



**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**A UTILIZAÇÃO DO ÁCIDO HIALURÓNICO NA PERIODONTITE**

Trabalho submetido por  
**Filipa Marques Ferreira Malheiro Veloso**  
para a obtenção do grau de Mestre em Medicina Dentária

**outubro de 2018**



**INSTITUTO UNIVERSITÁRIO EGAS MONIZ**

**MESTRADO INTEGRADO EM MEDICINA DENTÁRIA**

**A UTILIZAÇÃO DO ÁCIDO HIALURÓNICO NA PERIODONTITE**

Trabalho submetido por  
**Filipa Marques Ferreira Malheiro Veloso**  
para a obtenção do grau de **Mestre** em Medicina Dentária

Trabalho orientado por  
**Professora Doutora Armanda Amorim**

**outubro de 2018**

## **AGRADECIMENTOS**

Gostaria de começar por agradecer à minha orientadora, Professora Doutora Armada Amorim, pelas paciência, persistência e pelo tempo que dispôs ao guiar esta tese e por ter aceite em me orientar neste projeto final de curso. Toda a orientação prestada, a ajuda, o apoio, a disponibilidade e a partilha de conhecimentos foram cruciais para a realização deste trabalho.

Quero agradecer também à minha família, principalmente aos meus pais, que foram um pilar muito importante durante toda a minha vida académica. Obrigada pelo apoio, pela força e pelo carinho que sempre me prestaram, mesmo nos momentos mais difíceis.

Agradeço também à Direção Clínica, bem como aos Professores de todo o curso, por terem zelado sempre pelas melhores condições de trabalho e pelo nosso melhor ensino.

Por fim, gostaria de agradecer aos meus colegas de Mestrado e Licenciatura que comentaram o meu trabalho e deram sugestões, bem como a todos os amigos que, de alguma forma, contribuíram para a elaboração deste trabalho, pelas paciência, dedicação e pelo companheirismo que sempre demonstraram.

A todos o meu sincero Muito Obrigada!



## **RESUMO**

Nos últimos anos tem havido um aumento considerável na pesquisa da molécula de Ácido Hialurónico (AH). O Ácido Hialurónico é um glicosaminoglicano não sulfatado de alto peso molecular encontrado no tecido conjuntivo de vertebrados. O AH é o glicosaminoglicano mais abundante da matriz extracelular dos tecidos periodontais moles.

Devido às suas propriedades físico-químicas únicas e aos seus efeitos de não imunogenicidade, o Hialuronano tem mostrado ter algumas vantagens em várias aplicações médicas e no tratamento de condições inflamatórias.

O AH pode ser injetado intradermicamente ou pode ser utilizado topicamente e é utilizado para enchimento dérmico na área da dermatologia cosmética; na formação de cicatrizes em procedimentos cirúrgicos; em ortopedia para o tratamento da artrose do joelho e artrite reumatoide; em oftalmologia para o tratamento de cataratas e também tem sido explorado no campo de engenharia de tecidos. Mais recentemente, o AH foi investigado como um agente farmacológico para tratamentos em Medicina Dentária devido às suas propriedades anti-inflamatórias e anti-bacterianas.

**Palavras chave:** Ácido Hialurónico, Doença Periodontal, Periodontite, Alisamento Radicular, Regeneração Periodontal, Cicatrização Periodontal.

## **ABSTRACT**

Recently there has been an increase in the research of Hyaluronic Acid (HA). Hyaluronic acid is a non-sulfated, high molecular weight glycosaminoglycan found in the connective tissue of vertebrates. HA is the most abundant glycosaminoglycan of extracellular matrix of soft periodontal tissues.

Due to its unique physiochemical properties and its non-immunogenicity, hyaluronan has been proved to have some advantages in various medical applications and in the treatment of inflammatory conditions.

HA can be injected intradermally or can be used topically and it has been used as a dermal filler for cosmetic dermatology; in formation of scars in surgical procedures; in orthopedics for the treatment of osteoarthritis; in ophthalmology for the treatment of cataracts and it has also been explored in the field of tissue engineering. More recently, HA has been investigated as a pharmacological agent for treatments in Dentistry due to its anti-inflammatory and anti-bacterial properties.

**Key Words:** Hyaluronic Acid, Periodontal Disease, Periodontitis, Scale and Root Planning, Periodontal Regeneration, Periodontal Healing.

## Índice

<b>I. Introdução</b> .....	9
<b>II. Desenvolvimento</b> .....	11
1. Ácido Hialurónico .....	11
1.1. <i>Background</i> histórico do Ácido Hialurónico .....	11
1.2. Natureza, distribuição e estrutura química do Ácido Hialurónico .....	13
1.3. Síntese e <i>turnover</i> do Ácido Hialurónico .....	16
1.4. Farmacocinética do Ácido Hialurónico.....	19
1.5. Propriedades do Ácido Hialurónico .....	20
1.5.1. Propriedades físico-químicas .....	21
1.5.1.1. Osteocondução e osteoindução .....	21
1.5.1.2. Natureza higroscópica.....	21
1.5.1.3. Viscoelasticidade .....	22
1.5.2. Propriedades biológicas .....	23
1.5.2.1. Efeito bacteriostático .....	23
1.5.2.2. Efeito anti-inflamatório.....	23
1.5.2.3. Efeito anti-edematoso .....	24
1.5.2.4. Efeito antioxidante .....	24
1.5.2.5. Biocompatibilidade e não antigenicidade .....	25
1.6. Funções do Ácido Hialurónico.....	25
1.7. Disponibilidade de produtos.....	28
1.8. Segurança, efeitos adversos e contra-indicações.....	30
2. Doença Periodontal.....	31
2.1. Definição e classificação da Periodontite.....	31
2.2. Etiopatogenia da Periodontite .....	35
2.3. Fatores de risco da Periodontite .....	40
2.3.1. Fatores de risco modificáveis .....	40
2.3.2. Fatores de risco não modificáveis.....	42
2.4. Tratamento da Periodontite .....	44
2.4.1. Resposta da Periodontite Crónica aos alisamentos radiculares .....	46
2.4.2. Uso coadjuvante de antibióticos, antimicrobianos e agentes anti- inflamatórios no tratamento da Periodontite .....	49
2.4.3. Alisamento radicular vs cirurgia conservadora no tratamento da Periodontite.....	51
3. O papel do Ácido Hialurónico no tratamento da Periodontite .....	55

3.1. Ácido Hialurónico e Cicatrização Periodontal.....	57
3.2. Aplicabilidade do Ácido Hialurónico como coadjuvante no tratamento da Periodontite .....	61
<b>III. Conclusão.....</b>	<b>71</b>
<b>IV. Referências bibliográficas.....</b>	<b>72</b>
<b>IV. Anexos</b>	
Anexo 1: Características do Ácido Hialurónico	

## **Índice de Figuras**

<b>Figura 1:</b> Cronograma da descoberta do Ácido Hialurónico .....	12
<b>Figura 2:</b> Estrutura da molécula de Ácido Hialurónico.....	14
<b>Figura 3:</b> Propriedades do Ácido Hialurónico .....	20
<b>Figura 4:</b> Os efeitos da Periodontite.....	33
<b>Figura 5:</b> Trânsito de neutrófilos através do tecido periodontal.....	38
<b>Figura 6:</b> Regeneração do periodonto como um sistema único.....	44
<b>Figura 7:</b> O papel do Ácido Hialurónico na cicatrização de lesões.....	58

## **Índice de Tabelas**

<b>Tabela 1:</b> Funções gerais do Ácido Hialurónico.....	27
<b>Tabela 2:</b> Visão geral dos produtos de AH.....	29
<b>Tabela 3:</b> Características do AH como monoterapia ou como coadjuvante de tratamento periodontal não cirúrgico em ensaios humanos em pacientes com Periodontite.....	62
<b>Tabela 4:</b> Resultados clínicos do Hialuronano como monoterapia ou como coadjuvante de tratamento periodontal não cirúrgico em ensaios humanos.....	63
<b>Tabela 5:</b> Características e resultados principais do AH como coadjuvante de tratamento periodontal cirúrgico em ensaios animais.....	65
<b>Tabela 6:</b> Características do AH como coadjuvante de tratamento periodontal cirúrgico em ensaios humanos.....	65
<b>Tabela 7:</b> Resultados clínicos, radiográficos e laboratoriais do Hialuronano como coadjuvante de tratamento periodontal cirúrgico em ensaios humanos.....	66

## **Lista de Abreviaturas**

- AH** - Ácido Hialurónico
- BMP-2** - Proteína óssea morfogenética-2
- CD44** - Recetor de superfície celular do Ácido Hialurónico
- CHX** - Chlorohexidina
- GAG** – Glicosaminoglicano
- GCF** – Fluido crevicular gengival
- GTR** - Regeneração tecidual guiada
- HAS 1** – Sintetase- 1 do Ácido Hialurónico
- HAS 2** - Sintetase- 2 do Ácido Hialurónico
- HAS 3** - Sintetase- 3 do Ácido Hialurónico
- HSP** - Proteínas de choque térmico
- HYAL-1** - Hialuronidase-1
- HYAL-2** - Hialuronidase-2
- HYAL-3** - Hialuronidase-3
- IL-8** - Interleucina-8
- LBP** - Lipopolissacarídeos
- LDD** - *Release local drug delivery*
- MMP** – Metaloproteinases
- nHA** - Ácido Hialurónico nativo
- oHA** - Oligossacarídeos de Ácido Hialurónico
- PMN** - Neutrófilos polimorfonucleares
- RHAMM** - Recetor de mobilidade mediada do Ácido Hialurónico
- RNA** - Ácido ribonucleico
- ROS** – Espécies de oxigénio reativo
- TLR** - Recetores tipo Toll



## I. Introdução

O uso de AH no tratamento de processos inflamatórios é estabelecido em áreas médicas como ortopedia, dermatologia e oftalmologia. Nos últimos anos, têm sido feitos vários estudos acerca do vasto uso de AH no tratamento de condições inflamatórias do joelho e da articulação temporomandibular, o que levou ao estudo da sua aplicação tópica no tratamento de doenças periodontais. O uso generalizado de Ácido Hialurónico resulta da sua biocompatibilidade e/ou facilidade de processamento. (Bansal et al., 2010; Salwowska et al., 2016)

Em condições normais, os tecidos gengivais levam a cabo funções típicas de tecidos fibrosos, embora apresentem características muito similares aos tecidos moles. A substância de “fundo”, que é a estrutura que suporta a matriz extracelular, é formada por uma rede rica de proteoglicanos em perfeito equilíbrio, dando aos tecidos gengivais uma consistência típica. Neste contexto, o Ácido Hialurónico ou o Hialuronano (AH) tem um papel fundamental. (Pilloni et al., 2011)

O Ácido Hialurónico (AH) é um polissacárido (glicosaminoglicano) não sulfatado de alto peso molecular, que desempenha um papel fulcral no funcionamento das matrizes extracelulares, incluindo a dos tecidos periodontais mineralizados e não-mineralizados. (Bansal et al., 2010)

O AH contribui ainda significativamente para a hidrodinâmica dos tecidos, migração e proliferação celular. Devido às suas viscosidade e elasticidade, o AH atua como lubrificante e amortecedor de choque. Possui ainda propriedades anti-inflamatórias, bacteriostáticas e anti edematosas importantes. (Cristina et al., 2013)

Vários estudos têm demonstrado que, dentro das doenças periodontais, a Periodontite é caracterizada pela perda das propriedades gengivais normais. Muitos estudos mostraram que as alterações mais importantes estão relacionadas com a redução do balanço da estrutura normal da matriz extracelular. (Pilloni et al., 2011)

Em caso de doença periodontal, o componente Hialuronano endógeno encontra-se ausente no epitélio e no tecido conjuntivo gengival, com a falha da estrutura e a perda das características normais da gengiva. Foi demonstrado que, em pacientes com Periodontite Crónica, existe uma rápida perda de Ácido Hialurónico de alto peso molecular devido a processos enzimáticos. O fornecimento dos constituintes que podem ser utilizados para uma regeneração tecidular, de forma a restabelecer a sua estrutura interna, é absolutamente necessário. (Pilloni et al., 2011)

O tratamento mecânico não cirúrgico é a base do tratamento periodontal. No entanto, o aumento da profundidade de sondagem e fatores anatómicos complicados limitam a efetividade dos alisamentos radiculares, comprometendo os resultados, e algumas vezes a intervenção cirúrgica é indispensável, apesar de uma morbidade adicional. Para além dos tão conhecidos antimicrobianos e biomateriais que podem ser utilizados como coadjuvantes de tratamentos periodontais, existe um grande número de substâncias que não são tão conhecidas e são utilizadas com menor frequência, mas que, ao mesmo tempo, têm o potencial de melhorar os resultados na terapêutica periodontal. Uma dessas substâncias é o Ácido Hialurónico. (Gontiya & Galgati, 2012)

## II. Desenvolvimento

### 1. Ácido Hialurônico

#### 1.1. *Background* histórico do Ácido Hialurônico

No contexto de *background* histórico, o Ácido Hialurônico foi descoberto em 1934 por Karl Meyer e pelo seu colega John Palmer, cientistas da Universidade de Columbia, Nova Iorque, que isolaram a substância química a partir do humor vítreo do olho bovino. (Bansal et al., 2010; Sánchez et al., 2017)

Os referidos cientistas afirmaram que era um componente universal do espaço extracelular e que as suas propriedades múltiplas permitiam a constituição de uma matriz, que poderia providenciar suporte ao funcionamento normal de células e tecidos. (Bansal et al., 2010; Sánchez et al., 2017)

A caracterização físico-química do AH foi objeto de estudo durante os anos 50 e 60. Foi descoberto que, numa concentração tão baixa como 0.1%, as cadeias de AH ficavam emaranhadas, resultando numa viscosidade extremamente alta. Estas propriedades permitiram que o AH regulasse o equilíbrio de água e resistência ao fluxo, e atuasse como um lubrificante e estabilizador de estruturas. (Liu et al., 2011)

O AH como produto usado em medicina clínica foi devido a Endre Balazs, que desenvolveu o primeiro AH não inflamatório, altamente purificado. (Liu et al., 2011)

No início dos anos 80, o AH foi usado para criar lentes intraoculares de plástico, tendo-se tornado um material importante para cirurgias oftálmicas. Várias aplicações clínicas foram propostas e desenvolvidas por volta desta altura. (Liu et al., 2011)

O termo “Hialuronano” foi introduzido em 1986, nomenclatura de polissacárido, referindo-se assim às diferentes formas que a molécula pode adquirir, tanto como de um sal, como de um ácido. (Liu et al., 2011)

Sob condições fisiológicas, o AH existe como um polieletrólito com catiões associados, frequentemente como um sal de sódio, daí o nome de “hialuronato de sódio”. (Dicker et al., 2014)

A Figura 1 mostra o processo do AH no decorrer do tempo. Pode observar-se que, inicialmente, o AH era utilizado como um substituto para claras de ovo, mais tarde,

foi utilizado como um promotor para migração celular em diferentes campos da medicina. (Sánchez et al., 2017)

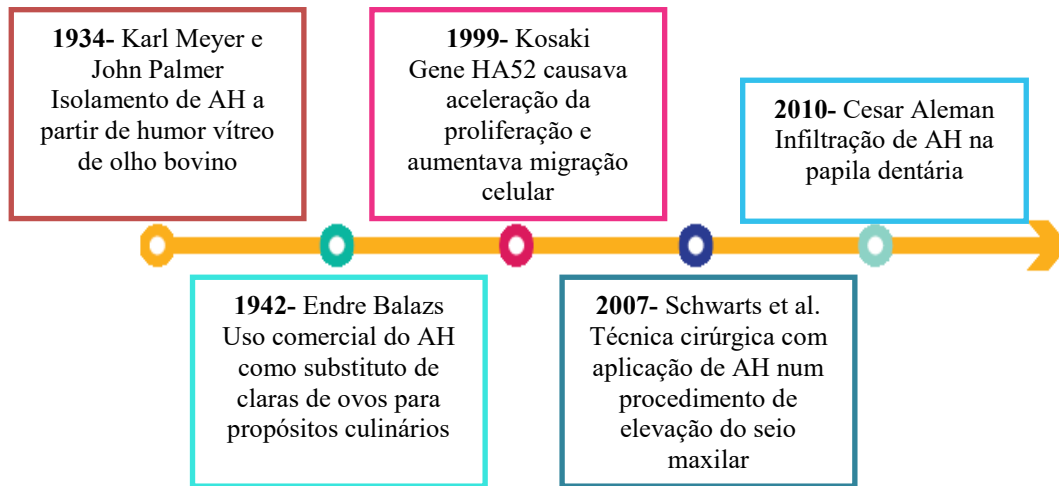


Figura 1. Cronograma da descoberta do Ácido Hialurónico. (Adaptado de Sánchez et al., 2017)

## 1.2. Natureza, distribuição e estrutura química do Ácido Hialurónico

Os glicosaminoglicanos são polímeros longos, compostos por dissacáridos repetidos, em que um ou ambos contêm resíduos de sulfato, sendo então moléculas de volume elevado que constituem parte da matriz extracelular. Devido à sua vasta hidratação, a matriz extracelular comporta-se como um gel, o que permite que os tecidos tenham altas proporções de glicosaminoglicanos para suportarem altas pressões mecânicas, favorecendo também o elevado rácio de difusão de substâncias entre as células. Dentro do grupo de glicosaminoglicanos, o Ácido Hialurónico é o único não sulfatado constituindo um caso especial. (Bansal et al., 2010; Sánchez et al., 2017)

O Ácido Hialurónico (AH) é um glicosaminoglicano (GAG) não sulfatado natural, com alto peso molecular que pode variar entre os 4,000 e os 20,000,000 Daltons. A estrutura do AH é muito precisa e consiste numa molécula polissacarídea uniforme e linear que contém unidades repetidas de 2 açúcares, dissacárideos de ácido D-glucorónico e N-acetil-d-glucosamina, unidas por ligações alternadas de  $\beta(1-3)$  e  $\beta(1-4)$  (Figura 2). (Bansal et al., 2010; Liu et al., 2011; Neuma et al., 2015; Casale et al., 2016; Kim et al., 2016; Salwowska et al., 2016; Sánchez et al., 2017)

A estrutura terciária do Ácido Hialurónico é estabilizada pela presença de ligação de hidrogénio intermolecular. As interações de ligação da parte hidrofóbica e do hidrogénio, em combinação com a repulsão eletrostática, levam a que um grande número de moléculas se agregue, levando à formação de redes moleculares (matrizes) de AH. (Dahiya & Kamal, 2013)

Devido à sua única estrutura molecular, o Ácido Hialurónico pode adquirir vários pesos moleculares e liofilizado ou esterificado numa série de diferentes configurações estruturais como esponjas ou membranas, de forma a proporcionar alguma estrutura e rigidez. O rácio de biodegradação dos materiais à base de Ácido Hialurónico pode ser manipulado, alterando o grau de liofilização ou esterificação da molécula. (Bansal et al., 2010; Dahiya & Kamal, 2013)

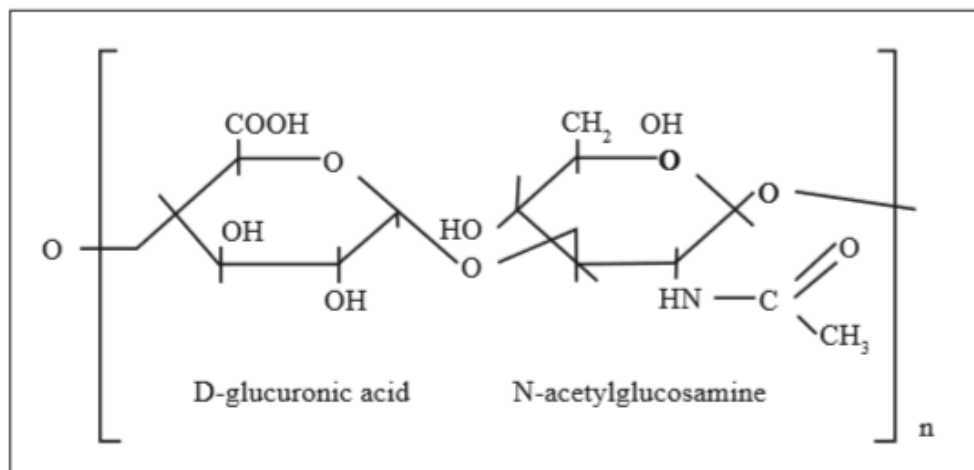


Figura 2. Estrutura da molécula de Ácido Hialurónico. (Adaptado de Bansal et al., 2010)

