

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA
DENTÁRIA**

Caracterização ultrastructural e histológica do ligamento
periodontal

Trabalho submetido por
Alban Emmanuel Pereira
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Junho 2025

INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

Caracterização ultrastructural e histológica do ligamento
periodontal

Trabalho submetido por
Alban Emmanuel Pereira
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Prof. Doutora Maria Alzira Cavacas
e coorientado por
Prof. Doutor Paulo Sobral Mascarenhas

Junho 2025

AGRADECIMENTOS

Gostaria de agradecer a todas as pessoas que estiveram ao meu lado e que contribuíram para a elaboração e a concretização deste trabalho, que simboliza o fim destes anos de estudo.

Em primeiro lugar, queria agradecer à minha orientadora de tese, a Professora Maria Alzira Cavacas, pela sua ajuda preciosa e pelo apoio constante ao longo da realização deste trabalho.

Agradeço também ao meu coorientador, o Professor Paulo Sobral Mascarenhas, pela sua experiência, pelo rigor científico e pelos conselhos valiosos que tanto enriqueceram este trabalho.

Naturalmente, gostaria de expressar um agradecimento muito especial à minha família. Aos meus pais e ao meu irmão, sem os quais nada disto teria sido possível. Vocês sempre acreditaram em mim, mesmo nos momentos de dúvida, nunca me deixaram sozinho e estiveram sempre presentes em cada etapa. Foi com o vosso apoio incondicional que consegui chegar até aqui e por isso, terão sempre a minha gratidão, muito obrigado por tudo.

Um agradecimento muito especial também à minha avó, as nossas chamadas de domingo à noite ajudaram-me a manter esse laço com as minhas raízes, apesar da distância.

Por fim, a todos os amigos que conheci ao longo destes cinco anos de estudos, obrigado pelos bons momentos, pelos mais stressantes, e por todas as memórias partilhadas. Tornaram esta etapa da minha vida numa verdadeira aventura que nunca esquecerei.

RESUMO

O ligamento periodontal é um tecido conjuntivo, situado entre a raiz do dente e a parede do osso alveolar. Desempenha um papel essencial na fixação do dente ao alvéolo, garantindo a sua adaptação às diferentes forças mecânicas a que está sujeito. As suas funções excepcionais resultam da complexidade das suas estruturas histológicas e ultraestruturais, que lhe conferem propriedades mecânicas indispensáveis à manutenção da homeostasia do periodonto.

Este estudo tem como objetivo caracterizar a organização histológica e ultraestrutural do ligamento periodontal, analisando a composição das fibras colagénicas, a distribuição celular e as suas interações.

A disposição das fibras de colagénio que o compõem, a sua matriz extracelular e as diferentes células presentes, conferem-lhe elasticidade, resistência e capacidade de remodelação. Para além da sua função mecânica, o ligamento periodontal está também envolvido na resposta imunitária e é capaz de modular as reações inflamatórias. No entanto, processos patológicos, como os observados na periodontite, com a produção de metaloproteinases, as citocinas pró-inflamatórias induzem uma sobreexpressão de RANKL levam à degradação desta arquitetura, resultando numa perda progressiva da inserção periodontal, comprometendo assim a estabilidade dentária.

Este estudo evidencia a complexidade estrutural do ligamento periodontal e contribui para um conhecimento mais aprofundado da sua anatomia, desenvolvimento, remodelação, bem como do seu papel funcional e mecânico. Uma melhor compreensão do ligamento periodontal poderá contribuir para o desenvolvimento de novas terapias de regeneração, permitindo restaurar a interface funcional perdida entre o cimento, o osso alveolar e o ligamento.

Palavras-chave: Ligamento periodontal; Histologia; Patologia; Remodelação

ABSTRACT

The periodontal ligament is a connective tissue located between the root of the tooth and the wall of the alveolar bone. It plays a crucial role in anchoring the tooth within its socket while ensuring its adaptation to the various mechanical forces applied to it. Its exceptional functions result from the complexity of its histological and ultrastructural organization, which provides it with mechanical properties essential for maintaining periodontal homeostasis.

This study aims to characterize the histological and ultrastructural organization of the periodontal ligament by analyzing the composition of collagen fibers, cellular distribution, and their interactions.

The arrangement of collagen fibers, the extracellular matrix, and the different cell types present confer elasticity, resistance, and remodeling capacity to the periodontal ligament. In addition to its mechanical role, the periodontal ligament is also involved in immune responses and can modulate inflammatory reactions. However, pathological processes, such as those observed in periodontitis, with the production of metalloproteinases, pro-inflammatory cytokines induce an overexpression of RANKL lead to the degradation of this structure, resulting in the progressive loss of periodontal attachment and compromising dental stability.

This study highlights the structural complexity of the periodontal ligament and contributes to a deeper understanding of its anatomy, development, remodeling, as well as its functional and mechanical roles. A better understanding of the periodontal ligament may aid in the development of new regenerative therapies aimed at restoring the lost functional interface between the cementum, alveolar bone, and ligament.

Keywords : Periodontal ligament; Histology; Pathology; Remodeling

RÉSUMÉ

Le ligament parodontal est un tissu conjonctif, interposé entre la racine de la dent et la paroi de l'os alvéolaire. Il permet l'ancrage de la dent dans son alvéole en assurant son adaptation aux différentes forces mécaniques qui lui sont appliquées. Il présente des fonctions exceptionnelles permises par ses structures histologiques et ultrastructurales complexes qui lui apportent des propriétés mécaniques indispensables au maintien de l'homéostasie du parodonte.

Cette étude vise à caractériser l'organisation histologique et ultrastructurale du ligament parodontal en analysant la composition des fibres collagéniques, la distribution cellulaire et leurs interactions.

L'organisation des fibres de collagène qui le composent, sa matrice extracellulaire, et ses différentes cellules, lui confèrent élasticité et résistance et assurent son remodelage. En plus de son rôle mécanique, le ligament parodontal est également impliqué dans la réponse immunitaire et est capable de moduler les réponses inflammatoires. Cependant, des processus pathologiques, comme ceux observés dans la parodontite, avec la production de métalloprotéinases, de cytokines pro-inflammatoires induisent une surexpression de RANKL entraînent une dégradation de cette architecture entraînant une perte progressive de l'attache parodontale, mettant en péril la stabilité dentaire.

Cette étude met en évidence la complexité structurale du ligament parodontal et permet d'approfondir les connaissances sur son anatomie, son développement, son remodelage ainsi que sur son rôle fonctionnel et mécanique. Cette meilleure compréhension du ligament parodontal permet de contribuer au développement de nouvelles thérapies de régénération permettant de recréer l'interface fonctionnelle perdue entre le ciment l'os alvéolaire et le ligament.

Mots-clés: Ligament parodontal; Histologie; Pathologie; Remodelage

ÍNDICE

I. INTRODUÇÃO	13
II. DESENVOLVIMENTO.....	15
1. O LIGAMENTO PERIODONTAL.....	15
1.1 Composição e estrutura	15
1.1.1 Constituintes celulares.....	16
1.1.1.1 Os fibroblastos.....	16
1.1.1.2 Restos epiteliais de Malassez (REM)	18
1.1.1.3 Osteoblastos e Osteoclastos.....	21
1.1.1.4 Cementoblastos e Cementoclastos.....	23
1.1.1.5 Células estaminais do ligamento periodontal	23
1.1.1.6 Células de defesa	24
1.1.2 A matriz extracelular	27
1.1.2.1 Constituintes fibrosos	27
1.1.2.1.1 O colagénio	28
1.1.2.1.2 As fibras oxitalânicas	31
1.1.2.2 A substância fundamental.....	33
1.2 Morfologia e posicionamento anatómico	35
2. COMO FUNCIONA O LIGAMENTO PERIODONTAL	36
2.1 O seu papel e importância para a dentição e a saúde periodontal	36
2.2 Biomecânica: forças aplicadas e adaptabilidade	38
3. FORMAÇÃO DO LIGAMENTO PERIODONTAL.....	42
3.1 Histogénese: a sua formação, origem e desenvolvimento.....	42
4. ALTERAÇÕES E REGENERAÇÃO DO LIGAMENTO PERIODONTAL	47
4.1 Alterações patológicas.....	47
4.1.1 Periodontite e o efeito das doenças sistémicas no ligamento periodontal	
47	
4.1.1.1 A imunidade inata.....	48
4.1.1.2 A imunidade adaptativa	51
4.1.1.3 Os efeitos da periodontite no ligamento periodontal.....	53
4.1.1.4 Os efeitos da periodontite a nível sistémico	54

4.1.2	Outras alterações.....	56
4.1.2.1	Traumatismo, luxação, intrusão, concussão	56
4.1.2.2	Alterações com a idade.....	57
4.2	Terapia regenerativa	59
4.2.1	Desafios e questões dos traumatismos periodontais.....	59
4.2.2	Engenharia de Tecidos e Terapia Celular para a Regeneração Periodontal	
	61	
4.2.2.1	Engenharia de Tecidos.....	61
4.2.2.2	Elementos-chave do Tissue Engineering.....	63
4.2.2.2.1	As células	63
4.2.2.2.2	Os biomateriais de scaffold.....	66
4.2.2.2.3	Os sinais biológicos e mecânicos.....	68
III.	CONCLUSÃO.....	71
IV.	BIBLIOGRAFIA	73

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1- Esquema representando os componentes do periodonto

Figura 2- Esquema mostrando a conformação dos REM em corte longitudinal

Figura 3- Estratégias de osteoclastogênese e osteoblastogênese

Figura 4- Mecanismo de inibição das células NK por reconhecimento de MHC I em células saudáveis

Figura 5- Imagem ao microscópio eletrônico de transmissão do ligamento periodontal. Observam-se as fibras de colagénio apresentando a sua estriação característica (crimping)

Figura 6- (A) Imagem ao microscópio eletrônico de transmissão do ligamento periodontal, representando as diferentes orientações das fibras de colagénio. (B) A orientação das diferentes fibras de colagénio

Figura 7- Representação esquemática de secções transversais ilustrando as diferenças entre as fibras do sistema elástico

Figura 8- Esquema representando o efeito das forças sobre o periodonte, (a) O periodonto normal pode suportar forças oclusais normais, e (b) forças oclusais excessivas causam danos ao periodonto

Figura 9- Corto histológico de um germe dentário em desenvolvimento

Figura 10- Micrografias mostram a evolução da orientação das fibras do ligamento periodontal humano (PDL) em regiões com predomínio de cemento acelular extrínseco (AEFC)

Figura 11- Micrografias mostram a evolução das fibras do ligamento periodontal humano associada ao desenvolvimento do AEFC.

Figura 12- Esquema representando os mecanismos da destruição dos tecidos de suporte dentário: Papel do biofilme e da resposta imunológica

Figura 13- Casacata inflamatória na periodontite

Figura 14- Esquema das vias de ativação do NF- κ B dependente e independente de MyD88

Figura 15- Esquema da resposta imunitária inata e adaptativa durante a doença periodontal

Figura 16- Os efeitos sistemáticos da periodontite

Figura 17- Os traumas do ligamento periodontal

Figura 18- A tríade do Tissue Engineering

LISTA DE ABREVIATURAS

MEC- Matriz extracelular

PDLC- Células ligamentares periodontais

TGF- β - Fator de crescimento transformante beta

SPARC- *Secreted Proteins Acidid and Rich in Cysteine*

MMP- Metaloproteínas

TIMP- Inibidores teciduais das metaloproteinases matriciais

RANK- Receptores NF-Kappa β

OPG- Recetores sensíveis à osteoprotegerina

HERS- Bainha epitelial de Hertwig

REM- Remanescentes das células epiteliais de Malassez

RER- Retículo endoplasmático rugoso

M-CSF- *Macrophage Colony-Stimulating Fator*

RANKL- *Receptor NF-Kappa β Ligand*

PDLSC- Células estaminais do ligamento periodontal

PRR- Recetores de reconhecimento de padrões

TLR- Toll-Like Receptors

TNF- α - *Tumor Necrosis Factor- α*

IL- *Interleukine*

G-CSF- *Granulocyte colony-stimulating factor.*

CXCR2- *Chemokine receptor 2*

NADPH- *Nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced*

ROS- *Reactive oxygen species*

NKC- *Natural Killer Cells*

DC- Células dendríticas

PMN- Neutrófilo polimorfonuclear

SLRP- Proteoglicanos ricos em leucina

LRR- Repetições de domínios ricos em leucina

N- *Newton*

AEFC- Cimento acelular extrínseco

LPS- Lipopolissacáridos

PAMP- Padrões moleculares associados aos patogénicos

DAMP- Padrões moleculares associados ao dano

MyD88- *Myeloid Differentiation Factor 88*
NF-K β - *Nuclear Factor Kappa-B*
TRAF6- *TNF Receptor-Associated Factor 6*
MKK6- *MAPK Kinase Kinase 6*
AP-1- *Proteína ativadora do fator de transcrição-1*
TRIF-dependente- *TIR-domain-containing adapter-inducing interferon- β*
TRAM-TRIF- *related adapter molecule*
NLR- *NOD-like receptor*
Th- *Linfócito T helper*
Treg- *Linfócito T regulador*
OPG- *Osteoprotegerina*
GTR- *Guided tecidual regeneration*
TE- *Tissue Engineering*
MSC- *Mesenchymal Stem Cell*
BMMS- *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells*
DPSC- *Dental Pulp Stem Cells*
DSC- *Dental Tissue-Derived Stem/Progenitor Cells*
iPSC- *Induced Pluripotent Stem Cells*
PCL- *Polycaprolactone*
PGLA- *Copolímero polyactic acid-glycolic acid*
BMP- *Morphogenic proteins*
PRHd- *Platelet-rich hemoderivatives*
PRF- *Platelet-rich fibrin*
PRP- *Platelet-rich plasma*
PRGF- *Plasma rich in growth factor*
FDA- *Food and drug administration*
IGF-1- *Insulin growth factor-1*
PDGF- *Platelet derived growth*
VEGF- *Vascular endotelial growth factor*
FGF- *Fibroblast growth factor*

I. Introdução

Os dentes das arcadas maxilar e mandibular são rodeados e suportados pelo periodonto. O periodonto é um tecido conjuntivo funcional, biológico e evolutivo, constituído pela gengiva, pelo ligamento periodontal, pelo osso alveolar e pelo cemento (Torabi & Soni, 2023).

Estes quatro tecidos, dos quais dois moles (a gengiva e o ligamento periodontal) e dois mineralizados (o cemento e o osso alveolar), dividem o periodonto em duas partes. A gengiva corresponde ao periodonto superficial, enquanto o cemento, o osso alveolar e o ligamento periodontal constituem o periodonto profundo (Prosper et al., 2024).

Todos estes elementos estão interligados, tanto em termos de desenvolvimento como de função (Jiang et al., 2016). De facto, têm origem na crista neural derivada do mesênquima, onde as primeiras células são identificadas durante o encerramento do tubo neural. As células da crista neural migram e atingem, entre outras, a região craniana. Proliferam e diferenciam-se, conduzindo à formação do órgão dentário e do periodonto (Ouchi & Nakagawa, 2020). Todos eles evoluem a partir do folículo dentário, que faz parte do órgão dentário.

O periodonto está envolvido em diversas funções e é dividido em periodonto de suporte e de proteção (figura 1). O cemento e o osso, dois tecidos mineralizados, juntamente com o ligamento periodontal, sustentam e asseguram a ancoragem do dente na arcada dentaria. A gengiva, por sua vez, protege estas estruturas, recobrimo-as. Assim, as suas principais funções são a proteção dos dentes, bem como das estruturas vasculares e nervosas, contra traumas mecânicos através da dissipação das forças oclusais (Mariotti, 2007).

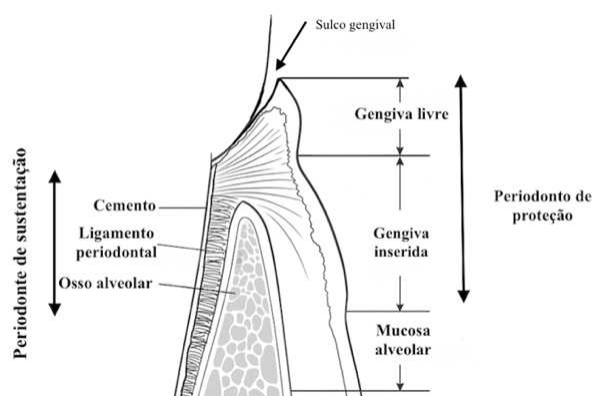


Figura 1- Esquema representando os componentes do periodonto, imagem original.

O ligamento periodontal desempenha um papel fundamental como tecido de suporte para os dentes, ligando o cemento nas raízes dos dentes ao osso alveolar. Absorve as forças externa (como a mastigação ou os movimentos ortodônticos), graças às suas propriedades viscoelásticas e à sua rede de fibras de colagénio. Isto torna-o extremamente resistente e capaz de se remodelar sob tensão. As células que compõem este tecido, como os fibroblastos e algumas células osteoclásticas, permitem uma regeneração constante sob o efeito do stress mecânico (de Jong et al., 2017).

A metodologia adotada baseia-se numa revisão narrativa crítica da literatura, centrada principalmente em artigos publicados entre 2010 e 2025, em inglês, francês e português, consultados através do PubMed, ScienceDirect, MDPI, SciELO. Foram utilizadas palavras-chave como: *periodontal ligament, periodontal ligament histology, fibroblasts, biomechanical, periodontal disease, elderly, tissue regeneration*. Os artigos selecionados incluem revisões sistemáticas, revisões narrativas, estudos experimentais in vivo e in vitro, como objetivo de oferecer uma análise crítica, abrangente e atualizada da literatura disponível sobre o ligamento periodontal.

II. Desenvolvimento

1. O ligamento periodontal

1.1 Composição e estrutura

O ligamento periodontal é um tecido heterogêneo que forma uma rede fibrosa, ricamente innervada e vascularizada, com uma arquitetura complexa que lhe confere as suas propriedades mecânicas (de Jong et al., 2017).

É constituído por um conjunto de estruturas vasculares, nervosas e sensoriais, bem como por vários tipos celulares, incluindo células endoteliais, os restos das células epiteliais de Malassez, terminações nervosas, células imunológicas, precursores de células ósseas, cementoblastos e fibroblastos. Os fibroblastos são as células predominantes do ligamento periodontal, responsáveis pela produção e manutenção da matriz extracelular (MEC), do osso alveolar e do cimento, bem como pela formação do colagénio, cuja função é central (Beertsen et al., 1997; de Jong et al., 2017; Goldberg et al., 2023)

De facto, o ligamento periodontal, para além dos seus componentes celulares, inclui uma matriz extracelular constituída por elementos colagénicos e não colagénicos.

A MEC permite manter a viabilidade celular ao regular a adesão celular e ao transmitir as forças mecânicas. As células respondem a diferentes sinais mecânicos e bioquímicos fornecidos pela matriz extracelular, o que conduz a alterações no seu comportamento biológico, permitindo a sua migração, diferenciação e sobrevivência. A matriz, quando sujeita a alterações dinâmicas fisiológicas do ambiente, sofre modificações que modulam o comportamento celular, assegurando a homeostasia e a regeneração do tecido periodontal (Yu et al., 2024).

É um elemento-chave do ligamento periodontal que confere o esqueleto do tecido, cujas propriedades estão associadas aos diferentes constituintes da matriz. Esta é composta maioritariamente por colagénio fibrilar (tipos I e III), mas também por colagénio minoritário (tipos V, VI, XII), proteoglicanos e glicoproteínas (Kaku et al., 2024).

Entre os seus constituintes, a periostina, o lumicano, a asporina, o biglicano e a tenascina-N são os proteoglicanos mais abundantes (Kaku et al., 2024).

Os proteoglicanos, juntamente com as glicoproteínas e o colagénio, são responsáveis pela resposta viscoelástica do ligamento quando submetido a forças de compressão. De facto, a MEC é um mediador da mecanotransdução, convertendo um sinal mecânico num sinal bioquímico (Na Nan, 2022)

No entanto, a matriz, para além de conferir propriedades elásticas ao tecido, também participa na sua regulação celular (Arai et al., 2024).

As fibras de colagénio fibrilar formam feixes de fibrilas, e as suas características morfológicas, juntamente com o conteúdo da matriz extracelular, alteram-se quando submetidas a stress mecânico (Kaku et al., 2024).

Além disso, a MEC possui uma grande capacidade de adaptação devido a uma sinergia entre a degradação e a síntese coordenada dos seus componentes, permitindo a sua remodelação-e renovação perante diversas mudanças (Yu et al., 2024).

A matriz possui uma organização e estrutura não uniforme única, que ajuda o ligamento periodontal a reagir adequadamente quando submetido a cargas (Connizzo et al., 2021).

1.1.1 Constituintes celulares

O ligamento periodontal é composto por numerosas células que garantem as suas funções e diversas propriedades. Estas células são responsáveis pela deteção das forças aplicadas e pela síntese e libertação de várias moléculas, tais como citoquinas ou fatores de crescimento, que permitem a manutenção da viabilidade do ligamento periodontal (Dean, 2017).

1.1.1.1 Os fibroblastos

Entre as diferentes células, os fibroblastos ou células ligamentares periodontais (PDLC) são as predominantes. Representam 35% do volume tecidual do ligamento periodontal e entre 50 a 60% do número total de células periodontais. São células fusiformes, originárias do ectomesênquima do folículo dentário, compostas por numerosas projeções citoplasmáticas (Goldberg et al., 2023; Huang et al., 2024). Estas células estão

interligadas entre si através de junções do tipo gap e adesão, comunicando com as células vizinhas por intermédio de cerca de 20 dessas junções em média. Esta comunicação é facilitada por acoplamentos elétricos e sinais químicos, nomeadamente fatores parácrinos (Beertsen et al., 1997).

No interior do ligamento, os fibroblastos estão dispostos paralelamente às fibras de colagénio, das quais estão separados pelos seus prolongamentos citoplasmáticos, formando uma rede celular entre o cemento e o osso alveolar (Beertsen et al., 1997) (Huang et al., 2024). Estes microfilamentos citoplasmáticos conferem aos fibroblastos capacidade contrátil e de migração (Dean, 2017).

Os fibroblastos desempenham um papel central no ligamento periodontal, sendo responsáveis pela manutenção da homeostasia dos tecidos moles e duros do periodonto, bem como do microambiente imunitário local, através da secreção e degradação dos componentes da MEC. Estes remodelam a matriz, sintetizando colagénio e organizando as fibras para a sua formação (Huang et al., 2024). Os fatores de crescimento transformantes beta (TGF- β) estimulam os fibroblastos para a síntese de colagénio, bem como de outras proteínas da matriz, como a fibronectina e o SPARC (Secreted Proteins Acidid and Rich in Cysteine) (Goldberg et al., 2023).

Além de secretar este colagénio, os fibroblastos irão degradá-lo, através da produção de proteases, como as metaloproteinases da matriz (MMP-1, -3, -8, -9, -13), com destaque para as MMP-1 e -3, que atacam o colagénio tipo I e III, os principais tipos de colagénio do ligamento. Estas proteases cortam as fibras em fragmentos que são transportados para os lisossomos dos fibroblastos por fagocitose, onde são destruídos em aminoácidos pelas catepsinas B e L (Naruishi, 2022).

O TGF- β regula essa degradação diminuindo a síntese das MMP, com a ajuda dos inibidores de proteases (TIMP) -1 e -4, produzidos pelos fibroblastos. Isso permite um remodelamento dinâmico da matriz extracelular (Goldberg et al., 2023).

