



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

APLICAÇÃO DE ÁCIDO HIALURÓNICO NO TRATAMENTO NÃO CIRÚRGICO DA PERIODONTITE

Trabalho submetido por
Joana Cristina Rico Farto Lobato
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

outubro de 2016



INSTITUTO SUPERIOR DE CIÊNCIAS DA SAÚDE EGAS MONIZ

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA

APLICAÇÃO DE ÁCIDO HIALURÓNICO NO TRATAMENTO NÃO CIRÚRGICO DA PERIODONTITE

Trabalho submetido por
Joana Cristina Rico Farto Lobato
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

Trabalho orientado por
Professor Doutor José Martins dos Santos

e coorientado por
Prof. Doutor Ricardo Castro Alves

outubro de 2016

AGRADECIMENTOS

Quero começar por agradecer ao meu orientador, Professor Doutor José Martins dos Santos, por ter aceite orientar-me neste projeto final de curso, mas sobretudo por todo o apoio, disponibilidade, e ajuda que me proporcionou no decorrer da realização deste trabalho.

Ao meu coorientador, Prof. Doutor Ricardo Alves, que aceitou prontamente em coorientar este trabalho e me apoiou na concretização deste tema. Agradeço o seu empenho, exigência e envolvimento permanente, a sua infinita disponibilidade no esclarecimento de dúvidas que foram surgindo, as suas palavras de incentivo e o seu apoio constante.

Quero agradecer à Prof. Dr. Luísa Amado, por se ter mostrado tão prestável e ter colaborado para a concretização deste projeto.

À Direção Clínica da Clínica Universitária Egas Moniz, por ter cedido os recursos necessários para a realização deste estudo.

Ao Sr. Tiago Leite, que prontamente se prestou a fornecer o ácido hialurónico e assim contribuiu para a realização desta investigação.

À Clínica Universitária Egas Moniz, às funcionárias da receção pela enorme paciência que tiveram para comigo, às funcionárias da farmácia que sempre se mostraram extremamente prestáveis.

Aos meus queridos pais, pelo exemplo de vida, pela enorme paciência, dedicação e carinho, por terem acreditado sempre em mim e não me deixarem fracassar, sem eles nada disto teria sido possível.

Ao meu maninho, por ser das melhores pessoas que conheço, por ser o irmão que qualquer pessoa deseja ter, por me fazer acreditar.

Aos meus amigos, Cláudia, os Joões, Diogo e Teresa que sempre se disponibilizaram para me ouvir e me apoiaram quando precisei.

Às minhas amigas da faculdade que tornaram este longo percurso menos complicado, Carolinas, Anas, Filipa, Teresa, Ni, Francisca, e Marianas, em especial à Grilo por estes dois últimos anos, pelas aventuras diárias tanto na clínica como fora da clínica.

Por último, mas não menos importantes, quero agradecer a todos os pacientes que prestaram uma contribuição fundamental para que este estudo fosse possível.

RESUMO

Objectivo: Avaliar os benefícios da aplicação tópica de ácido hialurónico (AH) a 0,8% (Gengigel) como coadjuvante do alisamento radicular (AR) no tratamento da periodontite crónica.

Materiais e Métodos: 17 pacientes com periodontite crónica foram recrutados para participar num estudo de boca dividida. Foram avaliados diversos parâmetros clínicos: índice de placa (IP), índice gengival (IG), hemorragia à sondagem (HS), profundidade de sondagem (PS) e nível de inserção periodontal (NIP) na primeira consulta, à 6ª semana e à 12ª semana. Na primeira consulta foi realizada destartarização e AR em ambos os quadrantes avaliados, no grupo de teste após o AR foi feita aplicação subgengival de AH. Utilizaram-se medidas de estatística descritiva e inferencial com um nível de significância (α) $\leq 0,05$, através do SPSS (Statistical Package for the Social Sciences).

Resultados: Ao fim de 12 semanas verificou-se uma melhoria geral ($p < 0,05$) em todos os parâmetros avaliados em ambos os grupos. O grupo experimental apresentou uma menor hemorragia à sondagem ($p < 0,05$) em comparação com o grupo controlo ($9,16 \pm 4,05$ vs $14,61 \pm 8,69$) no final do tratamento. A PS e o NIP apresentaram uma redução ligeiramente maior no grupo experimental, mas a diferença não foi estatisticamente significativa ($p > 0,05$).

Conclusão: A aplicação subgengival de AH a 0,8% como coadjuvante do AR parece ter efeitos benéficos em pacientes com periodontite crónica.

Palavras chave: Periodontite crónica; Ácido Hialurónico; Alisamento Radicular; Coadjuvante

ABSTRACT

Aims: verify the adjunctive effect of the local application of a 0,8% hyaluronan gel after root planing in the treatment of chronic periodontitis.

Materials and Methods: in this split mouth study 17 subjects with chronic periodontitis were evaluated. Plaque index, gingival index, bleeding on probing (BOP), probing pocket depth (PPD) and clinical attachment level (CAL) were recorded at baseline (at 6 and 12 weeks post-treatment). Patients received scaling and root planing (SRP) at baseline in both groups. In the test sites hyaluronan gel was applied immediately after SRP. There were used measures of descriptive and inferential statistics with a significance level (α) $\leq$ 0.05 by SPSS(Statistical Package for the Social Sciences) program.

Results: At 12 weeks a significant reduction in all clinical variables was observed ($p<0.05$) in both groups. In the test group bleeding on probing were significantly reduced ($p<0.05$) when compared with the control sites (9.16 ± 4.05 vs 14.61 ± 8.69). PPD and CAL were reduced but without a clinical significance ($p>0.05$).

Conclusion: The local application of 0.8% hyaluronan gel as an adjunct to SRP may have a beneficial effect in patients with chronic periodontitis.

Keywords: Chronic periodontitis; Hyaluronic acid; Root planing; Adjunct

Índice Geral

I. Introdução	13
1- Pertinência do estudo	13
2- Enquadramento teórico.....	14
2.1- Doença periodontal.....	14
2.1.1- Etiologia e factores de risco da doença periodontal.....	15
2.1.2- Patogénese da doença periodontal.....	17
2.1.3- Tratamento da doença periodontal	19
2.2- Ácido hialurónico.....	21
2.2.1- Estrutura química do ácido hialurónico	21
2.2.2- Biossíntese do ácido hialurónico.....	22
2.2.3- Degradação e turnover do ácido hialurónico.....	23
2.2.4- Propriedades e efeitos do ácido hialurónico.....	25
2.2.4.1- Propriedades químicas.....	25
2.2.4.1.1- Propriedade higroscópica	25
2.2.4.1.2- Propriedade viscoelástica	25
2.2.4.2- Propriedades e efeitos biológicos	26
2.2.4.2.1- Propriedade bacteriostática.....	26
2.2.4.2.2- Biocompatibilidade e não antigenicidade.....	26
2.2.4.2.3- Efeito anti-edematoso	27
2.2.4.2.4- Efeito antioxidante.....	27
2.2.4.2.5- Efeito osteoindutivo e osteocondutivo	28
2.2.4.2.6- Efeito de cicatrização.....	29
2.2.5- Aplicações do ácido hialurónico	31
2.2.6- Aplicação de AH no tratamento não cirúrgico da periodontite.....	32
II- Objectivo e hipótese	35
III. Materiais e Métodos	37
1- Considerações éticas	37
2- Local do estudo	37
3- Desenho do estudo.....	37

4- Estudo clínico	39
4.1– Seleção da amostra	39
4.2– Critérios de inclusão	39
4.3– Critérios de exclusão	39
4.4– Calibração do examinador para realização do estudo	40
4.5– Recolha de dados	40
4.5.1– Índice de placa	41
4.5.2– Índice gengival	41
4.5.3– Profundidade de sondagem.....	42
4.5.4– Hemorragia à sondagem	42
4.5.5– Nível de inserção periodontal	43
4.6– Materiais utilizados	43
4.7– Protocolo de aplicação.....	44
4.8– Análise estatística	44
IV. Resultados	47
1- Calibração do examinador.....	47
2- Caracterização geral da amostra.....	47
3- Evolução dos parâmetros avaliados no grupo controlo.....	48
4- Evolução dos parâmetros avaliados no grupo experimental	50
5- Comparação entre o grupo controlo e o grupo experimental.....	52
6- Correlação entre o IP com as variáveis HS, PS e NIP	55
6.1- Grupo controlo	55
6.2- Grupo Experimental	55
6.3- Variação do IP entre o grupo controlo e grupo experimental	56
V. Discussão	57
VI. Conclusão	65
VII. Bibliografia	67

Índice de figuras

Figura 1: Patogénese da doença periodontal	18
Figura 2: Estrutura molecular do ácido hialurónico	22
Figura 3: Fluxograma do procedimento experimental	38
Figura 4: Percentagem de pacientes avaliados, segundo a faixa etária	47
Figura 5: Gráfico da evolução dos parâmetros HS, PS e NIP do grupo controlo	49
Figura 6: Gráfico da evolução dos parâmetros HS, PS e NIP do grupo experimental...	51
Figura 7: Gráfico da evolução dos parâmetros HS, PS e NIP do grupo experimental vs grupo controlo	54

Índice de tabelas

Tabela 1: Características dos estudos sobre a aplicação de AH no tratamento não cirúrgico da doença periodontal	33
Tabela 2: Resultados dos estudos sobre a aplicação do AH no tratamento não cirúrgico da doença periodontal	34
Tabela 3: Concordância inter-examinador e intra-examinador	47
Tabela 4: Evolução dos parâmetros IP, IG, HS, PS e NIP do grupo controlo	48
Tabela 5: Evolução dos parâmetros IP, IG, HS, PS e NIP do grupo experimental	50
Tabela 6: Comparação do IP entre o grupo controlo e experimental	52
Tabela 7: Comparação do IG entre o grupo controlo e experimental	53
Tabela 8: Comparação da HS entre o grupo controlo e experimental	53
Tabela 9: Comparação da PS entre o grupo controlo e experimental	54
Tabela 10: Comparação do NIP entre o grupo controlo e experimental	54
Tabela 11: Correlação entre o IP e as variáveis HS, PS e NIP	55

Lista de Abreviaturas

AH – Ácido hialurónico

AR – Alisamento radicular

ATM – Articulação temporo-mandibular

BMP-2 – Proteína óssea morfogenética-2

BOP – Bleeding on probing

CHX - Chorohexidina

DNA – Ácido desoxirribonucleico

EC – Células endoteliais

HARE – Recetor do ácido hialurónico para endocitose

HAS-1 – Sintase-1 do ácido hialurónico

HAS-2 – Sintase-2 do ácido hialurónico

HAS-3 – Sintase-3 do ácido hialurónico

HS – Hemorragia à sondagem

Hyal-1 – Hialuronidase-1

Hyal-2 – Hialuronidase-2

HYALP1 – Pseudogene 1 da hialuronidase

ICC – Coeficiente de correlação intraclases

IG – Índice gengival

IL-1 α – Interleucina-1 alfa

IL-1 β – Interleucina-1 beta

IL-1ra – Recetor antagonista da interleucina-1

IL-4 – Interleucina-4

IL-6 – Interleucina-6

IL-10 – Interleucina-10

IP – Índice de placa

JAC – Junção amelo-cementária

MMPs – Metaloproteinases

NIP – Nível de inserção periodontal

PGE₂ – Prostaglandinas E₂

PMNLs – Leucócitos neutrofilicos polimorfonucleares

PS – Profundidade de sondagem

RHAMM – Recetor de mobilidade mediada do ácido hialurónico

ROS – Espécies de oxigénio reativo

SHAP1 – Proteína 1 sérica associada ao ácido hialurónico

SPSS – *Statistical Package for the Social Sciences*

TSG-6/1 α I – Factor de necrose tumoral-6/ inibidor inter-alfa

TIMPS – Inibidores tissulares das metaloproteinases

TLR – Recetores tipo toll

TNF- α – Fator de necrose tumoral-alfa

UDP – Uridina difosfato

UDP-GLcA – Uridina difosfato-ácido glucorónico

UDP-GLcNAc – Uridina difosfato-ácido-N-acetilglucosamina

I – Introdução

1- Pertinência do Estudo

A Doença Periodontal é uma das doenças crónicas orais mais prevalentes no mundo inteiro, representando um grande problema de saúde pública. É considerada uma das principais causas de perda dentária, afecta directamente a qualidade de vida da população, em termos da capacidade funcional como auto-estima e relações sociais (Peterson & Ogawa, 2012).

A periodontite é uma doença multifactorial onde há uma interação dinâmica entre o factor etiológico bacteriano ou viral, a resposta imune e inapta do hospedeiro, factores ambientais e factores de susceptibilidade genética dos indivíduos (Slots, 2013).

A forma de combater esta doença, passa por implementar medidas de prevenção e intervir precocemente recorrendo à aplicação de tratamentos periodontais básicos que englobam a redução do biofilme dentário e remoção do cálculo dentário através da destartarização e do alisamento radicular (Slots, 2012).

A aplicação de coadjuvantes no tratamento não cirúrgico da periodontite, tem vindo a ser utilizada por forma a melhorar a sua eficácia. Vários antibióticos como a minociclina, tetraciclina e metronidazol, e vários anti-inflamatórios como o flurbiprofeno e o triclosan têm vindo a ser testados como aplicações tópicas coadjuvantes no tratamento da Periodontite. (Polepalle et al., 2015; Sapna & Vandana, 2011; Slots, 2012, 2013).

O ácido hialurónico (AH) foi recentemente sugerido como um potencial agente quimioterapêutico local no tratamento da Periodontite. O seu papel multifuncional no processo de cura de lesões crónicas, ao funcionar como um factor significativo no crescimento, desenvolvimento e reparação dos tecidos, demonstra a sua potencial importância no tratamento não cirúrgico da doença periodontal. A aplicação de AH de elevado peso molecular provou ser eficaz na indução da cicatrização e redução da inflamação (Bertl et al., 2015; Eick et al., 2013; Rajan, Baramappa, Rao, Pavaluri, Indeevar, et al., 2014).

Alguns estudos examinaram o efeito do AH na saúde gengival, mas pouco se sabe sobre o seu efeito na administração subgengival. Este estudo teve como objectivo clarificar o papel do AH como coadjuvante no tratamento não cirúrgico da Periodontite (Eick et al., 2013; Polepalle et al., 2015; Rajan, Baramappa, Rao, Pavaluri, Indeevar, et al., 2014).

2 – Enquadramento Teórico

2.1 – Doença Periodontal

O periodonto frequentemente designado por tecido de suporte periodontal é constituído pela gengiva, ligamento periodontal, cemento radicular e osso alveolar, formando uma unidade biológica e funcional que sofre alterações com a idade e com as modificações funcionais que ocorrem no meio bucal (Lindhe, Lang, & Karring, 2010).

A integridade dos tecidos que o constituem é essencial na formação de uma barreira contra agentes nocivos de origem bacteriana e enzimática, no entanto a presença de uma inflamação crónica, como na doença periodontal, terá efeitos prejudiciais nos componentes do periodonto (Gontiya & Galgali, 2012).

Dependente dos tecidos afectados, a doença periodontal pode ser classificada de duas formas: gengivite ou periodontite (Armitage, 1999).

A gengivite é uma inflamação confinada aos tecidos gengivais sem perda do tecido conjuntivo de inserção, que pode ser reversível quando removidos os factores etiológicos. Apresenta como características clínicas aumento dos contornos gengivais devido ao edema ou fibrose, cor avermelhada, aumento da temperatura sulcular, hemorragia à sondagem e aumento do exsudado gengival (Mariotti, 1999).

A periodontite é uma doença inflamatória multifactorial de etiologia bacteriana que resulta numa destruição dos tecidos periodontais de suporte. Apresenta como características clínicas primárias, perda de inserção clínica, perda óssea alveolar, bolsas periodontais e inflamação gengival; e como características clínicas secundárias, aumento de volume ou recessão gengival, sangramento da gengiva quando aplicada pressão, aumento da mobilidade dentária e/ou esfoliação dentária (Williams & Genco, 2010).

Segundo Page e Kornman (Page & Kornman, 1997) a inflamação gengival é uma condição necessária para o desenvolvimento da periodontite, no entanto não quer isto dizer que em todos os locais evolua para periodontite (Schätzle, Bürgin, Ånerud, Boysen, & Lang, 2003).

2.1.1- Etiologia e factores de risco da doença periodontal

A doença periodontal afecta uma grande parte da população a nível mundial oriunda de diversos estratos sociais, económicos e culturais (Thomson, Sheiham, & Spencer, 2012).

Por ser uma doença que implica a ocorrência simultânea de vários factores é classificada como multifactorial, ou seja, não só implica a presença do factor etiopatogénico bacteriano ou viral (que pode estar presente e não se manifestar clinicamente) como também a resposta imune e inata do hospedeiro, o ambiente local e a susceptibilidade do hospedeiro (Dentino, Lee, Mailhot, & Hefti, 2013; Slots, 2013).

Os microrganismos presentes no biofilme são classificados como o factor etiológico primário e devem atingir um número suficiente para iniciar ou promover a progressão da doença em determinados indivíduos e num meio específico (Dentino et al., 2013).

Segundo autores como Dentino, Slots, Darveu, as principais bactérias intervenientes na periodontite são as anaeróbias gram (-) das quais é de salientar a *P. gingivalis*, *T. forsythia* and *T. denticola*. Já Armitage, refere que há uma forte evidência para *P. gingivalis*, *T. forsythia* e *A. actinomycetemcomitans* e uma evidência moderada para a *T. denticola* e para outros (Darveau, 2010; Dentino et al., 2013; Slots, 2013).