O AH está presente na maioria dos tecidos vivos como um polímero de alto peso molecular ( $> 10^6$  Da) e em quantidades significativas na pele (derme e epiderme), cérebro e sistema nervoso central. (Takeda et al., 2011)

O AH é encontrado em quase todos os órgãos dos vertebrados, mas mais abundantemente na matriz extracelular do tecido conjuntivo, onde é um constituinte fisiológico natural, especialmente na mucosa gengival. Na pele, tem um papel protetor, de estabilização de estrutura e absorção de choque. A estimativa da quantidade total de AH na pele humana é de cerca de 5 g, cerca de um terço da quantidade total de AH que se acredita estar presente em todo o corpo humano. As maiores concentrações de AH são encontradas no tecido conjuntivo (cordão umbilical, líquido sinovial, pele). (Jiang et al., 2011; Dahiya & Kamal, 2013)

O AH tem sido encontrado em todos os tecidos periodontais, estando particularmente concentrado em tecidos não-mineralizados como a gengiva e o ligamento periodontal, estando também presente, em concentrações mais baixas, em tecidos mineralizados como o cimento e o osso alveolar. O Hialuronano tem muitas funções estruturais e fisiológicas nos tecidos e é um componente chave nas diversas etapas do processo de cicatrização (inflamação, formação de tecido de granulação, formação de epitélio e remodelação tecidual), quer em tecidos mineralizados, quer em tecidos não-mineralizados. Em adição, devido aos altos níveis de Hialuronano no soro sanguíneo circulante, está constantemente presente no fluido crevicular gengival (GCF) como um fator de sobrecarga sérica. (Bansal et al., 2010; Al-Bayat et al., 2011)

Esta molécula é também essencial em processos de fertilização, uma vez que muitos fluidos do trato genital feminino são ricos em AH. Pode ser encontrado também

em locais onde ocorre fricção: articulações, tendões, bainhas, pleura e pericárdio, o que indica sua notável biodisponibilidade. (Salwowska et al., 2016; Sánchez et al., 2017)

No que diz respeito às principais fontes exógenas do Hialuronano, as estruturas que contêm a maior quantidade da molécula são as cristas de galos e a pele de tubarão. No entanto, vários estudos têm sido feitos sobre novas técnicas de aquisição da molécula, uma vez que o AH isolado a partir de tecidos animais contém proteínas e DNA que podem causar reações imunes adversas. Por esse motivo, o interesse em fontes animais tem vindo a diminuir a longo dos anos. (Liu et al., 2011; Salwowska et al., 2016)

Surpreendentemente, o AH também pode ser obtido a partir da fermentação de bactérias, uma vez que está presente em cápsulas de certas estirpes de microrganismos (exemplo *streptococcus*). O risco de mutações ou infecção por produtos exógenos ou toxinas endobacterianas, embora pequeno, pode limitar o papel desse método. (Liu et al., 2011; Salwowska et al., 2016)

### 1.3. Síntese e *turnover* do Ácido Hialurónico

A síntese e a degradação do AH são reguladas durante o desenvolvimento embrionário e processos homeostáticos. (Dicker et al., 2014)

O AH é uma molécula especial, uma vez que não forma ligações covalentes com outras moléculas da matriz extracelular. Embora outros glicosaminoglicanos (GAGs) como os proteoglicanos sejam sintetizados no aparelho de Golgi, este não é o caso do AH, que é sintetizado extracelularmente por enzimas ou células da membrana plasmática. (Bansal et al., 2010; Dahiya & Kamal, 2013; Dicker et al., 2014; Sánchez et al., 2017)

O AH tem um modo único de síntese, altamente controlado, em que a molécula é expulsa imediatamente para o espaço extracelular após formação para interagir com outros constituintes da matriz extracelular. (Bansal et al., 2010; Sánchez et al., 2017)

A maioria das células do corpo são capazes de sintetizar o Ácido Hialurónico e a síntese ocorre na membrana plasmática. O Hialuronano liga-se a muitas moléculas e proteínas da matriz extracelular e, especificamente aos corpos celulares através de recetores de superfície celular, como o CD44 e o recetor de mobilidade mediada do Ácido Hialurónico (RHAMM). O CD44 é um recetor AH específico, que pertence a uma família de glicoproteínas transmembranares, sendo o recetor mais importante do AH. Este recetor atua como uma molécula alvo de adesão, sendo essencial na regulação da neogénese e função dos vasos sanguíneos. O CD44 é expresso em leucócitos, células epiteliais, fibroblastos e células musculares. O AH também pode exercer efeitos biológicos através do RHAMM, nomeadamente reparação tecidular. (Bansal et al., 2010; Mo et al., 2011; Sánchez et al., 2017)

Existem três sintetases presentes na espécie dos mamíferos responsáveis pela formação do Ácido Hialurónico: sintetase-1 do Ácido Hialurónico (HAS1), sintetase-2 do Ácido Hialurónico (HAS2) e sintetase-3 do Ácido Hialurónico (HAS3). Estas sintetases estão localizadas na membrana celular com a extremidade ativa voltada para o interior da célula. A síntese ocorre na face interna da membrana celular e mantém as porções individuais do polímero que não estão em redução emergindo fora da célula. A parte que não está em redução é transportada para o espaço extracelular. Este mecanismo é diferente da síntese de outros polímeros, pois correlaciona-se com o comprimento das moléculas de AH e sua viscosidade. (Jiang et al., 2011; Liu et al., 2011; Dicker et al., 2014; Salwowska et al., 2016)

A HAS1 tem uma constante Michaelis ( $K_m$ ) mais alta, sugerindo que esta sintetase tem um rácio mais lento de síntese do AH, comparando com as outras sintetases. A expressão das várias isoenzimas HAS é um sistema de controlo crítico para a modulação efetiva de diversos comportamentos celulares. (Dicker et al., 2014)

O Hialuronano de alto peso molecular presente nos tecidos periodontais é sintetizado por sintetases em várias células dos tecidos periodontais, incluindo fibroblastos e queratinócitos na gengiva e ligamento periodontal, cimentoblastos no cimento e osteoblastos no osso alveolar. (Dahiya & Kamal, 2013)

A diferença entre os resultados observados a partir das várias sintetases consiste no comprimento de cadeia de AH que produzem (pesos moleculares altamente variáveis de  $10^4$  a  $10^7$  Da). Enquanto a HAS1 e HAS2 são capazes de produzir AH de alto peso (até 2000 kDa), o AH produzido pela HAS3 tem um peso molecular baixo (100-1000 kDa). (Liu et al., 2011; Dicker et al., 2014; Salwowska et al., 2016)

Comummente, o AH natural com alto peso molecular é denominado de Hialuronano nativo (nHA), e fragmentos de AH de baixo peso molecular são chamados de oligossacarídeos de Hialuronano (oHA). (Mo et al., 2011)

Dependendo do comprimento da corrente, podemos então distinguir polímeros pequenos, médios e grandes. Acredita-se amplamente que a atividade do AH é dependente da sua massa molecular. O peso molecular do AH determina como este pode alterar mecanismos de cicatrização, a resposta fisiológica e ainda define as suas aplicações, sendo então um parâmetro importante para caracterizar os produtos de AH comercialmente. (Liu et al., 2011; Mo et al., 2011)

Os polímeros com formas pequenas e médias possuem propriedades pró-angiogénicas, pró-inflamatórias e anti-apoptóticas que estimulam a síntese de proteínas de choque térmico (HSP), sendo imuno-estimulantes potentes. (Takeda et al., 2011; Beniamino et al., 2016; Salwowska et al., 2016)

O AH de baixo peso molecular tem ainda a capacidade de estimular a proliferação, a motilidade e a formação de células endoteliais e promover inflamação, estimulando a imunidade e induzindo a angiogénese. No entanto, independentemente dos mecanismos em que os oHAs estão envolvidos, para os processos patológicos e fisiológicos da angiogénese, o efeito chave do AH de baixo peso molecular na formação de novos vasos sanguíneos pode ser o seu papel na estimulação da proliferação de células endoteliais. (Mo et al., 2011)

O AH de baixo peso molecular aparenta ser particularmente proeminente em tecidos gengivais de pacientes durante os estágios iniciais da Periodontite, possivelmente como o resultado da ação de enzimas bacterianas (hialuronidasas). (Casale et al., 2016)

Por outro lado, os polímeros grandes têm principalmente função imunossupressora, anti-inflamatória e anti-angiogénica. Estes polímeros podem ainda bloquear a proliferação de células epiteliais, inibindo a formação de redes capilares, podendo ligar-se a locais de regeneração de feridas. Em comparação com o AH de baixo peso molecular, Wu et al. mostraram que o AH de alto peso molecular tem efeitos citoprotetores maiores e tem ainda as seguintes propriedades: tempo de resistência mais longo, maior viscosidade e viscoelasticidade, mucoadesão e uma maior biocompatibilidade. (Liu et al., 2011; Takeda et al., 2011; Neuma et al., 2015; Beniamino et al., 2016; Salwowska et al., 2016)

A degradação do Ácido Hialurónico pode ocorrer por meios enzimáticos (degradado pela atividade de hialuronidasas) ou químicos (radicais livres de oxigénio). Após a degradação da molécula, esta é difundida através do sistema linfático ou, alternativamente, pode ser absorvida por células adjacentes e ser sujeita a degradação lisossomal. (Beniamino et al., 2016; Salwowska et al., 2016)

Por meio enzimático podem diferenciar-se as seguintes hialuronidasas endógenas: HYAL1 (enzima associada aos lisossomas, que degrada o AH em tetrassacarídeos), HYAL2 (degrada AH de alto peso molecular em produtos de 20 kDa de tamanho) e HYAL3 (uma enzima pouco conhecida). (Salwowska et al., 2016)

Os processos enzimáticos envolvem a atividade de B-glucuronidase, N-acetil-glucoaminodase e exoglicosidasas que, apesar de estarem presentes em quantidades muito pequenas, têm um alto nível de atividade. (Salwowska et al., 2016)

As hialuronidasas hidrolisam as ligações  $\beta(1-4)$  entre N-acetil-d-glucosamina e resíduos de ácido D-glucorónico e promovem a libertação de fragmentos de Ácido Hialurónico. Para além disso, ao hidrolisarem o Ácido Hialurónico, as hialuronidasas diminuem a viscosidade e aumentam a permeabilidade dos tecidos. (Jiang et al., 2011)

Por sua vez, a degradação química do AH está associada a espécies de oxigénio reativo (ROS), como radicais superóxido e radicais hidroxilo, encontradas durante as doenças periodontais. Estas espécies de oxigénio reativo acumulam-se em locais de lesão tecidual e podem fornecer um mecanismo para gerar fragmentos de AH. Os radicais são gerados principalmente por infiltração de leucócitos polimorfonucleares e

outras células inflamatórias durante fagocitose bacteriana. Os produtos por degradação química são menores, de quatro a seis cadeias de sacarídeos de comprimento. (Casale et al., 2016; Salwowska et al., 2016)

Das atividades biológicas do AH, a mais interessante pode ser que seus fragmentos de degradação sejam capazes de estimular a angiogênese e se tornarem extraordinariamente ativos durante eventos patológicos por regularem citocinas e influenciarem o recrutamento de células inflamatórias e quimiotaxia. (Jiang et al., 2011; Mo et al., 2011)

O *turnover* do conteúdo do AH ocorre nos tecidos pelo metabolismo local ou por drenagem linfática para a corrente sanguínea. Na pele e nas articulações, o *turnover* do AH ocorre pelo metabolismo local e é de cerca de 20-30%, sendo que o resto é removido pelas vias linfáticas. Ao atingir a corrente sanguínea, cerca de 85-90% é eliminado pelo fígado. Os rins eliminam cerca de 10% e apenas 1-2% é excretado na urina. (Dahiya & Kamal, 2013)

#### **1.4. Farmacocinética do Ácido Hialurónico**

O Ácido Hialurónico tem um tempo de semivida de meio dia até 2 ou 3 dias, independentemente da sua via de eliminação. O seu mecanismo de ação consiste na deposição organizada do colagénio, favorecendo a diferenciação celular, permitindo que haja cicatrização. Nos casos em que as concentrações de AH são insuficientes, a cicatrização pode ser anormal com a presença de estenoses. (Sánchez et al., 2017)

Em casos de aplicação, o Ácido Hialurónico é rapidamente metabolizado e, portanto, o seu efeito dura apenas um curto período de tempo. (Baldini et al., 2010)

### 1.5. Propriedades do Ácido Hialurónico

O AH possui propriedades físico-químicas e biológicas únicas, tornando-se uma molécula útil no tratamento do processo inflamatório em diversas áreas médicas. (Dahiya & Kamal, 2013).

A Figura 3 mostra as propriedades gerais do Ácido Hialurónico.

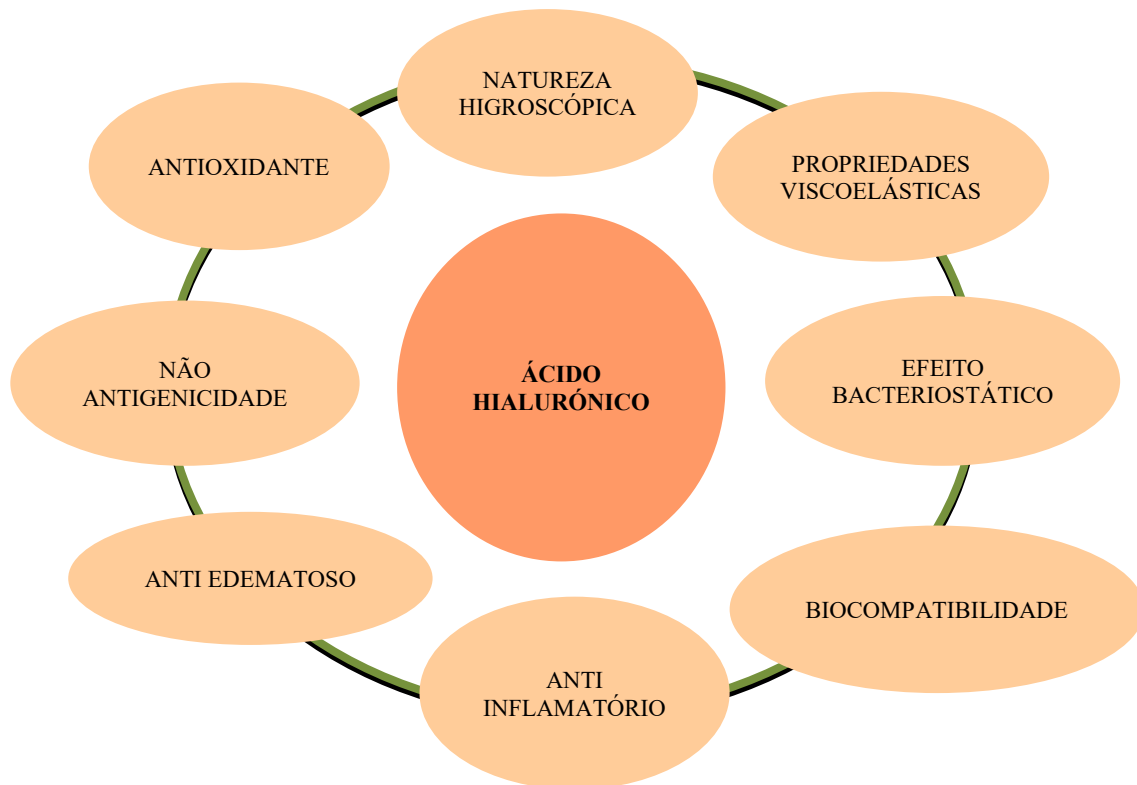


Figura 3. Propriedades do Ácido Hialurónico. (Adaptado de Dahiya & Kamal, 2013)

### **1.5.1. Propriedades físico-químicas**

#### **1.5.1.1. Osteocondução e osteoindução**

O AH possui propriedades químicas e físicas que desempenham papéis importantes em eventos precoces da osteogênese. Em termos de correlações com mecanismos de cicatrização e desenvolvimento de tecido duro, o Ácido Hialurônico pode ser considerado um “*primer*” para a regeneração celular. (Bansal et al., 2010; De Brito Bezerra et al., 2012)

O AH é encontrado em diferentes pesos moleculares e tem sido proposto que um peso molecular específico é responsável por um comportamento específico no organismo. Diferentes autores examinaram os efeitos de variados pesos moleculares do AH na osteogênese. Pilloni & Bernard (1998) mostraram que o AH de baixo peso molecular acelerava a osteogênese *in vitro* em células mesenquimatosas. (De Brito Bezerra et al., 2012)

Por outro lado, Sasaki & Watanabe (1995) mostraram que o AH de alto peso molecular aumentava a formação de osso. Estes autores mostraram que o AH é capaz de acelerar nova formação de osso por quimiotaxia, proliferação e diferenciação de células mesenquimatosas, uma vez que partilha as mesmas características de indução óssea com outras substâncias osteogênicas, como a proteína óssea morfogenética-2 e osteopontina. Também demonstraram que, no 4º dia após a aplicação de AH, a formação de osso já estava induzida. Zanchetta et al. mostraram também que a aparência histológica e geral da cicatrização óssea de locais tratados com HA era superior aos locais não tratados. (Bansal et al., 2010; De Brito Bezerra et al., 2012; Neuma et al., 2015)

O AH é também efetivo na promoção da diferenciação celular (osteoblastos) e na formação de osso durante o reparo de defeitos ósseos, indicando que pode ser utilizado no tratamento da Periodontite. (Cristina et al., 2013; Kim et al., 2016)

#### **1.5.1.2. Natureza higroscópica**

O Ácido Hialurônico é uma das moléculas mais higroscópicas conhecidas na natureza, para além de ser altamente osmótica em soluções. As unidades de açúcar que a molécula contém são hidrofílicas e a sua propriedade física mais relevante é a

habilidade de armazenar água, aumentando cerca de 50 vezes o seu peso seco. (Dahiya & Kamal, 2013)

O AH liga-se a uma grande quantidade de moléculas de água e melhora a hidratação dos tecidos e a resistência celular ao dano mecânico. Quando é incorporado em soluções aquosas, ocorre ligação do hidrogénio entre os grupos carboxil e n-acetil adjacentes: um grama de Ácido Hialurónico pode ligar-se até 6 L de água. Esta característica permite que o Ácido Hialurónico mantenha a sua rigidez conformacional, tenha um alto grau de elasticidade e atue como barreira à passagem de macromoléculas e corpos estranhos. Como material de fundo físico, possui funções no preenchimento de espaço, na lubrificação, na absorção de choque e na exclusão de proteínas. (Dahiya & Kamal, 2013)

Todas estas propriedades são bastante relevantes no controlo da hidratação tecidual durante as mudanças nos tecidos como acontece em processos inflamatórios e respostas a danos tecidulares. (Bansal et al., 2010; Sánchez et al., 2017)

