



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA
ÁREA DE CONCENTRAÇÃO: IMPLANTODONTIA

**MIGUEL ALEXANDRE PEREIRA
PINTO NORONHA DE OLIVEIRA**

**PRESERVAÇÃO DE CRISTAS ÓSSEAS PÓS-
EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES SUPERIORES
COM ARCABOUÇOS DE PLGA/ β -TCP, COM E SEM
SINVASTATINA: UM ESTUDO CLÍNICO E
RADIOGRÁFICO EM HUMANOS**

Dissertação de Mestrado

Florianópolis, SC
2016

**MIGUEL ALEXANDRE PEREIRA
PINTO NORONHA DE OLIVEIRA**

**PRESERVAÇÃO DE CRISTAS ÓSSEAS PÓS-
EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES SUPERIORES
COM ARCABOUÇOS DE PLGA/ β -TCP, COM E SEM
SINVASTATINA: UM ESTUDO CLÍNICO E
RADIOGRÁFICO EM HUMANOS**

Dissertação de Mestrado

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia, do Centro de Ciências da Saúde, da Universidade Federal de Santa Catarina, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia - Área de Concentração: Implantodontia.

Professor Orientador: Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini
Professor Coorientador: Prof. Dr. Águedo Aragones

Florianópolis, SC

2016

Ficha de identificação da obra elaborada pelo autor,
através do Programa de Geração Automática da Biblioteca Universitária da UFSC.

Oliveira, Miguel Alexandre Pereira Pinto Noronha de
Preservação de cristas ósseas pós-extração de terceiros
molares superiores com arcabouços de PLGA/?-TCP, com e sem
sinvastatina: um estudo clínico e radiográfico em humanos.
/ Miguel Alexandre Pereira Pinto Noronha de Oliveira ;
orientador, Ricardo de Souza Magini ; coorientador, Águedo
Aragones. - Florianópolis, SC, 2016.
161 p.

Dissertação (mestrado) - Universidade Federal de Santa
Catarina, Centro de Ciências da Saúde. Programa de Pós
Graduação em Odontologia.

Inclui referências

1. Odontologia. 2. Odontologia. 3. Ossos - reparo e
reconstrução. 4. Sinvastatina. 5. Estudo clínico. I. de
Souza Magini, Ricardo. II. Aragones, Águedo. III.
Universidade Federal de Santa Catarina. Programa de Pós
Graduação em Odontologia. IV. Título.

Miguel Alexandre Pereira Pinto Noronha de Oliveira

PRESERVAÇÃO DE CRISTAS ÓSSEAS PÓS-EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES SUPERIORES COM ARCABOUÇOS DE PLGA/ β -TCP, COM E SEM SINVASTATINA: UM ESTUDO CLÍNICO E RADIOGRÁFICO EM HUMANOS

Esta dissertação foi julgada adequada para obtenção do Título de “MESTRE EM ODONTOLOGIA – ÁREA DE CONCENTRAÇÃO EM IMPLANTODONTIA”, e aprovada em sua forma final pelo Programa de Pós-Graduação em Odontologia.

Florianópolis, 17 de fevereiro de 2016.

Prof. Dr. Izabel dos Santos Almeida

Coordenadora do Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina

Banca Examinadora:

Prof. Dr. Ricardo de Souza Magini
Orientador

Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. José Mauro Granjeiro
Universidade Federal Fluminense

Prof. Dr. César Augusto Magalhães Benfatti
Universidade Federal de Santa Catarina

Prof. Dr. Márcio Corrêa
Universidade Federal de Santa Catarina

Dedico esta dissertação,

Ao meu pai, **Osório**, por me apoiar incondicionalmente e ajudar a ultrapassar os períodos de maior dificuldade. E por sempre me proporcionar o necessário para alcançar o sucesso profissional.

À minha mãe, **Isabel**, sempre presente apesar da sua ausência, por me ter dado apoio sempre no que precisasse, por ter dado amor, a melhor educação, e mostrado que “Sonhar não custa”. E por ter demonstrado qual o verdadeiro significado de força e coragem.

À minha irmã, **Lelé**, ausente mas sempre presente, pela Grande lutadora que foi, por ter sido o verdadeiro exemplo de como alcançar a excelência e me ter ajudado mesmo nos momentos mais difíceis.

Aos meus Avós, **Helena e Hilário**, obrigado por todos esses anos de carinho dedicados a mim.

Aos meus padrinhos e tios, **Toninho e Graça**, e ao meu primo, **Antônio**, pela vossa indescritível ajuda, nos bons e maus momentos, e por hoje sermos uma verdadeira família.

Aos meus **tios e primos**, pelo apoio concedido nas piores alturas, e por mostrarem que sempre terei alguém com quem contar.

AGRADECIMENTOS

Ao meu orientador, **Professor Doutor Ricardo de Souza Magini**, obrigado por me ter proporcionado a descoberta e entrada no mundo da pesquisa. Obrigado por todos ensinamentos e por ter conseguido, de forma bem-sucedida, transmitir a importância do “ensino, pesquisa e extensão”.

Ao meu co-orientador, **Professor Doutor Águedo Aragones**, obrigado por me orientar em todos os momentos que precisei, pela paciência e tempo dispendidos no auxílio a esta pesquisa, e pelo sempre disponível e claro esclarecimento de dúvidas. Obrigado por todo o aprendizado e por me ter despertado o interesse na área da engenharia tecidual.

Ao **Doutor Levy Rau**, “meu pai odontológico”, pela imensurável ajuda. Obrigado por todos os ensinamentos transmitidos, oportunidades proporcionadas, e por me ter mostrado que atingir a excelência não é fácil, mas possível. Sem ti este estudo não teria sido possível.

À **Doutora Aline Marodin**, obrigado por sempre se mostrar disponível a ajudar no que fosse preciso. Obrigado pela grande contribuição na realização desta pesquisa.

Ao **Professor Doutor Márcio Corrêa**, obrigado pela contribuição ao trabalho e por toda atenção e conhecimentos transmitidos.

À **Doutora Letícia Ruhland Corrêa**, obrigado pela contribuição na realização desta pesquisa.

À **Professora Doutora Keila Rausch Pereira**, obrigado pela ajuda na realização da análise estatística deste trabalho.

Ao **Professor Doutor César Augusto Magalhães Benfatti**, membro da banca, obrigado pelos conhecimentos transmitidos e oportunidades disponibilizadas durante estes dois anos de Mestrado.

Ao **Professor Doutor Antônio Carlos Cardoso**, obrigado por ter ajudado a melhorar o meu sentido crítico. Obrigado pelos ensinamentos transmitidos e por ter dado a oportunidade de crescer no ensino.

Ao **Professor Doutor Marco Aurélio Bianchini**, obrigado pelo exemplo de dedicação, de persistência, e por todo conhecimento transmitido.

Ao **Professor Doutor Júlio César Matias de Souza**, obrigado pelas oportunidades dadas e por ser um grande exemplo de dedicação profissional.

Ao **Professor Doutor José Mauro Granjeiro**, membro externo

da banca. É uma honra poder contar com a sua participação na minha defesa.

À **Professora Doutora Mabel Mariela Rodríguez Cordeiro**, obrigado por todos os ensinamentos transmitidos durante o Mestrado. Fico contente por ter aceite o meu convite de participar como membro suplente da banca.

À **Giseli Pereira**, da clínica Faccial, obrigado por ter ajudado na organização dos pacientes para esta pesquisa.

Aos meus amigos e irmãos, **Daniel, Artur e Jair**, obrigado pela parceria, pela companhia e por terem tornado mais fácil a minha estadia aqui.

Obrigado à minha amiga e colega do Doutorado **Isis Encarnação**, por toda a ajuda disponibilizada na continuação da sua pesquisa e por partilhar o seu conhecimento e dificuldades que com certeza me ajudaram muito.

Obrigado ao meu amigo e colega do Doutorado **Juan Dumes Montero**, por me ter ajudado com algumas dúvidas relativas a esta pesquisa, pelas sugestões e também companheirismo durante todo o Mestrado.

A todos os **amigos do Mestrado e Doutorado novo e velho**, obrigado por vossa amizade, partilha de experiências e torço pelo vosso sucesso.

Obrigado à **Silvane** por toda a ajuda disponibilizada no CEPID.

Ao Núcleo de Pesquisas em Materiais Cerâmicos e Compósitos (CERMAT), obrigado por ter permitido realizar a confecção dos arcabouços utilizados nesta pesquisa.

Gostaria de deixar uma palavra de apreço a todos os **Residentes da equipe de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial do Hospital Infantil Joana de Gusmão**, assim como aos **Funcionários e Voluntários do mesmo hospital**, pela vossa ajuda na seleção de pacientes para esta pesquisa.

EPÍLOGO

“Death is not the greatest loss in life. The greatest loss is what dies inside us while we live.”

Norman Cousins

"The brighter the bonfire of enlightenment grows, the more surface area of ignorance becomes more illuminated."

Terence McKenna

LISTA DE FIGURAS

Figuras do artigo

Figura 1 - Procedimento cirúrgico. (A) Elevação do retalho. (B) Inserção de alavanca para realização da exodontia. (C) Colocação do enxerto PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina 2,0%. (D) Fechamento primário com sutura.

Figura 2 - Biomateriais de enxertia óssea utilizados. (A) Bio-Oss[®] Collagen. (B) PLGA/HA/ β -TCP. (C) PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina 2,0%.

Figura 3 - Diferentes capacidades de absorção do sangue pelos biomateriais. (A) PLGA/HA/ β -TCP. (B) PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina 2,0%. (C) e (D) Bio-Oss[®] Collagen.

Figura 4 - Enxertos perdidos. (A) PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina 2,0% perdido após 14 dias. (B), (C) e (D) PLGA/HA/ β -TCP perdido após 30 dias. (E) e (F) PLGA/HA/ β -TCP perdido após 66 dias.

Figura 5 - Imagens de Tomografia Computadorizada por Feixe Cônico (CBCT) das quatro modalidades de tratamento aos 3 meses *lado vestibular. (A) Control - corte coronal (B) Control - corte sagital. (C) OBMD-C - corte coronal. (D) OBMD-C - corte sagital. (E) PLGA/HA - corte coronal. (F) PLGA/HA - corte sagital. (G) PLGA/HA/S - corte coronal. (H) PLGA/HA/S - corte sagital.

Figuras da metodologia expandida

Figura 1 - Fabricação dos arcabouços dos grupos PLGA/HA e PLGA/HA/S.

(A) Poli(L)lático-co-carbonato de trimetileno (Resomer[®] LT 706 S, Evonik Ind., Essen - Alemanha); (B) Poli(ácido glicólico) (Resomer[®] LG 824 S, Evonik Ind., Essen - Alemanha); (C) Sinvastatina (Simvastatin, PHR1438-1G, Fluka, Sigma-Aldrich, Brasil); (D) Sacarose (Microbiology – Merck, Darmstadt - Alemanha); (E)

Hidroxiapatita (Genphos Genius, Baumer, Mogi Mirim, Brasil); **(F)** Moldes cilíndricos de 5 mm de diâmetro; **(G)** Arcabouço final, pronto para ser embalado e esterilizado por radiação gama.

Figura 2 - Estrutura química de uma cadeia polimérica de poli(ácido láctico-co-glicólico) e do ácido glicólico e láctico resultantes da sua quebra por hidrólise.

Figura 3 - Estrutura química da sinvastatina.

Figura 4 - Esquema da inibição da enzima HMG-CoA redutase no ciclo do mevalonato.

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes e região a operar de acordo com as modalidades de tratamento.

Tabela 2 - Distribuição das variáveis clínicas de acordo com o lado operado.

Tabela 3 - Associação das variáveis clínicas com as modalidades de tratamento.

LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

BMP2 – Proteína Óssea Morfogenética 2 (do inglês *Bone Morphogenetic Protein 2*)

BMPs – Proteínas Ósseas Morfogenéticas (do inglês *Bone Morphogenetic Proteins*)

β -TCP – Beta fosfato tricálcico

CaP – Fosfato de cálcio

CBCT – Tomografia Computadorizada por Feixe Cônico

CEPSH – Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos

CERMAT – Núcleo de Pesquisas em Materiais Cerâmicos e Compósitos

ChCl₃ – Clorofórmio

(C₂H₄)_n – Álcool polivinílico

FDA – *Food and Drug Administration*

FOV – Campo de visão (do inglês *Field of view*)

HA – Hidroxiapatita

HIF-1 α – Fator de transcrição Induzido por Hipóxia 1-alfa (do inglês *Hypoxia-inducible factor 1-alpha*)

HMG-CoA – 3-hidroxi 3-metilglutaril coenzima A

OBMD-C – Grupo em que se utilizou osso bovino mineral desproteínizado com 10% de colágeno suíno

PGA – poli(ácido glicólico)

PLA – poli(ácido láctico)

PLGA – poli(ácido láctico-co-glicólico)

PLGA/HA – grupo em que se utilizou poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a enxerto ósseo cerâmico bifásico (sintético) composto por hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio na proporção 70% - 30%

PLGA/HA/S – grupo em que se utilizou poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a um enxerto ósseo cerâmico bifásico (sintético) composto por hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio na proporção 70% - 30%, com adição de sinvastatina a 2,0%

rhBMP2 – Proteína Óssea Morfogenética Recombinante Humana 2 (do inglês *recombinant human Bone Morphogenetic Protein 2*)

ROS – Espécies reativas de oxigênio (do inglês *Reactive Oxygen Species*)

RANK – Receptor ativador do fator nuclear kappa B (do inglês *Receptor Activator of Nuclear Factor κ B*)

TNF α – Fator de necrose tumoral alfa (do inglês *Tumor Necrosis Factor alpha*)

UFSC – Universidade Federal de Santa Catarina

LISTA DE SÍMBOLOS

cm – Centímetro(s)
g – Grama(s)
kg – Quilograma(s)
kGy – Kilogray
kV – Quilovolt(s)
l – Litro(s)
mA – Miliampère
mg – Miligrama(s)
mm – Milímetro(s)
m/m – Massa/massa
m/v – Massa/volume
n – Número absoluto
µl – Microlitro(s)
µm – Micrômetro(s)
p – Valor de p
s – Segundo(s)
% – Por cento
– – Menos
+ – Mais
= – Igual
< – Menor
> – Maior

SUMÁRIO

Capítulo I	21
Resumo	23
Abstract	25
Capítulo II	27
Introdução e Revisão da Literatura	29
Capítulo III	39
Artigo em Português	41
Artigo em Inglês	73
Capítulo IV	104
Bibliografia Consultada	106
Capítulo V	122
Apêndices	124
Apêndice A – Metodologia expandida	124
Apêndice B – Figuras da metodologia expandida	130
Apêndice C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido	133
Apêndice D – Parecer do Comitê de Ética	136
Anexos	141
Anexo A – Normas do Periódico Journal of Clinical Periodontology	141
Anexo B – Produção científica durante o Mestrado	158

CAPÍTULO I

NORONHA OLIVEIRA, M.A.P.P. **Preservação de cristas ósseas pós-extração de terceiros molares superiores com arcabouços de PLGA/ β -TCP, com e sem sinvastatina: um estudo clínico e radiográfico em humanos.** 2016. 133p. Dissertação (Mestrado em Odontologia – Área de Concentração: Implantodontia) – Programa de Pós-Graduação em Odontologia - Universidade Federal de Santa Catarina, Florianópolis.

RESUMO

Este estudo avaliou clínica e radiograficamente, em humanos, o reparo obtido em cristas ósseas pós-extração de terceiros molares superiores pela utilização de arcabouços de poli(ácido láctico-co-glicólico) com uma cerâmica bifásica de hidroxiapatita/ β -trifosfato de cálcio (70/30), com e sem sinvastatina. Este foi um estudo clínico controlado, randomizado, de boca dividida. Participaram da pesquisa 13 pacientes requerendo extração bilateral dos terceiros molares superiores. Vinte e seis alvéolos pós-extração foram preenchidos aleatoriamente com diferentes biomateriais, perfazendo 4 grupos: osso bovino mineral desproteínizado com 10% de colágeno (OBMD-C), arcabouço de poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a hidroxiapatita/ β -TCP (PLGA/HA), arcabouço de PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina a 2,0% (PLGA/HA/S) e cicatrização espontânea (controle). A cicatrização foi avaliada aos 7, 30, 90 dias de pós-operatório, por meio de exame clínico intra-oral e fotografias intra-orais, a fim de fazer um levantamento de possíveis complicações (dor, inflamação, infecção, deiscência da ferida e perda de enxerto). Foram também realizadas Tomografias Computadorizadas por Feixe Cônico em 5 pacientes, após 3 meses de pós-operatório, a fim de comparar o comportamento dos diferentes grupos na mineralização óssea. Os achados clínicos foram submetidos à análise estatística, usando o teste Exato de Fisher ($p < 0,05$). Após 3 meses, houve uma perda de 6 dos 9 enxertos no grupo PLGA/HA ($p < 0,05$). No PLGA/HA/S foi de 2 dos 8 ($p > 0,05$), mas não houve no grupo OBMD-C. Os pacientes experienciaram dor em 3 das 8 (37,5%) perdas ($p > 0,05$) e infecção em 1 das 8 (12,5%) ($p > 0,05$), mas estas apenas ocorreram no grupo PLGA/HA. Conclui-se que os arcabouços de PLGA/HA/ β -TCP, com e sem sinvastatina, não obtiveram os resultados que eram expectáveis relativamente ao reparo ósseo. Porém, o enxerto de PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina mostrou ser superior, com menos

complicações clínicas que o enxerto de PLGA/HA/ β -TCP sem sinvastatina.

