



ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA
DISSERTAÇÃO DO ESTÁGIO CURRICULAR DO CICLO DE ESTUDOS**

UTILIZAÇÃO DA TERAPIA CELULAR NA DOENÇA PERIODONTAL DO CÃO

Yoël Maurice Khelif

Coimbra, Julho 2025





ESCOLA UNIVERSITÁRIA VASCO DA GAMA

MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA VETERINÁRIA
DISSERTAÇÃO DO ESTÁGIO CURRICULAR DO CICLO DE ESTUDOS

UTILIZAÇÃO DA TERAPIA CELULAR NA DOENÇA PERIODONTAL DO CÃO

Coimbra, Julho 2025

Yoël Maurice Khelif

Constituição do Júri

Presidente do Júri: Professora Doutora Sofia Ferreira
Anastácio

Arguente: Professor Doutor João Filipe Requicha

Orientador: Professor Doutor Carlos Alberto Antunes
Viegas

Trabalho realizado sob a orientação do
Professor

Doutor Carlos Alberto Antunes Viegas



Dissertação do Estágio Curricular do Ciclo de Estudos
Conducente ao Grau de Mestre em Medicina Veterinária da EUVG



AGRADECIMENTOS

À minha **família**, e particularmente aos meus irmãos, à minha cunhada, aos meus tios e tias, assim como aos meus primos e primas, que sempre me apoiaram e ajudaram nos momentos mais difíceis, e sem os quais o percurso teria sido ainda mais duro.

À minha **mãe**, em especial, sem a qual nada disto teria sido possível. A sua presença, o seu apoio e o seu amor incondicional permitiram-me seguir em frente, e sem ela eu não teria tido a coragem de partir para o estrangeiro.

E por fim, a ti, **Pai**, tu que já não estás aqui, mas que estiveste presente nos bons e maus momentos, e que continuarás presente pelo resto da minha vida. Gostaria tanto que pudesses ver quem me tornei hoje, pois tudo isto é graças a ti. Foste tu que me deste a força para fazer de tudo para realizar o meu sonho, tal como te prometi.

Obrigado.

Índice Geral

Índice de figuras e tabelas.....	vi
Índice de abreviaturas.....	viii
RESUMO.....	2
INTRODUÇÃO.....	4
1. A DOENÇA PERIODONTAL DO CÃO.....	5
1.1. ANATOMIA DO PERIODONTO.....	5
1.1.1. Gengiva.....	5
1.1.2. Ligamento periodontal ou desmodonto.....	6
1.1.3. Cimento.....	6
1.1.4. Osso alveolar.....	7
1.2. DOENÇA PERIODONTAL.....	7
1.2.1. Epidemiologia.....	7
1.2.2. Ecologia oral.....	8
1.2.3. Etiologia: fator determinante e fatores predisponentes.....	10
1.2.4. Fisiopatologia.....	12
1.2.5. Apresentação clínica.....	14
1.2.6. Consequências.....	16
1.2.7. Diagnóstico clínico.....	17
1.2.7.1. Sinais clínicos e sintomas.....	17
1.2.7.2. Preenchimento do odontograma/periodontograma.....	17
1.2.7.3. Critérios de avaliação.....	18
2. TRATAMENTOS CONVENCIONAIS DA DOENÇA PERIODONTAL NO CÃO.....	21
2.1. TRATAMENTO PERIODONTAL INICIAL NÃO CIRÚRGICO.....	21
2.1.1. Higienização supragengival.....	22
2.1.2. Higienização subgengival.....	22
2.1.3. Polimento.....	23
2.2. TRATAMENTOS PERIODONTAIS CIRÚRGICOS.....	23
2.2.1. Gengivectomia / gengivoplastia.....	24
2.2.2. Retalhos muco-gengivais.....	26
2.3. USO RACIONAL DE ANTIBIÓTICOS.....	27
2.3.1. Antibiopprofilaxia.....	27

2.3.2. Antibioterapia.....	28
2.4. PREVENÇÃO E CUIDADOS DOMICILIARES.....	28
3. O USO DE CÉLULAS TRONCO NO TRATAMENTO DA DOENÇA PERIODONTAL.....	29
3.1. TERAPIA CELULAR.....	30
3.1.1. Definição.....	30
3.1.2. Princípio da medicina regenerativa.....	30
3.1.3. As células tronco.....	30
3.1.4. Interesse das células tronco mesenquimatosas na medicina regenerativa.....	32
3.2. PRINCÍPIOS TERAPÊUTICOS.....	33
3.2.1. Escolha das células troco para o tratamento da doença periodontal.....	33
3.2.2. Obtenção de células tronco mesenquimatosas.....	34
3.2.3. Investigação clínica.....	36
3.2.4. Limitações.....	38
Conclusão.....	39
Referências.....	40
ANEXOS.....	ix

Índice de figuras e tabelas

Figura 1: Esquema anatómico do dente e do periodonto (Hennet e Boutoille, 2014b).....	5
Figura 2: Placa dentária revelada por raspagem com uma sonda periodontal (Hennet e Boutoille, 2014b).....	10
Figura 3: Má oclusão que favorece o desenvolvimento da doença periodontal (Hennet e Boutoille, 2014b).....	12
Figura 4: Imagem radiográfica do quarto pré-molar superior esquerdo (208) num cão com “gingivite marginal” precoce (setas azuis) (Niemiec, 2013).....	14
Figura 5: Periodontite agressiva manifestada pela rápida destruição dos tecidos periodontais à volta do dente M1 mandibular num cão jovem (Hennet e Boutoille, 2014b).....	15
Figura 6: Periodontite ulcerativa-necrótica associada a osteomielite num cão imunocomprometido, (Hennet e Boutoille, 2014b).....	15
Figura 7: Gráfico que mostra a correlação das pontuações da patologia da valva A-V, do fígado e dos rins com a carga estimada da doença periodontal (APO) (Pavlica, Z. e <i>al.</i> , 2008).....	17
Figura 8: Imagem intraoral do canino maxilar esquerdo (204) de um cão com uma bolsa periodontal e presença significativa de cálculo (Niemiec, 2013).....	18
Figura 9: Imagem dentária intraoral da mandíbula esquerda de um cão com o terceiro e quarto pré-molares e o primeiro molar (307-309) todos com exposição da furca de grau 2 (Niemiec, 2013).....	20
Figura 10: Osteólise importante à volta da raiz mesial do M1 mandibular (Hennet e Boutoille, 2014b).....	21

Figura 11: Superfície do dente antes (1) e após (8) o polimento (Boulanger, 2021).....	23
Figura 12: A técnica de gengivectomia pela abordagem dos pontos sangrantes (Hennet, 2006).....	25
Figura 13: O antes e depois da gingivectomia realizada com bisturi elétrico (Hennet e Boutoille, 2014b).....	25
Figura 14: Retalho muco-gengival, (Niemiec, 2013).....	26
Figura 15: Classificação das células-tronco (Mullan e Walters, 2023).....	31
Figura 16: Obtenção da fração vascular do estroma (Bertheuil e al., 2014).....	35
Figura 17: Procedimento cirúrgico periodontal (Monsarrat e al., 2024).....	37
Tabela 1: Microbiota da cavidade oral (McDonald e al., 2016).....	8
Tabela 2: Principais espécies bacterianas pertencentes a 75% dos géneros bacterianos identificáveis por biologia molecular na cavidade oral do cão (Sturgeon e al., 2012).....	9
Tabela 3: Antibióticos mais frequentemente utilizados em casos de doença periodontal (Niemiec, 2013).....	27

Índice de abreviaturas

A-V: átrio-ventriculares

AVDC: do inglês *American Veterinary Dental College*

BPF: Boas práticas de fabricação

CT-DCU: Célula tronco derivada do cordão umbilical

CT-DG: Célula tronco derivada da gengiva

CT-DLP: Célula tronco derivada do ligamento periodontal

CT-DMO: Célula tronco derivada da medula óssea

CT-DPD: Célula tronco derivada da polpa dentária

CT-DTA: Célula tronco derivada do tecido adiposo

CTM: Célula tronco mesenquimatosa

FNT: Fator de necrose tumoral

FVE: Fração vascular estromal

HFBLP: Hidrogel de fibrina à base de lisado plaquetário

HPCO: Higiene profissional da cavidade oral

IL-1: Interleucina-1

LP: Ligamento periodontal

MEM- α : Meio essencial mínimo α

NPM: Neutrófilos polimorfonucleares

MPM: Metaloproteinase da matriz

MTI: Medicamentos de terapia inovadora

UTILIZAÇÃO DA TERAPIA CELULAR NA DOENÇA PERIODONTAL NO CÃO

Yoël Khelif^a, Carlos Alberto Antunes Viegas^b

^a Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal
(yoelkhelif@gmail.com)

^b Departamento de Medicina Veterinária, Escola Universitária Vasco da Gama, Av. José R. Sousa Fernandes 197, Campus Universitário- Bloco B, Lordemão, 3020-210, Coimbra, Portugal
(carlos.viegas@euvg.pt)

RESUMO

A doença periodontal é uma doença infecto-inflamatória que atinge 80 % dos cães a partir de 2 anos de idade. É causada por uma elevada carga microbiana patogénica presente na placa dentária, que suscita a resposta imunitária inata do hospedeiro, o que conduz à inflamação e destruição de muitos tecidos de suporte dos dentes. Sinais clínicos como halitose, ptialismo, gengivite, exposição radicular e da furca, mobilidade dentária e esfoliação dentária, são alguns dos sinais clínicos mais característicos desta entidade nosológica. Para tratar a doença periodontal, geralmente parte-se de um tratamento inicial que designamos por “Higiene profissional da cavidade oral”, que consiste na higienização das peças dentárias ao nível supra e subgengival, seguida de curetagem, polimento e irrigação, bem como um tratamento cirúrgico que pode recorrer à realização de vários tipos de retalhos gengivais e a várias técnicas cirúrgicas como gengivectomia ou gengivoplastia ou mesmo regeneração tecidual guiada. Atualmente não existe nenhum recurso terapêutico individual capaz de proporcionar um tratamento eficaz a longo prazo e uma recuperação sustentável da homeostasia dos tecidos periodontais. No entanto, graças aos recentes avanços da medicina regenerativa, novas perspetivas de tratamento se perspectivam na gestão desta situação clínica, que tem consequências devastadores nos indivíduos acometidos não só a nível local como também sistémico. Novos estudos destacam o potencial da terapia baseada em células-tronco de origem adiposa para o estabelecimento de uma regeneração periodontal avançada. Eles evidenciam modificações favoráveis do microbiota gengival, uma redução substancial da inflamação e uma diminuição significativa da perda de inserção.

Palavras-chave: Cão, Células tronco, Gengivite, Periodontite, Tecido adiposo, Terapia celular

ABSTRACT

Periodontal disease is an infectious-inflammatory disease that affects 80% of dogs from 2 years of age. It is caused by a high pathogenic microbial load present in dental plaque, which triggers the host's innate immune response, leading to inflammation and destruction of many of the supporting tissues of the teeth. Clinical signs such as halitosis, ptyalism, gingivitis, root and furcation exposure, dental mobility, and tooth exfoliation are some of the most characteristic clinical signs of this nosological entity. To treat periodontal disease, treatment usually begins with an initial phase referred to as "Professional oral cavity hygiene", which consists of the cleaning of dental units at the supragingival and subgingival levels, followed by curettage, polishing and irrigation, as well as a surgical treatment that may involve the execution of various types of gingival flaps and several surgical techniques such as gingivectomy or gingivoplasty, or even guided tissue regeneration. Currently, there is no individual therapeutic resource capable of providing effective long-term treatment and sustainable recovery of the homeostasis of periodontal tissues. However, thanks to recent advances in regenerative medicine, new treatment perspectives are emerging in the management of this clinical condition, which has devastating consequences for affected individuals, not only at the local level but also systemically. New studies highlight the potential of stem cell therapy of adipose origin for the establishment of advanced periodontal regeneration. They reveal favourable modifications of the gingival microbiota, a substantial reduction in inflammation, and a significant decrease in attachment loss.

Keywords: Dog, Stem cells, Gingivitis, Periodontitis, Adipose tissue, Cell therapy

INTRODUÇÃO

A doença periodontal é uma doença infecto-inflamatória crónica, disbiótica e relacionada com a idade, que afeta os tecidos de suporte ou sustentação dentária. Ela consiste numa inflamação que conduz à destruição progressiva do periodonto profundo dos dentes afetados, levando à mobilidade, migração e mesmo esfoliação ou perda de peças dentárias (Monsarrat e al., 2024; Santos, Carlos Albuquerque, 2012).

Esta doença representa um verdadeiro desafio em medicina veterinária, já que parece afetar 80% da população canina a partir dos dois anos de idade. Diversos estudos foram conduzidos com o objetivo de entender os mecanismos complexos da doença periodontal, para assim encontrar a terapia mais adequada (Hennet, 2014; Niemiec, 2008).

Para combater esta doença, várias estratégias de prevenção e vários tratamentos foram propostos, mas os seus resultados permanecem variáveis e não conclusivos. Além disso, essas abordagens não permitem restaurar o equilíbrio entre o hospedeiro e a microbiota oral. Diante disso, novas hipóteses surgem, considerando as terapias celulares como uma solução capaz de assegurar tanto a regeneração periodontal quanto a recriação de um microambiente favorável à restauração da homeostasia tecidual (Monsarrat e al., 2024).

Os recentes avanços em medicina regenerativa permitem vislumbrar novas perspectivas para a engenharia tecidual periodontal. A terapia celular utilizando células tronco mesenquimatosas (CTM) poderia restaurar de forma duradoura a homeostasia do microambiente periodontal e promover uma regeneração confiável e sustentável dos tecidos afetados (Dubuc e al., 2022).

O objetivo desta revisão bibliográfica é demonstrar a segurança e eficácia das células tronco no tratamento da doença periodontal do cão.

1. A DOENÇA PERIODONTAL DO CÃO

1.1. ANATOMIA DO PERIODONTO

O periodonto é um órgão constituído por diferentes tecidos como gengiva, cemento, ligamento periodontal (LP) (desmodonto) e osso alveolar, cuja principal função é a de garantir o suporte e fixação do dente ao seu alvéolo. Desempenha ainda outras funções essenciais, como sejam proteger o aparelho dentário contra agressões mecânicas, microrganismos e pressões excessivas exercidas sobre os dentes (Figura1) (Hennet e Boutoille, 2014b).

