

No que toca à regeneração óssea, essencial na regeneração periodontal, diversos nanomateriais (HA, nanosilicatos, nanopartículas de ouro) demonstraram capacidade para estimular a diferenciação osteogénica através de vários mecanismos de sinalização celular. A sua incorporação em *scaffolds* permite combinar ação antibacteriana com indução da regeneração óssea. Por fim, os nanomateriais são também promissores em sistemas de libertação controlada de fármacos, permitindo uma administração localizada e prolongada de agentes terapêuticos no tratamento da periodontite, reduzindo simultaneamente os efeitos secundários (Chen & Huang, 2022).

Apesar das numerosas vantagens dos nanomateriais, a sua translação clínica continua limitada. Persistem diversos desafios técnicos e biológicos, nomeadamente no que diz respeito à rigidez mecânica, durabilidade no ambiente biológico e, sobretudo, à segurança a longo prazo das estruturas implantáveis. A continuação da investigação é, portanto, essencial para otimizar as propriedades destes materiais, desenvolver protocolos de fabrico seguros e reprodutíveis, e estabelecer dados sólidos sobre a sua biocompatibilidade, biodegradabilidade e eficácia terapêutica a longo prazo. Estes esforços permitirão consolidar as bases necessárias para uma aplicação clínica segura da nanotecnologia na regeneração óssea e periodontal, nomeadamente no tratamento de defeitos complexos do osso alveolar e dos tecidos moles (Funda et al., 2020).

3.4.6 Métodos de fabrico híbridos

Tradicionalmente consideradas abordagens opostas, a fabricação aditiva (AM, *Additive Manufacturing*) e a fabricação convencional ou subtrativa (CM, *Conventional Manufacturing*) tendem hoje a complementar-se em estratégias híbridas, especialmente no domínio da engenharia tecidual. A AM, que permite a criação de estruturas tridimensionais complexas através da adição progressiva de material, destaca-se pela grande liberdade geométrica. Por outro lado, a CM, baseada na remoção de material, garante elevada precisão dimensional e excelente acabamento superficial.

No fabrico de *scaffolds* para regeneração tecidual, esta complementaridade abre novas perspetivas. Técnicas convencionais como o solvent casting, o *electrospinning* ou a liofilização permitem reproduzir microtexturas biologicamente relevantes, mas oferecem

controlo limitado sobre a geometria global e a interconectividade dos poros. A impressão 3D, por si só, continua limitada na reprodução fiel da arquitetura hierárquica e submicrométrica da ECM (Xie et al., 2020). A integração da fabricação aditiva e subtrativa pode ocorrer a diferentes níveis:

- A nível de montagem, através da combinação de subestruturas produzidas separadamente por AM e CM, posteriormente unidas para formar um dispositivo completo.
- A nível de fabrico, integrando elementos em diferentes escalas (macro, micro, nano) numa única entidade estrutural.
- A nível tecnológico, através da fusão dos princípios de fabrico num único sistema híbrido, capaz de executar simultaneamente vários processos ou de alternar entre eles de forma coordenada.

Esta hierarquização da hibridização abre caminho a uma nova geração de *scaffolds* mais adaptados à complexidade biológica dos tecidos humanos, potencialmente capazes de combinar funcionalidade mecânica, interação celular e eficácia regenerativa (Xie et al., 2020).

Os sistemas de fabrico híbrido, que combinam as vantagens da AM com outras técnicas, permitem a criação de constructos tecidulares complexos, multimateriais e multi-escalares. Estes sistemas dividem-se em várias categorias:

- Sistemas multicanais: utilizam várias cabeças de impressão do mesmo tipo (ex.: extrusão pneumática), capazes de depositar seletivamente diferentes biomateriais.
- Sistemas totalmente híbridos: integram múltiplas tecnologias (AM, *electrospinning*, pós-processamentos) numa única plataforma, permitindo a criação de gradientes de materiais, estruturas hierarquizadas e funcionalidades bioativas.

Estes sistemas possibilitam a produção de *scaffolds* com gradientes multimateriais, que refletem de forma mais realista a complexidade dos tecidos nativos. Com câmaras ou cartuchos separados, possibilidade de modificações químicas de superfície e controlo em diferentes escalas estruturais, as estruturas obtidas demonstram melhor desempenho *in vitro* e *in vivo*. A rápida expansão destas tecnologias híbridas responde às exigências

crescentes da engenharia tecidual moderna, onde a reprodução biomimética de tecidos e órgãos continua a ser um dos principais desafios (Liu et al., 2022).

3.4.7 Os diferentes tipos de Scaffolds

Os recentes avanços na engenharia tecidual permitiram o desenvolvimento de *scaffolds* tridimensionais impressos em 3D, especificamente concebidos para a regeneração óssea e tecidual guiada em defeitos periodontais.

Estes *scaffolds* de nova geração têm como objetivo imitar a natureza multifásica do periodonto, integrando tanto os tecidos duros como os tecidos moles, reproduzindo as suas características teciduais específicas e assegurando uma competência mecânica suficiente para sustentar o processo de regeneração. O objetivo principal destes dispositivos é promover a formação coordenada do osso alveolar, do LDP e do cimento, restabelecendo simultaneamente as conexões funcionais entre estas estruturas, fator essencial para a restauração da unidade periodontal. A PCL destaca-se como um dos materiais mais utilizados neste contexto, devido às suas excelentes propriedades mecânicas, biodegradabilidade e eficácia comprovada na regeneração óssea (Tate et al., 2024).

Os *scaffolds* podem ser concebidos segundo diferentes configurações estruturais, consoante os objetivos regenerativos pretendidos:

- *Scaffolds* monofásicos: apresentam uma arquitetura uniforme e atuam principalmente como membranas barreira. Garantem a estabilização do defeito ósseo, impedem a invasão epitelial e controlam o processo de cicatrização. Estas estruturas podem ser enriquecidas com GF ou células, para estimular a neoformação óssea. No entanto, a sua utilização continua limitada à regeneração óssea isolada.
- *Scaffolds* bifásicos: projetados para promover a regeneração simultânea do osso e do LDP, oferecem uma compartimentalização funcional que orienta a proliferação celular em cada zona-alvo.
- *Scaffolds* trifásicos: mais complexos, têm como objetivo uma regeneração integral do periodonto, direcionando-se especificamente ao cimento, LDP e osso alveolar. Apesar de a sua produção ser tecnicamente mais exigente, diversos estudos

demonstraram maior eficácia, graças à personalização da arquitetura interna possibilitada pela impressão 3D (Sufaru et al., 2022).