Palavras-chave: arcabouço, β -TCP, HA, PLGA, preservação, processo alveolar, sinvastatina, terceiro molar.

NORONHA OLIVEIRA, M.A.P.P. **Ridge preservation following maxillary third molar extraction using PLGA// β -TCP scaffolds with and without simvastatin: a clinical and radiographic study in humans.** 2016. 133p. Dissertation (Master's Degree in Dentistry – Concentration Area in Implant Dentistry) – Post-Graduation Program in Dentistry, Federal University of Santa Catarina - Florianópolis.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate clinically and radiographically, in humans, the healing of post-extraction sockets by using scaffolds of Poly(D,L-lactide-co-glycolide) with a hydroxyapatite/ β -tricalcium phosphate (70/30) biphasic ceramic (PLGA/HA), with and without simvastatin. This was a split-mouth randomized controlled clinical trial. This research was conducted in 13 patients requiring bilateral extraction of maxillary third molars. Twenty six post-extraction sockets were randomly assigned by four treatment modalities: deproteinized bovine bone mineral with 10% collagen (DBBM-C), Poly(lactic-co-glycolic acid) with hydroxyapatite/ β -TCP scaffold (PLGA/HA), PLGA/HA/ β -TCP with 2.0% simvastatin scaffold (PLGA/HA/S) and spontaneous healing (control). Healing was evaluated clinically on subsequent follow-ups (7, 30 and 90 days) by means of intra-oral examination and photographs in order to assess possible complications (inflammation, infection, pain, dehiscence and loss of graft). After the 3 month follow-up period, CBCT scans were taken in 5 patients in order to evaluate the biomaterials behavior in bone formation. For statistical purposes a Fisher's exact test was used ($p < 0.05$). After 3 months, 6 of the 9 grafts in the PLGA/HA group were lost ($p < 0.05$). In the PLGA/HA/S group 2 of the 6 grafts were lost ($p > 0.05$) but no loss was observed in the DBBM-C group. Patients experienced pain in 3 of the 8 sites where graft was lost (37.5%) ($p > 0.05$) and infection in 1 of the 8 (12.5%) ($p > 0.05$), with these occurring only in the PLGA/HA group. The results related to bone repair that were obtained with PLGA/HA/ β -TCP scaffolds, with and without simvastatin, were not the expected ones. However, PLGA/HA/ β -TCP with simvastatin showed to be superior, with less clinical complications than the PLGA/HA/ β -TCP without simvastatin.

Key-words: alveolar ridge augmentation, β -TCP, HA, PLGA, preservation, simvastatin, third molar, tissue scaffolds.

CAPÍTULO II

INTRODUÇÃO E REVISÃO DA LITERATURA

O processo alveolar é uma estrutura dependente do dente, que se desenvolve simultaneamente à sua erupção. Após a perda dentária, o anterior processo alveolar, que agora se pode designar de crista óssea pós-extração, sofre uma inevitável atrofia, pela inexistência de suporte nutritivo proveniente do ligamento periodontal, que ocorre tanto em altura como em largura, e que varia de pessoa para pessoa (AMLER et al. 1960; ATWOOD 1962; PIETROKOVSKI & MASSLER 1967; TALLGREN 1972; LEKOVIC et al. 1997; CARDAROPOLI et al. 2003; SCHROPP et al. 2003; ARAÚJO & LINDHE 2005; VAN DER WEIJDEN et al. 2009). Em uma revisão sistemática realizada por Tan e colaboradores em 2012, estes apontam para uma rápida redução das dimensões da crista nos primeiros 3 a 6 meses pós-extração, seguido de uma redução gradual (TAN et al. 2012). Esta remodelação que o tecido ósseo irá sofrer poderá, muitas vezes, dificultar ou, até mesmo, impossibilitar a reabilitação com implantes osseointegráveis. Atualmente, existe uma crescente demanda pela estética na Odontologia, especialmente no que diz respeito a reabilitações na região anterior. Por esse motivo, é importante conseguir uma manutenção de volume ósseo adequado no local a restaurar, de forma a se poder obter, a longo prazo, uma prótese implanto-suportada esteticamente aceitável (BUSER et al. 2004; GRUNDER et al. 2005). Se nada for realizado para compensar a inevitável perda óssea, o indivíduo em questão poderá sofrer prejuízos funcionais e estéticos que, por sua vez, conduzirão à baixa da sua autoestima. Como tal, para reabilitar pacientes edêntulos, possuidores de rebordos ósseos atroficos, há a necessidade de recorrer a procedimentos de reconstrução óssea (CHIAPASCO et al. 2009). O procedimento de preservação da crista pode ser definido como o processo no qual materiais de enxerto ou agentes biológicos são colocados na crista óssea pós-extração, quando da extração dentária, levando a uma maior estabilização do coágulo e compensando, assim, a contração da crista óssea (FROUM et al. 2002; BECKER 2003; VANCE et al. 2004; DARBY et al. 2009; CARDAROPOLI et al. 2012). Este é um procedimento sensível do ponto de vista técnico, que não é 100% eficaz, sendo, de certa forma, imprevisível (KUTKUT et al. 2012). O material que vai servir de preenchimento pode ser dividido de acordo com a sua origem em autogéno, alógeno, xenógeno e sintético ou aloplástico (BECKER et al. 1998; ARTZI et al. 2000; IASELLA et al. 2003;

SÀNDOR et al. 2003; FROUM et al. 2004; GUARNIERI et al. 2004; PINHO et al. 2006; MLADENOVIC et al. 2011).

Esta necessidade que existe em lançar mão de estratégias que compensem a contração da crista óssea já está bem descrita na literatura. Porém, a evidência científica não é explícita no que diz respeito ao tipo de biomaterial ou abordagem cirúrgica a serem usados (VIGNOLETTI et al. 2012).

O osso de origem autógena, coletado do próprio paciente, por via intra ou extra-oral, é considerado globalmente como “padrão-ouro” pelo fato de ser o único existente que desempenha as três funções essenciais para a formação óssea: osteogênese, osteoindução e osteocondução. Por ser o único possuidor de potencial osteogênico, o osso autógeno tem-se mostrado superior na formação de novo osso quando comparado com os enxertos ósseos de origem alógena, xenógena e sintética ou aloplástica (BROGGINI et al. 2014). No entanto, por vezes, surgem dificuldades relacionadas com a quantidade de enxerto autógeno disponível nas áreas doadoras e frequentes morbidades e complicações locais decorrentes da sua coleta (MCALLISTER & HAGHIGHAT 2007). Atualmente, o termo “padrão-ouro” tem sido colocado em questão por alguns autores devido às desvantagens referidas anteriormente e à taxa de reabsorção mais rápida a que este osso está sujeito, comparativamente com outros biomateriais. Quando o objetivo do cirurgião passa por garantir uma maior estabilidade de volume das regiões enxertadas, particularmente em áreas estéticas, a literatura mostra que se deve optar por biomateriais que possuam uma taxa mais lenta de reabsorção, como os materiais xenógenos ou os cerâmicos (JUNG et al. 2013; ARAÚJO et al. 2015).

Um dos materiais xenógenos existentes é o osso bovino mineral desproteínizado. Um desses, o Bio-Oss[®] (Geistlich, Wolhusen, Switzerland), tem sido mundialmente utilizado, e com bons resultados, no tratamento de defeitos de crista (BERGLUNDH & LINDHE 1997; NORTON et al. 2003) e em procedimentos de preservação da crista (ARTZI et al. 2000; CARMAGNOLA et al. 2003; VASILIC et al. 2003; VANCE et al. 2004; NEVINS et al. 2006). Para facilitar seu manuseio durante a aplicação em cristas ósseas pós-extração, o mesmo enxerto de osso bovino mineral desproteínizado surgiu mais tarde numa nova composição, contando com a adição de 10% de colágeno de origem porcina. Este mesmo biomaterial, o Bio-Oss[®] Collagen (Geistlich, Wolhusen, Switzerland) permitiu, em estudos realizados em cães, minimizar a reabsorção da crista, ajudando na manutenção da sua dimensão (ARAÚJO et al. 2008; ARAÚJO & LINDHE 2009). Também

foram obtidos bons resultados em estudos clínicos realizados em humanos (HEBERER et al. 2008, 2011).

Como referido, os materiais de enxerto de origem xenógena são usados atualmente em escala mundial e com uma grande taxa de aceitação. No entanto, apesar dos poucos estudos existentes relatando a presença de príões nesses enxertos e a probabilidade de tal ocorrer ser muito baixa, esta é uma possibilidade que não deve ser descartada. Trata-se de um tema com bastante controvérsia. Numa revisão sistemática realizada em 2013, Kim e colaboradores concluíram que biomateriais de enxerto de origem bovina poderão representar um risco para a transmissão de príões aos pacientes (KIM et al. 2013). Também Sogal e colaboradores concluíram, após efetuarem uma revisão de literatura, que, para que o risco de transmissão da doença Encefalopatia Espongiforme Bovina (BSE) se mantenha pequeno, é necessário implementar programas de gestão do risco eficazes nas operações que envolvam o processamento destes tecidos xenogênicos para uso humano (SOGAL et al. 1999).

A engenharia tecidual tem trabalhado no desenvolvimento de possíveis alternativas. São exemplos dessas os arcabouços, os fatores de crescimento e as células-tronco (HÄMMERLE & KARRING 1998; BUSER et al. 2000; CORDEIRO et al. 2008).

Os arcabouços desempenham um papel de osteocondução na neoformação óssea, ou seja, permitem o recrutamento e migração de células osteogênicas (DAVIES et al. 2010). Para isso, devem, idealmente, apresentar: resistência mecânica, a fim de impedir compressão e movimentação sobre a área; porosidade, capaz de permitir a migração, adesão e proliferação celular; biocompatibilidade, para serem reabsorvidos pelo organismo sem provocar qualquer tipo de alteração funcional ou estrutural; e capacidade de carrear substâncias osteoindutoras (EBERLI et al. 2009; SAITO et al. 2010). Entre os diversos tipos de arcabouços disponíveis na literatura, podem-se destacar a hidroxiapatita (HA), o fosfato tricálcico (TCP), o colágeno do tipo I, o poli(ácido láctico) (PLA), o poli(ácido glicólico) (PGA), entre outros.

O poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) tem sido muito estudado devido às suas excelentes propriedades físico-químicas e biológicas, biocompatibilidade, controle da sua macro e microestrutura, e incorporação e liberação de proteínas com substantividade (GÓMEZ et al. 2006; LANSMAN et al. 2006). Essas características fazem dele um bom osteocondutor, razão pela qual tem sido usado em diversas áreas médicas (HUTMACHER 2000). A degradação do PLGA ocorre por

meio de hidrólise das suas ligações éster na presença de água. Foi demonstrado que o tempo requerido para a sua degradação está relacionado com a proporção de monómeros utilizada na produção: quanto maior a concentração de unidades de glicólico, menor é o tempo necessário para a degradação, quando comparado com os materiais onde as unidades de láctico predominam. Porém, há uma exceção a essa regra, que ocorre quando a proporção de monómeros que o copolímero apresenta é de 50:50, sendo que, neste caso, a degradação acontece de forma mais rápida (cerca de 2 meses) (SAMADI et al. 2013; FERREIRA et al. 2015).

A associação das características físicas do copolímero de poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) às químicas da hidroxiapatita (HA), originando PLGA/HA, demonstrou possibilitar um maior crescimento de osteoblastos, adesão celular e síntese de colágeno, quando comparado ao uso apenas dos arcabouços de PLGA, sem HA (SUI et al. 2007; MESSIAS et al. 2009). A hidroxiapatita é o principal componente inorgânico da matriz óssea humana (DORAIRAJAN et al. 2005). A hidroxiapatita sintética, apesar de ser um material frágil e de baixa estabilidade mecânica (LOPES et al. 1999), apresenta dureza e é um material normalmente utilizado para reparar defeitos ósseos devido à sua excelente biocompatibilidade, propriedades osteocondutoras (ISHIHARA et al. 1992, LASCHKE et al. 2010) e lenta degradação (BOULER et al. 1993).

Froum e colaboradores, num estudo clínico realizado em humanos, compararam histologicamente a formação de osso vital obtida com uma cerâmica bifásica, composta por HA e Beta fosfato tricálcico (β -TCP) (Straumann[®] BoneCeramic[™]), e com osso bovino mineral desproteínizado (Bio-Oss[®], Geistlich Pharma AG), 6 a 8 meses após o preenchimento bilateral do seio maxilar. Eles verificaram que ambos os materiais eram osteocondutores e que promoviam a neoformação óssea (FROUM et al. 2008). Alguns estudos têm utilizado biomateriais que combinam a propriedade de lenta reabsorção da HA, que vai permitir uma manutenção mais duradoura do volume ósseo, com o β -TCP, que vai reabsorver mais rapidamente e ser substituído por osso. Desta forma, com a utilização de uma cerâmica bifásica de HA/TCP é possível ter uma degradação mais rápida do que a HA pura e mais lenta do que o TCP. Nos primeiros estágios de cicatrização, a baixa taxa de degradação da HA possibilita a manutenção do espaço necessário à liberação de radicais fosfato e cálcio por parte do TCP. O TCP pode apresentar duas fases com diferente taxa de degradação: a alfa (α) apresenta uma degradação mais rápida que beta (β). Porém, a fragilidade do HA e TCP

deve ser tida em conta, pois a degradação pode ser afetada dependendo do tamanho das partículas. Assim, de modo a melhorar as propriedades mecânicas e manter as características de lenta degradação, estes têm sido associados a vários polímeros, entre os quais, o PLGA. Khan e colaboradores observaram que a incorporação de PLGA em HA/TCP, numa proporção de 35% de PLGA para 65% de HA/TCP, levou a uma manutenção do volume e ao atraso na reabsorção óssea em defeitos de calvárias de coelhos, assim como uma diminuição na invaginação de tecido mole. Estes autores verificaram ainda que a adição de colágeno ao material de enxerto contribuiu para uma melhor regeneração óssea do defeito em questão (KHAN et al. 2015). Araújo-Pires e colaboradores verificaram num estudo recente envolvendo 10 pacientes (32 alvéolos), por meio de tomografias computadorizadas por feixe cônico e histologia, que um enxerto de PLGA/CaP já comercializado, o OsteoScafTM (TRT, Toronto, ON, Canadá), apresentou boa capacidade osteocondutora e foi capaz de reduzir a perda óssea pós-extração após 120 dias, quando comparado com a cicatrização espontânea (ARAÚJO-PIRES et al. 2015).