As interações que ocorrem entre os patógenos e a flora comensal podem ser consideradas nocivas ao causar infeções, ou benéficas, na medida em que a colonização de sítios por agentes compatíveis com o hospedeiro dificulta a colonização por patógenos (Haffajee, Socransky, Smith, & Dibart, 1991).

Existe uma susceptibilidade intrínseca de cada indivíduo para a doença periodontal, que pode aumentar quando estão presentes certos fatores designados como factores de risco, tais como o tabaco, álcool, doenças sistémicas, stress, medicação, obesidade e deficiências nutricionais (Dentino et al., 2013; Genco & Borgnakke, 2013).

Ainda assim Slots (Slots, 2013) refere que existem fatores de risco que podem ser modificados como o estado de higiene oral, os agentes infecciosos, o tabaco, o controlo da diabetes mellitus e a obesidade, e factores que dificilmente são modificados como a predisposição genética, o envelhecimento, a condição sócio-económica e o stress psicossocial crónico.

Idade e periodontite apresentam uma relação complexa na medida em que é difícil estabelecer se a progressão da doença se deve realmente ao avançar da idade ou ao efeito cumulativo dos diferentes factores de risco (Van der Velden, 1991).

Está devidamente comprovado que o tabaco tem influência na doença periodontal, acabando por influenciar fortemente a perda de peças dentárias (Dentino et al., 2013). O tabaco influencia a microbiota oral através de alterações do meio ambiente que vão favorecer a actuação dos patogénos. Adicionalmente o tabaco: reduz o fluxo sanguíneo gengival e a tensão de O₂ na bolsa (o que favorece o crescimento das bactérias anaeróbias), altera a função dos neutrófilos, aumenta a produção de citocinas pró inflamatórias (principalmente a interleucina 1) e altera o potencial de cicatrização dos tecidos (Genco & Borgnakke, 2013).

A relação entre a diabetes mellitus e a doença periodontal apresenta-se como uma relação bidireccional na medida em que os mediadores pro-inflamatórios dos pacientes com diabetes vão acentuar a severidade da periodontite, assim como os mediadores desta doença vão contribuir para um fraco controlo metabólico da diabetes. Ao se proceder ao tratamento periodontal, reduzem-se os mediadores inflamatórios sistémicos (proteína reactiva C, factor de necrose tumoral α , interleucina 6 e outros) e dessa forma a sensibilidade da insulina aumenta, o que resulta num aumento do controlo da hemoglobina glicosilada (Genco & Borgnakke, 2013). Existe evidência de que um mau controlo da diabetes aumenta a gravidade da doença periodontal, assim como um bom controlo diminui essa gravidade (Peterson & Ogawa, 2012).

Relativamente ao factor de risco stress, é possível afirmar que este pode estar envolvido na progressão da doença periodontal devido a dois factores. Primeiro, porque vai alterar a resposta immune por parte do hospedeiro, através da libertação de noradrenalina pelo sistema nervoso simpático (que tem efeitos imunossupressores), segundo porque pode provocar alterações nos hábitos de higiene oral, pode incentivar o fumar, diminuir as idas ao dentista e alterar os hábitos alimentares (Genco & Borgnakke, 2013; Stabholz A, Soskolne WA, 2010).

2.1.2- Patogénese da doença periodontal

A periodontite é uma doença inflamatória crónica multifactorial, induzida por bactérias que se encontram localizadas no biofilme aderido à superfície e raiz do dente, mas a sua progressão depende da resposta inata, resposta inflamatória que não envolve mecanismos imunológicos e resposta adaptativa, resposta inflamatória que envolve mecanismos imunológicos do hospedeiro (Darveau, 2010; Lindhe et al., 2010).

As respostas imuno-inflamatórias induzidas, que são influenciadas por factores genéticos e ambientais, são também consideradas potencialmente nocivas, uma vez que produzem citocinas e enzimas que resultam na destruição do tecido conjuntivo e do tecido ósseo alveolar (Cochran, 2008).

Os mecanismos imunes inatos são aqueles que atuam sem terem alguma vez tido contacto com o microrganismo etiológico. É de salientar a função barreira do epitélio oral e os aspectos vascular e celular da resposta inflamatória. Em contrapartida, os mecanismos imunes adaptativos vão usar sistemas de reconhecimento, memória e ligação para conseguirem eliminar o patógeno (Lindhe et al., 2010).

A patogénese da doença periodontal, demonstrada na figura 1, pode ser explicada por uma sucessão de acontecimentos complexos estreitamente relacionados. As bactérias presentes no local vão libertar produtos metabólicos como proteases que provocam degradação tecidual e que por sua vez promovem a proliferação de mais proteases por parte do hospedeiro. Com o avançar da infecção a permeabilidade do epitélio juncional fica aumentada permitindo que os microorganismos migrem para o tecido conjuntivo subepitelial. Desta forma são libertados mediadores inflamatórios: as citocinas nomeadamente interleucina-1 α (IL-1 α), interleucina-1 β (IL-1 β), interleucina-6 (IL-6) e fator de necrose tumoral- α (TNF- α) que estimulam a reabsorção óssea e inibem a formação óssea, as metaloproteinases (MMPs) que são responsáveis pela remodelação e degradação dos componentes da matriz do tecido conjuntivo, as prostaglandinas particularmente prostaglandinas E₂ (PGE₂) que são responsáveis pela reabsorção óssea e os leucócitos neutrófilos polimorfonucleares (PMNLs) que são responsáveis pela fagocitose e destruição das bactérias (Page & Kornman, 1997; Williams & Genco, 2010).

Os elevados níveis de mediadores pró-inflamatórios e MMPs são contrabalançados pela produção de mediadores anti-inflamatórios como as citocinas

interleucina-10 (IL-10), interleucina-4 (IL-4) e recetor antagonista da interleucina-1 (IL-1ra) e inibidores tissulares das MMPs (TIMPs) (Williams & Genco, 2010).

Nos indivíduos portadores de doença periodontal os mediadores inflamatórios e as bactérias orais podem entrar em circulação e estimular o fígado a produzir certas proteínas, nomeadamente proteína C reactiva e fibrinogénio, aumentando assim o risco de desenvolver certas doenças sistémicas, criar complicações durante a gravidez e complicações diabéticas (Williams & Genco, 2010).

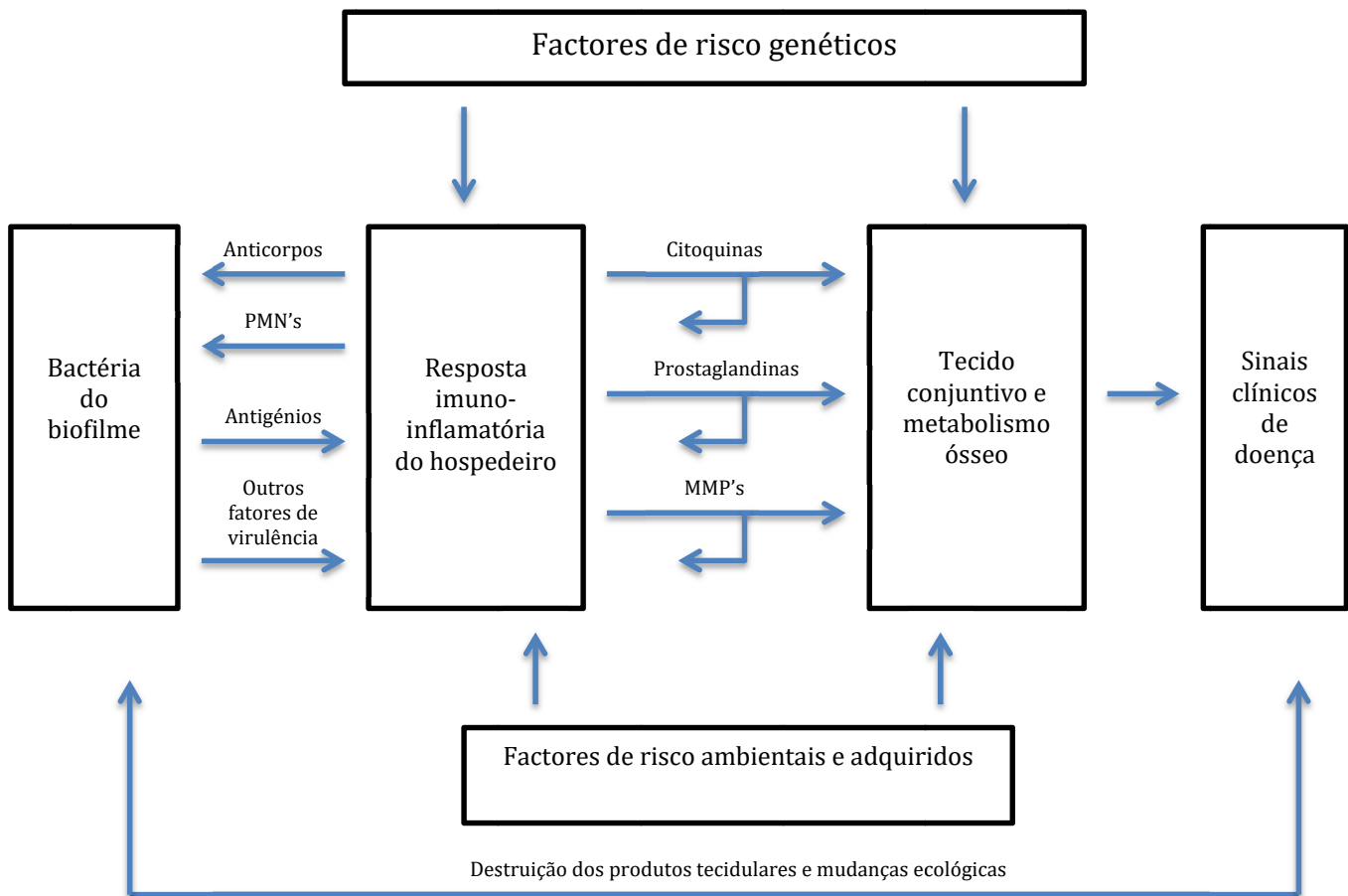


Figura 1: Patogénese da doença periodontal (adaptado de Page e Kornman 1997)

2.1.3- Tratamento da doença periodontal

O principal objetivo do tratamento periodontal é converter os locais das superfícies afectadas pelos microrganismos da placa bacteriana num local que seja biologicamente compatível para as células do tecido conjuntivo e epitelial aderirem. Para que essa terapia seja bem sucedida foi criada uma linha de orientação que compreende quatro fases de tratamento: sistémica, higiénica/inicial, corretiva e de manutenção (Pihlstrom, 2001).

Na fase sistémica são tidas em conta as condições sistémicas do paciente, de forma a prevenir complicações tanto para a sua saúde como para a dos profissionais e outros pacientes. Vão ser fornecidas medidas preventivas e caso seja fumador será orientado quanto a programas de abandono do tabagismo (Lindhe et al., 2010).

A fase inicial consiste na terapia relacionada com a causa. Tem como intuito obter boas condições de higiene e eliminar as infeções da cavidade oral através da remoção do biofilme, assim como dos factores que promovem a sua formação e subsequentemente a inflamação destrutiva. A forma mais importante de redução dos agentes patogénicos provem do próprio paciente que deverá fazer um bom controlo de placa recorrendo a métodos mecânicos como: a escovagem, a limpeza interdentária e a utilização de raspadores de língua; e por vezes a um controlo químico com colutórios, sprays, vernizes quando necessário. Quando esse controlo por algum motivo não foi feito e se depositou placa bacteriana subgengival ao nível das raízes dos dentes é necessário recorrer ao tratamento não cirúrgico (Dentino et al., 2013; Ower, 2013; Slots, 2013).

O tratamento não cirúrgico quando realizado na porção supragengival denomina-se por destartarização, quando realizado na porção subgengival denomina-se alisamento radicular, neste caso além da remoção de placa, também o cimento afectado acaba por ser removido (Deas, Moritz, Sagun Jr, Gruwell, & Powell, 2016; Lindhe et al., 2010).

Segundo Ower “ (...) 99% das bactérias contaminantes podem ser removidas com uma leve instrumentação, o chamado desbridamento radicular, sem ser necessário recorrer ao alisamento radicular. (...) O desbridamento radicular tem o mesmo potencial de descontaminar a superfície radicular mas com vantagens na conservação da estrutura dentária, diminuição do tempo de tratamento e um maior conforto para o paciente.”.

Esta forma de tratamento usa única e simplesmente instrumentação ultrassónica. (Ower, 2013)

Existem formas de complementar o tratamento não cirúrgico. Algumas designadas por dispositivos não convencionais, ao não apresentarem dados consistentes sobre eficácia clínica e custo elevado, não são muitos usados. É o caso dos lasers, terapia fotodinâmica e oxigénio hiperbárico. Outros pelo contrário, são vistos como auxiliares importantes na terapia mecânica, porque conseguem chegar a zonas de difícil acesso. Em relação a estes últimos temos por exemplo os antissépticos e os antibióticos tópicos e sistémicos. Os antissépticos mais usados, são o iodo, iodopovidona, clorhexidina, peróxido de hidrogénio e hexetidina, enquanto os antibióticos mais usados são o metronidazol, o metronidazol+penicilina, a ciprofloxacina, a azitromicina, a ciprofloxacina+metranidazol (Sanz, Alonso, Carasol, Herrera, & Sanz, 2012; Slots, 2012).

A fase corretiva é a fase direccionada ao tratamento das infeções oportunistas e inclui medidas terapêuticas como as cirurgias periodontais de acesso, ressetivas ou regenerativas, terapia endodôntica, tratamento restaurador e/ou protético (Dentino et al., 2013).

A fase de manutenção tem como objectivo prevenir a reinfecção e reincidência da doença, com visitas periódicas em intervalos que podem variar entre os 2 e 6 meses dependente da severidade da doença. A motivação deve ser reforçada, devem ser avaliadas a profundidade de sondagem, hemorragia gengival, nível de inserção clínica e mobilidades e se necessário pode ser feita aplicação de flúor para prevenir as cáries (Pihlstrom, 2001).

2.2 - Ácido Hialurónico

O AH é a glicosaminoglicana de maior peso molecular e está presente em vários fluídos corporais como o líquido sinovial, soro sanguíneo, saliva e fluido gengival crevicular, representando o maior componente da matriz extracelular dos tecidos mineralizados e não mineralizados.

Segundo Jiang, nos humanos o AH pode ser encontrado no humor vítreo do olho, no cordão umbilical, líquido sinovial, válvulas cardíacas, pele e tecidos esqueléticos. Quantidades razoáveis podem ser encontradas no cérebro, pulmões, rins, músculo e menos no fígado, sendo que a menor concentração é encontrada no plasma sanguíneo (Fraser, Laurent, & Laurent, 1997; Jiang, Liang, & Noble, 2011).

São várias as funções do AH quer a nível fisiológico, quer biológico. Entre as quais podemos incluir: interações celulares e extracelulares, interações com factores de crescimento e regulação da pressão osmótica, lubrificação tecidular, hidratação, preenchimento de espaços e função imunológica, uma vez que o AH é produzido durante a lesão, reparação e cicatrização dos tecidos através da ativação de células inflamatórias (Dahiya & Kamal, 2013; Jiang et al., 2011).

No periodonto encontra-se em maior proporção nos tecidos moles, na gengiva e no ligamento periodontal (Bertl et al., 2015; Jain, 2013).

O tecido conjuntivo periodontal, componente maioritário da gengiva, apresenta como constituintes principais as fibras de colagénio, os fibroblastos e os vasos e nervos que estão envolvidos por uma substância fundamental amorfa, a matriz. Essa matriz tem na sua constituição glicoproteínas e proteoglicanas, que por sua vez são constituídas por glicosaminoglicanas (Sukumar & Dřízhal, 2007).

2.2.1 - Estrutura química do Ácido Hialurónico

O AH é um polissacarídeo de cadeia linear não sulfatado e a sua estrutura primária é composta por cadeias repetidas de dissacarídeos, representado na figura 2, de ácido D-glucorónico e N-acetil-D-glucosamina unidos por ligações glicosídicas alternadas $\beta(1-3)$, $\beta(1-4)$ (Liu, Liu, Li, Du, & Chen, 2011; Salwowska, Bebenek, Zadlo, & Wcislo-Dziadecka, 2016).

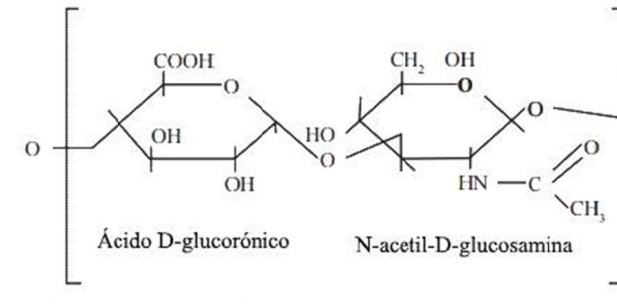


Figura 2: Estrutura molecular do ácido hialurónico (adaptado de Bansal et al. 2012)

O seu peso molecular varia consoante a sua origem, podendo variar entre os 10^2 e os 10^7 Da e tem comprimento de 2-25 μm , o que corresponde a 2000 a 25000 dissacarídeos (Sukumar & Dřízhal, 2007; Toole, 2004).