### **1.5.1.3. Viscoelasticidade**

Em concentrações fisiológicas, o Ácido Hialurónico é uma molécula altamente carregada, associada a inúmeros iões ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ ,  $\text{Ca}^{2+}$  e  $\text{Mg}^{2+}$ ). O AH de alto peso molecular é altamente viscoso, uma vez que as moléculas enredam e formam redes aleatórias de cadeias que interagem com outros componentes macromoleculares. Estas redes têm uma viscoelasticidade tempo-dependente. O Hialuronano exclui outras macromoléculas, especialmente as que não conseguem encontrar espaço na rede e retarda a difusão de outras substâncias. Por essas propriedades, o Hialuronano e outros polissacarídeos regulam a distribuição e o transporte das proteínas plasmáticas nos tecidos. (Gontiya & Galgati, 2012; Dicker et al., 2014)

As propriedades viscoelásticas do material podem atrasar a penetração de vírus e bactérias, uma característica de particular interesse no tratamento de doenças periodontais, por manutenção de espaços e proteção de superfícies. O Hialuronano, como uma substância viscoelástica, pode assistir procedimentos regenerativos periodontais por manutenção de espaços e pela proteção de superfícies, atuando como um lubrificante e amortecedor de choque. Pelo reconhecimento da sua natureza higroscópica e viscoelástica, o Ácido Hialurónico pode influenciar a função celular,

uma vez que pode modificar, quer o ambiente celular, quer os ambientes extracelulares. (Bansal et al., 2010; Cristina et al., 2013; Dahiya & Kamal, 2013)

## **1.5.2. Propriedades biológicas**

### **1.5.2.1. Efeito bacteriostático**

Estudos recentes acerca de procedimentos cirúrgicos regenerativos indicam que a redução da carga bacteriana no local da lesão pode melhorar os resultados clínicos da terapia regenerativa. (Bansal et al., 2010)

Altas concentrações de Ácido Hialurônico de médio e baixo peso molecular têm o maior efeito bacteriostático, particularmente sobre as estripes *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Prevotella oris* e *Staphylococcus aureus*, comumente encontradas em lesões gengivais e periodontais. Esta propriedade pode reduzir a carga bacteriana nos estágios iniciais da cicatrização e, portanto, resultar em melhorias nos pacientes com doença periodontal. (Johannsen et al., 2009; Bansal et al., 2010; Bains et al., 2013)

Dependendo do seu peso molecular, o AH mostra também capacidade de interferir com a replicação viral, nomeadamente com o vírus *Herpes Simplex*, *Enterovirus* e *Coxsackievirus*. (Cristina et al., 2013)

A aplicação clínica de membranas, géis e esponjas de Ácido Hialurônico durante terapia cirúrgica pode reduzir a contaminação bacteriana no local e, portanto, diminuir o risco de infeção pós-cirúrgica e promover uma regeneração mais previsível. (Bansal et al., 2010; Dahiya & Kamal, 2013)

### **1.5.2.2. Efeito anti-inflamatório**

No campo da medicina dentária, ensaios clínicos preliminares foram feitos por Vangelisti e Pagnacco et al. em 1997. O Hialuronano mostrou ter efeitos anti-inflamatórios, anti-edematosos e antibacterianos importantes para o tratamento da Gengivite e Periodontite. (Bansal et al., 2010)

O efeito anti-inflamatório pode ser devido à ação exógena do Hialuronano através da inibição da destruição tecidual e por facilitar a cicatrização. Diferentes

mecanismos foram propostos para explicar o efeito do AH sobre o processo inflamatório. Cortivo et al. (1986) consideraram que o AH produz uma barreira física contra bactérias e contra os seus produtos na matriz extracelular. Mais recentemente, o AH demonstrou ser o principal ligando do recetor CD44 e as isoformas do recetor CD44 estão envolvidas na ligação inicial de leucócitos a células endoteliais ativadas por processos inflamatórios. (Bansal et al., 2010; Sapna & Vandana, 2011; Gontiya & Galgati, 2012; Dahiya & Kamal, 2013)

Esta atividade anti-inflamatória do AH promove uma resposta cicatricial aos tecidos moles e duros, que pode ser de interesse significativo durante a regeneração periodontal. Com base nestas premissas, o AH exógeno já foi testado em pacientes com Periodontite Crónica, em vários estudos clínicos relatando os efeitos benéficos do AH na redução dos valores de hemorragia e profundidades de sondagem. (Fujioka-Kobayashi et al., 2017)

#### **1.5.2.3. Efeito anti-edematoso**

O efeito anti-edematoso do AH pode estar relacionado com a atividade osmótica. Devido às suas propriedades de aceleração de cicatrização dos tecidos, pode ser utilizado como coadjuvante de tratamento mecânico da Periodontite. É concebível que a administração de Hialuronano nas bolsas periodontais possa atingir efeitos benéficos na regeneração tecidual periodontal comparáveis ao tratamento *standard* de doenças periodontais. (Bansal et al., 2010)

O AH é capaz de desativar hialuronidases bacterianas, drenar prostaglandinas, metaloproteinases e outras moléculas bioativas, normalizando a macro-agregação de proteoglicanos do tecido conjuntivo, realizando assim um efeito anti edema. (Bansal et al., 2010; Sapna & Vandana, 2011; Dahiya & Kamal, 2013)

#### **1.5.2.4. Efeito antioxidante**

Contraditoriamente, o AH pode regular a resposta inflamatória, atuando como um antioxidante pela eliminação de espécies de oxigénio reativo. Assim, o Hialuronano pode ajudar a estabilizar a matriz do tecido de granulação. A atividade antioxidante

provavelmente é devida às características físico-químicas desta molécula. (Dahiya & Kamal, 2013; Beniamino et al., 2016)

#### **1.5.2.5. Biocompatibilidade e não antigenicidade**

A natureza altamente biocompatível e, portanto, os efeitos colaterais insignificantes, bem como a não imunogenicidade, tornam o AH num dos compostos mais seguros para ser utilizado em vários campos da medicina. Não há especificidade antigénica para espécies ou tecidos; e, assim, este agente tem um baixo potencial de reação alérgica ou imunogénica. (Balini et al., 2009; Salwowska et al., 2016)

### **1.6. Funções do Ácido Hialurónico**

Através das suas interações complexas com componentes e células da matriz, o AH preenche distintas funções moleculares que contribuem para as características estruturais e fisiológicas dos tecidos, tendo também papéis multifacetados em processos biológicos. (Dicker et al., 2014)

Devido às suas propriedades biofísicas únicas, o AH contribui diretamente para a manutenção da homeostase e da biomecânica dos tecidos. Através de interações com proteoglicanos e proteínas de ligação, o AH organiza e mantém a integridade estrutural das matrizes. (Bansal et al., 2010; Dicker et al., 2014)

Um possível mecanismo para o efeito do AH na função celular é que o AH pode ligar-se aos seus recetores e iniciar uma série de eventos, incluindo a ativação de uma série de moléculas e a iniciação de uma cascata de transdução de sinal. A elucidação desse mecanismo pode fornecer uma nova estratégia para estabelecer a relação dos recetores de AH com as suas moléculas e demonstrar um mecanismo para os diferentes comportamentos de proliferação. (Mo et al., 2011)

O AH desempenha papéis fundamentais nas génese, manutenção e resolução da inflamação subjacente. Uma despolarização ocorre em processos inflamatórios, alterando a arquitetura tecidual, dificultando a troca metabólica. Esta é a fase em que o AH intervém, diminuindo os tipos de prostaglandinas, que são causas da inflamação e diminuindo, deste modo, os processos inflamatórios, para além de melhorar a disposição do colagénio. Assim, o Ácido Hialurónico tem capacidade de causar uma

melhor cicatrização (inibindo a inflamação destrutiva e induzindo a formação de tecido de granulação) e reparação tecidual (*turnover* do epitélio). (Sánchez et al., 2017)

Entre as atividades específicas do AH, encontramos migração de fibroblastos e fibrogénese, regulação do nível de proliferação e espessamento da epiderme, bem como proliferação de queratinócitos. (Sánchez et al., 2017)

O Ácido Hialurónico tem sido utilizado em medicina dentária como um biomaterial, uma vez que é o único com a mesma estrutura química em todas as espécies e tecidos. É adicionalmente utilizado com um coadjuvante na reparação tecidual e processos traumáticos. Em tratamento periodontal, a literatura reporta que este ácido pode ser utilizado em casos de gengivite, recessões, bolsas periodontais, enxertos e implantes, uma vez que é antisséptico e benéfico na diminuição da hemorragia. (Sánchez et al., 2017)

Em termos de regeneração periodontal, o AH parece ter um papel bastante promissor. O manuseamento dos defeitos periodontais é principalmente resultado do tratamento cooperativo de 3 tecidos únicos que compreendem o periodonto: o ligamento periodontal, o cimento e o osso alveolar. O AH é um componente essencial da matriz do ligamento periodontal e tem demonstrado desempenhar vários papéis importantes na adesão, migração e diferenciação celular mediada por várias proteínas de ligação ao AH e recetores de superfície celular como o CD44. Este antígeno CD44 é expresso em tecidos periodontais e a interação AH-CD44 tem sido associada com atividades de proliferação e mineralização de células do ligamento periodontal (PDL). (Fujioka-Kobayashi et al., 2017)

A Tabela 1 mostra as funções gerais do Ácido Hialurónico.

Tabela 1. Funções gerais do Ácido Hialurónico (Adaptado de Sánchez et al., 2017)

Interação celular e extracelular com os tecidos
Lubrificação tecidular
Regulação da pressão osmótica
Integridade estrutural e homeostase tecidular
Modulação da inflamação em estádios iniciais
Organização e estabilização do tecido de granulação da matriz
Neutralização da reação ao oxigénio impedindo destruição periodontal
Inibição da Serina (proteínase inflamatória)
AH de baixo peso molecular providencia um efeito angiogénico
AH de alto peso molecular providencia um efeito osteocondutivo
Alto efeito bacteriostático, especialmente para bactérias comumente encontradas em lesões periodontais e gengivais, como <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> , <i>Prevotella oris</i> e <i>Staphylococcus aureus</i> . A aplicação de esponjas, membranas e géis de Ácido Hialurónico durante a cirurgia pode reduzir a contaminação bacteriana do local cirúrgico, com diminuição do risco de complicações posteriores (infecções) e promoção de regeneração adequada
Organiza o posicionamento do colagénio favorecendo a diferenciação celular, produzindo resultados de cicatrização com fibrose mínima e diminuindo a retração tecidular
Desempenha um papel importante na estrutura da pele e é responsável pela sua elasticidade, adicionalmente providenciando volume aos tecidos
É encontrado no ligamento periodontal em concentrações menores, onde desempenha um papel importante em movimentos ortodônticos, ajudando na reparação e na formação de um novo tecido nas áreas adjacentes ao movimento
Desempenha um papel no preenchimento de espaço, lubrificação e exclusão de proteínas
Contribui para procedimentos de regeneração periodontal através da preservação de espaço e proteção da superfície

## 1.7. Disponibilidade de produtos

O Ácido Hialurónico existe em várias composições, pesos moleculares e provém de diversas fontes. Atualmente existem vários produtos disponíveis, no entanto, os mais utilizados na Periodontologia são o *Hyaloss*<sup>®</sup> e o *Gengigel*<sup>®</sup>. (Bertl et al., 2015)

A matriz *Hyaloss*<sup>®</sup> é um produto fabricado como um sólido, na forma de fibras que formam um gel quando estão hidratadas, libertando Ácido Hialurónico puro por cerca de 10 dias. Matriz *Hyaloss*<sup>®</sup> é o nome dado para produtos compostos apenas de éster de Ácido Hialurónico com álcool benzil (HYAFF), numa concentração variável de 20 a 60 mg/ml. É altamente polivalente, uma vez que à temperatura ambiente pode formar um gel biodegradável e biocompatível que pode ser adaptado pelo operador até à consistência desejada. Em contato com o sangue do paciente ou solução salina, a matriz *Hyaloss*<sup>®</sup> forma um gel quase instantaneamente. (Balini et al., 2009; Bansal et al., 2010; Pilloni et al., 2011)

Mais recentemente, um produto anti-inflamatório à base de Ácido Hialurónico aplicado topicamente foi colocado disponível comercialmente. O *Gengigel*<sup>®</sup> (Ricerfarma S.r.l., Milano, Italy) é um produto que contém frações de Ácido Hialurónico de alto peso molecular, xilitol e excipientes, e tem concentrações variáveis de 0.2% ou 0.8%. Este produto parece ser benéfico no tratamento de gengivite induzida por placa e como coadjuvante de alisamentos radiculares. Segundo Johannsen et al., o uso adjunto de Hialuronano a 0.8% após instrumentação mecânica tem grandes benefícios clínicos em termos de melhorias na cicatrização após terapia não cirúrgica. (Bansal et al., 2010; Bains et al., 2013)

O *Gengigel*<sup>®</sup> é produzido através de um processo biotecnológico não derivado de animais e está disponível em diferentes formas: preparações líquidas ou em gel para uso tópico oral, em tubos ou aplicadores para uso em cirurgias, e bochechos ou sprays orais para que os pacientes possam continuar o tratamento em casa. O *Gengigel*<sup>®</sup>, como um produto para uso oral, tem sido avaliado por testes de irritação da pele, potencial sensibilizante e absorção percutânea e tem sido provado que é um produto seguro e não irritante. (Bansal et al., 2010)

O gel de Hialuronano não tem sabor, cor ou odor. É fácil de aplicar e não adere aos dentes. Não tem reações adversas conhecidas ou interações medicamentosas. O Hialuronano é barato e pode facilmente ser colocado em áreas que estejam a ser

submetidas a tratamento. Quando utilizado em conjunto com terapia periodontal não cirúrgica é notório um *outcome* mais efetivo. (Gontiya & Galgati, 2012)

Tabela 2. Visão geral dos produtos de AH. (Adaptado de Bertl et al., 2015)

Produto	Composição	Peso molecular	Origem do Hialuronano	Empresa
<i>Aminogam</i> <sup>®</sup>	<i>Gel</i> Hialuronato de sódio	ND	ND	Errekappa Euroterapici (Spa, Italy)
<i>Gengigel</i> <sup>®</sup>	<i>Gel</i> 0.2% <i>Gel</i> 0.8% Hialuronato de sódio	Alto (1-1.8 x 10 <sup>6</sup> Da)	<i>S.equi</i>	Ricerfarma (Milan, Italy)
<i>Healon GV</i> <sup>®</sup>	<i>Gel</i> Hialuronato de sódio 14 mg/ml	Alto	Crista de galo	Pharmacia & Upjohn (Uppsala, Sweden)
Ácido Hialurónico de alto peso molecular	<i>Transportador</i>	Alto (2 x 10 <sup>6</sup> Da)	<i>S.equi</i>	Denka Co., Ltd. (Tokyo, Japan)
<i>HYAFF</i> <sup>®</sup>	<i>Gel</i> Ester de Ácido Hialurónico com álcool benzil	Baixo (5-7.3 x 10 <sup>5</sup> Da)	<i>S.equi</i>	Anika Therapeutics (Bedford, USA)
Matriz <i>Hyaloss</i> (baseada em <i>HYAFF</i> <sup>®</sup> )	<i>Fibras</i> Ester de Ácido Hialurónico com álcool benzil	Baixo (5-7.3 x 10 <sup>5</sup> Da)	<i>S.equi</i>	Meta G.C.M. (Reggio Emilia, Italy)

ND, não disponível; *S. equi*; *Streptococcus equi*.

### **1.8. Segurança, efeitos adversos e contra-indicações**

O Ácido Hialurónico é biocompatível e intrinsecamente seguro de ser utilizado, sem evidências de citotoxicidade encontradas. (Bansal et al., 2010)

Os efeitos adversos do Ácido Hialurónico, embora não sejam severos, podem incluir hematomas, edema, eritema, dor e prurido no local de aplicação do produto. Estas reações são muito leves e tendem a desaparecer entre as 24-48 horas. (Bansal et al., 2010; Sánchez et al., 2017)

Apesar de ser um produto bastante seguro na sua utilização, o Ácido Hialurónico não deve ser utilizado nos seguintes casos:

1. O paciente tem tendência a desenvolver cicatrizes hipertróficas;
2. Existe história de doenças autoimunes;
3. Em crianças, grávidas ou mulheres a amamentar;
4. Pacientes sujeitos a tratamento imunoterápico;
5. Pacientes com herpes ativo;
6. Pacientes com alergia ao sulfato condroitínico e heparina;
7. Em pacientes com cancro, uma vez que o AH causa proliferação celular, podendo gerar células malignas.

(Sánchez et al., 2017)

## 2. Doença Periodontal

### 2.1. Definição e classificação da Periodontite

O periodonto é uma unidade funcional composta por osso alveolar, ligamento periodontal e cimento, bem como gengiva livre e aderida. É um tecido altamente especializado, adaptativo e dinâmico que é capaz de sustentar uma variedade de desafios microbiológicos, inflamatórios e mecânicos, através de uma série de complexos eventos moleculares. Distúrbios neste equilíbrio, sob a forma de doenças periodontais, afetam uma percentagem significativa da população. (Cochran et al., 2015)

O termo “doença periodontal” refere-se a distúrbios inflamatórios comuns como Gengivite e Periodontite, que são causados por infiltração microbiana patológica nos tecidos periodontais. Esta infiltração leva a respostas inflamatórias visíveis e a reações imunológicas que causam a destruição crónica dos tecidos que envolvem e suportam os dentes. (Slots, 2012; Worthington et al., 2013; Nora Silva et al., 2015)

Os tecidos periodontais representam um sistema único, em que os tecidos conjuntivos epiteliais, não-mineralizados e mineralizados, existem em harmonia. Esta integridade é essencial para providenciar uma barreira efetiva contra invasão microbiana e para prevenir a destruição dos tecidos periodontais por enzimas e toxinas bacterianas. A integridade deste sistema, no entanto, é perdida durante inflamação crónica associada à doença periodontal, levando a efeitos deteriorantes nos componentes da matriz extracelular dos tecidos periodontais, como o colagénio, proteoglicanos e glicosaminoglicanos. (Slots, 2012; Gontiya & Galgati, 2012)

A classificação atualmente utilizada para definir as doenças periodontais foi introduzida em 1999 e compreende oito categorias principais:

- I. Doenças gengivais;
- II. Periodontite crónica;
- III. Periodontite agressiva;
- IV. Periodontite como manifestação de doença sistémica;
- V. Doenças periodontais necrozantes;
- VI. Abscessos do periodonto;
- VII. Periodontite associada a lesões endodônticas;
- VIII. Deformidades ou condições adquiridas ou de desenvolvimento.