No esqueleto adulto, o tecido ósseo está em constante remodelação. Ocorre um grande número de variações mecânicas, influências hormonais e modificações locais por citocinas e fatores de crescimento, que desempenham um papel osteoindutor. Contrariamente ao enxerto autógeno, os arcabouços estão desprovidos de poder osteoindutor e osteogênico. Neste caso, a osteoindução poderá ser dada pela inclusão de partículas osteoindutoras como, por exemplo, as proteínas ósseas morfogenéticas (BMPs) (URIST 1965; CHAPPARD 2013). As BMPs representam a família mais importante de fatores de crescimento para o reparo ósseo, sendo responsáveis pela indução dos tecidos cartilaginoso e ósseo, diferenciação, proliferação celular e apoptose (JANSEN et al. 2005). Produzida em laboratório, a proteína óssea morfogenética recombinante humana 2 (rhBMP-2) teve a sua primeira indicação pela associação americana *Food and Drug Administration* (FDA) na ortopedia, para cirurgias de fusão da medula espinal. Atualmente, na Odontologia, a sua utilização apenas está indicada para cirurgias de levantamento do seio maxilar e para o preenchimento de defeitos relacionados a cristas ósseas pós-extração. No entanto, tem-se assistido a um uso descontrolado e generalizado em áreas cirúrgicas que não as indicadas. Em países como os Estados Unidos da América, ela é muito utilizada para regenerações de maxilares atroficos e a sua administração é realizada através de uma esponja de

colágeno, que serve de arcabouço, e na qual a rhBMP-2 está incorporada (INFUSE[®] Bone Graft, Medtronic Spinal and Biologics, Memphis, TN). Os níveis de rhBMP-2 necessários para a regeneração óssea são mais de 6 vezes superiores aos de BMP endógena (SERVICE 2000). Do ponto de vista farmacocinético, a rhBMP-2, quando utilizada em dosagem única, apresenta uma meia vida rápida, o que traz algum questionamento sobre se esta disponibiliza um estímulo suficiente para a ocorrência de osteoindução. Esta ação osseoindutora é colocada em questão, principalmente, quando existem grandes defeitos ósseos ou quando o potencial biológico do hospedeiro está de alguma forma comprometido (DRAGOO et al. 2003; JUNG et al. 2008). A utilização de rhBMP-2 acarreta alguns riscos, dos quais se podem destacar a falta de controle na atuação desses fatores (devido à complexa cinética de liberação, uso de dosagens não fisiológicas, duração da expressão dos genes, imunogenicidade e segurança a longo prazo) (BODEN 1999; DOLL et al. 2001; CASAGRANDE et al. 2011; RIOS et al. 2011). Estes riscos e os altos custos decorrentes da utilização da rhBMP-2 fazem com que atualmente haja alguma cautela no seu uso (CARRAGEE et al. 2011; RICHTER 2011).

Desta forma, têm-se procurado novas alternativas que apresentem menores riscos e custos, e que tenham um papel favorável na osteoindução, regulando os fatores de crescimento intrínsecos e conseguindo, assim, estimular a osteogênese. Procura-se também que estes possam ser associados a materiais osteocondutores, sem que haja prejuízo para a efetividade da regeneração óssea.

Uma destas possíveis alternativas e que tem sido objeto de diversos estudos são as estatinas. Estas são habitualmente utilizadas no tratamento da hipercolesterolemia, um fator de risco essencial para o aparecimento de aterosclerose. As estatinas podem ser originárias de culturas de fungos (lovastatina, pravastatina e sinvastatina) ou sintéticas (atorvastatina, cerivastatina, fluvastatina, pitvastatina e rosuvastatina). O mecanismo de ação das estatinas reside na sua capacidade em inibir a redutase da 3-hidroxi-3-metilglutaril coenzima A (HMG-CoA), bloqueando a conversão do HMG-CoA em mevalonato e impedindo, assim, a síntese do colesterol endógeno (ZHANG et al. 1997). Porém, uma alta concentração local de estatinas pode ser tóxica devido à redução drástica da produção de colesterol, substância importante na manutenção da integridade das membranas celulares (WHANG et al. 2005).

A redução dos níveis de colesterol é acompanhada de efeitos benéficos secundários, designados pleiotrópicos, dos quais se podem

destacar os cardioprotetores, que afetam quase todo o processo de aterogênese, desde a injúria endotelial inicial até a progressão e reparo das lesões de aterosclerose, além de influenciar a agregação plaquetária e a deposição de trombos (LACOSTE et al. 1995; DUBUC et al. 2004). Outras ações que se podem destacar são a anti-inflamatória e a antioxidante (SAKODA et al. 2006; NAKA et al. 2008), a supressão da ativação de linfócitos T (KWAK et al. 2000), o estímulo à angiogênese (KUREISHI et al. 2000) e a redução dos peptídios amilóides relacionados ao mal de Alzheimer (FASSBENDER et al. 2001; KOJRO et al. 2001).

Uma destas estatinas, a sinvastatina, mostrou aumentar o nível de expressão de BMPs nas células ósseas e, conseqüentemente, estimular a formação óssea, em testes realizados *in vitro* e *in vivo* em roedores (MUNDY et al. 1999; OHNAKA et al. 2001; MAEDA et al. 2004; MACIEL-OLIVEIRA et al. 2011; MANSOUR et al. 2014). Para além de estimular a formação óssea, a sinvastatina mostrou também ser capaz de inibir a reabsorção óssea. Um estudo realizado *in vitro*, que utilizou 40 compostos de estatinas, das quais a sinvastatina, concluiu que as estatinas apresentam potencial para inibir a reabsorção óssea por meio da supressão da cascata do mevalonato, bloqueando a prenilação de moléculas sinalizadoras essenciais para a atividade osteoclástica (STAAL et al. 2003). Em 2011, Moon e colaboradores mostraram que a sinvastatina inibia a sinalização induzida pelas espécies reativas de oxigênio (ROS) o que, por sua vez, vai inibir a formação de osteoclastos pela cascata do ligante do receptor ativador do fator nuclear kappa B (RANKL) (MOON et al. 2011). A sinvastatina parece também inibir a indução de metaloproteinase-9, que desempenha um papel importante no processo de reabsorção óssea (KIM et al. 2009). O seu uso mostrou melhoras na densidade óssea de pacientes idosos, que passaram a apresentar um menor risco para fraturas de quadril (WANG et al. 2000; MAEDA et al. 2001; WU et al. 2008). Face a estes resultados promissores, a sinvastatina tem sido indicada para o tratamento da osteoporose.

A sinvastatina também tem sido alvo de diversos estudos na área da Odontologia como possível alternativa aos materiais normalmente usados para regeneração óssea. Ela mostrou diminuir a perda de osso esponjoso e aumentar a formação de osso cortical em um modelo de ratos ovariectomizados tratados com sinvastatina (OXLUND et al. 2004). Uma vantagem que a sinvastatina apresenta diz respeito ao seu custo de produção que, devido à sua fácil sinterização, é cerca de 16.000 vezes menor do que a rhBMP-2 (MUNDY et al. 1999). No

entanto, a engenharia tecidual tem encontrado algumas dificuldades, das quais a busca pela dose ideal e o meio apropriado de entrega e liberação da sinvastatina. Uma vez ultrapassadas estas dificuldades, mais fácil será a sua aplicabilidade clínica em Odontologia.

Alguns estudos mostraram que baixas doses de sinvastatina não têm impacto na formação óssea, enquanto altas dosagens levam a uma alta citotoxicidade e estimulação do processo inflamatório, atrasando o reparo (THYLIN et al. 2002; STEIN et al. 2005; NYAN et al. 2007). Outro estudo mostrou que, quando baixas dosagens foram administradas, em experimentos *in vitro* e *in vivo*, correspondendo aos níveis fisiológicos encontrados na prática clínica, observou-se um efeito pró-angiogênico. Quando as dosagens são altas e os níveis de sinvastatina são tóxicos, são observados efeitos antiangiogênicos (WEITZ-SCHMIDT 2002). Outros pesquisadores verificaram que uma mesma dose de sinvastatina pode promover ou inibir a angiogênese, dependendo das condições do meio presente. Numa situação de hipóxia, a sinvastatina ativa os reguladores do fator de transcrição induzido por hipóxia – 1 alfa (HIF-1 α), promovendo a angiogênese. Contrariamente, num meio em que a inflamação induzida pelo fator de necrose tumoral-alfa (TNF- α) esteja presente, a sinvastatina inibe a angiogênese através das cascatas de sinalização de stress oxidativo (ZHU et al. 2008).

Geralmente, a sinvastatina é administrada por via oral, por injeções múltiplas em lesões e pela aplicação local incorporada em materiais específicos. Esta apresenta uma rápida difusão da sua molécula de baixo peso molecular, o que torna as injeções no local de ação, como fraturas, ineficientes, sendo necessárias injeções repetidas para se obter o efeito desejado. Quando administrada por via oral, a maior parte da sua degradação ocorre a nível hepático, ficando apenas uma pequena parte disponível para atuação no tecido ósseo. Service mostrou que quando a administração de uma estatina é feita por via oral, a sua concentração disponível nos tecidos é menor que 2,4% (SERVICE 2000). No entanto, o aumento da dose a fim de se obter uma maior disponibilidade pode levar a diversos efeitos adversos não desejados, dentre eles, a miotoxicidade, a falha hepática e a insuficiência renal (JACOBSON et al. 1997).

Tal como os fatores de crescimento, a sinvastatina requer um meio condutor adequado que controle a sua liberação local, de modo a permitir a neoformação óssea. A sua concentração local e efetividade dependem do tipo de carreador utilizado (LIMA et al. 2011). Carreadores como a gelatina (OZEÇ et al. 2008), o PLGA (WU et al. 2008), as nanopartículas adicionadas a PLGA (HO et al. 2011), o sulfato

de cálcio (NYAN et al. 2007; HUANG et al. 2014) e o beta tricálcio fosfato (NYAN et al. 2009) têm demonstrado potencial para aumentar a formação óssea (PARK 2009). No entanto, a literatura não é consensual quanto ao carreador a ser utilizado. A grande disparidade de resultados observada entre estudos que utilizam doses idênticas de sinvastatina pode ser devido à grande diversidade de tipos de carreador utilizados. Stein e colaboradores, em 2005, utilizaram 0,1 mg de sinvastatina incorporada num gel de metilcelulose em mandíbulas de ratos e não observaram qualquer estimulação de formação óssea (STEIN et al. 2005). Já Nyan e colaboradores, em 2009, reportaram que a mesma dose de 0,1 mg de sinvastatina, quando em combinação com β -TCP, é a ideal para estimular a formação de tecido ósseo em defeitos de calvárias de ratos, sem induzir inflamação, podendo ser utilizada de forma eficaz como material de regeneração óssea. Quando foram utilizadas dosagens superiores a 2,2 mg houve uma exacerbação do processo inflamatório e inibição da formação óssea (NYAN et al. 2009). Outro estudo mostrou que a administração local de 0,1, 0,9 e 1,7 mg de sinvastatina, incorporada num enxerto de β -TCP, teve um efeito prejudicial no reparo ósseo de defeitos peri-implantares em ratos (MA et al. 2008).

MACIEL-OLIVEIRA e colaboradores, em 2011, avaliaram o uso de sinvastatina em um gel de polietilenoglicol contendo 2,5 % de sinvastatina em defeitos ósseos de 0,8 mm criados na mandíbula de ratos. Devido ao diâmetro favorável, o preenchimento do defeito ocorreu nos grupos com e sem tratamento. Porém, observou-se uma formação óssea mais rápida nos defeitos tratados com sinvastatina, que apresentaram tecido ósseo neoformado com um aspecto mais organizado, além da ausência de osteoclastos (MACIEL-OLIVEIRA et al. 2011).

Num estudo de 2014, a utilização de sinvastatina incorporada em arcabouços de sulfato de cálcio apresentou efeitos benéficos na regeneração óssea de defeitos em ulnas de coelhos, semelhantes aos obtidos com rhBMP2, demonstrando, assim, um grande potencial para a engenharia tecidual óssea (HUANG et al. 2014).

Quando utilizada sob a forma de grânulos incorporados numa matriz de celulose polimérica, a sinvastatina promoveu uma maior neovascularização e demonstrou aumentar a osteointegração de implantes imediatos, instalados em cães (MANSOUR et al. 2014).

Em testes realizados *in vitro* foi possível observar que a utilização de arcabouços de PLGA permitiu, durante a sua degradação em ácido láctico, a liberação de moléculas de sinvastatina por até 6 semanas (WHANG et al. 2005). WU e colaboradores, em 2008,

administraram localmente uma dose de 1,2 mg de sinvastatina, carregada por PLGA, e observaram que houve uma promoção da formação de novo osso e o reparo de cristas pós-extração em ratos, mantendo a altura residual dessa crista (WU et al. 2008).

Num outro estudo realizado por Encarnação e colaboradores, a utilização de arcabouços de PLGA/HA/ β -TCP, associados ou não à sinvastatina, não mostrou melhorar o reparo ósseo de defeitos críticos em calvárias de ratos (ENCARNAÇÃO et al. 2016a).

Estudos realizados recentemente avaliaram o potencial osteogênico da sinvastatina em células estaminais humanas adultas derivadas da membrana do seio maxilar (YUN et al. 2013) e do tecido adiposo (PULLISAAR et al. 2014), demonstrando bons resultados.

Existem alguns estudos que têm avaliado, em humanos, o efeito da sinvastatina, aplicada localmente, como auxiliar de raspagens e alisamentos radiculares. Quatro ensaios clínicos randomizados realizados pela equipe de pesquisa de Pradeep verificaram que a sinvastatina melhorou significativamente o prognóstico clínico de raspagens e alisamentos radiculares realizados em tratamentos de lesões de furca classe II mandibulares (PRADEEP et al. 2012), em pacientes com periodontite crônica (RAO et al. 2010), mesmo sendo fumantes (PRADEEP et al. 2013) ou sofrendo de diabetes tipo 2 (PRADEEP et al. 2013).

Um estudo de boca dividida, de 2015, realizado em humanos, mostrou que a sinvastatina, numa dose de 10 mg, incorporada em uma esponja hemostática, promoveu uma regeneração óssea significativamente mais rápida de alvéolos pós-extração de terceiros molares inferiores após 3 meses, quando comparado com o grupo controle em que nenhum biomaterial foi utilizado (CHAUHAN et al. 2015). Porém, como estes autores referem, atualmente, a literatura ainda é escassa de estudos clínicos, realizados em seres humanos, que avaliem a eficácia da sinvastatina como material de enxerto para a estimulação da regeneração óssea.

O presente trabalho teve por objetivo avaliar clínica e radiograficamente, em humanos, a capacidade osteocondutora de um arcabouço de PLGA/HA/ β -TCP, utilizado isoladamente ou em associação com sinvastatina a 2,0%, e possíveis reações inflamatórias adversas relacionadas com o seu uso. Além disso, foram realizadas Tomografias Computadorizadas por Feixe Cônico, após 3 meses de pós-operatório, a fim de comparar o comportamento dos diferentes grupos.

CAPÍTULO III

ARTIGO EM PORTUGUÊS

O artigo a seguir foi formatado de acordo com as Normas para Elaboração de Artigos do periódico *Journal of Clinical Periodontology*.

PRESERVAÇÃO DE CRISTAS ÓSSEAS PÓS-EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES SUPERIORES COM ARCABOUÇOS DE PLGA/HA/ β -TCP, COM E SEM SINVASTATINA: UM ESTUDO CLÍNICO E RADIOGRÁFICO EM HUMANOS

Miguel Alexandre Pereira Pinto Noronha de Oliveira *

Levy Hermes Rau **

Aline Marodin ***

Márcio Corrêa ****

Letícia Ruhland Corrêa *****

Águedo Aragones *****

Ricardo de Souza Magini *****

* Mestrando em Implantodontia na Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil. (noronha.miguel@hotmail.com)

** Chefe do Serviço de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial do Hospital Infantil Joana de Gusmão - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil. (levyrau@hotmail.com)

*** Residente do Serviço de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial do Hospital Infantil Joana de Gusmão - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil. (alinemarodin@hotmail.com)

**** Professor Associado na Faculdade de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil. (profmarcioufsc@gmail.com)

***** Doutora em Clínica Odontológica/Radiologia na Universidade Federal do Rio Grande do Sul - UFRGS - Porto Alegre - Brasil. (leticiaruhland@gmail.com)

***** Pesquisador CNPq DT-2 no Departamento de Engenharia Mecânica do Centro Tecnológico, na Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil (aguedo@terra.com.br)

***** Professor Titular do Programa de Pós-graduação em Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina - UFSC - Florianópolis - Santa Catarina - Brasil. (ricardo.magini@gmail.com)

Título resumido: Preservação de cristas ósseas com PLGA/HA/ β -TCP e sinvastatina.

Palavras-chave: arcabouço, β -TCP, HA, PLGA, preservação, processo alveolar, sinvastatina, terceiro molar.