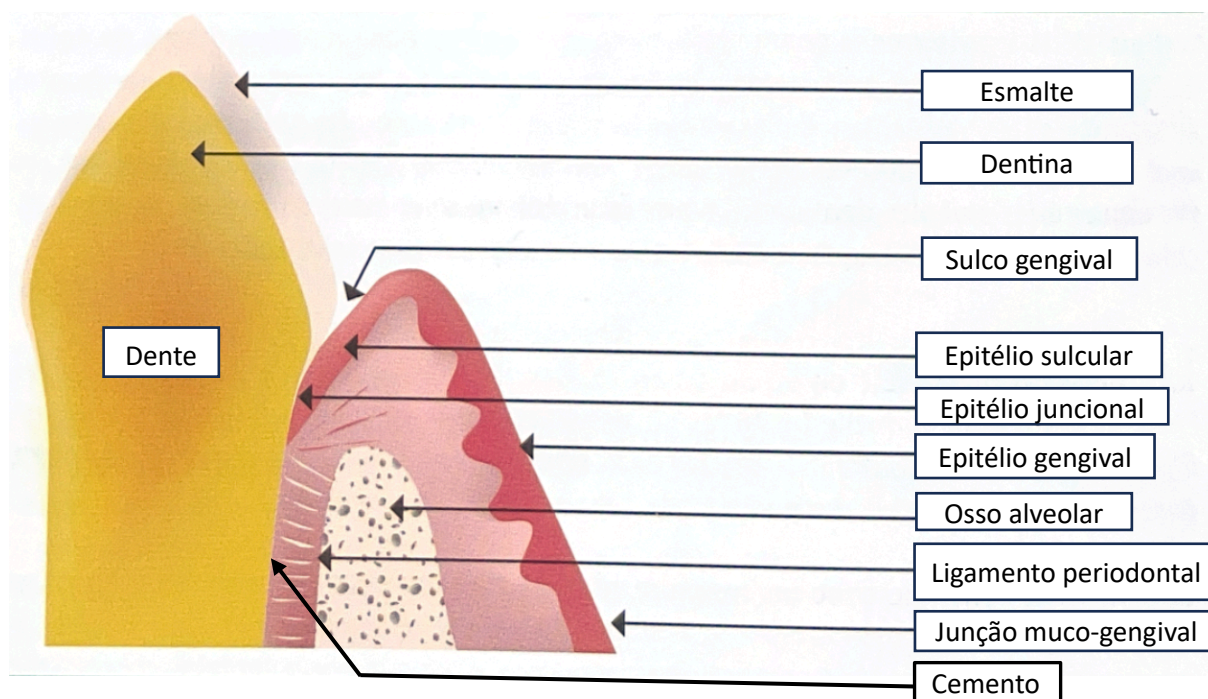


Figura 1: Esquema anatómico do dente e do periodonto (Hennet e Boutoille, 2014b)

1.1.1. Gengiva

A gengiva é o tecido externo ou a parte visível do periodonto, que envolve os dentes entre as raízes e a coroa, ao nível do colo dentário e cobre o osso alveolar. É uma mucosa recoberta por epitélio pavimentoso estratificado queratinizado que se divide em diferentes partes, cada qual com uma função específica. Em primeiro lugar, a gengiva marginal ou gengiva livre, que circunda o colo dentário e forma

um sulco, chamado sulco gengival. Este espaço, que mede de 0,5 a 3 mm, dependendo da espécie, impede que bactérias e outros agentes patogénicos alcancem os tecidos subjacentes, principalmente devido à presença do fluido sulcular ou crevicular, rico em proteínas plasmáticas como as imunoglobulinas e substâncias antibacterianas como as defensinas e lisozimas (Niemic, 2013). Mais profundamente, a gengiva aderida encontra-se firmemente fixada ao osso alveolar, o que garante a estabilidade dos dentes e promove resistência às forças exercidas durante a mastigação (Hennet, 2006; Hennet e Boutoille, 2014b).

1.1.2. Ligamento periodontal ou desmodonto

O ligamento periodontal é composto principalmente por feixes compactos de fibras de colagénio (fibras de Sharpey), dispostos obliquamente e firmemente ancorados de um lado no cemento e do outro no osso alveolar. Esse ligamento alvéolo-dentário também contém vasos sanguíneos e linfáticos, fibroblastos, além de células tronco mesenquimatosas capazes de se diferenciarem em células blásticas ou clásticas. O desmodonto desempenha diversas funções como sejam a fixação, defesa e reparação do dente, a função sensorial e a de amortecedor (Hennet e Boutoille, 2014b; Martinez, 2020).

1.1.3. Cemento

O cemento é o local de inserção do desmodonto no dente. É a camada mais externa das raízes dentárias, cobrindo-as do colo até ao ápice. Trata-se de um tecido mineralizado desprovido de vascularização e é constituído por uma parte celular e uma parte acelular. O cemento acelular, composto somente por fibras, mantém-se em contato direto com a dentina do dente, enquanto a componente celular, que constitui a porção mais externa, possui capacidade de reparação e reabsorção por ser rico em cementoblastos. No entanto, esta componente celular não contém, geralmente, cementoclastos num cemento são, mas estes aparecem aquando da rizólise dos dentes decíduos ou no decurso de processos patológicos (Hennet e Boutoille, 2014b; Niemic, 2013).

1.1.4. Osso alveolar

O osso alveolar é um osso laminar, em continuidade com o maxilar e a mandíbula, que constitui o suporte dos dentes. Ele é formado por osso compacto na periferia e por osso esponjoso no centro, onde se desenvolvem os alvéolos dentários. Esse osso apresenta duas corticais: uma externa recoberta por periósteo, em continuidade com as corticais maxilar e mandibular e uma interna que forma a parede óssea do alvéolo dentário, local onde se dá a inserção das fibras do ligamento periodontal alvéolo-dentário. Essa cortical interna é a camada óssea mais próxima do dente e denomina-se lâmina dura ou lâmina crivosa (Hennet e Boutoille, 2014b; Niemiec, 2013).

1.2. DOENÇA PERIODONTAL

A doença periodontal é uma doença infecto-inflamatória provocada por uma elevada carga microbiana periodontopatogénica constituída pelas bactérias presentes na placa dentária, que suscitam uma resposta imunitária inata significativa, por parte do hospedeiro. A doença periodontal evolui em duas fases. Inicialmente, a placa dentária induz uma inflamação gengival denominada gengivite que, num segundo momento, pode progredir para um processo inflamatório crónico que culmina na destruição do periodonto, a periodontite (Hennet e Boutoille, 2014; Monsarrat e al., 2024; Niemiec, 2013).

1.2.1. Epidemiologia

Segundo os estudos, a doença periodontal é a afeção mais prevalente da cavidade oral nos cães, sendo inclusive considerada a mais frequente entre os animais de companhia. A partir dos 2 anos de idade, 70% dos gatos e 80% dos cães são acometidos por doença periodontal (Niemiec, 2008).

De acordo com um estudo realizado com 123 Caniches, 90% dos animais com menos de 4 anos e todos aqueles com mais de quatro anos têm pelo menos um dente acometido por periodontite. Este trabalho permite definir os Caniches com idades compreendidas entre seis e sete anos como um grupo com risco elevado de apresentar uma periodontite avançada (Hoffmann e Gaengler, 1996).

Da mesma forma, um estudo realizado com 1350 cães na América do Norte revelou que mais de 80% dos cães, independentemente da idade, apresentavam doença periodontal mais ou menos severa, que se agravava significativamente com a idade e era particularmente mais acentuada em cães de pequeno porte (Harvey e al., 1994).

A variação dessa prevalência pode ser explicada pelas diferenças na composição dos grupos estudados, bem como pelos distintos critérios diagnósticos adotados para a definição da doença periodontal. A acumulação de placa dentária tem início logo após a erupção dos dentes, sendo rapidamente seguida pela formação de cálculo dentário em cães com idade superior a sete – oito meses. Segundo os estudos de Hennet, o acúmulo de placa dentária, seguido da formação do cálculo e da inflamação gengival, é mais pronunciado nas faces vestibulares dos dentes maxilares, ao passo que as faces linguais dos dentes mandibulares são menos afetadas. Ainda assim, os incisivos e caninos podem ser comprometidos precocemente em cães de pequeno porte (Hennet e Boutoille, 2014b).

1.2.2. Ecologia oral

De acordo com os estudos de McDonald, a microbiota oral canina é constituída principalmente por bactérias (99,5%), com uma proporção muito reduzida de organismos eucariotas (0,46%) e arqueias (0,01%) (McDonald e al., 2016). Hennet descreve a cavidade oral canina, primeira porção do trato digestivo, como um ambiente bacteriano. Em contato direto com o meio externo, ela está constantemente sujeita a diversas agressões, físico-químicas e infecciosas (bacterianas, fúngicas, virais). Dessa forma, em todas as afeções orais e dentárias é possível identificar uma componente bacteriana, seja ela primária ou secundária (Hennet, 2006). A microbiota bacteriana da cavidade oral dos cães é heterogênea, algumas das quais espécies, conhecidas como autóctones, são exclusivas da boca, enquanto outras pertencem à microbiota denominada transitória. As principais bactérias identificadas incluem actinobactérias, bacteroides, chlorobi, firmicutes, proteobactérias e espiroquetas. Esses grupos representam mais de 95% da população bacteriana oral (Tabela 1).

Tabela 1: Microbiota da cavidade oral

ARCHAEAS	BACTÉRIAS	EUKARYOTAS
0.01%	99.53%	0.46%
Euryarchaeota (100%)	Actinobacteria (3.6%)	Amoebozoa (0.5%)
	Bacteroides (26.2%)	Metamonada (87.9%)
	Chlorobi (3.0%)	Chordata (11.6%)
	Firmicutes (10.8%)	

	Proteobacteria	(41.6%)	
	Spirochaetota	(10.3%)	
	Total	95.5 %	

Fonte: McDonald e al., 2016

No ser humano, estima-se atualmente que existam mais de 700 espécies bacterianas na cavidade oral, das quais mais da metade ainda não foram cultivadas ou identificadas em laboratório (Kumar, 2005; Marsh, 2004; Rylev, 2008). Além disso, na saliva humana, centenas de trilhões de bactérias são libertadas todos os dias e a natureza destas bactérias varia de acordo com a sua localização na cavidade oral (Loeshe, 1988). Estudos recentes em cães mostram que o microbiota oral canino apresenta um numeroso similar mas uma população significativamente diferente daquela dos humanos (Tabela 2) (Bell e al., 2020).

Tabela 2: Principais espécies bacterianas pertencentes a 75% dos géneros bacterianos identificáveis por biologia molecular na cavidade oral do cão

<i>Bacteroides sp.</i>
<i>Bergeyella sp.</i>
<i>Cappnocytophaga sp.</i>
<i>Derxia sp.</i>
<i>Enhydrobacter sp.</i>
<i>Fusobacterium sp.</i>
<i>Lachnospira sp.</i>
<i>Moraxella sp.</i>
<i>Neisseria sp.</i>
<i>Parabacteroides sp.</i>
<i>Peptostreptococcus sp.</i>
<i>Porphyromonas sp.</i>
<i>Tannerella sp.</i>
<i>Treponema sp.</i>
<i>Xylanibater sp.</i>

Fonte: Sturgeon e al., 2012

1.2.3. Etiologia: fator determinante e fatores predisponentes

Como demonstrado por muitos estudos, a idade é o fator de risco mais importante seguido pela presença da placa dentária bacteriana, que representa o fator determinante para o início da doença periodontal (Hoffmann e Gaengler, 1996; Monsarrat e al., 2024).

A placa dentária (Figura 2) é considerada como um biofilme que se forma na superfície dos dentes e que contém uma microbiota diversificada. Esse biofilme é composto por uma película acelular formada por glicoproteínas, polipeptídeos e lípidos salivares, a qual é subsequentemente colonizada por bactérias como *Actinomyces spp.* e *Streptococcus spp.*, dotadas de importantes propriedades de adesão. Posteriormente, outras espécies bacterianas, sem capacidade inicial de adesão, colonizam o biofilme, desencadeando a produção de biossurfactantes (Brisa, 2022).



Figura 2: Placa dentária revelada por raspagem com uma sonda periodontal (Hennet e Boutoille, 2014b)

Em ambiente de cultura, as bactérias que se encontram à superfície do biofilme comportam-se de maneira distinta em relação às presentes no interior do biofilme. A observação microscópica revela que estas últimas não estão distribuídas uniformemente, mas organizadas em micro-colónias, que são envolvidas por uma matriz inter-microbiana protetora. Essa estrutura permite a circulação de nutrientes, resíduos, enzimas, metabólitos e oxigénio por meio de uma rede de canais hídricos, originando microambientes distintos caracterizados pela diferente concentração de oxigénio, disponibilidade de nutrientes e por variações de pH (Brisa, 2022). A comunicação entre as bactérias do biofilme baseia-se na emissão de sinais químicos, os quais induzem a expressão de genes responsáveis

pela produção de proteínas e enzimas potencialmente deletérias ao hospedeiro. A organização em biofilme confere às bactérias uma resistência significativamente aumentada aos agentes antimicrobianos, tornando-as de 10 a 1000 vezes mais tolerantes aos antibióticos e antissépticos do que suas congêneres que vivem planctonicamente em suspensão líquida. Dessa forma, a complexidade estrutural do biofilme ressalta a importância de sua remoção mecânica no manejo das doenças periodontais em animais, explicando, ainda, as limitações da antibioterapia isolada nesse contexto (Escudeiro Aguiar Gouveia, 2009; Hennet & Boutoille, 2014b). Posteriormente, a mineralização da placa bacteriana dá origem ao cálculo dentário. A sua formação decorre da precipitação de íons presentes na saliva sobre a placa, resultando, nos cães, frequentemente numa composição mista de carbonato e fosfato de cálcio. Resíduos alimentares inserem-se com frequência entre as camadas de cálculo. O cálculo dentário, por sua vez, gera uma superfície rugosa que favorece a adesão bacteriana e contribui, de forma indireta, para o processo patogénico da doença periodontal (Brisa, 2022).

A alimentação desempenha um papel importante no aparecimento da doença periodontal em cães. Dietas secas e produtos formulados especificamente (abordagem mecânica ou química) auxiliam na manutenção de uma adequada higiene oral, minimizando a formação de placa bacteriana e de cálculo (Gawor e al., 2006). Esse fato remete-nos para outro fator relevante: a mastigação. A utilização regular de objetos mastigáveis contribui para a limitação da acumulação de placa e cálculo (Harvey e al., 1994). A presença de anomalias ortodônticas, como o braquignatismo, as más-oclusões (Figura 3), as más posições dentárias ou a persistência de dentes decíduos, podem favorecer o desenvolvimento da doença periodontal. Tais alterações dificultam o adequado contato entre as superfícies dentárias durante a mastigação e criam zonas propícias à retenção da placa bacteriana (Hennet & Boutoille, 2014b).

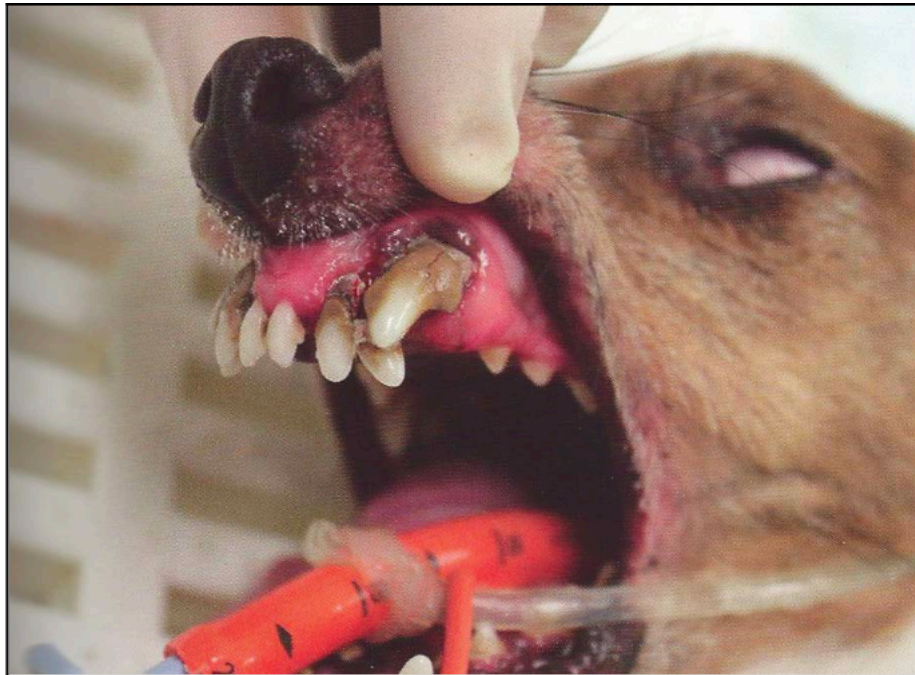


Figura 3: Má oclusão que favorece o desenvolvimento da doença periodontal (Hennet e Bouteille, 2014b).