As fibras de colagénio têm uma semi-vida relativamente curta, de alguns dias, o que, sem renovação rápida, danificaria a integridade do ligamento periodontal. Os fibroblastos são responsáveis por esse processo de renovação, substituindo as fibrilas de colagénio senescentes ou danificadas por novas através da sua proliferação (Wen et al., 2024).

Além de serem protagonistas no metabolismo do ligamento periodontal, os fibroblastos desempenham um papel importante também no metabolismo ósseo. Eles possuem receptores NF-Kappa B (RANK) e recetores sensíveis à osteoprotegerina (OPG), o que permite regular a função dos osteoclastos e osteoblastos, desempenhando um papel na remodelação óssea. A secreção de TGF- β também estimula a remodelação óssea ao promover a atividade dos osteoblastos (Huang et al., 2024).

Os fibroblastos, na sua função de manter o equilíbrio local, favorecem a migração das células imunitárias, como as células dendríticas e os macrófagos, para os tecidos traumatizados, induzindo a sua maturação e aumentando a fagocitose das células que apresentam antígenos específicos. Isso permite estabelecer um equilíbrio pró-inflamatório e anti-inflamatório. Este equilíbrio pode ser desregulado em condições patológicas, nomeadamente em casos de periodontite, onde os fibroblastos estão alterados e secretam citocinas inflamatórias, que provocam uma resposta imunológica e inflamatória, resultando na destruição dos tecidos duros e moles. (Huang et al., 2024) com a proliferação e a diferenciação dos precursores dos osteoclastos (reabsorção óssea) e dos macrófagos. Os fibroblastos são sensíveis à compressão e desencadeiam uma resposta inflamatória através de processos de mecanotransdução que terminam com a formação de prostaglandinas (E2) responsáveis pela inflamação (Weider et al., 2020).

1.1.1.2 Restos epiteliais de Malassez (REM)

Os remanescentes de células epiteliais de Malassez provêm da fragmentação celular da bainha epitelial de Hertwig (HERS) e localizam-se em direção ao cimento, com células em aglomerado ou cordões semelhantes a uma rede de pesca, com um citoplasma pequeno e um núcleo grande. Por muitos anos essas células foram consideradas latentes, quiescentes e apenas na origem de quistos (odontomas e dentígeros) (Silva et al., 2017; Davis, 2018).

Após a formação da coroa, as células do epitélio interno e externo do órgão do esmalte fundem-se para formar a HERS, uma estrutura que se prolonga apicalmente e define a forma da raiz. Esta bainha é constituída por duas camadas de células e induz a diferenciação das células mesenquimatosas subjacentes em odontoblastos, que são responsáveis pela formação da raiz do dente. Posteriormente, à medida que a raiz se desenvolve, a bainha começa a fragmentar-se, permitindo a penetração de células

mesenquimatosas do folículo pericoronário. Estas interagem com a superfície da raiz e contribuem para a formação de estruturas de fixação dentária, nomeadamente através da diferenciação em cementoblastos, fibroblastos e osteoblastos. A bainha continua sua fragmentação produzindo aglomerados dispersos de células epiteliais, correspondendo aos remanescentes das células epiteliais de Malassez (REM) (Davis, 2018).

Essas células, descritas histologicamente pela primeira vez por Malassez, estão localizadas ao redor da raiz do dente (Figura 2). São células epiteliais típicas ligadas umas às outras por desmossomas com tonofilamentos e rodeadas por uma lâmina basal. Em humanos, esses remanescentes epiteliais diminuem com a idade e são mais frequentes na região mesial dos molares do que na distal, principalmente na região apical da raiz, mas também são encontrados na furca e por vezes na região cervical do dente. Com a idade, além de serem em menor número, tornam-se maiores e mais espaçados (Beertsen et al., 1997; Silva et al., 2017).

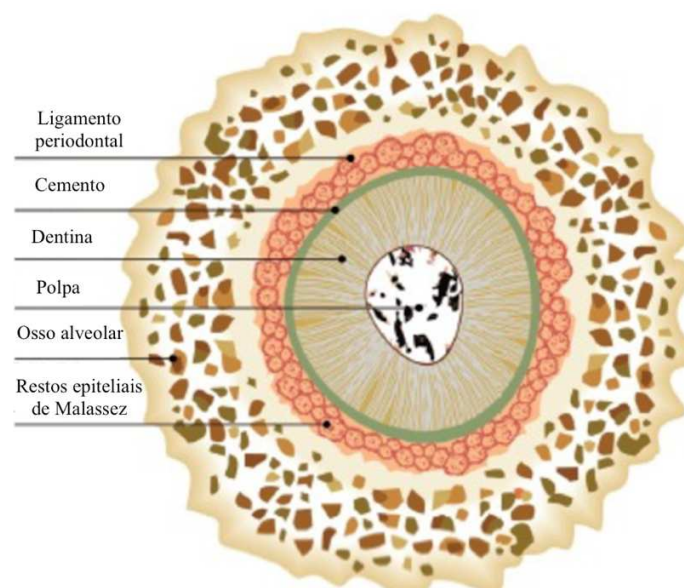


Figura 2- Esquema mostrando a conformação dos REM em corte longitudinal, adaptado de (Silva et al., 2017), imagem de acesso livre, sob licença CC BY 4.0

Contrariamente às ideias iniciais, não se trata apenas de detritos celulares. Estes restos têm de facto uma função. Tal como os fibroblastos, estão envolvidos na manutenção da homeostasia dos tecidos periodontais, mas também na regeneração do ligamento e na preservação do espaço ligamentar, prevenindo a anquilose alvéolo-dentária (Silva et al., 2017; Islam et al., 2022).

No estudo de Davis (2018), foi demonstrado que quando uma força traumática é aplicada a um dente, as fibras do ligamento tornam-se desorganizadas com um aumento no número de aglomerados dos REM perto do cemento e um aumento no fornecimento de sangue ao osso alveolar. As células dos REM apresentam um aumento da atividade metabólica, caracterizada por um aumento da síntese proteica e da fagocitose, resultando num retículo endoplasmático rugoso (RER) mais desenvolvido, um grande número de mitocôndrias e um aumento dos lisossomas. Após um período de recuperação, as fibras do ligamento recuperam a sua organização e o número de células do RER é superior ao normal. O RER desempenha um papel fundamental na reparação do ligamento (Davis, 2018).

O colagénio é extremamente importante para a proteção dos tecidos contra as forças exercidas sobre eles e para a manutenção do espaço ligamentar. Os REM vão assim participar na síntese de colagénio através da secreção de colagenases latentes que, uma vez na matriz extracelular, serão clivadas enzimaticamente em colagenase ativa para a produção destas fibras (Silva et al., 2017).

Esta renovação e reparação das fibras de colagénio permite também a preservação do espaço ligamentar, outra função importante desempenhada pelos REM. O seu agrupamento como uma rede de pesca à volta da raiz ajuda a manter este espaço. As fibras de colagénio do ligamento sofrem uma renovação contínua, principalmente pelos fibroblastos que as sintetizam e degradam, tal como o osso alveolar, sendo os osteoclastos e os odontoblastos responsáveis pela sua remodelação. O cemento, por outro lado, não sofre remodelação, sendo depositado continuamente ao longo da vida do indivíduo. Apesar destas aposições, quando estimulada por forças no caso do osso e continuamente no caso do cemento, a zona central do ligamento permanece não mineralizada e não invadida. Embora os mecanismos reguladores envolvidos ainda não sejam totalmente compreendidos, Davis demonstrou que os restos epiteliais de Malassez, quando cultivados com fibroblastos ligamentares, secretam proteínas como a ameloblastina, osteopontina, osteoprotegerina e osteonectina, influenciando os fibroblastos e osteoclastos. Estes últimos são responsáveis por inibir a expressão das proteínas produzidas pelos fibroblastos, responsáveis pela mineralização, e por aumentar os sinais que estimulam os osteoclastos a reabsorver o osso alveolar. Os receptores de factores de crescimento são também importantes para a função e diferenciação dos osteoclastos, cuja ausência leva à desregulação da homeostasia (Davis, 2018).

Este processo regula a mineralização e a reabsorção óssea, o que impede a anquilose do dente com o osso, preservando a integridade do ligamento, conforme referido anteriormente, evita a anquilose dento-alveolar (Silva et al., 2017).

1.1.1.3 Osteoblastos e Osteoclastos

Além de outras células, o ligamento periodontal é constituído por osteoclastos e osteoblastos. São células responsáveis pela remodelação óssea. Se estão envolvidas neste processo, não têm a mesma origem nem desempenham o mesmo papel. O osso antigo ou danificado é destruído pelos osteoclastos e, em seguida, os osteoblastos depositam uma nova camada óssea para substituir a anterior (Kim et al., 2020).

Os osteoblastos derivam de progenitores mesenquimatosos (Figura 3), provenientes do ectoderma neural, que se diferenciam sob a influência de fatores de transcrição (RUNX2 e Osterix) e terminam como osteoblastos maduros, rodeados de osteóide, tornando-se osteócitos. São responsáveis pela osteoclastogênese, a formação do osso após a sua reabsorção, que ocorre continuamente ao longo da vida (Kim et al., 2020; Henry JP, 2023).

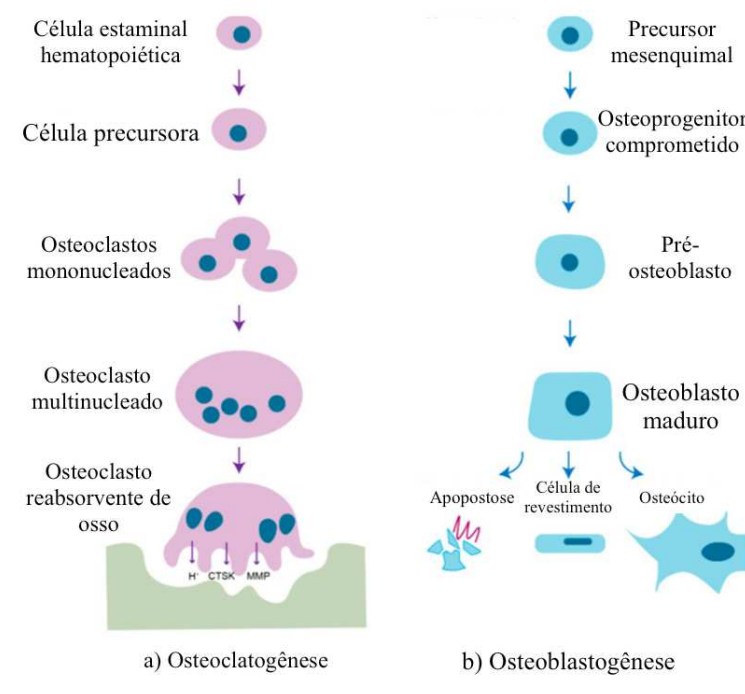


Figura 3- Estratégias de osteoclastogênese e osteoblastogênese, adaptado de (Kim et al., 2020), sob licença CC BY 4.0

Estas células mononucleadas, de forma cúbica ou poligonal, contendo RER, aparelho de Golgi, mitocôndrias e vesículas secretoras, produzem diversas proteínas extracelulares, como a osteocalcina, a fosfatase alcalina e o colagénio tipo I. Ao sintetizar a matriz óssea, os osteoblastos contribuem para a manutenção da integridade estrutural e da forma do osso (Kim et al., 2020; Henry JP, 2023).

Os osteoclastos, por sua vez, são responsáveis pela destruição do osso através da ação de enzimas proteolíticas e ácidos, como a catepsina K (Kim et al., 2020). São células multinucleadas de 50 a 100 nm, derivadas de células estaminais hematopoiéticas (Figura 4). As numerosas bombas H⁺/ATPase presentes na sua membrana reduzem o pH (4,5), levando à dissolução das ligações de cálcio na matriz óssea (Guder et al., 2020).

Os osteócitos, que correspondem ao último estágio de diferenciação dos osteoblastos, enviam fatores de estimulação, os *Macrophage Colony-Stimulating Fator* (M-CSF), que recrutam células estaminais hematopoiéticas em unidades formadoras de colónias de macrófagos, correspondentes aos precursores de macrófagos e osteoclastos. Estas unidades, quando estimuladas pelo sinal *Receptor NF-Kappa β Ligand* (RANKL)-RANK, diferenciam-se em osteoclastos mononucleados, que posteriormente fundem-se com outras células idênticas para formar osteoclastos multinucleados (Guder et al., 2020; Kim et al., 2020).

Os osteoblastos e os osteoclastos são, portanto, responsáveis pela remodelação óssea, que ocorre em várias etapas. Primeiro, os osteoclastos são ativados e enviados para o tecido traumatizado, onde reabsorvem o osso e, finalmente, morrem. Em seguida, os precursores dos osteoblastos diferenciam-se em osteoblastos maduros e secretam a nova matriz, que será mineralizada (Kim et al., 2020).

Quando forças são aplicadas sobre o dente, este muda de posição no seu alvéolo e, para cargas importantes, especialmente durante os movimentos ortodônticos, o ligamento periodontal é comprimido de um lado e em tensão do outro. A compressão provoca a libertação de citocinas pró-inflamatórias (RANKL), produzidas por células do ligamento, como os osteoblastos, que se ligam aos recetores RANK dos osteoclastos e os ativam, conduzindo à reabsorção óssea. Os osteoblastos, por sua vez, são estimulados no lado tensionado, onde depositam uma camada de osteóide e posteriormente a mineralizam (Nakai et al., 2023).

1.1.1.4 Cementoblastos e Cementoclastos

Os cementoblastos, provenientes de células ectomesenquimatosas do folículo dentário, são responsáveis pela secreção e síntese dos componentes da matriz do cimento e pela sua reparação quando é reabsorvido. São células mononucleadas, cúbicas ou globulares, que, dependendo da sua atividade, apresentam uma quantidade variável de organelos. Podem ser envolvidos em cementoplastos, correspondentes a cavidades na matriz, tornando-se em cementócitos (Dean, 2017; Tapia-Repetto et al., 2023).

Os cementoclastos, por sua vez, estão envolvidos em situações patológicas.

1.1.1.5 Células estaminais do ligamento periodontal

As células estaminais do ligamento periodontal (PDLSC) apresentam diversas características das células estaminais mesenquimatosas, incluindo auto-renovação, imunomodulação e multipotência (Queiroz et al., 2021). Embora a grande maioria destas células sejam mesenquimatosas, cerca de 5% têm origem na crista neural, tornando-se assim uma opção interessante para a terapia de regeneração neural, sendo capazes de sobreviver, migrar e diferenciar-se no cérebro, além de contribuírem para a regeneração do periodonto (Queiroz et al., 2021; Mohebichamkhorami et al., 2022).

De facto, as PDLSC podem diferenciar-se em vários tipos de células maduras, como osteoblastos ou cementoblastos, responsáveis, respetivamente, pela formação e reparação do osso alveolar e do cimento. Estas células também demonstraram possuir atividade fibroblástica quando estimuladas por fatores de crescimento específicos, resultando num aumento da síntese de colagénio. Assim, são precursoras das principais células (fibroblastos, osteoblastos e cementoblastos) responsáveis pela homeostasia dos tecidos periodontais (Queiroz et al., 2021).

São ainda caracterizadas pela presença de marcadores situados na sua superfície, que permitem diferenciá-las de outros tipos celulares. No entanto, não existe um marcador único e específico, mas sim uma combinação necessária para a sua identificação. Existem marcadores positivos e negativos. Os marcadores negativos não estão presentes nestas células e permitem excluir linhagens celulares como as células endoteliais e as células hematopoiéticas, no caso das células estaminais do ligamento periodontal. Eles permitem,

assim, identificar essas células, isolá-las e compreender melhor as suas propriedades e o seu potencial de diferenciação para serem utilizadas em terapias regenerativas (Queiroz et al., 2021).

1.1.1.6 Células de defesa

O ligamento periodontal também possui células de defesa, incluindo os macrófagos, que derivam dos monócitos sanguíneos e representam 4% das células do ligamento (Dean, 2017). Estes desempenham um papel na imunidade, ativando ou inibindo cascatas inflamatórias (Yin et al., 2022).

Na sua superfície, os macrófagos apresentam recetores de reconhecimento de padrões (PRR), que estão associados a agentes patogénicos. Quando esses agentes se ligam a esses recetores, ativam-se vias de transdução de sinal, levando a uma resposta imunitária. Entre esses recetores, os *Toll-Like Receptors* (TLR) são os mais comuns, nomeadamente TLR2, TLR4 e TLR9 (Yin et al., 2022).

Dependendo dos sinais recebidos pelos macrófagos, ou seja, dos agentes que os estimulam, estes adotam diferentes fenótipos num processo denominado polarização. Eles podem adotar o fenótipo M1, classicamente ativado, com uma função pró-inflamatória, ou o fenótipo M2, alternativamente ativado, com uma função anti-inflamatória (Yin et al., 2022).

Os macrófagos M1 estão envolvidos na inflamação e são responsáveis pela secreção de citocinas pró-inflamatórias (*Tumor Necrosis Factor- α* (TNF- α), *Interleukine-6* (IL-6)), que ativam outros macrófagos e intensificam a resposta imunológica, podendo levar a uma inflamação persistente quando excessivamente ativados. Após a ativação, os macrófagos libertam outros mediadores inflamatórios, como prostaglandina E2, RANKL e TNF- α , que estimulam os osteoclastos e promovem a reabsorção óssea. Os macrófagos M2, por outro lado, estão envolvidos na inibição da inflamação, através da secreção de citocinas IL-10 e TGF- β , auxiliando assim na reparação tecidual (Yin et al., 2022).

Os neutrófilos também são encontrados ao nível do ligamento periodontal e desempenham um papel extremamente importante nas doenças que o afetam. Estes são

produzidos na medula óssea, e a sua produção é regulada pelo *granulocyte colony-stimulating factor (G-CSF)*. O *G-CSF* é responsável pela proliferação dos precursores granulocíticos e pela saída dos neutrófilos maduros para a circulação sanguínea (Cortés-Vieyra et al., 2016).

Uma vez na circulação, os neutrófilos deslocam-se ao longo das células endoteliais através da interação entre as *selectinas (E e P)* presentes nestas células e os ligandos glicoproteicos dos neutrófilos. Este mecanismo permite que estas células imunitárias alcancem rapidamente os locais de infeção, onde são ativadas por quimiocinas que induzem a sua adesão às integrinas. Esta ligação interrompe o seu movimento, permitindo que atravessem o endotélio e alcancem o sítio infetado nos tecidos periféricos (Cortés-Vieyra et al., 2016).

Estes apresentam diversos marcadores específicos essenciais aos seus diferentes mecanismos. O *CD11a/CD18* permite a adesão forte dos neutrófilos ao endotélio, o *CD11b/CD18* facilita a transmigração através do endotélio, e o *chemokine receptor 2 (CXCR2)* permite a ligação específica a quimioatraentes, como *CXCL8 ou Interleukine-8*, ao nível do ligamento periodontal, que atraem os neutrófilos para o local da inflamação ou da infeção (Cortés-Vieyra et al., 2016).

Os neutrófilos eliminam os patógenos através da fagocitose, que corresponde à internalização dos agentes patogénicos em estruturas específicas, os fagossomas. O fagossoma é uma invaginação da membrana plasmática. Uma vez no local da infeção, os neutrófilos reconhecem o patógeno e opsonizam-no através dos seus recetores específicos (*Fc receptor, complement receptor*). Após esta ligação, são ativados sinais que induzem alterações na conformação do citoesqueleto de actina, envolvendo o patógeno. Em seguida, grânulos contendo enzimas, bem como a *nicotinamide adenine dinucleotide phosphate reduced (NADPH) oxidase*, fundem-se com a membrana do fagossoma. A *NADPH oxidase* produz então *reactive oxygen species (ROS)*, responsáveis pela oxidação e eliminação das bactérias, cujas paredes são degradadas pelas enzimas (Naish et al., 2023).

Após a eliminação do patógeno, os neutrófilos sofrem apoptose e são posteriormente fagocitados por macrófagos e células dendríticas, permitindo a regulação do número de neutrófilos e da sua produção. Esta fagocitose provoca uma diminuição na produção

de IL-23 pelos macrófagos, a qual é normalmente responsável pela indução de IL-17. A redução de IL-17 leva a uma diminuição na estimulação do *G-CSF* e, conseqüentemente, a uma menor produção de neutrófilos. Ao nível do periodonto, os neutrófilos saem da circulação e atravessam o epitélio juncional, onde formam uma barreira que impede a penetração bacteriana nos tecidos subjacentes (Cortés-Vieyra et al., 2016).

Tal como os neutrófilos e os macrófagos, as *Natural Killer Cells* (NKC) fazem parte do sistema imunitário inato. Estas células são linfócitos com um fenótipo e uma função diferentes dos linfócitos T e B, e expressam na sua superfície os marcadores CD56. São produzidas na medula óssea e são capazes de eliminar células através de interação direta com as mesmas, bem como através da produção de citocinas pró-inflamatórias, nomeadamente os *interferon- γ* . Ao contrário dos linfócitos T, as NKC não sofrem rearranjo genético para recetores específicos, mas possuem dois tipos principais de recetores: uns inibitórios e outros ativadores (Figura 4). Através destes recetores, as NKC reconhecem as moléculas do complexo maior de histocompatibilidade de classe 1. Esta interação gera um sinal que inibe a citotoxicidade destas células. No caso de células tumorais, a expressão do complexo de histocompatibilidade é reduzida, o que impede o reconhecimento pelos recetores inibitórios das NKC, levando à ativação dos recetores ativadores e, como consequência, à eliminação da célula-alvo (Wilensky et al., 2015).

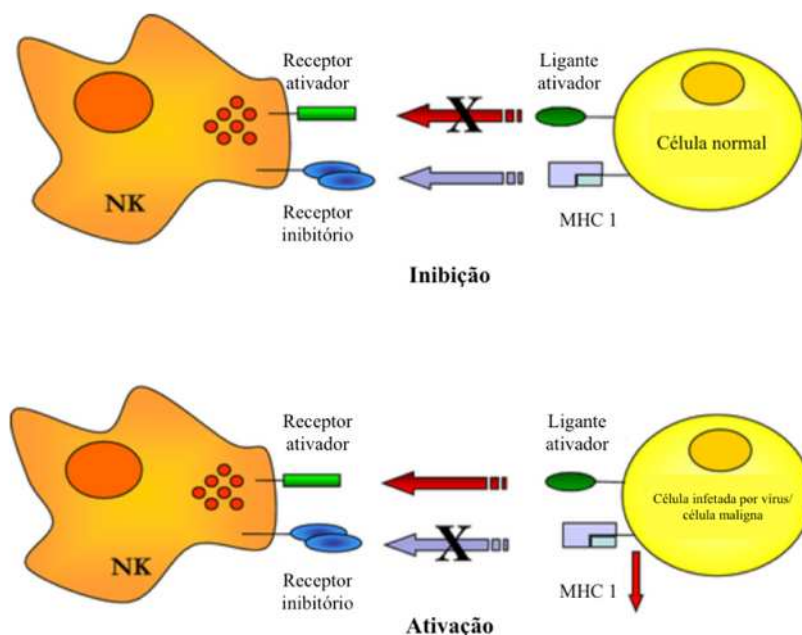


Figura 4- Mecanismo de inibição das células NK por reconhecimento de MHC I em células saudáveis, adaptado de (Wilensky et al., 2015), esta figura foi autorizada para reprodução na presente dissertação pela licença 6020170156500, 01/05/2025

As células dendríticas (DC), provenientes da medula óssea, apresentam na sua superfície vários tipos de recetores. Os TLR, os *Fc receptors* e os recetores do complemento são responsáveis pela absorção dos antígenos. Estas DC, também capazes de secretar citocinas, fazem a ligação entre a imunidade inata e a imunidade adaptativa. De facto, graças à expressão, na sua superfície, das moléculas do complexo maior de histocompatibilidade de classe 2, são capazes de apresentar os antígenos absorvidos à sua superfície e, assim, ativar as células da imunidade adaptativa, os linfócitos B e T (Xu et al., 2021).