A arquitetura tridimensional dos *scaffolds* desempenha um papel crítico na sua eficácia. Estruturas altamente porosas e interligadas são preferidas, pois criam um ambiente favorável à infiltração celular, angiogénese e integração tecidual. Os macroporos (100–700 μm) facilitam a vascularização, enquanto os microporos ($<100\ \mu\text{m}$) podem comprometer o crescimento celular se limitarem as trocas gasosas e de nutrientes. Uma porosidade global entre 70% e 90% é geralmente considerada ideal para a regeneração periodontal. Esta configuração permite não só a estabilização do coágulo sanguíneo nas fases iniciais da cicatrização, como também uma melhor difusão de nutrientes, oxigénio e eliminação de resíduos (Yamada et al., 2022).

A regeneração periodontal exige uma organização espaço-temporal precisa dos tecidos regenerados. Para tal, uma abordagem de medicina personalizada torna-se particularmente pertinente. A integração de dados de imagem médica, nomeadamente através de tomografias cone-beam CT de alta resolução, permite a modelação digital dos defeitos ósseos, os quais podem depois ser convertidos em modelos 3D utilizáveis por softwares de conceção assistida por computador (CAD) (Sufaru et al., 2022).

Um exemplo notável é o protocolo proposto por Park et al., no qual defeitos periodontais de fenestração foram digitalizados por micro-CT, convertidos em ficheiros stl e posteriormente modelados num software CAD. O *scaffold* foi impresso com uma geometria específica ao defeito, incluindo microcanais orientados para guiar o alinhamento das fibras do LDP. Após esterilização, o *scaffold* foi semeado com células ligamentares e implantado. Após quatro semanas, foi observada um aumento significativo da massa óssea, orientação regular das fibras ligamentares e expressão marcada de periostina, um marcador de funcionalidade ligamentar, resultados ausentes nos *scaffolds* amorfos produzidos por liofilização. Apesar dos resultados pré-clínicos promissores, os estudos em humanos continuam escassos e com seguimento limitado no tempo. Por exemplo, Rasperini et al. relataram resultados iniciais favoráveis com um *scaffold* personalizado aplicado a um defeito periodontal humano, mas foi observada uma diminuição de eficácia após 12 meses. É, portanto, essencial continuar os esforços no sentido de otimizar a estabilidade a longo prazo destes dispositivos, tanto ao nível biomecânico como biológico (Yamada et al., 2022).

III Conclusão

A regeneração periodontal continua a ser um verdadeiro desafio na medicina dentária. A RTG representou um avanço importante no tratamento dos defeitos periodontais, mas os seus resultados continuam por vezes a ser variáveis e dependem de vários fatores, como a forma do defeito, os materiais utilizados ou as características do paciente. Os progressos alcançados nos últimos anos no campo dos biomateriais, da engenharia tecidual e das técnicas cirúrgicas contribuíram para melhorar os resultados clínicos. A utilização de membranas, GF, substitutos ósseos e novos *scaffolds* mostrou efeitos promissores. No entanto, ainda não existe uma solução única que responda a todas as necessidades da regeneração. Por isso, a investigação continua, especialmente no desenvolvimento de materiais mais inteligentes, capazes não só de orientar a cicatrização, mas também de estimular a regeneração através da libertação controlada de substâncias ativas. Em resumo, a regeneração periodontal tem evoluído bastante, mas ainda há melhorias a alcançar para garantir resultados fiáveis, duradouros e adaptados a cada paciente.

IV Bibliografia

Abdelaziz, D., Hefnawy, A., Al-Wakeel, E., El-Fallal, A., & El-Sherbiny, I. M. (2021). New biodegradable nanoparticles-in-nanofibers based membranes for guided periodontal tissue and bone regeneration with enhanced antibacterial activity. *Journal of Advanced Research*, 28, 51–62. <https://doi.org/10.1016/j.jare.2020.06.014>

Abtahi, S., Chen, X., Shahabi, S., & Nasiri, N. (2023). Resorbable membranes for guided bone regeneration: Critical features, potentials, and limitations. *ACS Materials Au*, 3(5), 394–417. <https://doi.org/10.1021/acsmaterialsau.3c00013>

Agrawal, A. A. (2023). Platelet rich fibrin is not a barrier membrane! Or is it? *World Journal of Clinical Cases*, 11(11), 2396–2404. <https://doi.org/10.12998/wjcc.v11.i11.2396>

Alauddin, M. S., Abdul Hayei, N. A., Sabarudin, M. A., & Mat Baharin, N. H. (2022). Barrier membrane in regenerative therapy: A narrative review. *Membranes*, 12(5), 444. <https://doi.org/10.3390/membranes12050444>

Alqahtani, A. M. (2023). Guided tissue and bone regeneration membranes: A review of biomaterials and techniques for periodontal treatments. *Polymers*, 15(16), 3355. <https://doi.org/10.3390/polym15163355>

Anaya-Sampayo, L. M., García-Robayo, D. A., Roa, N. S., Rodriguez-Lorenzo, L. M., & Martínez-Cardozo, C. (2024). Platelet-rich fibrin (PRF) modified nano hydroxyapatite/chitosan/gelatin/alginate scaffolds increase adhesion and viability of human dental pulp stem cells (DPSC) and osteoblasts derived from DPSC. *International Journal of Biological Macromolecules*, 273(Pt 1), 133064. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.133064>

Angelova, A., Jovan va, E., Polizzi, A., Annunziata, M., Laganà, L., Santonocito, S., &