Outros fatores, como as doenças sistêmicas que podem comprometer o sistema de defesa do hospedeiro como diabetes mellitus, hiperparatireoidismo, imunodeficiência congênita ou adquirida ou doença renal crônica, também são capazes de favorecer o desenvolvimento da placa dentária. Evidentemente, cada indivíduo apresenta uma resposta distinta à doença, influenciada por fatores genéticos próprios, o que explica por que alguns cães idosos não desenvolvem periodontite. Por fim, determinadas raças demonstram maior suscetibilidade às formas agressivas de periodontite, como é o caso do Bichon maltês, embora nenhuma predisposição associada ao sexo tenha sido comprovada em cães (Hennet & Bouteille, 2014b).

1.2.4. Fisiopatologia

O desenvolvimento da doença periodontal pode ser dividido em quatro fases. A primeira fase, ou lesão inicial, pode instalar-se entre dois a quatro dias após se ter iniciado a acumulação da placa bacteriana dentária. O biofilme formado por essa placa contém bactérias Gram-positivas e Gram-negativas, que induzem uma vasculite dos pequenos vasos sanguíneos da gengiva. Esse processo inflamatório provoca a perda da integridade do epitélio juncional, levando à exsudação de células inflamatórias,

nomeadamente os neutrófilos polimorfonucleares (NPM) e de fluidos ricos em proteínas resultando em edema dos tecidos gengivais e aumento da secreção do fluido gengival. A segunda fase, ou lesão precoce, inicia-se entre quatro a dez dias após o acúmulo da placa. A resposta inflamatória torna-se crónica e estende-se. Os tecidos de suporte da gengiva são degradados pelas collagenases bacterianas da placa, além das proteases libertadas pelos NPM. O epitélio juncional é destruído em decorrência da degenerescência e apoptose patológica dos fibroblastos (Muñoz-Carrillo e al., 2019). A cronicidade da inflamação promove uma infiltração predominante de linfócitos T, macrófagos, monócitos e plasmócitos com a libertação de citocinas que induzem a degradação do colagénio ou a ativação dos osteoclastos. A terceira fase, ou lesão estabelecida, desenvolve-se entre duas a três semanas após o depósito de placa bacteriana. A inflamação crónica persiste, com desorganização do epitélio juncional e o seu deslocamento do esmalte dentário, iniciando assim a formação de uma bolsa gengival. Este estágio é caracterizado pela predominância de linfócitos B ativados, acompanhado de perda da matriz do tecido conjuntivo gengival marginal, sem, contudo, haver perda óssea associada. Neste momento, o processo ainda é considerado reversível (Muñoz-Carrillo e al., 2019). A última fase, ou lesão avançada, caracteriza-se pela perda de inserção dos tecidos de suporte na raiz dentária com osteólise e perda do osso alveolar e destruição do ligamento periodontal. Os plasmócitos tornam-se as células predominantes e as células inflamatórias, juntamente com algumas células do próprio periodonto, libertam citocinas que iniciam mecanismos de destruição tecidual, como a degradação do colagénio. A produção exacerbada de interleucina-1 (IL-1), fator de necrose tumoral (FNT), metaloproteinasas da matriz (MPM) e prostaglandinas derivadas das células do hospedeiro e a presença das células do sistema imunitário, estimulam os osteoclastos a destruir o osso alveolar marginal. Esta fase marca a irreversibilidade do processo (Kaiser e al., 2015), assim a resposta imunitária do hospedeiro desempenha, a par da ação das bactérias, um papel fundamental na evolução da doença periodontal.

1.2.5. Apresentação clínica

As apresentações clínicas da doença periodontal são variadas. Os sinais clínicos podem ser diferentes de um indivíduo para outro, bem como de um dente para outro. A evolução da doença, assim como a resposta de cada indivíduo às agressões bacterianas, determinam essas apresentações. Entre essas apresentações clínicas, distinguem-se segundo Hennet e Boutoille, a gengivite, que é uma inflamação da gengiva sem perda de inserção (Figura 4).

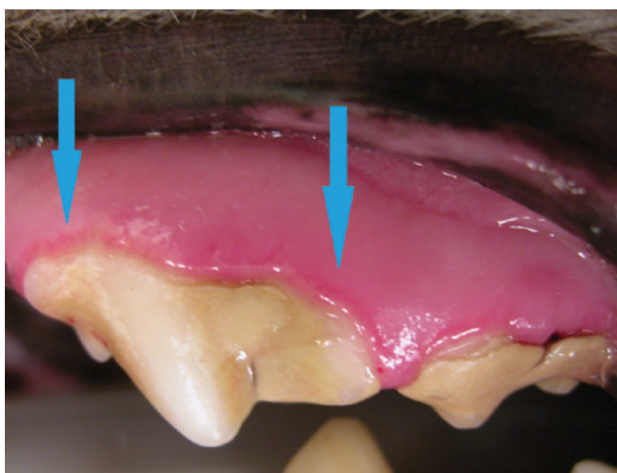


Figura 4: Imagem intraoral do quarto pré-molar superior esquerdo (208) num cão com “gengivite marginal” precoce (setas azuis) (Niemiec, 2013)

Mas também a periodontite crônica, que corresponde à destruição progressiva, lenta, mas cíclica, da inserção epitelial, do ligamento e do osso alveolar, originando ressecção gengival, exposição da furca que corresponde à zona inter-radicular em dentes bi ou triradiculares, e mesmo mobilidade dentária. Esse ciclo é composto por períodos de destruição, assim como por períodos de quiescência, em relação com as variações da resposta imunitária do hospedeiro às agressões bacterianas. Essa apresentação clínica é a mais frequente em cães adultos. Bem como a periodontite agressiva (Figura 5) ocorre geralmente em cães saudáveis, jovens e de pequeno porte e caracteriza-se por uma destruição rápida dos tecidos periodontais (Hennet e Boutoille, 2014b)..

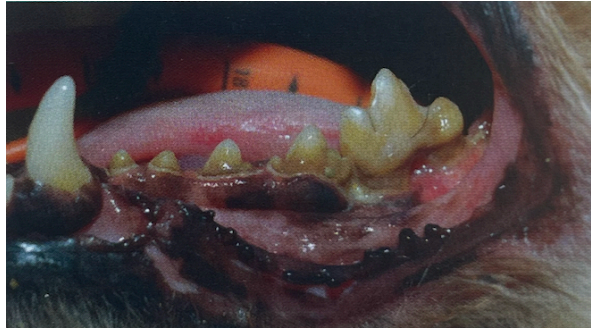


Figura 5: Periodontite agressiva, manifestada pela rápida destruição dos tecidos periodontais, à volta do dente M1 mandibular, num cão jovem (Hennet e Boutoille, 2014b).

Igualmente distingue-se a periodontite associada a uma doença sistémica que pode afetar indivíduos de qualquer idade e estar relacionada a uma afeção metabólica (diabetes, hiperadrenocorticism, hiperparatiroidismo), viral (calicivirose em gatos) ou orgânica (insuficiência renal). E a gengivo-periodontite ulcerativa-necrótica, por fim, que ocorre em indivíduos imunocomprometidos, caracteriza-se pela necrose da gengiva, do LP e do osso. Pode, por vezes, ser acompanhada de estomatite ulcerativa ou de osteomielite (Figura 7) (Hennet e Boutoille, 2014b).



Figura 6: Periodontite ulcerativa-necrótica associada a osteomielite num cão imunocomprometido (Hennet e Boutoille, 2014b).

Diversos índices existem para definir o grau da doença periodontal. A principal medida clínica para avaliar a doença periodontal é a percentagem de perda de inserção, definida como a distância entre a junção amelo-cementária e a atual inserção gengival. Segundo o *American Veterinary Dental College (AVDC) Nomenclature Committee*, distinguem-se cinco estádios de doença periodontal, que vão de 0 a 4:

- 299 - **Estádio 0:** aspeto clínico normal, ausência de gengivite ou periodontite clinicamente
300 evidente.
- 301 - **Estádio 1:** gengivite isolada, sem perda de inserção; altura e arquitetura da crista
302 alveolar normais.
- 303 - **Estádio 2:** início de periodontite visível clínica e radiograficamente, perda de inserção
304 inferior a 25% ou furca de grau I no máximo.
- 305 - **Estádio 3:** periodontite moderada, perda de inserção entre 25% e 50% ou furca de
306 grau II.
- 307 - **Estádio 4:** periodontite avançada, perda de inserção superior a 50% ou furca de
308 grau III.

1.2.6. Consequências

312 As consequências da doença periodontal podem ser locais e/ou sistémicas. As complicações locais são
313 numerosas e estão diretamente ligadas ao desenvolvimento das bactérias patogénicas. A halitose é a
314 primeira consequência e é principalmente devida aos compostos voláteis sulfurados produzidos por
315 certas bactérias da placa dentária, nomeadamente as bactérias anaeróbias de Gram-negativo (Porter
316 e Scully, 2006). Localmente, a doença periodontal está na origem de hemorragias e de dores, mas dá
317 origem, em casos mais avançados, a abscessos periodontais, osteomielites e fístulas oronasais. Nos cães
318 de pequeno porte, podem observar-se fraturas patológicas da mandíbula (Hennet & Boutoille, 2014).

319 A doença periodontal não tem apenas consequências localizadas. Pode estabelecer-se uma
320 disseminação bacteriana importante por diferentes vias. Uma afeção do tubo digestivo associada a
321 perturbações da digestão pode resultar da deglutição de matérias sépticas. Podem ser observadas
322 infeções e inflamações das vias respiratórias superiores e inferiores, na sequência da passagem de
323 germes para as estruturas endonasais, bem como para a árvore respiratória (Hennet & Boutoille, 2014).

324 A periodontite pode também provocar uma bacteriemia sistémica. Segundo os estudos de Nieves e
325 Black, o risco de bacteriemia aumenta com a gravidade da doença periodontal (Black e al., 1980; Nieves
326 e al., 1997). Um estudo realizado em 44 Caniches, com idades entre 6 e 15 anos, revelou uma
327 associação entre a gravidade da doença periodontal e alterações histopatológicas ao nível do fígado,
328 dos rins e coração (Figura 8). Entre estas alterações, 84% dos cães apresentavam anomalias das valvas
329 átrio-ventriculares, das quais 45,5% apresentavam espessamentos graves, nomeadamente fibrose e
330 inflamação. Segundo o estudo, isto explica-se pela ação sistémica dos mediadores inflamatórios

libertados em maior quantidade durante uma bacteriemia nos cães que apresentam uma doença periodontal severa (Pavlica, 2008).

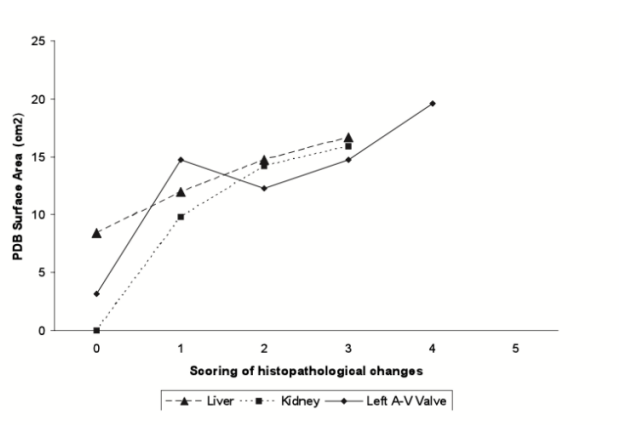


Figura 7: Gráfico que mostra a correlação das pontuações da patologia da valva A-V, do fígado e dos rins com a carga estimada da doença periodontal (Pavlica e al., 2008).

1.2.7. Diagnóstico clínico

1.2.7.1. Sinais clínicos

Na presença de doença periodontal, o exame do animal é rico em informações. Entre os sinais clínicos mais comuns, encontramos a halitose, o ptialismo, a dor durante a alimentação e a dificuldade em mastigar. Os tutores também podem observar a presença de cálculo, inflamação gengival, recessão gengival e a formação de pus nas bolsas periodontais. À medida que a doença progride, sinais mais graves aparecem, como a perda de inserção dentária, a mobilidade dentária, e a visibilidade das furcas entre as raízes dentárias. (Brisa, 2022).

1.2.7.2. Preenchimento do Odontograma/Periodontograma

Um exame clínico com o animal em vigília deve ser feito na consulta com um exam preliminar da cavidade oral. No entanto, a doença periodontal só pode ser devidamente avaliada após um exame completo da cavidade oral e dos dentes, sob anestesia geral. É importante adotar uma abordagem sistêmica durante a avaliação e a medição da extensão da doença periodontal em cães. Como complemento ao exame visual, um exame instrumental sob anestesia geral permite a avaliação minuciosa de cada dente. Todas as informações do exame da cavidade oral são referidas num

odontograma (Anexo 1) que é uma representação visual dos dentes na cavidade oral. O odontograma permite transferir para o papel as alterações observadas assim como os índices de caracterização de doenças, como o índice de placa, o índice de cálculo, o índice de gengivite, o índice de mobilidade e o índice de periodontite (Løe, 1967).

1.2.7.3. Critérios de avaliação

A gravidade da doença periodontal é determinada com base em vários critérios de avaliação: grau de gengivite, perda de inserção, comprometimento da furca e mobilidade dentária.

A periodontite é diagnosticada quando se deteta perda de inserção. A perda de inserção é medida com o auxílio de uma sonda periodontal graduada, que permite medir a profundidade do sulco dentário. Em cães saudáveis, esse sulco mede de 1 a 3 mm de profundidade. A sonda é segura como uma caneta e posicionada paralelamente ao eixo maior do dente. A profundidade é medida desde o fundo do sulco até à junção amelo-cementária (Figura 9). Quando o valor do sulco ultrapassa os 3 mm e ocorreu a destruição do epitélio juncional que se reorganiza apicalmente na raiz, falamos de bolsa periodontal. A bolsa periodontal patológica pode ser supra-óssea, ou seja, com o fundo da bolsa localizada acima da crista óssea, ou infra-óssea, com o fundo da bolsa situado apicalmente em relação à crista óssea. A perda de inserção também pode se manifestar por destruição gengival e do osso alveolar sem a presença de bolsa periodontal. Nesse caso, observa-se a recessão gengival, medida a partir da junção amelo-cementária até à gengiva livre marginal (Hennet e Boutoille, 2014; Niemiec, 2013).

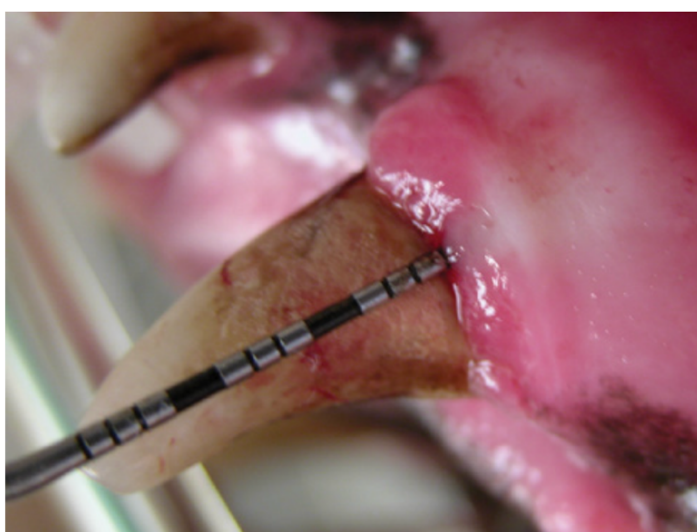


Figura 8: Imagem intraoral do canino maxilar esquerdo (204) de um cão com uma bolsa periodontal e presença significativa de cálculo (Niemiec, 2013).