Quando a imunidade inata não é suficiente, a imunidade adaptativa assume o controlo. Esta imunidade é regulada pelos linfócitos T e B. Os linfócitos T têm origem na medula óssea e tornam-se maduros no timo. Podem expressar na sua superfície dois marcadores específicos, *CD4* ou *CD8*. São responsáveis pela síntese de citocinas pró-inflamatórias (Xu et al., 2021). Estão envolvidos nos processos de osteoclastogénese, através da modificação da relação RANKL/OPG (Luis Muñoz-Carrillo et al., 2020).

Os linfócitos B, por sua vez, são produzidos e tornam-se maduros na medula óssea. A sua principal função é diferenciar-se em plasmócitos e produzir anticorpos (Xu et al., 2021).

1.1.2 A matriz extracelular

A matriz extracelular contribui para a resiliência do dente, conferindo-lhe uma certa mobilidade e capacidade de adaptação ao stress oclusal, graças aos seus constituintes colagénicos e não colagénicos. O colagénio é o principal componente da fração colagénica, enquanto a fração não colagénica é essencialmente constituída por proteoglicanos e glicoproteínas (Dangaria et al., 2009).

1.1.2.1 Constituintes fibrosos

O ligamento periodontal é composto por diferentes fibras (colagénio, reticulina, elásticas, oxitalânicas) produzidas pelos fibroblastos, que asseguram a resistência mecânica às forças de tensão e compressão exercidas sobre os tecidos, graças à sua organização e orientação (Ahuja et al., 2012).

1.1.2.1.1 O colagénio

O colagénio é o principal componente fibroso do ligamento periodontal. Entre estas fibras, o colagénio do tipo I é o mais abundante, representando 75% das mesmas, seguido do colagénio tipo III, a reticulina (20%), e do tipo V (5%). Existem também outros tipos de colagénio, mas em quantidades menores (IV, VI, XII, XIV) (Kaku & Yamauchi, 2014).

Cada fibra de colagénio é composta por três cadeias polipeptídicas dispostas em hélice tripla, com um diâmetro entre 45 e 55 nm. Apresenta uma estriação periódica de 64 nm, denominada *crimping*, correspondente a bandas escuras (Figura 5). Estas cadeias contêm todas 1 056 aminoácidos e possuem um motivo repetitivo glicina-x-y (onde x corresponde geralmente a uma prolina e y a uma hidroxiprolina) (Aghanashini et al., 2021).

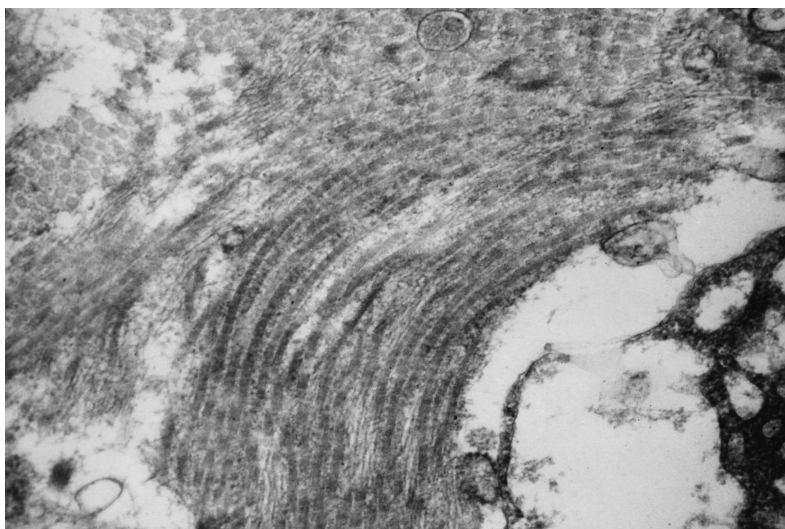


Figura 5- Imagem ao microscópio eletrônico de transmissão do ligamento periodontal. Observam-se as fibras de colagénio apresentando a sua estriação característica (*crimping*). *Imagem cedida pela Professora Maria Alzira Cavacas*

A síntese do colagénio tem início no retículo endoplasmático rugoso, onde os ribossomas produzem o procolagénio, que sofre modificações co- e pós-traducionais. Durante o alongamento da cadeia, os resíduos de prolina e lisina são hidroxilados por hidroxilases, uma reação dependente da presença de ácido ascórbico, essencial para a estabilidade da hélice tripla. Posteriormente, o procolagénio é glicosilado pela hidroxilil galactosiltransferase e pela galactosil hidroxilil glucosiltransferase. A associação de três propeptídeos leva à formação da hélice tripla, que é transportada para o aparelho de Golgi, onde sofre a ação das endopeptidases, tornando-se em tropocolagénio. Este último

agrupa-se em fibrilas de colagénio, que posteriormente se organizam em fibras de colagénio, fundamentais para a resistência à tração e o suporte dos tecidos (Aghanashini et al., 2021).

O colagénio apresenta uma elevada taxa de renovação, entre 3 e 23 dias, com um equilíbrio entre degradação e síntese. Enzimas como a colagenase e as MMPs, secretadas pelos fibroblastos, neutrófilos polimorfonucleares (PMNs) e macrófagos, degradam o colagénio extracelularmente, enquanto os fibroblastos, por fagocitose, degradam o colagénio intracelularmente sem a participação das MMPs (Ahuja et al., 2012).

Devido à sua conformação em hélice tripla, as fibras de colagénio são resistentes à ação proteolítica. São necessárias duas MMPs no mesmo local para clivar a hélice, levando à formação de dois fragmentos de colagénio. As metaloproteinases contêm zinco, essencial para a sua estabilidade. Uma vez realizada esta primeira clivagem, a fibra perde rapidamente a sua conformação em hélice tripla, tornando-se uma molécula desnaturada e exposta à ação de proteases menos específicas. As metaloproteinases, por sua vez, atuam sobre diferentes tipos de colagénio, dependendo da sua especificidade. As colagenases intersticiais degradam os colagénios tipo I, II e III. As gelatinases atuam sobre os colagénios tipo IV desnaturado não helicoidal e sobre os telopéptidos V, VII e XI. Por fim, as stromelisinatasacam as ligações cruzadas do colagénio tipo IV, o colagénio tipo IX e os propeptídeos do colagénio tipo I, II e III (Ahuja et al., 2012).

A degradação é um mecanismo regulado. Um dos primeiros mecanismos de controlo é a existência de inibidores das metaloproteinases, os TIMP. Estes TIMP formam um complexo não covalente com as MMPs, impedindo-as de degradar o colagénio. Os glicocorticoides e os retinoides aumentam a produção de TIMP e inibem as MMPs, enquanto as citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, TNF, PDGF e TGF- β , as aumentam (Ahuja et al., 2012).

No entanto, em condições patológicas de inflamação crónica, como na periodontite, ocorre um aumento das colagenases, levando à destruição periodontal (Aghanashini et al., 2021).

Estas fibras formam uma rede que confere resistência e ancoragem aos dentes durante a mastigação, a fonação e a aplicação de diferentes forças mecânicas na cavidade oral (Shaikh, 2023).

As fibras de colagénio unem o cemento do dente ao osso alveolar, e a sua orientação e disposição definem as suas propriedades mecânicas. Essas fibras são classificadas de acordo com sua orientação e inserção (Figura 6A e 6B) em (Dean, 2017):

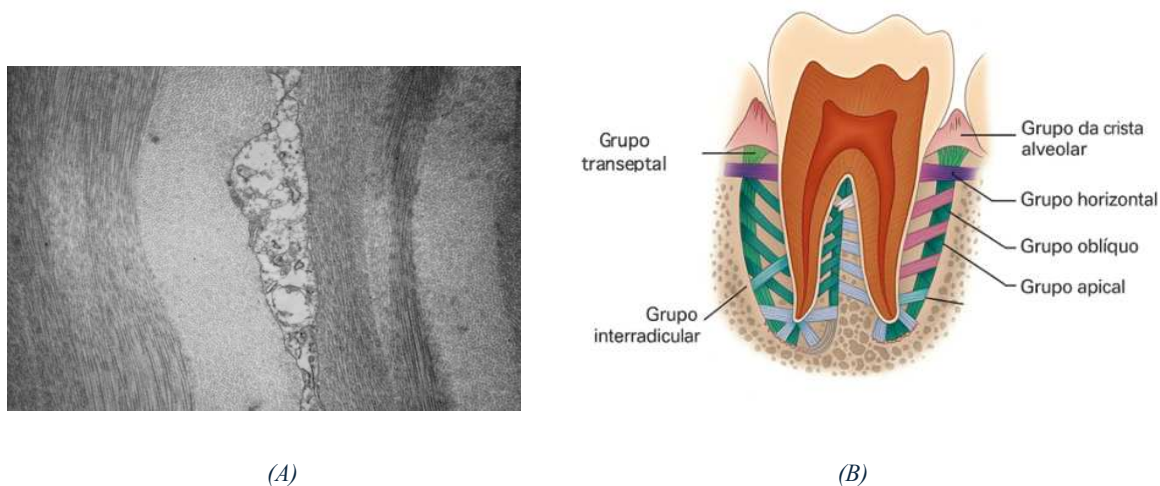


Figura 6- (A) Imagem ao microscópio eletrónico de transmissão do ligamento periodontal, representando as diferentes orientações das fibras de colagénio. Imagem cedida pela Professora Maria Alzira Cavacas (B) A orientação das diferentes fibras de colagénio, criada com a inteligência artificial (Open AI)

- As fibras oblíquas são as mais abundantes e ligam o cemento ao osso alveolar numa direção coronal. Resistem às forças verticais e intrusivas e transferem-nas para o osso alveolar (Dean, 2017).
- As fibras apicais estão orientadas na direção do ápice do dente e proporcionam resistência às forças que deslocam os dentes (Shaikh, 2023).
- As fibras horizontais estão orientadas perpendicularmente ao longo eixo do dente, do cemento ao osso alveolar, permitindo resistir às forças laterais (Dean, 2017; Shaikh, 2023).
- As fibras da crista alveolar ligam o cemento, abaixo do epitélio juncional, à crista alveolar, evitando a extrusão dos dentes e resistindo às forças laterais (Dean, 2017).

Também existem fibras que não estão ligadas ao osso alveolar, como:

- As fibras interradiculares, presentes em dentes multirradiculares, ao nível das furcações (Dean, 2017).
- As fibras dentogengivais, que partem do cimento do dente e inserem-se na gengiva livre e aderida (Dean, 2017).
- As fibras circunferenciais, que rodeiam o colo do dente e inserem-se na gengiva marginal (Dean, 2017).
- As fibras transeptais, que unem os cimentos de dois dentes adjacentes, passando acima do septo interdental (Dean, 2017).

Quando o ligamento é submetido a cargas oclusais com um aumento da função, a sua espessura pode aumentar até 50%, com as fibras principais a tornarem-se mais espessas (Nanci, 2017).

Se as fibras de colagénio constituem o principal elemento do ligamento periodontal, outras fibras desempenham um papel fundamental na elasticidade e adaptação do ligamento.

1.1.2.1.2 As fibras oxitalânicas

A resistência e a capacidade de deformação do ligamento periodontal face às tensões resultam das suas propriedades mecânicas, que decorrem da organização dos seus constituintes. Tal como o colagénio, as fibras oxitalânicas desempenham um papel central no ligamento periodontal (Strydom et al., 2012).

As fibras descritas pela primeira vez por Fullmer (1958) são semelhantes às fibras pré-elásticas, mas, ao contrário das fibras elaunínicas, não contêm elastina (Figura 7). As fibras oxitalânicas, cujo nome deriva da sua resistência ao ácido, correspondem a microfibrilas compostas por fibrilinas, uma glicoproteína rica em cisteína, sintetizada pelos fibroblastos (Strydom et al., 2012).

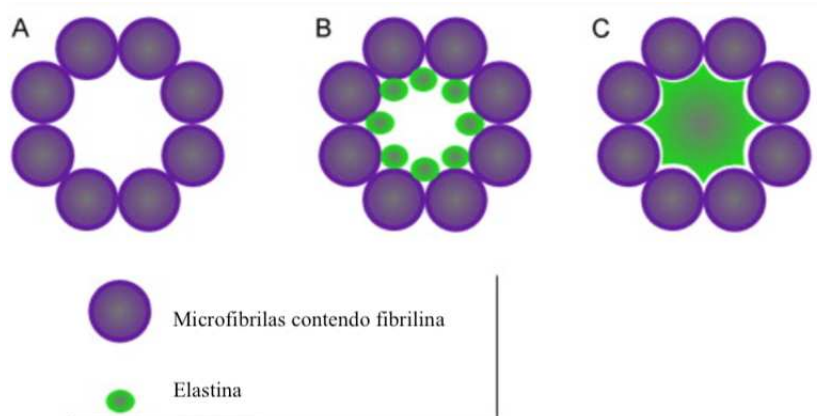


Figura 7- Representação esquemática de secções transversais ilustrando as diferenças entre as fibras do sistema elástico. Microfibrilas contendo fibrilina (roxo) e um núcleo de elastina (verde). (A) Fibra oxitalânica; (B) fibra elaunínica; e (C) fibra elástica, adaptado de (Strydom et al., 2012), esta figura foi autorizada para reprodução na presente dissertação pela licença 6020830146102, 02/05/2025

As fibras oxitalânicas são, portanto, microfibrilas puras, compostas por três isoformas de fibrilinas que estão ligadas entre si por ligações transglutaminases (Tsuruga et al., 2009). As três isoformas contêm um motivo Arg-Gly-Asp em diferentes domínios proteicos extracelulares. O motivo presente no quarto domínio proteico da isoforma 1 permite a adesão dos fibroblastos às microfibrilas, sugerindo um papel na mecanotransdução (Strydom et al., 2012).

Formam uma rede organizada verticalmente em torno do ápice do dente, com algumas fibras que se estendem da junção dentino-cementária até aos vasos adjacentes das paredes alveolares (Tsuruga et al., 2009). O arranjo destas fibras varia conforme a sua posição. Na região supra-alveolar, as fibras originam-se do cimento acelular e estendem-se para o espaço interdental, podendo conectar-se potencialmente com o dente adjacente. Nos dois terços oclusais do dente, também emergem do cimento acelular, mas dirigem-se apicalmente para os vasos sanguíneos do ligamento e da parede alveolar. No terço apical, as fibras oxitalânicas emergem do cimento celular e formam uma rede complexa dentro do ligamento. Estas fibras atravessam o cimento e orientam-se apicalmente, cruzando as fibras de colagénio e ligando-se aos vasos sanguíneos (Strydom et al., 2012).

As fibras oxitalânicas estão, assim, relacionadas com os vasos sanguíneos e linfáticos do ligamento periodontal e ajudam na sua estabilização (Edmunds et al., 1979). Contribuem para a sua manutenção e para o controlo do fluxo vascular. De facto, estas fibras parecem

atuar como recetores sensíveis ao estiramento, regulando o fluxo através de mecanismos mecanoelétricos (Strydom et al., 2012).

Estas fibras são, portanto, mecanossensíveis e reagem ao alongamento. Durante o alongamento, os fibroblastos reorganizam-se. As integrinas, através dos seus recetores, ligam a fibrilina-1 das fibras oxitalânicas ao motivo Arg-Gly-Asp dos fibroblastos, através das suas subunidades αv e $\beta 3$, influenciando subsequentemente um novo arranjo dos fibroblastos. A fibulina-5, uma glicoproteína de 55 kDa que também contém um motivo Arg-Gly-Asp, permite a interação entre as integrinas e a fibrilina-1. Desempenha um papel na formação e agregação das microfibrilas oxitalânicas, que, sob stress mecânico, sofrem um rearranjo (Tamaoki et al., 2016).

Além disso, o estudo de Tamaoki et al. (2016) demonstrou que, independentemente das condições mecânicas, o ângulo entre os fibroblastos e as fibras oxitalânicas mantém-se em torno dos 70° (Tamaoki et al., 2016). Assim, a reorganização dos fibroblastos e das fibras oxitalânicas, mantendo este ângulo, parece ser um mecanismo de adaptação do ligamento periodontal às forças exercidas sobre os dentes (Tamaoki et al., 2016).

Por fim, a estimulação mecânica parece aumentar o número e o comprimento das fibras oxitalânicas sem alterar a sua espessura. Durante os movimentos ortodônticos, observa-se um aumento na síntese de fibrilinas 1 e 2, sugerindo que estas fibras desempenham um papel na mecanotransdução, induzindo a produção de moléculas de sinalização necessárias para a remodelação dos tecidos (Strydom et al., 2012).

1.1.2.2 A substância fundamental

As fibras do ligamento periodontal encontram-se imersas num material amorfo, a substância fundamental. Esta é composta por 70% de água, glicosaminoglicanos, glicoproteínas e glicolípidos (Nanci, 2017).

Os componentes fibrosos do ligamento periodontal são responsáveis pelo seu comportamento em tração, enquanto os componentes não fibrosos, como os proteoglicanos e glicoproteínas, garantem a resposta viscoelástica quando o ligamento está sujeito a forças de compressão. Juntos, regulam a função celular (Arai et al., 2024).

Os proteoglicanos, constituídos por um núcleo proteico ligado a glicosaminoglicanos (Bartold, 1987), contribuem para a manutenção da estrutura da MEC e protegem contra cargas mecânicas excessivas (Denes et al., 2020). Esta proteção e manutenção da integridade estrutural ocorrem devido à interação com as fibras de colagénio, conferindo propriedades de memória de forma. Quando submetidos a uma força, atuam como amortecedores, permitindo que o tecido recupere a sua forma e tamanho após a remoção da carga (Kurylo et al., 2016).

Ao nível do ligamento periodontal humano, os pequenos proteoglicanos ricos em leucina (SLRP) são os mais abundantes (Kurylo et al., 2016). Entre os SLRP, os mais conhecidos são a decorina, os biglicanos, o luminicano, o queratocano e a fibromodulina. São caracterizados por um núcleo proteico com um peso entre 36 e 77 kDa e por repetições de domínios ricos em leucina (LRR) (Gesteira et al., 2023). Associam-se às fibras de colagénio, bem como aos glicosaminoglicanos, que permitem a regulação tecidual, influenciando a fibrilogénese, o espaçamento das fibrilas (Kurylo et al., 2016) e a mineralização, regulando as vias de sinalização e os padrões de expressão dos reguladores da mineralização, tendo assim um impacto nas propriedades mecânicas dos tecidos (Wojtas et al., 2020). Num estudo, Wang et al. (2014) demonstraram que a ausência de biglicano e fibromodulina provoca uma fibrilogénese anómala do colagénio, resultando numa densidade reduzida e numa perda de organização das fibras (L. Wang et al., 2014).

Os glicosaminoglicanos, normalmente ligados aos proteoglicanos, são polissacarídeos constituídos por um açúcar modificado em amina, a N-acetilgalactosamina, e por um ácido urónico, o glucuronato. O sulfato de condroitina, o hialuronano, o sulfato de dermatano e o sulfato de queratano são os glicosaminoglicanos mais comuns, sendo o sulfato de queratano e o hialuronano os principais no ligamento periodontal (Wojtas et al., 2020).

Eles são responsáveis pela adesão e agregação celular, pelo controlo da proliferação e diferenciação celular e também participam na morfogénese do dente (Inubushi et al., 2024). Esta função é assegurada pelos seus locais de ligação aos fatores de crescimento e pelos seus múltiplos domínios funcionais, que regulam as cascatas de sinalização (Chen et al., 2024).

A substância fundamental liga os tecidos e os fluidos, permitindo a difusão de gases e outras substâncias metabólicas. Contribui para a resistência do dente às forças mecânicas e, quando estas são excessivas ou em condições patológicas, observa-se um aumento dos fluidos (Nanci, 2017).

1.2 Morfologia e posicionamento anatômico

O ligamento periodontal localiza-se entre o cemento da raiz e a lâmina dura do osso alveolar. Liga as diferentes estruturas através de fibras.

Encontra-se num espaço em forma de ampulheta, mais estreito ao nível da metade da raiz e mais largo perto do ápice. A sua morfologia altera-se em função da anatomia do dente. Este possui uma espessura de 0,25 mm em condições fisiológicas (entre 0,15 e 0,38 mm), com tendência a diminuir com a idade (Lindhe, 2015; Goldberg et al., 2023).

A morfologia do ligamento periodontal, nomeadamente a sua espessura, não é uniforme e varia consoante a idade, a zona da raiz e também as cargas mecânicas a que está submetido. Um estudo de Komatsu e Chiba (1993) mostrou que a resistência mecânica, assim como a densidade das fibras, é maior ao nível dos molares quando comparados com os incisivos, devido a um arranjo diferente das fibras em função dos dentes (Ispas et al., 2019).

Ao aproximar-se da parte coronária, o ligamento periodontal encontra-se em continuidade com a lâmina própria da gengiva, da qual é separado pelas fibras de colagénio que permitem a ligação entre a crista do osso alveolar e a raiz do dente (Lindhe, 2010).

As fibras de Sharpey permitem o ancoramento do ligamento às diferentes superfícies mineralizadas, o osso alveolar e o cemento do dente (de Jong et al., 2017).

Possuem diferentes orientações, incluindo fibras radiais e circunferenciais, um arranjo que, juntamente com a sua composição, confere as propriedades mecânicas adaptativas do ligamento periodontal (Liu et al., 2024).

As fibras radiais estão em continuidade com as fibras circunferenciais.

As fibras principais de colagénio do ligamento terminam integradas no cimento e no osso alveolar, sendo essas terminações correspondentes às fibras de Sharpey.

2. Como funciona o ligamento periodontal

2.1 O seu papel e importância para a dentição e a saúde periodontal

O ligamento periodontal liga o dente ao osso alveolar. Assim, a sua primeira função é manter o dente dentro do seu alvéolo. No entanto, o seu papel não se limita a isso; pelo contrário, cumpre diversas funções: mecânica (transmissão e absorção de forças), nutritiva, formadora/remodeladora e sensorial. (Javan, 2005; Jiang et al., 2016).

É um tecido ricamente vascularizado que permite a nutrição das diferentes células do periodonto através dos seus vasos sanguíneos, que formam uma rede poliédrica ao redor da raiz do dente. Estes percorrem o ligamento periodontal e também penetram os ossos maxilares. São protegidos, assim como os nervos, pelas fibras elásticas do ligamento. Esta circulação sanguínea fornece os anabolitos e outras substâncias necessárias às células e remove os catabolitos (Javan, 2005; Dean, 2017)

O ligamento ajuda na erupção dos dentes, empurrando-os para fora do alvéolo, sendo também responsável pela sua própria homeostasia. Isso permite-lhe manter a sua espessura quando submetido a diferentes tipos de stress, graças à secreção de moléculas pelas suas células (Saiyed Urvi Rangrej, 2023).

Além disso, desempenha um papel na formação e remodelação das estruturas vizinhas, como o cimento e o osso alveolar, bem como da sua própria estrutura, graças a diferentes tipos de células. Os fibroblastos são responsáveis pela síntese e degradação das fibras de colagénio da matriz extracelular do ligamento, enquanto as células mesenquimatosas indiferenciadas, precursores de cementoblastos e osteoblastos, permitem a formação e reabsorção, respetivamente, do cimento e do osso alveolar.