(Lindhe & Lang, 2015)

A Gengivite é uma doença reversível que pode ser caracterizada pela presença de inflamação gengival, sem perda de inserção de tecido conjuntivo. A gengiva encontra-se com uma cor avermelhada, inchada e sangra facilmente. A gengivite pode ser percussora da Periodontite, mas não quer dizer que aconteça em todos os indivíduos. (Slots, 2013; Worthington et al., 2013)

A Periodontite crónica, por outro lado, é uma doença infecciosa e inflamatória de todos os tecidos que suportam os dentes, levando a uma progressiva destruição dos tecidos periodontais mais profundos. Esta doença é irreversível e é acompanhada pela migração apical do epitélio juncional pela raiz do dente, levando ao aparecimento de bolsas periodontais e recessão gengival, que são sinais clínicos desta patologia. É a forma mais comum da patologia e ocorre principalmente em adultos, progredindo de forma lenta. (Lindhe & Lang, 2015; American Academy of Periodontology, 2017)

A Periodontite crónica, se não tratada, pode levar à destruição dos tecidos moles e duros que suportam o dente. Esta destruição é mediada pelo próprio hospedeiro e é causada por leucócitos hiperativados, citocinas e metaloproteinases da matriz que causam a destruição do tecido conjuntivo e ósseo. A Periodontite pode levar à progressiva perda de inserção e suporte ósseo alveolar, perda de implantação dentária e, finalmente, avulsão do dente. (Amir et al., 2009; Nobre et al., 2009; Agnihotram et al., 2010; Kalsi et al., 2011; Cristina et al., 2013; Worthington et al., 2013)

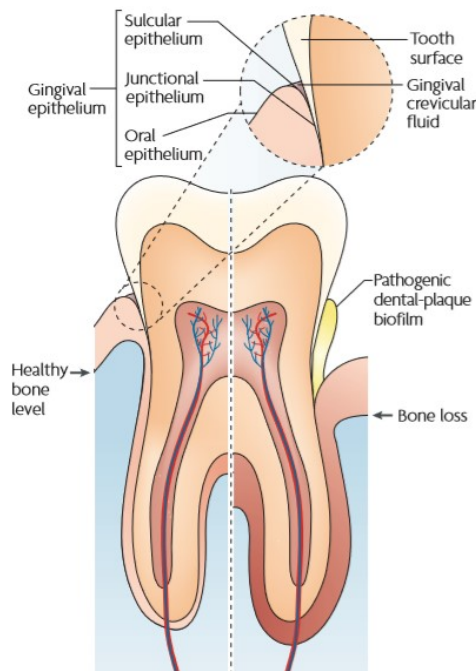


Figura 4. Os efeitos da Periodontite. Tecido periodontal saudável (esquerda) contém tecido conjuntivo e osso alveolar que suportam a raiz do dente. O epitélio oral cobre o tecido de suporte e um epitélio juncional especializado contacta com a superfície do dente. O espaço entre a superfície epitelial e o dente é chamado sulco e é preenchido com fluido crevicular gengival. Nos casos de Periodontite (à direita), um biofilme da placa dentária acumula-se na superfície e raiz do dente e causa a destruição do tecido conjuntivo periodontal e do osso alveolar, resultando na causa mais comum de perda dentária no mundo. (Adaptado de Darveau, 2010)

A Periodontite agressiva é outra das formas da patologia. Esta forma é menos frequente, afeta principalmente jovens, saudáveis, progride rapidamente e resulta na perda substancial dos tecidos periodontais. A Periodontite agressiva mostra agregação familiar, ou seja, afeta parentes da mesma família, indicando que predisposições genéticas e exposições ambientais são determinantes importantes da doença. (Lindhe & Lang, 2015)

O critério usado para definir Periodontite deve ser inequívoco e apropriado para qualquer examinador utilizar, de forma a que o mesmo diagnóstico seja conseguido por outros examinadores sob condições idênticas. O diagnóstico periodontal tradicional envolve medidas de profundidade de sondagem, recessão gengival e nível de inserção periodontal usando sondas periodontais graduadas. Infelizmente, a sensibilidade das radiografias na detecção de uma lesão óssea precoce é pobre. Os marcadores bioquímicos podem detetar alterações inflamatórias em curtos períodos de tempo. No entanto, é

necessário um período maior para detetar mudanças mensuráveis na densidade óssea usando radiografias. (Amir, et al., 2009; Agnihotram et al., 2010)

Uma resposta de um organismo à infeção periodontal inclui a produção de várias famílias de enzimas e marcadores de inflamação, que são libertados de células epiteliais, inflamatórias ou bacterianas. A análise dessas enzimas na secreção salivar e nos marcadores de inflamação no soro de pacientes com Periodontite pode contribuir para o esclarecimento da patogénese e para um diagnóstico rápido da doença periodontal. (Agnihotram et al., 2010)

A Periodontite tem uma prevalência maior em países em desenvolvimento e variação global considerável. Estima-se que a prevalência de doença moderada seja entre os 2% e os 67% e que de doença severa seja entre 1% e 79%. Sabe-se ainda que a prevalência de bolsas e perda de inserção periodontal aumenta com a idade. Por exemplo, a percentagem de perda de inserção encontra-se nos 15% entre os 16 e os 24 anos e nos 85% após os 65 anos. Crianças e adolescentes podem ter qualquer uma das formas da patologia: Periodontite agressiva, Periodontite crónica ou Periodontite como manifestação de alguma doença sistémica. A Periodontite é a causa mais comum de perda de dentes em todo o mundo. (Agnihotram et al., 2010; Worthington et al., 2013, Aljehani, 2014)

## 2.2. Etiopatogenia da Periodontite

Atualmente sabe-se que a placa dentária é o principal fator etiológico na patogênese da doença periodontal. No entanto, a placa é necessária, mas não suficiente, para que a doença ocorra. A resposta do hospedeiro, o efeito modificador dos vários fatores de risco e o ataque bacteriano da placa podem ser os verdadeiros iniciadores de uma variedade de padrões da doença, tanto entre indivíduos, como entre locais diferentes na cavidade oral do mesmo indivíduo. Todos os tipos de doença periodontal são transtornos infecciosos que resultam da interação entre agentes patogênicos e reações imunitárias do hospedeiro. (Slots, 2013; Worthington et al., 2013)

Embora estagnável nas fases iniciais da doença, a Periodontite continua a ser uma das causas mais comuns de perda dentária, o que torna crítica a detecção e prevenção precoces. O consenso atual é que a etiopatogenia da Periodontite implica uma interação dinâmica multifacetada de bactérias e vírus patogênicos, respostas imunes inatas e adaptativas, eventos ambientais adversos e fatores de suscetibilidade genética. A explicação convencional é que os dentes afetados pela Periodontite exibem anatomias que estão predispostas a uma maior acumulação de placa. (Slots, 2013)

Os microrganismos foram considerados pela primeira vez como possíveis agentes etiológicos da Periodontite no final do século XIX, quando a teoria do germe da doença mudou a nossa compreensão acerca da etiologia da doença. A falha em identificar um patógeno específico na comunidade polimicrobiana amorteceu o entusiasmo por uma etiologia microbiana, e outras causas para Periodontite, como trauma ou atrofia por desuso, foram propostas. (Darveau, 2010)

A compreensão da Periodontite aumentou acentuadamente com a análise extensiva da placa dentária associada a locais clinicamente saudáveis ou doentes. O papel crucial na determinação do início da doença é mantido pelas bactérias na placa bacteriana, especialmente a placa subgingival madura, juntamente com fatores locais e sistêmicos. (Darveau, 2010; Cristina et al., 2013)

Tal como em outras doenças polimicrobianas, a Periodontite tem sido caracterizada como uma doença de deslocamento microbiano devido a uma mudança bem caracterizada nos microrganismos presentes (de espécies Gram-positivas a espécies Gram-negativas) durante a transição de saúde a doença periodontal. (Darveau, 2010; Slots, 2012)

Culturas anaeróbicas e técnicas de diagnóstico molecular ligaram várias espécies anaeróbicas gram-negativas e algumas espécies gram-positivas para o início e para a progressão da Periodontite. (Slots, 2013)

Uma revisão das relações entre bactérias orais e da sua contribuição para o desenvolvimento da Periodontite fornece uma perspectiva que é necessária à medida que tentamos entender e tratar comunidades polimicrobianas que estão associadas a doenças inflamatórias crônicas. A placa dentária é um biofilme complexo que contém muitas espécies bacterianas, que se acumulam nos tecidos duros da cavidade oral, como os dentes. A placa dentária não é uma estrutura uniforme. Varia de dente para dente e de localização para localização na cavidade oral. Para além disto, a placa supragengival é diferente da placa subgengival, quer em termos de morfologia, quer em termos de bactérias. (Darveau, 2010; Al-Bayaty et al., 2011; Pleis & France, 2013)

Vários estudos concluíram que *Actinomyces* e *Fusobacterium*, bem como *A. actinomycetemcomitans*, *Prevotella intermedia* e *Porphyromonas gingivalis*, são estripes que estão presentes em níveis mais elevados em pacientes com Periodontite. (Slots, 2012; Teles et al., 2012)

Teles et al. (2012) discutem ainda as vantagens de técnicas moleculares de alto rendimento para a análise da microbiota periodontal. O gene de RNA do ribossoma 16S é comumente utilizado para a identificação bacteriana porque este marcador de gene exhibe poucas variações na posição de nucleótido dentro de um dado género. As novas técnicas metagenómicas identificaram centenas de novas taxas bacterianas em locais periodontais, incluindo espécies não-orais e ambientais. Estudos ainda têm de comparar o nível de deteção de bactérias periodontopáticas utilizando o PCR em tempo real (*gold standard*). (Slots, 2013)

Praticamente todas as lesões de doença periodontal ativa também possuem uma ou mais espécies de herpes vírus reativado, predominantemente *citomegalovírus*, *vírus herpes simplex* e *vírus Epstein-Barr*. Na verdade, lesões avançadas de Periodontite podem abrigar quase tantas cópias de herpes vírus, como de células bacterianas. Como os vírus (e as leveduras) não contêm genes de RNA do ribossoma 16S, infelizmente esses agentes infecciosos têm sido negligenciados em muitos estudos recentes sobre infeções periodontais. Os herpes vírus residem em células inflamatórias, criando assim uma infeção latente, que pode se tornar ativada durante períodos de imunossupressão e dar origem ao crescimento excessivo de bactérias periodontopáticas e, posteriormente, à doença progressiva. (Slots, 2013)

Considerando o imenso trabalho que se dedicou a definir a periodontopatogenicidade apenas da *A. actinomycetemcomitans* e *P. gingivalis*, seria uma tarefa hercúlea determinar o papel patogénico de muitas bactérias novas. Uma complicação é que muitas das novas bactérias são não cultiváveis e, portanto, a sua patogenicidade não pode ser estudada em ensaios funcionais. (Slots, 2013)

A resolução da inflamação gengival após a remoção física da placa dentária durante as limpezas dentárias de rotina levou à hipótese da "placa inespecífica". A premissa desta hipótese é que a quantidade de placa dentária é mais importante para a patogénese da doença do que a identidade das espécies bacterianas presentes. (Darveau, 2010)

Quando a placa dentária é removida por procedimentos autónomos ou profissionais, há uma redução imediata e frequentemente visível no número total de organismos, seguido, em poucas horas, por um retorno detetável de placa. De facto, o restabelecimento dos biofilmes dentários em muitas pessoas é tão rápido que geralmente é recomendado que os indivíduos escovem os dentes pelo menos duas vezes ao dia. (Teles et al., 2012)

Vários avanços nos últimos anos mudaram o pensamento sobre a etiologia microbiana da Periodontite. Evidências indicam que, enquanto a placa é o principal agente causal da doença periodontal, a reação do hospedeiro às bactérias é crucial para a iniciação e para a progressão das doenças periodontais. Pesquisas mais recentes têm-se focado na gestão da resposta do hospedeiro, em vez de se focarem na placa induzida por biofilme. (Slots, 2013)

Reconhece-se agora que o sistema de defesa imunológica do hospedeiro é altamente ativo em tecidos saudáveis, e um desequilíbrio ou uma rutura na expressão de mediadores inflamatórios contribuem grandemente para a destruição do tecido e do osso que sustenta as estruturas da raiz. Em segundo lugar, a identificação da família de recetores tipo toll (TLR), que reconhecem microrganismos, tem contribuído para a perceção de que, tanto as bactérias comensais, como as patogénicas, podem ativar uma resposta imune. Finalmente, o entendimento de que placa dentária é um biofilme levou a um maior ênfase na ideia de que as interações da comunidade microbiana podem modular a expressão de mediadores imunológicos do hospedeiro. (Darveau, 2010)

Devido à sua justaposição ao tecido periodontal, a placa dentária fornece um desafio constante ao sistema imunitário do hospedeiro. Em locais clinicamente saudáveis, esse desafio pode ser benéfico, resultando em resistência à colonização por

patogénicos e desencadeando outras respostas menos bem definidas do sistema imune do hospedeiro. Por outro lado, nos locais doentes, o desafio microbiano resulta claramente na alteração dos mecanismos normais de defesa no periodonto. O tecido periodontal não possui uma grande camada mucosa para evitar o contato entre a comunidade microbiana e a superfície da célula epitelial. De facto, embora os tecidos periodontais e intestinais tenham comunidades polimicrobianas parecidas, parece que usam estratégias completamente diferentes para lidar com a constante presença de estimulação microbiana. (Darveau, 2010)

O epitélio gengival (em particular, o epitélio juncional) é altamente poroso. As células epiteliais juncionais estão interconectadas por alguns desmossomas e pela junção GAP, resultando em grandes espaços intracelulares cheios de líquido. Para lidar com a estimulação microbiana constante, o periodonto tem uma expressão altamente preparada de mediadores de defesa do hospedeiro (Fig. 5). (Darveau, 2010, Pleis & France, 2013)

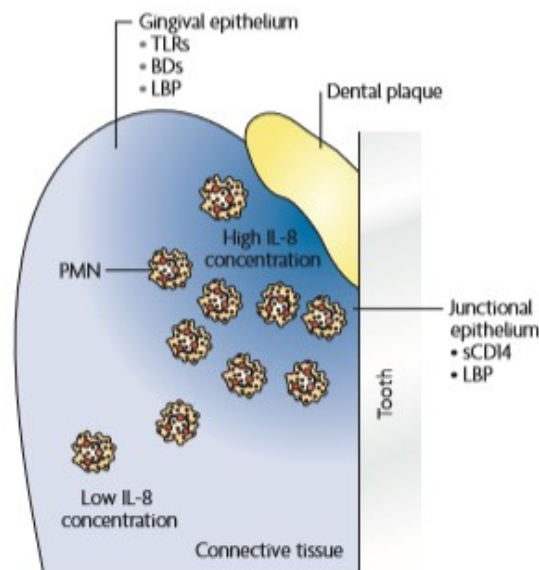


Figura 5. Trânsito de neutrófilos através do tecido periodontal. O gradiente de IL-8 é representado em azul. PMN, significa neutrófilos polimorfonucleares. Normalmente, a presença de neutrófilos no tecido do hospedeiro é um sinal de infecção bacteriana. (Adaptado de Darveau, 2010)

Os componentes bacterianos como lipopolissacarídeos (LBP) ativam a expressão coordenada de mediadores de defesa e citocinas, como a interleucina-8 (IL-8) e recetores tipo toll (TLRs), que reconhecem os patogénicos. Estas citocinas promovem a libertação de metaloproteinases da matriz (MMP's), responsáveis pela destruição dos componentes da matriz extracelular. Esta reação do hospedeiro facilita o trânsito de

neutrófilos pelo tecido, sendo formada uma parede entre o tecido do hospedeiro e o biofilme de placa dentária. (Darveau, 2010; Pleis & France, 2013)

O reconhecimento de que o hospedeiro contribui para a destruição tecidual e reabsorção óssea alveolar foi um grande avanço conceitual. Uma das consequências do aumento nas concentrações de mediadores inflamatórios é a reabsorção do osso alveolar, que é um dos sinais da Periodontite. (Darveau, 2010)

Uma compreensão completa da etiologia das doenças periodontais é essencial para desenvolver terapias periodontais eficientes e acessíveis. (Slots, 2013)

### 2.3. Fatores de risco da Periodontite

Fatores de risco para uma doença são condições locais ou sistêmicas que aumentam a probabilidade de desenvolver ou agravar a doença. A identificação de fatores de risco ajuda a reavaliar medidas preventivas de doença e prognóstico. Alguns fatores de risco para a doença periodontal são modificáveis. No entanto, existe uma variedade de outros fatores que não podem ser modificados ou controlados. (Slots, 2013)

Genco & Borgnakke argumentam que a maioria dos pacientes com Periodontite é afetada por um ou mais fatores de risco sistêmicos e o início da doença pode envolver uma combinação de vários fatores de risco. Como tal, os pacientes com Periodontite podem ser candidatos à terapia de modificação de fatores de risco. Estudos longitudinais são necessários para determinar em que medida fatores de risco individuais ou combinações de fatores estão associados a uma morbidade periodontal elevada, se uma redução de fatores de risco pode prevenir ou parar a Periodontite e facilitar a comunicação com pacientes, se múltiplos fatores de risco estiverem implicados. (Slots, 2013)

#### 2.3.1. Fatores de risco modificáveis

Alguns dos fatores de risco periodontais para os quais é possível modificação incluem os microorganismos específicos, tabagismo, a *Diabetes Mellitus*, doenças cardiovasculares, distúrbios provocados por fármacos, *stress* e obesidade. (Slots, 2013; Aljehani, 2014; Lindhe & Lang, 2015)

O microbioma oral inclui cerca de 700 fenótipos, em que aproximadamente 400 espécies se encontram na placa subgengival. A microflora subgengival na Periodontite pode conter centenas de espécies bacterianas, mas apenas um pequeno número tem sido associado à progressão da doença e considerado etiologicamente importante. A placa subgengival de bolsas periodontais profundas é dominada por bactérias anaeróbias gram-negativas. A evidência sugere que as estripes *Porphyromonas gingivalis* e *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* estão envolvidas na patogênese da Periodontite. (Aljehani, 2014; Lindhe & Lang, 2015)

Existem muitas evidências no que diz respeito a uma maior percentagem de doença periodontal entre fumadores. Fumar tem um efeito destrutivo nos tecidos periodontais e aumenta o rácio de progressão da doença periodontal. Fatores de risco,

como fumar, modificam a resposta do hospedeiro ao desafio bacteriano na placa dentária microbiana. Fumadores com doença periodontal parecem ter menos sinais de inflamação e hemorragia gengival, em comparação com não fumadores. Este fenómeno pode ser explicado pelo facto da nicotina exercer vasoconstrição, reduzir o fluxo sanguíneo, edema e sinais de inflamação clínicos. (Aljehani, 2014; Lindhe & Lang, 2015)

Pesquisas recentes sobre fatores de risco para Periodontite enfatizaram causas sistêmicas. Os mecanismos moleculares subjacentes ao aumento do risco de doença periodontal não são bem compreendidos, mas é intrigante que muitos fatores de risco periodontais envolvam imunossupressão. (Slots, 2013)

A *Diabetes Mellitus* parece estar muito relacionada com a Periodontite. Pacientes não diagnosticados ou mal controlados de *Diabetes Mellitus* tipo 1 ou tipo 2 têm maior predisposição para doença periodontal. Existem muitos estudos que demonstram uma associação entre diabetes e uma suscetibilidade aumentada para infecções orais, incluindo doença periodontal. A Periodontite também progride mais rapidamente em diabéticos. Contraditoriamente, os diabéticos bem controlados podem manter saúde oral e responder favoravelmente a tratamento periodontal. (Aljehani, 2014; Lindhe & Lang, 2015)

Para além da *Diabetes Mellitus*, a associação entre doenças periodontais e cardiovasculares tem sido bem estudada. As concentrações de colesterol e a ação de bactérias orais no processo de aterosclerose podem aumentar com a Periodontite crónica. Pacientes com doença periodontal estão mais suscetíveis a doenças vasculares, devido às suas fontes de espécies microbianas subgengivais. Para além disso, devemos ter em consideração que estas doenças partilham muitos fatores de risco e existem semelhanças evidentes nos mecanismos dos patógenos. A Periodontite está associada ao aumento do nível de proteína C-reativa e fibrinogénio. Evidências sugerem que o aumento dos níveis de marcadores sistêmicos de inflamação, como a proteína C-reativa e a interleucina-6, está associado a doenças cardiovasculares. (Aljehani, 2014)

Outro fator de risco importante é o uso de certos fármacos. Alguns medicamentos diminuem significativamente o fluxo salivar. Estes incluem anti-hipertensores, analgésicos narcóticos, alguns tranquilizantes e sedativos e anti-histamínicos. Outros fármacos, particularmente líquidos ou mastigáveis, contêm açúcares adicionados que alteram o pH e a composição da placa, fazendo com que esta

seja capaz de aderir às raízes dentárias. Desta forma, os fármacos podem ser fatores contribuintes para doença periodontal. (Aljehani, 2014)

Pacientes com comportamentos stressantes estão mais predispostos a Periodontite severa. O *stress* está associado a má higiene oral, secreção glucocorticoide aumentada, que pode deprimir o sistema imunitário, resistência aumentada à insulina e risco aumentado de desenvolver Periodontite. Estudos têm mostrado que alguns indicadores de doença periodontal, como perda dentária e hemorragia gengival, estão associados ao *stress* ocupacional. (Aljehani, 2014)