379

380 A determinação do grau de lesão da gengiva é muito importante porque é um forte indicador da saúde
381 da cavidade oral. A gengivite pode ser classificada por inspeção visual e exame com sonda periodontal
382 (Löe, 1967):

- 383 - **Grau 0 (GI0):** Gengiva saudável com bordo fino e não inflamado.
- 384 - **Grau 1 (GI I):** Gengiva ligeiramente inflamada (gengivite marginal), surge um ligeiro eritema
385 e/ou edema. A gengiva não sangra na prova com sonda periodontal.
- 386 - **Grau 2 (GI II):** Gengiva moderadamente inflamada, com eritema e edema óbvios. A gengiva
387 sangra na prova quando tocada.
- 388 - **Grau 3 (GI III):** Gengiva muito inflamada, hiperplásica ou atrófica, com eritema e edema óbvios.
389 A gengiva sangra espontaneamente e por vezes profusamente na prova. Pode ocorrer a
390 formação de bolsas e ulceração da gengiva.

391

392 A avaliação da exposição da furca é fundamental. Esta corresponde à zona inter-radicular dos dentes
393 plurirradiculares. Esse espaço não é sondável fisiologicamente, pois é ocupado por osso alveolar. Assim,
394 as lesões de furca são classificadas segundo os seguintes graus (AVDC, 2024):

- 395 - **Grau 0:** Não há comprometimento da furca.
- 396 - **Grau 1:** Comprometimento da furca no qual a sonda periodontal penetra menos da metade do
397 espaço situado sob a coroa em todas as direções, num dente plurirradicular com perda de
398 inserção.
- 399 - **Grau 2:** Comprometimento da furca no qual a sonda periodontal penetra mais do que metade
400 do espaço sob a coroa de um dente plurirradicular com perda de inserção, sem o atravessar
401 completamente (Figura 10).
- 402 - **Grau 3:** Exposição da furca em que a sonda periodontal penetra o espaço sob a coroa de um
403 dente plurirradicular e o atravessa de um lado ao outro.

404

405



Figura 9: Imagem dentária intraoral da mandíbula esquerda de um cão com o terceiro e quarto pré-molares e o primeiro molar (307-309) todos com exposição da furca de grau 2 (Niemic, 2013).

Como dito anteriormente, é importante avaliar a mobilidade dentária. Ela é medida mobilizando-se o dente com os dedos ou com um instrumento. O grau de mobilidade varia conforme a destruição do ligamento periodontal e do osso alveolar. A mobilidade dentária é classificada segundo os seguintes graus (AVDC, 2024):

- **Grau 0:** Mobilidade fisiológica até 0,2 mm.
- **Grau 1:** Mobilidade aumentada; amplitude de 0,2 a 0,5 mm, em todas as direções, exceto a axial.
- **Grau 2:** Mobilidade aumentada; amplitude de 0,5 a 1 mm, em todas as direções, exceto a axial.
- **Grau 3:** Mobilidade aumentada, com amplitude superior a 1 mm ou presença de mobilidade axial.

O exame radiográfico dentário (Figura 11) deve sempre complementar o exame instrumental dos dentes acometidos por doença periodontal. Segundo um estudo de 1998, o exame radiográfico permite, em 26,2% dos casos, visualizar uma extensão da doença periodontal mais importante do que a estimada clinicamente (Verstraete e al., 1998). Radiograficamente, os sinais de periodontite incluem o alargamento do espaço periodontal, a descontinuidade da lâmina dura e a perda de osso alveolar.

Também podem ser observadas reabsorções radiculares causadas por inflamações crônicas ao redor das raízes, bem como lesões endodônticas. As radiografias são, portanto, de importância crucial para avaliar o risco de fratura mandibular em casos de perda óssea significativa. Um estudo mais recente, realizado por Kim e colegas, avaliou radiograficamente as anomalias dentárias em 233 cães de raças pequenas e revelou que sobre 9.786 dentes avaliados, 15,8% apresentavam perda óssea (Kim e al., 2012).

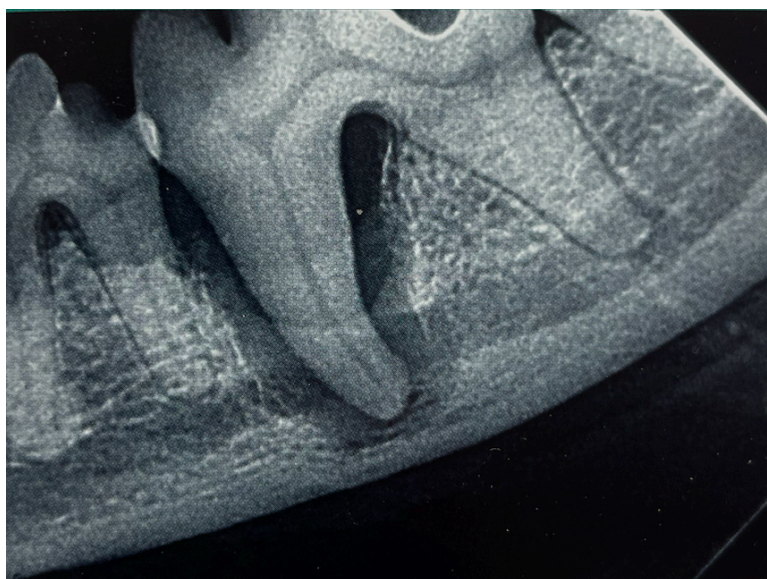


Figura 10: Osteólise acentuada vertical à volta da raiz mesial do M1 mandibular (Hennet e Boutoille, 2014b).

2. TRATAMENTOS CONVENCIONAIS DA DOENÇA PERIODONTAL NO CÃO

Existem dois modos de tratamento da doença periodontal, a Higiene profissional da cavidade oral (HPCO) e a cirurgia periodontal.

2.1. TRATAMENTO PERIODONTAL INICIAL

A técnica de HCPO pressupõe várias etapas. No início recomenda-se a irrigação da cavidade bucal com uma solução diluída de Digluconato de Clorexidina a 0,1%, a fim de reduzir a carga bacteriana. Em seguida, procede-se à eliminação do cálculo supra-gengival e da placa dentária, seguido da curetagem

subgengival. Por fim, o tratamento conclui-se com o polimento de cada dente, a irrigação da cavidade oral e, se necessário, um tratamento antimicrobiano (Hennet & Boutoille, 2014).

2.1.1. Higienização supragengival

Num primeiro momento, os grandes pedaços de cálculo são fraturados com a ajuda de um extrator de cálculo. Isto permite, em seguida, proceder à eliminação dos depósitos de cálculo e de placa situados nas coroas dentárias com o auxílio de uma sonda ultrassónica. A utilização de um aparelho de ultrassons com uma ponta supra-gengival é recomendada; esta ponta deve ser utilizada de maneira tangencial, em movimento e sem pressão excessiva. Uma irrigação deve, imperativamente, alcançar abundantemente a extremidade da ponta a fim de a resfriar, para evitar a pulpíte térmica causada pelo calor excessivo sentido sobre os tecidos moles da polpa dentária e os tecidos do periodonto (Hennet & Boutoille, 2014).

2.1.2. Higienização subgengival e curetagem

Em casos de periodontite, na presença de bolsas profundas, é indispensável proceder à eliminação do cálculo, da placa subgengival e dos tecidos necrosados. Esse desbridamento subgengival pode ser realizado com curetas manuais ou com pontas ultrassónicas subgengivais.

Melhores resultados são obtidos por curetagem manual do que ultrassónico. A curetagem manual é mais eficaz pois permite remover os tecidos duros como o cemento e os tecidos moles como o ligamento periodontal e então, a contaminação bacteriana nos dentes posterior ao tratamento é menor comparativamente à utilização de pontas ultrassónicas (Lacerda e Alessi, 2002). No entanto, a utilização de pontas ultrassónicas subgengivais específicas permite um ganho de tempo (da ordem de 20 a 50%) e uma redução no tempo de aprendizagem (Hennet, 2006). Esta etapa de eliminação da placa dentária bacteriana, do cálculo subgengival e de tecidos necrosados é frequentemente omitida por falta de conhecimento ou de material adequado.

2.1.3. Polimento

O polimento é uma etapa importante. Após a extração do cálculo, podem ter sido provocados riscas nas superfícies dentárias pelo atrito da ponta do instrumento. O polimento permitirá, portanto, alisar finamente as irregularidades da superfície dos dentes (Figura 12) e, assim, retardar a adesão de nova placa dentária. Ele também permite eliminar eventuais resíduos de placa dentária não removidos.

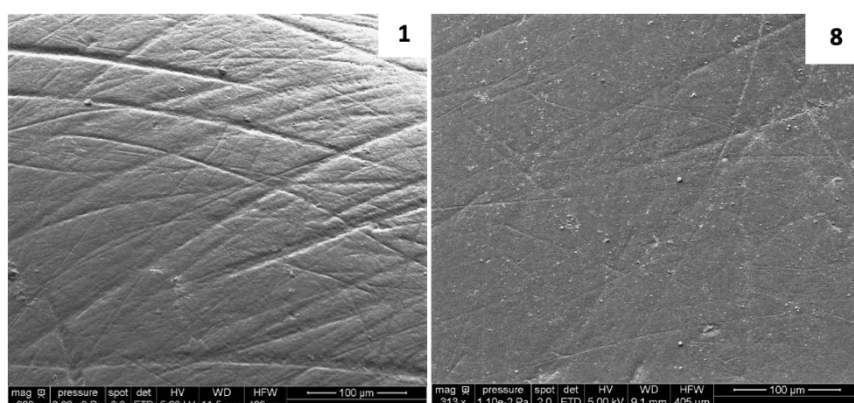


Figura 11: Superfície do dente antes (1) e após (8) o polimento (Boulanger, 2021).

Esse polimento da superfície dentária é classicamente realizado com o auxílio de um contra-ângulo acoplado a uma peça de mão de baixa rotação (<3000 rotações/minuto), equipado com uma taça de borracha ou escova recoberta com pasta de polimento finamente abrasiva. À semelhança da utilização da sonda de ultrassons é importante assegurar que o tempo gasto em cada dente não seja excessivo, isto é, no máximo entre 10 a 15 segundos, a fim de evitar lesões térmicas e mecânicas nos dentes e na gengiva (Boulanger, 2021).

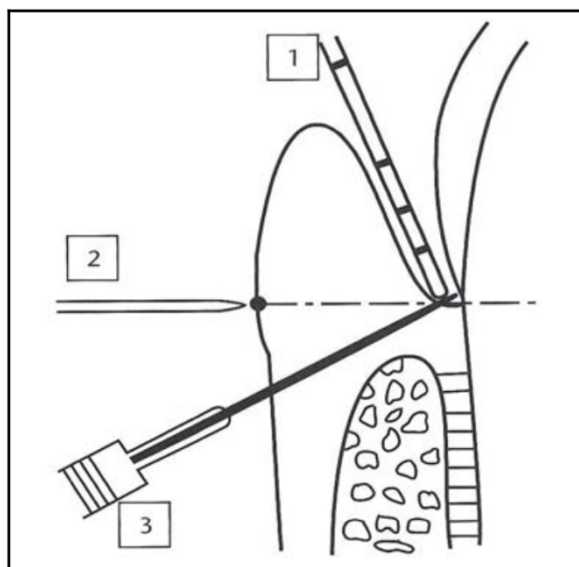
2.2. TRATAMENTOS PERIODONTAIS CIRÚRGICOS

Um tratamento cirúrgico pode ser instituído se uma inflamação persistir apesar dos cuidados prestados pelos proprietários. O mesmo se aplica se a inflamação persistir e os proprietários estiverem impossibilitados ou não desejarem realizar os cuidados de higiene. A terapia periodontal cirúrgica não é, portanto, efetuada como primeira opção na abordagem da doença periodontal. No entanto, em certos casos, a realização de cuidados periodontais cirúrgicos pode ser efetuada já na fase inicial do tratamento, aproveitando a anestesia geral do animal.

2.2.1. Gengivectomia/gengivoplastia

Este procedimento é realizado na presença de bolsas periodontais profundas (>5 mm) patológicas ou em casos de hiperplasia gengival devida a vários fatores como a inflamação crónica da gengiva, a utilização prolongada de medicamentos (ciclosporina), tumoral ou predisposição racial genética, no âmbito da qual se formam pseudo-bolsas. O principal objetivo é obter uma bolsa periodontal de cerca de 2 mm e o acesso direto ao espaço subgengival a fim de realizar a raspagem e o polimento otimizados do dente afetado (Hennet, 2006; Hennet & Boutoille, 2014b). Esta cirurgia consiste na excisão do excesso de gengiva que circunda o dente em casos de hiperplasia gengival ou na remoção da bolsa supraóssea. A raiz do dente poderá, portanto, ficar exposta. Pode utilizar-se um bisturi elétrico com ponta em aro ou a “técnica dos pontos sangrantes”. A realização dessa técnica processa-se em várias etapas, começando por a medida da profundidade da bolsa com uma sonda periodontal graduada. Essa medida é transferida para a face lateral da gengiva, realizando-se uma marca no tecido gengival com um instrumento pontiagudo (como uma sonda dentária, por exemplo). Em seguida, esta operação é realizada ao longo de toda a extensão da bolsa periodontal e resulta na materialização de uma linha formada por pontos sangrantes, representando o fundo da bolsa. Uma incisão com bisel externo de aproximadamente 45° então é realizada com uma lâmina de bisturi ou bisturi elétrico, apicalmente a essa linha de pontos. Por fim, como o tecido gengival não contém fibras elásticas, as duas bordas da ferida permanecem justapostas, utiliza-se então uma cureta afiada para separar a parte incisada do restante do território gengival (Hennet, 2006).

524



525

526 Figura 12: A técnica de gengivectomia pela abordagem dos pontos sangrantes (Hennet, 2006)

527 1: a profundidade da bolsa é determinada com uma sonda periodontal;

528 2: a profundidade é marcada com uma sonda pontiaguda;

529 3: a gengiva é amputada com um bisel externo.

530

531



532

533 Figura 13: O antes e depois da gengivectomia realizada com bisturi elétrico (Hennet & Boutoille,
534 2014b).

535

536

2.2.2. Retalhos muco-gengivais

A realização de um retalho gengival permite o acesso às estruturas periodontais profundas. Isso oferece ao cirurgião a possibilidade de visualizar diretamente as raízes e o osso alveolar e, assim, realizar cuidados complementares, como o desbridamento subgengival, a eliminação de tecidos infetados ou proceder a um remodelamento ósseo ou mesmo facilitar a extração de peças dentárias com perda de inserção superior a 50% (Hennet & Boutoille, 2014).

Após a cirurgia, o retalho é reposicionado contra o osso alveolar e o dente, sendo suturado com fio reabsorvível, a fim de se obter uma cicatrização ideal e a formação de uma nova inserção. Em geral, essas cirurgias são realizadas quando estamos na presença de bolsas infraósseas, na presença de bolsas periodontais superiores a 5 mm, associadas a inflamação persistente ou em caso de bolsa periodontal que se estende para além da junção muco-gengival. O acompanhamento pós-operatório é essencial. Uma higiene rigorosa será necessária para se esperar uma cicatrização ideal.