Isola, G. (2024). Insights and advancements in periodontal tissue engineering and bone regeneration. *Medicina* (Kaunas, Lithuania), 60(5), 773. <https://doi.org/10.3390/medicina60050773>

Anitua, E., Prado, R., Troya, M., Zalduendo, M., de la Fuente, M., Pino, A., Muruzabal, F., & Orive, G. (2016). Implementation of a more physiological plasma rich in growth factor (PRGF) protocol: Anticoagulant removal and reduction in activator concentration. *Platelets*, 27(5), 459–466. <https://doi.org/10.3109/09537104.2016.1143921>

Antunovic, F., Tolosa, F., Klein, C., & Ocaranza, R. (2023). Polycaprolactone-based scaffolds for guided tissue regeneration in periodontal therapy: A systematic review. *Journal of Applied Biomaterials & Functional Materials*, 21, 22808000231211416. <https://doi.org/10.1177/22808000231211416>

Ashfaq, R., Kovács, A., Berkó, S., & Budai-Szücs, M. (2024). Developments in alloplastic bone grafts and barrier membrane biomaterials for periodontal guided tissue and bone regeneration therapy. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(14), 7746. <https://doi.org/10.3390/ijms25147746>

Astuty, S. W., Sunarto, H., Amir, L., & Idrus, E. (2017). Evaluation of regenerative therapy using cell sheet through cementum protein-1 expression on *Macaca nemestrina*. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, 9(Suppl 2), 107–109. <https://doi.org/10.22159/ijap.2017.v9s2.26>

Aukhil, I. (2000). Biology of wound healing. *Periodontology 2000*, 22(1), 44–50. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2220104.x>

Bajpai, D., & Rajasekar, A. (2022). Recent advances in GTR scaffolds. *Bioinformation*, 18(12), 1181–1185. <https://doi.org/10.6026/973206300181181>

Balaji, V. R., Manikandan, D., & Ramsundar, A. (2020). Bone grafts in periodontics. *Matrix Science Medica*, 4(3), 57. https://doi.org/10.4103/MTSM.MTSM_2_19

Balta, M. G., Papathanasiou, E., Blix, I. J., & Van Dyke, T. E. (2021). Host modulation and treatment of periodontal disease. *Journal of Dental Research*, 100(8), 798–809. <https://doi.org/10.1177/0022034521995157>

Barbeck, M., Kühnel, L., Witte, F., Pissarek, J., Precht, C., Xiong, X., Krastev, R., Wegner, N., Walther, F., & Jung, O. (2020). Degradation, bone regeneration and tissue response of an innovative volume stable magnesium-supported GBR/GTR barrier membrane. *International Journal of Molecular Sciences*, 21(9), 3098. <https://doi.org/10.3390/ijms21093098>

Battafarano, G., Rossi, M., De Martino, V., Marampon, F., Borro, L., Secinaro, A., & Del Fattore, A. (2021). Strategies for bone regeneration: From graft to tissue engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(3), 1128. <https://doi.org/10.3390/ijms22031128>

Biswal, T., Badjena, S. K., & Pradhan, D. (2020). Sustainable biomaterials and their applications: A short review. *Materials Today: Proceedings*, 30, 274–282. <https://doi.org/10.1016/j.matpr.2020.01.437>

Bosshardt, D. D., & Sculean, A. (2009). Does periodontal tissue regeneration really work? *Periodontology* 2000, 51, 208–219. <https://doi.org/10.1111/j.16000757.2009.00317.x>

Cai, H., Xu, X., Lu, X., Zhao, M., Jia, Q., Jiang, H.-B., & Kwon, J.-S. (2023). Dental materials applied to 3D and 4D printing technologies: A review. *Polymers*, 15(10), 2405. <https://doi.org/10.3390/polym15102405>

Calado, P. de F., Paulino, P. G. de P., & Maciel, M. A. M. (2021). Materiais biocompatíveis com procedimento de regeneração periodontal. *Revista Científica Multidisciplinar Núcleo do Conhecimento*, 1, 105–123. <https://www.editoracientifica.com.br/artigos/materiais-biocompativeis-com-procedimento-de-regeneracao-periodontal>

Carvalho, L. M. de, Oliveira, M. A. F. de, Resende, D. F., Albuquerque, V. N. de, Zenóbio, E. G., & Abreu, F. A. M. de. (n.d.). Uso de células mesenquimais indiferenciadas para a regeneração periodontal em humanos: Uma revisão narrativa da literatura. *Pontifícia Universidade Católica de Minas Gerais*.

Chen, H., Song, G., Xu, T., Meng, C., Zhang, Y., Xin, T., Yu, T., Lin, Y., & Han, B. (2024). Biomaterial scaffolds for periodontal tissue engineering. *Journal of Functional Biomaterials*, 15(8), 233. <https://doi.org/10.3390/jfb15080233>

Chen, K., Zhao, L., Huang, C., Yin, X., Zhang, X., Li, P., Gu, X., & Fan, Y. (2022). Recent advances in the development of magnesium-based alloy guided bone regeneration (GBR) membrane. *Metals*, 12(12), 12. <https://doi.org/10.3390/met12122074>

Chen, S., & Huang, X. (2022). Nanomaterials in scaffolds for periodontal tissue engineering: Frontiers and prospects. *Bioengineering (Basel, Switzerland)*, 9(9), 431. <https://doi.org/10.3390/bioengineering9090431>

Chen, S., Wu, Z., Huang, Z., Liang, C., & Lee, S. J. (2025). Implantable dental barrier membranes as regenerative medicine in dentistry: A comprehensive review. *Tissue Engineering and Regenerative Medicine*, 22(4), 527–549. <https://doi.org/10.1007/s13770-025-00704-1>

Cho, Y.-D., Kim, K.-H., Lee, Y.-M., Ku, Y., & Seol, Y.-J. (2021). Periodontal wound healing and tissue regeneration: A narrative review. *Pharmaceuticals (Basel, Switzerland)*, 14(5), 456. <https://doi.org/10.3390/ph14050456>