Na sua estrutura secundária, existem ligações de hidrogénio intramoleculares com cerca de 8 grupos de carbono-hidrogénio em lados alternados da molécula, formando as faces hidrofóbicas que ajudam na conformação da folha β . A estrutura terciária vai ser estabilizada posteriormente pela presença de pontes de hidrogénio intermoleculares. As interações entre as regiões hidrofóbicas e as pontes de hidrogénio associadas com a neutralização da repulsão electrostática, permitem que um grande número de moléculas se agregue formando redes moleculares de AH (Dahiya & Kamal, 2013; Toole, 2004).

Em solução fisiológica, a estrutura da molécula de ácido hialurónico é reforçada pela combinação da estrutura do dissacarídeo, das pontes de hidrogénio internas e pelas interações com o solvente. Os átomos axiais de hidrogénio formam uma face relativamente hidrofóbica, não polar, enquanto que o lado equatorial da cadeia forma uma face hidrofílica mais polar, criando desta forma uma estrutura em fita enovelada que expande aleatoriamente e vai ocupar um grande domínio (Hascall & Laurent, 1997).

2.2.2 - Biossíntese do ácido hialurónico

A maior parte das células do corpo tal como as células epiteliais, endoteliais, fibroblastos, músculo liso, estaminais embrionárias, hematopoiéticas e mesenquimais são capazes de sintetizar AH. Nos tecidos periodontais podemos incluir os fibroblastos, queratinócitos do tecido gengival e do ligamento periodontal, cementoblastos e osteoblastos do osso alveolar (Gontiya & Galgali, 2012; Jain, 2013; Jiang et al., 2011).

Nos mamíferos foram identificadas 3 tipos de sintases, sintase-1 do ácido hialurónico (HAS-1), sintase-2 do ácido hialurónico (HAS-2), sintase-3 do ácido hialurónico (HAS-3) que estão localizadas em diferentes autossomas. A HAS-1 e a HAS-2, sintetizam AH com maior massa molecular, em comparação com a HAS-3 que sintetiza AH de menor peso molecular. Desta forma, sugere-se que o AH pode desempenhar diferentes funções durante o desenvolvimento em células ou tecidos diferentes. Estas enzimas foram divididas em duas categorias, a família classe I onde se englobam as enzimas dos eucariotas e a família classe II (Jiang et al., 2011; Salwowska et al., 2016; Stern, Asari, & Sugahara, 2006; Toole, 2004).

O processo de síntese ocorre na face interna da membrana plasmática pelas sintases que usam uridina difosfato-ácido glucorónico (UDP-GlcA) e uridina difosfato-N-acetilglucosamina (UDP-GlcNAc). Desta forma o açúcar final reduzido da cadeia de AH permanece ligado por uma ligação covalente a uma molécula de uridina difosfato (UDP), quando é adicionado um novo açúcar, este vem ligado a outra molécula de UDP que acaba por deslocar a molécula de UDP anterior e assim o processo repete-se até que esteja finalizada a cadeia, aí ela é excretada pelos poros da membrana para o meio extracelular (Fraser et al., 1997; Jiang et al., 2011).

No seu estado nativo a molécula de AH normalmente existe como um polímero com a sua massa molecular elevada, > 1000 kDa, sendo as suas principais funções a de regulação e estruturais. Contudo quando sujeita a determinadas condições como lesão tecidular e inflamação existem determinados factores como espécies de oxigénio reativo e enzimas que fragmentam a molécula, apresentando deste modo uma massa molecular mais baixa (<500 kDa). Esses fragmentos induzem a expressão de determinadas proteínas, induzem a atividade enzimática dos macrófagos, estimulam a angiogénese (Gontiya & Galgali, 2012; Jiang et al., 2011; Stern et al., 2006).

2.2.3 - Degradação e turnover do Ácido Hialurónico

Existem enzimas que têm a função de degradar a molécula de AH em pequenos fragmentos através da hidrólise das cadeias $\beta(1-4)$, as hialuronidasas. Nos humanos existem 6 tipos, as hialuronidasas de 1 a 4, PH-20/SPAM e pseudogene-1 da hialuronidase (HYALP1) que é transcrito nos humanos, mas não é traduzido. Cada uma destas enzimas tem uma distribuição tecidular única excepto a PH-20 que se encontra amplamente dispersa. Hialuronidase-1 (Hyal-1) e Hialuronidase-2 (Hyal-2) são as 2

maiores hialuronidasas que degradam o AH nos tecidos somáticos, sendo que a Hyal-2 degrada o AH de maior massa molecular em fragmentos de aproximadamente 50/100 sacarídeos e a Hyal-1 degrada o AH de elevada massa molecular em pequenos oligômeros, principalmente tetrassacáridos (Jiang et al., 2011; Salwowska et al., 2016; Stern et al., 2006; Stern & Jedrzej, 2006).

Grande parte do AH existe na matriz extra celular sob a sua forma solúvel e liga-se covalentemente a algumas proteínas de forma a influenciar determinadas funções, tanto durante o desenvolvimento como durante o estado de doença. Essas proteínas que podem encontrar-se na matriz ou podem estar associadas às membranas, são: o CD44, TLR, RHAMM, Brevican, Neurocan, HARE, SHAP1 e TSG-6. Considerando as proteínas mais importantes, a CD44 é a maior proteína da superfície celular cuja interação tem estado associada ao crescimento, à resposta inflamatória, recrutamento e ativação das células T, crescimento e metastização de tumores e RHAMM (receptor da mobilidade mediada do AH) que tem um papel importante na reparação tecidual, oncogênese e locomoção das células tumorais. O AH pode também ficar retido na superfície celular devido a interações transmembranares com as sintases (Fraser et al., 1997; Jiang et al., 2011; Toole, 2004).

O turnover do AH existente nos tecidos pode ocorrer ou por drenagem linfática para a corrente sanguínea ou por metabolismo local. Em tecidos com estrutura densa como é o caso da cartilagem e do osso é provável que ocorra por metabolismo *in situ* uma vez que não existe drenagem linfática. Na pele e nas articulações cerca de 20-30% do metabolismo ocorre no local e a outra porção ocorre nas vias linfáticas. Quando atinge a corrente sanguínea, cerca de 85-90% vai ser eliminado no fígado, já os rins metabolizam cerca de 10%, apesar de só cerca de 1-2% ser excretado na urina. A fração de turnover que ocorre no plasma é cerca de 15-35% por minuto e o tempo de semi-vida do AH ronda de meio dia, a 2/3 dias independentemente da sua via de eliminação (Dahiya & Kamal, 2013; Fraser et al., 1997; Sukumar & Dřízhal, 2007).

2.2.4 - Propriedades e efeitos do Ácido Hialurônico

O AH apresenta propriedades químicas e biológicas, que o tornam muito útil no tratamento de processos inflamatórios em várias áreas da Medicina, como a oftalmologia, ortopedia, dermatologia e mais recentemente na Medicina Dentária.

Dentro das suas propriedades químicas podemos incluir a sua capacidade viscoelástica e natureza higroscópica; e nas biológicas o seu efeito bacteriostático, a biocompatibilidade e não antigenicidade, efeito anti-inflamatório, anti-edematoso, antioxidante, angiogénico, osteoindutivo e efeito de cicatrização (Bertl et al., 2015; Dahiya & Kamal, 2013).

2.2.4.1 – Propriedades Químicas

2.2.4.1.1 – Propriedade Higroscópica

O AH é uma das maiores moléculas higroscópicas existentes na natureza. Quando se encontra numa solução aquosa, liga-se através de pontes de hidrogénio ao grupo carboxil e N-acetil de moléculas adjacentes, o que permite que a molécula obtenha uma conformação rígida que retém a água, o que vai contribuir para o preenchimento e manutenção dos espaços intracelulares, lubrificação e absorção de choques. Devido a esta capacidade osmótica é capaz de provocar grandes efeitos na distribuição e nos movimentos da água (Bansal, Kedige, & Anand, 2010; Casale et al., 2016; Dahiya & Kamal, 2013; Fraser et al., 1997).

2.2.4.1.2 – Propriedade Viscoelástica

A propriedade viscoelástica do AH, permite manter os espaços e proteger as superfícies, permitindo que este intervenha nos procedimentos regenerativos periodontais, uma vez que ao influenciar as funções das células, estas vão modificar o meio intracelular e extracelular para um ambiente propício reduzindo a penetração dos vírus e das bactérias nos tecidos. A viscoelasticidade não é constante, varia consoante determinados factores: a velocidade do movimento oscilatório (com o aumento da velocidade a viscosidade diminui e a elasticidade aumenta), com o peso molecular e a sua concentração (quando estes se apresentam aumentados, a viscoelasticidade aumenta) (Casale et al., 2016; Dahiya & Kamal, 2013; Fraser et al., 1997).

2.2.4.2 – Propriedades e Efeitos Biológicos

2.2.4.2.1 – Propriedade Bacteriostática

Após a realização de alguns estudos em procedimentos cirúrgicos regenerativos utilizando membranas, verificou-se que a contaminação destas e do tecido envolvente, poderia afectar a formação da nova inserção. Desta forma ao se reduzir a carga bacteriana no local da ferida, melhorava-se o resultado clínico da terapia. Segundo Pirnazar, após o uso de membranas contendo ácido hialurónico, verificou-se que estas apresentavam vantagens em relação às convencionais, apesar de não apresentarem propriedades bactericidas, apresentaram propriedades bacteriostáticas (Pirnazar et al., 1999). A elevada concentração de moléculas de AH de médio e baixo peso apresentaram grandes efeitos bacteriostáticos, em particular no *Aggregatibacter Actinomycetemcomitans*, *Prevotella oris* e *Staphylococcus aureus*, que normalmente estão presentes nas lesões periodontais (Dahiya & Kamal, 2013; Rodrigues, Acharya, Bhadbhade, & Thakur, 2010).

2.2.4.2.2 – Biocompatibilidade e não Antigenicidade

O AH apresenta elevada biocompatibilidade e natureza não imunogénica. De forma a fornecer uma rigidez e durabilidade no gel que é inoculado nas células, podem ser feitas modificações como a esterificação e reticulação. Estes biopolímeros conseguem ser completamente biodegradados e permitem o crescimento dos fibroblastos, condrócitos e células mesenquimais (Dahiya & Kamal, 2013; Sukumar & Dřízhál, 2007).

Na esterificação os grupos carboxílicos do AH reagem com álcoois ativos ou inativos, dando origem a ésteres e água. Desta forma tem sido possível criar biopolímeros com propriedades físico-químicas diferentes das da própria molécula sem alterar a sua estrutura. Estes ésteres tem sido aplicados na produção de diversos dispositivos tais como: membranas, esponjas, microesferas e fibras (Benedetti et al., 1993; Iannace, Ambrosio, Nicolais, Rastrelli, & Pastorello, 1992).

A reticulação é um processo que ocorre devido à formação de ligações covalentes cruzadas entre moléculas lineares, produzindo polímeros tridimensionais

com elevada massa molecular, biocompatíveis e similares ao AH não modificado. Ao alterar as propriedades físicas e a solubilidade da molécula, são gerados géis com elevada capacidade de intumescimento e biocompatíveis. Na sua forma reticulada, o AH é reabsorvido mais lentamente, porque as enzimas responsáveis pela sua degradação têm mais dificuldade em difundir-se através da rede formada (Beniamino, Vadalà, & Laurino, 2016; Bergeret-Galley, 2004).

2.2.4.2.3 – Efeito anti-edematoso

O edema é provocado pela libertação de alguns mediadores como a histamina, bradiquinina e prostaglandinas, pela infiltração massiva dos leucócitos e pela retenção de líquidos. O AH ao reduzir a migração destas células inflamatórias e devido à sua atividade osmótica, que provoca grandes efeitos na distribuição da água, reduz a ocorrência de edema (Cortivo et al., 1996; Jentsch, Pomowski, Kundt, & Göcke, 2003; Pagnacco, Vangelisti, Erra, & Poma, 1997).

2.2.4.2.4 – Efeito antioxidante

Têm sido propostos vários mecanismos envolvidos na destruição dos tecidos periodontais. A união das enzimas bacterianas com as enzimas do hospedeiro, incluindo as proteases, metaloproteinases e glicosidases são consideradas o fator etiológico primário, porém existem outras espécies metabólicas prejudiciais, como é o caso das espécies de oxigénio reativo (ROS) que são predominantemente geradas pelos PMN durante a resposta inflamatória (Ding et al., 1995; Lamont & Jenkinson, 1998; Waddington, Moseley, & Embery, 1999).

As ROS incluem espécies radicais livres derivadas do oxigénio como: o radical superóxido (O_2^-), radical hidroxilo ($\text{OH}^\bullet$) e o radical óxido nítrico ($\text{NO}^\bullet$); e as espécies não radicais derivadas do oxigénio como: o peróxido de hidrogénio (H_2O_2) e o ácido hipocloroso (HOCL). Os PMN, sob estimulação do antígeno bacteriano vão produzir O_2^- que é libertado para o espaço extracelular, causando efeitos nocivos nas proteínas, nos lípidos e no DNA (ácido desoxirribonucleico). No AH os radicais vão atacar de forma aleatória múltiplos sítios da sua estrutura, e de seguida as ligações β (1-3) são

clivadas hidroliticamente (Miki et al., 2010; Moseley, Waddington, & Embery, 1997; Waddington et al., 1999).

Segundo Waddington “ Um antioxidante é definido como qualquer substância que, quando presente em baixas concentrações em comparação com o substrato oxidável, diminui ou inibe significativamente a oxidação desse substrato.” Os mecanismos pelos quais estas substâncias protegem o sistema biológico incluem a eliminação direta das ROS e o sequestro dos íons metálicos catalíticos livres que promovem a formação das ROS. (Waddington et al., 1999)

O AH de elevado peso molecular pode exercer um efeito protetor frente às espécies de oxigênio reativas, através do seu efeito antioxidante. O AH apresenta grupos funcionais hidroxilo que presumivelmente absorvem essas espécies, interagem com os receptores CD44, ativando desta forma as vias envolvidas na regulação do estado redox celular e geração intracelular de ROS e formam uma “capa citoprotetora” em volta da membrana celular protegendo-a da apoptose (Litwiniuk, Krejner, & Grzela, 2016; Miki et al., 2010; Ye et al., 2012).

2.2.4.2.5 – Efeito osteoindutivo e osteocondutivo

Segundo Kim e Mendes o AH apresenta um efeito osteoindutivo ao promover, a migração e estimulação de células endoteliais que vão formar uma extensa rede de vasos sanguíneos, essencial para a deposição de tecido ósseo. Por outro lado Briguglio e Mendes concluíram que o AH apresentava um efeito osteocondutivo, e que podia ser usado como transportador de factores de crescimento como a proteína-2 óssea morfogenética (BMP-2) e a Osteopontina. A BMP-2 induz a diferenciação das células mesenquimais para osteoblastos, síntese de colagénio pelos fibroblastos, assim como a produção de proteínas da matriz óssea pelos osteoblastos. A osteopontina que pode ser encontrada nos fibroblastos, osteoblastos e células osteoprogenitoras, induz a mineralização da matriz óssea (Briguglio, Briguglio, Briguglio, Cafiero, & Isola, 2013; Kim, Song, Amara, Kyung-Rim, & Koo, 2016; Luca, Rougemont, Walpoth, Gurny, & Jordan, 2010; Mendes et al., 2008).

2.2.4.2.6 – Efeito de Cicatrização

Muitos dos processos biológicos mediados pelo AH são importantes no processo de cicatrização, que segue uma série de eventos sequenciais estritamente regulados: inflamação, formação de tecido de granulação, reepitelização e fase de remodelação (Chen, 1999; Chen & Abatangelo, 1999; Dahiya & Kamal, 2013).

Na **inflamação**, a primeira fase que ocorre após a danificação dos tecidos, as células inflamatórias, fibroblastos e células endoteliais são induzidos a produzir vários factores como as citocinas, os eicosanóides e factores de crescimento, que vão intervir nos passos seguintes da cicatrização (Chen, 1999; Chen & Abatangelo, 1999; Gurtner, Werner, Barrandon, & Longaker, 2008).

Na fase inicial há um aumento da produção de AH, que se sabe estar envolvido no aumento da proliferação celular na zona afetada. As citocinas pró-inflamatórias TNF- α , IL-1 β e IL-8 são produzidas pelos fibroblastos através do mecanismo mediado pelo receptor CD44. As células endoteliais microvasculares e os lipopolissacarídeos bacterianos, em resposta a estes acontecimentos, vão sintetizar AH, que ao moderar a inflamação, acaba por contribuir para a estabilização da matriz do tecido de granulação (Chen, 1999; Chen & Abatangelo, 1999; Gurtner et al., 2008).

A matriz do **tecido de granulação** é rica em AH contribuído para uma série de funções que são essenciais na reparação dos tecidos: migração celular, proliferação celular, moderação da resposta inflamatória e angiogénese (Chen, 1999; Dicker et al., 2014; Olczyk, Mencner, & Komosinska-vassev, 2014).

A presença de uma matriz hidratada e de recetores na superfície celular, particularmente o RHAMM, cria ligações com proteínas quinase e permite mediar os mecanismos de locomoção; já a própria síntese de AH parece promover a força dinâmica, necessária para facilitar a migração das células (Dicker et al., 2014).

O AH parece ter um papel indireto na proliferação celular, ao facilitar a divisão celular em resposta ao fatores mitogénicos, que são abundantes durante as fases iniciais da regeneração tecidular (Dicker et al., 2014; Olczyk et al., 2014).