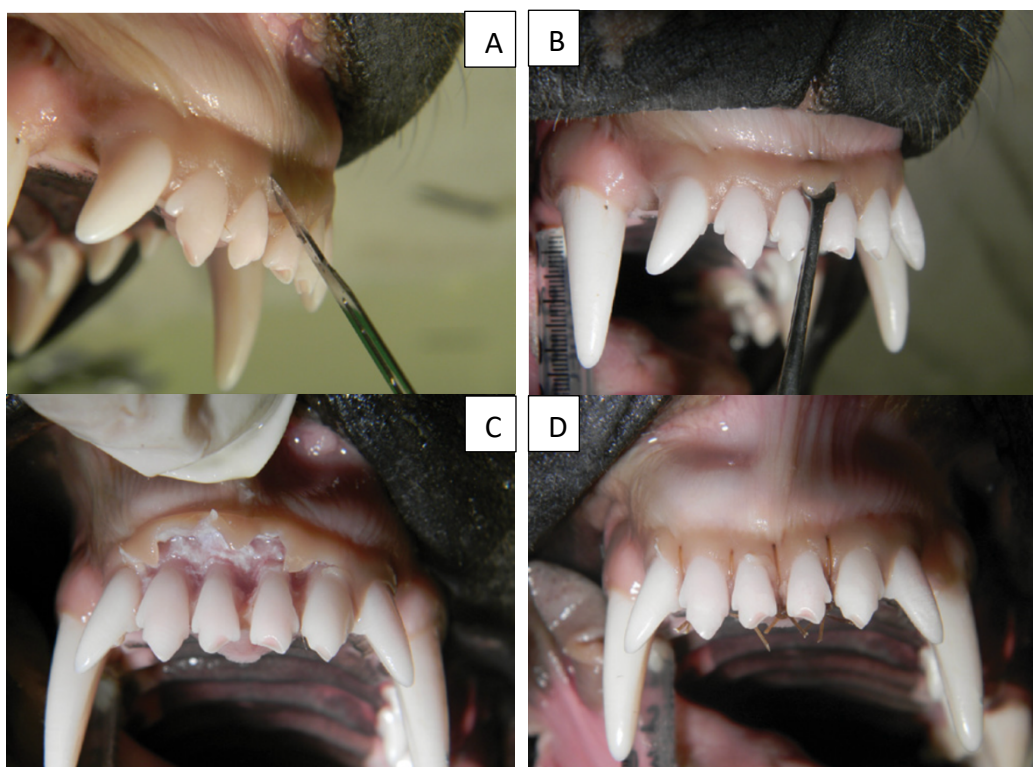


Figura 14: Retalho muco-gengival (Niemiec, 2013)

Legenda: (A) Incisão, sem expor o dente, deixando parte da gengiva inserida. **(B)** A gengiva é rebatida com um elevador do periósteo. **(C)** Exposição do osso alveolar. **(D)** Após o procedimento desejado a gengiva é reposicionada e suturada.

2.3. USO RACIONAL DE ANTIBIÓTICOS

Na odontologia veterinária, os antibióticos são frequentemente utilizados. Alguns profissionais recomendam o seu uso sistemático, enquanto outros reservam a indicação a contextos clínicos bem definidos. Por fim, numerosos autores não veem, por sua vez, justificação para a sua utilização. Os antibióticos mais frequentemente utilizados em casos de doença periodontal são as associações amoxicilina-ácido clavulânico e espiramicina-metronidazol assim como a doxiciclina, a tetraciclina e a clindamicina muito útil na presença de osteomielite (Tabela 3) (Niemic, 2013).

Tabela 3: Antibióticos mais frequentemente utilizados em casos de doença periodontal

Antibióticos	Posologia	Via de administração	Frequência de administração
Amoxicilina – ácido clavulânico	11-22 mg/kg	PO	Cada 12h
Clindamicina	5,5-33 mg/kg	PO	Cada 12h
Doxiciclina	3-5 mg/kg	PO	Cada 12h
Metronidazol	25-50 mg/kg	PO	Cada 12h
Tetraciclina	22 mg/kg	PO	Cada 12h

Fonte: (Niemic, 2013).

Apresentamos a seguir as recomendações que regulamentam a sua utilização.

2.3.1. Antibioprophylaxia

Por definição, a antibioprophylaxia tem como objetivo prevenir as infeções de uma feridas cirúrgicas, prevenir uma bacteriemia e o desenvolvimento de infeções focais, quando o risco é superior a 10%. As

intervenções estomatológico-dentárias correspondem, segundo a classificação de Altemeier, a cirurgias limpas-contaminadas ou contaminadas e podem justificar o uso de uma antibioprolaxia. (Hennet & Boutoille, 2014b). É importante saber que num paciente são, a bacteriemia que pode ser induzida durante esses procedimentos é geralmente transitória com a eliminação das bactérias da circulação sanguínea em menos de 20 minutos (Silver e al., 1975). No entanto, em caso de doença periodontal a antibioprolaxia é indicada em pacientes imunodeprimidos ou com disfunções metabólicas ou orgânicas (diabetes mellitus, doença cardíaca, esplenectomia, hiperadrenocorticism, insuficiência renal ou hepática e animais com próteses) (Hennet & Boutoille, 2014; Niemiec, 2013).

2.3.2. Antibioterapia

Se a maioria das afeções estomatológico-dentárias tem origem numa infeção bacteriana, uma antibioterapia sistémica não é, no entanto, necessária na maioria dos casos. O tratamento adequado em casos de doença periodontal consiste num tratamento dentário mecânico em precisando que uma terapêutica antibiótica isolada não é capaz de resolver a infeção. Todavia, um tratamento antibiótico pode ser prescrito quando potencia o tratamento mecânico, alivia sintomas clínicos importantes e melhora o bem-estar animal. Assim, um antibiótico é geralmente prescrito em casos de lesões profundas de tecidos moles, estomatites, osteomielites, fraturas ósseas infetadas, infeções odontogénicas, traumatismos alveolodentários, afeções endodônticas agudas e, no que aqui nos interessa, nas formas graves de periodontite (agressiva, ulcerativa ou ulcero-necrótica). Além disso, é fundamental proporcionar e privilegiar uma antibioterapia bactericida em pacientes imunodeprimidos (Hennet & Boutoille, 2014b). No entanto a antibioterapia levanta questões como o uso sistémico para doença localizada, o risco de resistências e de disbiose. Os avanços permitiram então, o desenvolvimento de uma terapêutica local com doxiciclina, aprovada em medicina veterinária, que utiliza as propriedades antibacterianas e o efeito anti-colagenase, favorecendo a cicatrização periodontal e prevenindo novas perdas teciduais (Niemiec, 2013).

2.4. PREVENÇÃO E CUIDADOS DOMICILIÁRIOS

Os cuidados domiciliários são essenciais para retardar o acúmulo de placa dentária e prevenir a progressão da doença periodontal. O seu principal objetivo é a eliminação diária da placa, embora se tornem ineficazes uma vez que a placa se mineralize em cálculo ou em caso de periodontite avançada.

Devem ser individualizados de acordo com a doença do animal e a adesão do proprietário. O sucesso depende de um compromisso constante, de orientações adequadas do médico-veterinário e da cooperação do animal. A eliminação da placa nas zonas inacessíveis aos cuidados domiciliares exige uma intervenção veterinária regular. Estudos em cães demonstraram que a escovagem é o método de referência para eliminar a placa dentária, prevenir a doença periodontal e que apenas a escovagem realizada no mínimo três vezes por semana permite ao cão manter as gengivas saudáveis. Além disso, em cães com gengivite, é necessária a escovagem diária para restabelecer a saúde gengival (Tromp e al., 1986; Tromp, Jansen, e al., 1986). Na ausência da escovagem, a acumulação de placa torna-se inevitável (Syed e al., 1982). A implementação da higiene oral e a aprendizagem da escovagem devem ser realizados de forma progressiva, etapa por etapa. Todas as manipulações devem ser acompanhadas de uma recompensa (petisco, carinho, barra mastigável) (Hennet e Boutoille, 2014b). É fundamental inicialmente de habituar o animal à manipulação bucal para reduzir ao máximo o stresse. Seguidamente, o tutor precisa de familiarizar o animal à sabor e textura do produto de higienização. Posteriormente, procede-se à massagem dos dentes com o produto e gradualmente introduzir a escova dentária, começando por sessões breves. Ao fim de otimizar e aperfeiçoar a higiene bucal, todos os meios de higiene devem ser combinados entre si, tais como produtos mastigáveis, escovagem e rações (Hennet e Boutoille, 2014b). No entanto, alguns proprietários recusam ou não estão em condições de realizar essa escovagem; outras abordagens foram então implementadas, tais como agentes químicos, nomeadamente géis à base de clorexidina. Uma redução de 40-50% da placa dentária pode ser esperada com o uso desses géis (Hennet, 2002).

3. O USO DE CÉLULAS TRONCO NO TRATAMENTO DA DOENÇA PERIODONTAL

O objetivo terapêutico no caso da periodontite consiste na restauração da homeostasia periodontal, a fim de permitir uma regeneração duradoura da inserção periodontal (Dubuc e al., 2022). Por isso, é essencial diferenciar a cicatrização da regeneração tissular. A cicatrização é uma resposta por defeito que restaura a continuidade tissular, mas no detrimento da sua estrutura e funções, enquanto a regeneração é um processo biológico que restaura completamente a arquitetura e as funções dos tecidos lesados (Atala e al., 2010).

3.1. A TERAPIA CELULAR

3.1.1. Definição

A terapia celular consiste na injeção de células tronco e na imunoterapia com células dendríticas, bem caracterizadas e em quantidade suficiente, em determinados tecidos alvo com o objetivo de restaurar uma determinada lesão ou função deficiente. A terapia celular inclui várias etapas como a amostragem de células do paciente (autólogo) ou de um dador (alogénico), a sua seleção e modificação genética e a amplificação *in vitro* das células, seguida da sua administração. A terapia celular é principalmente usada em três sectores que são a medicina regenerativa, o transplante de medula óssea e a imunoterapia (Pascal, 2019).

3.1.2. Princípio da medicina regenerativa

A medicina regenerativa tem por objetivo restabelecer a função de um tecido ou órgão através da substituição de células envelhecidas, não funcionais ou destruídas, por células saudáveis. Para ser eficaz e transferível para a prática clínica, deve respeitar especificações rigorosas. Em primeiro lugar, é essencial identificar com precisão o defeito a reparar e, em seguida, obter células terapêuticas capazes de corrigir essa lesão. Estas células devem ser seguras, sem efeitos nefastos a longo prazo, e devem ser entregues com precisão no tecido visado. É necessária uma vascularização adequada da área implantada para garantir a sobrevivência, a proliferação e a diferenciação funcional das células. Além disso, o controlo da resposta imunitária é essencial, especialmente quando são injetadas células alogénicas ou geneticamente modificadas. Finalmente, a reparação obtida deve ser duradoura, garantindo uma restauração estável e duradoura das funções do tecido tratado (Pascal, 2019).

3.1.3. As células tronco

As células-tronco são células indiferenciadas, imaturas que têm capacidades de autorrenovação e diferenciação. Classificam-se em quatro grupos (Figura 15): as células totipotentes, pluripotentes, multipotentes e unipotentes (Cohen, 2020).

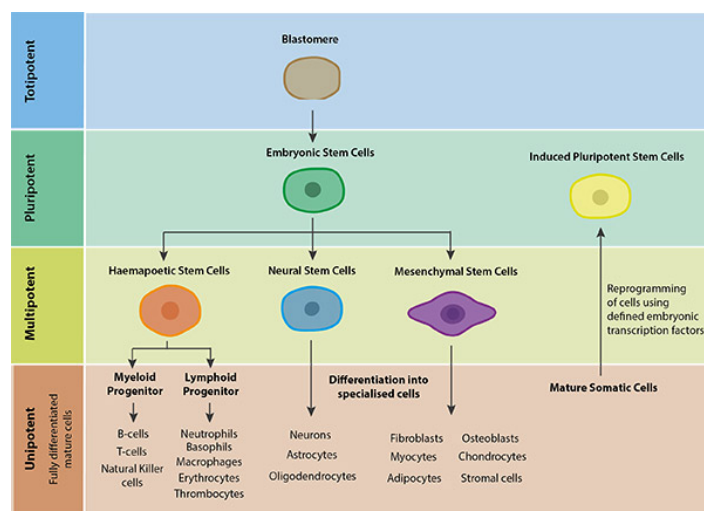


Figura 15: Classificação das células-tronco (Mullan e Walters, 2023)

E podem ter diferentes origens como as células-tronco de origem embrionária, as células-tronco de origem fetal e as células tronco provenientes de tecidos adultos. A fusão dos gametas dá, no estágio de mórula, células-tronco embrionárias totipotentes que são capazes de se diferenciar em todos os tipos celulares do organismo. Em seguida, as células-tronco embrionárias oriundas do blastocisto tornam-se pluripotentes. Ou seja, elas têm a capacidade de se diferenciar em todas as células do organismo, exceto os anexos embrionários como a placenta. Mais tarde, as células derivadas diretamente do feto, assim como as células-tronco embrionárias, são em grande maioria pluripotentes, exceto as células-tronco provenientes do cordão umbilical que são multipotentes. Encontramos em seguida as células-tronco adultas presentes em tecidos já formados que são também multipotentes, e que vão se diferenciar e dar origem a células unipotentes que são responsáveis pela formação dos diferentes tecidos do organismo. A potência de desenvolvimento é reduzida a cada etapa, o que significa que uma célula tronco unipotentes não é capaz de se diferenciar em tantos tipos de células quanto uma célula pluripotente. Essas últimas células podem então ser reprogramadas geneticamente para originar células-tronco pluripotentes designadas como células-tronco pluripotentes induzidas (Saber, 2009 e Cohen, 2020). A fim de facilitar sua identificação e evitar ao máximo um entrave aos avanços neste domínio, a *International Society for Cellular Therapy* propôs três critérios mínimos para definir uma CSM. Primeiramente, as MSC devem ser aderentes ao plástico quando mantidas em condições padrão de cultura. Em segundo lugar, as CTM devem expressar na sua superfície os marcadores CD105, CD73 e CD90, e não expressar os marcadores CD45, CD34, CD14 ou CD11b, CD79a ou CD19, nem as moléculas de superfície HLA-DR. Por fim, em terceiro lugar, elas devem ser capazes

de se diferenciar *in vitro* em adipócitos, condroblastos e osteoblastos (Dominici e al., 2006). Numerosos estudos evidenciaram, no adulto, CTM provenientes duma grande variedade de tecidos tais como o baço, a medula óssea, o osso trabecular, o perióstio e o timo. Outros tecidos como a o líquido sinovial, membrana, músculos esqueléticos, tendões e sangue revelam-se reservatórios ricos em CTM. Além disso, o tecido adiposo e os tecidos de origem dentária constituem fontes promissoras (Hynes e al., 2012).