Tem sido demonstrado que a obesidade é um fator de risco para doença periodontal, principalmente em jovens. Investigações em tendências dietéticas em adolescentes dos 11 aos 18 anos revelam uma diminuição da ingestão de fruta e vegetais, fontes de vitamina C. Para além disto, os adolescentes têm uma alimentação deficiente em cálcio e uma aumentada ingestão de refrigerantes. Estes achados são importantes para a saúde oral porque uma dieta baixa em cálcio e vitamina C tem sido associada a doença periodontal. (Aljehani, 2014; Lindhe & Lang, 2015)

### **2.3.2. Fatores de risco não modificáveis**

Alguns fatores de risco como osteoporose, distúrbios hematológicos, resposta do hospedeiro e alterações hormonais femininas não podem ser modificados ou controlados. (Aljehani, 2014)

Muitos estudos sugerem uma clara relação entre osteoporose e Periodontite. A osteoporose pós-menopausa pode resultar em osteopénia dentária envolvendo os maxilares e, particularmente, a mandíbula. A osteoporose tem sido associada a severa perda óssea alveolar e a prevalência de casos de Periodontite em mulheres pós-menopausa é significativa. (Aljehani, 2014; Lindhe & Lang, 2015)

No que diz respeito a distúrbios hematológicos, estas condições podem levar a algumas mudanças periodontais. O crescimento exagerado de gengiva hemorrágica, com ou sem necrose, é a manifestação inicial de leucemia aguda. Quimioterapia ou terapia associada a transplantes também podem ter efeitos adversos na saúde oral. (Aljehani, 2014)

Outro fator de risco que não pode ser controlado é a resposta do hospedeiro. A Periodontite crónica envolve interações complexas entre fatores microbianos e hospedeiros suscetíveis. Entre os indivíduos suscetíveis, as promoções excessivas e

prolongadas das MMP's induzem a exagerada degradação de colagénio, que é o componente principal da matriz periodontal. (Aljehani, 2014)

Flutuações hormonais em pacientes femininas podem alterar o estado da saúde periodontal. Estas mudanças podem ocorrer durante a puberdade, o ciclo menstrual, a gravidez ou a menopausa. Mudanças podem também estar associadas ao uso de contraceptivos orais. As mudanças periodontais mais pronunciadas ocorrem na gravidez, uma vez que uma proporção significativa de mulheres grávidas sofre de Gengivite gestacional. Mulheres em terapia de reposição hormonal e que tomem contraceptivos orais experienciam inflamação gengival aumentada. (Aljehani, 2014)

Outros fatores de risco não modificáveis incluem a idade, o sexo, a raça ou etnia e o polimorfismo genético. (Lindhe & Lang, 2015)

## 2.4. Tratamento da Periodontite

A regeneração do periodonto deteriorado tem sido o objetivo do tratamento periodontal. No entanto, restabelecer a estrutura, as propriedades e a função originais do periodonto “doente” constitui um enorme desafio. (Cochran et al., 2015)

Diferentes abordagens têm sido propostas, mas a quantidade de tecido regenerado tem sido limitada e imprevisível. Por definição, uma regeneração periodontal bem-sucedida implica a regeneração simultânea de cimento, ligamento periodontal e osso alveolar, uma vez que o periodonto atua como um sistema único. (Figura 6). (Cochran et al., 2015)

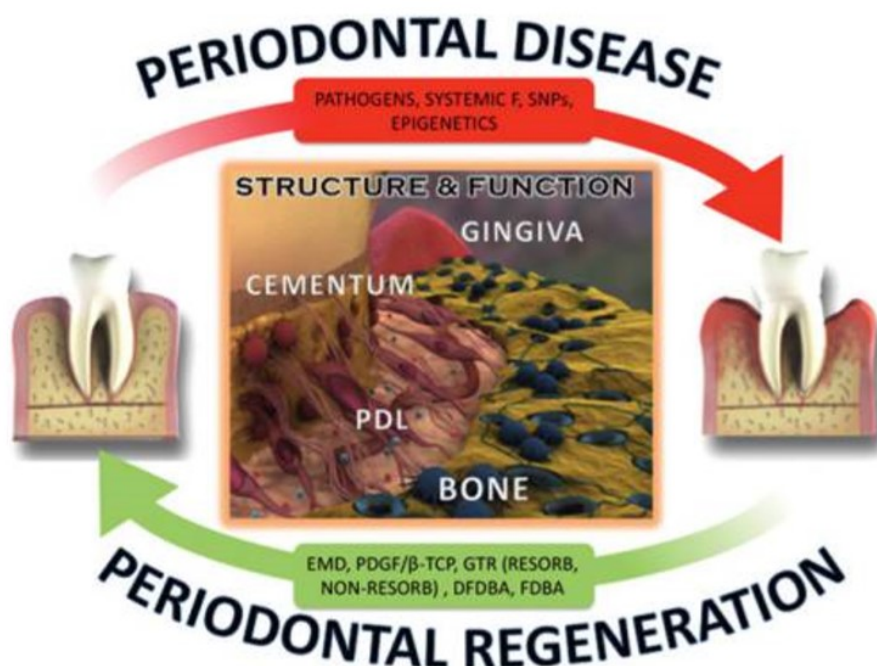


Figura 6. Regeneração do periodonto como um sistema único. No decorrer da vida, a hemóstase periodontal é desafiada por fatores genéticos e ambientais. Durante a doença periodontal, a estrutura e a função dos tecidos de suporte aos dentes ficam progressivamente comprometidas. Mediadores terapêuticos biológicos fornecem uma abordagem promissora para assistir clínicos a conseguirem uma regeneração periodontal mais previsível. Systemic F= fatores sistêmicos; SNP's= polimorfismos de nucleotídeo único; EMD= derivados da matriz de esmalte; PDGF= fator de crescimento derivado de plaquetas;  $\beta$ -TCP= fosfato tricálcio beta; GTR= regeneração tecidual guiada; resorb= reabsorvível; non-resorb= não reabsorvível; DFDBA= aloenxerto desmineralizado; FDBA= autoenxerto. (Adaptado de Cochran et al., 2015)

Alguns autores definiram que o objetivo principal do tratamento seria a capacidade de controlar a progressão de doença ou atingir um rácio de progressão compatível com uma dentição funcional para o resto da vida do indivíduo. Outros autores definiram que os objetivos principais seriam melhorar a saúde periodontal, satisfazendo a estética do paciente e necessidades as funcionais. Atualmente é aceite que os sinais de um

periodonto saudável sejam ausência de sinais inflamatórios de doença como vermelhidão, supuração, hemorragia à sondagem, manutenção de um nível de inserção funcional, mínima ou nenhuma recessão na ausência de perda óssea interproximal e, quando presentes, implantes dentários funcionais. (Worthington et al., 2013)

As diretrizes da *American Academy of Periodontology* sugerem que a saúde periodontal deve ser alcançada da maneira menos invasiva e com melhor custo-benefício possível. Nesse sentido, o médico dentista tem várias responsabilidades conflitantes: primeiro, prestar o melhor atendimento aos seus pacientes; segundo, manter uma prática ocupacional proporcional ao seu nível de treinamento; e, terceiro, honrar os pacientes, não comprometendo o tratamento, providenciando cuidados de saúde adicionais. Estas diretrizes sugerem ainda que pacientes com níveis moderados ou graves de doença periodontal, ou pacientes com casos mais complexos, serão melhor geridos por especialistas em periodontologia. (Deas et al., 2016)

O conceito de periodontologia baseada em evidência tem como objetivo aplicar a informação científica disponível e fatores individuais à tomada de decisão clínica. No entanto, a análise baseada em evidência acerca de intervenção periodontal é limitada por haver relativamente poucos estudos de alta qualidade e por estes raramente abordarem a principal preocupação do paciente de custo-efetividade. (Slots, 2013)

A falta de conhecimento baseado em evidência pode levar a um diagnóstico insuficiente ou um excesso de diagnóstico da doença periodontal e, posteriormente, a terapias questionáveis ou inapropriadas, como a falha na identificação da gravidade da doença periodontal, o tratamento de casos simples de Periodontite com cirurgia agressiva, o uso excessivo de implantes para dentes recuperáveis e não administrar ou instruir pacientes com terapia antimicrobiana efetiva. (Slots, 2013)

Sabe-se que doenças causadas por biofilmes microbianos, como a Periodontite crônica, são extremamente difíceis de tratar. Os biofilmes dentários são alvos terapêuticos difíceis e não são facilmente eliminados. Num ambiente que não seja estéril como a boca, é virtualmente impossível prevenir completamente a sua formação. (Kalsi et al., 2011)

#### 2.4.1. Resposta da Periodontite Crónica aos alisamentos radiculares

O papel da placa bacteriana na iniciação e na progressão da doença periodontal está bem estabelecido. Desta forma, as modalidades de tratamento direcionadas ao controlo do biofilme são essenciais para o tratamento da Periodontite. O papel do paciente no controlo da placa supragengival, por meio de uma higiene oral meticulosa, é essencial para o sucesso de qualquer terapia periodontal. O profissional deve ter em mente que a não conformidade nos esforços de higiene oral resultará em resultados imprevisíveis para o tratamento cirúrgico e não cirúrgico da Periodontite. (Slots, 2012; Worthington et al., 2013; Deas et al., 2016)

O objetivo do tratamento periodontal é restaurar a relação homeostática entre o tecido periodontal e a sua comunidade de placa dentária polimicrobiana e prevenir a colonização de agentes patogénicos, bem como reduzir ou eliminar infeções patogénicas estabelecidas. O tratamento de pacientes com Periodontite é comumente não cirúrgico, envolvendo a remoção física do biofilme da placa dentária patogénica por meio de alisamentos radiculares. Os alisamentos radiculares têm como objetivo providenciar uma superfície radicular mais regular para que possa haver reinserção, suplementada por instruções rígidas de higiene oral, de forma a prevenir a contaminação dos locais tratados, permitindo que haja cicatrização e reinserção. (Darveau, 2010; Deas et al., 2016)

A relação homeostática é restaurada através da recolonização microbiana com comensais orais e através do processo de cicatrização do tecido, conforme determinado pelos níveis de inserção clínica, hemorragia à sondagem e profundidade das bolsas. (Darveau, 2010)

Esta instrumentação geralmente é realizada com instrumentos de mão (destartarizadores e curetas) e em diferentes sessões (por quadrantes ou sextantes). O protocolo convencional é denominado alisamento radicular e provou ser o *gold standard* da terapia periodontal para a maioria dos pacientes com Periodontite crónica. A sua eficácia está bem documentada em revisões sistemáticas pela demonstração de melhorias ao nível de inserção periodontal, reduções nas profundidades de sondagem e índice gengival. (Sanz et al., 2012)

Os alisamentos radiculares permitem a remoção de depósitos supra e subgengivais. Embora o alisamento implique a remoção de placa, tártaro e manchas numa coroa ou superfície radicular, o alisamento radicular é a remoção do cimento ou da dentina

superficial áspera, impregnada com tártaro ou contaminada com toxinas ou microrganismos. (Deas et al., 2016)

O papel do cálculo como um "extensor" de placa já foi bem documentado. Brayer et al. verificaram que em 86% das superfícies radiculares não tratadas, pelo menos 10% da área da superfície radicular estava coberta de tártaro, e a extensão apical do tártaro podia ser encontrada em metade da profundidade dos defeitos infraósseos. Powell & Garnick demonstraram que a largura do tártaro variava entre 1 a 6 mm, a profundidade de sondagem de 2 a 7 mm e as zonas livres de placa tinham cerca de 0,5 mm; com base neste estudo, o autor recomendou a instrumentação além da extensão do tártaro durante os alisamentos radiculares. (Deas et al., 2016)

A remoção completa de tártaro, especialmente com alisamento radicular de abordagem fechada, é extremamente difícil de ser executada. Por exemplo, em locais de doença com profundidades superiores a 5 mm, um estudo mostrou que a remoção completa do tártaro foi realizada apenas em 11% dos casos. Outros fatores que afetam o sucesso da remoção do tártaro incluem a distância do depósito da junção amelo-cimentária, a capacidade de detetar tártaro na superfície da raiz, a habilidade do clínico em obter acesso em bolsas profundas e a localização de tártaro numa superfície com ou sem furca. (Deas et al., 2016)

As limitações dos alisamentos radiculares resultam, muitas vezes, numa variação substancial da sua eficácia, não sendo frequentemente eficazes na erradicação de todos os patógenos periodontais, nem na esterilização do ambiente subgingival. Quase imediatamente após os alisamentos radiculares, as bactérias deixadas para trás começam a recolonizar o ambiente subgingival para formar um novo biofilme. (Kalsi et al., 2011; Gontiya & Galgati, 2012)

Além do tártaro, a endotoxina ligada ao cimento tem o potencial de afetar a fixação e a proliferação de fibroblastos gengivais. Embora tenha sido relatado que a endotoxina é pouco aderente à superfície radicular, a probabilidade de remoção completa de todas as endotoxinas por alisamento radicular é questionável. No total, os estudos citados sugerem que, embora considerada uma modalidade de tratamento não invasivo, o alisamento radicular é tecnicamente um procedimento difícil. (Deas et al., 2016)

Felizmente, tanto para o clínico, como para o paciente, é possível uma resposta positiva ao alisamento radicular, apesar das dificuldades encontradas na execução da técnica. A capacidade que o alisamento radicular tem para reduzir a inflamação, como demonstrado pela redução da hemorragia nos valores de índice gengival e de sondagem,

já foi bem estabelecida. Embora haja evidências de que a terapia não cirúrgica reduz a perda dentária em até 58% ao longo do tempo, a maioria dos estudos refere os indicadores para avaliar a resposta à terapia como a profundidade de sondagem, hemorragia à sondagem e aumento de inserção periodontal. (Deas et al., 2016)

A literatura sugere ainda que a resposta ao tratamento é influenciada pela gravidade da doença a ser tratada. Embora talvez melhor classificadas de acordo com a quantidade de perda de inserção, a maioria dos estudos de terapia não cirúrgica caracteriza a gravidade da doença com base na profundidade de sondagem inicial. Uma meta-análise abrangente de estudos de tratamento não cirúrgico relatou que para pacientes com Periodontite crónica, após alisamento radicular em bolsas com profundidades de sondagem de 4 a 6 mm, os médicos devem esperar uma redução média na profundidade de sondagem de cerca de 1 mm e um ganho médio de inserção clínica de aproximadamente 0,5 mm. Em bolsas profundas (profundidade de sondagem  $\geq 7$  mm), a redução da profundidade de sondagem deve ser, em média, de aproximadamente 2 mm e o ganho de inserção periodontal deve ser cerca de 1 mm. (Worthington et al., 2013; Deas et al., 2016)

Em locais com doença moderada, parece haver diferenças na resposta ao alisamento radicular com base no tipo de dente. Segundo Pihlstrom et al., locais com profundidade de sondagem de 4 a 6 mm associados a dentes não-molares demonstraram maior redução da profundidade de sondagem após alisamento radicular do que os sítios associados a dentes molares. Em bolsas profundas, essa diferença não foi observada. Além disso, melhorias clínicas após o alisamento radicular podem estar relacionadas ao estado de furca dos dentes molares. (Deas et al., 2016)

Em locais de bolsas superficiais (1–3 mm), o alisamento da raiz leva a reduções na profundidade de sondagem inferiores a 0,5 mm, bem como a pequenas quantidades de perda de inserção. A perda da fixação da sonda em locais pouco profundos pode, em parte, ser atribuída, tanto à espessura gengival, como à quantidade de inflamação indicada pela hemorragia à sondagem. De acordo com Claffey e Shanley, bolsas superficiais com biótipo gengival fino que não demonstraram hemorragia à sondagem foram as mais propensas a perder a inserção após alisamento radicular, o que deve servir de aviso para os clínicos limitarem o alisamento radicular a locais com sinal de doença. (Deas et al., 2016)

#### **2.4.2. Uso coadjuvante de antibióticos, antimicrobianos e agentes anti-inflamatórios no tratamento da Periodontite**

Os alisamentos radiculares estão bem documentados como sendo métodos eficazes no tratamento de doenças periodontais. No entanto, a principal questão enfrentada pelos dentistas em geral é se os alisamentos radiculares acompanhados pelo uso de agentes antimicrobianos melhora os resultados do paciente ao longo do tempo, em comparação com alisamentos radiculares apenas. (Rajan et al., 2014)

Terapias coadjuvantes como a administração local de antibióticos ou agentes anti-inflamatórios, juntamente com a remoção da placa, têm mostrado melhorias estatisticamente significativas em vários parâmetros clínicos da Periodontite. No entanto, o benefício clínico de terapias coadjuvantes antibióticas e anti-inflamatórias tem sido marginal. (Darveau, 2010)

O efeito adicional da terapia antibiótica na Periodontite crônica tem sido modesto, mas estatisticamente significativo, com uma redução adicional de 0,2-0,6 mm na profundidade de sondagem e ganho de inserção periodontal de 0,1-0,2 mm em relação ao alisamento radicular apenas. (Deas et al., 2016)

Heitz-May fioud & Lang discutem o uso de antibióticos sistêmicos no tratamento periodontal. A terapia antibiótica sistêmica da Periodontite visa reduzir ou erradicar bactérias periodontopatogênicas específicas que não são alcançadas tão facilmente, como patógenos no tecido gengival, defeitos de furca, bases das bolsas periodontais e locais de reservatório na língua, amígdalas e mucosa oral. Os antibióticos sistêmicos oferecem o maior benefício para pacientes com Periodontite agressiva, Periodontite crônica severa ou infecções periodontais agudas com manifestações sistêmicas (febre, linfadenopatia e fadiga). Os antibióticos utilizados em medicina dentária são geralmente selecionados empiricamente, com base na melhor estimativa do(s) patógeno(s) mais provável(s) e o seu padrão usual de suscetibilidade a antibióticos, mas testes microbiológicos de suscetibilidade a antimicrobianos proporcionam uma terapia mais direcionada e eficiente. No entanto, efeitos adversos como toxicidade, resistência bacteriana adquirida, interações medicamentosas e queixas por parte dos pacientes limitam o uso de antibióticos sistêmicos. (Kalsi et al., 2011; Slots, 2013; Rajan et al., 2014)

De forma a compensar estas limitações técnicas e para prevenir a re-colonização microbiana precoce, o uso adjunto de antimicrobianos ou agentes anti-inflamatórios

pode ser indicado para garantir melhorias clínicas. O desenvolvimento recente de sistemas de entrega sofisticados (conceito de *Release-Local Drug Delivery (LDD)*) subgingivais fornece a possibilidade de manter eficazmente os níveis de agentes antimicrobianos em bolsas infraósseas por longos períodos de tempo. (Gontiya & Galgati, 2012; Bains et al., 2013)

Este método de administração medicamentosa impede a maior parte dos problemas associados a terapia sistémica, limitando o fármaco ao seu local alvo e atingindo uma concentração muito maior. Este conceito forma a base dos dispositivos LDD no tratamento da Periodontite. (Kalsi et al., 2011)

Os agentes antibacterianos têm-se tornado uma parte integral da terapêutica. O raciocínio científico para a adição de agentes anti-infecciosos aplicados localmente, como complemento aos alisamentos radiculares, é de que certos agentes antimicrobianos de amplo espectro podem, teoricamente, reduzir o número de bactérias deixadas subgingivalmente após os alisamentos radiculares. (Kalsi et al., 2011)

Para além disso, muitos estudos têm sido feitos na procura de um agente que promova a cicatrização de feridas orais e reduza as complicações pós-operatórias. Com as dificuldades no controlo pós-operatório da placa após procedimentos cirúrgicos orais, os agentes antimicrobianos tópicos são recomendados para melhorar a cicatrização da ferida, reduzindo a acumulação de placa, para além de reduzirem a dor e o inchaço pós-operatório. (Hammad et al., 2011)