Embora a inflamação seja uma parte fundamental na formação do tecido de granulação, para se prosseguir para uma reparação normal do tecido, esta tem de ser moderada. Nas fases iniciais verificou-se que este tecido era altamente inflamatório, com um rácio de turnover muito aumentado, mediado pelas enzimas que degradam a

matriz e pelos metabolitos reativos de oxigénio (Chen, 1999; Chen & Abatangelo, 1999; Dicker et al., 2014).

Enquantoque os fragmentos de AH induzem a inflamação ao produzirem determinados fatores pró-inflamatórios, como já foi referido anteriormente, tem sido comprovado que o AH de elevado peso molecular apresenta uma atividade anti-inflamatória e imunossupressora através da ligação a proteínas designadas de hialaderinas, que por sua vez se ligam a inibidores das proteases de serinas, formando o complexo fator de estimulação de necrose tumoral-6/ inibidor inter- α (TSG-6/ $\text{I}\alpha\text{I}$) e desenvolvendo um mecanismo de feedback negativo no controlo da inflamação e estabilização da matriz extracelular (Bansal et al., 2010; Beniamino et al., 2016; Casale et al., 2016; Chen & Abatangelo, 1999; Gontiya & Galgali, 2012; Litwiniuk et al., 2016).

O AH também apresenta um papel no controlo da angiogénese, uma parte essencial da fase proliferativa do processo de cicatrização. Embora o AH de elevado peso molecular iniba este processo, através da inibição da proliferação, mobilidade e formação de novas células endoteliais (EC), os oligossacáridos do AH de baixo peso molecular pelo contrário, promovem-no, assim como induzem a produção de colagénio pelas EC. Este fenómeno pode estar relacionado com o facto de os fragmentos induzirem a expressão de vários genes pró-inflamatórios incluindo $\text{TNF-}\alpha$ e $\text{IL-1}\beta$. (Chen, 1999; Jiang et al., 2011; Litwiniuk et al., 2016; Mo et al., 2011; Slevin et al., 2007; Slevin, Kumar, & Gaffney, 2002; Toole, 2004; Turley, Noble, & Bourguignon, 2002).

A presença de AH na epiderme vai ter um papel importante no processo de **reepitelização** devido às suas propriedades de eliminação dos radicais livres, assim como pela sua capacidade de intervir na proliferação e migração dos queratinócitos (Chen, 1999; Chen & Abatangelo, 1999; Olczyk et al., 2014; Reinke & Sorg, 2012).

A **remodelação** é a última fase do processo de cicatrização. Aqui o tecido de granulação evolui para a forma de cicatriz, que é acompanhada por um aumento da resistência mecânica. O teor de proteoglicanas e glicosaminoglicanas diminui, assim como a densidade celular e a sua atividade metabólica, existindo um aumento na proporção de colagénio que apresenta uma conformação espacial organizada conferindo deste modo um aumento da resistência à tração dos tecidos (Olczyk et al., 2014; Reinke & Sorg, 2012).

2.2.5 - Aplicações do ácido hialurónico

Devido às suas propriedades físicas/químicas e sobretudo à não imunogenicidade da sua forma purificada, o AH tem sido usado em várias aplicações médicas: na cosmética, onde é usado como preenchimento dérmico, durante as cirurgias para prevenir a formação de cicatriz, na ortopedia para o tratamento da artrite reumatoide e osteoartrite do joelho, na oftalmologia para o tratamento das cataratas e xeroftalmia, no campo da engenharia tecidual por causa do seu papel na organogénese, na indústria farmacêutica, onde tem sido usado como um agente transportador de fármacos e por fim mas não menos importante, no campo da medicina dentária (Bartold, Xiao, Lyngstaadas, Paine, & Snead, 2006; Dahiya & Kamal, 2013; Monheit & Coleman, 2006; Neuman, Nanau, Oruña-sanchez, & Coto, 2015; Salwowska et al., 2016).

Na medicina dentária o AH pode ser usado para auxiliar a cicatrização em intervenções maxilofaciais, no tratamento da osteoartrite da articulação temporo-mandibular (ATM), em processos de reparação dentinária e regeneração pulpar e em vários procedimentos na área da periodontologia (Aguado, Martín, León, Leyva, & Ravassa, 2001; Bansal et al., 2010; Kiliç & Güngörmüş, 2016; Sasaki & Kawamata-Kido, 1995).

Embora no campo da Periodontologia o AH seja usado principalmente como um coadjuvante do tratamento não cirúrgico da doença periodontal, pode ter outras aplicações:

- Transportador de moléculas em vários procedimentos regenerativos (Bansal et al., 2010);
- regeneração óssea de defeitos periodontais (Ballini, Cantore, Capodiferro, & Grassi, 2009; Bansal et al., 2010; Engstrom et al., 2001);
- regeneração óssea guiada (Bansal et al., 2010; Briguglio et al., 2013);
- tratamento não cirúrgico de bolsas peri-implantares (Bansal et al., 2010; Nobre, Carvalho, & Malo, 2009);

- manutenção da zona peri-implantar em implantes de carga imediata (Bansal et al., 2010; de Araújo Nobre, Cintra, & Maló, 2007; Hammad, Hammad, Abdelhadi, & Khalifeh, 2011);
- como enxerto autólogo para aumento gengival na cirurgia mucogengival (Ballini et al., 2009; Bansal et al., 2010);
- como agente para minimizar a recessão gengival após cirurgia (Fawzy El-Sayed, Dahaba, Aboul-Ela, & Darhous, 2012);
- na promoção da cicatrização de lesões traumáticas, inflamações e úlceras (Beniamino et al., 2016; Hammad et al., 2011);

2.2.6 - Aplicação de AH no tratamento não cirúrgico da periodontite

A doença periodontal é uma doença de etiologia multifactorial que envolve uma ação recíproca entre os fatores ambiente, hospedeiro e microbiano. Sendo estes últimos um dos principais factores etiológicos, um dos componentes do tratamento consiste em eliminar ou controlar estes patógenos. A destartarização e o alisamento radicular são considerados o tratamento de referência, mas por vezes devido a determinadas condicionantes como a alteração da anatomia do dente, ou profundidades de bolsas muito elevadas estes podem tornar-se ineficazes. De forma a aumentar a eficácia do tratamento não cirúrgico, pode-se utilizar coadjuvantes sistémicos e tópicos (Bonito, Lux, & Lohr, 2005; Kalsi, Vandana, & Prakash, 2011; Penala et al., 2016).

Os agentes farmacoterapêuticos são usados para eliminar, reduzir ou alterar os efeitos dos microrganismos na cavidade oral e aumentar o nível dos mediadores anti-inflamatórios. Para aplicação tópica, normalmente apresentam-se sob a forma de colutórios ou dentífricos, sendo que a aplicação sistémica de antibióticos normalmente utiliza-se nos casos de periodontites agressivas, periodontite refratária ou quando há um comprometimento do tratamento devido ao estado de saúde do paciente (Sukumar & Dřizhal, 2007; Wilder & Ryan, 2010).

Devido às suas propriedades o AH tem vindo a ser estudado como meio coadjuvante no tratamento não cirúrgico da periodontite e na gengivite.

Por forma a avaliar o contributo do AH no tratamento da doença periodontal foram realizados vários estudos nos últimos anos apresentados na

tabela 1 enumeramos as características gerais dos estudos: número de pacientes, média de idades, procedimento adotado na intervenção não cirúrgica, local de aplicação, frequência e período de aplicação e produto aplicado.

Autor(ano)	Nº pacientes (M/F)	Média idades em anos	Intervenção não cirúrgica (grupo CvsI)	Local de aplicação	Frequência e período de aplicação	Produto aplicado
<i>Chauhan et al. (2013)</i>	60 (30/30)	38	AR AR + AH AR + CHX	Subgingival	1 aplicação na 1ª consulta	Gengigel® (0.8%) Clorhexidina (1.5%)
<i>Eick et al. (2013)</i>	42 (18/24)	NR	AR AR + AH	Subgingival e supragingival	Sub: 1 aplicação na 1ª consulta Supra: 28 aplicações (2x/dia) durante 14 dias	Sub: Gengigel® (0.8%) Supra: Gengigel® (0.2%)
<i>Engstrom et al. (2001)</i>	9 (4/5)	48	AR AR + AH	Subgingival	3 aplicações com 1 semana de intervalo durante 14 dias	Healon GV®
<i>Goniya & Galgali (2012)</i>	26 (11/15)	NR	AR AR + AH	Subgingival	4 aplicações com 1 semana de intervalo num período de 21 dias	Gengigel® (0.2%)
<i>Johannsen et al. (2009)</i>	12 (7/5)	NR	AR AR + AH	Subgingival	2 aplicações com 1 semana de intervalo durante 7 dias	Gengigel® (0.8%)
<i>Koshal et al. (2007)</i>	52 (NR)	NR	AR + placebo AR + AH	Subgingival	1 aplicação na 1ª consulta	Gengigel® (0.8%)
<i>Pilloni et al. (2011)</i>	19 (10/9)	42	AR AR + AH	Supragingival	21 aplicações durante 21 dias	HYAFF®
<i>Rajan et al. (2014)</i>	33 (15/18)	NR	AR AR + AH	Subgingival	2 aplicações com 1 semana de intervalo durante 7 dias	Gengigel® (0.2%)
<i>Polepalle et al. (2015)</i>	18 (11/7)	47	AR AR + AH	Subgingival	2 aplicações com 1 semana de intervalo durante 7 dias	Gengigel® (0.8%)
<i>Xu et al. (2004)</i>	20 (11/9)	49	AR AR + AH	Subgingival	7 aplicações durante 42 dias	Gengigel® (0.2%)

Tabela 1: Características gerais dos estudos sobre aplicação de AH no tratamento não cirúrgico da doença periodontal

Na tabela 2 enumeramos os resultados de diversos estudos realizados, que avaliam a eficácia do AH na redução dos parâmetros HS, PS e NIP.

Tabela 2: Resultados dos estudos sobre aplicação de AH no tratamento não cirúrgico da doença periodontal

Autor (ano)	Grupo	Resultados iniciais			Follow-up	Resultados finais		
		HS (%)	PS (mm)	NIP (mm)		HS (%)	PS (mm)	NIP (mm)
Chauhan et al. (2013)	Controlo	NR	5,9± 0,3	6,10± 0,4	13	NR	4,3± 0,3	5,55± 0,4
	Teste	NR	5,93± 0,6	6,13± 0,5		NR	3,43± 0,4	4,88± 0,4
Eick et al. (2013)	Controlo	18,8	4,1± 0,4	5,7± 0,6	26	5,18	3,28± 0,4	4,36± 0,6
	Teste	16,3	4,2± 0,4	5,5± 0,9		7,46	3,13± 0,4	4,26± 0,6
Engstrom et al. (2001)	Controlo	NR	6,8± 0,5	NR	52	NR	3,7± 1,5	NR
	Teste	NR	6,4± 1,3	NR		NR	3,9± 1,4	NR
Gontiya & Galgali(2012)	Controlo	1,0*	6,42± 0,4	8,56± 0,4	12	0,0*	4,94± 0,3	7,64± 0,5
	Teste	1,0*	6,57± 0,5	8,91± 0,4		0,2*	4,82± 0,3	7,60± 0,6
Johannsen et al. (2009)	Controlo	58 [⊙]	4,2 [■]	4,5 [■]	12	25[⊙]	3,4[■]	4,4 [■]
			(3,6- 4,7)	(4,2-4,7)			(2,9-3,8)	(4,1-4,6)
	Teste	75 [⊙]	4,2 [■]	4,4 [■]		22[⊙]	3,2[■]	4,4 [■]
Koshal et al. (2007)	Controlo	1,99	3,91± 0,9	NR	12	1,50	3,19± 1,1	NR
	Teste	2,02	3,83± 0,8	NR		0,83	2,59± 0,9	NR
Pilloni et al. (2011)	Controlo	31,1	3,3± 0,6	2,0± 0,5	3	7,1	3,0± 0,7	2,0± 0,4
	Teste	39,6	3,3± 0,6	2,2± 0,7		2,9	2,5± 0,7	1,9± 0,8
Rajan et al. (2014)	Controlo	1,0*	6,09± 1,3	9,12± 1,7	12	0,48	4,36± 1,3	7,48± 1,5
	Teste	1,0*	6,33± 1,0	10,2± 2,1		0,06	2,49± 0,5	6,91± 1,2
Polepalle et al. (2015)	Controlo	1,0*	5,21± 0,5	5,41± 0,7	12	0,80	4,49± 0,5	4,71± 0,6
	Teste	1,0*	4,99± 0,3	5,4± 0,7		0,22	2,45± 0,3	2,68± 0,6
Xu et al. (2004)	Controlo	72	5,2± 1,6	5,4± 2	12	23	4,2± 1,6	4,5± 1,9
	Teste	78	5,3± 1,6	5,5± 1,8		19	4,3± 1,5	4,5± 1,7

■ Média (intervalo de confiança de 95%)

⊙ Mediana

Valores em bold e laranja: p<0,05 entre o grupo de controlo e o grupo experimental

* Índice de Hemorragia

NR (não representado)

II - Objectivo e Hipótese

Com o presente estudo pretende-se avaliar o efeito da aplicação tópica de AH como coadjuvante no tratamento não cirúrgico da periodontite através da monitorização de diversos parâmetros clínicos periodontais: IP, IG, HS, NIP e PS.

Para tal foi equacionada a seguinte hipótese:

H0: Os quadrantes onde foi aplicado AH a 0,8% após AR não apresentam melhorias estatísticas significativas nos parâmetros periodontais HS, PS, NIP em comparação com os quadrantes onde só foi realizado AR.

H1: Os quadrantes onde foi aplicado AH a 0,8% após AR apresentam melhorias estatísticas significativas nos parâmetros HS, PS, NIP em comparação com os quadrantes onde só foi realizado AR.

III - Materiais e Métodos

1- Considerações Éticas

O projeto de investigação foi submetido e aprovado pela Comissão de Ética da Cooperativa de Ensino Superior Egas Moniz.

Os pacientes intervenientes no estudo assinaram o termo de consentimento informado em como consentiam em participar no estudo, após terem sido devidamente informados acerca do objetivo da investigação. A identificação de todos os dados foi substituída por um código de forma a garantir uma total confidencialidade e anonimato.

2- Local do Estudo

O estudo experimental de boca dividida foi realizado na Clínica Universitária do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz entre Março e Setembro de 2016.

3- Desenho do Estudo

Foi realizado um estudo experimental controlado aleatório de boca dividida em 17 pacientes (10 homens e 7 mulheres), exemplificado na figura 3, onde foram seleccionados dois quadrantes. Num dos quadrantes, escolhido aleatoriamente, foi realizado apenas o alisamento radicular; no outro, após alisamento radicular foi feita aplicação tópica de ácido hialurónico a 0,8%. Os parâmetros em estudo, IP, IG, HS, PS, NIP foram avaliados antes do tratamento, às 6 semanas e às 12 semanas.

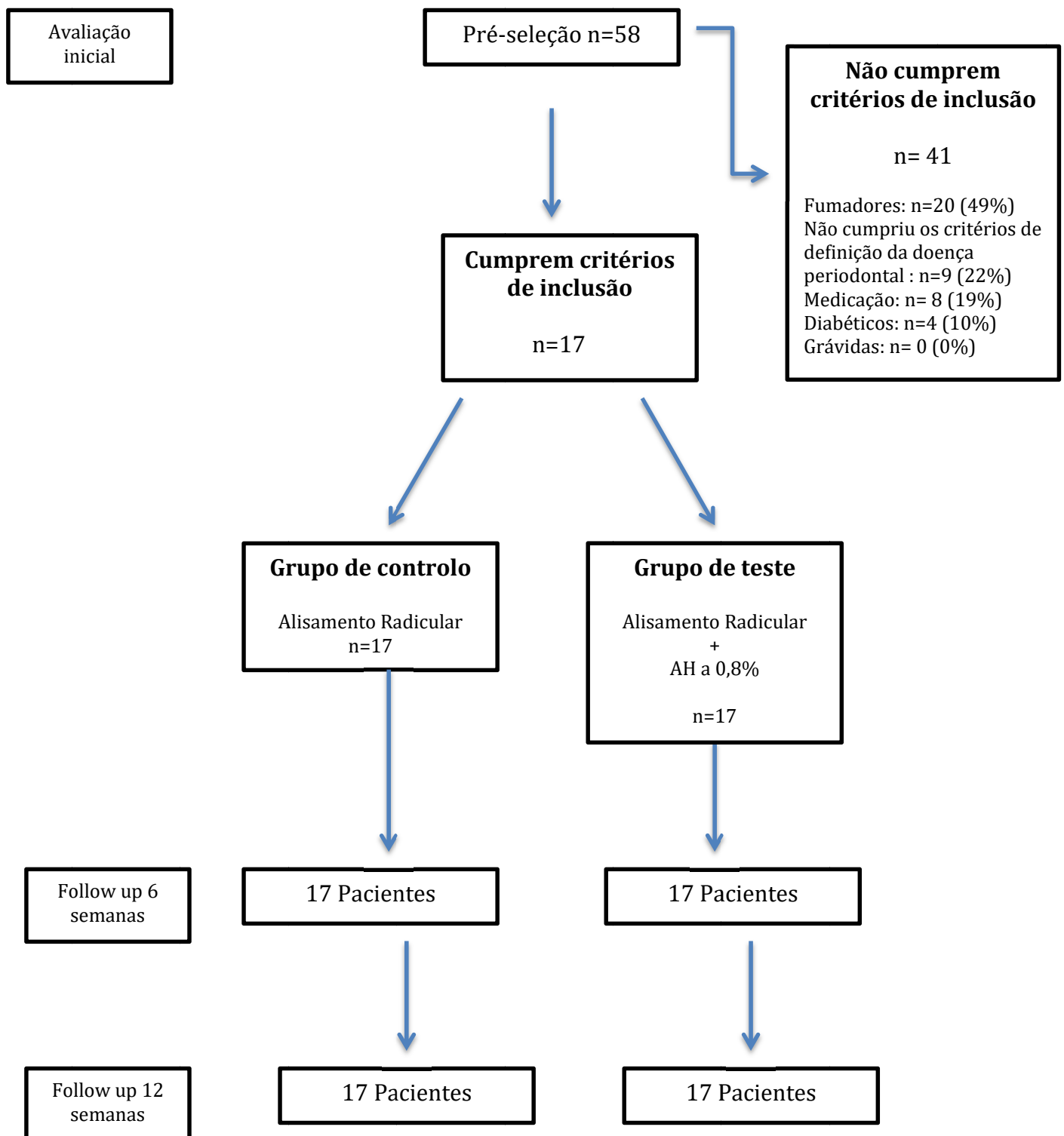


Figura 3: Fluxograma do procedimento experimental

4- Estudo Clínico

4.1 – Seleção da amostra

A amostra de conveniência foi constituída por 17 pacientes com periodontite crónica moderada ou severa, seguidos na especialidade de Periodontologia na Clínica Dentária do Instituto Superior de Ciências da Saúde Egas Moniz, de Março a Setembro de 2016.