3.1.4. Interesse das células tronco mesenquimatosas na medicina regenerativa

As células tronco mesenquimatosas são consideradas como candidatas ideais na medicina regenerativa por diversas razões. Primeiramente, devido à sua elevada capacidade de expansão e ao seu potencial de diferenciação numa ampla variedade de células provenientes de diferentes órgãos e sistemas. Além disso, devido às suas propriedades tróficas, as CTM secretam um grande número de fatores de crescimento e citocinas que favorecem a proliferação celular, a angiogénese e a redução da fibrose. As suas propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras, através da secreção de citocinas, inibem a proliferação e a função de numerosas células inflamatórias tais como linfócitos T, B e NK, monócitos, macrófagos e células dendríticas. As CTM provocam um reequilíbrio celular nos tecidos cronicamente inflamados, o que leva a uma melhoria da regeneração tecidual, a uma atenuação das doenças autoimunes e até a um efeito antidiabético. Outra característica interessante é a sua propriedade antiapoptótica. De facto, as CTM são capazes de reverter a apoptose provocada por agentes químicos, danos mecânicos, hipóxia ou por radiações. Isto é muito útil nos casos de lesões neuronais ou do músculo cardíaco após uma isquemia. É interessante observar que as CTM produzem a catelicidina LL-37, um peptídeo antimicrobiano que é secretado pelo organismo em resposta à presença de agentes patogénicos como a *Escherichia coli*. Além disso, nos humanos, as CTM combatem as bactérias e os protozoários graças à indução da indoleamina 2,3-dioxigenase. Tudo isso sugere, portanto, as propriedades antimicrobianas das CTM (Murphy e al., 2013). Por fim, embora as CTM apresentem um potencial de desenvolvimento mais limitado e uma vida útil mais curta do que as células tronco embrionárias pluripotentes, não foi relatado que formem espontaneamente tumores *in vivo*, e a sua utilização não está sujeita a considerações éticas restritivas (Han e al., 2013). Embora muitas investigações ainda estejam em curso para compreender com maior precisão o funcionamento e o alcance do uso das CTM, resultados promissores já foram observados em diversas áreas da terapêutica

humana. Tudo isso faz, portanto, das CTM uma hipótese terapêutica de escolha na doença periodontal em cães.

3.2. PRINCÍPIOS TERAPÊUTICOS

3.2.1. Escolha das células tronco no tratamento da doença periodontal

Diversas fontes de células tronco mesenquimatosas foram exploradas no âmbito das terapias celulares para tratamento da doença periodontal. As principais fontes incluem as células do ligamento periodontal (CT-DLP), as células da polpa dentária (CT-DPD), as células derivadas da gengiva (CT-DG), as células do cordão umbilical (CT-DCU) e as células da medula óssea (CT-DMO). No entanto, a evidência aponta para que as células-tronco derivadas de tecido adiposo (CT-DTA) apresentem características particularmente promissoras para o tratamento da periodontite (Dubuc e al., 2022). São, portanto, células multipotentes, com a capacidade de se diferenciarem em células adiposas, cartilagíneas e ósseas, bem como noutros tipos celulares, como as células musculares lisas e vasculares (Si e al., 2019). Tal como as demais CTM, apresentam propriedades anti-inflamatórias e imunomoduladoras que favorecem a regeneração tecidual, mas também possuem características antifibróticas e antidiabéticas, o que lhes conferiria a capacidade de controlar as etapas críticas iniciais da reparação tecidual necessárias à regeneração. Além disso, as CT-DTA demonstram uma capacidade angiogénica superior às CT-DMO, propriedade que também desempenha um papel fundamental no processo de cicatrização tecidual (Bertheuil e al., 2014).

Ao contrário das CT-DMO, a obtenção do tecido fonte das CT-DTA é fácil em grande quantidade por técnicas cirúrgicas pouco invasivas e pouco onerosas. Além disso, a quantidade de CT-DTA no tecido adiposo é 100 a 500 vezes mais importante que as CTM na medula óssea. Por outro lado, cerca de 10% do tecido adiposo se renova todos os anos (Bertheuil e al., 2014; Monsarrat e al., 2024). Estudos demonstraram em animais como o mini-porco ou o cão, a eficácia das CT-DTA para tratar e reparar bolsas periodontais induzidas (Venkataiah e al., 2019; Tobita e al., 2013). No entanto, um estudo mais recente demonstra a eficácia da utilização de CT-DTA autólogas no tratamento terapêutico da periodontite em cães Beagle adultos ou seniores acometidos por periodontite natural (Monsarrat e al., 2024).

3.2.2. Obtenção de células tronco mesenquimatosas

A obtenção das CTM é um processo complexo que segue um protocolo padronizado, descrevemos como exemplo o processo de obtenção de CT-DTA. Como visto anteriormente, a colheita do tecido adiposo é relativamente simples. Existem duas maneiras de colher esse tecido num indivíduo: por lipoaspiração ou por ressecção cirúrgica. Como as CT-DTA estão presentes na matriz extracelular composta principalmente por fibras de colagénio, as amostras de tecido adiposo são digeridas a 37°C durante 35 minutos (varia conforme os autores) numa solução tampão contendo soro fetal bovino e collagenases. A solução é então filtrada e centrifugada a fim de extrair os adipócitos maduros. Uma lise eritrocitária é então realizada para obter uma fração vascular estromal (FVE) mais pura. Essa etapa é realizada em uma solução de cloreto de amónio e Tris durante 5 minutos a 4°C. Uma centrifugação é então necessária para isolar a FVE que compõe o *pellet* de centrifugação e contém as CT-DTA. Os adipócitos, por sua vez, permanecem em suspensão (Gimble e al., 2013; Martinez, 2020; Monsarrat e al., 2024). As células da FVE são então cultivadas para sua amplificação. No estudo de Monsarrat e colegas, a FVE é semeada a 4000 células/cm² em um meio essencial mínimo α (MEM- α) contendo 2% de lisado plaquetário, anfotericina, estreptomicina e penicilina. Tudo isso mantido numa atmosfera com 5% de CO₂ (Monsarrat e al., 2024). Outros meios de cultura podem ser utilizados, como o meio Eagle modificado de Dulbecco (DMEM) suplementado com soro fetal bovino. No entanto, nesse meio, as CTM podem ser cultivadas, mas levam o dobro do tempo para atingir quantidades suficientes para uso clínico (Sensebé e al., 2013).

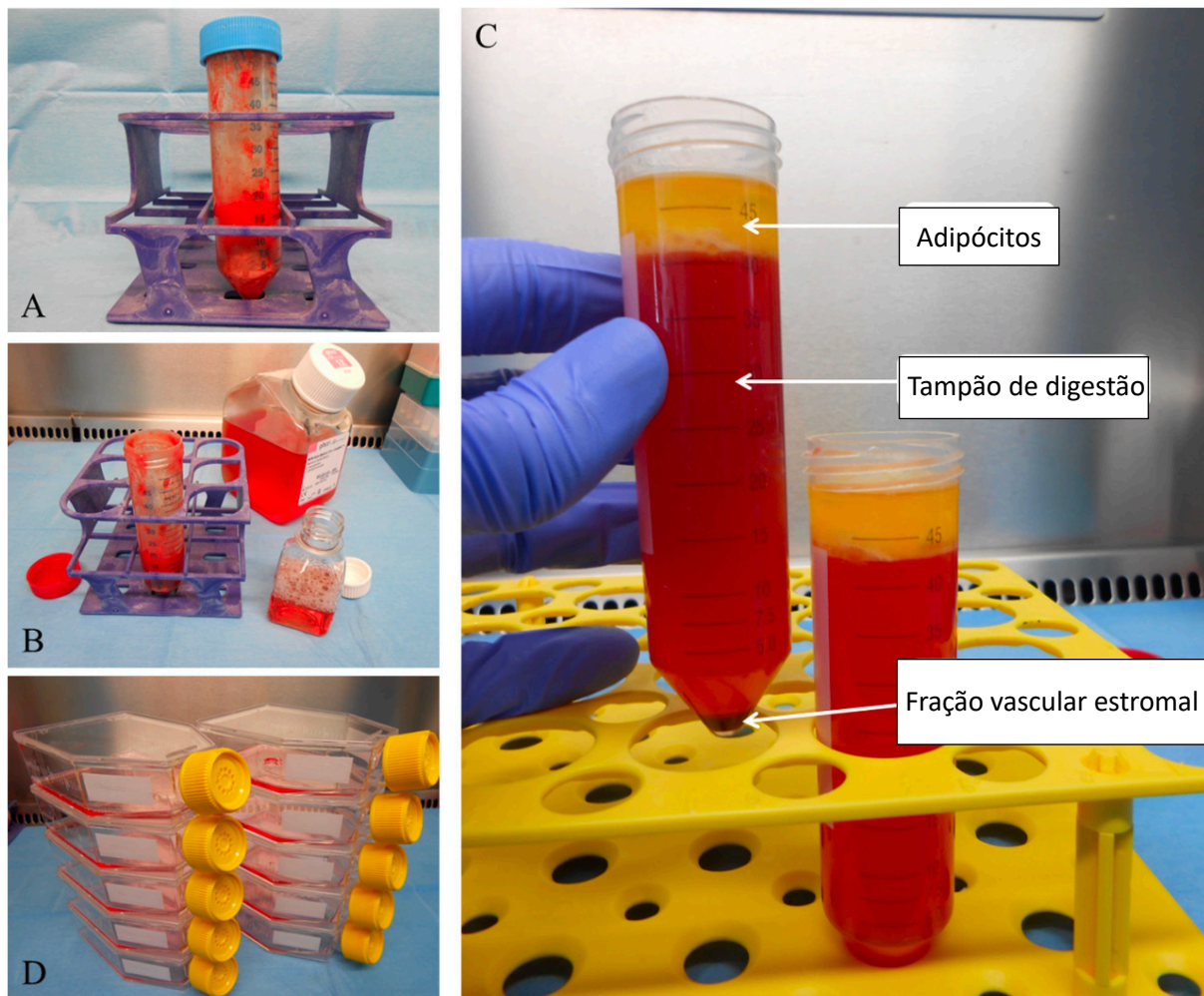


Figura 16: Obtenção da fração vascular do estroma (Bertheuil e al., 2014).

Legenda: **A.** Amostragem de tecido adiposo. **B.** Preparação de um tampão de digestão contendo enzimas proteolíticas. **C.** Após digestão e centrifugação, obtemos três extratos de cima para baixo: adipócitos, tampão de digestão, fração vascular estromal. **D.** Cultura da fração vascular estromal para obter CT-DTA em cultura (Bertheuil e al., 2014).

Para finalizar o protocolo, o meio é trocado no dia seguinte, e depois a cada 3 dias. As células são então utilizadas após a primeira passagem (Monsarrat e al., 2024). Por fim, é essencial notar que durante a fase de cultura, é de extrema importância respeitar um número razoável de vinte ciclos de amplificação no máximo, a fim de garantir uma eficácia e segurança ótimas. De facto, os passagens sucessivas desaceleram a taxa de proliferação, as células perdem progressivamente sua multipotencialidade e uma senescência cada vez mais pronunciada é observada (Sensebé e al., 2010).

3.2.3. Investigação clínica

Numerosos estudos demonstraram a importância dum veículo de suporte para as células tronco a fim de potencializar o benefício terapêutico na regeneração dos tecidos periodontais. O veículo permite manter as células no sítio adequado fornecendo um ambiente matricial tridimensional favorável e adaptado a pressão mecânica local. Os materiais derivados do sangue, em especial os baseados em plasma rico em plaquetas (PRP), são promissores neste domínio, uma vez que proporcionam um ambiente favorável às células e contêm citocinas, fatores de crescimento e proteínas benéficos para a reparação dos tecidos moles (Bhang *e al.*, 2013; Kharaziha, Baidya e Annabi, 2021; Monsarrat *e al.*, 2024). Muitos trabalhos foram realizados para mostrar a eficácia das CTM na doença periodontal. A maioria desses estudos foi feita em animais (cães, ratas, ratos, porcos anão) aos quais as lesões periodontais foram induzidas, seja cirurgicamente ou por gavagem bacteriana (Dubuc *e al.*, 2022; Lemaitre *e al.*, 2016; Tobita *e al.*, 2013).

Um estudo realizado sobre cinco modelos caninos mostrou uma regeneração periodontal significativa seguida a uma transplantação de CT-DMO autólogas criopreservadas em bolsas periodontais desenvolvidas com um tamanho de 5mm. A estuda salienta uma neoformação superior de cemento, ligamento periodontal e osso alveolar quando comparamos com as bolsas não tratadas com CT-DMO (Li *e al.*, 2008). Em seguida, a utilização de CT-DLP autólogas para o tratamento de furca de grau III em sete cães foi avaliada no estudo de Suaid e seus colegas. O estudo demonstrou uma regeneração periodontal nos defeitos de furca, traduzida por uma superfície do osso alveolar aumentada com uma nova formação de cemento (Suaid *e al.*, 2012). Noutro estudo de 2013, foram criados cirurgicamente defeitos periodontais em 10 cães, para avaliar os efeitos das CT-DPD na regeneração do periodonto, tendo-se observado regeneração do cemento e do LP (Khorsand *e al.*, 2013). Por fim, um estudo realizado sobre oito Beagles avaliou a eficácia das CT-DTA autólogas em defeitos periodontais induzidos. Os resultados mostraram um aumento significativo da neoformação do cemento, LP e osso alveolar (Tobita *e al.*, 2013). Todos estes estudos mostram que, na maioria das vezes, o uso das CTM melhora significativamente a regeneração do cemento, do ligamento periodontal e do osso alveolar (Dubuc *e al.*, 2022). No entanto, como as lesões periodontais nos animais, são induzidas, elas não refletem a realidade clínica da doença (Monsarrat *e al.*, 2024). Por isso, um estudo mais recente de 2024 realizado por Monsarrat e colegas, avalia a eficácia da terapia celular com CT-DTA autólogas em modelos caninos com periodontite natural. Os cães selecionados são 16 beagles adultos a seniores, com periodontite, com dois ou mais dentes mandibulares e um ou mais locais com uma bolsa

periodontal superior a 4 mm. Um hidrogel de fibrina à base de lisado plaquetário (HFBLP) foi desenvolvido a partir de sangue alogénico e utilizado como veículo para as CT-DTA. O objetivo foi de suportar a viabilidade, proliferação e migração, das CT-DTA, bem como oferecer um espaço propício à regeneração dos tecidos duros e moles do periodonto. As lesões previamente identificadas durante a HPCO são tratadas com a implantação de HFBLP com ou sem CT-DTA após a realização retalhos gengivais. As visitas de controle foram realizadas 45 e 120 dias após a intervenção. Os resultados demonstram uma melhoria mais significativa dos parâmetros clínicos periodontais, como a profundidade das bolsas assim como uma redução da inflamação gengival já aos 45 dias, nos cães tratados com HFBLP com CTM-DTA (HFBLP/CTM-DTA) em comparação aos tratados apenas com HFBLP. As análises histológicas (Anexo 2) e microbiológicas revelaram que o tratamento com HFBLP/CT-DTA promoveu uma melhor regeneração dos tecidos, caracterizada por uma arquitetura gengival compatível com a arquitetura morfológica, uma fixação supraóssea funcional observada em 86% dos casos e uma redução notável dos fenómenos de anquilose e reabsorção radicular. Além disso, o tratamento favoreceu a modulação positiva do microbioma subgengival com um aumento do número de espécies bacterianas benéficas e uma diminuição das espécies patogénicas, refletindo uma restauração eficaz da homeostasia periodontal (Monsarrat e al., 2024).