Choi, B. H., Kim, M. S., Park, S. Y., & Lee, S. J. (2023). Occlusive membranes for guided regeneration of inflamed tissue defects. *Nature Communications*, 14, 7687. <https://www.nature.com/articles/s41467-023-43428-3>

Choi, W., Mangal, U., Park, J.-Y., Kim, J.-Y., Jun, T., Jung, J. W., Choi, M., Jung, S., Lee, M., Na, J.-Y., Ryu, D. Y., Kim, J. M., Kwon, J.-S., Koh, W.-G., Lee, S., Hwang, P. T. J., Lee, K.-J., Jung, U.-W., Cha, J.-K., ... Hong, J. (2023). Occlusive membranes for guided regeneration of inflamed tissue defects. *Nature Communications*, 14(1), 7687. <https://doi.org/10.1038/s41467-023-43428-3>

Cirelli, J. A., Fiorini, T., Moreira, C. H. C., Molon, R. S. de, Dutra, T. P., & Sallum, E. A. (2021). Periodontal regeneration: Is it still a goal in clinical periodontology? *Brazilian Oral Research*, 35(Suppl 2), e09. <https://doi.org/10.1590/1807-3107bor-2021.vol35.0097>

Committee on Research, Science and Therapy of the American Academy of Periodontology. (2001). Tissue banking of bone allografts used in periodontal regeneration. *Journal of Periodontology*, 72(6), 834–838. <https://doi.org/10.1902/jop.2001.72.6.834>

Deng, R., Xie, Y., Chan, U., Xu, T., & Huang, Y. (2022). Biomaterials and biotechnology for periodontal tissue regeneration: Recent advances and perspectives. *Journal of Dental Research, Dental Clinics, Dental Prospects*, 16(1), 1–10. <https://doi.org/10.34172/joddd.2022.001>

Dentino, A., Lee, S., Mailhot, J., & Hefti, A. F. (2013). Principles of periodontology. *Periodontology 2000*, 61(1), 16–53. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2011.00397.x>

Duarte, N. D., Frigério, P. B., Chica, G. E. A., Okamoto, R., Buchaim, R. L., Buchaim, D. V., Messoria, M. R., & Issa, J. P. M. (2025). Biomaterials for guided tissue regeneration and guided bone regeneration: A review. *Dentistry Journal*, 13(4), Article 4. <https://doi.org/10.3390/dj13040179>

Dumitriu, A. S., Didilescu, A. C., Giurgiu, M. C., Albu, Ș. D., Pădure, C. E., Nicolae, X. A., & Păunică, S. (2021). The efficiency of using enamel matrix derivative in therapeutic approach of periodontal furcation defects of maxillary and mandibular molars. *Romanian Journal of Morphology and Embryology*, 62(2), 401–409. <https://doi.org/10.47162/RJME.62.2.06>

Espitia-Quiroz, L. C., Fernández-Orjuela, A. L., Anaya-Sampayo, L. M., Acosta-Gómez, A. P., Sequeda-Castañeda, L. G., Gutiérrez-Prieto, S. J., Roa-Molina, N. S., & García Robayo, D. A. (2022). Viability and adhesion of periodontal ligament fibroblasts on a

hydroxyapatite scaffold combined with collagen, polylactic acid-polyglycolic acid copolymer and platelet-rich fibrin: A preclinical pilot study. *Dentistry Journal*, 10(9), 167. <https://doi.org/10.3390/dj10090167>

Farag, M. M. (2023). Recent trends on biomaterials for tissue regeneration applications: Review. *Journal of Materials Science*, 58(2), 527–558. <https://doi.org/10.1007/s10853022-08102-x>

Farshidfar, N., Amiri, M. A., Jafarpour, D., Hamedani, S., Niknezhad, S. V., & Tayebi, L. (2022). The feasibility of injectable PRF (I-PRF) for bone tissue engineering and its application in oral and maxillofacial reconstruction: From bench to chairside. *Biomaterials Advances*, 134, 112557. <https://doi.org/10.1016/j.msec.2021.112557>

Fiorellini, J. P., Kao, D. W. K., Kim, D. M., & Uzel, N. G. (2012a). Anatomy of the periodontium. In Carranza's clinical periodontology (pp. 12–27.e12). Elsevier.

Florjanski, W., Orzeszek, S., Olchowy, A., Grychowska, N., Wieckiewicz, W., Malysa, A., Smardz, J., & Wieckiewicz, M. (2019). Modifications of polymeric membranes used in guided tissue and bone regeneration. *Polymers*, 11(5), 782. <https://doi.org/10.3390/polym11050782>

Foster, B. L. (2017). On the discovery of cementum. *Journal of Periodontal Research*, 52(4), 666–685. <https://doi.org/10.1111/jre.12444>

Fraser, D., Caton, J., & Benoit, D. S. W. (2022). Periodontal wound healing and regeneration: Insights for engineering new therapeutic approaches. *Frontiers in Dental Medicine*, 3. <https://doi.org/10.3389/fdmed.2022.815810>

Funda, G., Taschieri, S., Bruno, G. A., Grecchi, E., Paolo, S., Girolamo, D., & Del Fabbro, M. (2020). Nanotechnology scaffolds for alveolar bone regeneration. *Materials (Basel, Switzerland)*, 13(1), 201. <https://doi.org/10.3390/ma13010201>

Galli, M., Yao, Y., Giannobile, W. V., & Wang, H.-L. (2021). Current and future trends

in periodontal tissue engineering and bone regeneration. *Plastic and Aesthetic Research*, 8, 3. <https://doi.org/10.20517/2347-9264.2020.176>

Gao, Y., Wang, S., Shi, B., Wang, Y., Chen, Y., Wang, X., Lee, E.-S., & Jiang, H.-B. (2022). Advances in modification methods based on biodegradable membranes in guided bone/tissue regeneration: A review. *Polymers*, 14(5), 871. <https://doi.org/10.3390/polym14050871>