Além dos antimicrobianos, o uso de alguns biomateriais foi introduzido como uma abordagem alternativa ou complementar ao tratamento periodontal. O Ácido Hialurónico é um candidato para restauração da integridade periodontal devido às suas interações complexas com a matriz extracelular e os seus componentes. A molécula atua como um anti-inflamatório e tem mostrado ter efeitos positivos na redução de placa. (Eick et al., 2013; Ranjan et al., 2014)

O tratamento antimicrobiano da Periodontite, como complemento ou uma alternativa à intervenção cirúrgica, pode ser realizado por pessoal auxiliar, de custo mais baixo, e é a opção de tratamento preferencial por muitos pacientes, mas regularmente não consegue eliminar os depósitos subgingivais em bolsas periodontais profundas. (Slots, 2013)

### **2.4.3. Alisamento radicular vs cirurgia conservadora no tratamento da Periodontite**

Tanto os alisamentos radiculares, como a cirurgia periodontal conservadora, são tratamentos eficazes para muitos casos de Periodontite crónica. No entanto, apesar dos recentes avanços tecnológicos, o sucesso do alisamento radicular e da cirurgia periodontal continua a depender do controlo da placa, da qualidade da instrumentação e de um regime de manutenção rigoroso. A técnica usada para obter acesso às raízes, seja não cirúrgica ou cirúrgica, pode ser menos importante do que a eficácia do alisamento radicular para o sucesso a longo prazo, e a maioria dos estudos sugere que a falha na limpeza completa das raízes resultará na falha do tratamento. (Deas et al., 2016)

Como discutido anteriormente, a raspagem e o alisamento radicular realizados de maneira adequada são procedimentos eficazes, porém desafiadores, exigindo uma abordagem meticulosa e exigente. Para começar, o alisamento radicular é desconfortável para a maioria dos pacientes; portanto, a anestesia local geralmente é necessária para a limpeza radicular completa. O tempo também é um problema, pois, em muitos dos estudos clássicos que provaram a eficácia do alisamento radicular, os tempos de tratamento foram distribuídos em média por cerca de 10 min/dente. Esses estudos também foram realizados por técnicos altamente treinados, usando curetas afiadas e instrumentos ultrassónicos funcionando adequadamente. (Deas et al., 2016)

Uma meta-análise de Heitz-Mayfield et al., de seis ensaios clínicos randomizados, pode ser utilizada como um resumo das descobertas sobre a eficácia do alisamento radicular versus acesso cirúrgico conservador. Ambas as terapias parecem ser eficazes em termos de ganho de inserção periodontal e redução da inflamação gengival em bolsas superficiais (1 a 3 mm) e moderadas (4 a 6 mm). Em geral, estudos mostraram que a cirurgia conservadora é mais eficaz do que o alisamento radicular para remoção de placa e cálculo em bolsas  $\geq 6$  mm e que a experiência do operador desempenha um papel fundamental no sucesso da terapia. (Deas et al., 2016)

Heitz-Mayfield e Lang concluem que a terapia não cirúrgica é preferida para bolsas com profundidades entre 2,9 e 5,4 mm, enquanto que a cirurgia periodontal é indicada predominantemente para bolsas de profundidade de 5,4 mm ou mais. No entanto, não é óbvio se o ganho adicional de inserção periodontal possa justificar os elevados custos da cirurgia. A cirurgia em bolsas periodontais de  $\leq 4.2$ mm e os

alisamentos radiculares em bolsas de  $\leq 2,9$  mm podem levar à perda permanente de inserção como resultado de trauma mecânico. (Slots, 2013)

Em áreas com lesão de furca, o acesso cirúrgico tem-se mostrado melhor, sendo o alisamento radicular muitas vezes incapaz de deter a progressão da Periodontite. Quando o alisamento radicular é comparado com a cirurgia conservadora em relação ao objetivo final da retenção dos dentes, as evidências mostram que ambos os tratamentos podem ser eficazes para a maioria dos pacientes com um regime de manutenção adequado. (Deas et al., 2016)

Um dilema potencial para o dentista que procura tratar a Periodontite com abordagens cirúrgicas conservadoras é descobrir, durante o procedimento, se é necessária uma abordagem de tratamento mais complexa. Ao contrário do tratamento periodontal não cirúrgico, a cirurgia periodontal fornece acesso para o alisamento da raiz e permite procedimentos regenerativos e ajuste da posição da gengiva. (De Brito Bezerra et al., 2012; Deas et al., 2016)

Em locais com contornos ósseos proeminentes e crateras, a abordagem cirúrgica pode ser uma opção. Locais com defeitos infraósseos ou lesões de furca geralmente respondem melhor ao enxerto ósseo ou à regeneração tecidual guiada do que ao alisamento radicular. Certos materiais biológicos, como os derivados da matriz de esmalte e o fator de crescimento derivado de plaquetas, podem aumentar bastante a resposta clínica em certas situações. (Deas et al., 2016)

Os enxertos ósseos são uma opção comum no tratamento de defeitos ósseos e na reconstrução do osso alveolar. A aplicação de enxertos ósseos é baseada na presunção de que estes materiais facilitam a regeneração do osso alveolar e do cimento, criando o espaço necessário para o processo de regeneração. Estes materiais são divididos de acordo com as suas características: materiais que formam osso novo a partir de células osteoformadoras do material de enxerto (osteogénicos), materiais de enxerto que contêm substâncias que induzem a formação de osso a partir do tecido mole circundante (osteoindutores) ou materiais que não contribuem para formação de novo osso, mas servem de suporte para formação de osso originado no osso adjacente (osteocondutores). Os enxertos ósseos podem ainda ser divididos em autógenos (do mesmo indivíduo), alógenos (de indivíduos diferentes, mas da mesma espécie) e xenógenos (de diferentes espécies). Todos os materiais sintéticos e não orgânicos são chamados de aloplásticos. (Haegi et al., 2014)

Todos os materiais de enxerto, autógenos, alógenos, xenógenos ou sintéticos, apresentam algumas desvantagens, mesmo que tenham uma característica distintiva: disponibilidade. Os enxertos ósseos têm sido utilizados em regeneração periodontal e, entre os diferentes materiais de enxerto disponíveis, o osso autógeno continua a ser o *gold standard* para a reconstrução de defeitos ósseos, uma vez que não produz reações adversas e possui padrões ótimos de remodelação. Para além disto, autoenxertos são reabsorvíveis e não alergénicos. Uma rápida vascularização ocorre em redor das partículas do enxerto ósseo autógeno e o enxerto pode libertar fatores de crescimento e diferenciação. O osso pode ser utilizado em blocos, em partículas, sozinho ou sob um espaço protegido por uma membrana no procedimento de regeneração óssea guiada ou misturado com outros materiais de enxerto. (Baldini et al., 2010; De Brito Bezerra et al., 2012)

O princípio biológico da regeneração tecidual guiada (GTR), por outro lado, é baseado em observações que indicam que a regeneração periodontal ocorre quando as células do tecido epitelial e conjuntivo são seletivamente excluídas de colonizar as superfícies radiculares e defeitos periodontais. Através da aplicação de uma barreira mecânica, as células do ligamento periodontal e do osso alveolar vão seletivamente ocupar o espaço artificialmente criado. Os primeiros estudos que avaliaram o potencial biológico de GTR demonstraram regeneração de tecido conjuntivo e osso alveolar após a aplicação de uma membrana não-reabsorvível [politetrafluoretileno expandido (e-PTFE)]. Devido à frequente exposição de membranas não reabsorvíveis associadas a uma segunda intervenção cirúrgica para a sua remoção, membranas reabsorvíveis foram desenvolvidas e amplamente utilizadas. A maioria das membranas reabsorvíveis é de origem animal (à base de colagénio) e mantém a sua função por cerca de 6 semanas. (Haegi et al., 2014)

Idealmente, o tratamento menos invasivo e mais custo-efetivo deve ser usado para restaurar a saúde periodontal e esse tratamento deve sempre ser baseado nas necessidades individuais do paciente. Perante um estado de doença incerto, os dentistas frequentemente assumem o pior cenário de Periodontite e empregam intervenção cirúrgica. De forma a evitar o sobretratamento, pode ser prudente reservar a intervenção cirúrgica para pacientes que apresentam alta incidência de risco de doença progressiva e optar por intervenções não cirúrgicas nos outros pacientes. (Slots, 2013; Deas et al., 2016)

O alisamento radicular pode ser suficiente como terapia definitiva, estabilizando o processo da doença e restabelecendo a saúde, o conforto e a função. Quando o alisamento radicular não atinge os objetivos do tratamento, a cirurgia periodontal deve ser considerada como um possível próximo passo. (Deas et al., 2016)

### 3. O papel do Ácido Hialurónico no tratamento da Periodontite

A terapia periodontal pode beneficiar da aplicação subgingival complementar de agentes tópicos, com o intuito de promoverem a cicatrização. (Slots, 2013)

O AH é um componente essencial da matriz do ligamento periodontal e desempenha vários papéis importantes nas adesão, migração e diferenciação celular mediada pelas várias proteínas de ligação do AH e recetores de superfície celular como o CD44. (Dahiya & Kamal, 2013)

A síntese do Hialuronano pode contribuir para um foco local de tecido de hidratação, que é importante durante a proliferação e migração celular. Este foco local de tecido de hidratação enfraquece a aderência de células para a matriz extracelular, permitindo um desapego temporário para facilitar a migração e a divisão celulares. Durante a inflamação, o Hialuronano tem um efeito moderador através da eliminação de radicais livres, bem como da exclusão de enzimas degradadoras de tecido, como as metaloproteinases. O papel fisiológico do recetor CD44 é preservar a estrutura orgânica e tecidular através da adesão célula-célula ou célula-matriz. As isoformas CD44 estão implicadas na ligação inicial de leucócitos às células endoteliais, ativadas por processos inflamatórios. O AH liga-se ao recetor CD44 e medeia a adesão inicial de células inflamatórias aos vasos, permitindo extravasamento em vez de inflamação. Estas propriedades, bem como a libertação de citoquinas, quando o Hialuronano se liga ao seu recetor específico CD44, explicam o papel chave do Hialuronano no processo de cicatrização. (Takeda et al., 2011; Gontiya & Galgati, 2012; Sánchez et al., 2017)

O AH modula a proliferação de queratinócitos, que é essencial para a função epidérmica normal, bem como para a re-epitelização durante reparos tecidulares. Na cicatrização, o AH é expresso nas bordas da matriz do tecido conjuntivo, induzindo a expressão de CD44 nos queratinócitos migratórios. Kaya et al. demonstraram que a inibição da expressão de CD44 resultou numa associação de AH defeituosa na derme superficial, seguida de alterações morfológicas específicas e proliferação anormal de queratinócitos. Além disso, observou-se uma redução da elasticidade da pele, respostas inflamatórias e reparo tecidular anormal. A interação entre o Ácido Hialurónico e o recetor CD44 afeta a proliferação, a sobrevivência, a mobilidade, a invasividade e a quimioresistência das células. (Salwowska et al., 2016; Beniamino et al., 2016)

Com base em evidência científica, agora sabe-se que, juntamente com a terapia mecânica, o uso de agentes quimioterápicos proporciona uma melhor estratégia de

tratamento. Os agentes quimioterápicos mais comuns são antimicrobianos e anti-inflamatórios, sendo administrados de forma sistêmica ou tópica. Os agentes antimicrobianos tópicos para o tratamento de doenças periodontais incluem chlorhexidina, tetraciclinas e metronidazol. O Ácido Hialurónico é uma adição recente aos agentes quimioterapêuticos, tendo mostrado uma série de propriedades terapêuticas clínicas. (Dahiya & Kamal, 2013)

É plausível que a administração de Hialuronano em bolsas periodontais possa conseguir benefícios e ajudar no tratamento de doenças periodontais. (Takeda et al., 2011; Gontiya & Galgati, 2012)

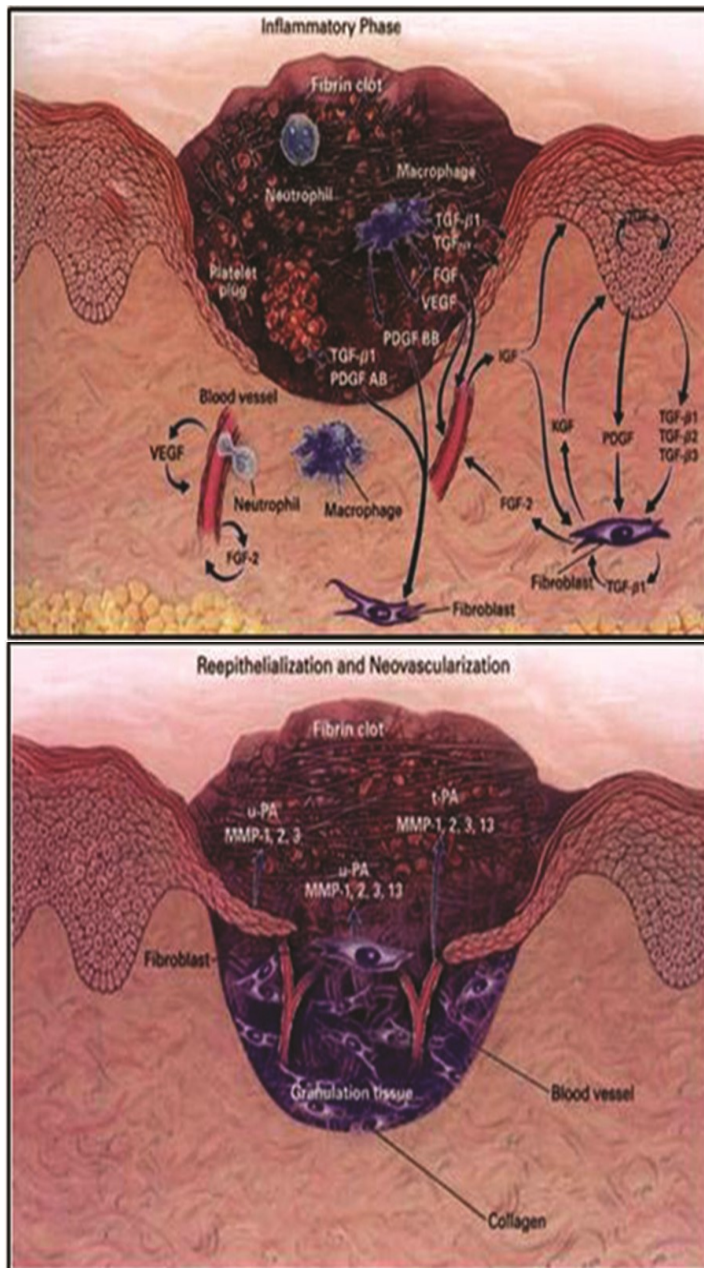
### 3.1. Ácido Hialurônico e cicatrização periodontal

O objetivo final do tratamento periodontal é a regeneração completa dos tecidos periodontais que foram perdidos como consequência da patologia. (Takeda et al., 2011)

A regeneração tecidual bem-sucedida exige, não apenas células reparadoras com o potencial de diferenciar entre os fenótipos necessários para restaurar o local danificado, mas também um microambiente que suporte a proliferação e a diferenciação dessas células. Ao longo da última década, foram feitos progressos consideráveis nos biomateriais e técnicas disponíveis para uma simples e previsível regeneração de tecido periodontal. A previsibilidade da regeneração periodontal parece estar influenciada por múltiplos fatores relacionados com o paciente, a morfologia do defeito e o procedimento cirúrgico. O objetivo final da terapia periodontal é a regeneração de estruturas perdidas pela doença. (Briguglio et al., 2013)

A regeneração periodontal requer a produção de tecido periodontal funcional composto por cimento recém-formado, osso alveolar e o crescimento das fibras do tecido conjuntivo nesses tecidos duros; é o principal fenômeno para o restabelecimento do ligamento periodontal. A formação de cimento é o fenômeno chave para estabelecer um periodonto funcional. (Takeda et al., 2011)

A cura da lesão periodontal inclui uma série de eventos biológicos altamente reprodutíveis e rigidamente controlados (inflamação, formação de tecido de granulação, formação de epitélio e remodelação tecidual) que começam com a atração química de células que se acumulam no tecido lesionado, material estranho e células microbianas (Figura 7). Estes acontecimentos terminam com a formação e a maturação de uma nova matriz extracelular que restaura a resistência do tecido ao *stress* funcional. (Dahiya & Kamal, 2013)



#### FASE INFLAMATÓRIA

- Interação com o coágulo de fibrina
- Migração e aderência de PMN's para o local inflamado
- Fagocitose de patógenos
- Prevenção de proliferação patogênica
- Indução da produção de citocinas pró-inflamatórias

#### FASE DE GRANULAÇÃO E RE-EPITELIZAÇÃO

- Promove a proliferação celular
- Migração de células da matriz
- Promove angiogênese
- Estabilização e organização do tecido de granulação
- Re-estabilização do epitélio

Figura 7. O papel do Ácido Hialurônico na cicatrização de lesões. (Adaptado de Dahiya & Kamal, 2013)

O Hialuronano tem diversos papéis nos estágios inflamatórios iniciais. A inflamação ocorre quando o organismo inteiro reage à penetração de agentes patogênicos e todos os possíveis mecanismos de defesa são ativados. Quando existe inflamação, vários fatores são necessários para as subsequentes fases de cicatrização. Inicialmente, o AH interage com o coágulo de fibrina, modulando a infiltração de matriz extracelular e células inflamatórias para o local inflamado. A notável hidrofília do Ácido Hialurônico torna o coágulo mais receptivo e, portanto, mais suscetível a sofrer colonização por células implicadas na reconstrução de tecidos danificados por

migração, proliferação e diferenciação de queratinócitos mesenquimais e basais. (Bansal et al., 2010; Bains et al., 2013; Briguglio et al., 2013)

O AH tem um efeito imunomodulador nos leucócitos polimorfonucleares e macrófagos, estimulando a sua migração. A molécula promove, então, a infiltração de células da matriz extracelular inflamatória para o local da lesão e estimula a produção de células pró-inflamatórias como citocinas, queratinócitos, ameloblastos, fibroblastos e osteoblastos, promovendo, assim, inflamação. (Bansal et al., 2010; Gontiya & Galgati, 2012; Briguglio et al., 2013; Eick et al., 2013)

Para além de ativar células inflamatórias e influenciar a sua migração para o local afetado, esta molécula também tem a capacidade de induzir fagocitose e morte de microorganismos patogénicos periodontais invasores, contrariando a colonização e proliferação de bactérias patogénicas, exibindo, assim, um efeito bacteriostático. (Bansal et al., 2010; Gontiya & Galgati, 2012; Briguglio et al., 2013; Dahiya & Kamal, 2013)

De uma outra forma, contraditoriamente, o Hialuronano pode regular a resposta inflamatória e atuar como um antioxidante, através da eliminação de células inflamatórias derivadas de espécies de oxigénio reativo (radicais livres), o que pode contribuir para a estabilização do tecido da matriz de granulação. (Bansal et al., 2010; Gontiya & Galgati, 2012; Briguglio et al., 2013)

Assim sendo, o AH tem a capacidade de organizar e estabilizar o tecido de granulação da matriz, impedindo que enzimas derivadas de células inflamatórias (serina proteinases) degradem as proteínas da matriz extracelular. (Gontiya & Galgati, 2012; Dahiya & Kamal, 2013)

Durante a fase de granulação e re-epitelização, o Hialuronano promove a proliferação celular, a migração de células da matriz para a matriz do tecido de granulação e a organização do mesmo. Em tecidos inflamados não mineralizados, os níveis de Hialuronano elevam-se durante a formação de tecido de granulação e restabelecimento do epitélio. (Dahiya & Kamal, 2013)

Nos tecidos periodontais mineralizados como o osso alveolar, a fase de tecido de granulação é gradualmente substituída por calo mineralizado provisório. Estes acontecimentos permitem uma reinserção da camada basal do epitélio gengival para a lâmina basal e uma maturação completa dos tecidos mineralizados, resultando na reformação de uma junção na interface do dente. (Gontiya & Galgati, 2012)

Na etapa posterior à fase de granulação, a síntese de Hialuronano termina e o Hialuronano existente é degradado por enzimas (hialuronidases), resultando na formação de moléculas hialurónicas de baixo peso molecular e numa alteração na composição do tecido de granulação. Os fragmentos de Hialuronano de baixo peso molecular formados após a atividade da hialuronidase promovem a formação de vasos sanguíneos (angiogénese) no local afetado. (De Brito Bezerra et al., 2012; Dahiya & Kamal, 2013)

### 3.2. Aplicabilidade do Ácido Hialurónico como coadjuvante no tratamento Periodontite

O Ácido Hialurónico pode ter várias aplicações na área da periodontologia:

- Aplicação tópica subgingival de gel de Ácido Hialurónico pode ser utilizada, sendo este um agente antimicrobiano coadjuvante de alisamentos radiculares e instrumentação mecânica;
- Regeneração óssea em defeitos ósseos periodontais;
- Regeneração óssea guiada;
- Tratamento não cirúrgico de bolsas peri-implante;
- Manutenção peri-implante de implantes de carga imediata;
- Aumento gengival através de enxertos em cirurgia mucogengival;
- Transportador para moléculas novas em vários procedimentos regenerativos;
- Biomaterial de suporte para pesquisa de engenharia tecidual.