4.2 – Critérios de inclusão

Para a seleção dos pacientes foram determinados como critérios de inclusão que:

- fossem maiores de idade;
- fossem seguidos na Clínica Dentária Egas Moniz;
- assinassem o consentimento informado;
- fosse possível fazer as medições dos vários parâmetros;
- não estivessem a participar noutro estudo.

4.3 – Critérios de exclusão

Foram excluídos pacientes que:

- não apresentem idade compreendida entre os 18 e os 70 anos;
- não apresentem pelo menos 20 dentes em boca;
- não apresentem periodontite crónica moderada ou severa com profundidades de bolsa $\geq$ a 5mm;
- tivessem recebido tratamento periodontal há menos de 6 meses;
- tivessem feito toma regular de antibióticos e anti-inflamatórios nos últimos 3 meses;
- grávidas;
- fumadores;

- não fossem sistemicamente saudáveis (diabetes, osteoporose, síndrome de imunodeficiência adquirida e distúrbios hematológicos).

4.4 – Calibração do examinador para realização do estudo

A utilização de medições clínicas padronizadas é fundamental de forma a garantir a validade e a fiabilidade dos resultados do ensaio clínico.

Em investigação clínica em periodontologia, a calibração consiste na repetição da recolha de medições pelo examinador que irá conduzir a recolha de dados e um examinador experiente e padronizado (Gold Standard).

Previamente ao início do estudo, foram realizadas sessões de treino que foram programadas num período de 2 dias. No primeiro dia foi feita uma sessão de consolidação de conhecimentos, onde o examinador reviu em detalhe os parâmetros clínicos incluídos no protocolo de estudo e no segundo dia foi feita uma sessão de avaliação, onde o examinador realizou as sondagens dos parâmetros propostos no estudo e os resultados foram avaliados de forma a determinar a concordância intra e inter-examinadores.

Para determinar a reprodutibilidade intra-examinador, foram efectuadas duas sondagens de um quadrante inteiro em 5 pacientes voluntários, com um intervalo de 15 dias.

Na avaliação inter-examinador, o examinador fez a sondagem e de seguida o examinador de referência realizou as mesmas sondagens e os resultados foram comparados. Caso houvesse uma diferença maior do que 1 mm, o processo seria repetido.

4.5– Recolha de dados

Os parâmetros índice de placa, índice gengival, hemorragia à sondagem, profundidade de sondagem e nível de inserção periodontal foram determinados com recurso a uma sonda periodontal graduada CP-12 (*Hu-Friedy*®, Chicago, IL, EUA).

No diagnóstico efectuado as variáveis clínicas IP e IG foram avaliadas em 4 localizações por dente (mesio-vestibular, centro-vestibular, disto-vestibular e palatino/lingual) enquanto as variáveis HS, PS e NIP foram avaliadas em 6 localizações (mesio-vestibular, centro-vestibular, disto-vestibular, disto-palatino, centro-palatino e mesio-palatino).

4.5.1 – Índice de Placa

Foi utilizada uma variante simplificada do Índice de placa (Índice de placa visível), proposta por Ainamo e Bay (1975). Neste caso, o critério de classificação é binominal e baseia-se na presença/ausência de placa nas diversas superfícies dentárias:

- 0 - Ausência de placa
- 1 - Presença de placa visível

$$\text{Cálculo do Índice de placa: IP(\%)} = \frac{\text{Nº superfícies com placa}}{\text{Nº superfícies avaliadas}} \times 100$$

4.5.2 – Índice Gengival

Para a avaliação da inflamação gengival foi utilizada uma variante simplificada do Índice gengival, proposta também por Ainamo e Bay (1975). Neste caso o critério de classificação é igualmente binominal:

- 0 - Ausência de sangramento
- 1 - Presença de sangramento da margem gengival até 10s após sondagem

$$\text{Cálculo do Índice Gengival: IG (\%)} = \frac{\text{Nº superfícies com hemorragia}}{\text{Nº superfícies avaliadas}} \times 100$$

4.5.3 – Profundidade de Sondagem

A profundidade de sondagem define-se como a distância, em milímetros, desde a margem gengival ao fundo do sulco/bolsa gengival. Todas as superfícies dentárias (mesio-vestibular, centro-vestibular, disto-vestibular, disto-lingual, centro-lingual e mesio-lingual) foram avaliadas com uma sonda periodontal graduada de 3 em 3mm.

As medições foram arredondadas ao milímetro superior. Através da soma de todos os valores da PS foi calculado o valor médio da PS para cada paciente, nos vários momentos de avaliação.

4.5.4 – Hemorragia à sondagem (BOP)

O sangramento após a sondagem é um meio usual de avaliar a presença de inflamação subgengival, embora o seu valor preditivo negativo seja superior, isto é, quando não existe hemorragia. Desta forma, é possível verificar se uma bolsa se apresenta no seu estado ativo ou inativo. A medição é feita concomitantemente com a avaliação da PS.

Uma variante simplificada do índice de hemorragia à sondagem foi proposta por Mühlemann & Son, (1971). Neste caso o critério de classificação é binominal:

- 0-** Ausência de sangramento nos 15s seguintes;
- 1-** Presença de sangramento da margem gengival nos 15s seguintes.

O cálculo é obtido ao dividir as zonas onde houve hemorragia à sondagem pelo número total de zonas avaliadas.

4.5.5 – Nível de inserção Periodontal

O nível de inserção define-se como a distância em milímetros desde a junção amelo-cementária (JAC) até ao fundo da bolsa ou sulco gengival. Todas as superfícies dentárias (mésio-vestibular, centro-vestibular, disto-vestibular, disto-lingual, centro-lingual e mésio-lingual) foram avaliadas com uma sonda periodontal graduada de 3 em 3mm.

As medições foram arredondadas ao milímetro superior. Através da soma de todos os valores da PS foi calculado o valor médio para cada paciente, nos vários momentos de avaliação.

A avaliação clínica requer a medição da distância da margem gengival livre à JAC. Deste modo o nível de inserção pode ser calculado da seguinte forma:

$$\begin{array}{l}
 \text{Recessão Gengival:} \quad \boxed{\text{Profundidade da bolsa}} + \boxed{\text{Distância da margem gengival à JAC}} \\
 \\
 \text{Aumento Gengival:} \quad \boxed{\text{Profundidade da bolsa}} - \boxed{\text{Distância da margem gengival à JAC}}
 \end{array}$$

4.6 – Materiais Utilizados

Para o exame intraoral e tratamento não cirúrgico periodontal foram utilizados:

- Espelho intraoral
- Sonda Periodontal
- Destartarizador
- Carpul
- Compressas
- Curetas Gracey
- Seringas pré-preparadas com 1 ml de AH a 0,8% da marca Gengigel® (Ricerfarma, Itália)

4.7 – Protocolo de aplicação

O protocolo de aplicação do ácido hialurónico foi o seguinte:

1. Anestesia infiltrativa com lidocaína a 2%;
2. Alisamento radicular segundo o protocolo clínico habitual;
3. Obtenção de hemostase, sempre que possível, aplicando uma pressão suave com compressa, durante cerca de 3 min;
4. Pressionar o êmbolo da seringa para que o gel venha até à ponta, fazendo sair todo o ar do interior da seringa;
5. Introdução da agulha no interior da bolsa, seguido do preenchimento da mesma com o gel (no sentido apico-coronal);
6. Depois do procedimento o paciente é instruído para não comer, beber ou bochechar durante pelo menos 30 min, de forma a que o gel permaneça na bolsa o maior tempo possível.

4.8– Análise Estatística

Inicialmente todos os resultados recolhidos foram introduzidos numa base de dados criada num ficheiro do Microsoft Office Excel® 2010 (Microsoft, Seattle, USA). A análise estatística foi efectuada usando o programa SPSS (Statistical Package for the Social Sciences) versão 22.0 para o Windows.

A análise envolveu medidas de estatística descritiva (frequências absolutas e relativas, médias e respectivos desvios-padrão) e estatística inferencial onde foi usado o coeficiente de correlação intraclasses, o coeficiente de correlação de Spearman, o teste t de Student para amostras independentes e a ANOVA de medições repetidas. Os pressupostos do teste t-Student e da ANOVA de medições repetidas, nomeadamente o pressuposto de homogeneidade de variâncias e o pressuposto de normalidade foram analisados com o teste de Levene e teste de Shapiro-Wilk. Quando os pressupostos não se encontravam satisfeitos usou-se o teste de Mann-Whitney como alternativa ao teste t de Student e a ANOVA de Friedmann como alternativa à ANOVA de medições repetidas. Nesta situação, para facilidade de interpretação apresentou-se nas estatísticas descritivas os valores das médias e não os valores das ordens médias.

O nível de significância para aceitar ou rejeitar a hipótese nula foi fixado em $\leq 0,05$.

O nível de inserção foi considerado a variável dependente na investigação.

IV- Resultados

1 - Calibração do examinador

Foram realizadas sondagens em 6 pacientes pelo examinador e de seguida o examinador principal repetiu as mesmas sondagens. Estipulou-se que havia concordância se a diferença entre os valores encontrados fosse inferior a 1 mm.

O grau de concordância, medido com o coeficiente de correlação intraclass (ICC) inter-examinador foi de 0,995 e intra-examinador foi de 0,996, como podemos observar na tabela 3, o que significa que a reprodutibilidade das medições é excelente.

Tabela 3: Concordância inter-examinador e intra-examinador

	Correlação Intraclass (ICC)	
	Inter-examinador	Intra-examinador
Média	0,995	0,996

2 - Caracterização da amostra

O estudo foi efectuado em 17 pacientes, dos quais 10 eram homens e 7 eram mulheres, com uma idade média de 52 anos (com extremos entre os 28 e os 68 anos).

A figura 4 mostra a percentagem de pacientes examinados segundo a faixa etária, sendo que 41% apresenta uma idade compreendida entre os 50 – 60 anos, 29% entre os 40 – 50, 24% entre os 60 – 70, 6% entre os 20 – 30, e 0% entre os 30 – 40.

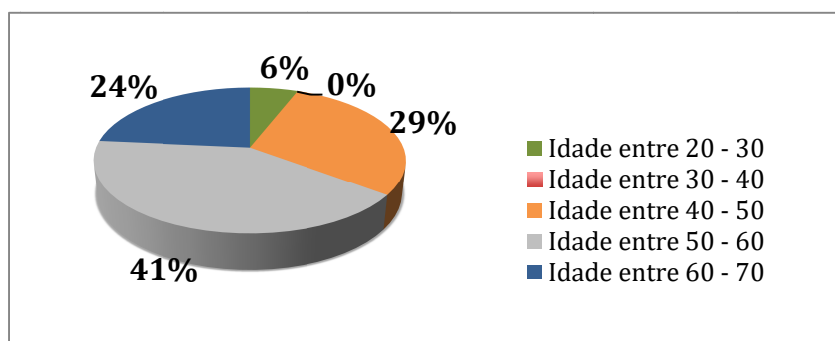


Figura 4: Percentagem de pacientes avaliados, segundo a faixa etária

3- Evolução dos parâmetros avaliados no grupo de controlo

Constatou-se que não existe normalidade nos resultados dos parâmetros em avaliação através do teste de normalidade Shapiro-Wilk, como tal realizou-se o teste de ANOVA de Friedman (F). Concluiu-se que da primeira para a terceira consulta não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no parâmetro IP e foram encontradas alterações estatísticas significativas nos parâmetros IG, HS, PS, NIP, como se pode observar na tabela 4.

Tabela 4: Evolução dos parâmetros IP, IG, HS, PS e NIP do grupo controlo

	1ª consulta		2ª consulta		3ª consulta		F
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio padrão	
Índice de Placa	24,65	17,54	19,46	15,86	16,49	12,93	5,065
Índice Gengival	16,54	12,15	5,89	6,26	7,16	9,51	12,133***
Hemorragia à sondagem	31,39	20,28	20,40	15,16	14,61	8,69	8,719*
Profundidade de sondagem	3,94	0,63	3,38	0,68	3,26	0,56	21,164***
Nível de inserção periodontal	4,76	1,11	4,31	1,12	4,24	1,01	13,821***

* $p \leq 0,05$ *** $p \leq 0,001$

Índice de Placa

Os valores do IP foram sempre diminuindo entre consultas, sendo que na primeira consulta apresentou uma descida mais acentuada ($24,65 \pm 17,54$ vs $19,46 \pm 15,86$) quando comparada com a diferença entre a segunda e a terceira consulta ($19,46 \pm 15,86$ vs $16,49 \pm 12,93$).

Índice gengival

O teste de comparações emparelhadas, ANOVA Friedman (2) = 12,133, $p = 0,002$, indica-nos que as diferenças significativas se encontram entre a primeira e a

segunda consulta ($16,54 \pm 12,15$ vs $5,89 \pm 6,26$) e entre a primeira e a terceira consulta ($16,54 \pm 12,15$ vs $7,16 \pm 9,51$).

Hemorragia à sondagem

O teste de comparações emparelhadas, ANOVA Friedman (2) = 8,719, $p = 0,013$, indica-nos que as diferenças significativas se encontram entre a primeira e a terceira consulta ($31,39 \pm 20,28$ vs $14,61 \pm 8,69$), com uma redução média de 16,78%.

Profundidade sondagem

O teste de comparações emparelhadas, ANOVA Friedman (2) = 21,164, $p = 0,001$, indica-nos que as diferenças significativas se encontram entre a primeira e a segunda consulta ($3,94 \pm 0,63$ vs $3,38 \pm 0,68$) e entre a primeira e a terceira consulta ($3,94 \pm 0,63$ vs $3,26 \pm 0,56$). Desta forma, a PS apresentou uma redução média de 0.68mm entre a primeira e a terceira consulta.

Nível de inserção periodontal

O teste de comparações emparelhadas, ANOVA Friedman (2) = 13,821, $p = 0,001$, indica-nos que as diferenças significativas se encontram entre a primeira e a terceira consulta (4,24 vs 4,76), com um ganho médio de 0,52mm.

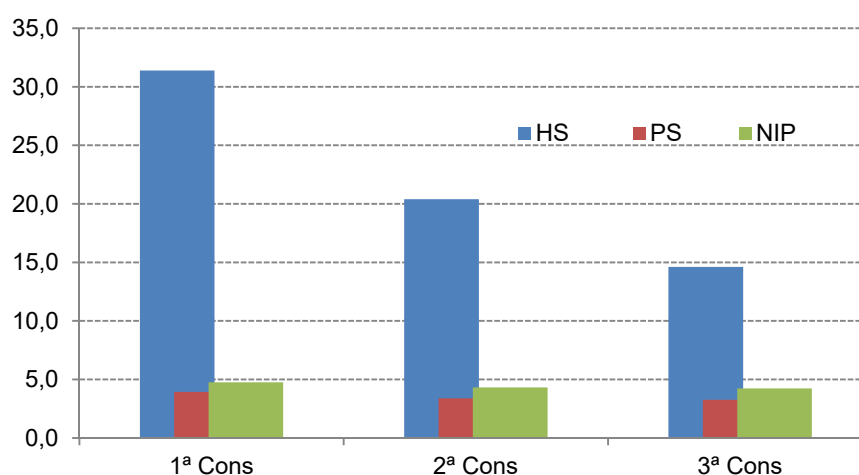


Figura 5: Gráfico da evolução dos parâmetros HS, PS e NIP do grupo controlo

4- Evolução dos parâmetros avaliados no grupo experimental

Constatou-se que não existe normalidade nos resultados dos parâmetros HS, PS, NIP através do teste de normalidade Shapiro-Wilk, como tal realizou-se o teste de ANOVA de Friedman (F). Concluiu-se que da primeira para a terceira consulta não foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no parâmetro IP e foram encontradas alterações estatísticas significativas nos parâmetros IG, HS, PS, NIP, como podemos analisar na tabela 5.