RESUMO

Este estudo pretendeu avaliar clínica e radiograficamente, em humanos, o reparo obtido após a utilização de diferentes materiais de regeneração em cristas ósseas pós-extração de terceiros molares superiores, 3 meses após a extração. Vinte e seis alvéolos (13 pacientes) foram distribuídos aleatoriamente por 4 diferentes modalidades de tratamento: osso bovino mineral desproteínizado com 10% de colágeno (OBMD-C), arcabouço de poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a hidroxiapatita/ β -TCP (PLGA/HA), arcabouço PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina a 2,0% (PLGA/HA/S) e cicatrização espontânea (controle). Foi realizado um levantamento das complicações clínicas e de tomografias computadorizadas por feixe cônico realizadas a 5 pacientes, 3 meses após as cirurgias, para avaliar o comportamento dos diferentes grupos. Os achados foram submetidos à análise estatística, usando o teste Exato de Fisher ($p < 0,05$). Após 3 meses, houve perda de 6 dos 9 enxertos no grupo PLGA/HA ($p < 0,05$). No PLGA/HA/S foi de 2 dos 8 ($p > 0,05$), mas não houve no grupo OBMD-C. Verificou-se presença de dor em 3 das 8 (37,5%) ($p > 0,05$) e infecção em 1 das 8 (12,5%) perdas ocorridas ($p > 0,05$), com estas ocorrendo apenas no grupo PLGA/HA. Concluiu-se que os arcabouços de PLGA/HA/ β -TCP, com e sem sinvastatina, não obtiveram os resultados que eram esperados e mostraram ter mais complicações. Porém, o enxerto de PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina mostrou ser superior, com menos complicações clínicas que o enxerto de PLGA/HA/ β -TCP sem sinvastatina.

RELEVÂNCIA CLÍNICA

Fundamentação científica para o estudo: As técnicas de preservação de crista podem ser usadas de forma a se obter melhores resultados com implantes dentários. As associações de arcabouços e sinvastatina mostraram grande potencial para aumentar a formação óssea. Porém, não há estudos em humanos avaliando a associação da sinvastatina a arcabouços de PLGA/HA/ β -TCP.

Principais conclusões: Os arcabouços de PLGA/HA/ β -TCP, com e sem sinvastatina, mostraram mais complicações clínicas comparativamente com os demais grupos. O arcabouço de PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina apresentou melhores resultados, com menores complicações clínicas relativamente ao arcabouço de PLGA/HA/ β -TCP sem sinvastatina.

Implicações práticas: Arcabouços de PLGA/HA/ β -TCP com uma maior porosidade e amostras maiores são necessários para estudos futuros.

INTRODUÇÃO

Após a perda dentária, o correspondente processo alveolar sofre uma inevitável atrofia, que ocorre tanto em altura como em largura, e que varia de pessoa para pessoa (Pietrokovski & Massler 1967, Lekovic et al. 1997, Cardaropoli et al. 2003, Schropp et al. 2003, Araújo & Lindhe 2005, Van der Weijden et al. 2009). Esta remodelação poderá, muitas vezes, dificultar ou, até mesmo, impossibilitar a reabilitação com implantes osseointegráveis (Grunder et al. 2005). Há, assim, a necessidade de recorrer a procedimentos de reconstrução óssea que compensem esta atrofia (Chiapasco et al. 2009). O material que vai servir de preenchimento pode ser dividido de acordo com a sua origem em autógeno, alógeno, xenógeno e sintético ou aloplástico (Diès et al. 1996, Becker et al. 1998, Artzi et al. 2000, Iasella et al. 2003, Sándor et al. 2003, Froum et al. 2004, Guarnieri et al. 2004, Pinho et al. 2006, Mladenović et al. 2011). Porém, a evidência científica não é explícita no que diz respeito ao tipo de biomaterial ou de abordagem cirúrgica a serem usados (Vignoletti et al. 2012). O osso de origem autógena, apesar de considerado globalmente como o “padrão-ouro”, apresenta como desvantagens a quantidade disponível e frequentes morbidades e complicações locais decorrentes da coleta. Quando se pretende obter uma maior estabilidade de volume nas regiões enxertadas deve-se optar por biomateriais que possuam uma taxa lenta de reabsorção como os xenógenos ou os cerâmicos (Jung et al. 2013, Brogгинi et al. 2014, Araújo et al. 2015). Os arcabouços constituídos de materiais cerâmicos têm sido objeto de grande pesquisa. Os arcabouços desempenham um papel de osteocondução na neoformação óssea, ou seja, permitem o recrutamento e migração de células osteogênicas (Davies et al. 2010). O poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) tem sido muito estudado devido às suas excelentes propriedades físico-químicas e biológicas, biocompatibilidade, controle da sua macro e microestrutura, e incorporação e liberação de proteínas com substantividade (Gómez et al. 2006, Lansman et al. 2006). Estas características fazem dele um bom osteocondutor (Hutmacher 2000). A associação das características físicas do copolímero de poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) às químicas da hidroxiapatita (HA), originando o PLGA/HA, demonstrou possibilitar um maior crescimento de osteoblastos, adesão celular e síntese de colágeno, quando comparado ao uso apenas dos arcabouços de PLGA, sem HA (Sui et al 2007, Messias et al. 2009).

Os arcabouços podem carrear substâncias osteoindutoras como fatores de crescimento (Eberli et al. 2009, Saito et al. 2010). Uma substância que mostrou possuir propriedades osteoindutoras é a sinvastatina. Apesar de habitualmente utilizada no tratamento da hipercolesterolemia, esta estatina apresenta diversos efeitos pleiotrópicos, entre os quais, o osteoindutor. Testes realizados *in vitro* e *in vivo*, em roedores, mostraram que a sinvastatina aumentou o nível de expressão de BMPs nas células ósseas e estimulou, conseqüentemente, a formação óssea (Mundy et al. 1999, Maciel-Oliveira et al. 2011, Mansour et al. 2014). O custo de produção, devido à sua fácil sinterização, é cerca de 16.000 vezes menor do que a rhBMP-2 (Mundy et al. 1999). Assim como os fatores de crescimento, a sinvastatina requer um meio condutor adequado que controle a sua liberação local, para permitir a neoformação óssea. A sua concentração local e efetividade dependem do tipo de carreador utilizado (Lima et al. 2011). Alguns estudos mostraram que baixas doses de sinvastatina não têm impacto na formação óssea, enquanto altas dosagens levam a uma alta citotoxicidade e estimulação do processo inflamatório, atrasando o reparo (Thylin et al. 2002, Stein et al. 2005, Nyan et al. 2007). A literatura ainda é escassa quanto à utilização da sinvastatina como material de enxerto para a estimulação da regeneração óssea em estudos clínicos realizados em seres humanos.

Este trabalho teve por objetivo avaliar clínica e radiograficamente, em humanos, a capacidade osteocondutora de um arcabouço de PLGA/HA/ β -TCP, utilizado isoladamente ou em associação com sinvastatina a 2,0%, e possíveis reações inflamatórias adversas relacionadas com o seu uso.

MATERIAIS E MÉTODOS

Desenho do estudo

Este foi um estudo clínico, prospectivo, controlado, randomizado, de boca dividida, que está de acordo com o protocolo de Helsinki. Todos os procedimentos e materiais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CEPSH-UFSC), sob o número de parecer 931.099. Foi obtido o termo de consentimento livre e esclarecido (TCLE) de todos os pacientes previamente ao começo do

estudo. Relativamente à randomização, esta foi realizada por meio de sorteio com papéis numerados por uma pessoa independente, que não conhecia o protocolo do estudo.

Participantes e protocolo de tratamento

Participaram da pesquisa 13 pacientes, com uma idade média de $22,8 \pm 3,7$ anos, que necessitavam de exodontia bilateral dos terceiros molares superiores. As indicações para exodontia dentária diagnosticadas foram cáries, ortodontia e preventiva. Como pré-requisito para inclusão no estudo, os pacientes tinham de ser saudáveis a nível sistêmico e não fumar mais de 20 cigarros/dia. Foram incluídos apenas pacientes que apresentassem terceiros molares superiores bilateralmente, independentemente de estes estarem erupcionados ou inclusos. Na Tabela 1 são apresentadas a distribuição dos pacientes e a região a operar, de acordo com as modalidades de tratamento. Os pacientes que não obedeciam a todos os critérios de inclusão foram excluídos do estudo. Foram utilizados para esta pesquisa os seguintes critérios de exclusão:

- Fumantes ativos (>20 cigarros/dia);
- Diabetes insulino-dependente;
- História de doença maligna, radioterapia ou quimioterapia nos últimos 5 anos;
- Gravidez ou paciente hospitalizado;
- Menopausa precoce;
- Em tratamento médico com drogas que afetem a remodelação óssea ou cicatrização da mucosa;
- Doenças metabólicas do tecido conjuntivo;
- Infecção bucal ativa/potencial;
- Abuso de substâncias;
- Pacientes alérgicos a qualquer componente dos materiais testados;
- Envolvimento em outras investigações clínicas.

As cirurgias foram realizadas na clínica particular Faccial – Clínica Levy Rau, Baía Sul Medical Center, Florianópolis, Brasil. A abordagem escolhida para exodontia, técnica previamente descrita (Chiapasco et al. 2006), consistiu na realização de um retalho de acesso triangular, em que foi feita uma incisão relaxante na tuberosidade e

outra distal ao 2º molar, preservando-se, assim, o periodonto dos molares erupcionados adjacentes (Fig. 1a,b).

Após a exodontia dentária, remoção de forma cuidadosa do tecido de granulação com instrumentos manuais e irrigação com água para injeção (B. Braun, Melsungen AG, Alemanha), cada local da extração foi aleatoriamente distribuído por um dos três grupos teste de técnica de preenchimento com biomaterial ou pelo grupo de controle de acordo com papéis numerados (Fig. 1c e 2):

- Osso bovino mineral desproteínizado com 10% de colágeno (Bio-Oss® Collagen, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) a nível da porção mais coronal da crista óssea (OBMD-C)
- Arcabouço de poli(ácido láctico-co-glicólico) e hidroxiapatita/ β -TCP (PLGA/HA/ β -TCP) abaixo da crista óssea (PLGA/HA)
- Arcabouço de poli(ácido láctico-co-glicólico) e hidroxiapatita/ β -TCP (PLGA/HA/ β -TCP) + 2,0% de Sinvastatina abaixo da crista óssea (PLGA/HA/S).

No grupo controle, nenhum tratamento foi realizado e a cicatrização ocorreu de forma espontânea pela formação do coágulo.

Os materiais dos grupos teste PLGA/HA e PLGA/HA/S foram fabricados no Núcleo de Pesquisas em Materiais Cerâmicos e Compósitos (CERMAT), Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina.

Resumidamente, os materiais de regeneração óssea foram aplicados da seguinte forma: no grupo OBMD-C, o biomaterial de enxerto Bio-Oss® Collagen foi colocado no interior do envelope ósseo da extração, numa posição nunca coronal à margem óssea, de acordo com uma técnica previamente descrita (Jung et al. 2004). Nos grupos PLGA/HA e PLGA/HA/S, após remoção do biomaterial da embalagem, este foi cortado de acordo com as dimensões do local a enxertar e aplicado diretamente, sempre abaixo do limite coronal da crista óssea. Os tecidos moles foram reposicionados e suturados com fio de sutura Nylon 5.0 (Ethicon, Johnson&Johnson Company, SP, Brasil).

Os pacientes foram instruídos a realizar bochechos com Digluconato de clorexidina 0,12% (Noplak, Laboratório Daudt Oliveira, Rio de Janeiro, Brasil), 3 vezes ao dia durante uma semana. Receberam também medicação analgésica em caso de dor (30 mg Tylex), antibiótico (500 mg Amoxicilina) 8-8h por 7 dias e anti-inflamatório (2 mg de Dexametasona) 12-12h por 3 dias.

Todos os pacientes retornaram após 7 a 10 dias para verificar o pós-operatório e realizar a remoção da sutura.

Posteriormente, após 3 meses de pós-operatório, foram realizadas Tomografias Computadorizadas por Feixe Cônico, a alguns pacientes, a fim de ver qual o comportamento na mineralização óssea dos vários biomateriais utilizados.

Proservação

As subseqüentes consultas de controle pós-operatório foram realizadas na clínica Faccial – Clínica Levy Rau, Baía Sul Medical Center e na Clínica do Mestrado em Implantodontia, no Centro de Ensino e Pesquisas em Implantes Dentários (CEPID), Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Santa Catarina.

Análises

Avaliação clínica

Todos os pacientes foram avaliados previamente, durante e 1 e 3 meses após as cirurgias. A avaliação foi feita por meio de exame clínico intra-oral e foram realizadas fotografias intra-orais da região onde havia sido feita cirurgia, a fim de fazer um levantamento de possíveis complicações (inflamação, infecção, deiscência da ferida e perda de enxerto). Por perda de enxerto se entende tanto a perda precoce, ocorrida na primeira semana de pós-operatório, como a tardia, ocorrida após este período. Foi também perguntado aos pacientes se, durante o período de pós-operatório, tinham sentido algum tipo de dor no local operado ou próximo deste.

Avaliação radiográfica

As imagens tomográficas foram adquiridas no aparelho PreXion 3D (Prexion, Inc., San Mateo, CA, USA), definido em 90 kVp e 4 mA. O tempo de exposição foi de 10 s, com FOV de 8 cm, e a resolução da imagem (voxel) de 0,1 mm.

Análise estatística dos dados

Os dados foram inseridos em uma planilha Excel[®] onde foi realizada a consistência dos dados. Após, foram exportados para o *software* SPSS[®] 20.0. Foi realizada uma análise descritiva das variáveis. Para verificar a associação das variáveis com o desfecho, utilizou-se o teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher, considerando-se estatisticamente significativas as associações com valor $p < 0,05$.

RESULTADOS

Todos os pacientes completaram o estudo e foram vistos pelo período dos 3 meses de pós-operatório. Nenhum paciente participando do estudo teve qualquer tipo de problema sistêmico decorrente do uso dos materiais de preenchimento.

Avaliação de reações adversas

Apesar da ausência de complicações a nível sistêmico, foram observadas algumas reações adversas no local operado. Enquanto que nos grupos controle e OBMD-C não se observou qualquer tipo de complicação durante o pós-operatório, o mesmo não se pode dizer dos grupos teste PLGA/HA e PLGA/HA/S, em que alguns pacientes experimentaram algum tipo de desconforto. Destes se destacaram dor, infecção e perda do enxerto (Fig. 4).

Na Tabela 2 é apresentada a distribuição das complicações clínicas de acordo com o lado operado.

No que diz respeito à infecção, ela apenas se mostrou presente em 1 caso, no grupo PLGA/HA, não sendo estatisticamente significativo quando comparado aos demais grupos ($p > 0,05$) (Tabela 3).

Em relação à dor, apenas se observou no grupo PLGA/HA, porém com resultado estatisticamente não significativo quando comparado com os demais grupos ($p > 0,05$) (Tabela 3).

A perda do biomaterial ocorreu apenas nos grupos PLGA/HA e PLGA/HA/S. No entanto, pôde-se observar, com diferença significativa, que ela está mais associada ao biomaterial do grupo PLGA/HA, que contabilizou 6 perdas dos 9 enxertos utilizados ($p < 0,05$). No grupo PLGA/HA/S foram perdidos 2 dos 8 enxertos utilizados, porém sem significância estatística ($p > 0,05$) (Tabela 3).

O tempo médio de perda do enxerto após a sua colocação foi de 46 ± 39 dias no grupo do PLGA/HA e de 45 ± 44 dias para o grupo PLGA/HA/S.

Os enxertos perdidos foram armazenados em formol a 10% para futura análise histológica, o que poderá ajudar a perceber a razão da perda.

Análise radiográfica

Na Fig. 5 são apresentadas imagens representativas de algumas das Tomografias Computadorizadas por Feixe Cônico realizadas após 3 meses de pós-operatório.

No grupo controle foi possível observar ainda o defeito resultante da exodontia, porém com uma provável formação óssea na região mais apical do defeito (Fig. 5a,b).

As imagens relativas ao grupo OBMD-C mostram que o biomaterial Bio-Oss[®] Collagen conseguiu compensar, até certo ponto, a atrofia inevitável sofrida pela crista óssea pós-extração (Fig. 5c,d).

Já em relação aos biomateriais teste utilizados nos grupos PLGA/HA e PLGA/HA/S, as radiografias parecem sugerir que estes falharam em formar osso. Foi possível observar uma enucleação do material de enxerto, compatível com a formação de tecido conjuntivo, ao invés da desejável formação óssea (Fig. 5e,f,g,h).

DISCUSSÃO

Este estudo mostrou que a utilização de enxertos dos grupos PLGA/HA e de PLGA/HA/S, para o preenchimento de cristas ósseas pós-extração, não possibilitou a formação óssea que era inicialmente esperada neste local e levou a complicações pós-operatórias, quando comparado com os grupos OBMD-C e controle, 3 meses após a extração dentária.

Segundo a literatura, após a extração dentária, ocorre uma redução dimensional da crista óssea, maior a nível horizontal do que vertical, rápida nos primeiros 3 a 6 meses pós-extração, mas seguida de uma redução mais gradual. A não utilização de material de enxerto para preenchimento do local da extração leva a uma redução na ordem dos 29-63% em dimensão horizontal da crista após 6-7 meses (Tan et al. 2012).