A remodelação do osso é continuamente estimulada pelas diferentes forças mecânicas transmitidas pelas inserções das fibras do ligamento na sua estrutura (Javan, 2005).

O ligamento periodontal atua como um verdadeiro amortecedor, oferecendo suporte, proteção e uma resposta sensorial. Esta absorção deve-se às propriedades viscoelásticas do ligamento, descritas pela teoria tensional e pela teoria do gel tixotrópico, segundo as quais as fibras principais mudam de orientação quando submetidas a uma força, tornando-se retas, e a matriz passa de um estado viscoso para um estado líquido (Javan, 2005; Saiyed Urvi Rangrej, 2023).

Quando submetido a forças oclusais, o ligamento dissipa essas forças e transmite-as ao osso alveolar, permitindo a mudança de posição do dente no seu alvéolo. Este movimento permanece fisiológico até 0,25 mm, graças à resiliência do periodonto (Ghods et al., 2022; Saiyed Urvi Rangrej, 2023)

Esta adaptação é possível graças a um sistema sensorial desenvolvido, composto por proprioceptores e mecanoreceptores que respondem às diferentes forças aplicadas sobre o ligamento (Dean, 2017).

Esses mecanoreceptores mantêm a saúde periodontal, permitindo uma remodelação ativa dos tecidos, cuja ausência provoca atrofia do periodonto.

O ligamento é responsável pela propriocepção e fornece diferentes informações sensoriais durante a mastigação. Permite determinar a força necessária a ser aplicada em função do tipo de alimento, bem como diferenciar as diferentes texturas. De facto, possui uma inervação especializada que permite a deteção de forças externas durante a mastigação ou a fala, desencadeando reflexos motores que resultam numa resposta neuromuscular traduzida por alterações na contração dos músculos mastigadores.

Num estudo de Lund e Lamarre (1973), foi demonstrado que, após a anestesia do dente, e conseqüente supressão da propriocepção do ligamento, a força aplicada foi reduzida em 40%, destacando a importância do feedback sensorial proporcionado pelo ligamento periodontal (Javan, 2005; Dean, 2017).

Além de regular a força, o ligamento atua como um mecanismo de proteção. Quando o stress é excessivo, desencadeia um reflexo nociceptivo, polissináptico e protetor, que afasta os dentes, evitando o contacto direto.

Os músculos abaixadores da mandíbula contraem-se enquanto os elevadores relaxam, graças à ativação de interneurónios excitatórios e inibitórios do núcleo motor trigeminal, que recebem informações nociceptivas de aferências nervosas dos recetores do ligamento (Javan, 2005).

2.2 Biomecânica: forças aplicadas e adaptabilidade

Uma das principais funções do ligamento periodontal é transmitir as forças oclusais (mastigação, fala, movimentos ortodônticos) ao osso alveolar, garantindo resistência (Saiyed Urvi Rangrej, 2023).

É o principal elemento de absorção de forças, proporcionando suporte e proteção dentro do sistema mastigatório. Para além de transmitir forças, permite a alteração da posição do dente no seu alvéolo e o fornecimento de feedback sensorial durante os ciclos mastigatórios (Ispas et al., 2019).

Essa absorção reduz a magnitude das forças. Quando uma carga é aplicada ao longo do eixo do dente, este desloca-se ligeiramente para baixo, comprimindo-se no alvéolo. As fibras oblíquas do ligamento estendem-se, aumentando o fluxo sanguíneo. Os mecanorreceptores são ativados, desencadeando uma série de alterações celulares, particularmente na matriz extracelular. Os proteoglicanos retêm água e aumentam o fluxo sanguíneo, gerando uma pressão osmótica que se opõe à carga de compressão (Ispas et al., 2019; Zhong et al., 2021).

Há, efetivamente, numerosas respostas celulares desencadeadas pelos sistemas mecano-sensoriais do ligamento. Canais iónicos ligados à adenilato ciclase são ativados, conduzindo à formação de mensageiros secundários e a alterações no citoesqueleto. Os fibroblastos e osteoblastos, que possuem recetores específicos, são responsáveis pela remodelação (Ispas et al., 2019).

As reações biológicas dependem da carga exercida e da homeostasia do tecido. Quando as cargas são excessivas, a homeostasia deixa de existir, resultando em lesões celulares e

teciduais, com o aumento da morte dos fibroblastos e desregulação da remodelação óssea (Mayr et al., 2021).

De facto, de acordo com Koivumaa e Mäkilä (1971), existem dois grandes tipos de forças: fisiológicas e não fisiológicas. Esta última categoria pode ser subdividida em forças patológicas, como o trauma oclusal e o bruxismo, e forças terapêuticas, como as aplicadas na ortodontia. Enquanto as forças fisiológicas são essenciais para a manutenção dos tecidos moles e duros, cuja ausência resultaria na reabsorção óssea e na perda dos tecidos periodontais, as forças patológicas devem ser evitadas, pois levam à rutura da homeostasia e à destruição dos tecidos (Figura 8) (Wang et al., 2024).

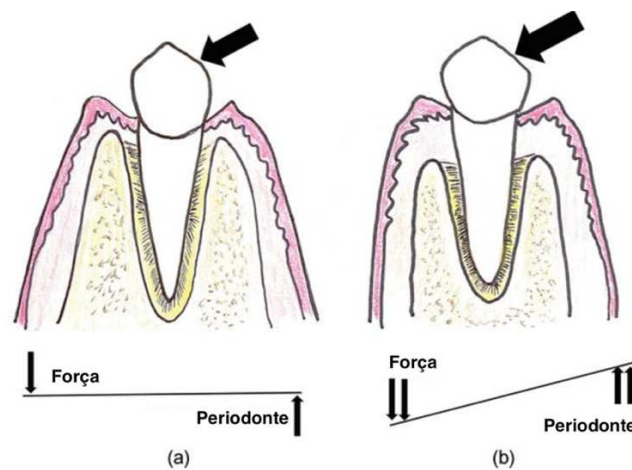


Figura 8- Esquema representando o efeito das forças sobre o periodonto, (a) O periodonto normal pode suportar forças oclusais normais, e (b) forças oclusais excessivas causam danos ao periodonto., adaptado de (Grace Umesh et al., 2023), imagem de acesso livre, sob licença CC BY 4.0

O ligamento periodontal possui vários recetores, incluindo nociceptores e mecanoreceptores. Os nociceptores, associados às fibras nociceptivas A delta (mielinizadas) e C (não mielinizadas), são responsáveis pela deteção de estímulos nocivos. Já os mecanoreceptores funcionam como proprioreceptores, sendo sensíveis à posição dos dentes, às forças e às pressões exercidas sobre eles. Estes recetores atuam como um mecanismo de proteção dos dentes e do ligamento periodontal através de reflexos ativados quando o ligamento é submetido a uma carga anormal. Esse reflexo inibe a atividade dos músculos responsáveis pelo encerramento da mandíbula e favorece a sua abertura, evitando um contacto dentário excessivo (Molina et al., 2022).

As forças aplicadas sobre o dente são transmitidas ao osso através do ligamento, criando zonas de compressão e tensão nas paredes alveolares, provocando a sua deformação. O

osso, ao ser submetido a essas forças, altera a sua morfologia (altura, espessura), sofrendo reabsorção e aposição em conformidade com as forças aplicadas (Ispas et al., 2019).

O ligamento envia informações sensoriais ao sistema nervoso central para manter a homeostasia e reparar os tecidos danificados. Através dos proprioceptores, a informação recebida é transmitida a diferentes centros de controle, nomeadamente ao gânglio trigeminal e ao núcleo mesencefálico, permitindo a modulação da força (controle da força mastigatória e feedback sensorial) (Molina et al., 2022).

Assim, quando uma força é exercida sobre o dente, ela é transmitida ao osso, mas também às fibras de colagénio, com o objetivo de dissipá-la, tal como ocorre com a tensão e a pressão (Molina et al., 2022).

De facto, o ligamento periodontal é uma verdadeira entese, correspondendo a um local de concentração de stress, cujo objetivo é dissipar as forças recebidas. A resposta do ligamento a esse stress envolve mudanças celulares que permitem a sua adaptação, um processo denominado aclimatação. No estudo de Huang et al. (2016), foi demonstrado que, quando o ligamento periodontal é submetido a uma carga mecânica, algumas das suas características são alteradas. O estudo focou-se em duas dessas características: o colagénio e a atividade mitótica. Embora o ligamento periodontal apresente uma baixa taxa de proliferação celular, possui uma notável capacidade de regeneração, graças à presença de células estaminais (Huang et al., 2016).

Durante alterações mecânicas, ocorre um aumento da atividade mitótica no ligamento, acompanhado por uma maior proliferação celular como resposta adaptativa, permitindo a reparação após um trauma. Nessa circunstância, foram observadas mudanças no colagénio. Na ausência de forças significativas, como a mastigação ou os movimentos ortodônticos, o ligamento periodontal permanece um tecido pouco ativo. No entanto, quando submetido a forças, sua atividade aumenta significativamente. Quando o dente entra em oclusão, as fibras de colagénio tornam-se mais espessas e a sua orientação varia em função das forças aplicadas. (Huang et al., 2016)

Durante o seu desenvolvimento, o ligamento periodontal não apresenta uma organização bem definida, possuindo uma matriz extracelular não linear. Com a mastigação e a aplicação de forças, ocorrem alterações na organização do ligamento, resultando num

aumento da atividade mitótica e da densidade celular. A matriz extracelular reorganiza-se com modificações na sua composição, e as fibras de colagénio tornam-se perpendiculares à direção da força aplicada sobre o dente (Zhang et al., 2019).

Estas mudanças são mediadas pela matriz extracelular através das suas proteínas, que atuam como mecanosensores, convertendo sinais biofísicos/mecânicos em sinais bioquímicos. O stress exercido sobre o ligamento leva a um aumento da produção de metaloproteinases extracelulares, especialmente MMP-9 e MMP-2, quando uma força elevada é aplicada aos fibroblastos. Estas metaloproteinases são responsáveis pela degradação do colagénio, permitindo o seu turnover. Paralelamente, proteínas internas regulam a formação e a organização das fibras de colagénio, num processo denominado fibrilogénese. Neste processo, intervêm também proteínas da matriz extracelular, como a periostina e a laminina. A periostina desempenha um papel fundamental na adesão entre as células e a matriz, sendo a sua produção aumentada no ligamento em resposta às forças mecânicas. A periostina liga-se às fibrilas de colagénio tipo I e regula a organização das fibras, conferindo maior resiliência e elasticidade ao ligamento, além de contribuir para a dissipação das forças (Nan et al., 2023).

Para resistir às forças aplicadas, o ligamento periodontal adapta a sua forma, comprimindo-se e distendendo-se nas zonas de tração, enquanto se dobra nas zonas de compressão. As fibras de colagénio, responsáveis pela elasticidade, permitem ao ligamento suportar as forças de tração, enquanto os proteoglicanos, que conferem propriedades viscosas, garantem a sua resistência à compressão. Estas propriedades viscoelásticas possibilitam que o ligamento absorva as forças, armazene energia e a dissipe, num fenómeno conhecido como histerese (Ispas et al., 2019; Najafidoust et al., 2023).

A viscoelasticidade do ligamento periodontal é influenciada por vários fatores, incluindo a temperatura. Um aumento da temperatura afeta mais a viscosidade do que a elasticidade, enquanto uma redução da temperatura favorece um comportamento mais elástico. À temperatura corporal normal (37 °C), a componente viscosa predomina, permitindo ao ligamento amortecer eficazmente as forças. No entanto, a temperaturas mais baixas, o ligamento torna-se mais rígido e a sua capacidade de dissipação de energia reduz-se (Najafidoust et al., 2023).

O sistema neuromuscular desempenha um papel essencial na regulação e no controlo da força de mordida, permitindo assim a proteção dos tecidos periodontais contra eventuais danos. Em média, a força de mordida estática situa-se entre 100 e 1000 Newtons (N), enquanto as forças dinâmicas variam de 3,5 a 350 N, com uma média global em torno de 60 a 100 N. A regulação dessas forças é possibilitada pelas propriedades biomecânicas do ligamento periodontal e do osso alveolar (Pileicikiene & Surna, 2004).

Além disso, nem todos os dentes reagem da mesma forma quando submetidos a uma carga. Os dentes posteriores, como os molares, resistem melhor à compressão do que os dentes anteriores, o que se explica pela maior superfície de ligamento periodontal que os envolve (Pileicikiene & Surna, 2004).

Quando um trauma afeta os tecidos periodontais, particularmente o ligamento periodontal, pode ocorrer uma alteração no feedback proprioceptivo devido à redução dos proprioceptores. Esta diminuição dos sinais sensoriais leva ao desenvolvimento de processos patológicos e a uma perda de controlo eficaz das cargas aplicadas ao sistema mastigatório (Pileicikiene & Surna, 2004).

3. Formação do ligamento periodontal

3.1 Histogénese: a sua formação, origem e desenvolvimento

O ligamento periodontal deriva da região do folículo dentário, que tem origem nas células da crista neural craniana. O folículo dentário corresponde à condensação do tecido ectomesenquimatoso, composto por progenitores celulares mesenquimatosos responsáveis pela formação do dente, do cimento, do osso alveolar e do ligamento periodontal. Ele envolve o germe dentário e dá origem aos osteoblastos, cementoblastos e células do ligamento periodontal, fibroblastos e REM (Dean, 2017; Zhou et al., 2019).

A formação do dente inicia-se com o desenvolvimento da coroa, seguido pelo da raiz, que se origina a partir da bainha epitelial radicular de Hertwig. A falta de estimulação dessa bainha impede a formação do cimento e dos tecidos do ligamento periodontal pelo folículo dentário, e eventuais perturbações podem causar alterações na estrutura do cimento e na orientação das fibras de colagénio. (Zhou et al., 2019)

Quando a coroa está formada, no início da formação da raiz, as células do folículo dentário diferenciam-se em vários tipos celulares: osteoblastos, cementoblastos e fibroblastos do ligamento periodontal. Essas células transformam progressivamente o folículo dentário em ligamento periodontal, começando na junção amelo-cementária e progredindo em direção apical (de Jong et al., 2017; Zhou et al., 2019).

A formação do ligamento periodontal está, portanto, diretamente relacionada com a formação do cimento. De facto, durante o desenvolvimento deste tecido mineralizado (celular e acelular), ocorre uma intensa divisão celular, resultando na expansão das populações celulares responsáveis pela formação das fibrilas de colagénio do ligamento (Lekic & Mcculloch, 1996).

Simultaneamente ao estabelecimento das fibrilas de colagénio, ocorre a diferenciação das células estaminais do ligamento na região do folículo dentário, que se transformam em cimento e osso alveolar, que servirão como pontos de ancoragem para as fibras de colagénio previamente formadas (Wen et al., 2024).

O folículo dentário é composto por duas subpopulações celulares: as células mesenquimatosas do folículo e as células mesenquimatosas perifoliculares. Esta última população, composta por células pequenas, de forma estrelada e distribuídas aleatoriamente, adquire polaridade celular à medida que a formação da raiz avança, sintetizando e depositando fibras de colagénio no ligamento periodontal em desenvolvimento. Essas células apresentam um núcleo eucromático e um pequeno citoplasma contendo cisternas do RER, mitocôndrias, ribossomas livres e um aparelho de Golgi. Com o desenvolvimento da raiz, observa-se um aumento no número do RER, na atividade mitocondrial e na ativação do complexo de Golgi, que anteriormente era inativo. Essas mudanças são responsáveis pela produção e deposição de fibras de colagénio e glicoproteínas (Cho & Garant, 2000; Guo et al., 2022).

O ligamento periodontal está ligado às superfícies mineralizadas do osso alveolar e da raiz do dente através das fibras de Sharpey, essenciais para sua função. A formação dessas fibras é a primeira etapa do desenvolvimento do ligamento e inicia-se concomitantemente à formação do cimento. As fibras de colagénio, produzidas por células fibroblásticas, inserem-se perpendicularmente no cimento do dente e no osso alveolar (Figura 9). Mais especificamente, essas células projetam seus prolongamentos citoplasmáticos na matriz

dentinária não mineralizada e produzem a parte colagénica da matriz do cimento. Os cementoblastos, originários do folículo dentário, formam e mineralizam a matriz do cimento. Esse processo de mineralização estende-se da dentina em direção ao espaço do ligamento periodontal, situado entre a raiz dentária e o osso alveolar, deixando 10 a 20 micrómetros de fibras de colagénio não mineralizadas. Essas terminações não mineralizadas constituem os pontos de ancoragem do ligamento periodontal (Lekic & Mcculloch, 1996; de Jong et al., 2017).



Figura 9- Corto histológico de um germe dentário em desenvolvimento. Observa-se as fibras do ligamento periodontal que se orientam em direção ao cimento e ao osso alveolar. Imagem cedida pela Professora Maria Alzira Cavacas

No osso alveolar, ao contrário do cimento, a mineralização já está concluída quando ocorre a formação das fibras de Sharpey. Essas fibras aderem a zonas não mineralizadas e podem inserir-se em diferentes locais:

- a) diretamente no osteoide não mineralizado, produzido pelos osteoblastos, que posteriormente se calcifica para aprisionar as fibras de Sharpey;
- b) indiretamente nas fibras de colagénio do osteoide;
- c) em áreas de reabsorção óssea pelos osteoclastos.

A mineralização subsequente estabelece uma conexão estável entre o ligamento e o osso, reforçada pela orientação lateral e longitudinal das fibras de colagénio do ligamento em relação às fibras de Sharpey. O número e o tamanho dessas fibras variam conforme a

localização, sendo mais numerosas e finas no cimento em comparação com o osso (de Jong et al., 2017).

A orientação das fibras do ligamento periodontal muda ao longo do desenvolvimento e com a erupção dentária, à medida que ficam submetidas às forças oclusais (figura 10). Inicialmente, essas fibras são paralelas à superfície radicular. Antes da erupção do dente, as fibras de colagénio não apresentam uma organização definida, o que confere ao ligamento uma baixa capacidade de transmissão de forças e um fraco nível de ancoragem. A partir da erupção dentária, com os movimentos do dente dentro do alvéolo, as fibras do ligamento começam a organizar-se. As fibras dento-gengivais alinham-se desde a junção amelo-cementária até a gengiva interproximal, numa direção oclusal. Já as fibras transeptais tomam uma direção oblíqua, inserindo-se na raiz do dente adjacente não erupcionado, mais precisamente na junção amelo-cementária, deslocando-se progressivamente para uma posição mais alta após a erupção do dente vizinho (Popowics et al., 2014; Dean, 2017; de Jong et al., 2017).

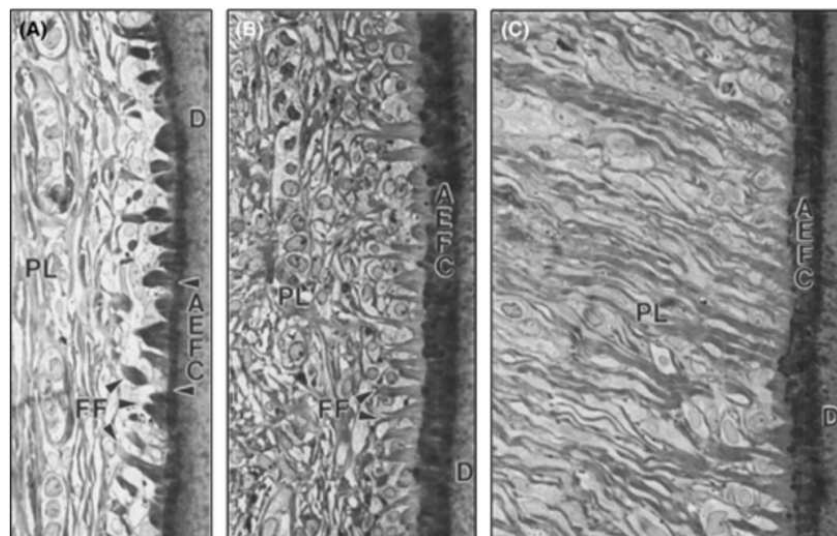


Figura 10- Micrografias mostram a evolução da orientação das fibras do ligamento periodontal humano (PDL) em regiões com predomínio de cimento acelular extrínseco (AEFC). Inicialmente (A), o AEFC tem 5–6 μm e as fibras (FF) estendem-se paralelamente à raiz. Após 5 anos (B), o AEFC atinge 14 μm , com FF ligeiramente mais longas e orientação menos paralela. Em fase funcional (C), com AEFC também de 14 μm , as FF unem-se a fibras do PDL dispostas obliquamente à superfície radicular., adaptado de (de Jong et al., 2017), esta figura foi autorizada para reprodução na presente dissertação pela licença 6023520709315, 07/05/2025

A porção inferior do ligamento periodontal, desde o terço médio até ao ápice, apresenta inicialmente uma organização pouco estruturada. Isto deve-se ao facto de a raiz ainda não estar completamente formada e o ápice do dente permanecer aberto. Por outro lado, o

terço cervical do ligamento desenvolve-se mais rapidamente e adota uma estrutura organizada mais precocemente. No entanto, em todos os níveis, no início do desenvolvimento, não existe continuidade entre as fibras provenientes do cimento e as originárias do osso alveolar. Estas fibras projetam-se para o espaço central do ligamento, mas permanecem separadas por elementos colagénicos (Dean, 2017; de Jong et al., 2017).

Com o estabelecimento do contacto oclusal, as fibras do ligamento periodontal continuam o seu desenvolvimento e organizam-se de forma mais estruturada (Figura 11). No terço cervical, as fibras emergentes do cimento são mais finas do que as provenientes do osso alveolar e mantêm-se distintas. Apenas no momento da oclusão completa do dente é que as fibras se interligam para formar uma rede homogénea, resultando no desaparecimento da zona central, anteriormente bem definida. No entanto, as fibras de Sharpey localizadas ao nível do cimento continuam a ser mais finas, mas em maior número do que as originárias do osso alveolar (de Jong et al., 2017).