Tabela 5: Evolução dos parâmetros IP, IG, HS, PS e NIP do grupo experimental

	1ª consulta		2ª consulta		3ª consulta		F
	Média	Desvio psdrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	
Índice de Placa	19,99	17,27	21,77	18,02	15,53	13,72	1,279
Índice Gengival	9,02	6,02	10,54	13,13	3,79	5,17	6,300*
Hemorragia à sondagem	30,74	17,62	14,97	12,03	9,16	4,05	68,681***
Profundidade de sondagem	3,82	0,57	3,28	0,59	3,13	0,54	886,123***
Nível de inserção periodontal	4,82	1,12	4,22	0,91	4,08	1,03	348,843***

* $p \leq 0,05$ *** $p \leq 0,001$

Índice de Placa

Os valores do IP aumentaram ligeiramente da 1ª consulta ($19,99 \pm 17,27$) para a 2ª consulta ($21,77 \pm 18,02$) e diminuíram da 2ª para a 3ª consulta ($15,53 \pm 13,72$).

Índice gengival

O teste de comparações emparelhadas, ANOVA Friedman (2) = 6,300, $p = 0,043$ indica-nos, que as diferenças significativas se encontram entre a primeira e a terceira consulta ($9,02 \pm 6,02$ vs $3,79 \pm 5,17$).

Hemorragia à sondagem

O teste de comparações emparelhadas, ANOVA medidas repetidas $F(1, 16) = 68,861$, $p = 0,001$, indica-nos que todas as diferenças entre as consultas são estatisticamente significativas. Na 1ª consulta apresentava um valor de $30,72 \pm 17,62$, na 2ª um valor de $14,97 \pm 12,03$ e na 3ª um valor de $9,16 \pm 4,05$. Desta forma pode-se observar que da primeira para a terceira consulta houve uma redução média de 21,58%.

Profundidade sondagem

O teste de comparações emparelhadas, ANOVA medidas repetidas $F(1, 16) = 886,123$, $p = 0,001$, indica-nos que as diferenças significativas se encontram entre a primeira e a segunda consulta ($3,82 \pm 0,57$ vs $3,28 \pm 0,59$) e entre a primeira e a terceira consulta ($3,82 \pm 0,57$), apresentando deste modo, uma redução média de 0,69mm entre a primeira e a terceira consulta.

Nível de inserção periodontal

O teste de comparações emparelhadas, ANOVA medidas repetidas $F(1, 16) = 348,843$, $p = 0,001$, indica-nos que as diferenças significativas se encontram entre a primeira e a segunda consulta ($4,82 \pm 1,12$ vs $4,22 \pm 0,91$) e entre a primeira e a terceira consulta ($4,82 \pm 1,12$ vs $4,08 \pm 1,03$), apresentando deste modo, um ganho médio de 0,74mm entre a primeira e a terceira consulta.

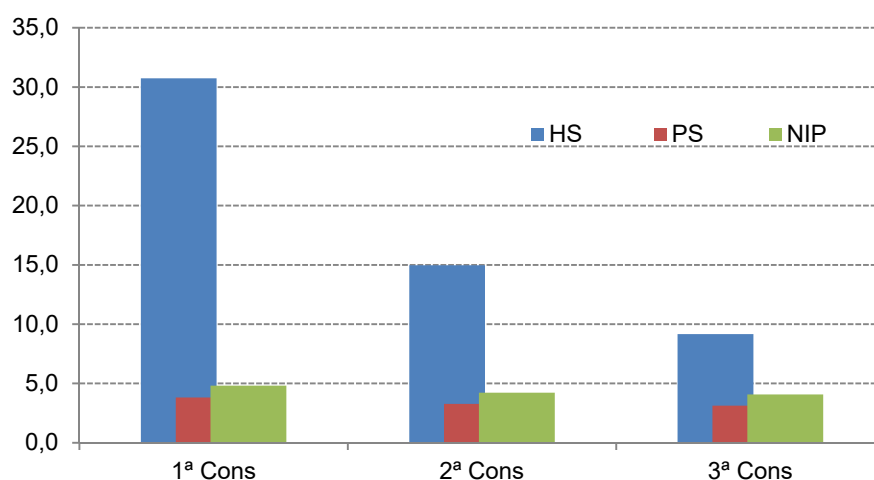


Figura 6: Gráfico da evolução dos parâmetros HS, PS e NIP do grupo experimental

5- Comparação entre o grupo controle e o grupo experimental

Para avaliar o pressuposto normalidade dos resultados dos parâmetros em avaliação foi usado o teste Shapiro-Wilk, contudo na variável HS como o pressuposto não se encontrava satisfeito foi usado o teste de Mann Whitney (Z) como alternativa ao teste t de student. Concluiu-se que da primeira para a terceira consulta as únicas diferenças estatisticamente significativas ocorreram nos parâmetros IP da 2ª consulta e na HS da 3ª consulta.

Índice de placa

Ao observar a tabela 6, podemos verificar que os valores do índice de placa na segunda consulta são significativamente mais elevados ($p = 0,031$ e t student(32) = 2,289) no grupo experimental ($21,77 \pm 18,02$ vs $19,46 \pm 15,86$). Apesar de não haver valores com diferenças estatisticamente significativas na 1ª consulta, verificou-se que os valores do grupo experimental eram mais baixos que no grupo controle ($19,99 \pm 17,27$ vs $24,65 \pm 17,54$) assim como na 3ª consulta ($15,53 \pm 13,72$ vs $16,49 \pm 12,93$).

Tabela 6: Comparação do IP entre o grupo controle e experimental

IP	1ª consulta		2ª consulta		3ª consulta	
	Média	Desvio padrão	Médio	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Controle	24,65	17,54	19,46	15,86	16,49	12,93
Experimental	19,99	17,27	21,77	18,02	15,53	13,72
t	-0,638		2,289*		-0,396	

* $p \leq 0,05$

Índice Gengival

Neste parâmetro não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas, como podemos observar na tabela 7, contudo verifica-se que na 1ª consulta os valores do grupo experimental eram mais baixos que no grupo controle ($9,02 \pm 6,02$ vs $16,54 \pm 12,15$), na 2ª consulta os valores do grupo experimental eram mais elevados que no grupo controle ($10,54 \pm 13,13$ vs $5,89 \pm 6,26$) e na 3ª consulta os valores do grupo experimental eram mais baixos que no grupo controle ($3,79 \pm 5,17$ vs $7,16 \pm 9,51$).

Tabela 7: Comparação do IG entre o grupo controlo e experimental

IG	1ª consulta		2ª consulta		3ª consulta	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Controlo	16,54	12,15	5,89	6,26	7,16	9,51
Experimental	9,02	6,02	10,54	13,13	3,79	5,17
t	-1,318		-0,432		-0,884	

Hemorragia à sondagem

Os valores da hemorragia à sondagem na terceira consulta são significativamente mais elevados ($p = 0,030$ e $Z = 2,174$) no grupo controlo do que no grupo experimental ($14,61 \pm 8,69$ vs $9,16 \pm 4,05$), como é visível na tabela 8. Apesar de não se verificarem diferenças estatísticas significativas na 1ª consulta, verificou-se que os valores do grupo controlo eram mais elevados do que os do grupo experimental ($31,39 \pm 20,28$ vs $30,74 \pm 17,62$) assim como na 2ª consulta ($20,40 \pm 15,16$ vs $14,97 \pm 12,03$).

Tabela 8: Comparação da HS entre o grupo controlo e experimental

HS	1ª consulta		2ª consulta		3ª consulta	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Controlo	31,39	20,28	20,40	15,16	14,61	8,69
Experimental	30,74	17,62	14,97	12,03	9,16	4,05
t	0,099		1,157		2,174*	

* $p \leq 0,05$

Profundidade de sondagem

Neste parâmetro não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas, como se pode observar na tabela 9, contudo verifica-se que na 1ª consulta os valores do grupo experimental eram ligeiramente mais baixos que no grupo controlo ($3,82 \pm 0,57$ vs $3,94 \pm 0,63$) assim como na 2ª consulta ($3,28 \pm 0,59$ vs $3,38 \pm 0,68$) e na 3ª consulta ($3,13 \pm 0,54$ vs $3,26 \pm 0,56$).

Tabela 9: Comparação da PS entre o grupo controlo e experimental

PS	1ª consulta		2ª consulta		3ª consulta	
	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão	Média	Desvio padrão
Controlo	3,94	0,63	3,38	0,68	3,26	0,56
Experimental	3,82	0,57	3,28	0,59	3,13	0,54
t	0,965		0,473		0,661	

Nível de inserção periodontal

Neste parâmetro não foram detetadas diferenças estatisticamente significativas, como podemos observar na tabela 10, contudo verifica-se que na 1ª consulta os valores do grupo experimental eram mais elevados que no grupo controlo ($4,82 \pm 1,12$ vs $4,76 \pm 1,11$), na 2ª consulta os valores do grupo experimental eram mais baixos que no grupo controlo ($4,22 \pm 0,91$ vs $4,31 \pm 1,12$) assim como na 3ª consulta ($4,08 \pm 1,03$ vs $4,24 \pm 1,01$).

Tabela 10: Comparação do NIP entre o grupo controlo e experimental

NIP	1ª consulta		2ª consulta		3ª consulta	
	M	Dp	M	Dp	M	Dp
Controlo	4,76	1,11	4,31	1,12	4,24	1,01
Experimental	4,82	1,12	4,22	0,91	4,08	1,03
t	-0,161		0,261		-0,396	

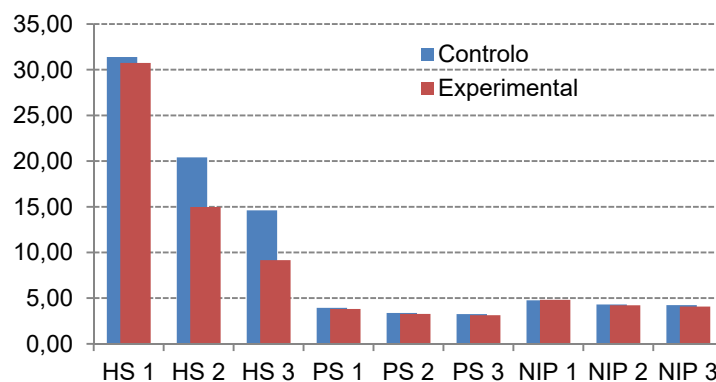


Figura 7: Gráfico da evolução dos parâmetros HS, PS e NIP do grupo controlo vs grupo experimental

6. Correlação entre o IP com as variáveis HS, PS e NIP

Dado a presença de placa ser um fator primário para a progressão da doença periodontal, seria de esperar que o IP influenciasse os parâmetros HS, PS e NIP. Deste modo foi-se verificar como as variáveis do grupo controlo e grupo experimental se comportavam em função do IP.

Para efetuar as correlações não paramétricas entre o IP do grupo controlo e do grupo experimental com as outras variáveis em estudo recorreu-se ao teste não paramétrico de *Spearman*.

Tabela11: Correlação entre o IP e as variáveis HS, PS e NIP.

	IP	
	Controlo	Experimental
HS	0,458	0,528*
PS	0,358	0,382
NIP	0,264	0,475

* $p \leq 0,05$

6.1 - Grupo controlo

Ao analisar o grupo controlo, verificou-se que o coeficiente de correlação entre o IP e HS é moderado e positivo ($r = 0,458$) enquanto no que respeita à PS e NIP foi fraco e positivo. Por tanto quanto maior o índice de placa maior será a HS, PS e NIP.

6.2 - Grupo experimental

Ao analisar o grupo experimental, verificou-se que o coeficiente de correlação entre o IP e a HS é estatisticamente significativo ($p < 0,05$), positivo e moderado ($r = 0,528$), enquanto que com NIP é moderado e positivo, mas não apresenta relevância estatística ($r = 0,475$). A correlação entre o IP e PS é fraca e positiva ($r = 0,382$). Podemos assim concluir que, com o aumento do IP os outros parâmetros periodontais tendem a aumentar também.

6.3- Variação do IP entre o grupo controlo e grupo experimental

Ao analisar a variável HS, verificou-se que esta apresentou um coeficiente de correlação positivo e moderado, estatisticamente significativo com o IP no grupo experimental ($r = 0,528$), enquanto que no grupo controlo apesar de moderado e positivo ($r = 0,458$) não apresentou relevância estatística. No caso da PS existiu uma correlação fraca ligeiramente mais elevada no grupo experimental em comparação com o grupo controlo ($r = 0,382$ vs $r = 0,358$). No parâmetro NIP, o grupo experimental apresentou uma correlação moderada ($r = 0,475$), enquanto que o grupo controlo apresentou uma correlação fraca ($r = 0,264$), como podemos observar na tabela 11.

V – Discussão

O tratamento periodontal não cirúrgico, assim como a implementação de boas práticas de higiene oral têm sido considerados os pilares da terapia periodontal e recomendados como abordagem primária no tratamento da Doença Periodontal (Adriaens & Adriaens, 2004; Dentino et al., 2013; Gontiya & Galgali, 2012; Renz & Newton, 2009; Slots, 2012). Contudo, a destartarização e o AR por vezes não são suficientes para remover completamente a camada de biofilme, devido a determinadas condicionantes como bolsas muito profundas e alteração da anatomia dentária. Uma forma de tentar ultrapassar estas limitações, sem recorrer à terapia cirúrgica, consiste na aplicação de coadjuvantes farmacoterapêuticos. Nesse sentido, nos últimos tempos, tem-se estudado a possibilidade da utilização do ácido hialurónico pelas suas propriedades bacteriostáticas, anti-edematosas, antioxidantes, osteoindutivas, osteocondutivas e de indução de cicatrização (Casale et al., 2016; Galgut, 2005; Slots, 2012; Sukumar & Dřízhal, 2007).

Apesar de existirem alguns estudos sobre a utilização de AH no tratamento da doença periodontal, os mecanismos biológicos envolvidos ainda não foram completamente esclarecidos. Determinadas investigações mostram reduções estatísticas significativas em todos os parâmetros periodontais (Polepalle et al., 2015; Rajan, Baramappa, Rao, Pavaluri, P, et al., 2014), enquanto outras mostram reduções apenas na HS e na PS (Johannsen, Tellefsen, Wikesjö, & Johannsen, 2009; Koshal, Patel, Bolt, Dawett, & Galgut, 2007; Pilloni et al., 2011). Por exemplo Chauhan encontrou uma redução na PS e no NIP (Chauhan, Bains, Gupta, Singh, & Patil, 2013) enquanto Eick só encontrou na PS (Eick et al., 2013), existindo também quem só encontrasse na HS (Gontiya & Galgali, 2012) e quem não detetasse redução em nenhum dos parâmetros (Engstrom et al., 2001; Xu, Höfling, Fimmers, & Frentzen, 2004).

Nos estudos realizados até ao momento, apesar de apresentarem critérios de inclusão e exclusão semelhantes, apresentam diferenças na metodologia aplicada, nomeadamente na média de idades, no local de aplicação, na frequência e período de aplicação e na concentração do produto aplicado. (ver tabela 1).

Por forma a podermos ter um termo de comparação na metodologia do nosso estudo, aplicamos os mesmo critérios de inclusão e exclusão (Eick et al., 2013; Gontiya

& Galgali, 2012; Polepalle et al., 2015; Rajan, Baramappa, Rao, Pavaluri, P, et al., 2014).

De 58 pacientes inquiridos inicialmente, 41 foram excluídos por serem fumadores, diabéticos, fazerem medicação e não cumprirem os critérios definidos da doença periodontal. Desta forma, a investigação incidiu sobre 29,3% da população.

Ao analisar as idades dos pacientes, pudemos comprovar que 41% dos pacientes apresentam idades compreendidas entre os 50 - 60 anos, 29% entre os 40 - 50, 24% entre os 60 – 70 e 6% entre os 20 - 30, com uma média geral de 52 anos.

Está documentado, que com o aumento da idade a capacidade de cicatrização é mais lenta, provavelmente devido à diminuição e atraso da resposta inflamatória assim como da resposta proliferativa (Ronderos & Ryder, 2004) . Deste modo, é notório que a média de idades deste estudo é ligeiramente mais elevada comparativamente a alguns dos estudos anteriores referidos na tabela 1, o que pode influenciar negativamente os resultados.

As medições dos diversos parâmetros foram realizadas por um único examinador, tanto para eliminar a variabilidade subjetiva, como para garantir a confiança dos resultados. O examinador do estudo foi previamente calibrado por um examinador experiente e padronizado. O grau de concordância inter-avaliadores foi de 0,995 e o intra-avaliador foi de 0,996, o que significa que a reprodutibilidade das medições é excelente.

O método da boca dividida permite comparar diferentes tratamentos no mesmo indivíduo. O facto de o paciente servir como próprio controlo elimina o impacto das características individuais e possibilita uma estimativa mais alargada e mais precisa do efeito do tratamento utilizando uma amostra menor (Antczak-Bouckoms, Tulloch, & Berkey, 1990). No nosso estudo, foram seleccionados dois quadrantes, num dos quadrantes escolhido aleatoriamente foi realizado apenas AR, no outro após o AR foi feita uma aplicação tópica de AH a 0,8%. Os resultados foram avaliados antes do tratamento, às 6 e às 12 semanas.