Golebiowska, A. A., Jala, V. R., & Nukavarapu, S. P. (2024). Decellularized tissue induced cellular recruitment for tissue engineering and regenerative medicine. *Annals of Biomedical Engineering*, 52(7), 1835–1847. <https://doi.org/10.1007/s10439-023-031825>

Gonçalves, B. L., Silva, E. L. R., Dias, G. N., Motão, J. C., & Paula, L. G. F. de. (2020). O uso de biomaterial composto por β -TCP e PLGA em tratamento regenerativo de lesões de furca grau II em molares mandibulares – revisão de literatura. *Scientific Investigation in Dentistry*, 25(1), 97–109. <https://doi.org/10.37951/2317-2835.2020v25i1.p97-109>

Graziani, F., Karapetsa, D., Alonso, B., & Herrera, D. (2017). Nonsurgical and surgical treatment of periodontitis: How many options for one disease? *Periodontology 2000*, 75(1), 152–188. <https://doi.org/10.1111/prd.12201>

Grzesik, W. J., & Narayanan, A. S. (2002). Cementum and periodontal wound healing and regeneration. *Critical Reviews in Oral Biology & Medicine*, 13(6), 474–484. <https://doi.org/10.1177/154411130201300605>

Hägi, T. T., Laugisch, O., Ivanovic, A., & Sculean, A. (2014). Regenerative periodontal therapy. *Quintessence International*, 45(3), 185–192. <https://doi.org/10.3290/j.qi.a31203>

Hu, Z., Rong, X., & Liu, X. (2023). E7-conjugated bio-inspired microspheres as a biological barrier for guided tissue regeneration. *ACS Applied Materials & Interfaces*, 15(50), 58136–58150. <https://doi.org/10.1021/acsami.3c12213>

Huang, Q., Huang, X., & Gu, L. (2021). Periodontal bifunctional biomaterials: Progress and perspectives. *Materials*, 14(24), 7588. <https://doi.org/10.3390/ma14247588>

Ia, R., Gs, S., Ae, F., Cj, G., Sh, S., Ja, E., Ms, G., & Gl, B. (2018). Barrier membranes for dental applications: A review and sweet advancement in membrane developments. *Mouth and Teeth*, 2(1). <https://doi.org/10.15761/MTJ.1000108>

Inamuddin, Altalhi, T., Luqman, M., & Chisti, H.-T.-N. (2022). Applications of polymers in surgery. *Materials Research Forum LLC*.

Ivanov, A. A., Kuznetsova, A. V., Popova, O. P., Danilova, T. I., & Yanushevich, O. O. (2021). Modern approaches to acellular therapy in bone and dental regeneration. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(24), 13454. <https://doi.org/10.3390/ijms222413454>

Ivanovski, S. (2009). Periodontal regeneration. *Australian Dental Journal*, 54(Suppl 1), S118–S128. <https://doi.org/10.1111/j.1834-7819.2009.01150.x>

Jepsen, K., Sculean, A., & Jepsen, S. (2023). Complications and treatment errors related to regenerative periodontal surgery. *Periodontology 2000*, 92(1), 120–134. <https://doi.org/10.1111/prd.12504>

Jepsen, S., Gennai, S., Hirschfeld, J., Kalemaj, Z., Buti, J., & Graziani, F. (2020). Regenerative surgical treatment of furcation defects: A systematic review and Bayesian network meta-analysis of randomized clinical trials. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(Suppl 22), 352–374. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13238>

Kikionis, S., Iliou, K., Karra, A. G., Polychronis, G., Choinopoulos, I., Iatrou, H., Eliades, G., Kitraki, E., Tseti, I., Zinelis, S., Ioannou, E., & Roussis, V. (2023). Development of bi- and tri-layer nanofibrous membranes based on the sulfated polysaccharide carrageenan for periodontal tissue regeneration. *Marine Drugs*, 21(11), 565. <https://doi.org/10.3390/md21110565>

Kinane, D. F. (2001). Causation and pathogenesis of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 25(1), 8–20. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2001.22250102.x>

Kiran, D. R. (2021). *Periodontal advancements: A guide to the latest in gum health*. Inkbound Publishers.

Li, Q., Yang, G., Li, J., Ding, M., Zhou, N., Dong, H., & Mou, Y. (2020). Stem cell therapies for periodontal tissue regeneration: A network meta-analysis of preclinical studies. *Stem Cell Research & Therapy*, 11, 427.

<https://doi.org/10.1186/s1328702001938-7>

Liang, C., Liao, L., & Tian, W. (2023). Advances focusing on the application of decellularized extracellular matrix in periodontal regeneration. *Biomolecules*, 13(4), 673.

<https://doi.org/10.3390/biom13040673>

Liu, F., Quan, R., Vyas, C., & Aslan, E. (2023). Hybrid biomanufacturing systems applied in tissue regeneration. *International Journal of Bioprinting*, 9(1), 646. <https://doi.org/10.18063/ijb.v9i1.646>

Liu, Y., Zheng, Y., Ding, G., Fang, D., Zhang, C., Bartold, P. M., Gronthos, S., Shi, S., & Wang, S. (2008). Periodontal ligament stem cell-mediated treatment for periodontitis in miniature swine. *Stem Cells*, 26(4), 1065–1073. <https://doi.org/10.1634/stemcells.2007-0734>

Luan, X., Zhou, X., Naqvi, A., Francis, M., Foyle, D., Nares, S., & Diekwisch, T. G. H. (2018). MicroRNAs and immunity in periodontal health and disease. *International Journal of Oral Science*, 10(3), Article 3. <https://doi.org/10.1038/s41368-018-0025-y>

Major, M. E. M. M.-R. (n.d.). *Uso da proteína de esmalte na regeneração tecidual guiada: Revisão de literatura*. Semanticscholar.org. Retrieved May 30, 2025, from <https://pdfs.semanticscholar.org/2d7b/d3ff1bb8ad17f0c1821972b9bc557af3909e.pdf>

Mallapragda, S., Gupta, R., Gupta, S., Sharma, H., Srivastava, S., & Raj, A. (2024). Evaluation of regenerative efficacy of amnion and chorion membrane in treatment of mandibular molar furcation defects: A clinico-radiographic study. *The Journal of Contemporary Dental Practice*, 25(2), 160–167.