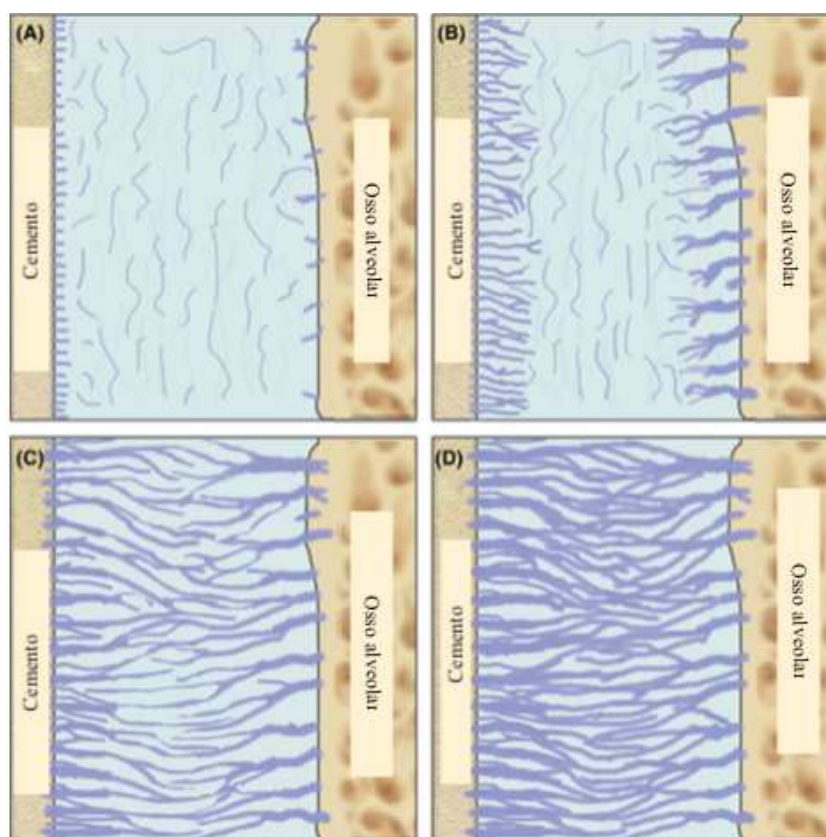


Figura 11- Micrografias mostram a evolução das fibras do ligamento periodontal humano associada ao desenvolvimento do AEFC. (A) Após 2 anos, forma-se uma camada de AEFC de 5–6 μm com fibras paralelas à raiz. (B) Após 5 anos, o AEFC atinge 14 μm , com fibras ligeiramente mais longas e menos paralelas. (C) Numa região mais cervical, o AEFC mantém 14 μm , mas as fibras tornam-se oblíquas, indicando atividade funcional. (D) Corresponde à dentina subjacente, adaptado de (de Jong et al., 2017), esta figura foi autorizada para reprodução na presente dissertação pela licença 5973100233521, 20/02/2025

4. Alterações e regeneração do ligamento periodontal

4.1 Alterações patológicas

4.1.1 Periodontite e o efeito das doenças sistémicas no ligamento periodontal

A periodontite é uma doença inflamatória multifatorial (Ouchi & Nakagawa, 2020) que afeta uma grande parte da população adulta mundial, estimada em cerca de 10% (Luis Muñoz-Carrillo et al., 2020). É influenciada pela resposta imunitária do hospedeiro, bem como por fatores anatómicos (forma e posição do dente, (Bhuyan et al., 2022)) e estruturais (margem subgingival, restauração excessiva, (Bhuyan et al., 2022)) que podem ser modulados pelas características genéticas do indivíduo, pelo seu comportamento e pelo ambiente (Albandar et al., 2018). De facto, uma má higiene oral, o consumo excessivo de tabaco, a diabetes ou o stress, que podem estar associados a um sistema imunitário fraco, predispõem a um maior risco de progressão da periodontite (Bhuyan et al., 2022).

É caracterizada por uma perda de equilíbrio entre a flora subgingival e a resposta imunitária do hospedeiro, podendo levar à destruição dos tecidos de suporte do dente (Huang et al., 2024) devido à incapacidade do sistema imunitário em eliminar a inflamação (Figura 12) (Yin et al., 2022). De facto, o biofilme dentário é considerado o principal fator etiológico da periodontite (Lopes et al., 2025), no entanto, ele não causa diretamente a doença, mas provoca a resposta inflamatória (Delitto et al., 2018). Ocorre uma alteração na população bacteriana, com uma transição das bactérias Gram-positivas para as bactérias Gram-negativas nas bolsas periodontais, acompanhada por um aumento de *Porphyromonas gingivalis*, *Tannarella forsythia*, *Treponema denticola*, *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* e *Fusobacterium nucleatum* (Yin et al., 2022).



Figura 12- Esquema representando os mecanismos da destruição dos tecidos de suporte dentário: Papel do biofilme e da resposta imunológica, criada pela Inteligência artificial (Napkin.ai)

Dois mecanismos de defesa são mobilizados contra estes agentes patogénicos. Primeiro, é ativada a imunidade inata, que se desencadeia rapidamente (em minutos a horas) após a entrada dos microrganismos patogénicos (Marshall et al., 2018). Esta primeira linha de defesa utiliza os recetores TLR que reconhecem os patogénios (R. Wang et al., 2024). Em seguida, a imunidade adaptativa entra em ação (R. Wang et al., 2024). Ao contrário da imunidade inata, ela possui memória imunológica após a apresentação do antígeno (Marshall et al., 2018). Caracteriza-se pela sua capacidade de gerar uma resposta específica através das células imunitárias T e B (R. Wang et al., 2024).

4.1.1.1 A imunidade inata

Confrontado a esta agressão pelas novas colónias de bactérias, o corpo desencadeia uma resposta imunitária que conduz à degradação do periodonto, com perda óssea, perda de inserção e, eventualmente, perda do dente (Lohiya et al., 2023).

A primeira linha de defesa é assegurada pelas células epiteliais que, além de formarem uma barreira mecânica, produzem citocinas na imunidade inata (Delitto et al., 2018).

Nos indivíduos com periodontite, há um aumento dos mediadores pró-inflamatórios, como as interleucinas IL-1, IL-6, e o fator de necrose tumoral TNF- α (Lopes et al., 2025). Esta cascata inflamatória é desencadeada por sinais quimioatraentes, nomeadamente os

lipopolissacáridos (LPS) libertados pelos microrganismos patogénicos (Clark et al., 2022). Estes fatores ligam-se aos domínios de reconhecimento PRR das células imunitárias, como os macrófagos, desencadeando a síntese de moléculas inflamatórias (Figura 13) (Yin et al., 2022).

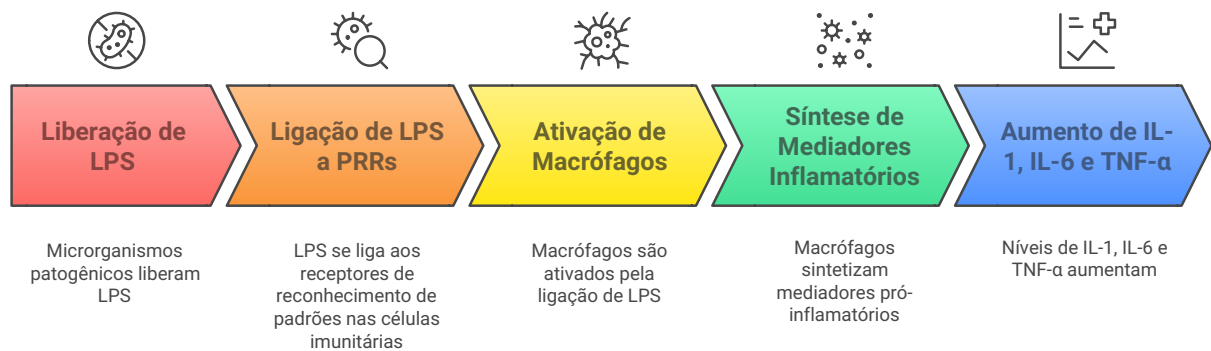


Figura 13- Casacata inflamatória na periodontite, imagem realizada pela Inteligência artificial (*napkin.ai*)

Os padrões moleculares associados aos patogénios (PAMP) e os padrões moleculares associados ao dano (DAMP) dos patogénios são reconhecidos pelas células sentinelas e ligam-se aos PRR, em recetores específicos, principalmente os TLR (Yin et al., 2022). Estes recetores, envolvidos na proteção contra infeções e na homeostasia dos tecidos, participam numa via de sinalização dependente do *Myeloid Differentiation Factor 88* (MyD88) que, nos macrófagos, permite a produção de citocinas e interferões (Delitto et al., 2018).

O MyD88 está, portanto, envolvido nos processos de reabsorção óssea e de degradação da MEC do ligamento periodontal, ao ativar o *nuclear factor kappa-B* (NF- κ B), que desencadeia a produção de citocinas.

As células da imunidade inata, ao detetarem os patogénios através dos TLR, produzem citocinas pró-inflamatórias (Clark et al., 2022) através da ativação do NF- κ B, favorecendo o recrutamento e a ativação de outras células imunitárias (Yin et al., 2022). O NF- κ B é ativado especificamente pelo MyD88 (Banavar et al., 2024). Esta proteína adaptadora, ao ligar-se ao TLR, recruta IRAK4, que por sua vez ativa IRAK1 e 2 para formar o Myddosome. Após a dissociação, o complexo IRAK estimula o TNF Receptor-Associated Factor 6 (TRAF6), que interage com TAK1, bem como com TAB2 e TAB3

(Banavar et al., 2024). TAK1 fosforila $IKK\beta$ e MAPK Kinase Kinase 6 (MKK6). Esta fosforilação ativa o $NF-\kappa B$ e a via das MAPK (Leite et al., 2015). A MAPK ativa a proteína ativadora do fator de transcrição-1 (AP-1). Juntos, $NF-\kappa B$ e AP-1 são responsáveis pela produção de citocinas pró-inflamatórias, como IL-1, IL-6 e $TNF-\alpha$ (Banavar et al., 2024).

Além da via dependente de MyD88, existe a via independente, também chamada de via TRIF-dependente (TIR-domain-containing adapter-inducing interferon beta), responsável pela produção de interferões e citocinas inflamatórias (Figura 14) (Banavar et al., 2024).

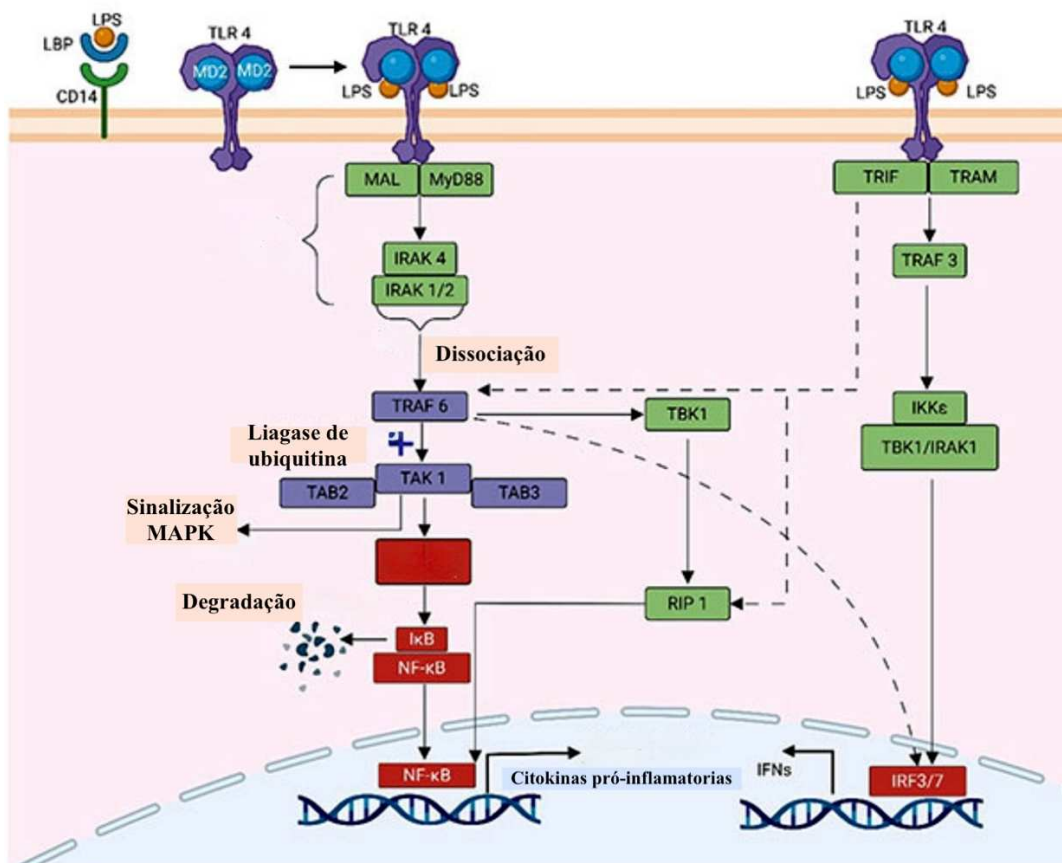


Figura 14- Esquema das vias de ativação do $NF-\kappa B$ dependente e independente de MyD88. A linha pontilhada indica a interação entre ambas as vias, MAL: proteína adaptadora semelhante ao MyD88, TAK: quinase ativada pelo fator de crescimento transformador β , TAB: proteína de ligação ao TAK, IκB: inibidor κB , IKK: quinase de IκB, TBK: quinase de ligação ao TANK, RIP: proteína de interação com o receptor, TRAM: molécula adaptadora relacionada ao TRIF. Criado com BioRender.com, adaptado de (Banavar et al., 2024), imagem de acesso livre, sob licença CC BY 4.0

Quando o quimioatraente se liga ao TLR, nomeadamente os LPS, TRIF e a TRIF-related adapter molecule (TRAM) associam-se (Banavar et al., 2024). Por um lado, TRIF ativa TRAF6, o que leva à ativação da via dependente de MyD88. Por outro lado, TRIF/TRAM recrutam um membro da família TRAF, o TRAF3. Este último interage com IKKe, TBK1 e IRAK1 e, juntos, fosforilam os fatores de transcrição IRF3 e IRF7, responsáveis pela formação dos interferões (Banavar et al., 2024).

Os LPS também se ligam a complexos proteicos intracelulares, os inflamassomas, que estão envolvidos na imunidade inata (Banavar et al., 2024). Estas estruturas contêm *NOD-like receptor* (NLR). Quando os LPS se ligam a estes recetores, uma proteína ASC é recrutada, levando à ativação da caspase-1. Esta caspase é responsável pela produção das citocinas pró-inflamatórias IL-1 β e IL-18 (Banavar et al., 2024).

A produção e a libertação das diferentes citocinas inflamatórias, IL-1, IL-6, IL-8, TNF- α e IFN-gama, provocam a destruição dos tecidos periodontais (Xu et al., 2021).

4.1.1.2 A imunidade adaptativa

Quando a infeção persiste ao longo do tempo, a imunidade inata deixa de ser suficiente para combater sozinha os microrganismos patogénicos. Os diferentes intervenientes desta imunidade participam então no desencadeamento da imunidade adaptativa (Xu et al., 2021).

As citocinas produzidas durante a resposta imunitária inata podem induzir o início da imunidade adaptativa, enquanto células como neutrófilos, macrófagos ou células dendríticas podem atuar como células apresentadoras de antígenos, conduzindo à ativação da imunidade celular (linfócitos T) e humoral (linfócitos B) (Xu et al., 2021). Os linfócitos são então recrutados para os tecidos periodontais, libertando mediadores (imunitários e inflamatórios) que agravam a destruição periodontal (Figura 15) (Luis Muñoz-Carrillo et al., 2020).

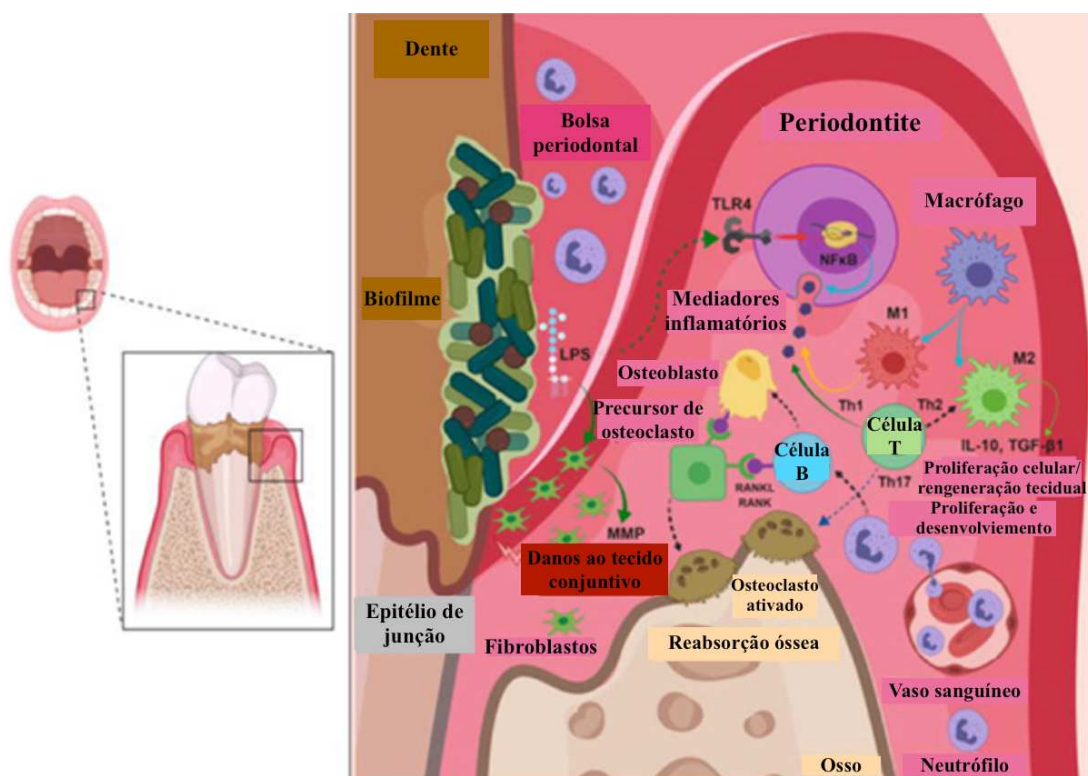


Figura 15- Esquema da resposta imunitária inata e adaptativa durante a doença periodontal, adaptado de (Luis Muñoz-Carrillo et al., 2020), imagem de acesso livre, sob licença CC BY 4.0

A imunidade adaptativa é regulada por dois tipos celulares: os linfócitos B e os linfócitos T.

Na periodontite, observa-se um aumento do número de linfócitos B nos tecidos danificados. Estes produzem anticorpos que se ligam aos antígenos, ativando o complemento e formando o complexo antígeno-anticorpo-complemento. Este complexo, através do complemento, liga-se aos fagócitos, que capturam e destroem os patógenos (Xu et al., 2021). Esta é a resposta humoral. Os linfócitos B também podem atuar como células apresentadoras de antígenos para os linfócitos T (Xu et al., 2021).

Os linfócitos T são responsáveis pela imunidade celular. Eles reconhecem especificamente os antígenos e, uma vez ligados, diferenciam-se. Existem dois grandes tipos de linfócitos T: CD4 e CD8. Dos CD4 derivam os linfócitos T helper (Th) e os linfócitos reguladores (Treg), enquanto dos CD8 derivam os linfócitos citotóxicos (Xu et al., 2021).

A apresentação do antígeno ao Th provoca a sua proliferação e diferenciação (Medara et al., 2021). Ele pode diferenciar-se em Th1, responsável pela secreção de citocinas pró-

inflamatórias que destroem os tecidos periodontais, como TNF- α , IL-2 e IFN-gama, ou em Th2, que produz citocinas anti-inflamatórias, mantendo a homeostasia (Xu et al., 2021). Para além dos Th1, os Th17 libertam outras citocinas, nomeadamente IL-17, e recrutam neutrófilos, além de estimularem os osteoblastos a expressar RANKL, promovendo a maturação e diferenciação dos osteoclastos, levando à destruição óssea (Xu et al., 2021).

O complexo RANKL/Osteoprotegerina (OPG)/RANK regula o metabolismo do osso alveolar. A ligação da OPG ao recetor RANK bloqueia a ligação de RANKL a este recetor, impedindo a ativação dos osteoclastos. Na periodontite, o aumento da relação RANKL/OPG, por competição, recruta osteoclastos e ativa-os, conduzindo à reabsorção óssea (Luis Muñoz-Carrillo et al., 2020).

4.1.1.3 Os efeitos da periodontite no ligamento periodontal

O ligamento periodontal, tal como os outros tecidos do periodonto, sofre alterações na periodontite. Inicialmente, ao nível radiográfico, observa-se um espessamento deste ligamento. De facto, a crista alveolar torna-se menos acentuada, a altura do osso alveolar diminui, com uma possível perda óssea vertical e horizontal, o que provoca bolsas periodontais mais profundas. Este é um sinal clínico precoce para o diagnóstico da periodontite (Mortazavi & Baharvand, 2016). Além disso, as condições inflamatórias da periodontite, com a presença de um infiltrado inflamatório e de um edema, podem também explicar esse espessamento.

Além disso, ocorrem alterações proteicas significativas. Algumas proteínas estão exclusivamente presentes nos tecidos afetados pela periodontite, sendo responsáveis pela inflamação, destruição dos tecidos e ativação de uma resposta ao stress (Lopes et al., 2025). No estudo de Lopes et al. (2025), foi observada um aumento da SerpinB1, do complemento C5 e da galectina-3, bem como de complexos proteicos que incluem a catepsina L e as metaloproteinasas da matriz 9 (Lopes et al., 2025). Este estudo focou-se particularmente nestas proteínas.

A SerpinB1 é uma proteína intracelular inibidora das protéases de serina dos neutrófilos, que permite o controlo da inflamação. O seu nível aumenta nas doenças periodontais,

refletindo uma resposta protetora à inflamação que, no entanto, se revela ineficaz (Lopes et al., 2025). A ativação do complemento C5 e o seu aumento no ligamento periodontal também evidenciam a resposta inflamatória na periodontite.

A Lgals3, por sua vez, é uma molécula multifuncional envolvida na inflamação de diversas patologias, contribuindo para a destruição dos tecidos periodontais ao ativar as MMP9 (Lopes et al., 2025). Quando as MMP se tornam mais numerosas do que os seus inibidores naturais (TIMP), ocorre a destruição dos tecidos. Esta sobreprodução é provocada pelo stress oxidativo e pelos produtos tóxicos libertados pelas bactérias. Estas endopeptidases destroem os componentes da matriz extracelular, incluindo as fibras de colagénio, os proteoglicanos e outras proteínas (Toby Thomas et al., 2024). Como resultado, há uma desorganização do citoesqueleto provocada por estes processos inflamatórios (Lopes et al., 2025).

É também importante destacar o papel dos fibroblastos na periodontite. Em condições normais, estas células garantem a estabilidade e homeostasia da MEC. No entanto, em condições patológicas, perdem a sua funcionalidade e desencadeiam uma cascata de eventos imunoinflamatórios, através da apresentação de múltiplos PRR na sua superfície, incluindo TLR e NOD, conduzindo ao processo clássico da imunidade inata (Huang et al., 2024). Esta degeneração resulta na destruição dos tecidos moles e duros, dificultando a regeneração (Huang et al., 2024).

4.1.1.4 Os efeitos da periodontite a nível sistémico

Para além de reduzir a qualidade de vida dos pacientes e causar danos a nível oral, a periodontite pode estar na origem de problemas de saúde sistémicos (Huang et al., 2024). Foi observada uma associação entre a periodontite e diversas doenças sistémicas (Figura 16), incluindo doenças cardiovasculares, doenças respiratórias, diabetes, certos tipos de cancro e Alzheimer (Bhuyan et al., 2022).