Alguns estudos mostram que a utilização de um biomaterial xenógeno de lenta reabsorção como o Bio-Oss[®] Collagen (Geistlich, Wolhusen, Switzerland) permitiu até certo ponto manter a dimensão da crista óssea e preservar o seu perfil, compensando, pelo menos temporariamente, a sua contração marginal (Araújo et al. 2008, Fickl et al. 2008c). Estes resultados vêm confirmar o que foi observado no presente estudo pelas Tomografias Computadorizadas por Feixe Cônico realizadas após 3 meses de pós-operatório, que mostram uma continuidade do osso basal com o enxerto em questão, sem radiolucidez característica da formação de tecido conjuntivo a separar os dois. Esta observação parece sugerir que ocorreu uma mineralização óssea, sendo que tal conclusão apenas pode ser feita após um exame de histologia por

biópsia do local enxertado. Artzi e colaboradores observaram por histologia que partículas do enxerto Bio-Oss[®] ainda estavam presentes após 9 meses e que este não tinha reabsorvido completamente (Artzi et al. 2000). No presente estudo, como esperado, não se verificou qualquer perda do enxerto ou complicação no grupo OBMD-C.

A engenharia tecidual tem trabalhado no desenvolvimento de possíveis alternativas como arcabouços de poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a hidroxiapatita (PLGA/HA). Estes são materiais biocompatíveis, que demonstraram possibilitar um significativo crescimento de osteoblastos, adesão celular e síntese de colágeno (Messias et al. 2009). Os arcabouços desempenham um papel de osteocondução na neoformação óssea. Idealmente, devem apresentar resistência mecânica, porosidade, biocompatibilidade e capacidade de carrear substâncias osteoindutoras (Eberli et al. 2009; Saito et al. 2010). O tempo de degradação do polímero de PLGA está relacionado com a proporção de cada um dos monômeros utilizada na produção. Quanto maior a concentração de unidades de láctico, maior é o tempo necessário para a degradação, comparado com os materiais onde as unidades de glicólico predominam. Holy e colaboradores mostraram em um estudo que espumas de PLGA 75/25 conseguiram manter a sua morfologia 3D, em um pH fisiológico, por um período de 6 meses (Holy et al. 1999). No presente estudo, foram usados arcabouços de PLGA 82/18, ou seja, 82% correspondia ao monômero láctico e só 18% ao glicólico, o que em teoria levaria a uma degradação mais lenta, pretendida para que a preservação da morfologia da crista ocorra durante um período mais longo de tempo. Na fabricação do arcabouço, foi adicionado HA/ β -TCP, numa proporção 70/30, ao PLGA. Nesta proporção, o HA/ β -TCP apresenta uma lenta reabsorção, de 07 a 09 meses. A lenta reabsorção é devida à HA, que vai manter o volume necessário para que a reabsorção do β -TCP, que é mais rápida, ocorra, e este seja substituído por osso.

No que diz respeito à porosidade, uma alta macroporosidade, de 81% a 91%, e a capacidade de absorver sangue, mostraram ser essenciais para um arcabouço funcionar tanto como fator de retenção do coágulo como um agente osteocondutor para a formação óssea (Davies et al. 2010). Porém, no presente estudo os arcabouços utilizados apresentavam uma porosidade de apenas 30% e uma grande rigidez, o que poderá explicar as perdas de enxerto ocorridas. Encarnação e colaboradores observaram, *in vitro*, que arcabouços com 70% de porosidade apresentaram uma liberação lenta e prolongada de sinvastatina a 2, 5 e 8%. Estes autores verificaram também que não houve alterações mecânicas do arcabouço com esta porosidade e que a

sinvastatina apresentou uma forte interação química com este (Encarnação et al. 2016b).

Como referido, os arcabouços podem carrear substâncias como é o caso da sinvastatina, que mostrou desempenhar um papel osteoindutor (Mundy et al. 1999; Ohnaka et al. 2001; Maeda et al. 2004; Maciel-Oliveira et al. 2011; Mansour et al. 2014). No entanto, uma das maiores dificuldades passa pela busca da dose ideal capaz de produzir osteoindução, sem trazer efeitos secundários prejudiciais. Alguns estudos mostraram que baixas doses de sinvastatina não têm impacto na formação óssea, enquanto altas dosagens levam a uma alta citotoxicidade e estimulação do processo inflamatório, atrasando o reparo (Thylin et al. 2002; Stein et al. 2005; Nyan et al. 2007). Nestes estudos, realizados em ratos, os autores usaram sinvastatina associada a diferentes tipos de carreadores, com doses entre os 0,1 e 2,2 mg. Porém, outros autores verificaram que a mesma dose de sinvastatina pode promover ou inibir a angiogênese, dependendo se no meio presente a situação é de hipóxia (promoção da angiogênese) ou de inflamação (inibição da angiogênese) (Zhu et al. 2008). Assim, segundo estes últimos autores, a utilização de sinvastatina teria um papel benéfico, independentemente da situação encontrada no local a regenerar. No nosso estudo, a maior perda de enxertos esteve associada, de forma estatisticamente significativa, ao biomaterial PLGA/HA/ β -TCP. As restantes perdas ocorreram no grupo PLGA/HA/S, porém um resultado não significativo. Esta diferença nas perdas poderá pressupor um certo efeito benéfico pela incorporação da sinvastatina no arcabouço. No entanto, para poder confirmar tal hipótese, o tamanho da amostra utilizada no presente estudo deveria ser maior. Encarnação e colaboradores, num estudo realizado em 2016, em ratos, verificaram que a Sinvastatina, em uma concentração de 4 mg/mL, correspondente a 2,0%, incorporada em um arcabouço de PLGA/HA/ β -TCP aumentou a expressão de citocinas inflamatórias nos tecidos adjacentes e não levou a uma melhora na reparação óssea. Porém, após 60 dias apresentou uma idêntica formação óssea quando comparado com os grupos controle (Encarnação et al. 2016a). Contrariamente, o nosso estudo, que utilizou a mesma dose (2,0%), não apresentou uma idêntica formação óssea do grupo PLGA/HA/S em relação aos grupos controle após 90 dias. A diferença poderá estar no fato de: o presente estudo ter sido realizado em humanos, o que implicaria uma dose maior para ocorrer tal efeito benéfico; o arcabouço de PLGA/HA apresentar pequena porosidade (30%), o que vai prejudicar a osteocondução e o efeito osteoindutor da sinvastatina.

São poucas as pesquisas realizadas em humanos descritas na literatura. Em 2015 foi realizado um estudo de boca dividida, em humanos, que pretendeu avaliar o efeito da sinvastatina no reparo de cristas pós-extração de terceiros molares inferiores depois de um período de 3 meses. Para isso, foram realizadas diversas radiografias periapicais e feita a medição dos tons de cinza. O estudo mostrou que a sinvastatina, numa dose de 10 mg, incorporada em uma esponja hemostática, promoveu uma regeneração óssea significativamente mais rápida, quando comparado com o grupo controle em que nenhum biomaterial foi utilizado (Chauhan et al. 2015). Este trabalho vem corroborar o nosso estudo, no que diz respeito à inexistência de dor ou qualquer problema sistêmico por parte dos pacientes pertencentes ao grupo em que foi utilizada sinvastatina (PLGA/HA/S). Porém, tem-se verificado na literatura que, quando se pretende avaliar as alterações dimensionais após preenchimento com material regenerativo da crista pós-extração, a escolha não tem passado pelos terceiros molares pela maior dificuldade do procedimento: localização de mais difícil acesso; possibilidade de fratura da tábua óssea vestibular; elevação de retalho com incisão relaxante, com conseqüente diminuição do suprimento sanguíneo ao local; maior dificuldade no fechamento primário da ferida. Como se sabe, quando não se eleva retalho, apesar de dificilmente se conseguir manter na totalidade as dimensões originais da crista, consegue-se reduzir, até certo ponto, as alterações volumétricas da tábua óssea vestibular (Fickl et al. 2008a). Por outro lado, a elevação do retalho durante a extração permite aumentar ainda mais as dimensões da crista pela colocação de biomaterial externamente à tábua óssea vestibular. Curiosamente, numa revisão sistemática realizada por Vignoletti e colaboradores em 2012, estes observaram que menos alterações horizontais da crista estavam associadas, de forma significativa, ao grupo em que se elevou retalho (Vignoletti et al. 2012).

No presente estudo, dos enxertos dos grupos teste PLGA/HA e PLGA/HA/S que não se perderam, todos enuclearam, com aparente formação de tecido conjuntivo em seu redor, criando uma fronteira de separação com o osso basal. Existem diferentes razões que poderão explicar estes achados: (i) a pequena porosidade (30%) dos arcabouços, que dificulta a absorção de sangue por parte destes, visível durante a sua instalação no local a regenerar (Fig. 3). Esta pequena porosidade não permite, assim, adequada migração, adesão e proliferação celular. Isto é suportado por um estudo recente que recomenda utilizar uma porosidade entre 81 e 91% (Davies et al. 2010); (ii) rigidez dada pela quantidade de HA/ β -TCP (33%) incorporado no PLGA (67%). Porém, este fato não é

corroborado por um estudo recente que defende que baixar a porcentagem de PLGA para 35% e, assim, aumentar a de HA/ β -TCP para 65%, leva a uma manutenção do volume ósseo e previne a invaginação de tecido mole, podendo ser clinicamente benéfico (Khan et al. 2015); (iii) problema de biocompatibilidade do PLGA e HA/ β -TCP utilizados, porém estes são materiais já amplamente usados em diversas áreas da medicina regenerativa e estudos clínicos e pré-clínicos anteriores não mostraram haver reações inflamatórias com materiais de PLGA (Schneider et al. 2014) revestidos a fosfato de cálcio (Nair et al. 2006, Rothamel et al. 2007); (iv) colapso do tecido mole que pode ter ocorrido pela não utilização de uma membrana ou de um enxerto gengival livre (Fickl et al. 2008c; Jung et al. 2004, 2013). Essa utilização seria possível caso o local cirúrgico em questão o permitisse, o que não era o caso. Também, a rápida degradação do biomaterial com subsequente invaginação de tecido mole surge como outra possível hipótese (Khan et al. 2015). Porém, o enxerto utilizado tinha baixa porosidade e alta rigidez e, como tal, lenta degradação, o que não vem dar força a esta hipótese.

Como o material dos grupos teste PLGA/HA e PLGA/HA/S utilizado neste estudo é de lenta reabsorção e a sinvastatina tem, segundo a literatura, uma ação tardia, quando forem realizadas análises radiográficas para avaliar a formação óssea, será adequado utilizar um tempo superior ao utilizado neste estudo (3 meses). No entanto, períodos de tempo menores permitirão observar qual o efeito que estes tiveram nas etapas iniciais da cicatrização do tecido ósseo.

Este estudo não conseguiu mostrar um efeito benéfico da sinvastatina, o que poderá ser explicado pelas razões referidas acima, que poderão ter causado a perda dos enxertos. No entanto, a concentração de sinvastatina utilizada (2,0%) não apresentou, tanto do ponto de vista sistêmico quanto local, qualquer consequência maior para os pacientes.

Apesar das limitações que este trabalho apresenta, podem ser tiradas algumas conclusões clínicas relevantes, servindo as conclusões de base para pesquisas futuras. Estes estudos futuros deverão incluir amostras maiores e uma porosidade maior do arcabouço, assim como um controle mais rigoroso tanto radiográfica quanto histologicamente.

AGRADECIMENTOS

Os autores agradecem à Dr. Keila Rausch Pereira por realizar a análise estatística.

A Geistlich Pharma forneceu os biomateriais Bio-Oss[®] Collagen utilizados nesta pesquisa.

Os autores declaram não existir nenhum conflito de interesse.

REFERÊNCIAS

Araújo, M. & Lindhe, J. (2005) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**, 212–218.

Araújo, M., Linder, E., Wennstrom, J. & Lindhe, J. (2008) The influence of Bio-Oss Collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in the dog. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* **28**, 123–135.

Araújo, M., Silva, J., Mendonça, A. & Lindhe, J. (2015) Ridge alterations following grafting of fresh extraction sockets in man. A randomized clinical trial. *Clinical Oral Implants Research* **26**, 407–412.

Artzi Z., Tal H., Dayan D. (2000) Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: histomorphometric evaluations at 9 months. *Journal of Periodontology* **71**, 1015-23.

Becker W., Clokie C., Sennerby L., Urist M. R., Becker B. E. (1998) Histologic findings after implantation and evaluation of different grafting materials and titanium micro screws into extraction sockets: case reports. *Journal of Periodontology* **69**, 414-21.

Broggini N., Bosshardt D. D., Jensen S. S., Bornstein M. M., Wang C-C., Buser D. (2014) Bone healing around nanocrystalline hydroxyapatite, deproteinized bovine bone mineral, biphasic calcium phosphate, and autogenous bone in mandibular bone defects. *J Biomed Mater Res Part B* **00B**, 000–000.

Cardaropoli G., Araújo M. & Lindhe, J. (2003) Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* **30**, 809–818.

Chauhan, A. S., Maria A., Managutti, A.(2015) Efficacy of Simvastatin in Bone Regeneration After Surgical Removal of Mandibular Third Molars: A Clinical Pilot Study. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery* **14**(3), 578–585.

Chiapasco M. (2006) Atlas de Cirurgia Oral. 1ª Edição, p. 369, Editora Santos.

Chiapasco, M., Casentini, P. & Zaniboni, M. (2009) Bone augmentation procedures in implant dentistry. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **24**, 237-259.

Davies J. E., Matta R., Mendes V. C., Perri de Carvalho P. S. (2010) Development, characterization and clinical use of a biodegradable composite scaffold for bone engineering in oro-maxillo-facial surgery. *Organogenesis* **6**, 161-166.

Diès F., Etienne D., Abboud N. B., Ouhayoun J. P. (1996) Bone regeneration in extraction sites after immediate placement of an e-PTFE membrane with or without a biomaterial. A report on 12 consecutive cases. *Clinical Oral Implants Research* **7**(3), 277-285.

Eberli, D., Freitas, F. L., Atala, A., Yoo, J. J. (2009) Composite scaffolds for the engineering of hollow organs and tissues. *Methods* **47**, 109-115.

Encarnação I. C., Ferreira Xavier C. C., Bobinski F., Dos Santos A. R., Corrêa M., de Freitas S. F., Aragonez A., Goldfeder E. M., Cordeiro M. M. (2016a) Analysis of Bone Repair and Inflammatory Process Caused by Simvastatin Combined with PLGA+HA+bTCP Scaffold. *Implant Dentistry* **25**, 1-9.

Encarnação I. C., Aragonez A., Moreira A. C., Fernandes C. P., Fredel, M. C., Müller C. M. O. Cordeiro M. M. R. (2016b) Análise das propriedades físico-químicas e mecânicas de arcabouço poroso composto de PLGA, cerâmica bifásica e sinvastatina de liberação lenta para engenharia de tecido ósseo.

Fickl, S., Zuhr, O., Wachtel, H., Bolz, W. & Huerzeler, M. (2008a) Tissue alterations after tooth extraction with and without surgical trauma: a volumetric study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **35**, 356–363.

Fickl, S., Zuhr, O., Wachtel, H., Stappert, C. F., Stein, J. M. & Hürzeler, M. B. (2008c) Dimensional changes of the alveolar ridge contour after

different socket preservation techniques. *Journal of Clinical Periodontology* **35**, 906–913.

Froum S., Cho S. C., Elian N., Rosenberg E., Rohrer M., Tarnow D. (2004) Extraction sockets and implantation of hydroxyapatites with membrane barriers: a histologic study. *Implant Dentistry* **13**, 153-164.

Gómez, G., Korkiakoski, S., González, M. M., Lansman, S., Ella, V., Salo, T., Kellomaki, M., Ashammakhi, N., Arnaud, E. (2006) Effect of FGF and polylactide scaffolds on calvarial bone healing with growth factor on biodegradable polymer. *J Craniofacial Surg* **17**, 935-942.

Grunder U., Gracis S., Capelli M. (2005) Influence of the 3-D bone-to-implant relationship on esthetics. *Int J Periodontics Restorative Dent* **25**, 113–119.

Guarnieri R., Pecora G., Fini M., Aldini N. N., Giardino R., Orsini G., Piattelli A. (2004) Medical grade calcium sulfate hemihydrate in healing of human extraction sockets: clinical and histological observations at 3 months. *Journal of Periodontology* **75**, 902-908.