Mancini, L., Romandini, M., Fratini, A., Americo, L. M., Panda, S., & Marchetti, E. (2021). Biomaterials for periodontal and peri-implant regeneration. *Materials*, 14(12), 3319. <https://doi.org/10.3390/ma14123319>

Matichescu, A., Ardelean, L. C., Rusu, L.-C., Craciun, D., Bratu, E. A., Babucea, M., & Leretter, M. (2020). Advanced biomaterials and techniques for oral tissue engineering and regeneration: A review. *Materials*, 13(22), 5303. <https://doi.org/10.3390/ma13225303>

Melcher, A. H. (1969). Role of the periosteum in repair of wounds of the parietal bone of the rat. *Archives of Oral Biology*, 14(9), 1101–1109. [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(69\)90079-x](https://doi.org/10.1016/0003-9969(69)90079-x)

Mellonig, J. T. (2000). Human histologic evaluation of a bovine-derived bone xenograft in the treatment of periodontal osseous defects. *The International Journal of Periodontics & Restorative Dentistry*, 20(1), 19–29.

Miao, G., Liang, L., Li, W., Ma, C., Pan, Y., Zhao, H., Zhang, Q., Xiao, Y., & Yang, X. (2023). 3D bioprinting of a bioactive composite scaffold for cell delivery in periodontal tissue regeneration. *Biomolecules*, 13(7), 1062. <https://doi.org/10.3390/biom13071062>

Mirzaeei, S., Ezzati, A., Mehrendish, S., Asare-Addo, K., & Nokhodchi, A. (2022). An overview of guided tissue regeneration (GTR) systems designed and developed as drug carriers for management of periodontitis. *Journal of Drug Delivery Science and Technology*, 71, 103341. <https://doi.org/10.1016/j.jddst.2022.103341>

Mizraji, G., Davidzohn, A., Gursoy, M., Gursoy, U., Shapira, L., & Wilensky, A. (2023). Membrane barriers for guided bone regeneration: An overview of available biomaterials. *Periodontology 2000*, 93(1), 56–76. <https://doi.org/10.1111/prd.12502>

Munshi, M. A., Alsaleh, F. A., Aljehani, N. Y., Almusaad, M. M., Alolaian, R. K., Alshammari, A. Z., & Eissa, R. H. (2024). Evaluation of biomaterials used in guided tissue regeneration. *Journal of Healthcare Sciences*, 4(11), 609–615. <https://doi.org/10.52533/JOHS.2024.41108>

Nanci, A., & Bosshardt, D. D. (2006). Structure of periodontal tissues in health and disease. *Periodontology* 2000, 40, 11–28. <https://doi.org/10.1111/j.16000757.2005.00141.x>

Nesic, D., Schaefer, B. M., Sun, Y., Saulacic, N., & Sailer, I. (2020). 3D printing approach in dentistry: The future for personalized oral soft tissue regeneration. *Journal of Clinical Medicine*, 9(7), 2238. <https://doi.org/10.3390/jcm9072238>

Neves, D. de P., Santinoni, C. dos S., & Mori, G. G. (2022). Materiais sintéticos e impressão 3D na regeneração óssea alveolar. *Archives of Health Investigation*, 11(2), Article 2. <https://doi.org/10.21270/archi.v11i2.5559>

Nibali, L., Koidou, V. P., Nieri, M., Barbato, L., Pagliaro, U., & Cairo, F. (2020). Regenerative surgery versus access flap for the treatment of intra-bony periodontal defects: A systematic review and meta-analysis. *Journal of Clinical Periodontology*, 47(Suppl. 22), 320–351. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13237>

Oliveira, É. R., Nie, L., Podstawczyk, D., Allahbakhsh, A., Ratnayake, J., Brasil, D. L., & Shavandi, A. (2021). Advances in growth factor delivery for bone tissue engineering. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(2), 903. <https://doi.org/10.3390/ijms22020903>

Oliveira, J., Ferreira, L., Freitas, J., Gonçalves, V., Ferreira, A., & Mendes, E. (2020). Uso da proteína de esmalte na regeneração tecidual guiada: Revisão de literatura. *Revista de Odontologia Contemporânea*, 4, 95–101.

Papapanou, P. N., Sanz, M., Buduneli, N., Dietrich, T., Feres, M., Fine, D. H., ... Tonetti, M. S. (2018). Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. *Journal of Periodontology*, 89(Suppl. 1), S173–S182. <https://doi.org/10.1002/JPER.17-0721>

Park, C. H. (2022). 3D printing technology for periodontal complex neogenesis in regenerative medicine. *Journal of Periodontal & Implant Science*, 52(4), 259–260. <https://doi.org/10.5051/jpis.225204edi01>

Petrescu, N., Crisan, B., Aghiorghiesei, O., Sarosi, C., Mirica, I. C., Lucaciu, O., ... Apostu, D. (2022). Gradual drug release membranes and films used for the treatment of periodontal disease. *Membranes*, 12(9), 895. <https://doi.org/10.3390/membranes12090895>

Phothichailert, S., Samoun, S., Fournier, B. P., Isaac, J., Nelwan, S. C., Osathanon, T., & Nowwarote, N. (2024). MSCs-derived decellularised matrix: Cellular responses and regenerative dentistry. *International Dental Journal*, 74(3), 403–417. <https://doi.org/10.1016/j.identj.2024.02.011>

Pillai, S., Upadhyay, A., Khayambashi, P., Farooq, I., Sabri, H., Tarar, M., ... Tran, S. D. (2021). Dental 3D-printing: Transferring art from the laboratories to the clinics. *Polymers*, 13(1), 157. <https://doi.org/10.3390/polym13010157>

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>

Pranathi, V., Koduganti, R. R., Muthyala, S., Kanchanapally, S. P., Muthyala, N., & Shingade, V. (2024). Evaluation of biomaterials in periodontal regeneration: A literature review. *Cureus*, 16(12), e75618. <https://doi.org/10.7759/cureus.75618>