Com este estudo pretendemos verificar se a aplicação de AH potenciava a melhoria dos parâmetros periodontais, quando comparado ao AR isolado

Após análise estatística dos resultados pudemos concluir que tanto no grupo controlo como no grupo experimental, da 1ª para a 3ª consulta houve uma melhoria de todos os parâmetros avaliados, IP, IG, HS, PS, NIP. Estes resultados são consistentes com os estudos de Eick, Gontiya, Johannsen, Pilloni, Rajan, Polepalle e Xu, que

ilustram a eficácia do tratamento não cirúrgico (Eick et al., 2013; Gontiya & Galgali, 2012; Johannsen et al., 2009; Pilloni et al., 2011; Polepalle et al., 2015; Rajan, Baramappa, Rao, Pavaluri, P, et al., 2014; Xu et al., 2004). Uma meta análise recente realizada por Bertl também reportou resultados semelhantes (Bertl et al., 2015).

O IG proporciona uma avaliação do estado inflamatório das gengivas, que pode ser usado para comparar o estado gengival entre consultas. (Løe, 1967)

No presente estudo, não se verificou diferença estatística significativa entre o grupo controlo e o grupo experimental no parâmetro IG ($p > 0,05$). Porém, quando se avaliou a evolução de ambos os grupos em separado, observou-se que houve melhorias significativas da 1ª para a 3ª consulta tanto no grupo controlo ($16,54 \pm 12,15$ vs $7,16 \pm 9,51$) como no grupo experimental ($9,02 \pm 6,02$ vs $3,79 \pm 5,17$). O que está de acordo com as restantes literaturas.

Ao compararmos os resultados do IG pré e pós tratamento, no grupo experimental e no grupo controlo ($3,79 \pm 5,17$ vs $7,16 \pm 9,51$) poderemos sugerir que a maior redução do IG no grupo experimental poderá ser devido às propriedades anti-inflamatórias do AH (Bansal et al., 2010; Jentsch et al., 2003; Rajan, Baramappa, Rao, Pavaluri, P, et al., 2014; Sapna & Vandana, 2011).

O IP avalia a presença de placa na gengiva marginal, que pode servir para comparar os cuidados de higiene oral entre consultas (Silness e Løe, 1964), o que como se sabe tem um grande impacto nos restantes parâmetros periodontais.

Neste estudo verificou-se uma diferença estatística significativa ($p < 0,05$) entre o grupo controlo e o grupo experimental no IP na 2ª consulta ($19,46 \pm 15,86$ vs $21,77 \pm 18,02$). É curioso verificar um aumento do índice de placa no grupo experimental, uma vez que em ambos os grupos não houve referências a alterações significativas nos hábitos de higiene oral, no entanto sabemos que muitas das vezes existe uma tendência para omitir comportamentos considerados menos adequados.

Ao analisar a evolução do IP da 1ª para a 3ª consulta em cada grupo em separado, denota-se que tanto no grupo controlo ($24,65 \pm 17,54$ vs $16,49 \pm 12,93$) como no grupo experimental ($19,99 \pm 17,27$ vs $15,53 \pm 13,72$) houve uma diminuição do índice de placa. Esta redução poderá ter resultado da instituição de métodos preventivos de motivação para o controle de placa dentária assim como uma melhoria da técnica de higiene oral. (Fr et al., 2012; Wilder & Bray, 2016).

Ao compararmos o grupo experimental com o grupo controlo podemos observar que no final da investigação, embora na PS não tenham sido observadas melhorias estatisticamente significativas entre os grupos ($p > 0,05$), verificou-se que ao longo das consultas, tanto no grupo controlo como no grupo experimental, a profundidade das bolsas diminuiu. Estes resultados são consistentes com o estudo de Gontiya, Engstrom e Xu (Engstrom et al., 2001; Gontiya & Galgali, 2012; Xu et al., 2004).

Estes resultados podem ser explicados, em primeiro lugar pelo facto de se ter verificado uma diferença estatística significativa do IP no quadrante experimental, da 1ª para a 2ª consulta ($p < 0,05$). Como foi mencionado por Dentino e Slots, a placa bacteriana é considerada o factor primário para a progressão da doença periodontal (Dentino et al., 2013; Slots, 2013). Quando se procede ao AR, e este é bem sucedido, existe uma imediata redução do número desses organismos, porém se o paciente não mantiver um bom controlo de placa, a doença volta a progredir e a profundidade das bolsas não diminui (Fr et al., 2012; Wilder & Bray, 2016). Em segundo lugar, podemos referir o facto de só ter sido feita uma aplicação de AH, em comparação com outros estudos onde foram feitas mais do que uma aplicação (Eick et al., 2013; Johannsen et al., 2009; Polepalle et al., 2015). Por último, podemos salientar o facto de que com o aumento da profundidade das bolsas, a capacidade de o clínico conseguir remover todos os depósitos de biofilme diminui (Wilder & Bray, 2016).

Relativamente ao parâmetro NIP, após análise estatística pode-se comprovar que não houve diferenças significativas entre o grupo controlo e o grupo experimental ($p > 0,05$). Contudo, também se verificou que em ambos os quadrantes testados, houve melhorias significativas entre consultas. Estes dados são consistentes com muitos dos estudos que foram realizados até ao momento (Eick et al., 2013; Gontiya & Galgali, 2012; Johannsen et al., 2009; Pilloni et al., 2011; Xu et al., 2004).

Por outro lado, há estudos em que houve melhorias significativas no grupo experimental em que foi aplicado AH (Chauhan et al., 2013; Polepalle et al., 2015; Rajan, Baramappa, Rao, Pavaluri, P, et al., 2014).

Quando comparados os grupos testados na 1ª consulta, observou-se que inicialmente o NIP era mais elevado no grupo experimental do que no grupo controlo ($4,82 \pm 1,12$ vs $4,76 \pm 1,11$) e que a PS na 1ª consulta era mais baixa no grupo experimental do que no grupo controlo ($3,82 \pm 0,57$ vs $3,94 \pm 0,63$), permitindo-nos assim sugerir que a recessão gengival era mais elevada no grupo teste. Uma vez que a redução

do NIP no grupo experimental foi superior à do grupo controlo e a PS não apresentou melhoria significativa, podemos supor que houve uma melhoria da recessão gengival.

Apesar do número de estudos sobre a aplicação de AH no tratamento cirúrgico ser reduzido, verifica-se que segundo um estudo realizado por El-Sayed em defeitos ósseos tratados com cirurgia periodontal e AH, este observou uma melhoria do NIP e uma redução na recessão gengival. Estes resultados provavelmente devem-se ao efeito regenerativo da molécula de AH que promove a adesão, migração, proliferação e ativação celular, assim como armazena e funciona como veículo para os fatores de crescimento. Ao adicionar a estas propriedades, a sua contribuição na formação da matriz extracelular assim como a organização do tecido de granulação, a refixação da camada basal do epitélio da gengiva à lâmina basal é possível (Dicker et al., 2014; Fawzy El-Sayed et al., 2012; Olczyk et al., 2014).

No presente estudo, ao compararmos o grupo experimental com o grupo controlo, podemos observar, através do gráfico da figura 7, que a única diferença estatisticamente significativa ocorreu na HS ($9,16 \pm 4,05$ vs $14,61 \pm 8,69$) ($p < 0,05$). Estes resultados são consistentes com o estudo de Gontiya, no qual após 4 aplicações subgengivais de AH a 0.2% num período de 4 semanas também só obteve melhorias significativas na HS. (Gontiya & Galgali, 2012).

A obtenção de valores significativamente mais reduzidos da HS no grupo experimental, sugere que as melhorias se deveram às propriedades anti-inflamatórias e bacteriostáticas do AH (Bertl et al., 2015; Polepalle et al., 2015).

A elevada concentração de moléculas de AH, apresenta efeitos bacteriostáticos em bactérias que normalmente estão presentes nas lesões periodontais, (Dahiya & Kamal, 2013; Rodrigues et al., 2010) assim como apresenta um efeito anti-inflamatório ao eliminar as espécies reativas de oxigénio e os derivados de células inflamatórias (Bansal et al., 2010; Jentsch et al., 2003; Rajan, Baramappa, Rao, Pavaluri, P, et al., 2014; Sapna & Vandana, 2011).

Ao analisarmos a evolução da HS nos dois quadrantes, pudemos observar que tanto no grupo controlo como no grupo experimental houve evoluções estatisticamente significativas entre consultas, como se pode analisar no gráfico da figura 5 e da figura 6. Isto sugere que as melhorias não se deveram só ao AH, mas também ao AR, que permite que o epitélio sulcular recupere a sua integridade estrutural e espessura ideal (Gontiya & Galgali, 2012).

Após se terem efectuado as correlações não paramétricas do IP com as variáveis HS, PS e NIP, verificou-se que as correlações são positivas moderadas ou positivas fracas, e que houve uma diferença estatística significativa entre o HS e o IP no grupo experimental.

Este facto em conjunto com o descrito por outros autores, propõe que com a diminuição do índice de placa, a HS também tende a diminuir (Dentino et al., 2013; Slots, 2012; Stabholz A, Soskolne WA, 2010; Suvan, 2005).

A correlação do IP com o NIP em ambos os grupos foi positiva, embora no grupo controlo tenha sido fraca e no grupo experimental tenha sido moderada. Segundo estes resultados, a diminuição do índice de placa, vai diminuir o valor do parâmetro NIP. Slots menciona que menores quantidades de placa subgengival podem ser compatíveis com a não progressão da doença, enquanto que o depósito de maiores quantidades de placa irá invariavelmente causar inflamação gengival e representa um maior risco para a perda de inserção periodontal (Slots, 2012).

As variações nas formulações do AH e diferentes modalidades de tratamento, podem explicar as diferenças nos resultados observados entre os vários estudos.

Como pontos favoráveis do estudo podemos referir o facto de as medições terem sido feitas por um único examinador e de todos os pacientes que iniciaram o estudo terem comparecido às consultas de seguimento.

Uma das limitações de uma investigação em que se aplica o método da boca dividida é a possibilidade de ocorrer extravasamento da substância que está a ser testada, porém uma técnica cuidada poderá evitar que tal ocorra.

No decorrer da investigação detetamos algumas limitações que é importante referir:

O aumento do IP. Embora a aplicação subgengival de AH não tenha tido efeito sobre a formação da placa dentária, o aumento do IP na 2ª consulta poderá ter mascarado os benefícios do AH;

A dimensão da amostra também poderá ter condicionado os resultados obtidos. Inicialmente foi proposto trabalhar com uma amostra maior, todavia dada a exigência dos critérios de exclusão, o estudo incidiu sobre uma amostra mais pequena;

A diferença existente na metodologia dos estudos onde foi aplicado AH após AR, dificulta as comparações entre estudos (Tabela 5). Desde a frequência de aplicação, que variou entre 1 a 21 aplicações, ao período de aplicação do AH, que variou entre 1 e 42 dias, ao tipo de aplicação que tanto foi subgengival, como subgengival e

supragengival, à concentração do AH, que oscilou entre 0,2%, e 0,8%.

Uma vez que existe uma grande variabilidade dos resultados obtidos nas investigações realizadas até ao momento, são necessários mais estudos para analisar o efeito coadjuvante do AH no tratamento periodontal não cirúrgico.

Como sugestões, para investigações futuras, recomendamos alargar o período de observação, aumentar o tamanho da amostra, verificar se os resultados variam em função da idade dos pacientes, analisar se a PS inicial afecta os resultados obtidos com a aplicação de AH, verificar o efeito de aplicações repetidas, observar se as alterações são semelhantes em ambos os sexos e se existe alguma diferença nos resultados em função do maxilar avaliado (maxila ou mandíbula).

VI – Conclusão

- Através da realização deste estudo, foi possível verificar que no fim do período de observação, houve uma melhoria de todos os parâmetros periodontais avaliados em ambos os grupos.
- Quando comparados os resultados entre grupos, a única diferença estatística significativa deu-se na HS, resultado que se pode atribuir às propriedades anti-inflamatórias do AH.
- Devido à grande variabilidade dos resultados obtidos nas investigações realizadas até ao momento, serão necessários mais estudos para analisar o efeito coadjuvante do AH no tratamento não cirúrgico periodontal.
- Seria interessante analisar como se comportam os resultados em função da idade e género, em função da escolha do maxilar (maxila ou mandíbula) e se a profundidade de sondagem inicial afecta os resultados obtidos.

VII – Bibliografia

- Adriaens, P. A., & Adriaens, L. M. (2004). Effects of nonsurgical periodontal therapy on hard and soft tissues. *Periodontology 2000*, 36, 121–145.
- Aguado, F. L. M., Martín, J. G., León, A. C., Leyva, C. L., & Ravassa, F. J. O. (2001). Efecto de un gel de ácido hialurónico en la enfermedad periodontal . Estudio clínico e histopatológico, 11(Nº 2), 107–116.
- Antczak-Bouckoms, A. A., Tulloch, J., & Berkey, C. (1990). Split-mouth and cross-over designs in dental research. *Journal of Clinical Periodontology*, 17, 446–453.
- Armitage, G. C. (1999). Development of a Classification System CLASSIFICATION SYSTEM FOR, 1–6.
- Ballini, A., Cantore, S., Capodiferro, S., & Grassi, F. R. (2009). Esterified Hyaluronic Acid and Autologous Bone in the Surgical Correction of the Infra-Bone Defects. *International Journal of Medical Sciences*, 6(2), 65–71.
- Bansal, J., Kedige, S. D., & Anand, S. (2010). Hyaluronic acid : A promising mediator for periodontal regeneration, 21(4), 2010–2013. <http://doi.org/10.4103/0970-9290.74232>
- Bartold, M. P., Xiao, Y., Lyngstaadas, P. S., Paine, M. L., & Snead, M. L. (2006). Principles and applications of cell delivery systems for periodontal regeneration. *Periodontology 2000*, 41, 123–135.
- Benedetti, L., Cort, R., Be, T., Moras, M., Abatangelo, G., Berti, A., ... Mazzoj, M. (1993). Biocompatibility and biodegradation of different hyaluronan derivatives (Hyaff) implanted in rats. *Biomaterials, Elsevier*, 14(15), 1154–1160.
- Beniamino, P., Vadalà, M., & Laurino, C. (2016). Cross-linked hyaluronic acid in pressure ulcer prevention. *Journal of Wound Care*, 25(7), 400–405.
- Bergeret-Galley, C. (2004). Comparison of Resorbable Soft Tissue Fillers. *Aesthetic Surgery Journal*, 33–46.
- Bertl, K., Bruckmann, C., P-e, I., Klinge, B., Gotfredsen, K., & Stavropoulos, A. (2015). Hyaluronan in non-surgical and surgical periodontal therapy : a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(3), 236–46. <http://doi.org/10.1111/jcpe.12371>
- Bonito, A. J., Lux, L., & Lohr, K. N. (2005). Impact of Local Adjuncts to Scaling and Root Planing in Periodontal Disease Therapy: A Systematic Review. *Journal of*

- Periodontology*, 76(8), 1227–1236.
- Briguglio, F., Briguglio, E., Briguglio, R., Cafiero, C., & Isola, G. (2013). Treatment of infrabony periodontal defects using a resorbable biopolymer of hyaluronic acid: a randomized clinical trial. *Quintessence International (Berlin, Germany : 1985)*, 44(3), 231–240. <http://doi.org/10.3290/j.qi.a29054>
- Casale, M., Moffa, A., Vella, P., Sabatino, L., Capuano, F., Salvinelli, B., ... Salvinelli, F. (2016). Hyaluronic acid : Perspectives in dentistry . A systematic review. *International Journal of Immunopathology & Pharmacology*, 1–11. <http://doi.org/10.1177/0394632016652906>
- Chauhan, A. S., Bains, V. K., Gupta, V., Singh, G., & Patil, S. S. (2013). Comparative analysis of hyaluronan gel and xanthan-based chlorhexidine gel, as adjunct to scaling and root planing with scaling and root planing alone in the treatment of chronic periodontitis: A preliminary study. *Contemporary Clinical Dentistry*, 4(1), 54–61.
- Chen, W. Y. J. (1999). *FUNCTIONS OF HYALURONAN IN WOUND REPAIR. HYALURONAN*. Woodhead Publishing Ltd. <http://doi.org/10.1533/9781845693121.147>
- Chen, W. Y. J., & Abatangelo, G. (1999). Perspective article Functions of hyaluronan in wound repair, 7(2), 79–89.
- Cochran, D. L. (2008). Inflammation and Bone Loss in, 2008(August), 1569–1576. <http://doi.org/10.1902/jop.2008.080233>
- Cortivo, R., Brun, P., Cardarelli, L., Regan, M. O., Radice, M., & Abatangelo, G. (1996). Antioxidant Effects of Hyaluronan and Its a-Methyl-Prednisolone Derivative in Chondrocyte and Cartilage Cultures. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*, 26(1), 492–501.
- Dahiya, P., & Kamal, R. (2013). Hyaluronic acid: A boon in periodontal therapy. *North American Journal of Medical Sciences*, 5(5), 309–315. <http://doi.org/10.4103/1947-2714.112473>
- Darveau, R. P. (2010). Periodontitis : a polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Publishing Group*, 8(7), 481–490. <http://doi.org/10.1038/nrmicro2337>
- de Araújo Nobre, M., Cintra, N., & Maló, P. (2007). Peri-implant maintenance of immediate function implants: a pilot study comparing hyaluronic acid and chlorhexidine. *International Journal of Dental Hygiene*, 5(2), 87–94. <http://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2007.00239.x>