Holy, C. E., Dang, S. M., Davies, J. E., Shoichet, M. (1999) In vitro degradation of a novel poly(lactide-co-glycolide) 75/25 foam. *Biomaterials* **20**, 1177-1185.

Hutmacher D. W. (2000) Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* **21**, 2529-43.

Iasella J. M., Greenwell H., Miller R. L., Hill M., Drisko C., Bohra A. A., Scheetz J. P. (2003) Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. *Journal of Periodontology* **74**, 990-999.

Jung, R. E., Siegenthaler, D. W. & Hammerle, C. H. (2004) Postextraction tissue management: a soft tissue punch technique. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* **24**, 545–553.

Jung R. E., Philipp A., Annen B. M., Signorelli L., Thoma D. S., Hämmerle C. H. F., Attin T., Schmidlin P. (2013) Radiographic

evaluation of different techniques for ridge preservation after tooth extraction: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **40**, 90–98.

Khan, R., Witek L., Breit M., Colon D., Tovar N., Janal M. N., Jimbo R., Coelho P. G. Bone regenerative potential of modified biphasic graft materials. *Implant Dentistry* **24**(2), 149-154.

Lansman, S., Paakko, P., Ryhanen, J., Kellomaki, M., Waris, E., Tormala, P., Waris, T. & Ashmmakhi, N. (2006) Poly-L/D-lactide (PLDLA) fibrous implants: histological evaluation in the subcuts of experimental design. *Journal of Craniofacial Surgery* **17**, 1121-28.

Lekovic, V., Kenney, E. B., Weinlaender, M., Han, T., Klokkevold, P., Nedic, M. & Orsini, M. (1997) A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. *Journal of Periodontology* **68**, 563–570.

Lima, C. E. V. C., Calixtro, J. C. & Anbinder, A. L. (2011) Influence of the association between simvastatin and demineralized bovine bone matrix on bone repair in rats. *Brazilian Oral Research* **25**, 42-8.

Maciel-Oliveira, N., Bradaschia-Correa, V. & Arana-Chavez V. E. (2011) Early alveolar bone regeneration in rats after topical administration of simvastatin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics* **112**, 170-9.

Maeda, T., Matsunuma, A., Kurahashi, I., Yanagawa, T., Yoshida, H. & Horiuchi, N. (2004) Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells. *Journal of Cellular Biochemistry* **92**, 458–471.

Mansour G., Al Ashwah A., Koura A. (2014) Evaluation of simvastatin grafting around immediate dental implants in dogs. *Implant Dentistry* **23**(2):195-199.

Messias, A. D, Aragones, A, Duek, E. A. R. (2009) PLGA-Hydroxyapatite composite scaffolds for osteoblast-like cells. *Key Engineering Materials* **396**, 461-464.

Mladenović Ž., Sahlin-Platt A., Andersson B., Johansson A., Björn E., Ransjö M. (2011) In vitro study of the biological interface of Bio-Oss: implications of the experimental setup. *Clinical Oral Implants Research* **24**(3), 329-35.

Mundy, G., Garrett, R. & Harris, S. (1999) Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* **286**, 1946–1949.

Nair, P. N., Luder, H. U., Maspero, F. A., Fischer, J. H., Schug, J. (2006) Bio-compatibility of Beta-tricalcium phosphate root replicas in porcine tooth extraction sockets – a correlative histological, ultrastructural, and x-ray microanalytical pilot study. *J Biomater Appl* **20**, 307–324.

Nyan, M., Sato, D., Oda, M., Machida, T., Kobayashi, H., Nakamura, T. (2007) Bone formation with the combination of simvastatin and calcium sulfate in critical-sized rat calvarial defect. *Journal of Pharmacological Sciences* **104**, 384-6.

Ohnaka, K., Shimoda, S., Nawata, H., Shimokawa, H., Kaibuchi, K., Iwamoto, Y. & Takayanagi, R. (2001) Pitavastatin enhanced BMP-2 and osteocalcin expression by inhibition of Rho-associated kinase in human osteoblasts. *Biochemical Biophysical Research Communication* **287**, 337–342.

Pietrokovski, J. & Massler, M. (1967) Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *Journal of Prosthetic Dentistry* **17**, 21–27.

Pinho M. N., Roriz V. L., Novaes A. B. Jr., Taba M. Jr., Grisi M. F., de Souza S. L., Palioto D. B. (2006) Titanium membranes in prevention of alveolar collapse after tooth extraction. *Implant Dentistry* **15**(1), 53-61.

Rothamel, D., Schwarz, F., Herten, M., Chiriac, G., Pakravan, N., Sager, M., Becker, J. (2007) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Mund Kiefer Gesichtschir* **11**(2), 89-97.

Saito, E., Kang, H., Taboas, J. M., Diggs, A., Flanagan, C. L., Hollister, S. J. (2010) Experimental and computational characterization of designed and fabricated 50:50 PLGA porous scaffolds for human trabecular bone applications. *J Mater Sci Mater Med* **21**, 2371-2383.

Sándor G. K., Kainulainen V. T., Queiroz J. O., Carmichael R. P., Oikarinen K. S. (2003) Preservation of ridge dimensions following grafting with coral granules of 48 post-traumatic and post-extraction dento-alveolar defects. *Dental Traumatology* **19**(4), 221-7.

Schneider D., Weber F. E., Grunder U., Andreoni C., Burkhardt R., Jung R. E. (2014) A randomized controlled clinical multicenter trial comparing the clinical and histological performance of a new, modified polylactide-co-glycolide acid membrane to an expanded polytetrafluorethylene membrane in guided bone regeneration procedures. *Clinical Oral Implants Research* **25**(2), 150-158.

Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L. & Karring, T. (2003) Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* **23**, 313–323.

Stein, D., Lee, Y., Schmidt, M. J., Killpack, B., Genrich, M. A. & Narayana, N. (2005) Local simvastatin effects on mandibular growth and inflammation. *Journal Periodontology* **76**, 1861-1870.

Sui, G., Yang, X., Mei, F., Hu, X., Cheng, G., Deng, X. & Ryu, S. (2007) Poly-L-lactic acid/hydroxyapatite hybrid membrane for bone tissue regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research* **82**, 445–454.

Tan, W. L., Wong, T. L., Wong, M. C. & Lang, N. P. (2012) A systematic review of post- extractional alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clinical Oral Implants Research* **23**(Suppl 5), 1–21.

Thylin, M. R., McConnell, J. C., Schmid, M. J., Reckling, R. R., Ojha, J. & Bhattacharyya, I. (2002) Effects of simvastatin gels on murine calvarial bone. *Journal of Periodontology* **73**, 1141-8.

Van der Weijden, F., Dell’Acqua, F. & Slot, D. E. (2009) Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 1048–1058.

Vignoletti, F., Matesanz, P., Rodrigo, D., Figuero, E., Martin, C. & Sanz, M. (2012) Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. *Clinical Oral Implants Research* **23**(Suppl 5), 22–38.

Zhu X. Y., Daghini E., Chade A. R., Lavi R., Napoli C., Lerman A., Lerman L. O. (2008) Disparate effects of simvastatin on angiogenesis during hypoxia and inflammation. *Life Science* **83**(23-24), 801-899.

FIGURAS

Figura 1

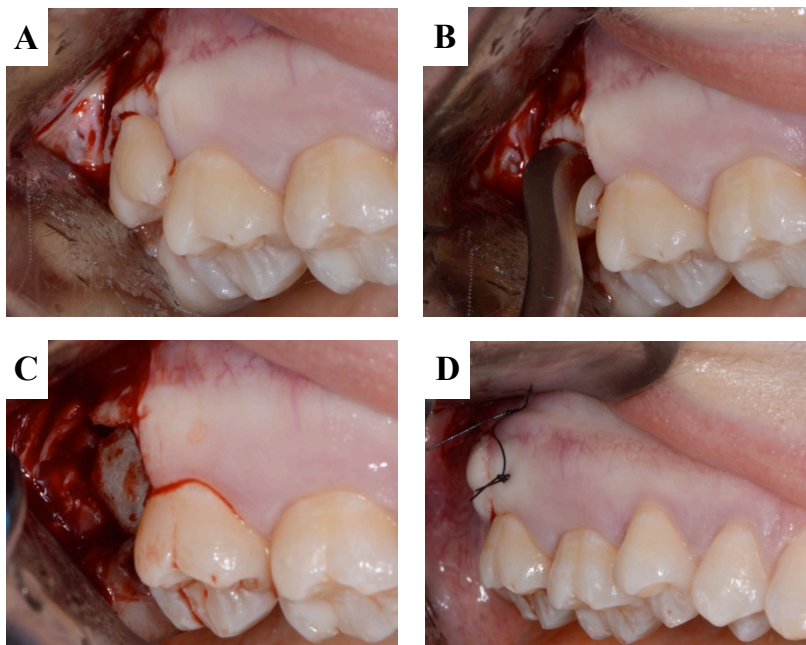


Figura 1: Procedimento cirúrgico. **(A)** Elevação do retalho. **(B)** Inserção de alavanca para realização da exodontia. **(C)** Colocação do enxerto PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina 2,0%. **(D)** Fechamento primário com sutura.

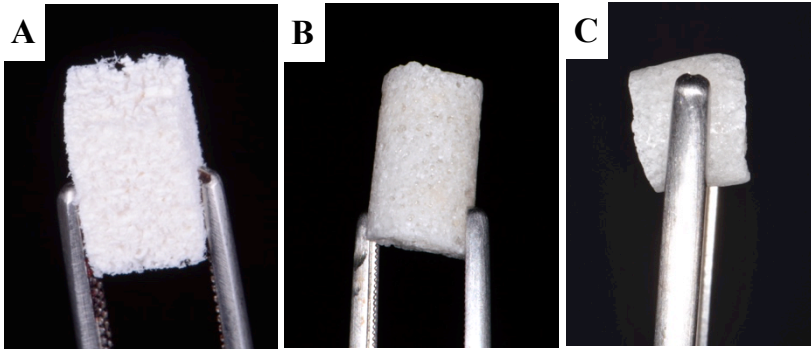
Figura 2

Figura 2: Biomateriais de enxertia óssea utilizados. **(A)** Bio-Oss[®] Collagen. **(B)** PLGA/HA/ β -TCP. **(C)** PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina 2,0%.

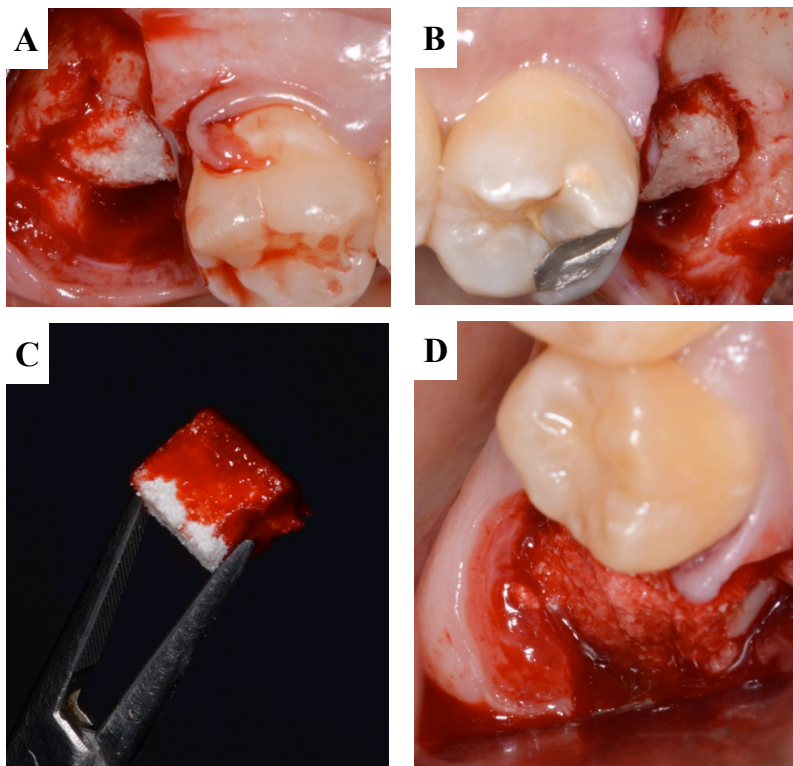
Figura 3

Figura 3: Diferentes capacidades de absorção do sangue pelos biomateriais. (A) PLGA/HA/ β -TCP. (B) PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina 2,0%. (C) e (D) Bio-Oss[®] Collagen.

Figura 4

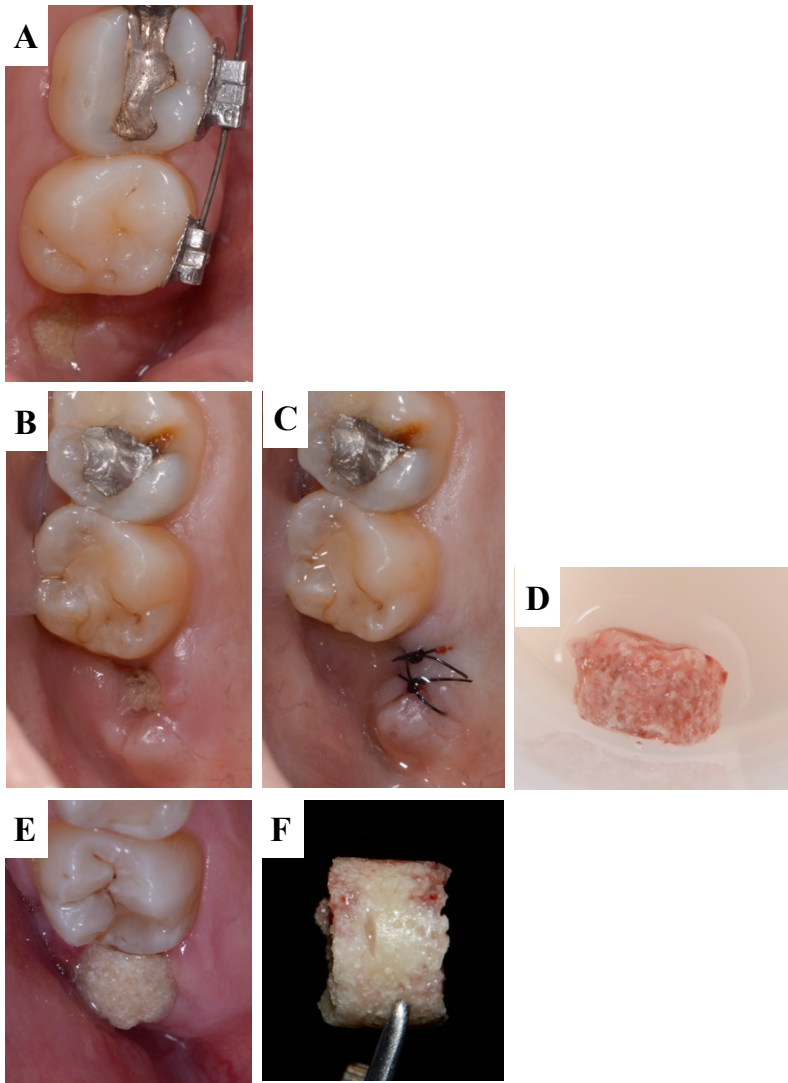


Figura 4 - Enxertos perdidos. **(A)** PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina 2,0% perdido após 14 dias. **(B)**, **(C)** e **(D)** PLGA/HA/ β -TCP perdido após 30 dias. **(E)** e **(F)** PLGA/HA/ β -TCP perdido após 66 dias.