(Bansal et al., 2010)

Um estudo de Bertl et al. (2015) teve como objetivo conduzir uma revisão sistemática do vasto uso de AH como coadjuvante de tratamento periodontal. O principal foco destes autores foi descobrir se em cobaias periodontalmente comprometidas (animais/humanos) o AH (como monoterapia ou coadjuvante de tratamento periodontal) resultava em melhores parâmetros periodontais (clínicos e histológicos), em comparação com o não tratamento ou tratamento periodontal (cirúrgico/ não cirúrgico) apenas.

No que diz respeito ao tratamento não cirúrgico de pacientes com Periodontite, Bertl et al. (2015) fizeram uma revisão de 10 estudos mostrando as características do AH quando utilizado como monoterapia ou coadjuvante do tratamento. (Tabela 3)

A Tabela 4 mostra os resultados clínicos do Hialuronano como monoterapia ou como coadjuvante de tratamento periodontal não cirúrgico em ensaios humanos. (Bertl et al., 2015)

Tabela 3. Características do AH como monoterapia ou como coadjuvante de tratamento periodontal não cirúrgico em ensaios humanos em pacientes com Periodontite. (Adaptado de Bertl et al., 2015)

Estudo (ano)	Tipo de estudo	Número de pacientes, doença (m/f, idade), fumador ou não	Critério de inclusão	Perdas de follow-up (n)	Intervenção não cirúrgica (teste vs controlo)	Nº de locais tratados (L), quadrante (Q), pacientes (P), dentes (D)	Local de aplicação	Frequência de aplicação	Período de aplicação (dias)	Produto testado
Bevilacqua et al., 2012	ERC (placebo), EBD	11, PC (7/4, média 51), NF	Pelo menos 18 dentes; pelo menos dois locais/quadrante com PS e NIC $\geq 5$ mm	0	AR + H <i>versus</i> AR + placebo	22 teste-L & 22 controlo-L/P	Subgingival	5	45	Aminogam®
Chauhan et al., 2013	(E)RC	60, PC (30/30, média 38), NF	Pelo menos 20 dentes; mínimo de 8 dentes com PS de 4-8mm	0	AR + H <i>versus</i> AR + CHX <i>versus</i> AR	Teste I: 20 P Teste II: 20 P Controlo: 20 P	Subgingival	1	1	Teste I: Gengigel® (%NE) Teste II: gel de CHX (1.5%)
Eick et al., 2013	ERC	42, PC (18/24,41-72), NF	Pelo menos 20 dentes; $\geq 5$ locais de PS $\geq 5$ mm	8	AR + H <i>versus</i> AR	Teste: 21 P Controlo: 21 P	Subgingival, Supragingival	Sub: 1 Supra:28	Sub:1 Supra: 14	Sub: Gengigel® (0.8%) Supra: Gengigel® (0.2%)
Engstrom et al., 2011	(E)RC, EBD	9, PC (4/5, média 48), NE	PS $\geq 5$ mm; inflamação e sinais de perda óssea radiograficamente	0	AR + H <i>versus</i> AR	1 teste-D & 1 controlo-D/P	Subgingival	3	14	Healon GV®
Gontiya & Galgali, 2012	(E)RC, EBD	26, PC (11/15, 25-55) NE	PS $\geq 5$ mm; adequada gengiva aderida	0	AR + H <i>versus</i> AR	60 teste-L & 60 controlo L/P	Subgingival	4	21	Gengigel® (0.2%)
Johannsen et al., 2009	(E)RC, EBD	12, PC (7/5, 42-63), 9 NF, 2 fumadores	Pelo menos 20 dentes; pelo menos 5 locais interproximais com PS $> 5$ mm	NE	AR + H <i>versus</i> AR	3 teste-D & 3 controlo-D/P	Subgingival	2	7	Gengigel® (0.8%)
Koshal et al., 2007	(E)RC, EBD	52, PC (NE, 18-65) NE	Valores de EPB de pelo menos 3 em 2 ou mais quadrantes. PS $> 3,5$ mm	0	AR + H <i>versus</i> AR	2 teste-Q & 2 controlo-Q/P	Subgingival	1	1	Gengigel® (0.8%)
Mesa et al., 2002	(E)RC (placebo), EBD	21, Periodontite (8/13, média 45) NE	Diferentes graus de Periodontite (não especificados)	0	H <i>versus</i> placebo	1 teste-Q & 1 controlo-Q/P	Supragingival	60	30	Gengigel® (% NE)
Pilloni et al., 2011	(E)RC, EBD	19, PC (11/9, média 42) NE	PS ligeira ( $< 4$ mm) em pelo menos dois quadrantes diferentes	1	AR + H <i>versus</i> AR	1 teste-Q & 1 controlo-Q/P	Supragingival	21	21	HYAFF®
Xu et al., 2004	ERC, EBD	20, PC (11/9, média 49) NE	Pelo menos 20 dentes, em 2 locais, em cada quadrante com uma PS mínima de 5 mm.	0	AR + H <i>versus</i> AR	2 teste-Q & 2 controlo-Q/P	Subgingival	7	42	Gengigel® (0.2%)

AR, alisamento radicular; CHX, chlorohexidina; EBD, esquema de boca dividida; EPB, examinação periodontal básica; ERC, ensaio randomizado controlado; (E)RC, segundo autores randomizado, mas o processo de randomização não foi definido ou alto risco de enviesamento; H, Hialuronano; NE, não especificado; NF, não fumador; NIC, nível de inserção clínico; PC, Periodontite Crónica; PS, profundidade de sondagem.

Tabela 4. Resultados clínicos do Hialuronano como monoterapia ou como coadjuvante de tratamento periodontal não cirúrgico em ensaios humanos. (Adaptado de Bertl et al., 2015)

Estudo (ano)	Grupo	Inicial		Follow-up (semanas)	Resultados		
		HS (%)	PS (mm)		HS (%)	PS (mm)	Aumento NIC (mm)
Bevilacqua et al., 2012	Teste	72.2*	6.14 (5.7-6.6) †	13	<b>4.5*</b>	<b>4.64 (4.1-5.2) †</b>	1.05*
	Controlo	72.2*	6.36 (5.9-6.9) †		<b>18.2*</b>	<b>5.36 (4.8-5.9) †</b>	0.86*
Chauhan et al., 2013	Teste	NE	5.93 ± 0.6*	13	NE	<b>3.43 ± 0.4*</b>	1.25*
	Controlo		5.9 ± 0.3*			<b>4.3 ± 0.3*</b>	0.55*
Eick et al., 2013	Teste	16.3*	4.2 ± 0.4*	26	-7.46*,\$	<b>-1.07 ± 0.4*,\$</b>	1.24 ± 0.6*
	Controlo	18.8*	4.1 ± 0.4*		-5.18*,\$	<b>-0.82 ± 0.4*,\$</b>	1.34 ± 0.6*
Engstrom et al., 2011	Teste	NE	6.4 ± 1.3*	52	NE	3.9 ± 1.4*	NE
	Controlo		6.8 ± 1.5*			3.7 ± 1.5*	
Gontiya & Galgali, 2012	Teste	1.0*¶	6.57 ± 0.5*	12	<b>0.02*,\$</b>	4.82 ± 0.3*	1.31*
	Controlo	1.0*¶	6.42 ± 0.4*		<b>0.21*,\$</b>	4.94 ± 0.3*	0.92*
Johannsen et al., 2009	Teste	74.5*	4.2 (3.7-4.7) †	12	<b>22.0*</b>	<b>3.2 (2.6-3.7) †</b>	0.0*
	Controlo	58.0*	4.2 (3.6-4.7) †		<b>25.0*</b>	<b>3.4 (2.9-3.8) †</b>	0.1*
Koshal et al., 2007	Teste	2.02*,**	3.83 ± 0.8*	13	<b>0.83*,**</b>	<b>2.59 ± 0.9*</b>	NE
	Controlo	1.99*,**	3.91 ± 0.9*		<b>1.50*,**</b>	<b>3.19 ± 1.1*</b>	
Mesa et al., 2002	Teste	NE	2.71 ± 0.9*	4	NE	2.71 ± 0.8*	NE
	Controlo		2.84 ± 0.9*			3.05 ± 0.9*	
Pilloni et al., 2011	Teste	39.6*	3.3 ± 0.6*	3	<b>2.9*</b>	<b>2.5 ± 0.7*</b>	0.3*
	Controlo	31.1*	3.3 ± 0.6*		<b>7.1*</b>	<b>3.0 ± 0.7*</b>	0.0*
Xu et al., 2004	Teste	78.0*	5.3 ± 1.6*	12	19.0*	4.3 ± 1.5*	1.0*
	Controlo	72.0*	5.2 ± 1.6*		23.0*	4.2 ± 1.6*	0.9*

HS, hemorragia à sondagem; NE, não especificado; NIC, nível de inserção clínico; PS, profundidade de sondagem  
 Valores em negrito indicam diferenças significativas entre os grupos teste e controlo no início e/ou resultados ( $p < 0.05$ )  
 \*Média ( $\pm$  DP), †Média (95% IC), \* Mediana, ¶ Índice gengival, \*\* Índice incerto, § Apenas alteração clínica reportada

Bertl et al. (2015) fizeram ainda uma revisão de dois estudos pré-clínicos *in vivo* em que o AH era utilizado como coadjuvante de tratamento cirúrgico. Nestes estudos foram criados defeitos de furca classe II e classe III (em primatas não humanos e em cães, respetivamente), como se pode comprovar na Tabela 5. Avaliaram ainda outros estudos acerca do efeito do AH como coadjuvante de tratamento cirúrgico em defeitos infraósseos em ensaios humanos (Tabela 6).

A Tabela 7 mostra os resultados clínicos, radiográficos e laboratoriais do AH como coadjuvante de tratamento periodontal cirúrgico em ensaios humanos. (Bertl et al., 2015)

Tabela 5. Características e resultados principais do AH como coadjuvante de tratamento periodontal cirúrgico em ensaios animais. (Adaptado de Bertl et al., 2015)

Estudo (ano)	População	Período de estudo	Tipo de defeito	Grupos	Número de espécies	Resultados principais
Jimbo et al., 2014	Primatas não humanos	12 semanas	Defeitos de furca classe II	Grupo III: HMW-HY Grupo IV: placebo	Grupo III: 8 Grupo IV: 4	Ossos: sem diferenças significativas entre os grupos Cimento: Grupo AH significativamente maior em comparação ao grupo placebo Ligamento periodontal: sem comparações estatísticas entre grupos
Takeda et al., 2011	Cães Beagles	2 e 6 semanas	Defeitos de furca classe III	Grupo I: placebo Grupo II: HMW-HY	Grupo I: 1 Grupo II: 9	Ossos: sem diferenças significativas entre os grupos Cimento: sem diferenças significativas entre os grupos

HMW-HY: Hialuronano de alto peso molecular

Tabela 6. Características do AH como coadjuvante de tratamento periodontal cirúrgico em ensaios humanos. (Adaptado de Bertl et al., 2015)

Estudo (ano)	Desenho do estudo	Nº de pacientes (m/f, idade), fumador ou não	Perdas de seguimento (follow-up) (n)	Caracterização do defeito	Intervenção cirúrgica (teste <i>versus</i> controlo)	Nº de defeitos/Pacientes (P)	Produto testado
Briguglio et al., 2013	ERC	40 (18/22, média 45), NF	0	Infraósseos de 2 paredes; PS, NIC $\geq$ 7mm, infraósseo $\geq$ 5mm	DRA + H <i>versus</i> DRA	Teste: 1 defeito/P (n=20) Controlo: 1 defeito/P (n=20)	Matriz Hyaloss
Engstrom et al., 2001	(E)RC, EBD	6 (4/2), média 49), NE	0	Infraósseo; PS $\geq$ 6mm	RTG + H <i>versus</i> RTG	1 teste-defeito & 1 controlo-defeito/P	Healon GV <sup>®</sup>
Fawzy El-Sayed et al., 2012	ERC (placebo), EBD	14 (NE, NE), NF	0	Infraósseo; PS > 5mm Infraósseo $\geq$ 3mm	RWM + H <i>versus</i> RWM	2 teste-defeito & 2 controlo-defeito/P	Gengigel <sup>®</sup> (0.8%)

DRA, desbridamento de retalho aberto; EBD, esquema de boca dividida; ERC, ensaio randomizado controlado; (E)RC, segundo autores randomizado, mas o processo de randomização não foi definido ou alto risco de enviesamento; H, Hialuronano; NE, não especificado; NF, não fumador; NIC, nível de inserção clínico; PS, profundidade de sondagem; RTG, regeneração tecidual guiada; RWM, retalho de *widman* modificado

Tabela 7. Resultados clínicos, radiográficos e laboratoriais do Hialuronano como coadjuvante de tratamento periodontal cirúrgico em ensaios humanos. (Adaptado de Bertl et al., 2015)

Estudo (ano)	Grupo	Início	Follow-up (meses)	Resultados			Resultados laboratoriais
				PS (mm)	Aumento NIC (mm)	Alterações ósseas radiográficas (mm)	
Briguglio et al., 2013	Teste	8.6 ± 1.1*	24	<b>7.0 ± 1.2*</b>	<b>1.9*</b>	NE	-
	Controlo	8.0 ± 0.7*		<b>7.2 ± 0.5*</b>	<b>1.1*</b>	NE	-
Engstrom et al., 2001	Teste	7.8 ± 1.1*	12	3.8 ± 0.7*	NE	<b>0.5*</b>	Sem diferenças significativas entre os grupos teste e controlo: IgG, PgE <sub>2</sub> (encontrados no FCG) & análise microbiológica ( <i>A.a.</i> , <i>P.g.</i> , <i>Prevotella sp.</i> )
	Controlo	7.3 ± 0.9*		4.3 ± 1.4*	NE	<b>-0.4*</b>	
Fawzy El-Sayed et al., 2012	Teste	5.0 (5.0-6.0) †	6	2.0 (1.0-3.0) †	<b>3.5†</b>	NE	-
	Controlo	5.0 (5.0-6.0) †		3.0 (2.0-4.0) †	<b>2.5†</b>	NE	-

Valores em negrito indicam diferenças significativas entre os grupos teste e controlo no início e/ou resultados ( $p < 0.05$ ). Todas as comparações estatísticas entre grupos referiram diferenças nos valores iniciais e pós-tratamento.

*A.a.* *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*; FCG, fluido crevicular gengival; HS, hemorragia à sondagem; NE, não especificado; NIC, nível de inserção clínico; PgE<sub>2</sub>, prostaglandina E<sub>2</sub>; *P.g.*, *porphyromonas gengivalis*; PS, profundidade de sondagem.

\*Média (± DP), †Mediana (Q25/Q75)

A revisão sistemática de Bertl et al. (2015) abordou a questão de saber se a aplicação de AH como monoterapia ou como coadjuvante de tratamento periodontal cirúrgico/não cirúrgico melhorava os resultados do tratamento. Os resultados mostraram que a maioria dos estudos descreve um efeito positivo, ocasionalmente significativo, a favor da aplicação de AH em algumas variáveis de inflamação periodontal (hemorragia à sondagem e profundidade de sondagem), confirmando o seu efeito anti-inflamatório.

O uso racional do AH no tratamento de doenças periodontais é baseado no pressuposto que o AH pode interferir com o início e o progresso da doença, devido à sua capacidade de cicatrização pelas suas propriedades antimicrobianas e anti-inflamatórias, bem como ao seu potencial pro-angiogénico e osteoindutivo. (De Brito Bezerra et al., 2012; Dahiya & Kamal, 2013)

A influência bacteriostática do AH em patógenos periodontais [*Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A.a*), *Porphyromonas gingivalis* (*P.g.*) e *Prevotella oris*], numa fase planctónica, dependente da concentração e peso molecular, tem sido demonstrada *in vivo*. (Bansal et al., 2010; Bains et al., 2013)

Um estudo de Mesa et al. (2002) reportou a utilidade do uso de AH apenas, sem qualquer tratamento periodontal associado, nas variáveis da periodontite. Os resultados mostraram uma redução do infiltrado inflamatório, acompanhada de uma redução no índice gengival. (Bertl et al., 2015)

Como referido anteriormente, o alisamento radicular é o tratamento de primeira linha em bolsas periodontais e consiste em remover o biofilme patogénico para que possa haver restauração de um ambiente compatível com saúde periodontal. No entanto, a efetividade dos alisamentos radiculares depende do tipo de lesão e acesso que é feito. A aplicação tópica subgengival de gel de AH pode ajudar a ultrapassar as limitações deste método de tratamento. (Bertl et al., 2015)

Vários estudos sobre tratamento periodontal não cirúrgico, após tratamento, mostraram que nos locais de sondagem existiu uma redução significativa de hemorragia, bem como de profundidade de sondagem com o uso de AH, em comparação com os grupos que foram submetidos apenas a alisamento radicular. (Pilloni et al., 2011; Gontiya & Galgati, 2012)

Gontiya & Galgati (2012) confirmam a eficácia do alisamento radicular e concluem que o AH melhora os parâmetros gengivais e ajuda a prevenir a progressão da doença periodontal.

Pilloni et al. (2011) realizaram um estudo piloto e avaliaram a eficácia de uma forma esterificada de gel de AH em alguns parâmetros clínicos periodontais. Os parâmetros clínicos periodontais foram o índice de placa, hemorragia à sondagem, profundidade de sondagem, índice gengival e nível de inserção periodontal. No final do estudo, concluíram que uma forma de gel esterificada de AH mostrou ter efeitos na redução da inflamação gengival, quando usada como complemento do controlo mecânico da placa, e que poderia ser usada com sucesso para melhorar os índices clínicos periodontais.