Rakhewar, P. S., Panpatil, S., Gaikwad, A., Chacko, L., & Patil, S. (2023). 3D printing: A new dawn in era of periodontics. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*, 22(5, Ser. 7), 31–36. <https://doi.org/10.9790/0853-2205073136>

Raveau, S., & Jordana, F. (2020). Tissue engineering and three-dimensional printing in periodontal regeneration: A literature review. *Journal of Clinical Medicine*, 9(12), Article 4008. <https://doi.org/10.3390/jcm9124008>

Ren, M., Li, M., Boccaccini, A. R., Xu, Y., Li, L., & Zheng, K. (2025). Electrospinning of recombinant human-like collagen-reinforced PCL nanofibrous membranes using benign solvents for periodontal regeneration. *International Journal of Biological Macromolecules*, 284(Pt 1), 137954. <https://doi.org/10.1016/j.ijbiomac.2024.137954>

Ren, Y., Fan, L., Alkildani, S., Liu, L., Emmert, S., Najman, S., ... Barbeck, M. (2022). Barrier membranes for guided bone regeneration (GBR): A focus on recent advances in collagen membranes. *International Journal of Molecular Sciences*, 23(23), 14987. <https://doi.org/10.3390/ijms232314987>

Reynolds, M. A., Aichelmann-Reidy, M. E., Branch-Mays, G. L., & Gunsolley, J. C. (2003). The efficacy of bone replacement grafts in the treatment of periodontal osseous defects: A systematic review. *Annals of Periodontology*, 8(1), 227–265. <https://doi.org/10.1902/annals.2003.8.1.227>

Sam, G., & Pillai, B. R. M. (2014). Evolution of barrier membranes in periodontal regeneration: Are the third-generation membranes really here? *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(12), ZE14–ZE17. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/9957.5272>

Santana, M., Montoya, G., Herrera, R., Hoz, L., Romo, E., Zamora, C., ... Arzate, H. (2020). CEMP1-p3 peptide promotes the transformation of octacalcium phosphate into hydroxyapatite crystals. *Crystals*, 10(12), 1131. <https://doi.org/10.3390/cryst10121131>

Santonocito, S., Polizzi, A., Palazzo, G., & Isola, G. (2021). The emerging role of microRNA in periodontitis: Pathophysiology, clinical potential and future molecular perspectives. *International Journal of Molecular Sciences*, 22(11), 5456. <https://doi.org/10.3390/ijms22115456>

Santos, M. S., Silva, J. C., & Carvalho, M. S. (2024). Hierarchical biomaterial scaffolds for periodontal tissue engineering: Recent progress and current challenges. *International Journal of Molecular Sciences*, 25(16), 8562. <https://doi.org/10.3390/ijms25168562>

Sasaki, J.-I., Abe, G. L., Li, A., Thongthai, P., Tsuboi, R., Kohno, T., & Imazato, S. (2021). Barrier membranes for tissue regeneration in dentistry. *Biomaterial Investigations in Dentistry*, 8(1), 54–63. <https://doi.org/10.1080/26415275.2021.1925556>

Shankar, P., Kumar, A., Kumari, C. B. N., Mahendra, J., & Ambalavanan, N. (2020). Amnion and chorion membrane in periodontal regeneration. *Annals of the Romanian Society for Cell Biology*, 24(1), 435–441.

Siaili, M., Chatzopoulou, D., & Gillam, D. G. (2018). An overview of periodontal regenerative procedures for the general dental practitioner. *The Saudi Dental Journal*, 30(1), 26–37. <https://doi.org/10.1016/j.sdentj.2017.11.001>

Solakoglu, Ö., Heydecke, G., Amiri, N., & Anitua, E. (2020). The use of plasma rich in growth factors (PRGF) in guided tissue regeneration and guided bone regeneration: A review of histological, immunohistochemical, histomorphometrical, radiological and clinical results in humans. *Annals of Anatomy – Anatomischer Anzeiger*, 231, 151528. <https://doi.org/10.1016/j.aanat.2020.151528>

Solomon, S.-M., Sufaru, I.-G., Teslaru, S., Ghiciuc, C. M., & Stafie, C. S. (2022). Finding the perfect membrane: Current knowledge on barrier membranes in regenerative procedures – A descriptive review. *Applied Sciences*, 12(3), 1042. <https://doi.org/10.3390/app12031042>

Sufaru, I.-G., Macovei, G., Stoleriu, S., Martu, M.-A., Luchian, I., Kappenberg-Nitescu, D.-C., & Solomon, S.-M. (2022). 3D printed and bioprinted membranes and scaffolds for the periodontal tissue regeneration: A narrative review. *Membranes*, 12(9), 902. <https://doi.org/10.3390/membranes12090902>

Takkella, B. K., Anusha, N. V., Sujanamulk, B., Naffizuddin, M., Jammalamadugu, R. K., Pinjari, H., ... Kosuru, V. (2023). Perspective of 3D printing in dentistry—Exploring the new horizon. *Trends in Immunotherapy*, 7(1), 1. <https://doi.org/10.24294/ti.v7.i1.2133>

Tate, D. J., Suradkar, D. K., Gaikwad, D. A., Suradkar, D. S., Jadhav, D. V., & Patil, G. (2024). *Advancements in Periodontal Tissue Engineering: A Review of 3D Bioprinting in Periodontics*. https://www.researchgate.net/publication/380936987_Advancements_in_Periodontal_Tissue_Engineering_A_Review_of_3D_Bioprinting_in_Periodontics

Thayil, S. T., Pillai, B. R. M., Nafeesa, R. B., & Kalarikkal, R. E. (2022). Composite outcome measure (COM) and pocket closure as clinical endpoints following treatment of infrabony defects with guided tissue regeneration and open flap debridement. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 26(6), 570–576. https://doi.org/10.4103/jisp.jisp_603_21