Figura 5

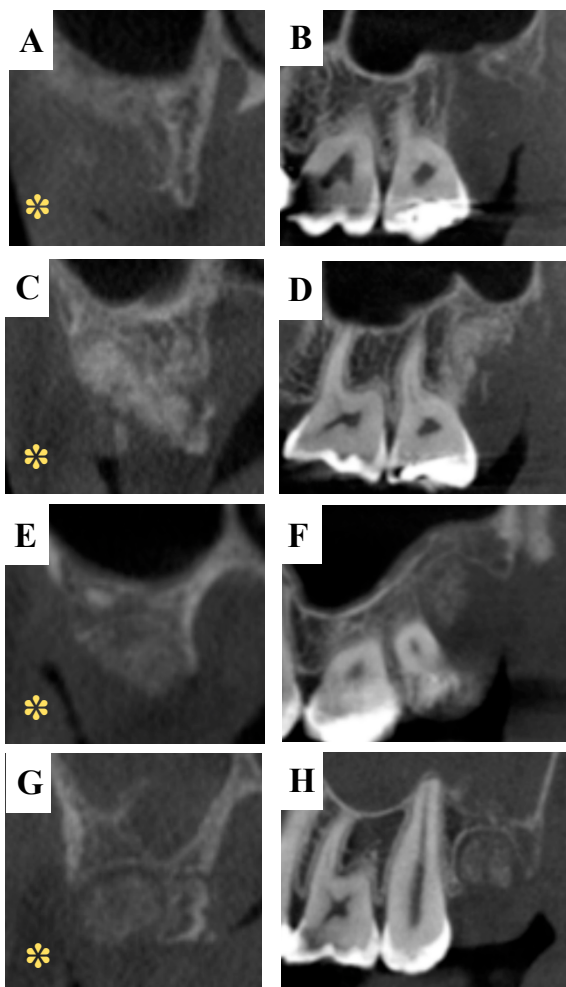


Figura 5: Imagens de Tomografia Computadorizada por Feixe Cônic (CBCT) das quatro modalidades de tratamento aos 3 meses *lado vestibular. **(A)** Controle - corte coronal **(B)** Control - corte sagital. **(C)** OBMD-C - corte coronal. **(D)** OBMD-C - corte sagital. **(E)** PLGA/HA - corte coronal. **(F)** PLGA/HA - corte sagital. **(G)** PLGA/HA/S - corte coronal. **(H)** PLGA/HA/S - corte sagital.

TABELAS

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes e região a operar de acordo com as modalidades de tratamento. Florianópolis, 2015.

Parâmetros dos pacientes	Controle	OBMD-C	PLGA/HA	PLGA/HA/S
Homem/Mulher	5/1	2/1	2/7	1/7
Fumante/Não fumante	1/5	1/2	1/8	1/7
Posição dentária: erupcionado/incluso	0/6	2/1	4/5	4/4
Direito/Esquerdo	2/4	2/1	5/4	4/4
Razão de extração: ortodontia/preventiva/cáries	4/1/1	0/2/1	5/3/1	3/4/1

OBMD-C, Osso bovino mineral desproteínizado com 10% de colágeno.

PLGA/HA – Poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a enxerto ósseo cerâmico bifásico (sintético) composto por hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio.

PLGA/HA/S – Poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a enxerto ósseo cerâmico bifásico (sintético) composto por hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, com adição de sinvastatina a 2,0%.

Tabela 2 - Distribuição das variáveis clínicas de acordo com o lado operado. Florianópolis, 2015.

Complicações	Direito (n=13)	Esquerdo (n=13)
Perda	30,8%	30,8%
Dor	15,4%	7,7%
Infecção	7,7%	0,0%

Tabela 3 - Associação das variáveis clínicas com as modalidades de tratamento. Florianópolis, 2015.

	GRUPOS								PVALOR*
	Controle		OBMD-C		PLGA/HA		PLGA/HA/S		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Perda do Enxerto									0,023*
Não	6	33,3	3	16,7	3	16,7	6	33,3	
Sim	0	0,0	0	0,0	6	75,0	2	25,0	
Dor									0,093
Não	6	26,1	3	13,0	6	26,1	8	34,8	
Sim	0	0,0	0	0,0	3	100,0	0	0,0	
Infecção									0,580
Não	6	24,0	3	12,0	8	32,0	8	32,0	
Sim	0	0,0	0	0,0	1	100,0	0	0,0	

* Estatisticamente significativo para um $\alpha < 0,05$, pelo teste chi-quadrado de Pearson.

OBMD-C, Osso bovino mineral desproteínizado com 10% de colágeno.

PLGA/HA – Poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a enxerto ósseo cerâmico bifásico (sintético) composto por hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio.

PLGA/HA/S – Poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a enxerto ósseo cerâmico bifásico (sintético) composto por hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, com adição de sinvastatina a 2,0%.

ARTICLE IN ENGLISH

The following manuscript has been formatted in accordance with the Writing Guidelines of the periodical The Journal of Clinical Periodontology.

RIDGE PRESERVATION FOLLOWING MAXILLARY THIRD MOLAR EXTRACTION USING PLGA/HA/ β -TCP SCAFFOLDS WITH AND WITHOUT SIMVASTATIN: A CLINICAL AND RADIOGRAPHIC STUDY IN HUMANS.

Miguel Alexandre Pereira Pinto Noronha de Oliveira *

Levy Hermes Rau **

Aline Marodin ***

Márcio Corrêa ****

Letícia Ruhland Corrêa *****

Águedo Aragones *****

Ricardo de Souza Magini *****

* Master's student in Implant Dentistry at Federal University of Santa Catarina – UFSC – Florianópolis – Santa Catarina – Brazil. (noronha.miguel@hotmail.com)

** Program Director, Department of Maxillofacial Surgery, Joana de Gusmao Children Hospital - Florianópolis – Santa Catarina – Brazil. (levyrau@hotmail.com)

*** Chief Resident, Department of Maxillofacial Surgery, Joana de Gusmao Children Hospital, Florianópolis – Santa Catarina – Brazil (alinemarodin@hotmail.com)

**** Associate Professor of the Dentistry Graduation Program at Federal University of Santa Catarina – UFSC – Florianópolis – Santa Catarina – Brazil. (profmarcioufsc@gmail.com)

***** Doctorate in Dentistry Clinic/Radiology at Federal University of Rio Grande do Sul - UFRGS - Porto Alegre - Brazil. (leticia Ruhland@gmail.com)

***** CNPq DT-2 Researcher on Mechanical Engineering Department at the Technological Center, Federal University of Santa Catarina – UFSC – Florianópolis – Santa Catarina – Brazil (aguedo@terra.com.br)

***** Full Professor of the Dentistry Post-Graduation Program at Federal University of Santa Catarina – UFSC – Florianópolis – Santa Catarina – Brazil. (ricardo.magini@gmail.com)

Brief title: Ridge preservation with PLGA/HA/ β -TCP and simvastatin.

Key-words: alveolar ridge augmentation, β -TCP, HA, PLGA, preservation, simvastatin, third molar, tissue scaffolds.

ABSTRACT

This study aimed to evaluate clinically and radiographically, in humans, the healing of maxillary third molars post-extraction sockets following application of different ridge preservation techniques 3 months after tooth extraction. Twenty six sockets (13 patients) were randomly assigned to 4 treatment modalities: deproteinized bovine bone mineral with 10% collagen (DBBM-C), Poly(D,L-lactide-co-glycolide) with hydroxyapatite/ β -TCP scaffold (PLGA/HA), PLGA/HA/ β -TCP with 2.0% simvastatin scaffold (PLGA/HA/S) and spontaneous healing (control). Clinical complications were assessed during the entire follow-up and Cone-beam computed tomography scans were taken in 5 patients 3 months after surgeries in order to observe the different groups' behaviours. For statistical purposes Fisher's exact test was used ($p < 0.05$). After 3 months, 6 of the 9 grafts from PLGA/HA group were lost ($p < 0.05$). PLGA/HA/S's loss was only 2 of 8 ($p > 0.05$), but no loss was observed in the DBBM-C group. Pain was present in 3 of the 8 sites that lost the graft (37.5%) ($p > 0.05$) and infection in 1 of the 8 (12.5%) ($p > 0.05$), with these only occurring in the PLGA/HA group. PLGA/HA/ β -TCP scaffolds, with and without simvastatin, did not allow to obtain the initial expected results and showed more complications. However, PLGA/HA/ β -TCP with simvastatin showed to be superior, with less clinical complications than the PLGA/HA/ β -TCP without simvastatin.

CLINICAL RELEVANCE

Scientific rationale for the study: Ridge preservation techniques can be used in order to obtain better results with dental implants. The association of scaffolds and simvastatin have shown great potential for bone formation. However, there are no human studies evaluating the association of simvastatin with PLGA/HA/ β -TCP scaffolds.

Principal findings: PLGA/HA/ β -TCP scaffolds, with and without simvastatin, did show more complications when compared to the other groups. PLGA/HA/ β -TCP scaffolds with simvastatin showed to be superior, with less clinical complications, when compared to the PLGA/HA/ β -TCP scaffolds without simvastatin.

Practical implications: PLGA/HA/ β -TCP scaffolds with higher porosity and bigger samples are needed in future studies.

INTRODUCTION

After tooth loss, the correspondent alveolar process suffers an unavoidable atrophy that occurs both in height and width and may vary from person to person (Pietrokovski & Massler 1967, Cardaropoli et al. 2003, Schropp et al. 2003, Araújo & Lindhe 2005, Van der Weijden et al. 2009). This remodeling may sometimes difficult or even preclude the rehabilitation with dental implants (Grunder et al. 2005). Thus, there is the need of resorting to bone reconstruction procedures to compensate this atrophy (Chiapasco et al. 2009). The material used for this reason can be divided, according to its origin, in autogenous, xenogenous, and synthetic or aloplastic (Diès et al. 1996, Becker et al. 1998, Artzi et al. 2000, Iasella et al. 2003, Sándor et al. 2003, Froum et al. 2004, Guarnieri et al. 2004, Pinho et al. 2006, Mladenović et al. 2011). However, literature does not specify which biomaterial or surgical technique should be used (Vignoletti et al. 2012). Despite being considered the “gold standard”, autogenous bone presents some disadvantages such as its available quantity and frequent morbidity and local complications arising from its collection. If higher volume stability in grafted sites is desired, biomaterials with a low resorption rate such as xenogenous or ceramics should be chosen (Jung et al. 2013, Brogгинi et al. 2014, Araújo et al. 2015). Ceramic scaffolds have been the subject of intensive research. Scaffolds play a role of osteoconduction in bone neoformation as they allow the recruitment and migration of osteogenic cells (Davies et al 2010). Poly(D,L-lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite (PLGA/HA) has been extensively studied due to its excellent physical, chemical and biological properties, biocompatibility, control of its macro and microstructure and incorporation and liberation of proteins with substantivity (Lansman et al. 2006, Gómez et al. 2006). These characteristics make PLGA a good osteoconductive biomaterial (Hutmacher 2000). When the polymers’ (PLGA) physical properties were associated to the chemical ones of hydroxyapatite (HA), creating PLGA/HA, there was a greater growth of osteoblasts, cellular adhesion and synthesis of collagen when compared to the use of PLGA without HA (Sui et al 2007, Messias et al. 2009).

These scaffolds can carry osteoinductive substances such as growth factors. (Eberli et al. 2009, Saito et al. 2010). A substance proved to have osteoinductive properties is simvastatin. Despite commonly used to treat hypercholesterolemia, this statin has several pleiotropic effects, such as the osteoinduction. *In vitro* and *in vivo* tests done in rats demonstrated that simvastatin is capable of rising the

expression level of BMPs in bone cells, and so, to stimulate bone formation (Mundy et al. 1999; Maciel-Oliveira et al. 2011, Mansour et al. 2014). Due to easy production, its price is around 16,000 lower than rhBMP-2 (Mundy et al. 1999). Like growth factors, simvastatin requires a suitable carrier that controls its local releasing to allow bone formation. Simvastatin local concentration and effectiveness depend on the scaffold used (Lima et al. 2011). Some studies have shown that lower doses of simvastatin do not have an impact on bone formation while higher ones lead to higher cytotoxicity and stimulation of inflammation, thus delaying the repair process (Thylin et al. 2002, Stein et al. 2005, Nyan et al. 2007). The literature is still scarce regarding the use of simvastatin as graft material for stimulating bone regeneration in clinical studies conducted in humans.

This study aimed to assess clinically and radiographically, in humans, the osteoconductive capacity of PLGA/HA/ β -TCP, used alone or in combination with 2.0 % simvastatin, and possible adverse inflammatory reactions related to their use.

MATERIALS AND METHODS

Study design

This study was a prospective, controlled, randomized, split-mouth, clinical investigation according to the Helsinki protocol. All procedures and materials were submitted and approved by the Ethics Committee on Research with Human Beings of the Federal University of Santa Catarina (CEPSH-UFSC), reference number 931.099. Informed consent was obtained from all patients prior to the start of the study. Regarding the randomization, a draft with numbered papers was done by an independent person that was unaware of the study's protocol.

Participants and treatment protocol

Thirteen patients, with a mean age of 22.8 ± 3.7 years, requiring bilateral extraction of maxillary third molars were recruited. The diagnosed indications for tooth extractions were caries, orthodontic and preventive reasons. As a prerequisite for inclusion in the study, patients had to be systemically healthy and not smoking more than 20 cigarettes/day. Only patients presenting bilateral maxillary third molars, independently of being erupted or not, were included. Distribution of

patients included and surgical sites according to treatment modalities is presented in Table 1. Patients not meeting all inclusion criteria were excluded from the study. For this study the following exclusion criteria was used:

- Active smokers (> 20 cigarettes / day);
- Insulin-dependent diabetes mellitus;
- History of malignant disease, radiotherapy or chemotherapy in the last 5 years;
- Pregnancy or hospitalized patient;
- Premature menopause;
- In medical treatment with drugs that affect bone remodeling or mucosal healing;
- Metabolic diseases of the connective tissue;
- Active/potential oral infection;
- Substance abuse;
- Patients allergic to any component of the tested materials used;
- Involvement in other clinical researches.

Surgeries were performed at the private clinic Faccial – Clínica Levy Rau, Baía Sul Medical Center, Florianópolis, Brazil. The chosen surgical approach for dental extraction, a previously described technique (Chiapasco et al. 2006), consisted in making a triangular access flap in which a releasing incision was made on the tuberosity and other one distal to the 2nd molar, preserving so the periodontium of adjacent erupted molars (Fig. 1a,b).

After tooth extraction, careful removal of the granulation tissue with manual instruments and irrigation with water for injection (B. Braun, Melsungen AG, Germany), each extraction site was randomly assigned to one of three test ridge preservation techniques or the control group according to the numbered papers (Fig. 1c and 2):

- Deproteinized bovine bone mineral with 10% collagen (Bio-Oss[®] Collagen, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) at the bone crest level (DBBM-C)
- Poly(D,L-lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite/ β -TCP (PLGA/HA/ β -TCP) scaffold below the bone crest level (PLGA/HA)
- Poly(D,L-lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite/ β -TCP (PLGA/HA/ β -TCP) with 2.0% simvastatin scaffold below the bone crest level (PLGA/HA/S).

For the control group, no further treatment was applied and the healing occurred in a spontaneous way by the formation of a clot within the socket.

PLGA/HA and PLGA/HA/S group test grafts were assembled at the Center for Research in Ceramic and Composites Materials (CERMAT), Mechanical Engineering Department, Federal University of Santa Catarina.

Regeneration biomaterials were applied as follows: in the group DBBM-C, Bio-Oss[®] Collagen was applied within the extraction bone envelope, in a position never coronal to the bone margin, according to a previously described technique (Jung et al. 2004). In the groups PLGA/HA and PLGA/HA/S, after removing the biomaterials from the package, these were cut according to the dimension of the grafting site and applied directly, always below the coronal margin of the bone crest. Soft tissues' borders were repositioned and sutured with single interrupted sutures (Nylon No. 5/0, Ethicon, Johnson&Johnson Company, SP, Brazil).

Patients were instructed to rinse thrice a day with 0.12% Chlorhexidine Digluconate (Noplak, Laboratório Daudt Oliveira, Rio de Janeiro, Brazil) for a week. They received also pain killer medication (30 mg Tylex), antibiotics (500 mg Amoxiciline) thrice a day for 7 days and anti-inflammatory medication (2 mg Dexametasone) twice a day for 3 days. All patients were recalled after 7 to 10 days for suture removal and check-up. After 3 months, a CBCT scan was taken in order to observe the behavior of the different biomaterials used in bone formation.

Follow-up

Subsequent follow-ups were held at the Clinic of Master in Implantology, Center for Study and Research in Dental Implants (CEPID), Federal University of Santa Catarina and also at the private Clinic Faccial – Clínica Levy Rau, Baía Sul Medical Center.

Analyses

Clinical evaluation

All patients were evaluated previously, during and 1 and 3 months after surgery. Evaluation was carried out by means of intra-oral examination and photographs in order to assess possible complications (inflammation, infection, dehiscence and loss of graft). By loss of graft

is meant both early loss, occurred in the first post-operative week, as well as a late loss, occurred after this period. Patients were also asked during the follow-up period if they had any type of pain on the surgical site or near to it.

CBCT evaluation

Cone-beam computed tomography (CBCT) scan images were obtained by using a PreXion 3D Dental CBCT Scanner (Prexion, Inc., San Mateo, CA, USA), set in 90 kVp and 4 mA. Exposure time was 10 s, with a FOV of 8 cm and an image resolution (voxel) of 0.1 mm.