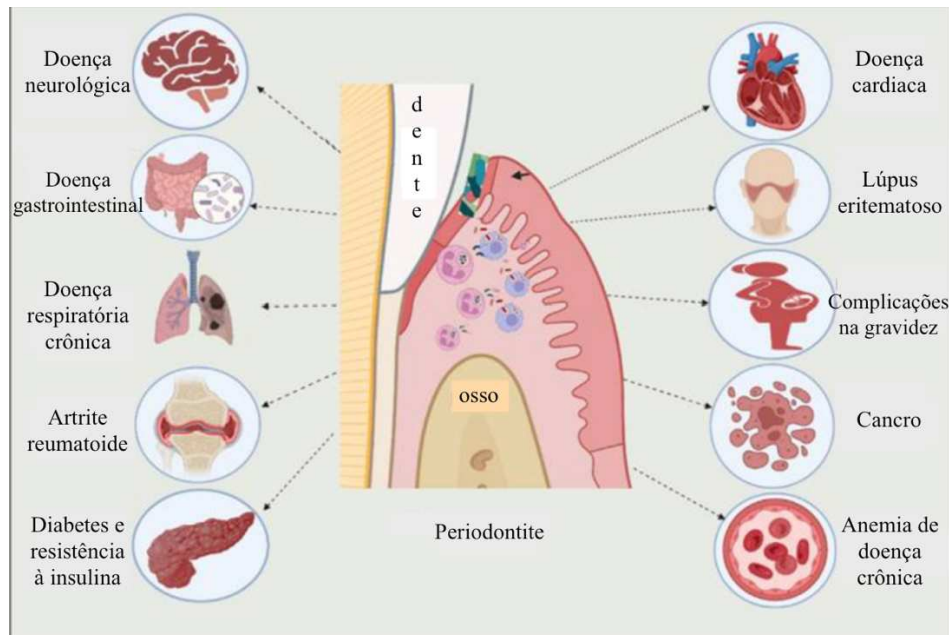


Figura 16- Os efeitos sistêmicos da periodontite, adaptado de (Bhuyan et al., 2022), *imagem de acesso livre*, sob licença CC BY 4.0

Os diferentes patógenos envolvidos na periodontite podem provocar doenças fora da cavidade oral de forma direta ou indireta (Bui et al., 2019). Os mediadores pró-inflamatórios produzidos e secretados durante a resposta imunológica podem direcionar-se para a circulação sistêmica e, assim, atingir outros órgãos (Martínez-García & Hernández-Lemus, 2021), provocando um aumento da inflamação pela libertação de toxinas na circulação sanguínea (Bui et al., 2019).

Assim, a periodontite pode estar associada a várias doenças sistêmicas. Aumenta os riscos de doenças cardiovasculares, como os acidentes vasculares cerebrais ou a arteriosclerose (Martínez-García & Hernández-Lemus, 2021), com um aumento de 2 a 3 vezes o risco de ataque cardíaco (Bhuyan et al., 2022). De facto, esses indivíduos apresentam níveis de proteína C reativa mais elevados do que o normal, assim como um número aumentado de citocinas como TNF- α e IL-6, que são fatores de risco para a aterosclerose (Martínez-García & Hernández-Lemus, 2021). Pode também estar envolvida em doenças degenerativas como a doença de Alzheimer e a doença de Parkinson, provocando uma neuroinflamação. Existe uma relação bidirecional entre estas doenças, uma vez que as doenças degenerativas que causam distúrbios cognitivos afetam a higiene oral dos pacientes e favorecem o desenvolvimento da periodontite (Martínez-García & Hernández-Lemus, 2021). O diabetes, tal como as doenças neurológicas, agrava-se e é agravado pela periodontite (Bhuyan et al., 2022). Há uma alteração no controlo da

glicemia e um aumento das necessidades de insulina (Bui et al., 2019). A hiperglicemia provoca uma diminuição da cascata dos macrófagos e dos neutrófilos, conduzindo a um aumento da inflamação. O sistema respiratório também é afetado, com um possível agravamento das infecções pelas bactérias orais que migram para as vias respiratórias (Martínez-García & Hernández-Lemus, 2021). A osteoporose, os cânceros, as doenças renais e hematológicas são também condições afetadas negativamente pela periodontite (Lohiya et al., 2023).

4.1.2 Outras alterações

4.1.2.1 Traumatismo, luxação, intrusão, concussão

Ao longo da vida de um indivíduo, os dentes e os tecidos circundantes podem sofrer vários traumatismos. Estes podem ser térmicos ou mecânicos. Os mais comuns são as fraturas da coroa e da raiz (com ou sem envolvimento da polpa), as fraturas do osso alveolar, a concussão (lesão sem evidência clínica ou radiológica, mas com dor), a subluxação (mobilidade sem deslocamento do dente), a luxação (extrusiva, intrusiva ou lateral, com deslocamento parcial do dente), a avulsão (deslocamento completo do dente), a abrasão, a contusão ou ainda a laceração (Figura 17) (Grace Umesh et al., 2023).

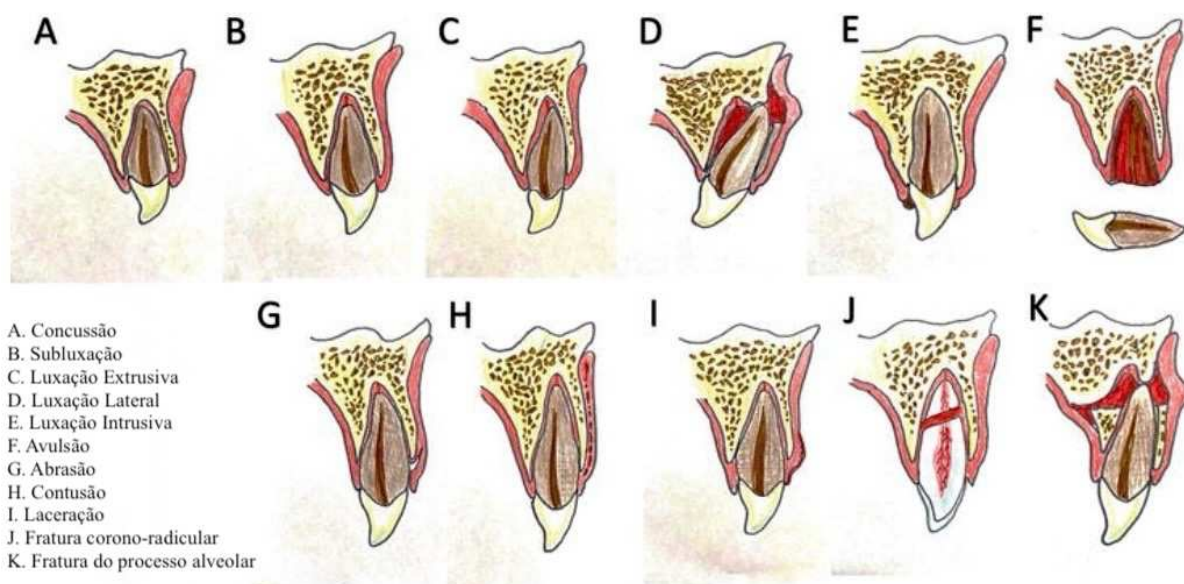


Figura 17- Os traumas do ligamento periodontal, adaptado de (Grace Umesh et al., 2023), imagem de acesso livre, sob licença CC BY 4.0

As forças oclusais traumáticas provocam a perda do suporte periodontal e a modificação dos tecidos que o compõem. O ligamento periodontal sofre, nestas condições, um espessamento com aumento do número e da espessura das suas fibras (Passanezi & Sant'Ana, 2019). Do lado da tensão, as fibras do ligamento periodontal irão sofrer uma alongação (Fan & Caton, 2018), enquanto do lado da compressão, quando a força oclusal é significativa, ocorre uma isquemia provocando a necrose celular, uma trombose e a hialinização do ligamento periodontal. O fluido do ligamento periodontal vai direcionar-se para os espaços medulares, aumentando assim a pressão hidrostática e induzindo a ativação dos osteoclastos, que são responsáveis pela reabsorção óssea (Passanezi & Sant'Ana, 2019).

Quando sujeito a forças em diferentes direções, o ligamento periodontal será esticado e inflamado. Este é o "sprained tooth syndrome" (Passanezi & Sant'Ana, 2019).

4.1.2.2 Alterações com a idade

O envelhecimento caracteriza-se por uma diminuição, ou até perda, progressiva das funções fisiológicas intrínsecas, resultando numa diminuição da densidade das células e das fibras do ligamento periodontal, bem como numa redução da produção da matriz orgânica e da atividade mitótica (Kim et al., 2021). Todos os mecanismos que garantem a homeostasia do periodonto, nomeadamente a divisão celular, o turnover ósseo e a reabsorção com a substituição das fibras de colagénio do ligamento, são alterados pelo envelhecimento (Lim et al., 2014). Esta redução da capacidade proliferativa leva a uma diminuição da cicatrização e da regeneração dos tecidos (Kim et al., 2021).

Com o tempo, o espaço do ligamento periodontal diminui, estreitando-se (Lim et al., 2014), ao contrário das situações traumáticas, onde ele se espessa. Apesar da diminuição da formação óssea e do aumento da sua reabsorção, este espaço torna-se mais estreito. Este fenómeno explica-se pelo espessamento do cemento e principalmente pela atrofia das fibras de colagénio, bem como pela sua desorganização, perdendo em quantidade e qualidade (Lim et al., 2014).

Além disso, o periodonto, composto pelo ligamento periodontal, é também afetado de forma indireta pelo envelhecimento. As defesas imunológicas do hospedeiro ficam enfraquecidas, permitindo a entrada facilitada dos patógenos e uma redução na sua

eliminação, aumentando assim a suscetibilidade a doenças inflamatórias que afetam os diferentes tecidos. Além disso, as células envolvidas na regulação da homeostasia, como os fibroblastos, sofrem uma alteração funcional (Kim et al., 2021). A diminuição da sua densidade traduz-se numa menor resistência do ligamento. Embora não esteja totalmente claro que a redução dos fibroblastos seja a causa exclusiva da diminuição do número de fibras de colagénio, o estudo de Krieger et al. (2013) mostrou que esta redução era um dos fatores que contribui para este fenómeno. A menor quantidade de fibroblastos também atrasa os processos de remodelagem do ligamento (Krieger et al., 2013).

Com a idade, muitas células tornam-se senescentes, muito mais do que nos indivíduos jovens, provocando uma alteração na função dos tecidos e na sua capacidade de reparação, bem como uma alteração na resposta inflamatória. Este é o caso dos linfócitos (Kim et al., 2021).

As células do sistema imunitário sofrem assim modificações no seu funcionamento, conduzindo a uma desregulação de vários mecanismos, incluindo o metabolismo ósseo e o seu remodelamento (Wulandari, 2023). Para além da elevação dos níveis de ARN mensageiro das MMP, também os genes pró-inflamatórios da osteoprotegerina, IL-1β e IL-6 estão elevados. Estes influenciam diretamente a atividade osteoclástica e aceleram o turnover ósseo (Kim et al., 2021). Além disso, a diminuição óssea, nas pessoas idosas, também se explica pela redução da osteogénese e da calcificação devido à diminuição da atividade da fosfatase alcalina das células do ligamento periodontal, bem como pela redução da expressão dos genes osteoblásticos (Kim et al., 2021).

Aumento das MMP contribui, por sua vez, para a degradação e desorganização da MEC, comprometendo assim a sua homeostasia. No entanto, esta matriz desempenha um papel essencial ao apoiar e coordenar as células. Com a idade, a MEC perde flexibilidade e organização, levando a uma alteração, ou até perda, das suas propriedades biomecânicas devido à diminuição de alguns dos seus componentes, como os glicosaminoglicanos e o hialuronano (Kim et al., 2021). Além de deteriorar a MEC, as MMP favorecem a secreção de citocinas pró-inflamatórias que contribuem para a progressão da periodontite (Kim et al., 2021).

As ROS desempenham um papel fundamental no processo de envelhecimento. Embora estejam envolvidas nos mecanismos normais do envelhecimento, também participam nas

condições patológicas (Kim et al., 2021). Essas espécies provocam a oxidação dos componentes intracelulares (ADN, ARN, proteínas, lipídios), causando a perturbação e disfunção das atividades celulares e da homeostasia dos tecidos, levando até à sua morte (Kim et al., 2021). Elas também são responsáveis pela ativação das MMP (Toby Thomas et al., 2024). Assim, induzem a destruição dos componentes da MEC, nomeadamente das fibras de colagénio e também dos proteoglicanos, reduzindo assim a elasticidade do ligamento periodontal

Finalmente, com a idade, a prevalência das doenças aumenta, levando à polimedicação que pode afetar negativamente a proteção dos tecidos periodontais (Kim et al., 2021). Alguns desses medicamentos afetam a secreção salivar, e essa diminuição compromete a capacidade protetora da saliva, tornando assim o indivíduo mais sensível aos patógenos (Kim et al., 2021).

4.2 Terapia regenerativa

As patologias causam, portanto, um custo significativo para o sistema de saúde, nomeadamente as doenças periodontais, com custos diretos e indiretos (158 bilhões em 2018) (Botelho et al., 2022). Assim, a pesquisa e o desenvolvimento de tratamentos regenerativos são relevantes tanto do ponto de vista económico quanto para a melhoria da saúde.

4.2.1 Desafios e questões dos traumatismos periodontais

O periodonto está, portanto, sujeito a muitos traumatismos e patologias, principalmente a periodontite, que leva à perda de tecido conjuntivo e suporte ósseo, conduzindo à perda funcional e dentária (Babo et al., 2017). O objetivo da terapia periodontal é preservar, tanto quanto possível, a dentição natural (Swanson et al., 2022), regenerando todos os tecidos do periodonto, incluindo o osso alveolar, o cemento e o ligamento periodontal (Bousnaki et al., 2022), a fim de manter a função normal dos dentes e garantir a melhor aparência estética (Stavropoulos et al., 2022).

O tratamento das doenças periodontais baseia-se no desbridamento dos locais de lesão, a fim de limitar o desenvolvimento e a progressão da infeção (Babo et al., 2017). A terapia periodontal convencional consiste, inicialmente, numa abordagem não cirúrgica, seguida,

se necessário, de um tratamento cirúrgico para reduzir a profundidade das bolsas periodontais, o sangramento à sondagem e promover o ganho de inserção e tecido ósseo (Stavropoulos et al., 2022). O desbridamento consiste em eliminar o cálculo dentário subgingival, bem como o cimento infetado nas raízes, permitindo o apego das novas fibras formadas no cimento neoformado (Swanson et al., 2022).

No entanto, apesar desses tratamentos, podem permanecer bolsas residuais, principalmente nos dentes com defeitos intraósseos significativos e furcações expostas, aumentando o risco de progressão da doença (Stavropoulos et al., 2022). Conseqüentemente, o periodonto não recupera sua capacidade funcional total (Babo et al., 2017). De facto, a eficácia das curetas é limitada para as bolsas periodontais profundas de mais de 6 mm, justificando, nesse caso, a realização de retalho para a execução de um tratamento cirúrgico (Swanson et al., 2022).

Após a destruição dos tecidos, o espaço formado entre o dente e a gengiva é inicialmente colonizado por células epiteliais diferentes das células periodontais normais (Babo et al., 2017). Essa migração rápida e sua proliferação impedem as células periodontais, como os cementoblastos, osteoblastos e células do ligamento periodontal, de regenerar normalmente o periodonto (Babo et al., 2017). O resultado é a formação de um epitélio gengival que preenche o espaço vazio, correspondendo ao longo epitélio junctional. Embora esse epitélio permita restaurar uma inserção, não preenche todas as funções do ligamento periodontal (Babo et al., 2017).

No entanto, o tratamento convencional permite obter condições clínicas que podem ser mantidas durante décadas (Stavropoulos et al., 2022). No entanto, outras abordagens foram desenvolvidas para resolver os problemas do primeiro tratamento, com o objetivo de se aproximar mais dos tecidos originais.

Novas estratégias terapêuticas foram então implementadas com a terapia regenerativa. Foi em 1982 que Nyman et al. introduziram o conceito de *guided tecdual regeneration* (GTR), uma membrana que impede a invasão do epitélio gengival na bolsa periodontal, promovendo assim a chegada dos osteoblastos e das células-tronco do ligamento periodontal (Sun et al., 2024). Graças a esta técnica, a formação do longo epitélio junctional é evitada, permitindo a regeneração de um periodonto funcional mais próximo de sua estrutura inicial (Babo et al., 2017).

O princípio baseia-se na instalação de uma membrana que forma uma barreira. Existem membranas absorvíveis, sintéticas ou naturais, e membranas não absorvíveis feitas de titânio ou politetrafluoretileno (Sun et al., 2024). Estas últimas, apesar da sua biocompatibilidade e boas propriedades mecânicas, têm a desvantagem de exigirem um procedimento cirúrgico adicional para sua remoção, correndo o risco de infecção e dano nos tecidos periodontais em formação (Sun et al., 2024). Por outro lado, as membranas absorvíveis são naturalmente eliminadas pelo organismo durante o processo de reparação dos tecidos, mas apresentam propriedades mecânicas inferiores às membranas não absorvíveis e uma maior degradação, o que dificulta seu controle (Sun et al., 2024).

Embora essas barreiras ajudem a melhorar a regeneração periodontal, não são capazes de restaurar totalmente a forma e a função dos tecidos periodontais. Novas técnicas estão em crescimento, visando melhorar ainda mais a regeneração periodontal, especialmente através do *tissue engineering* (TE) (Babo et al., 2017).

O objetivo ideal das terapias regenerativas é produzir cimento ao nível da raiz dentária, criar uma inserção oblíqua das fibras do ligamento periodontal no cimento e no osso e, por fim, assegurar um suporte ósseo vital (Swanson et al., 2022).

De facto, o tratamento de traumatismos e doenças inflamatórias dos tecidos periodontais continua a ser um desafio com as terapias atualmente disponíveis, devido à complexidade do periodonto. A terapia celular surge assim como uma alternativa a estes tratamentos (Queiroz et al., 2021)

4.2.2 Engenharia de Tecidos e Terapia Celular para a Regeneração Periodontal

4.2.2.1 Engenharia de Tecidos

A regeneração dos tecidos periodontais representa um processo complexo que requer uma coordenação entre a reparação e a formação de novo osso, cimento e ligamento periodontal (Bousnaki et al., 2022). O TE tem como objetivo reconstruir tridimensionalmente a estrutura dos tecidos periodontais a partir de células cultivadas num ambiente favorável à regeneração e à neogénese tecidular (Swanson et al., 2022).

Trata-se de uma disciplina que combina princípios da engenharia e das ciências da vida, utilizando materiais com arquiteturas definidas, capazes de desencadear estímulos biomecânicos (Babo et al., 2017).

O TE integra medicina clínica, biologia e ciência dos materiais (Sun et al., 2024). Para permitir a regeneração do ligamento periodontal através desta técnica, é necessário dispor de estímulos biológicos que favoreçam a reparação tecidual, mas também a capacidade de promover a estabilidade dos tecidos em formação, de forma a evitar o colapso dos tecidos moles gengivais e impedir a rápida colonização por células gengivais no espaço (Babo et al., 2017). O TE utiliza células estaminais, fatores de crescimento e um material de *scaffold* (Sun et al., 2024).

Numa primeira fase, as células são isoladas e cultivadas *in vitro*, sendo posteriormente incorporadas numa estrutura de *scaffold* que mimetiza a MEC dos tecidos naturais. Este conjunto é então transplantado para o local recetor no paciente (Sun et al., 2024). No entanto, trata-se de uma técnica complexa que apresenta vários desafios.

O primeiro deles prende-se com a dimensão extremamente reduzida do espaço correspondente ao ligamento periodontal, o que dificulta a colocação do dispositivo regenerativo. Além disso, as superfícies mineralizadas do dente e do osso dificultam a ancoragem nestas estruturas e favorecem o avanço da mineralização nesse espaço, caso não seja colocada uma barreira entre o osso e o dente (de Jong et al., 2017).

Por fim, o ligamento periodontal é uma estrutura submetida a cargas mecânicas significativas. Desempenha um papel essencial na receção e distribuição das forças, graças à orientação específica das fibras, que se ajustam de acordo com a magnitude e a direção das forças aplicadas. O desafio consiste, portanto, em alinhar corretamente as fibras do dispositivo regenerativo, assegurando simultaneamente que estas sejam capazes de resistir às forças e possuam capacidade de autorreparação (de Jong et al., 2017).

Assim, a regeneração através do TE baseia-se na combinação de vários elementos-chave. Esta abordagem requer células com capacidade regenerativa, nomeadamente células estaminais; um material de *scaffold* biocompatível, responsável pela organização celular num ambiente tridimensional; e sinais de indução, principalmente fatores de crescimento, que favorecem a diferenciação celular através de estímulos físicos, químicos e mecânicos

(Figura 18). Esta tríade constitui a base do TE e é indispensável para o desenvolvimento de dispositivos regenerativos (Swanson et al., 2022).

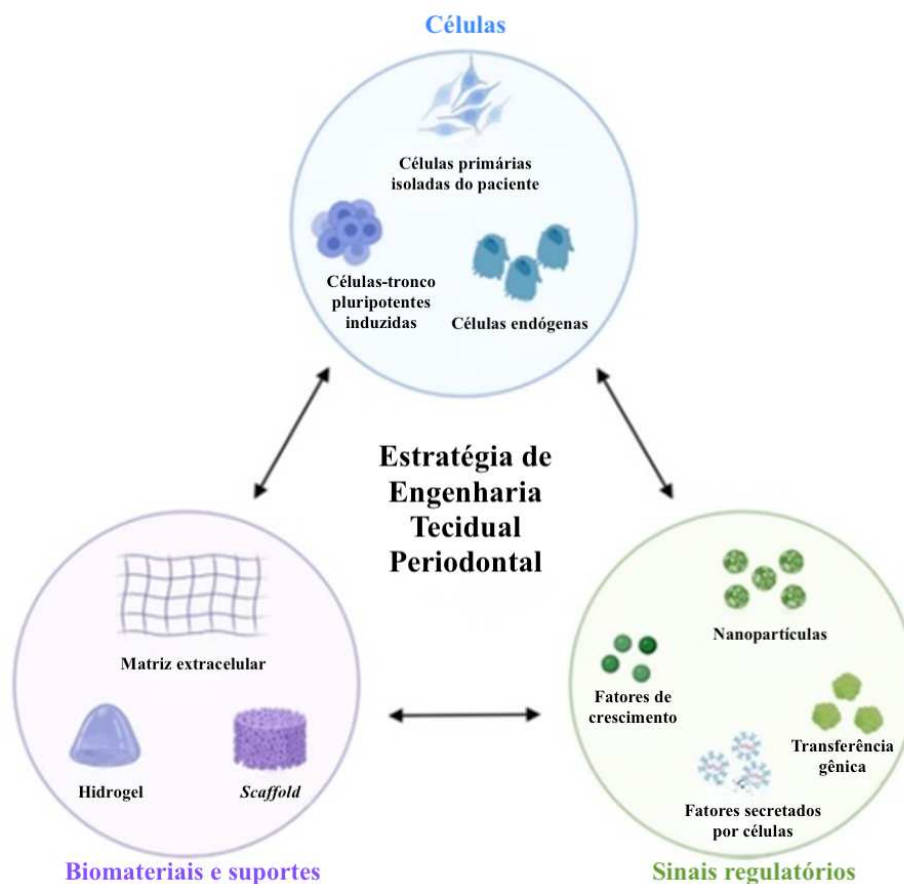


Figura 18- A tríade do Tissue Engineering, figura adaptada de (Swanson et al., 2022), imagem de acesso livre, sob licença CC BY 4.0

4.2.2.2 Elementos-chave do *Tissue Engineering*

4.2.2.2.1 As células

A terapia celular utiliza células estaminais provenientes de diferentes tecidos. São as *Mesenchymal Stem Cells (MSC)*, que possuem a capacidade de se diferenciar em células de várias linhagens, osteogénica, adipogénica e condrogénica, e apresentam também propriedades migratórias e imunomoduladoras sobre outras células (Queiroz et al., 2021).

Estas MSC são definidas como células capazes de secretar fatores tróficos, promover a angiogénese e migrar para os tecidos lesados. Podem ser obtidas tanto de tecidos não odontogénicos como de tecidos odontogénicos (Gao et al., 2024).