Toledano-Osorio, M., Vallecillo, C., Vallecillo-Rivas, M., Manzano-Moreno, F.-J., & Osorio, R. (2022). Antibiotic-loaded polymeric barrier membranes for guided bone/tissue regeneration: A mini-review. *Polymers*, 14(4), 840. <https://doi.org/10.3390/polym14040840>

Torii, D., Konishi, K., Watanabe, N., Goto, S., & Tsutsui, T. (2015). Cementogenic potential of multipotential mesenchymal stem cells purified from the human periodontal ligament. *Odontology*, 103(1), 27–35. <https://doi.org/10.1007/s10266-013-0145-y>

Varghese, J., Rajagopal, A., & Shanmugasundaram, S. (2022). Role of biomaterials used for periodontal tissue regeneration: A concise evidence-based review. *Polymers*, 14(15), 3038. <https://doi.org/10.3390/polym14153038>

Villar, C. C., & Cochran, D. L. (2010). Regeneration of periodontal tissues: Guided tissue regeneration. *Dental Clinics of North America*, 54(1), 73–92. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2009.08.011>

Vujović, S., Desnica, J., Stanišić, D., Ognjanović, I., Stevanovic, M., & Rosic, G. (2022). Applications of biodegradable magnesium-based materials in reconstructive oral and maxillofacial surgery: A review. *Molecules*, 27(17), 5529. <https://doi.org/10.3390/molecules27175529>

Wang, D., Zhou, X., Cao, H., Zhang, H., Wang, D., Guo, J., & Wang, J. (2023). Barrier membranes for periodontal guided bone regeneration: A potential therapeutic strategy. *Frontiers in Materials*, 10, 1220420. <https://doi.org/10.3389/fmats.2023.1220420>

Wang, D.-R., & Pan, J. (2023). Extracellular vesicles: Emerged as a promising strategy for regenerative medicine. *World Journal of Stem Cells*, 15(4), 165–181. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v15.i4.165>

Wang, H. L., Greenwell, H., Fiorellini, J., Giannobile, W., Offenbacher, S., Salkin, L., Townsend, C., Sheridan, P., Genco, R. J., & Research, Science and Therapy Committee. (2005). Periodontal regeneration. *Journal of Periodontology*, 76(9), 1601–1622. <https://doi.org/10.1902/jop.2005.76.9.1601>

Wang, H.-L., & Boyapati, L. (2006). ‘PASS’ principles for predictable bone regeneration. *Implant Dentistry*, 15(1), 8–17. <https://doi.org/10.1097/01.id.0000204762.39826.0f>

Wang, X., Chen, J., & Tian, W. (2022). Strategies of cell and cell-free therapies for periodontal regeneration: The state of the art. *Stem Cell Research & Therapy*, 13(1), 536. <https://doi.org/10.1186/s13287-022-03225-z>

Wen, S., Zheng, X., Yin, W., Liu, Y., Wang, R., Zhao, Y., ... Rong, M. (2024). Dental stem cell dynamics in periodontal ligament regeneration: From mechanism to application. *Stem Cell Research & Therapy*, 15(1), 389. <https://doi.org/10.1186/s13287-024-04003-9>

Woo, H. N., Cho, Y. J., Tarafder, S., & Lee, C. H. (2021). The recent advances in scaffolds for integrated periodontal regeneration. *Bioactive Materials*, 6(10), 3328–3342. <https://doi.org/10.1016/j.bioactmat.2021.03.012>

Xie, Z., Gao, M., Lobo, A. O., & Webster, T. J. (2020). 3D bioprinting in tissue engineering for medical applications: The classic and the hybrid. *Polymers*, 12(8), 1717. <https://doi.org/10.3390/polym12081717>

Xue, J., Qin, C., & Wu, C. (2023). 3D printing of cell-delivery scaffolds for tissue regeneration. *Regenerative Biomaterials*, 10, rbad032. <https://doi.org/10.1093/rb/rbad032>

Yamada, S., Shanbhag, S., & Mustafa, K. (2022). Scaffolds in periodontal regenerative treatment. *Dental Clinics of North America*, 66(1), 111–130. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2021.06.004>

Yang, Z., Wu, C., Shi, H., Luo, X., Sun, H., Wang, Q., & Zhang, D. (2022). Advances in barrier membranes for guided bone regeneration techniques. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 10, 921576. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2022.921576>

Zeng, W.-Y., Ning, Y., & Huang, X. (2021). Advanced technologies in periodontal tissue regeneration based on stem cells: Current status and future perspectives. *Journal of Dental Sciences*, 16(1), 501–507. <https://doi.org/10.1016/j.jds.2020.07.008>

Zhang, F., & Liu, G. (2024). Comparison of the clinical efficacy of bone grafting and bone grafting combined with guided tissue regeneration in periodontal regenerative therapy: A meta-analysis. *Acta Odontologica Scandinavica*, 83, 166–173. <https://doi.org/10.2340/aos.v83.40255>

Zhang, J., Chen, L., Yu, J., Tian, W., & Guo, S. (2024). Advances in the roles and mechanisms of mesenchymal stem cell derived microRNAs on periodontal tissue regeneration. *Stem Cell Research & Therapy*, 15(1), 393. <https://doi.org/10.1186/s13287-024-03998-5>

Zhang, S., Chen, X., Shan, M., Hao, Z., Zhang, X., Meng, L., Zhai, Z., Zhang, L., Liu, X., & Wang, X. (2023). Convergence of 3D bioprinting and nanotechnology in tissue engineering scaffolds. *Biomimetics*, 8(1), 94. <https://doi.org/10.3390/biomimetics8010094>

Zhao, R., Yang, R., Cooper, P. R., Khurshid, Z., Shavandi, A., & Ratnayake, J. (2021). Bone grafts and substitutes in dentistry: A review of current trends and developments. *Molecules*, 26(10), 3007. <https://doi.org/10.3390/molecules26103007>

Zhu, Y., Zhao, L., & Ngai, T. (2023). Multiphasic membranes/scaffolds for periodontal guided tissue regeneration. *Macromolecular Materials and Engineering*, 308(10), 2300081. <https://doi.org/10.1002/mame.202300081>