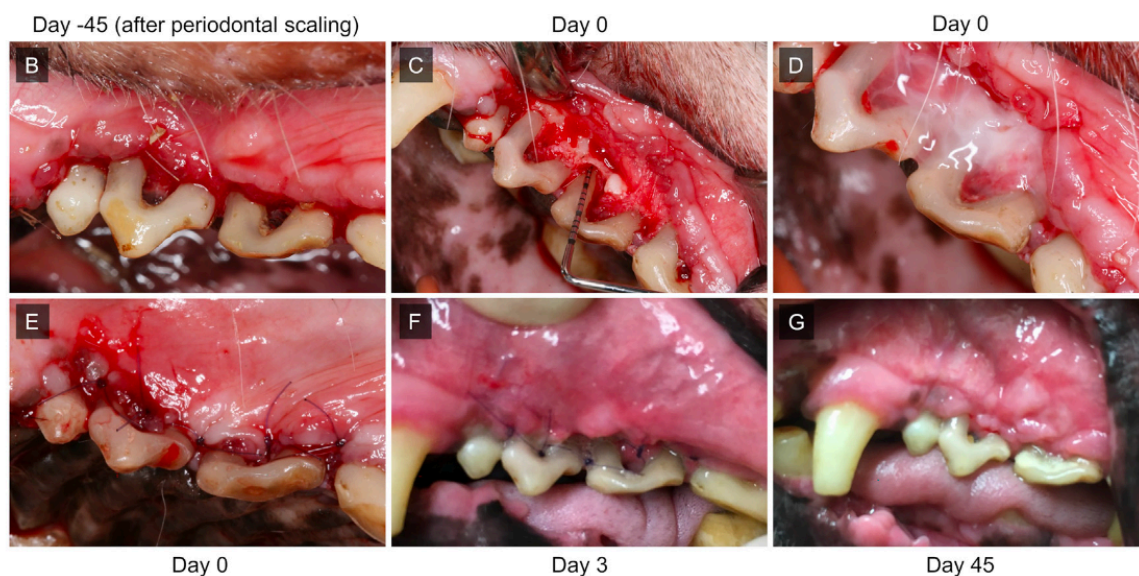


Figura 17: Procedimento cirúrgico periodontal.

Legenda: (B) Um total de 45 dias antes do enxerto após a higienização da raiz. (C) Defeitos periodontais supraósseos (*) e infraósseos (sonda periodontal). (D) Posicionamento do enxerto de HFBLP. (E) Suturas. (F) Três dias após a cirurgia. (G) Um total de 45 dias após a cirurgia (Monsarrat e al., 2024).

1.1.1. Limitações

Como provam os numerosos estudos, a terapia celular com CTM no tratamento da doença periodontal é eficaz. No entanto, seu uso levanta várias questões. Por um lado, o uso de CTM autólogas, por muito tempo preferidas, apresenta várias limitações como a morbidade do doador, restrições técnicas e económicas, além da diminuição do potencial celular devido à idade ou à saúde do paciente. Sabendo que as CTM têm uma baixa imunogenicidade e capacidade imunossupressora, as CTM alogénicas, provenientes de doadores jovens e saudáveis, representam uma alternativa relevante em doenças inflamatórias crónicas como a doença periodontal (Dubuc e al., 2022; Monsarrat e al., 2024).

Foi demonstrado no cão que o uso de células criopreservadas não altera as suas propriedades regenerativas, o que poderia permitir a comercialização em grande escala. No entanto, essa aplicação clínica de CTM alogénicas deverá respeitar as regulamentações rigorosas que regem os Medicamentos de Terapia Inovadora (MTI) e as Boas Práticas de Fabricação (BPF) (Dubuc e al., 2022).

Um estudo realizado com um painel de 11 pessoas mostra que, em primeiro lugar, a aceitabilidade de uma nova terapia depende da confiança dos indivíduos nos profissionais de saúde e na inovação científica. Em segundo lugar, os participantes do estudo desejam ser informados sobre as possibilidades de obter bons resultados, bem como sobre os riscos secundários envolvidos. Noutro vetor a relação custo/eficácia é primordial e como se conhecem os custos elevados da terapia celular com CT-DTA, os participantes esperam uma eficácia terapêutica significativa, que justifique o investimento. Em terceiro lugar, a aceitação da terapia também depende da perceção e do conhecimento sobre a doença periodontal. Uma explicação sobre as consequências locais e sistémicas da doença, poderia facilitar a adesão dos doentes ao tratamento. Por fim, a origem das células também influencia a aceitação da terapia. Alguns preferem usar suas próprias células (autólogas), enquanto outros acreditam que células de um doador mais jovem e saudável poderiam ser mais eficazes (alogénicas). Preocupações foram levantadas sobre a rejeição celular e os riscos infecciosos. No entanto, apesar dessas questões e dúvidas, os participantes consideraram aceitável o uso da terapia celular para o tratamento da doença periodontal (Riazuelo e al., 2024). Uma extrapolação deste estudo em medicina humana, permite associar as mesmas preocupações na medicina veterinária sabendo o lugar importante do animal na vida dos tutores. Seguindo, portanto, a linha dessas pesquisas, podemos supor que, em medicina veterinária, a implementação da terapia com CT-DTA alogénicas ou autólogas no caso da doença periodontal terá as suas condicionantes, dado que

a doença periodontal afeta principalmente cães de idade avançada e a percepção da relação custo/benefício, por parte dos tutores, pode tornar a decisão de utilizar estas técnicas mais difícil.

Conclusão:

A doença periodontal é uma afeção com elevada importância na clínica dos animais de companhia, pelos seus efeitos locais e sistémicos, cujos tratamentos atuais visam sobretudo atingir a cicatrização dos tecidos periodontais, apresentando estas abordagens, de momento, resultados heterogéneos e decepcionantes no que à regeneração destes tecidos diz respeito. A investigação relativa à Medicina Regenerativa do periodonto é muito prolífica e numerosos estudos destacam o elevado potencial das terapias baseadas na utilização de células tronco, nomeadamente das derivadas do tecido adiposo, com vista à regeneração periodontal avançada, pelo seu potencial de provocarem modificações favoráveis na microbiota gengival, redução substancial da inflamação e consequentemente um aumento da nova adesão e diminuição significativa da profundidade das bolsas periodontais. No entanto temos consciência que um longo caminho tem que ser percorrido para trazer as terapias celulares dos laboratórios para a prática clínica diária, e nesse caminho nós médicos veterinários podemos dar um enorme contributo, dado que o modelo animal cão é o modelo ideal para o estudo desta doença, e os resultados obtidos permitem para além de otimizar a clínica dos animais de companhia uma translação e aplicação dos resultados dos estudos experimentais com esta espécie à clínica estomatológico-dentária humana.

Referências

- American Veterinary Dental College. (2024). *AVDC nomenclature* – AVDC.org – American veterinary dental college. <https://avdc.org/avdc-nomenclature/>
- Atala, A. e al. (2010) 'Wound healing versus regeneration: role of the tissue environment in regenerative medicine', *MRS bulletin*, 35(8), p. 597–606. <https://doi.org/10.1557/mrs2010.528>.
- Bhang, S.H. e al. (2013) 'Platelet-rich plasma enhances the dermal regeneration efficacy of human adipose-derived stromal cells administered to skin wounds', *Cell transplantation*, 22(3), p. 437–445. <https://doi.org/10.3727/096368912x656162>.
- Bell, S.E. e al. (2020) 'An assessment of the stability of the canine oral microbiota after probiotic administration in healthy dogs over time', *Frontiers in veterinary science*, 7. <https://doi.org/10.3389/fvets.2020.00616>.
- Bertheuil, N. e al. (2014) 'Les cellules stromales mésenchymateuses du tissu adipeux : historique, isolement, propriétés immunomodulatrices et perspectives cliniques', *Annales de chirurgie plastique esthétique*, 60(2), p. 94–102. <https://doi.org/10.1016/j.anplas.2014.09.014>.
- Black, A. P., Crichlow, A. M., & Saunders, J. R. (1980). Bacteremia during ultrasonic teeth cleaning and extraction in the dog. *Journal of the american animal hospital association*, 16(4), 611-616. <https://www.cabdirect.org/cabdirect/abstract/19802261183>
- Boulanger, C. (2021) *Détermination du temps de polissage dentaire optimal après détartrage dans le traitement de la maladie parodontale du chien*. Thèse de doctorat. Ecole nationale vétérinaire de Toulouse. https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-04529605v1/file/BOULANGER_28717.pdf.
- Brisa, O. (2022). *Prévention de la plaque dentaire et du tartre chez le chien : produits sur le marché et pratiques des vétérinaires*.

- 939 Cohen, S.A. (2020) *Médecine régénérative : apports de la thérapie cellulaire et de la bioingénierie*.
 940 Faculté de pharmacie Aix Marseille. <https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03106711/document>.
 941
- 942 Dominici, M., Blanc, K. L., Mueller, I., Slaper-Cortenbach, I., Marini, F., Krause, D., Deans, R., Keating, A.,
 943 Prockop, D., & Horwitz, E. (2006). Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells.
 944 The international society for cellular therapy position statement. *Cytotherapy*, 8(4), 315-317.
 945 <https://doi.org/10.1080/14653240600855905>
 946
- 947 Dubuc, A., Planat-Bénard, V., Marty, M., Monsarrat, P., & Kémoun, P. (2022). Periodontal cell therapy:
 948 A systematic review and meta-analysis. *Advances in experimental medicine and biology*, 377-397.
 949 https://doi.org/10.1007/978-3-030-96881-6_20
 950
- 951 Escudeiro Aguiar Gouveia, A. E. (2009). *Doença periodontal no cão* [Thèse de doctorat]. Faculdade de
 952 medicina veterinária de Lisboa.
 953
- 954 Gawor, J. P., Reiter, A. M., Jodkowska, K., Kurski, G., Wojtacki, M. P., & Kurek, A. (2006). Influence of diet
 955 on oral health in cats and dogs. *Journal of nutrition*, 136(7), 2021S-2023S.
 956 <https://doi.org/10.1093/jn/136.7.2021s>
 957
- 958 Gimble, J. M., Bunnell, B. A., Frazier, T., Rowan, B., Shah, F., Thomas-Porch, C., & Wu, X. (2013).
 959 Adipose-derived stromal/stem cells. *Organogenesis*, 9(1), 3-10. <https://doi.org/10.4161/org.24279>
 960
- 961 Han, J., Menicanin, D., Gronthos, S., & Bartold, P. (2013). Stem cells, tissue engineering and periodontal
 962 regeneration. *Australian Dental Journal*, 59(s1), 117-130. <https://doi.org/10.1111/adj.12100>
 963
- 964 Harvey, C. E., Shofer, F. S., & Laster, L. (1994). Association of age and body weight with periodontal
 965 disease in north american dogs. *Journal of veterinary dentistry*, 11(3), 94-105.
 966 <https://doi.org/10.1177/089875649401100301>
 967
- 968 Hennet, P. (2002). Effectiveness of a dental gel to reduce plaque in beagle dogs. *Journal of veterinary*
 969 *dentistry*, 19(1), 11-14. <https://doi.org/10.1177/089875640201900101>
 970

- 971 Hennet, P. (2006) *Dentisterie et chirurgie maxillo-faciale canine et féline*. Elsevier Masson.
- 972
- 973 Hennet, P. (2014) 'Maladies parodontales chez le chien : facteurs de risque et approches
974 thérapeutiques', *Bulletin de L'Académie Vétérinaire de France*, 167(1), p. 27–32.
975 <https://doi.org/10.4267/2042/53720>.
- 976
- 977 Hennet, P. e Boutilier, F. (2014b) *Guide pratique de stomatologie et de dentisterie vétérinaire*.
- 978
- 979 Hoffmann, Th. e Gaengler, P. (1996) 'Epidemiology of periodontal disease in poodles', *Journal of small
980 animal practice*, 37(7), p. 309–316. <https://doi.org/10.1111/j.1748-5827.1996.tb02396.x>.
- 981
- 982 Hynes, K., Menicanin, D., Gronthos, S., & Bartold, P. M. (2012). Clinical utility of stem cells for
983 periodontal regeneration. *Periodontology* 2000, 59(1), 203-227. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2012.00443.x>
- 984
- 985
- 986 Kaiser, S. M., Thiel, C., Kramer, M., Raddatz, B. B., Failing, K., & Alldinger, S. (2015).
987 Immunohistochemical localisation and effect of matrix metalloproteinases and their inhibitors on
988 canine spontaneous periodontitis. *Veterinary Record*, 177(8), 201. <https://doi.org/10.1136/vr.103200>
- 989
- 990 Kim, C., Lee, S., Kim, J., & Park, H. (2012). Assessment of dental abnormalities by full-mouth radiography
991 in small breed dogs. *Journal of the american animal hospital association*, 49(1), 23-30.
992 <https://doi.org/10.5326/jaaha-ms-5830>
- 993
- 994 Kharaziha, M., Baidya, A. e Annabi, N. (2021) 'Rational design of immunomodulatory hydrogels for
995 chronic wound healing', *Advanced materials*, 33(39). <https://doi.org/10.1002/adma.202100176>.
- 996
- 997 Khorsand, A. e al. (2013) 'Autologous dental pulp stem cells in regeneration of defect created in anine
998 periodontal tissue', *Journal of oral implantology*, 39(4), p. 433–443. <https://doi.org/10.1563/aaid-joi-d-12-00027>.
- 999
- 1000
- 1001 Lacerda, M.S. e Alessi, A.C. (2002) 'Avaliação bacteriológica de dentes envolvidos com doença
1002 periodontal em cães, após raspagem periodontal.', *Bioscience journal*, 18(1), p. 137–139.