Entre as células de origem não odontogénica, as primeiras a serem descritas foram as células derivadas da medula óssea, as *Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells* (BMMSC). Estas caracterizam-se pela sua aderência ao plástico, pela expressão de antígenos de superfície e pela capacidade de se diferenciar em adipócitos, condrócitos e osteoblastos. As MSC podem também ser obtidas a partir de tecido adiposo, de tecidos e do sangue do cordão umbilical, da placenta ou ainda da pele. Entre estas células, as BMMSC e as células estaminais derivadas do tecido adiposo são as mais investigadas (Gao et al., 2024).

No que diz respeito às células estaminais odontogénicas, as primeiras a serem descobertas e caracterizadas foram as *Dental Pulp Stem Cells* (DPSC) (Queiroz et al., 2021). Outras células estaminais odontogénicas podem ser isoladas de dentes decíduos exfoliados, da papila apical, do folículo dentário, da gengiva ou, mais interessante ainda, do ligamento periodontal, as *Periodontal Ligament Stem Cells* (PDLSC). Estas células pertencem ao grupo das *Dental Tissue-Derived Stem/Progenitor Cells* (DSC). As DSC têm a capacidade de se diferenciar em linhagens osteogénica, adipogénica, neurogénica e, em alguns casos, também em linhagens miogénica, condrogénica e odontogénica (Gao et al., 2024).

As PDLSC estão entre as células estaminais mais estudadas nos últimos anos. Para além de apresentarem as características típicas das MSC, como a capacidade de autorrenovação e imunomodulação, são relativamente fáceis de obter (Queiroz et al., 2021). Encontram-se localizadas nos espaços perivasculares do periodonto (Swanson et al., 2022). Estas células expressam à superfície marcadores específicos como o *STRO-1* e *CD146/MUC18*, semelhantes aos das MSC (Babo et al., 2017). Demonstram capacidade de diferenciação em linhagens osteogénica, cementogénica e fibroblástica (Swanson et al., 2022). Muito importantes para a regeneração do ligamento periodontal, contribuem também para a neoformação de fibras semelhantes às fibras de Sharpey (Queiroz et al., 2021). De facto, tal como as BMSC, as PDLSC permitem a regeneração óssea; no entanto, apenas estas últimas têm um impacto real na formação do ligamento periodontal (Swanson et al., 2022). Têm a capacidade de se diferenciar em células semelhantes aos cementoblastos, bem como em células secretoras de colagénio. De uma forma geral, as DSC favorecem mais o desenvolvimento odontogénico do que o osteogénico (Gao et al., 2024).

As PDLSC desempenham também um papel relevante na imunomodulação. Quando expostas aos LPS de bactérias como a *Porphyromonas gingivalis*, estas aumentam a produção de COX-2 e de citocinas pró-inflamatórias como IL-6, e recrutam neutrófilos (através de interações diretas com outras células ou por mecanismos parácrinos), enquanto limitam a proliferação de monócitos, nomeadamente devido à expressão de metabolitos como a *indoleamina 2,3-dioxigenase*. Este metabolito é importante na imunomodulação das doenças inflamatórias (Queiroz et al., 2021).

Embora estas células sejam relativamente fáceis de obter, a sua quantidade pode variar em função de diversos fatores. Nos indivíduos que apresentam perdas dos tecidos periodontais, o seu número encontra-se diminuído (Babo et al., 2017). Além disso, as PDLSC, mesmo estando presentes nos adultos ao longo da vida, veem a sua quantidade diminuir com a idade (Swanson et al., 2022). O envelhecimento, além de afetar a quantidade, provoca também uma diminuição da sua atividade osteogénica, nomeadamente ao nível da expressão dos genes envolvidos na osteogénese (Queiroz et al., 2021). Foi demonstrado que a utilização autóloga de PDLSC de indivíduos com mais de 40 anos apresenta capacidades regenerativas reduzidas. No entanto, existem técnicas para contornar estas limitações. É possível utilizar fatores de crescimento ou biomateriais que favorecem a proliferação e atividade dessas células (Swanson et al., 2022).

Outras fontes de células estaminais, orais e não orais, representam assim uma alternativa às PDLSC (Babo et al., 2017). É possível utilizar células alogénicas, como as células estaminais da gengiva, que apresentam melhor acessibilidade quando o dente não é extraído, bem como uma maior resistência à inflamação comparativamente às PDLSC, mantendo a capacidade de regenerar o cimento, o osso alveolar e o ligamento periodontal (Swanson et al., 2022).

Além disso, as *induced pluripotent stem cells* (iPSC) constituem uma fonte promissora como alternativa às células mesenquimatosas, superando algumas das suas limitações. De facto, as MSC apresentam como desvantagens os procedimentos invasivos de isolamento, locais doadores limitados e uma heterogeneidade celular consoante o doador, a idade e o tecido. As iPSC são derivadas de células somáticas adultas que sofreram reprogramação através da combinação de vários fatores de transcrição. Apresentam uma capacidade de proliferação e diferenciação elevada, que não sofre diminuição com o tempo. O risco associado é o desenvolvimento de tumores, caso algumas células

permaneçam indiferenciadas após a sua transplantação ou se os fatores de reprogramação forem reativados. Para reduzir estes riscos, a diferenciação das células numa linhagem específica pode ser realizada antes da transplantação (Gao et al., 2024).

4.2.2.2.2 Os biomateriais de *scaffold*

As células utilizadas no TE organizam-se num ambiente tridimensional correspondente a um biomaterial de *scaffold* (Swanson et al., 2022). Este imita a MEC, formando uma estrutura de suporte que permite a adesão das células, bem como o seu crescimento e diferenciação (Sun et al., 2024). É também possível introduzir compostos químicos para aumentar a atividade biomédica destes materiais. Assim, alguns podem libertar medicamentos localmente, facilitando a regeneração dos tecidos (Gao et al., 2024).

O *scaffold* ideal deve cumprir vários critérios. Primeiramente, deve ser biocompatível, de forma a evitar a rejeição pelo hospedeiro, e biodegradável, para permitir a sua substituição pelos tecidos recém-formados (Swanson et al., 2022). Outro critério importante é a capacidade do biomaterial em recrutar ou reter células (Queiroz et al., 2021).

Além disso, a sua arquitetura é fundamental. A morfologia e as propriedades mecânicas do biomaterial, juntamente com a orientação das nanofibras, são essenciais para assegurar uma trajetória celular adequada neste microambiente artificial. As nanofibras promovem a adesão celular e aumentam a área de adsorção das proteínas da MEC. Estas estão relacionadas com a porosidade do biomaterial, igualmente importante, pois permite a passagem de células e a troca de nutrientes e resíduos, além de modular a vascularização do complexo (Swanson et al., 2022).

Diversos tipos de materiais são utilizados para fabricar os *scaffolds*, incluindo materiais sintéticos como a *polycaprolactone* (PCL) ou o copolímero *polyactic acid-glycolic acid* (PLGA), bem como materiais naturais como o colagénio (Sun et al., 2024). Cada um destes materiais apresenta propriedades biológicas diferentes. Os biomateriais naturais possuem uma boa biocompatibilidade e baixa imunogenicidade, enquanto os *scaffolds* artificiais como as biocerâmicas (como o *PLGA*) apresentam uma boa estabilidade mecânica (Gao et al., 2024).

Entre os materiais utilizados, o hydrogel revela-se particularmente interessante. Muito semelhante aos tecidos biológicos, apresenta elevada biocompatibilidade devido ao seu alto teor de água, bem como uma resistência significativa, proporcionada pela interconexão física ou química das cadeias poliméricas. Além disso, as suas propriedades podem ser modificadas pela adição de componentes sintéticos, adaptando-se assim às exigências mecânicas e biológicas do tecido a regenerar. É constituído principalmente por polissacarídeos e proteínas (como o ácido hialurónico, chitosan e gelatina), oferecendo uma elevada biocompatibilidade e biodegradabilidade. Contudo, estas substâncias naturais apresentam limitações mecânicas e uma estabilidade reduzida. Para ultrapassar estas limitações, a integração de substâncias sintéticas, os polímeros, como o álcool polivinílico, permite obter hidrogéis mais resistentes, embora com maior citotoxicidade (devido à presença de monómeros não polimerizados). A utilização do hydrogel como material de *scaffold* deve, por isso, respeitar os mesmos critérios que os outros materiais: ser biocompatível (com remoção dos monómeros residuais), biodegradável e poroso, de forma a permitir as trocas de nutrientes, oxigénio e resíduos (Sun et al., 2024).

No estudo de Gao et al. (2024), hidrogéis à base de ácido hialurónico demonstraram estimular a diferenciação de PDLSC em fibroblastos funcionais, restaurando a arquitetura do ligamento periodontal num modelo animal.

Além disso, o periodonto possui uma arquitetura complexa e hierarquizada, com o ligamento periodontal situado entre duas estruturas mineralizadas: o osso alveolar e o cemento. É necessária uma regeneração sincronizada e coordenada para reconstituir todos os elementos do periodonto, o osso, cemento, gengiva e o ligamento periodontal com a orientação correta das suas fibras de colagénio. Com estruturas monofásicas como os hidrogéis, só é possível controlar a regeneração de um único tecido. Para ultrapassar esta limitação, podem utilizar-se *scaffolds* multifásicos que forneçam instruções distintas a vários tecidos, promovendo assim uma regeneração organizada. As estratégias atuais visam restaurar simultaneamente o osso alveolar e o ligamento periodontal, assegurando a orientação fiel das fibras no osso. Baseiam-se numa dupla estrutura: um *scaffold* em PCL ou hidrogéis para a regeneração óssea, e uma mistura PCL/gelatina para o *scaffold* da regeneração do ligamento. Por exemplo, Jiang et al. (2015) utilizaram várias camadas de nanofibras eletrofiadas de PCL/*Polyethylene Glycol* e quitosano para obter fibras de colagénio mais maduras e com angulação semelhante à das fibras naturais. Para incluir a

formação do cimento, recomenda-se um *scaffold* trifásico. Já foram testadas versões de hidrogéis com três camadas enriquecidas em fatores bioativos, cada um destinado a estimular um dos componentes do periodonto, mas estas abordagens ainda carecem de estudos mais aprofundados (Santos et al., 2024).

A evolução das tecnologias faz da impressão 3D uma tecnologia promissora na regeneração dos tecidos periodontais. A *bioimpressão 3D* permite que as células estaminais, incluindo as PDLSC, sejam incorporadas numa *bioink*, possibilitando o seu posicionamento em locais específicos do tecido impresso, imitando assim com maior precisão a estrutura do tecido periodontal (Gao et al., 2024).

Os *scaffolds* hierarquizados representam uma mais-valia, mas ainda precisam de melhorias. De facto, persistem várias lacunas. Em primeiro lugar, no que diz respeito à sua degradação, que deve ocorrer apenas após a maturação dos novos tecidos, sob o risco de prejudicar o crescimento dos tecidos. Além disso, a adição de agentes antibacterianos e anti-inflamatórios permitiria um melhor controlo da inflamação, criando um ambiente mais estável. Outro ponto muito importante, para este tipo de *scaffold*, é que a estimulação mecânica ainda é pouco estudada, embora seja essencial para o restabelecimento das funções dos tecidos periodontais. Por fim, essa técnica mais complexa implica um tempo e custo de fabrico mais elevados (Santos et al., 2024).

É, portanto, essencial seleccionar materiais de *scaffold* adequados para assegurar uma boa adesão celular e um crescimento eficiente. Para melhorar a sua funcionalidade, podem ser adicionados fatores de crescimento responsáveis por desencadear sinais bioativos em fases-chave da regeneração, facilitando a reparação dos tecidos periodontais (Sun et al., 2024).

4.2.2.2.3 Os sinais biológicos e mecânicos

Na tríade do TE, os sinais são, portanto, muito importantes. Além da presença de uma matriz adequada, é necessário controlar corretamente os eventos de formação e desenvolvimento do periodonto tanto espacialmente quanto temporalmente (Babo et al., 2017). Os sinais de indução, principalmente os fatores de crescimento, permitem aumentar a previsibilidade e a especificidade da direção da regeneração (Swanson et al., 2022).

Existem diferentes tipos de fatores de crescimento que desempenham um papel importante na regeneração dos tecidos periodontais e na sua manutenção. Dependendo dos fatores de crescimento, a sua ação não exerce a mesma influência, nomeadamente ao nível das células. De facto, estudos sobre as PDLSC mostraram que estas respondem positivamente a diferentes fatores de crescimento com finalidades distintas. As *Bone Morphogenic Proteins* (BMP) 2 e 7, juntamente com os fatores de crescimento endoteliais vasculares, aumentam as capacidades osteogénicas das PDSC, enquanto os *TGF-β* com os fatores de crescimento do tecido conjuntivo e dos fibroblastos promovem uma melhor diferenciação fibroblástica (Swanson et al., 2022). A associação de vários fatores de crescimento tem, assim, um efeito sinérgico na regulação da regeneração periodontal (Babo et al., 2017).

Estes fatores de crescimento podem ser encontrados nos *Platelet-rich hemoderivatives* (PRHd), além de citocinas e proteínas estruturais, também interessantes para a regeneração, nomeadamente na adesão celular. O PRHd corresponde a um produto sanguíneo que é separado em várias categorias dependendo da sua preparação. Após a centrifugação do sangue, obtêm-se várias camadas induzidas pela separação dos componentes sanguíneos. Existem o *Platelet-Rich Fibrin* (PRF) e o *Platelet-Rich Plasma* (PRP), dos quais deriva o *Plasma rich in Growth Factor* (PRGF) (Babo et al., 2017). O PRGF foi o primeiro material sintético aprovado pela *Food and Drug Administration* (FDA) para tratar defeitos periodontais. Vários estudos clínicos e histológicos realizados em humanos demonstraram o seu efeito com a formação de osso, cimento e do ligamento periodontal após a sua administração (Swanson et al., 2022).

Entre os fatores de crescimento encontrados, os *TGF-β*, os *insulin growth factor-1* (IGF-1), os *endothelial growth factor* (EGF), o *platelet derived growth factor* (PDGF), os *vascular endothelial growth factor* (VEGF) e *fibroblast growth factor* (FGF) são os mais abundantes (Babo et al., 2017). Eles também ajudam a manter as propriedades das células-tronco das PDLSC a longo prazo (Swanson et al., 2022).

Além disso, em condições fisiológicas, as cargas mecânicas desempenham um papel muito importante para o ligamento periodontal. Elas são responsáveis pela manutenção da homeostasia e, em resposta a essas forças, ocorre um rearranjo das fibras de colagénio e mudanças na distribuição do fluido intersticial do ligamento periodontal. Portanto, é muito importante para o TE reproduzir, *in vitro*, essas cargas para orientar a diferenciação

e a orientação das células com diferentes tipos de estimulação mecânica (compressão, alongamento, cisalhamento). De facto, forças compressivas moderadas permitem um remodelamento ativo dos tecidos, enquanto a tensão e o alongamento induzem a diferenciação osteogênica das PDLSC e mantêm a homeostase, além da organização das fibras e dos diversos elementos da MEC com seu remodelamento. Por fim, o efeito de cisalhamento, como a tensão, atua na diferenciação osteogênica das células e no alinhamento das fibras de colagénio do ligamento. No entanto, é necessário controlar as cargas (intensidade e frequência) para evitar que elas provoquem inibição da proliferação e diferenciação das células, induzam osteoclastogênese e a degradação da MEC (Roato et al., 2022).

Assim, os diferentes sinais de indução vão agir em conjunto com os biomateriais para permitir a regeneração dos tecidos periodontais. Eles afetam as células-tronco, permitindo sua migração e diferenciação, favorecendo a morfogênese dos tecidos, sua vascularização, bem como sua reparação. É importante agora obter uma melhor previsibilidade da estabilidade, a longo prazo, dos tecidos periodontais (Swanson et al., 2022).

Embora o TE, com as células-tronco, especialmente as PDLSC, seja promissor, ainda precisa se desenvolver, especialmente por meio da padronização dos protocolos para garantir terapias mais confiáveis e reproduzíveis (Queiroz et al., 2021)

III. Conclusão

O ligamento periodontal, que une duas estruturas mineralizadas, desempenha um papel central na manutenção da estabilidade dentária e da homeostase bucal. Ele garante a fixação do dente ao osso alveolar, bem como a distribuição das forças mecânicas, a regulação da inflamação e a coordenação da remodelação tecidual. O ligamento periodontal apresenta uma estrutura altamente especializada, caracterizada histologicamente por uma diversidade de tipos celulares e componentes fibrilares, além de um padrão de organização singular. Essa complexidade geométrica e de composição do ligamento periodontal determina as suas propriedades biomecânicas.

As alterações do ligamento, especialmente na periodontite, representam um grande desafio terapêutico, tanto do ponto de vista clínico quanto econômico. Embora as técnicas convencionais, como o alisamento radicular, continuem a ser o *gold standard* no tratamento das doenças inflamatórias, os avanços recentes na biologia celular, engenharia tecidual e ciências dos materiais têm impulsionado o desenvolvimento de novas técnicas regenerativas. Trata-se de uma regeneração baseada no uso de células-tronco em combinação com biomateriais e sinais indutores. As PLSC são células que demonstraram uma capacidade de diferenciação, auto-renovação e imunomodulação muito interessante para a regeneração dos tecidos periodontais e, mais especificamente, do ligamento periodontal. No entanto, ainda são necessárias mais pesquisas e aplicações clínicas para uma avaliação mais rigorosa da sua eficácia e segurança.

Assim, o estudo do ligamento periodontal e de seu potencial regenerativo evidencia a importância de uma compreensão global da sua caracterização ultrastrutural e histológica, a partir da qual decorre o seu funcionamento, criando uma base sólida para o desenvolvimento de terapias regenerativas futuras.

IV. Bibliografia

- Aghanashini, S., Mundinamane, D. B., Bhat, D., Nadiger, S., Mallikarjunappa, A. S., & George, S. (2021). Collagen—The Skeleton of the Periodontium: A Review. *Journal of Scientific Dentistry*, *11*(1), 31–36. <https://doi.org/10.5005/jp-journals-10083-0938>
- Ahuja, T., Mittal, M., Jain, M., Dhakray, V., Khanna, P., & Yadav, B. (2012). Role Of Collagen In The Periodontal Ligament-A Review. In *The Internet Journal of Microbiology* (Vol. 10, Issue 1). <https://www.researchgate.net/publication/373217661>
- Albandar, J. M., Susin, C., & Hughes, F. J. (2018). Manifestations of systemic diseases and conditions that affect the periodontal attachment apparatus: Case definitions and diagnostic considerations. *Journal of Periodontology*, *89*(S1). <https://doi.org/10.1002/JPER.16-0480>
- Arai, M., Kaku, M., Thant, L., Kitami, M., Ono, Y., Dobashi, A., Iwama, H., Mizukoshi, M., Kitami, K., Matsumoto, M., Saito, I., & Uoshima, K. (2024). Effect of Sparc knockout on the extracellular matrix of mouse periodontal ligament cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, *692*, 149364. <https://doi.org/10.1016/J.BBRC.2023.149364>
- Babo, P. S., Reis, R. L., & Gomes, M. E. (2017). Periodontal tissue engineering: current strategies and the role of platelet rich hemoderivatives. *Journal of Materials Chemistry B*, *5*(20), 3617–3628. <https://doi.org/10.1039/C7TB00010C>
- Banavar, S. R., Tan, E. L., Davamani, F., & Khoo, S. P. (2024). Periodontitis and lipopolysaccharides: How far have we understood? *Exploration of Immunology*, 129–151. <https://doi.org/10.37349/ei.2024.00133>
- Bartold, P. M. (1987). Proteoglycans of the periodontium: Structure, role and function. *Journal of Periodontal Research*, *22*(6), 431–444. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1987.tb02052.x>
- Beertsen, W., McCulloch, C. A. G., & Sodek, J. (1997). The periodontal ligament: A unique, multifunctional connective tissue. *Periodontology 2000*, *13*(1), 20–40. <https://doi.org/10.1111/J.1600-0757.1997.TB00094.X>
- Bhuyan, R., Bhuyan, S. K., Mohanty, J. N., Das, S., Juliana, N., & Juliana, I. F. (2022). Periodontitis and Its Inflammatory Changes Linked to Various Systemic Diseases: A Review of Its Underlying Mechanisms. *Biomedicines*, *10*(10), 2659. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10102659>

- Botelho, J., Machado, V., Leira, Y., Proença, L., Chambrone, L., & Mendes, J. J. (2022). Economic burden of periodontitis in the United States and Europe: An updated estimation. *Journal of Periodontology*, 93(3), 373–379. <https://doi.org/10.1002/JPER.21-0111>
- Bousnaki, M., Beketova, A., & Kontonasaki, E. (2022). A Review of In Vivo and Clinical Studies Applying Scaffolds and Cell Sheet Technology for Periodontal Ligament Regeneration. *Biomolecules*, 12(3), 435. <https://doi.org/10.3390/biom12030435>
- Bui, F. Q., Almeida-da-Silva, C. L. C., Huynh, B., Trinh, A., Liu, J., Woodward, J., Asadi, H., & Ojcius, D. M. (2019). Association between periodontal pathogens and systemic disease. *Biomedical Journal*, 42(1), 27–35. <https://doi.org/10.1016/j.bj.2018.12.001>
- Chen, J., Sun, T., Lin, B., Wu, B., & Wu, J. (2024). The Essential Role of Proteoglycans and Glycosaminoglycans in Odontogenesis. *Journal of Dental Research*, 103(4), 345–358. <https://doi.org/10.1177/00220345231224228>
- CHO, M., & GARANT, P. R. (2000). Development and general structure of the periodontium. *Periodontology 2000*, 24(1), 9–27. <https://doi.org/10.1034/j.1600-0757.2000.2240102.x>
- Clark, D., Radaic, A., & Kapila, Y. (2022). Cellular Mechanisms of Inflammaging and Periodontal Disease. *Frontiers in Dental Medicine*, 3. <https://doi.org/10.3389/fdmed.2022.844865>
- Connizzo, B. K., Sun, L., Lacin, N., Gendelman, A., Solomonov, I., Sagi, I., Grodzinsky, A. J., & Naveh, G. R. S. (2021). Nonuniformity in Periodontal Ligament: Mechanics and Matrix Composition. *Journal of Dental Research*, 100(2), 179–186. <https://doi.org/10.1177/0022034520962455>
- Cortés-Vieyra, R., Rosales, C., & Uribe-Querol, E. (2016). Neutrophil Functions in Periodontal Homeostasis. *Journal of Immunology Research*, 2016, 1–9. <https://doi.org/10.1155/2016/1396106>
- Dangaria, S. J., Ito, Y., Walker, C., Druzinsky, R., Luan, X., & Diekwisch, T. G. H. (2009). Extracellular matrix-mediated differentiation of periodontal progenitor cells. *Differentiation*, 78(2–3), 79–90. <https://doi.org/10.1016/j.diff.2009.03.005>
- Davis, E. M. (2018). A review of the epithelial cell rests of malassez on the bicentennial of their description. In *Journal of Veterinary Dentistry* (Vol. 35, Issue 4, pp. 290–298). SAGE Publications Ltd. <https://doi.org/10.1177/0898756418811957>