O efeito positivo em reduzir os níveis de inflamação pela aplicação de AH está de acordo com os resultados de estudos sobre gengivite, avaliando o índice gengival, parâmetros no fluido crevicular gengival e biopsias tecidulares. (Sapna & Vandana, 2011)

A redução da inflamação em vários estudos pode não ser apenas devido ao possível efeito antimicrobiano do AH, como mencionado anteriormente, mas também devido ao facto do AH ter mostrado interferir com a inflamação de várias formas. Por exemplo, na presença de inflamação, o AH de alto peso molecular, dentro dos tecidos, é degradado em AH de baixo peso molecular (por espécies de oxigénio reativo ou por hialuronidases bacterianas). (Mo et al., 2011; Beniamino et al., 2016; Salwowska et al., 2016)

O AH de baixo peso molecular tem a capacidade de ativar várias células (macrófagos, fibroblastos, células epiteliais) para secretar citocinas pro-inflamatórias e degradar enzimas (metaloproteinases da matriz). (De Brito Bezerra et al., 2012; Dahiya & Kamal, 2013)

Apesar da maioria dos estudos reportar um efeito positivo, embora moderado, favor da aplicação de AH em algumas variáveis de inflamação, Xu et al. (2004) não observaram diferenças notáveis antes e após tratamento em termos de perfil bacteriano, nos locais tratados com AH como coadjuvante de alisamento radicular. No entanto, deve ser notório que neste estudo, a falta de diferenças microbiológicas antes e após tratamento também se verificou nos locais em que foi efetuado alisamento radicular apenas. (Bertl et al., 2015)

Um possível efeito direto e/ou indireto do AH na resposta inflamatória parece ser suportado por achados clínicos, uma vez que a maioria dos estudos sobre o uso de AH o utiliza como coadjuvante de alisamentos radiculares. Estes estudos reportam resultados significativamente melhores em termos de redução nas profundidades de

sondagem. É, no entanto, importante salientar que a redução após aplicação de AH pode não ser devida ao aumento de inserção periodontal. (Chauhan et al., 2013)

Os achados do estudo de Bertl et al. (2015) estão em concordância com o que seria expectável após um tratamento não cirúrgico de bolsas periodontais moderadamente profundas. Aparentemente, a redução nas profundidades de sondagem observadas nos grupos AH pode ser devida a uma diminuição da inflamação (retração gengival).

Deve ser notório que o efeito benéfico do AH como coadjuvante de alisamentos radiculares parece não estar ligado com o modo de aplicação (supra e/ou subgengival) e frequência de aplicação. Tanto a aplicação supra, como subgengival apenas, como aplicações únicas ou múltiplas e vice-versa têm mostrado efeitos positivos. (Bertl et al., 2015)

Por outro lado, o ácido hialurónico também pode ser utilizado durante ou após cirurgia periodontal. El-Sayed et al. (2012) avaliaram o efeito da aplicação local de gel de Hialuronano a 0,8% em conjunto com cirurgia periodontal. Após a terapia periodontal inicial não cirúrgica e reavaliação, vários defeitos foram aleatoriamente escolhidos para serem tratados com cirurgia (retalho de *Widman* modificado) em conjunto com gel de Hialuronano a 0,8% (teste) ou gel placebo (controlo). Foram encontradas diferenças estatisticamente significativas no que diz respeito à recessão gengival e ao nível de inserção periodontal ( $P < 0,05$ ) a favor do grupo teste. (Dahiya & Kamal, 2013)

Um estudo teve como objetivo demonstrar o efeito osteoindutivo de uma preparação de AH de baixo peso molecular esterificado no tratamento de defeitos infra-ósseos. Essa preparação foi utilizada como coadjuvante num procedimento de enxerto ósseo; 9 meses após o procedimento, os parâmetros dentários estavam virtualmente estáveis com uma média de ganho de inserção de 2.6 mm. A avaliação radiográfica após 24 meses mostrou enchimento do defeito. De facto, a matriz de *Hyaloss*® apresenta uma dupla função: por um lado, as suas propriedades físico-químicas facilitam a aplicação do enxerto ósseo no local do defeito, e por outro lado, cria um ambiente com um conteúdo rico em AH. Todas as propriedades do AH tornam-no útil na terapia regenerativa periodontal como um coadjuvante de tratamento periodontal. (Gontiya & Galgati, 2012)

No geral, tendo em conta a bibliografia disponível, o potencial do uso do AH em termos de significância clínica, como redução da necessidade de tratamento periodontal

adicional, é difícil de elucidar. Em todos os estudos incluídos na revisão de Bertl et al. (2015), a média nas profundidades de sondagem, quer nos grupos AH, quer nos grupos controlo, foi menor que 5-6mm, que é um valor determinante para a necessidade de tratamento adicional (normalmente cirúrgico).

A maioria dos estudos mostra um positivo, embora moderado, efeito a favor do AH como coadjuvante de tratamento periodontal cirúrgico/não cirúrgico em termos de parâmetros periodontais como hemorragia e profundidades de sondagem. No entanto, não é certo se o AH como coadjuvante de tratamento periodontal cirúrgico no tratamento de defeitos infraósseos pode resultar em aumentos de inserção clínica periodontal, comparando com procedimentos cirúrgicos apenas. (Bertl et al., 2015)

### III. Conclusão

O Ácido Hialurônico tem muitas funções fisiológicas e biológicas importantes e desempenha um papel fundamental no funcionamento de matrizes extracelulares, incluindo as do periodonto. Esta substância mostra ainda ter propriedades anti-inflamatórias, cicatriciais e bacteriostáticas importantes e é um biomaterial fácil de manipular que oferece biocompatibilidade elevada.

A aplicação de Hialuronano tem sido bem-sucedida na manipulação e na aceleração do processo de cicatrização em várias áreas médicas. Vários estudos têm mostrado também que esta substância pode ter efeitos benéficos no tratamento da Gengivite e da Periodontite.

É plausível que a administração de Hialuronano possa representar um complemento interessante à instrumentação mecânica de bolsas periodontais e possa ter efeitos benéficos comparáveis com a cirurgia periodontal, ajudando no tratamento da patologia.

Devido à grande heterogeneidade dos estudos, nenhuma recomendação acerca do modo de aplicação ou sobre a dimensão do efeito do AH como coadjuvante de tratamento periodontal (cirúrgico/não cirúrgico) podem ser feitas.

#### IV. Referências bibliográficas

Agnihotram, G., Singh, TR. M., Pamidimarri, G., Jacob, L., Rani, S. & Sravanthi. (2010). Study of clinical parameters in chronic periodontitis. *International Journal of Applied Biology and Pharmaceutical Technology*, I(3), 0976-4550.

Al-Bayaty, F., Taiyeb-Ali, T., Abdulla, M., & Mahmud, Z. (2011). Antibacterial effects of Oradex Gengigel and Salviathymol-n mouthwash on dental biofilm bacteria. *African Journal of Microbiology Research*, 5(6), 636–642. <https://doi.org/10.5897/AJMR10.517>

Aljehani, Y. A. (2014). Risk factors of periodontal disease: Review of the literature. *International Journal of Dentistry*, 2014. <https://doi.org/10.1155/2014/182513>

[American Academy of Periodontology \(2017\). Periodontal disease fact sheet. \[On lign\]. <https://www.perio.org/newsroom/periodontal-disease-fact-sheet>](https://www.perio.org/newsroom/periodontal-disease-fact-sheet)

Amir, S., Ka, E., & Needleman, I. A. (2009). A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease, 458–467. <https://doi.org/10.1111/j.1600-051X.2009.01408.x>

Bains, V., Gupta, V., Singh, G., Patil, S., & Chauhan, A. (2013). Comparative analysis of hyaluronan gel and xanthan-based chlorhexidine gel, as adjunct to scaling and root planing with scaling and root planing alone in the treatment of chronic periodontitis: A preliminary study. *Contemporary Clinical Dentistry*, 4(1), 54. <https://doi.org/10.4103/0976-237X.111619>

Baldini, A., Zaffe, D., & Nicolini, G. (2010). Bone-defects healing by high-molecular hyaluronic acid: preliminary results. *Annali Di Stomatologia*, 1(1), 2–7.

Balini, A., Cantore, S., Capodiferro, S., & Grassi, F. R. (2009). Esterified Hyaluronic Acid and Autologous Bone in the Surgical Correction of the Infra-Bone Defects. *International Journal of Medical Sciences*, 6(2), 65–71.

Bansal, J., Kedige, S. D., & Anand, S. (2010). Hyaluronic acid : A promising mediator for periodontal regeneration. *Indian Journal of Dental Research*, 21(4), 575. <http://doi.org/10.4103/09709290.74232>

Beniamino, P., Vadalà, M., & Laurino, C. (2016). Cross-linked hyaluronic acid in pressure ulcer prevention. *Journal of Wound Care*, 25(7), 400–405. <https://doi.org/10.12968/jowc.2016.25.7.400>

Bertl, K., Bruckmann, C., Isberg, P. E., Klinge, B., Gotfredsen, K., & Stavropoulos, A. (2015). Hyaluronan in non-surgical and surgical periodontal therapy: A systematic review. *Journal of Clinical Periodontology*, 42(3), 236–246. <https://doi.org/10.1111/jcpe.12371>

Briguglio, F., Briguglio, E., Briguglio, R., Cafiero, C., & Isola, G. (2013). Treatment of infrabony periodontal defects using a resorbable biopolymer of hyaluronic acid: a randomized clinical trial. *Quintessence International* (Berlin, Germany : 1985), 44(3), 231–240. <http://doi.org/10.3290/j.qi.a29054>

- Casale, M., Moffa, A., Vella, P., Sabatino, L., Capuano, F., Salvinelli, B., ... Salvinelli, F. (2016). Hyaluronic acid: Perspectives in dentistry. A systematic review. *International Journal of Immunopathology and Pharmacology*, 29(4), 572–582. <https://doi.org/10.1177/0394632016652906>
- Chauhan, A. S., Bains, V. K., Gupta, V., Singh, G. P. & Patil, S. S. (2013). Comparative analysis of hyaluronan gel and xanthan-based chlorohexidine gel, as adjunct to scaling and root planing with scaling and root planing alone in the treatment of chronic periodontitis: a preliminar study. *Contemporary Clinical Dentistry*. 4, 54-61.
- Cristina, G. M., Stana, P., Maniu, G., Traian, D. H., & Silvia, D. A. (2013). Biotechnological value of the hyaluronic acid in periodontal treatment. *Romanian Biotechnological Letters*, 18(4), 8551–8558.
- Cochran, D. L., Cobb, C. M., Bashutski, J. D., Chun, Y.-H. P., Lin, Z., Mandelaris, G. A., ... Rios, H. F. (2015). Emerging Regenerative Approaches for Periodontal Reconstruction: A Consensus Report From the AAP Regeneration Workshop. *Journal of Periodontology*, 86(2–s), S153–S156. <https://doi.org/10.1902/jop.2015.140381>
- Dahiya, P., & Kamal, R. (2013). Hyaluronic acid: A boon in periodontal therapy. *North American Journal of Medical Sciences*, 5(5), 309–315.
- Darveau, R. P. (2010). Periodontitis: A polymicrobial disruption of host homeostasis. *Nature Reviews Microbiology*, 8(7), 481–490. <https://doi.org/10.1038/nrmicro2337>
- Deas, D. E., Moritz, A. J., Sagun Jr, R. S., Gruwell, S. F., & Powell, C. A. (2016). Scaling and root planing vs . conservative surgery in the treatment of chronic periodontitis. *Periodontology 2000*, 71, 128–139. <https://doi.org/10.1111/prd.12114>
- De Brito Bezerra, B., Mendes Brazão, M. A., De Campos, M. L. G., Casati, M. Z., Sallum, E. A., & Sallum, A. W. (2012). Association of hyaluronic acid with a collagen scaffold may improve bone healing in critical-size bone defects. *Clinical Oral Implants Research*, 23(8), 938–942. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0501.2011.02234.x>
- Dicker, K. T., Gurski, L. A., Pradhan-Bhatt, S., Witt, R. L., Farach-Carson, M. C., & Jia, X. (2014). Hyaluronan: A simple polysaccharide with diverse biological functions. *Acta Biomaterialia*, 10(4), 1558–1570. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2013.12.019>
- Eick, S., Renatus, A., Heinicke, M., Pfister, W., Stratul, S.-I., & Jentsch, H. (2013). Hyaluronic Acid as an Adjunct After Scaling and Root Planing: A Prospective Randomized Clinical Trial. *Journal of Periodontology*, 84(7), 941–949. <https://doi.org/10.1902/jop.2012.120269>
- Fawzy El-Sayed, K. M., Dahaba, M. A., Aboul-Ela, S., & Darhous, M. S. (2012). Local application of hyaluronan gel in conjunction with periodontal surgery: A randomized controlled trial. *Clinical Oral Investigations*, 16(4), 1229–1236. <https://doi.org/10.1007/s00784-011-0630-z>
- Fujioka-Kobayashi, M., Müller, H.-D., Mueller, A., Lussi, A., Sculean, A., Schmidlin, P. R., & Miron, R. J. (2017). In vitro effects of hyaluronic acid on human periodontal ligament cells. *BMC Oral Health*, 17(1), 44. <https://doi.org/10.1186/s12903-017-0341-1>

Gontiya, G., & Galgali, S. (2012). Effect of hyaluronan on periodontitis: A clinical and histological study. *Journal of Indian Society of Periodontology*.

Habiboallah, G., Mahdi, Z., Nasroallah, S., & Massoud, Z. (2014). Enhancement of Periodontal Healing by Application of a Novel Ointment Compared with Hyaluronic Acid, Histological Observation in Animal Model. *Modern Research in Inflammation*, 3, 71–81.

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

Hammad, H. M., Hammad, M. M., Abdelhadi, I. N., & Khalifeh, M. S. (2011). Effects of topically applied agents on intra-oral wound healing in a rat model: A clinical and histomorphometric study. *International Journal of Dental Hygiene*, 9(1), 9–16. <https://doi.org/10.1111/j.1601-5037.2009.00410.x>

Jiang, D., Liang, J., & Noble, P. W. (2011). Hyaluronan as an Immune Regulator in Human Diseases. *Physiological Reviews*, 91(1), 221–264. <http://doi.org/10.1152/physrev.00052.2009>

Johannsen, A., Tellefsen, M., Wikesjö, U., & Johannsen, G. (2009). Local Delivery of Hyaluronan as an Adjunct to Scaling and Root Planing in the Treatment of Chronic Periodontitis. *Journal of Periodontology*, 80(9), 1493–1497. <https://doi.org/10.1902/jop.2009.090128>

Kalsi, R., Vandana, K., & Prakash, S. (2011). Effect of local drug delivery in chronic periodontitis patients: A meta-analysis. *Journal of Indian Society of Periodontology*, 15(4), 304–309.

Kim, J.-J., Song, H. Y., Ben Amara, H., Kyung-Rim, K., & Koo, K.-T. (2016). Hyaluronic Acid Improves Bone Formation in Extraction Sockets With Chronic Pathology: A Pilot Study in Dogs. *Journal of Periodontology*, 87(7), 790–795. <https://doi.org/10.1902/jop.2016.150707>

Lindhe, J., & Lang, N. P. (2015). Clinical Periodontology and Implant Dentistry. *WILEY Blackwell*, Chapter 32(6th edition), 621–635. <https://doi.org/10.1017/CBO9781107415324.004>

Liu, L., Liu, Y., Li, J., Du, G., & Chen, J. (2011). Microbial production of hyaluronic acid: current state, challenges, and perspectives. *Microbial Cell Factories*, 10(1), 99. <https://doi.org/10.1186/1475-2859-10-99>

Mendes, R. M., Silva, G. A., Caliari, M. V., Silva, E. E., Ladeira, L. O. & Ferreira, A. J. (2010). Effects of single wall carbon nanotubes and its functionalization with sodium hyaluronate on bone repair. *Life Sciences*, 87, 215-222.

Mo, W., Yang, C., Liu, Y., He, Y., Wang, Y., & Gao, F. (2011). The influence of hyaluronic acid on vascular endothelial cell proliferation and the relationship with ezrin / merlin expression, 43(12), 930–939. <http://doi.org/10.1093/abbs/gmr094.Advance>

- Neuman, M. G., Nanau, R. M., Oruña-Sanchez, L., & Coto, G. (2015). Hyaluronic acid and wound healing. *Journal of Pharmacy & Pharmaceutical Sciences : A Publication of the Canadian Society for Pharmaceutical Sciences, Société Canadienne Des Sciences Pharmaceutiques*, 18(1), 53–60.
- Nobre, M. de A., Carvalho, R., & Malo, P. (2009). Non surgical treatment of peri-implant pockets: An exploratory study comparing 0.2% chlorhexidine and 0.8% hyaluronic acid. *Baseline*, 43(1), 25–30.
- Nora Silva, et al. (2015). Host response mechanisms in periodontal diseases. *J Appl Oral Sci*, 23(3), pp. 329-55.
- Park, J. K., Yeom, J., Oh, E. J., Reddy, M., Kim, J. Y., Cho, D. W., ... Hahn, S. K. (2009). Guided bone regeneration by poly(lactic-co-glycolic acid) grafted hyaluronic acid bi-layer films for periodontal barrier applications. *Acta Biomaterialia*, 5(9), 3394–3403. <https://doi.org/10.1016/j.actbio.2009.05.019>
- Pilloni, A., Annibali, S., Dominici, F., Di Paolo, C., Papa, M., Cassini, M. A., & Polimeni, A. (2011). Evaluation of the efficacy of an hyaluronic acid-based biogel on periodontal clinical parameters. A randomized-controlled clinical pilot study. *Annali Di Stomatologia*, 2(3–4), 3–9.
- Pleis, M., & France, A. (2013). Principles of periodontology 2013, 61(357), 16–53.
- Rajan, P., Baramappa, R., Rao, N. M., Pavaluri, A. K., Indeevar, P., & Ur Rahaman, S. (2014). Hyaluronic acid as an adjunct to scaling and root planing in chronic periodontitis. A randomized clinical trail. *Journal of Clinical and Diagnostic Research*, 8(12), ZC11-ZC14. <https://doi.org/10.7860/JCDR/2014/8848.5237>
- Rodrigues, S. V., Acharya, A. B., Bhadbhade, S. & Thakur, S. L. (2010). Hyaluronan-containing mouthwash as na adjunctive plaque-control agent. *Oral Health & Preventive Dentistry*, 8, 389-394.
- Salwowska, N. M., Bebenek, K. A., Zadlo, D. A., & Wcislo-Dziadecka, D. L. (2016). Physiochemical properties and application of hyaluronic acid: a systematic review. *Journal of Cosmetic Dermatology*, 15(4), 520–526. <https://doi.org/https://dx.doi.org/10.1111/jocd.12237>
- Sánchez, D. C., Ocampo, B. R. Y. & Chirino, C. A. E. C. (2017). Use of hyaluronic acid as an alternative for reconstruction of interdental papilla. *Revista Odontológica Mexicana*, 21(3), 199–207. <https://doi.org/10.1016/j.rodMex.2017.09.017>
- Sanz, I., Alonso, B., Carasol, M., Herrera, D., & Sanz, M. (2012). Nonsurgical treatment of periodontitis. *Journal of Evidence-Based Dental Practice*, 12(3 SUPPL.), 76–86. [https://doi.org/10.1016/S1532-3382\(12\)70019-2](https://doi.org/10.1016/S1532-3382(12)70019-2)
- Sapna, N., & Vandana, K. L. axma. (2011). Evaluation of hyaluronan gel (Gengigel®) ) as a topical applicant in the treatment of gingivitis. *Journal of Investigative and Clinical Dentistry*, 2(3), 162–170. <https://doi.org/10.1111/j.2041-1626.2011.00064.x>
- Slots, J. (2012). Low-cost periodontal therapy. *Periodontology 2000*, 60(1), 110–137. <https://doi.org/10.1111/j.1600-0757.2011.00429.x>

Slots, J. (2013). Periodontology: past, present, perspectives, 62, 7–19.

Takeda, K., Sakai, N., Shiba, H., Nagahara, T., Fujita, T., Kajiya, M., ... Kurihara, H. (2011). Characteristics of High-Molecular-Weight Hyaluronic Acid as a Brain-Derived Neurotrophic Factor Scaffold in Periodontal Tissue Regeneration. *Tissue Engineering Part A*, 17(7–8), 955–967. <https://doi.org/10.1089/ten.tea.2010.0070>

## IV. Anexos

### Anexo 1: Características do Ácido Hialurônico