- 1003
- 1004 Lemaitre, M., Monsarrat, P., Blasco-Baque, V., Loubières, P., Burcelin, R., Casteilla, L., Planat-Bénard, V.,
 1005 & Kémoun, P. (2016). Periodontal tissue regeneration using syngeneic adipose-derived stromal cells in
 1006 a mouse model. *Stem cells translational medicine*, 6(2), 656-665. [https://doi.org/10.5966/sctm.2016-](https://doi.org/10.5966/sctm.2016-0028)
 1007 [0028](https://doi.org/10.5966/sctm.2016-0028)
- 1008
- 1009 Löe, H., 1967. The gingival index, the plaque index and the retention index syste. *Journal of*
 1010 *Periodontology* 38, 610-616.
- 1011
- 1012 Loesche, W.J. (1988) 'The role of spirochetes in periodontal disease', *Advances in dental research*, 2(2),
 1013 p. 275–283. <https://doi.org/10.1177/08959374880020021201>.
- 1014
- 1015 Li, H. *e al.* (2008) 'Application of autologous cryopreserved bone marrow mesenchymal stem cells for
 1016 periodontal regeneration in dogs', *Cells tissues organs*, 190(2), p. 94–101.
 1017 <https://doi.org/10.1159/000166547>.
- 1018
- 1019 Martinez, A. (2020). *Étude histologique de la maladie parodontale canine traitée par greffe d'ASC*
 1020 *autologues : validation d'un protocole de décalcification des dents*. [https://oatao.univ-](https://oatao.univ-toulouse.fr/26077/)
 1021 [toulouse.fr/26077/](https://oatao.univ-toulouse.fr/26077/)
- 1022
- 1023 McDonald, J.E. *et al.* (2016) 'Characterising the canine oral microbiome by direct sequencing of reverse-
 1024 transcribed rRNA molecules', *PLoS ONE*, 11(6), p. e0157046.
 1025 <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0157046>.
- 1026
- 1027 Monsarrat, P. *e al.* (2024) 'Periodontitis therapy using autologous adipose-derived stromal cells: a
 1028 double-blind randomized controlled clinical trial in an aged canine model', *Cytotherapy* [Preprint].
 1029 <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2024.10.012>.
- 1030
- 1031 Moraes, A.E. (sem data) *odontograma cão - exame clinico*.
 1032 <https://fr.scribd.com/document/699764110/odontograma-ca0-exame-clinico>.
- 1033

- 1034 Mullan, A. e Walters, J. (2023) 'Stem cells - biological research model series', *andor.oxinst.com*,
 1035 fevereiro. <https://andor.oxinst.com/learning/view/article/stem-cells-biological-research-model-series>.
 1036
- 1037 Muñoz-Carrillo, J. L., Hernández-Reyes, V. E., García-Huerta, O. E., Chávez-Ruvalcaba, F., Chávez-
 1038 Ruvalcaba, M. I., Chávez-Ruvalcaba, K. M., & Díaz-Alfaro, L. (2019). Pathogenesis of periodontal disease.
 1039 Dans *intechopen ebooks*. <https://doi.org/10.5772/intechopen.86548>
 1040
- 1041 Murphy, M. B., Moncivais, K., & Caplan, A. I. (2013). Mesenchymal stem cells: environmentally
 1042 responsive therapeutics for regenerative medicine. *Experimental & molecular medicine*, 45(11), e54.
 1043 <https://doi.org/10.1038/emm.2013.94>
 1044
- 1045 Niemiec, B. (2013) *Veterinary periodontology*. John Wiley & Sons.
 1046
- 1047 Niemiec, B. A. (2008). Periodontal disease. *Topics in companion animal medicine*, 23(2), 72-80.
 1048 <https://doi.org/10.1053/j.tcam.2008.02.003>
 1049
- 1050 Nieves, M. A., Hartwig, P., Kinyon, J. M., & Riedesel, D. H. (1997). Bacterial isolates from plaque and
 1051 from blood during and after routine dental procedures in dogs. *Veterinary surgery*, 26(1), 26-32.
 1052 <https://doi.org/10.1111/j.1532-950x.1997.tb01459.x>
 1053
- 1054 Pascal, P. (2019). Enjeux de l'industrialisation des thérapies cellulaires. *Sciences du Vivant [q-
 1055 bio]*.dumas-02966786
 1056
- 1057 Pavlica, Z. *et al.* (2008) 'Periodontal disease burden and pathological changes in organs of dogs', *Journal
 1058 of veterinary dentistry*, 25(2), p. 97–105. <https://doi.org/10.1177/089875640802500210>.
 1059
- 1060 Porter, S. R., & Scully, C. (2006). Oral malodour (halitosis). *BMJ*, 333(7569), 632-635.
 1061 <https://doi.org/10.1136/bmj.38954.631968.ae>
 1062
- 1063 Riazuelo, L., Planat-Bénard, V., Vinel, A., Laurencin, S., Casteilla, L., Kémoun, P., Marty, M., & Monsarrat,
 1064 P. (2024). Acceptability of allogeneic mesenchymal stromal cell-based tissue engineering for the

- 1065 treatment of periodontitis: A qualitative study in France. *International dental journal*.
 1066 <https://doi.org/10.1016/j.identj.2024.07.1208>
 1067
- 1068 Saber, S. E. M. (2009). Tissue engineering in endodontics. *Journal of oral science*, 51(4), 495-507.
 1069 <https://doi.org/10.2334/josnurd.51.495>
 1070
- 1071 Santos, N.S.D., Carlos, R.S.A. e Albuquerque, G.R. (2012) 'Doença periodontal em cães e gatos - revisão
 1072 de literatura', *MEDVEP. Revista Científica de Medicina Veterinária. Pequenos Animais e Animais de*
 1073 *Estimação*, 10(32), p. 30–41. <https://pesquisa.bvsalud.org/bvs-vet/resource/pt/vti-9315>.
 1074
- 1075 Sensebé, L., Bourin, P., & Tarte, K. (2010). Good manufacturing practices production of mesenchymal
 1076 stem/stromal cells. *Human gene therapy*, 22(1), 19-26. <https://doi.org/10.1089/hum.2010.197>
 1077
- 1078 Sensebé, L., Gadelorge, M., & Fleury-Cappellesso, S. (2013). Production of mesenchymal stromal/stem
 1079 cells according to good manufacturing practices: a review. *Stem cell research & therapy*, 4(3).
 1080 <https://doi.org/10.1186/scrt217>
 1081
- 1082 Si, Z., Wang, X., Sun, C., Kang, Y., Xu, J., Wang, X., & Hui, Y. (2019). Adipose-derived stem cells: Sources,
 1083 potency, and implications for regenerative therapies. *Biomedicine & pharmacotherapy*, 114, 108765.
 1084 <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2019.108765>
 1085
- 1086 Silver, J., Martin, L., & McBride, B. (1975). Recovery and clearance rates of oral microorganisms
 1087 following experimental bacteraemias in dogs. *Archives of oral biology*, 20(10), 675-679.
 1088 [https://doi.org/10.1016/0003-9969\(75\)90136-3](https://doi.org/10.1016/0003-9969(75)90136-3)
 1089
- 1090 Sturgeon, A., Stull, J. W., Costa, M. C., & Weese, J. S. (2012). Metagenomic analysis of the canine oral
 1091 cavity as revealed by high-throughput pyrosequencing of the 16S rRNA gene. *Veterinary microbiology*,
 1092 162(2-4), 891-898. <https://doi.org/10.1016/j.vetmic.2012.11.018>
 1093
- 1094 Suaid, F.F. *et al.* (2012) 'Autologous periodontal ligament cells in the treatment of class III furcation
 1095 defects: a study in dogs', *Journal of clinical periodontology*, 39(4), p. 377–384.
 1096 <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.2012.01858.x>.

- 1097
- 1098 Syed, S. A., Morrison, E. C., & Lang, N. P. (1982). Effects of repeated scaling and root planing and/or
 1099 controlled oral hygiene on the periodontal attachment level and pocket depths in beagle dogs. *Journal*
 1100 *of periodontal research*, 17(2), 219-225. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0765.1982.tb01148.x>
 1101
- 1102 Tobita, M., Uysal, C. A., Guo, X., Hyakusoku, H., & Mizuno, H. (2013). Periodontal tissue regeneration
 1103 by combined implantation of adipose tissue-derived stem cells and platelet-rich plasma in a canine
 1104 model. *Cytotherapy*, 15(12), 1517-1526. <https://doi.org/10.1016/j.jcyt.2013.05.007>
 1105
- 1106 Tromp, J. A. H., Jansen, J., & Pilot, T. (1986). Gingival health and frequency of tooth brushing in the
 1107 beagle dog model. *Journal of clinical periodontology*, 13(2), 164-168. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1986.tb01451.x>
 1108
 1109
- 1110 Tromp, J. A. H., Van Rijn, L. J., & Jansen, J. (1986). Experimental gingivitis and frequency of tooth
 1111 brushing in the beagle dog model. *Journal of clinical periodontology*, 13(3), 190-194.
 1112 <https://doi.org/10.1111/j.1600-051x.1986.tb01458.x>
 1113
- 1114 Venkataiah, V. S., Handa, K., Njuguna, M. M., Hasegawa, T., Maruyama, K., Nemoto, E., Yamada, S.,
 1115 Sugawara, S., Lu, L., Takedachi, M., Murakami, S., Okura, H., Matsuyama, A., & Saito, M. (2019).
 1116 Periodontal regeneration by allogeneic transplantation of adipose tissue derived multi-lineage
 1117 progenitor stem cells in vivo. *Scientific reports*, 9(1). <https://doi.org/10.1038/s41598-018-37528-0>
 1118
- 1119 Verstraete, F. J. M., Kass, P. H., & Terpak, C. H. (1998). Diagnostic value of full-mouth radiography in
 1120 dogs. *American journal of veterinary research*, 59(6), 686. <https://doi.org/10.2460/ajvr.1998.59.06.686>

1121

ANEXOS

1122

Anexo 1: Odontograma canino (Moraes)

Odontograma do
Lab. Odontologia Comparada
LOC - FMVZ - USP

(coloque sua identificação aqui)

FICHA DE EXAME CLÍNICO



CANIDEOS

Nome: _____ Idade / Nasc.: _____ M m F f

Raça: _____ Peso: _____ Cor: _____

Proprietário: _____

Endereço: _____

CEP: _____ Tel: () _____

E-mail: _____

Encaminhado por: _____

Dr.: _____

Data: _____

ANAMNESE

Queixa principal: _____

Histórico dental: _____

Histórico médico: _____

Exames prévios: () raioX () ECG () outros: _____

Alimentação: () caseira: _____ () Osso natural _____ () Higiene bucal _____

() ração: _____ () Ossos/biscoitos artificiais _____ () Vícios de roer _____

EXAME CLÍNICO

Assimetria da cabeça () _____ Linfonodo () Md _____ () Outros _____

Aumento de volume () _____ Fístula () _____

Lábios () _____ Saliva () _____ Outros () _____

Mucosas _____

Oclusão: () Normal () Outras: _____

MAXILA



MANDIBULA



Legenda

- Bolsa periodontal (BP) em mm
- Retração gengival (RG) em mm
- Exposição de furca (EF) grau I, II, III
- Hiperplasia gengival (HG)
- Mobilidade dental (MD) grau I, II, III
- Gengivite (G) grau I, II, III
- Placa (P) grau I, II, III
- Cálculo (C) grau I, II, III
- Ausência de dente (A)
- Fratura dental (FD)
- Exposição de polpa (EP)
- Dente supra-numerário (SN)
- Giro-versão (GV)
- Apinhamento dental (AD)
- Desgaste (D)
- Escurecimento dental (ED)
- Erosão de esmalte (EE)
- Hipoplasia de esmalte (HE)
- Lesão de reabsorção (LR)
- Cárie (Ca)
- Dente não erupcionado (NE)
- Persistência de decíduo (PD)
- Lesão de palato (LP)
- Dente extraído (X)

Observações

DIAGNÓSTICO

Parecer clínico: _____

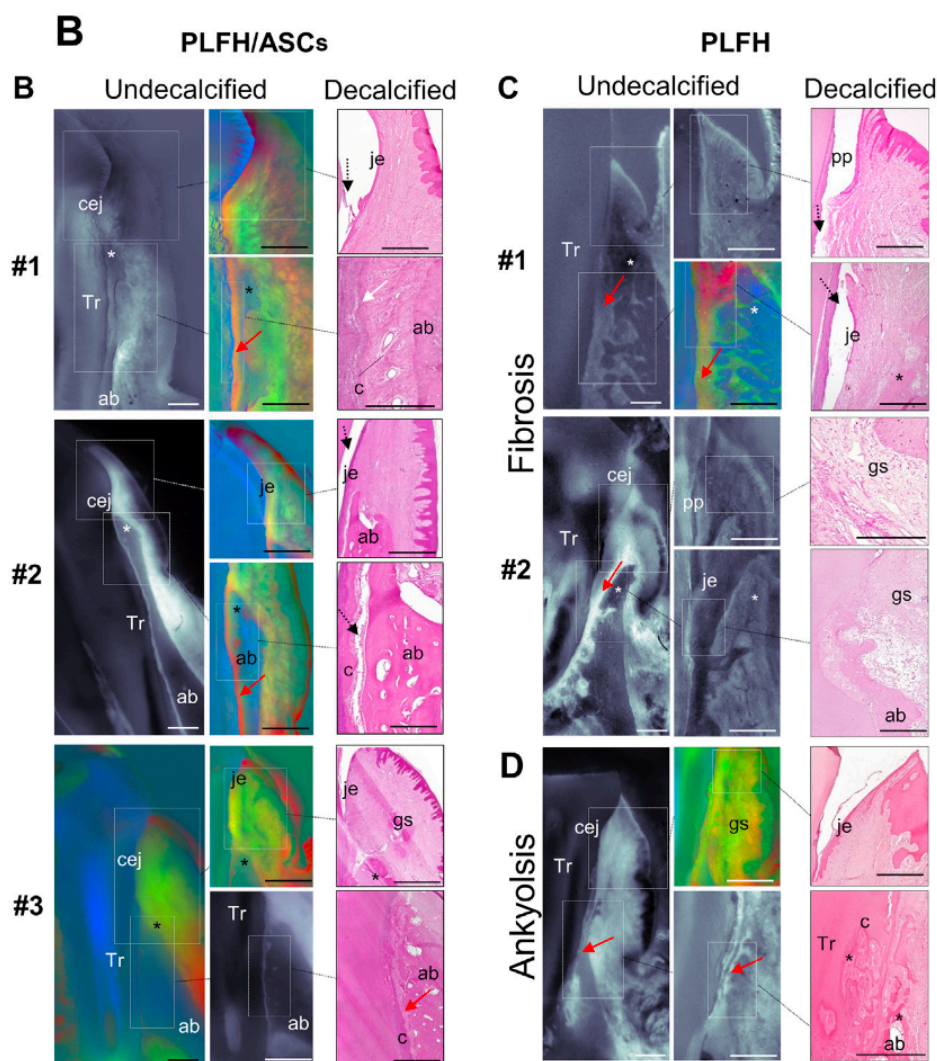
Tratamento recomendado: _____

Medicação pré-operatória: _____

Exames solicitados: ECG () Hemograma () Ht () uréia/creatinina () F.hepática () biópsia () raioX () outros () _____

1123

1124 Anexo 2: Avaliação da regeneração do tecido periodontal canino em amostras descalcificadas e não
1125 descalcificadas colhidas 120 dias após a administração de HFBLP com ou sem CT-DTA (Monsarrat e al.,
1126 2024).



1127
1128 Anexo 2: Avaliação da regeneração do tecido periodontal canino em amostras descalcificadas e não
1129 descalcificadas colhidas 120 dias após a administração de HFBLP com ou sem CT-DTA (Monsarrat e al.,
1130 2024).

1131 **Legenda:** (A) Tabela resumida da distribuição dos resultados microscópicos. (B) Resultados
1132 microscópicos após o tratamento com HFBLP com CT-DTA, exibindo ausência de bolsa periodontal ou
1133 infiltração de leucócitos, epitélio juncional curto, espessura normal do LP e do cemento (setas
1134 vermelhas) e vascularização com fibras de Sharpey (setas brancas) dentro do cemento e crista óssea
1135 alveolar vascularizada (j) localizada perto da junção cimento-esmalte (ilustração de três locais tratados
1136 com HFBLP com CT-DTA). (C) Resultados microscópicos após o tratamento com HFBLP sem CT-DTA

1137 *exibindo fibrose do LP com bolsa periodontal, infiltração de leucócitos gengivais no estroma gengival,*
1138 *epitélio juncional longo, espessura aumentada do LP (setas vermelhas) com osso alveolar e cemento*
1139 *reabsorvidos (ilustração de dois locais tratados com HFBLP sem CT-DTA). (D) Resultados microscópicos*
1140 *após o tratamento com HFBLP sem CT-DTA exibindo epitélio juncional longo e espesso, anquilose da*
1141 *raiz do dente/ osso com desaparecimento local do LP (setas vermelhas) e osso alveolar e raiz do dente*
1142 *reabsorvidos (*) (ilustração de um local tratado com HFBLP sem CT-DTA). Para um determinado local,*
1143 *amostras descalcificadas e não descalcificadas são seções adjacentes. Barra de escala = 500 µm. ab,*
1144 *osso alveolar; c, cemento; cej, junção cimento-esmalte; gs, estroma gengival; je, epitélio juncional; pp,*
1145 *bolsa periodontal; Tr, raiz do dente (Monsarrat e al., 2024).*
1146