- de Jong, T., Bakker, A. D., Everts, V., & Smit, T. H. (2017). The intricate anatomy of the periodontal ligament and its development: Lessons for periodontal regeneration. *Journal of Periodontal Research*, 52(6), 965–974. <https://doi.org/10.1111/JRE.12477>
- Dean, R. (2017). *The Periodontal Ligament: Development, Anatomy and Function*.
- Delitto, A. E., Rocha, F., Decker, A. M., Amador, B., Sorenson, H. L., & Wallet, S. M. (2018). MyD88-mediated innate sensing by oral epithelial cells controls periodontal inflammation. *Archives of Oral Biology*, 87, 125–130. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2017.12.016>
- Denes, B. J., Ait-Lounis, A., Wehrle-Haller, B., & Kiliaridis, S. (2020). Core Matrisome Protein Signature During Periodontal Ligament Maturation From Pre-occlusal Eruption to Occlusal Function. *Frontiers in Physiology*, 11. <https://doi.org/10.3389/fphys.2020.00174>
- Edmunds, R. S., Simmons, T. A., Cox, C. F., & Avery, J. K. (1979). Ught and ultrastructural relationship between oxytalan fibers in the periodontal ligament of the guinea pig. In *al of Oral Pathology* (Vol. 8).
- Fan, J., & Caton, J. G. (2018). Occlusal trauma and excessive occlusal forces: Narrative review, case definitions, and diagnostic considerations. *Journal of Periodontology*, 89(S1). <https://doi.org/10.1002/JPER.16-0581>
- Gao, P., Kajiya, M., Motoike, S., Ikeya, M., & Yang, J. (2024). Application of mesenchymal stem/stromal cells in periodontal regeneration: Opportunities and challenges. *Japanese Dental Science Review*, 60, 95–108. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2024.01.001>
- Gesteira, T. F., Verma, S., & Coulson-Thomas, V. J. (2023). Small leucine rich proteoglycans: Biology, function and their therapeutic potential in the ocular surface. *The Ocular Surface*, 29, 521–536. <https://doi.org/10.1016/j.jtos.2023.06.013>
- Ghods, K., Alaei, A., Jafari, A., & Rahimi, A. (2022). Common Etiologies of Generalized Tooth Mobility: A Review of Literature. *Journal of Research in Dental and Maxillofacial Sciences*, 7(4), 249–259. <https://doi.org/10.52547/JRDMS.7.4.249>
- Goldberg, M., Arana-Chavez, V., & Zhi, C. (2023). The Periodontal Ligament, Link Between the Root and Alveolar Bone. In *Review Article Manuscript Scientific Services Journal of Oral Health and Dentistry Research*. JOHDR. <https://manuscriptscientific.com/images/08944ff8c3835d690d0cb77408cc6018.pdf>
- Grace Umesh, S., Ramachandran, L., Karthikeyan, J., & M. Shankar, S. (2023). *Trauma and the Periodontal Tissues: A Narrative Review*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.108202>

- Guder, C., Gravius, S., Burger, C., Wirtz, D. C., & Schildberg, F. A. (2020). Osteoimmunology: A Current Update of the Interplay Between Bone and the Immune System. *Frontiers in Immunology*, *11*. <https://doi.org/10.3389/fimmu.2020.00058>
- Guo, H., Bai, X., Wang, X., Qiang, J., Sha, T., Shi, Y., Zheng, K., Yang, Z., & Shi, C. (2022). Development and regeneration of periodontal supporting tissues. *Genesis*, *60*(8–9). <https://doi.org/10.1002/dvg.23491>
- Henry JP, B. B. (2023). Histology, Osteoblasts. *StatPearls*.
- Huang, L., Liu, B., Cha, J. Y., Yuan, G., Kelly, M., Singh, G., Hyman, S., Brunski, J. B., Li, J., & Helms, J. A. (2016). Mechanoresponsive Properties of the Periodontal Ligament. *Journal of Dental Research*, *95*(4), 467–475. <https://doi.org/10.1177/0022034515626102>
- Huang, Y., Tang, Y., Zhang, R., Wu, X., Yan, L., Chen, X., Wu, Q., Chen, Y., Lv, Y., & Su, Y. (2024). Role of periodontal ligament fibroblasts in periodontitis: pathological mechanisms and therapeutic potential. In *Journal of Translational Medicine* (Vol. 22, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s12967-024-05944-8>
- Inubushi, T., Nag, P., Sasaki, J.-I., Shiraishi, Y., & Yamashiro, T. (2024). The significant role of glycosaminoglycans in tooth development. *Glycobiology*, *34*(5). <https://doi.org/10.1093/glycob/cwae024>
- Islam, S. T., Kurashige, Y., Minowa, E., Yoshida, K., Paudel, D., Uehara, O., Okada, Y., Bolortsetseg, D., Sakakibara, S., Abiko, Y., & Saitoh, M. (2022). Analysis of the cells isolated from epithelial cell rests of Malassez through single-cell limiting dilution. *Scientific Reports*, *12*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-021-04091-0>
- Ispas, A., Craciun, A., Kui, A., Lascu, L., & Constantiniuc, M. (2019). *Occlusal forces and their transmission to the periodontium*. <http://www.hvm.bioflux.com.ro/>
- Javan, S. P. R. V. A. (2005). *Periodontia: A atuação clínica baseada em evidências científicas*.
- Jiang, N., Guo, W., Chen, M., Zheng, Y., Zhou, J., Kim, G., Embree, M. C., Song, K. S., Marao, H. F., & Mao, J. J. (2016). *Periodontal Ligament and Alveolar Bone in Health and Adaptation: Tooth Movement*. <https://doi.org/10.1159/000351894>
- Kaku, M., Thant, L., Dobashi, A., Ono, Y., Kitami, M., Mizukoshi, M., Arai, M., Iwama, H., Kitami, K., Kakihara, Y., Matsumoto, M., Saito, I., & Uoshima, K. (2024). Multiomics analysis of cultured mouse periodontal ligament cell-derived extracellular matrix. *Scientific Reports*, *14*(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-023-51054-8>

- Kaku, M., & Yamauchi, M. (2014). Mechano-regulation of collagen biosynthesis in periodontal ligament. *Journal of Prosthodontic Research*, 58(4), 193–207. <https://doi.org/10.1016/j.jpor.2014.08.003>
- Kim, J.-M., Lin, C., Stavre, Z., Greenblatt, M. B., & Shim, J.-H. (2020). Osteoblast-Osteoclast Communication and Bone Homeostasis. *Cells*, 9(9), 2073. <https://doi.org/10.3390/cells9092073>
- Kim, Y. G., Lee, S. M., Bae, S., Park, T., Kim, H., Jang, Y., Moon, K., Kim, H., Lee, K., Park, J., Byun, J.-S., & Kim, D.-Y. (2021). Effect of Aging on Homeostasis in the Soft Tissue of the Periodontium: A Narrative Review. *Journal of Personalized Medicine*, 11(1), 58. <https://doi.org/10.3390/jpm11010058>
- Krieger, E., Hornikel, S., & Wehrbein, H. (2013). Age-related changes of fibroblast density in the human periodontal ligament. *Head & Face Medicine*, 9(1), 22. <https://doi.org/10.1186/1746-160X-9-22>
- Kurylo, M. P., Grandfield, K., Marshall, G. W., Alton, V., Aloni, S., & Ho, S. P. (2016). Effect of proteoglycans at interfaces as related to location, architecture, and mechanical cues. *Archives of Oral Biology*, 63, 82–92. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2015.11.021>
- Leite, F. R. M., de Aquino, S. G., Guimarães, M. R., Cirelli, J. A., Zamboni, D. S., Silva, J. S., & Junior, C. R. (2015). Relevance of the Myeloid Differentiation Factor 88 (MyD88) on RANKL, OPG, and Nod Expressions Induced by TLR and IL-1R Signaling in Bone Marrow Stromal Cells. *Inflammation*, 38(1), 1–8. <https://doi.org/10.1007/s10753-014-0001-4>
- Lekic, P., & McCulloch, C. A. G. (1996). Periodontal ligament cell populations: The central role of fibroblasts in creating a unique tissue. *Anatomical Record*, 245(2), 327–341. [https://doi.org/10.1002/\(SICI\)1097-0185\(199606\)245:2<327::AID-AR15>3.0.CO;2-R](https://doi.org/10.1002/(SICI)1097-0185(199606)245:2<327::AID-AR15>3.0.CO;2-R)
- Lim, W. H., Liu, B., Mah, S., Chen, S., & Helms, J. A. (2014). The molecular and cellular effects of ageing on the periodontal ligament. *Journal of Clinical Periodontology*, 41(10), 935–942. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12277>
- Lindhe, J., & L. N. P. (2015). *Anatomy of periodontal tissues. Dans Clinical Periodontology and Implant Dentistry . 1*, 25–29.
- Lindhe, J., K. T., & L. N. P. (2010). *Tratado de Periodontia Clinica e Implantodontia Oral*.
- Liu, M., Wu, B., Yang, F., Jiang, D., Izadikhah, I., Chen, Y., Li, N., & Yan, B. (2024). Understanding the hierarchical structure of collagen fibers of the human periodontal ligament: Implications for biomechanical characteristics. *Acta Biomaterialia*. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2024.09.016>

- Lohiya, D. V., Mehendale, A. M., Lohiya, D. V., Lahoti, H. S., & Agrawal, V. N. (2023). Effects of Periodontitis on Major Organ Systems. *Cureus*. <https://doi.org/10.7759/cureus.46299>
- Lopes, M. E. S., Marcantonio, C. C., Salmon, C. R., Mofatto, L. S., Nociti Junior, F. H., Eick, S., Deschner, J., Cirelli, J. A., & Nogueira, A. V. B. (2025). Effects of periodontal disease on the proteomic profile of the periodontal ligament. *Journal of Proteomics*, 314, 105384. <https://doi.org/10.1016/j.jprot.2025.105384>
- Luis Muñoz-Carrillo, J., Elizabeth Hernández-Reyes, V., Eduardo García-Huerta, O., Chávez-Ruvalcaba, F., Isabel Chávez-Ruvalcaba, M., Mariana Chávez-Ruvalcaba, K., & Díaz-Alfaro, L. (2020). Pathogenesis of Periodontal Disease. In *Periodontal Disease - Diagnostic and Adjunctive Non-surgical Considerations*. IntechOpen. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86548>
- Mariotti, A. (2007). Periodontal Diseases. In *xPharm: The Comprehensive Pharmacology Reference* (pp. 1–5). Elsevier. <https://doi.org/10.1016/B978-008055232-3.60697-X>
- Marshall, J. S., Warrington, R., Watson, W., & Kim, H. L. (2018). An introduction to immunology and immunopathology. *Allergy, Asthma & Clinical Immunology*, 14(S2), 49. <https://doi.org/10.1186/s13223-018-0278-1>
- Martínez-García, M., & Hernández-Lemus, E. (2021). Periodontal Inflammation and Systemic Diseases: An Overview. *Frontiers in Physiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fphys.2021.709438>
- Mayr, A., Marciniak, J., Eggers, B., Blawat, K., Wildenhof, J., Bastos Craveiro, R., Wolf, M., Deschner, J., Jäger, A., & Beisel-Memmert, S. (2021). Autophagy Induces Expression of IL-6 in Human Periodontal Ligament Fibroblasts Under Mechanical Load and Overload and Effects Osteoclastogenesis in vitro. *Frontiers in Physiology*, 12, 716441. <https://doi.org/10.3389/FPHYS.2021.716441>
- Medara, N., Lenzo, J. C., Walsh, K. A., O'Brien-Simpson, N. M., Reynolds, E. C., & Darby, I. B. (2021). Peripheral T helper cell profiles during management of periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 48(1), 77–91. <https://doi.org/10.1111/jcpe.13389>
- Mohebichamkhorami, F., Fattahi, R., Niknam, Z., Aliashrafi, M., Khakpour Naeimi, S., Gilanchi, S., & Zali, H. (2022). Periodontal ligament stem cells as a promising therapeutic target for neural damage. In *Stem Cell Research and Therapy* (Vol. 13, Issue 1). BioMed Central Ltd. <https://doi.org/10.1186/s13287-022-02942-9>
- Molina, O. F., Yukiohassumi, M., & Borges Franco, A. (2022). Nociceptors and mechanoreceptors in the periodontal membrane: A Review. *IOSR Journal of Dental and*

- Medical Sciences (IOSR-JDMS) e-ISSN*, 21, 107–117. <https://doi.org/10.9790/0853-210805107117>
- Mortazavi, H., & Baharvand, M. (2016). Review of common conditions associated with periodontal ligament widening. *Imaging Science in Dentistry*, 46(4), 229. <https://doi.org/10.5624/ISD.2016.46.4.229>
- Na Nan, D. (2022). *The influence of extracellular matrix on human periodontal ligament stem cell properties* [Chulalongkorn University]. <https://doi.org/10.58837/CHULA.THE.2022.1050>
- Naish, E., Wood, A. J., Stewart, A. P., Routledge, M., Morris, A. C., Chilvers, E. R., & Lodge, K. M. (2023). The formation and function of the neutrophil phagosome. *Immunological Reviews*, 314(1), 158–180. <https://doi.org/10.1111/imr.13173>
- Najafidoust, M., Hashemi, A., & Oskui, I. Z. (2023). Effect of temperature on dynamic compressive behavior of periodontal ligament. *Medical Engineering and Physics*, 116. <https://doi.org/10.1016/j.medengphy.2023.103986>
- Nakai, Y., Praneetpong, N., Ono, W., & Ono, N. (2023). Mechanisms of Osteoclastogenesis in Orthodontic Tooth Movement and Orthodontically Induced Tooth Root Resorption. *Journal of Bone Metabolism*, 30(4), 297–310. <https://doi.org/10.11005/jbm.2023.30.4.297>
- Nan, D. N., Everts, V., Ferreira, J. N., Trachoo, V., Osathanon, T., Klincumhom, N., & Pavasant, P. (2023). Alteration of extracellular matrix proteins in atrophic periodontal ligament of hypofunctional rat molars. *BDJ Open*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41405-023-00155-7>
- Nanci, A. (2017). *Ten Cate's oral histology: development, structure, and function*. 9, 477–497.
- Naruishi, K. (2022). Biological Roles of Fibroblasts in Periodontal Diseases. In *Cells* (Vol. 11, Issue 21). MDPI. <https://doi.org/10.3390/cells11213345>
- Ouchi, T., & Nakagawa, T. (2020). Mesenchymal stem cell-based tissue regeneration therapies for periodontitis. *Regenerative Therapy*, 14, 72–78. <https://doi.org/10.1016/j.reth.2019.12.011>
- Passanezi, E., & Sant'Ana, A. C. P. (2019). Role of occlusion in periodontal disease. *Periodontology 2000*, 79(1), 129–150. <https://doi.org/10.1111/prd.12251>
- Pileicikiene, G., & Surna, A. (2004). The Human Masticatory System From A Biomechanical Perspective: A Review CLINICAL ARTICLES. In *Stomatologija, Baltic Dental and Maxillofacial Journal* (Vol. 6).

- Popowics, T., Boyd, T., & Hinderberger, H. (2014). Eruptive and functional changes in periodontal ligament fibroblast orientation in CD44 wild-type vs. knockout mice. *Journal of Periodontal Research*, 49(3), 355–362. <https://doi.org/10.1111/jre.12113>
- Prosper, A., Lê, S., Thomas, C., Minty, M., Hamel, O., Blasco-Baque, V., & Canceill, T. (2024). Les dents et le milieu buccal au cœur de la santé globale. *Médecine/Sciences*, 40(1), 10–15. <https://doi.org/10.1051/medsci/2023189>
- Queiroz, A., Albuquerque-Souza, E., Gasparoni, L. M., França, B. N. de, Pelissari, C., Trierveiler, M., & Holzhausen, M. (2021). Therapeutic potential of periodontal ligament stem cells. *World Journal of Stem Cells*, 13(6), 605–618. <https://doi.org/10.4252/wjsc.v13.i6.605>
- Roato, I., Masante, B., Putame, G., Massai, D., & Mussano, F. (2022). Challenges of Periodontal Tissue Engineering: Increasing Biomimicry through 3D Printing and Controlled Dynamic Environment. *Nanomaterials*, 12(21), 3878. <https://doi.org/10.3390/nano12213878>
- Saiyed Urvi Rangrej, W. (2023). Periodontal Ligament: As a Bite Force Distributor. *International Journal of Science and Research (IJSR)*, 12(6), 1229–1234. <https://doi.org/10.21275/sr23609084303>
- 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>
- Shaikh, S. (2023). The Periodontal Ligament: A Fascinating Tissue with Multifunctional Properties. *Journal of Odontology*, 7(1). DOI: 10.35248/JOY.23.648
- Silva, B. S. e, Fagundes, N. C. F., Nogueira, B. C. L., Valladares Neto, J., Normando, D., & Lima, R. R. (2017). Epithelial rests of Malassez: from latent cells to active participation in orthodontic movement. *Dental Press Journal of Orthodontics*, 22(3), 119–125. <https://doi.org/10.1590/2177-6709.22.3.119-125.sar>
- Stavropoulos, A., Bertl, K., Sculean, A., & Kantarci, A. (2022). Regenerative Periodontal Therapy in Intrabony Defects and Long-Term Tooth Prognosis. *Dental Clinics of North America*, 66(1), 103–109. <https://doi.org/10.1016/j.cden.2021.09.002>
- Strydom, H., Maltha, J. C., Kuijpers-Jagtman, A. M., & Von den Hoff, J. W. (2012). The oxytalan fibre network in the periodontium and its possible mechanical function. *Archives of Oral Biology*, 57(8), 1003–1011. <https://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2012.06.003>
- Sun, H., Luan, J., & Dong, S. (2024). Hydrogels promote periodontal regeneration. *Frontiers in Bioengineering and Biotechnology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fbioe.2024.1411494>

- Swanson, W. B., Yao, Y., & Mishina, Y. (2022). Novel approaches for periodontal tissue engineering. *Genesis*, 60(8–9). <https://doi.org/10.1002/dvg.23499>
- Tamaoki, S., Nakashima, K., Yamauchi, Y., Yamanouchi, K., Fujita, T., Tsuruga, E., & Ishikawa, H. (2016). Stretching Induces the Rearrangement of the Periodontal Ligament Cells without Altering the Orientation of Oxytalan Fibers Relative to the Cell Axis <i>in Vitro</i>. *Open Journal of Stomatology*, 06(12), 252–260. <https://doi.org/10.4236/ojst.2016.612031>
- Tapia-Repetto, G., Trillo López, V., Daliés, C., & Cataldo, A. (2023). Caracteres Histológicos - Moleculares del Cemento Dental. La matriz no fibrilar y su rol en el origen, el mantenimiento y la regeneración tisular. *Odontoestomatología*, 25(42). <https://doi.org/10.22592/ode2023n42e330>
- Toby Thomas, J., Joseph, B., Waltimo, T., & Anil, S. (2024). *Matrix Metalloproteinases (MMPs) in Periodontium: Is It a Boon or a Bane?* <https://doi.org/10.5772/intechopen.114353>
- Torabi, S., & Soni, A. (2023). Histology, Periodontium. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK570604/>
- Tsuruga, E., Nakashima, K., Ishikawa, H., Yajima, T., & Sawa, Y. (2009). Stretching modulates oxytalan fibers in human periodontal ligament cells. *Journal of Periodontal Research*, 44(2), 170–174. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2008.01099.x>
- Wang, L., Foster, B. L., Kram, V., Nociti, F. H., Zerfas, P. M., Tran, A. B., Young, M. F., & Somerman, M. J. (2014). Fibromodulin and Biglycan Modulate Periodontium through TGF β /BMP Signaling. *Journal of Dental Research*, 93(8), 780–787. <https://doi.org/10.1177/0022034514541126>
- Wang, R., Lan, C., Benlagha, K., Camara, N. O. S., Miller, H., Kubo, M., Heegaard, S., Lee, P., Yang, L., Forsman, H., Li, X., Zhai, Z., & Liu, C. (2024). The interaction of innate immune and adaptive immune system. *MedComm*, 5(10). <https://doi.org/10.1002/mco2.714>
- Wang, T., Liu, X., Li, J., Yue, Y., Li, J., Wang, M., Wei, N., & Hao, L. (2024). Mechanisms of mechanical force in periodontal homeostasis: a review. *Frontiers in Immunology*, 15, 1438726. <https://doi.org/10.3389/FIMMU.2024.1438726>
- Weider, M., Schröder, A., Docheva, D., Rodrian, G., Enderle, I., Seidel, C. L., Andreev, D., Wegner, M., Bozec, A., Deschner, J., Kirschneck, C., Proff, P., & Gözl, L. (2020). A human periodontal ligament fibroblast cell line as a new model to study periodontal stress.

International Journal of Molecular Sciences, 21(21), 1–10.
<https://doi.org/10.3390/ijms21217961>

- Wen, S., Zheng, X., Yin, W., Liu, Y., Wang, R., Zhao, Y., Liu, Z., Li, C., Zeng, J., & Rong, M. (2024). Dental stem cell dynamics in periodontal ligament regeneration: from mechanism to application. In *Stem cell research & therapy* (Vol. 15, Issue 1, p. 389). <https://doi.org/10.1186/s13287-024-04003-9>
- Wilensky, A., Chaushu, S., & Shapira, L. (2015). The role of natural killer cells in periodontitis. *Periodontology 2000*, 69(1), 128–141. <https://doi.org/10.1111/prd.12092>
- Wojtas, M., Lausch, A. J., & Sone, E. D. (2020). Glycosaminoglycans accelerate biomimetic collagen mineralization in a tissue-based in vitro model. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 117(23), 12636–12642. <https://doi.org/10.1073/pnas.1914899117>
- Wulandari, P. (2023). The aging process and its relation to periodontal conditions. *Exploration of Immunology*, 207–216. <https://doi.org/10.37349/ei.2023.00098>
- Xu, X. W., Liu, X., Shi, C., & Sun, H. C. (2021). Roles of Immune Cells and Mechanisms of Immune Responses in Periodontitis. *The Chinese Journal of Dental Research*, 24(4), 219–230. <https://doi.org/10.3290/j.cjdr.b2440547>
- Yin, L., Li, X., & Hou, J. (2022). Macrophages in periodontitis: A dynamic shift between tissue destruction and repair. *Japanese Dental Science Review*, 58, 336–347. <https://doi.org/10.1016/j.jdsr.2022.10.002>
- Yu, Q. Y., Huang, Y. P., & Li, W. R. (2024). Extracellular Matrix Remodelling of the Periodontium under Orthodontic Force. In *The Chinese journal of dental research* (Vol. 27, Issue 2, pp. 121–131). <https://doi.org/10.3290/j.cjdr.b5459583>
- Zhang, X., Yuan, X., Xu, Q., Arioka, M., Van Brunt, L. A., Shi, Y., Brunski, J., & Helms, J. A. (2019). Molecular Basis for Periodontal Ligament Adaptation to In Vivo Loading. *Journal of Dental Research*, 98(3), 331–338. <https://doi.org/10.1177/0022034518817305>
- Zhong, J., Pierantoni, M., Weinkamer, R., Brumfeld, V., Zheng, K., Chen, J., Swain, M. V., Weiner, S., & Li, Q. (2021). Microstructural heterogeneity of the collagenous network in the loaded and unloaded periodontal ligament and its biomechanical implications. *Journal of Structural Biology*, 213(3). <https://doi.org/10.1016/J.JSB.2021.107772>
- Zhou, T., Pan, J., Wu, P., Huang, R., Du, W., Zhou, Y., Wan, M., Fan, Y., Xu, X., Zhou, X., Zheng, L., & Zhou, X. (2019). Dental Follicle Cells: Roles in Development and beyond. In *Stem Cells International* (Vol. 2019). Hindawi Limited. <https://doi.org/10.1155/2019/9159605>