- Deas, D. E., Moritz, A. J., Sagun Jr, R. S., Gruwell, S. F., & Powell, C. A. (2016). Scaling and root planing vs . conservative surgery in the treatment of chronic periodontitis. *Periodontology 2000*, 71, 128–139.
- Dentino, A., Lee, S., Mailhot, J., & Hefti, A. F. (2013). Principles of periodontology. *Periodontology 2000*, 61(357), 16–53.
- Dicker, K. T., Gurski, L. A., Pradhan-bhatt, S., Witt, R. L., Farach-carson, M. C., & Jia, X. (2014). Acta Biomaterialia Hyaluronan : A simple polysaccharide with diverse biological functions q. *Acta Biomaterialia*, 10(4), 1558–1570.
<http://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.12.019>
- Ding, Y., Uitto, V., Firth, J., Salo, T., Haapasaio, M., Konttinen, Y. T., & Sorsa, T. (1995). Modulation of host matrix metalloproteinases by bacterial virulence factors relevant in human periodontal diseases, 1, 279–286.
- Eick, S., Renatus, A., Heinicke, M., Pfister, W., Stratul, S.-I., & Jentsch, H. (2013). Hyaluronic Acid as an adjunct after scaling and root planing: a prospective randomized clinical trial. *Journal of Periodontology*, 84(7), 941–9.
<http://doi.org/10.1902/jop.2012.120269>
- Engstrom, P. E., Shi, X. Q., Tronje, G., Larsson, A., Welander, U., Frithiof, L., & Engstrom, G. N. (2001). The effect of hyaluronan on bone and soft tissue and immune response in wound healing. *Journal of Periodontology*, 72(9), 1192–1200.
<http://doi.org/10.1902/jop.2000.72.9.1192>
- Fawzy El-Sayed, K. M., Dahaba, M. A., Aboul-Ela, S., & Darhous, M. S. (2012). Local application of hyaluronan gel in conjunction with periodontal surgery: A randomized controlled trial. *Clinical Oral Investigations*, 16(4), 1229–1236.
<http://doi.org/10.1007/s00784-011-0630-z>
- Fr, T., Rp, T., Ng, U., Xq, S., Torresyap, G., Ss, S., & Ad, H. (2012). Early microbial succession in redeveloping dental biofilms in periodontal health and disease. *Journal of Periodontal Research*, 47, 95–104. <http://doi.org/10.1111/j.1600-0765.2011.01409.x>
- Fraser, J. R. E., Laurent, T. C., & Laurent, U. B. G. (1997). Hyaluronan: its nature, distribution, functions and turnover. *Journal of Internal Medicine*, 242, 27–33.
- Galgut, P. (2005). Modern management of periodontal diseases, 38–44.
- Genco, R. J., & Borgnakke, W. S. (2013). Risk factors for periodontal disease. *Periodontology 2000*, 62, 59–94.
- Gontiya, G., & Galgali, S. (2012). Effect of hyaluronan on periodontitis: A clinical and

- histological study. *Journal of Indian Society of Periodontology*.
<http://doi.org/10.4103/0972-124X.99260>
- Gurtner, G. C., Werner, S., Barrandon, Y., & Longaker, M. T. (2008). Wound repair and regeneration. *Nature*, 453, 314–321. <http://doi.org/10.1038/nature07039>
- Haffajee, A., Socransky, S., Smith, C., & Dibart, S. (1991). Microbial risk indicators for periodontal attachment loss. *Journal of Periodontal Research*, 293–296.
- Hammad, H. M., Hammad, M. M., Abdelhadi, I. N., & Khalifeh, M. S. (2011). Effects of topically applied agents on intra-oral wound healing in a rat model: A clinical and histomorphometric study. *International Journal of Dental Hygiene*, 9(1), 9–16. <http://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2009.00410.x>
- Hascall, V. C., & Laurent, T. C. (1997). Hyaluronan: Structure and Physical Properties.
- Iannace, S., Ambrosio, L., Nicolais, L., Rastrelli, A., & Pastorello, A. (1992). Thermomechanical properties of hyaluronic acid-derived products. *Journal of Materials Science*, 3, 59–64.
- Jain, Y. (2013). Clinical evaluation of 0 . 2 % hyaluronic acid containing gel in the treatment of gingivitis. *Medical Journal of Dr. D. Y. Patil University*, 6(4), 416–420. <http://doi.org/10.4103/0975-2870.118296>
- Jentsch, H., Pomowski, R., Kundt, G., & Göcke, R. (2003). Treatment of gingivitis with hyaluronan. *Journal of Clinical Periodontology*, 30, 159–164.
- Jiang, D., Liang, J., & Noble, P. W. (2011). Hyaluronan as an Immune Regulator in Human Diseases. *Physiological Reviews*, 91(1), 221–264. <http://doi.org/10.1152/physrev.00052.2009>.
- Johannsen, A., Tellefsen, M., Wikesjö, U., & Johannsen, G. (2009). Local delivery of hyaluronan as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis. *Journal of Periodontology*, 80(9), 1493–7. <http://doi.org/10.1902/jop.2009.090128>
- Kalsi, R., Vandana, K., & Prakash, S. (2011). Effect of local drug delivery in chronic periodontitis patients: A meta-analysis. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(4), 304–309.
- Kiliç, S. C., & Güngörmüş, M. (2016). Is arthrocentesis plus platelet- rich plasma superior to arthrocentesis plus hyaluronic acid for the treatment of temporomandibular joint osteoarthritis : a randomized clinical trial. *International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery*, 1–7. <http://doi.org/10.1016/j.ijom.2016.06.009>

- Kim, J., Song, H. Y., Amara, H. Ben, Kyung-Rim, K., & Koo, K.-T. (2016). Hyaluronic Acid Improves Bone Formation in Extraction Sockets With Chronic Pathology : A Pilot Study in Dogs. *Journal of Periodontology*, 1–13.
<http://doi.org/10.1902/jop.2016.150707>
- Koshal, A., Patel, P., Bolt, R., Dawett, B., & Galgut, P. N. (2007). A comparison in postoperative healing of sites receiving non-surgical debridement augmented with and without a single application of hyaluronan 0.8% gel, 2(3), 34–37.
- Lamont, R. J., & Jenkinson, H. F. (1998). Life Below the Gum Line : Pathogenic Mechanisms of *Porphyromonas gingivalis*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 62(4), 1244–1263.
- Lindhe, J., Lang, N. P., & Karring, T. (2010). *Clinical Periodontology and Implant Dentistry*.
- Litwiniuk, M., Krejner, A., & Grzela, T. (2016). Hyaluronic Acid in Inflammation and Tissue Regeneration, 28(3), 78–88.
- Liu, L., Liu, Y., Li, J., Du, G., & Chen, J. (2011). Microbial production of hyaluronic acid : current state , challenges , and perspectives. *BioMed Central*, 1–9.
- Luca, L., Rougemont, A., Walpoth, B. H., Gurny, R., & Jordan, O. (2010). The effects of carrier nature and pH on rhBMP-2-induced ectopic bone formation. *Journal of Controlled Release*, 147(1), 38–44. <http://doi.org/10.1016/j.jconrel.2010.06.011>
- Mariotti, A. (1999). Dental Plaque-Induced Gingival Diseases. *Journal of Periodontology*, 4(1), 7–19.
- Mendes, R. M., Silva, G. A. B., Lima, M. F., Calliari, M. V, Alves, B., Ferreira, A. J., & Almeida, A. P. (2008). Sodium hyaluronate accelerates the healing process in tooth sockets of rats, 53, 1155–1162. <http://doi.org/10.1016/j.archoralbio.2008.07.001>
- Miki, Y., Teramura, T., Tomiyama, T., Onodera, Y., Matsuoka, T., Fukuda, K., & Hamanishi, C. (2010). Hyaluronan reversed proteoglycan synthesis inhibited by mechanical stress : possible involvement of antioxidant effect, 59, 471–477.
<http://doi.org/10.1007/s00011-009-0147-y>
- Mo, W., Yang, C., Liu, Y., He, Y., Wang, Y., & Gao, F. (2011). The influence of hyaluronic acid on vascular endothelial cell proliferation and the relationship with ezrin / merlin expression, 43(12), 930–939.
<http://doi.org/10.1093/abbs/gmr094>.Advance
- Monheit, G. D., & Coleman, K. M. (2006). Hyaluronic acid fillers. *Dermatologic Therapy*, 19, 141–150.

- Moseley, R., Waddington, R. J., & Embery, G. (1997). Degradation of glycosaminoglycans by reactive oxygen species derived from stimulated polymorphonuclear leukocytes. *Biochimica et Biophysica Acta - Molecular Basis of Disease*, 1362(2–3), 221–231.
- Neuman, M. G., Nanau, R. M., Oruña-sanchez, L., & Coto, G. (2015). Hyaluronic Acid and Wound Healing. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences*, 18(1), 53–60.
- Nobre, M. de A., Carvalho, R., & Malo, P. (2009). Non surgical treatment of peri-implant pockets: An exploratory study comparing 0.2% chlorhexidine and 0.8% hyaluronic acid. *Baseline*, 43(1), 25–30.
- Olczyk, P., Mencner, A., & Komosinska-vassev, K. (2014). The Role of the Extracellular Matrix Components in Cutaneous Wound Healing. *BioMed Research International*, 2014, 12–14.
- Ower, P. (2013). Minimally-Invasive Non-Surgical Periodontal Therapy. *Dental Update*, 40(4), 289–295.
- Page, R. C., & Kornman, K. S. (1997). The pathogenesis of human periodontitis: an introduction. *Periodontology 2000*, 14, 9–11.
- Pagnacco, A., Vangelisti, R., Erra, C., & Poma, A. (1997). TRIAL VS . PLACEBO OF A NEW SODIUM-, (4), 1–12.
- Penala, S., Kalakonda, B., Pathakota, K. R., Jayakumar, A., Koppolu, P., Mishra, A., ... Pandey, R. (2016). Efficacy of local use of probiotics as an adjunct to scaling and root planing in chronic periodontitis and halitosis: A randomized controlled trial. *Journal of Research in Pharmacy Practice*, 5(2), 86–93.
- Peterson, P. E., & Ogawa, H. (2012). The global burden of periodontal disease : towards integration with chronic disease prevention and control, 60, 15–39.
- Pihlstrom, B. L. (2001). Periodontal risk assessment , diagnosis and treatment planning. *Periodontology 2000*, 25, 37–58.
- Pilloni, A., Annibali, S., Dominici, F., Paolo, C. Di, Papa, M., Cassini, M. A., & Polimeni, A. (2011). Evaluation of the efficacy of an hyaluronic acid-based biogel on periodontal clinical parameters. A randomized-controlled clinical pilot study. *Annali de Stomatologia*, 2(3–4), 3–9.
- Pirnazar, P., Wolinsky, L., Nachnani, S., Haake, S., Pilloni, A., & Bernard, G. W. (1999). Bacteriostatic Effects of Hyaluronic Acid. *Journal of Periodontology*, 70(4), 370–374.

- Polepalle, T., Srinivas, M., Swamy, N., Aluru, S., Chakrapani, S., & Appaiah, B. (2015). Local delivery of hyaluronan 0.8 % as an adjunct to scaling and root planing in the treatment of chronic periodontitis : A clinical and microbiological study. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 19(1), 37–42. <http://doi.org/10.4103/0972-124X.145807>
- Rajan, P., Baramappa, R., Rao, N. M., Pavaluri, A. K., Indeevar, P., & Ur Rahaman, S. (2014). Hyaluronic acid as an adjunct to scaling and root planing in chronic periodontitis. A randomized clinical trial. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(12), ZC11-ZC14. <http://doi.org/10.7860/JCDR/2014/8848.5237>
- Rajan, P., Baramappa, R., Rao, N. M., Pavaluri, A. K., P, I., & Rahaman, S. M. U. (2014). Hyaluronic Acid as an Adjunct to Scaling and Root Planing in Chronic Periodontitis. A Randomized Clinical Trial. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(12), 11–14. <http://doi.org/10.7860/JCDR/2014/8848.5237>
- Reinke, J. M., & Sorg, H. (2012). Wound Repair and Regeneration, 49, 35–43. <http://doi.org/10.1159/000339613>
- Renz, A. N. P. J., & Newton, J. T. (2009). Changing the behavior of patients with periodontitis, 51, 252–268.
- Rodrigues, S. V., Acharya, A. B., Bhadbhade, S., & Thakur, S. L. (2010). Hyaluronan-containing mouthwash as an adjunctive plaque-control agent. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 8, 389–394.
- Ronderos, M., & Ryder, M. I. (2004). Risk assessment in clinical practice. *Periodontology 2000*, 34, 120–135.
- Salwowska, N. M., Bebenek, K. A., Zadlo, D. A., & Wcislo-Dziadecka, D. L. (2016). Physiochemical properties and application of hyaluronic acid : a systematic review. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 0, 1–7.
- Sanz, I., Alonso, B., Carasol, M., Herrera, D., & Sanz, M. (2012). Nonsurgical Treatment of Periodontitis. *The Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 12(3), 76–86. [http://doi.org/10.1016/S1532-3382\(12\)70019-2](http://doi.org/10.1016/S1532-3382(12)70019-2)
- Sapna, N., & Vandana, K. L. (2011). Evaluation of hyaluronan gel (Gengigel ®) as a topical applicant in the treatment of gingivitis, 162–170. <http://doi.org/10.1111/j.2041-1626.2011.00064.x>
- Sasaki, T., & Kawamata-Kido, H. (1995). Providing an environment for reparative dentine induction in amputated rat molar pulp by high molecular-weight hyaluronic acid. *Archives of Oral Biology*, 40(3), 209–219.

- Schätzle, M., Bürgin, W., Ånerud, Å., Boysen, H., & Lang, N. (2003). Clinical course of chronic periodontitis. *Journal of Clinical Periodontology*, 30(Pilot 1998), 887–901.
- Slevin, M., Krupinski, J., Gaffney, J., Matou, S., West, D., Delisser, H., ... Kumar, S. (2007). Hyaluronan-mediated angiogenesis in vascular disease : Uncovering RHAMM and CD44 receptor signaling pathways. *Matrix Biology*, 26, 58–68.
<http://doi.org/10.1016/j.matbio.2006.08.261>
- Slevin, M., Kumar, S., & Gaffney, J. (2002). Angiogenic Oligosaccharides of Hyaluronan Induce Multiple Signaling Pathways Affecting Vascular Endothelial Cell Mitogenic and Wound Healing Responses *, 277(43), 41046–41059.
<http://doi.org/10.1074/jbc.M109443200>
- Slots, J. (2012). Low-cost periodontal therapy, 60(126), 110–137.
- Slots, J. (2013). Periodontology: past, present, perspectives, 62, 7–19.
- Stabholz A, Soskolne WA, S. L. (2010). Genetic and environmental risk factors for chronic periodontitis and aggressive periodontitis. *Periodontol 2000*, 53(90), 138–153.
- Stern, R., Asari, A. A., & Sugahara, K. N. (2006). Hyaluronan fragments : An information-rich system. *European Journal of Cell Biology*, 85, 699–715.
<http://doi.org/10.1016/j.ejcb.2006.05.009>
- Stern, R., & Jedrzejewski, M. J. (2006). Hyaluronidases : Their Genomics , Structures , and Mechanisms of Action. *American Chemical Society*, 106(3), 818–839.
- Sukumar, S., & Dřizhal, I. (2007). REVIEW ARTICLE, 50(4), 225–228.
- Suvan, J. E. (2005). Effectiveness of mechanical nonsurgical pocket therapy. *Periodontology 2000*, 37, 48–71.
- Thomson, W. M., Sheiham, A., & Spencer, A. J. (2012). Sociobehavioral aspects of periodontal disease. *Periodontology 2000*, 60(1), 54–63.
<http://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2011.00405.x>
- Toole, B. P. (2004). HYALURONAN : FROM EXTRACELLULAR GLUE TO PERICELLULAR CUE. *Nature Reviews Cancer*, 4, 528–539.
<http://doi.org/10.1038/nrc1391>
- Turley, E. A., Noble, P. W., & Bourguignon, L. Y. W. (2002). Signaling Properties of Hyaluronan Receptors *. *The Journal of Biological Chemistry*, 277(7), 4589–4592.
<http://doi.org/10.1074/jbc.R100038200>
- Van der Velden, U. (1991). The onset age of periodontal destruction. *Journal of*

- Clinical Periodontology*, 18(6), 380–383.
- Waddington, R. J., Moseley, R., & Embury, G. (1999). Reactive oxygen species : A potential role in the pathogenesis of periodontal diseases, 6, 138–151.
- Wilder, R. S., & Bray, K. S. (2016). Improving periodontal outcomes : merging clinical and behavioral science. *Periodontology 2000*, 71, 65–81.
- Wilder, R. S., & Ryan, M. E. (2010). Chemotherapeutics in the Treatment of Periodontal Diseases. *Dimensions of Dental Hygiene*, 8(6), 44–46.
- Williams, R. C., & Genco, R. J. (2010). *Periodontal Disease and Overall Health : A Clinician ' s Guide. Medicine.*
- Xu, Y., Höfling, K., Fimmers, R., & Frentzen, M. (2004). Clinical and Microbiological Effects of Topical Subgingival Application of Hyaluronic Acid Gel Adjunctive to Scaling and Root Planing in the Treatment of Chronic Periodontitis. *Journal of Periodontology*, 75(8), 1114–1118.
- Ye, J., Zhang, H., Wu, H., Wang, C., Shi, X., Xie, J., ... Yang, J. (2012). Cytoprotective effect of hyaluronic acid and hydroxypropyl methylcellulose against DNA damage induced by thimerosal in Chang conjunctival cells, 250, 1459–1466.
<http://doi.org/10.1007/s00417-012-2087-4>