Statistical analysis of data

Data were entered into an Excel[®] spreadsheet where data consistency was held. Then they were exported to SPSS[®] 20.0 software. A descriptive analysis of variables was performed. To verify the association of the variables with the outcome, a Pearson Chi-square test or Fisher Exact test was used, considering statistically significant associations with $p < 0.05$.

RESULTS

All patients completed the study and passed the 3-month follow-up period. No systemic complications were recorded among patients due to the use of regenerative biomaterials.

Adverse effects assessment

Despite the absence of complications at a systemic level, some adverse effects were observed on the surgical site. While on the control and DBBM-C groups no complications were seen during follow-up, the same cannot be said about PLGA/HA and PLGA/HA/S test groups. In these latter groups, some patients experienced some type of discomfort like pain, infection and graft loss (Fig. 4).

Table 2 presents the distribution of clinical variables according to the surgical site.

Regarding infection, it showed to be present only in one case, in the PLGA/HA group, but it was not statistically significant when compared to the other groups ($p > 0.05$) (Table 3).

Pain was also only observed in the PLGA/HA group. However, this was not a statistically significant result when compared with the remaining groups ($p > 0.05$) (Table 3).

The loss of the regenerative biomaterial occurred only in the PLGA/HA and PLGA/HA/S groups. Nevertheless, it could be observed in a statistically significant way that this loss was more associated with PLGA/HA, having 6 of the 9 grafts been lost ($p < 0.05$). In the PLGA/HA/S group, 2 of the 8 grafts were lost, however a non statistically significant result ($p > 0.05$) (Table 3).

The mean time for graft loss was 46 ± 39 days in the PLGA/HA group and 45 ± 44 days in the PLGA/HA/S one.

Lost grafts were stored in 10% buffered formalin for future histological analysis, which might help to understand the reason of failure.

CBCT analyses

Representative CBCTs of all treatment modalities taken after a 3-month follow-up are presented in Fig. 5.

In the control sites it was still possible to observe the bone defect that resulted from the extraction. However, a probable bone formation could be seen in the more apical region (Fig. 5a,b).

CBCT images related to OBMD-C group show that Bio-Oss[®] Collagen was able to compensate, to a certain extent, the inevitable atrophy experienced by post-extraction bone ridge (Fig. 5c,d).

Regarding biomaterials used in PLGA/HA and PLGA/HA/S test groups, the CBCTs seem to suggest that they failed to form bone. It was possible to observe an enucleation of the graft material, compatible with the formation of connective tissue, rather than the desired bone formation (Fig. 5e,f,g,h).

DISCUSSION

This study showed that the use of grafts from PLGA/HA and PLGA/HA/S groups for ridge preservation did not allow the initially expected bone formation on site and generated post-operative complications when compared with DBBM-C and control groups, 3 months after tooth extraction.

After tooth extraction, there is a reduction of the bone crest, more pronounced in the horizontal than the vertical level. According to the literature, this bone loss occurs rapidly during the first 3 to 6 months after extraction but it is followed by a more gradual decrease. The non use of a graft material for filling the extraction socket leads to a 29-63 % horizontal reduction of the bone crest dimension after 6-7 months (Tan et al. 2012).

Some studies have shown that using a low resorption rate xenogenous graft such as Bio-Oss[®] Collagen (Geistlich, Wolhusen, Switzerland) allowed to some extent to keep the size of the bone crest and preserve its profile, offsetting, at least temporarily, its marginal contraction (Araújo et al. 2008, Fickl et al. 2008c). These results are in agreement with what we observed in our work. In the present study, CBCT scans showed a continuity of the basal bone with the Bio-Oss[®] Collagen, without the radiolucency that is characteristic of connective tissue formation separating these two. This observation might suggest that bone mineralization occurred, but such conclusion can only be taken after histologic examination of a biopsy taken from the grafted site. Artzi et al. observed by histology that particles of Bio-Oss[®] were still present after 9 months and that at this timepoint the graft material had not resorbed completely (Artzi et al. 2000). As expected, in our study no graft loss or complication related to the DBBM-C group could be seen.

Tissue engineering has been working to develop possible alternatives like Poly(D,L-lactide-co-glycolide)/hydroxyapatite (PLGA/HA) scaffolds. These are biocompatible materials that demonstrated to allow a significant growth of osteoblasts, cellular adhesion and synthesis of collagen (Messias et al. 2009). Scaffolds play a role of osteoconduction in bone neoformation. Ideally, they should present mechanical resistance, porosity, biocompatibility and capacity for carrying osteoinductive substances (Eberli et al. 2009; Saito et al. 2010). PLGA's degradation time is directly related to the proportion of monomers used in its production. The higher the concentration of lactic units the slower is PLGA's degradation rate, compared to materials where glycolide units predominate. Holy et al. have shown that PLGA 75/25 foams maintained their 3-D morphology at physiological pH for over 6 months, which is an important feature for tissue engineering applications (Holy et al. 1999). In the present study, we used PLGA 82/12 scaffolds, that is, 82% corresponding to the lactic monomer and 18% to the glycolide one. This would lead, in theory, to a very slow degradation which is important in order to preserve crest's morphology for a longer period of time. To make the scaffold, HA/ β -TCP was added

to the PLGA in a 70/30 proportion. In this proportion, the HA/ β -TCP presents a low resorption rate. This low resorption is due to the HA that has the function of maintaining the necessary volume so that the β -TCP resorption, a faster one, can occur and thus this β -TCP can be replaced by bone.

Regarding porosity, it has been shown that a high macroporosity, ranging from 81% to 91%, and an ability to wick up blood are essential so the scaffold can act as both a clot-retention device and an osteoconductive support for host bone growth (Davies et al 2010). However, the scaffolds used in the present study had a porosity of only 30% and great stiffness that can explain the losses occurred. Encarnação et al. observed, *in vitro*, that scaffolds with a 70% porosity presented a slow, gradual and prolonged release of 2, 5 and 8% simvastatin. They observed also that scaffolds with this porosity showed no mechanical changes and that simvastatin presented a strong chemical interaction with these scaffolds (Encarnação et al. 2016b).

As referred, these scaffolds can carry osteoinductive substances like simvastatin (Mundy et al. 1999; Ohnaka et al. 2001; Maeda et al. 2004; Maciel-Oliveira et al. 2011; Mansour et al. 2014). However, a major difficulty involves the pursuit for the optimal dose that can produce osteoinduction without bringing harmful side effects.

Some studies have shown that lower doses of simvastatin do not have an impact on bone formation while higher ones lead to higher cytotoxicity and stimulation of inflammation, thus delaying the repair process (Thylin et al. 2002, Stein et al. 2005, Nyan et al. 2007). In these studies, conducted in rats, authors used simvastatin incorporated in different types of carriers with doses between 0.1 and 2.2 mg. However, other authors have observed that the same dose of simvastatin can promote or inhibit angiogenesis, depending if in the medium hypoxia (angiogenesis promotion) or inflammation (angiogenesis inhibition) is present (Zhu et al. 2008). Thus, according to the latter authors, the use of simvastatin has a beneficial role, regardless of the situation found on the site to regenerate. In our study, the greatest graft loss was associated, in a statistically significant manner, to the biomaterial used in the PLGA/HA group, which accounted for 75% of the total losses ($p < 0.05$). The remaining losses (25%) occurred in PLGA/HA/S group, however a non-significant result ($p > 0.05$). This difference in losses between these groups could presuppose a certain beneficial effect of the simvastatin incorporated in the scaffold. However, in order to confirm this hypothesis, the sample size used should be higher. Encarnação et al., in a study conducted in 2016 in rats, found that simvastatin, at a

concentration of 4 mg/mL (2.0%), included in PLGA/HA/ β -TCP scaffolds increased the expression of inflammatory cytokines in adjacent tissues and did not lead to an improvement in bone repair. However, after 60 days, the simvastatin group showed a similar bone formation compared to the control groups (Encarnação et al. 2016a). In contrast, in our study, which used the same dose of simvastatin (2.0%), PLGA/HA/S group did not provide an identical bone formation compared to the control groups after 90 days. The difference may lie in the following facts: our study was conducted in humans, and so a higher dose would be required in order to occur such beneficial effect; PLGA/HA/ β -TCP scaffolds presented small porosity (30%), which would impair osteoconduction and the osteoinductive effect of simvastatin.

Few are the studies performed in humans described in the literature. In 2015, a split-mouth study in humans aimed to evaluate the effect of simvastatin use on the healing of mandibular third molar post-extraction sockets 3 months after tooth extraction. To do so, intra oral periapical radiographs were taken and a gray level histogram was assessed. That study showed that a 10 mg dose of simvastatin, incorporated in a hemostatic sponge, promoted significantly faster bone regeneration than the control group (spontaneous healing) (Chauhan et al. 2015). This work corroborates our study, with regard to the absence of pain or any systemic problem by patients belonging to the group where simvastatin was used (PLGA/HA/S). However, literature shows that when it comes to evaluating the dimensional changes after filling the post-extraction socket with regenerative material, the location of choice should not be the third molar region. This is due to the greater difficulty of the procedure: a difficult access region; possibility of the buccal bone plate fracture during surgery; releasing incision with reduced blood supply to the site; greater difficulty in primary wound closure. As it is known, although it is hard to maintain the original dimensions of bone crest, when no releasing incision is made, it is possible to reduce, at a certain point, the volumetric changes of the buccal bone plate (Fickl et al. 2008a). On the other side, the flap elevation during extraction enables a further ridge increase by placing biomaterial externally to the buccal bone plate. Interestingly, Vignoletti et al., in a 2012 systematic review, observed that less horizontal bone crest changes were associated in a significant way to the flapped group (Vignoletti et al. 2012).

In the present study, all the test grafts of PLGA/HA and PLGA/HA/S groups that were not lost enucleated with apparent formation of connective tissue around it, creating a separation border

with basal bone. There are different reasons that may explain these findings: (i) small porosity (30%) of the test grafts that difficulties the graft's ability to wick up blood, observable during its application (Fig. 3). This small porosity does not allow proper migration, cell adhesion and proliferation, which is supported by a recent study that recommends using a porosity between 81 and 91% (Davies et al. 2010); (ii) stiffness given by the quantity of HA/ β -TCP (33%) incorporated in the PLGA (67%). However, this fact is not confirmed by a recent study defending that lowering the percentage of PLGA to 35%, and so, rising the percentage of HA/ β -TCP to 65%, leads to a bone volume maintenance and prevents soft tissue incorporation within the defect, which could be clinically beneficial (Khan et al. 2015); (iii) biocompatibility problem of PLGA and HA/ β -TCP used, however these materials are already widely used in various areas of regenerative medicine. Also, previous clinical and pre-clinical studies did not show inflammatory reactions of PLGA (Schneider et al. 2014) coated with calcium phosphate (Nair et al., 2006, Rothamel et al., 2007); (iv) soft tissue collapse that may have occurred due to the non-use of a membrane or a free gingival graft (Fickl et al. 2008c; Jung et al. 2004, 2013). This use would be possible if the surgical site allowed it, which was not the case. Other hypothesis for the soft tissue collapse could be the fast degradation of the biomaterial with subsequent invagination of soft tissue (Khan et al. 2015). However, the grafts used in the present study had low porosity and high stiffness, which leads to a slow degradation. Thus, the fast degradation hypothesis may not be applicable to our study.

Test materials from PLGA/HA and PLGA/HA/S groups used in this study have a slow resorption rate and simvastatin has, according to the literature, a delayed action. Thus, when radiographic examination is performed to evaluate bone formation, it will be appropriate to take the CBCTs not as early as in this study (3 months). However, shorter periods will allow to see the effect these biomaterials had on the initial phases of bone tissue healing.

This study failed to observe a beneficial effect of simvastatin which can be explained by the reasons mentioned above, that may have caused the graft loss. However, the concentration of simvastatin used (2.0 %) did not show, either from a systemic or a local point of view, any major consequence for patients.

Despite the limitations that this work presents, some relevant clinical conclusions can be drawn and could serve as a basis for future research. These future studies should include larger samples and

scaffolds with higher percentage of porosity, as well as a stricter control both radiographic and histologically.

ACKNOWLEDGEMENTS

The authors thank Dr. Keila Rausch Pereira for performing the statistical analysis.

Geistlich Pharma provided the Bio-Oss[®] Collagen used in this research.

The authors report no conflict of interest related to this study.

REFERENCES

- Araújo, M. & Lindhe, J. (2005) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Journal of Clinical Periodontology* **32**, 212–218.
- Araújo, M., Linder, E., Wennstrom, J. & Lindhe, J. (2008) The influence of Bio-Oss Collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in the dog. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* **28**, 123–135.
- Araújo, M., Silva, J., Mendonça, A. & Lindhe, J. (2015) Ridge alterations following grafting of fresh extraction sockets in man. A randomized clinical trial. *Clinical Oral Implants Research* **26**, 407–412.
- Artzi Z., Tal H., Dayan D. (2000) Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: histomorphometric evaluations at 9 months. *Journal of Periodontology* **71**, 1015-23.
- Becker W., Clokie C., Sennerby L., Urist M. R., Becker B. E. (1998) Histologic findings after implantation and evaluation of different grafting materials and titanium micro screws into extraction sockets: case reports. *Journal of Periodontology* **69**, 414-21.
- Broggini N., Bosshardt D. D., Jensen S. S., Bornstein M. M., Wang C-C., Buser D. (2014) Bone healing around nanocrystalline hydroxyapatite, deproteinized bovine bone mineral, biphasic calcium phosphate, and autogenous bone in mandibular bone defects. *J Biomed Mater Res Part B* **00B**, 000–000.
- Cardaropoli G., Araújo M. & Lindhe, J. (2003) Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. *Journal of Clinical Periodontology* **30**, 809–818.
- Chauhan, A. S., Maria A., Managutti, A.(2015) Efficacy of Simvastatin in Bone Regeneration After Surgical Removal of Mandibular Third Molars: A Clinical Pilot Study. *Journal of Maxillofacial and Oral Surgery* **14**(3), 578–585.
- Chiapasco M. (2006) Atlas de Cirurgia Oral. 1st Edition, p. 369, Editora Santos.

Chiapasco, M., Casentini, P. & Zaniboni, M. (2009) Bone augmentation procedures in implant dentistry. *International Journal of Oral & Maxillofacial Implants* **24**, 237-259.

Davies J. E., Matta R., Mendes V. C., Perri de Carvalho P. S. (2010) Development, characterization and clinical use of a biodegradable composite scaffold for bone engineering in oro-maxillo-facial surgery. *Organogenesis* **6**, 161-166.

Diès F., Etienne D., Abboud N. B., Ouhayoun J. P. (1996) Bone regeneration in extraction sites after immediate placement of an e-PTFE membrane with or without a biomaterial. A report on 12 consecutive cases. *Clinical Oral Implants Research* **7**(3), 277-285.

Eberli, D., Freitas, F. L., Atala, A., Yoo, J. J. (2009) Composite scaffolds for the engineering of hollow organs and tissues. *Methods* **47**, 109-115.

Encarnação I. C., Ferreira Xavier C. C., Bobinski F., Dos Santos A. R., Corrêa M., de Freitas S. F., Aragonez A., Goldfeder E. M., Cordeiro M. M. (2016a) Analysis of Bone Repair and Inflammatory Process Caused by Simvastatin Combined with PLGA+HA+bTCP Scaffold. *Implant Dentistry* **25**, 1-9.

Encarnação I. C., Aragonez A., Moreira A. C., Fernandes C. P., Fredel, M. C., Müller C. M. O. Cordeiro M. M. R. (2016b) Análise das propriedades físico-químicas e mecânicas de arcabouço poroso composto de PLGA, cerâmica bifásica e sinvastatina de liberação lenta para engenharia de tecido ósseo.

Fickl, S., Zuhr, O., Wachtel, H., Bolz, W. & Huerzeler, M. (2008a) Tissue alterations after tooth extraction with and without surgical trauma: a volumetric study in the beagle dog. *Journal of Clinical Periodontology* **35**, 356–363.

Fickl, S., Zuhr, O., Wachtel, H., Stappert, C. F., Stein, J. M. & Hurzeler, M. B. (2008c) Dimensional changes of the alveolar ridge contour after different socket preservation techniques. *Journal of Clinical Periodontology* **35**, 906–913.

Froum S., Cho S. C., Elian N., Rosenberg E., Rohrer M., Tarnow D. (2004) Extraction sockets and implantation of hydroxyapatites with membrane barriers: a histologic study. *Implant Dentistry* **13**, 153-164.

Gómez, G., Korkiakoski, S., González, M. M., Lansman, S., Ella, V., Salo, T., Kellomaki, M., Ashammakhi, N., Arnaud, E. (2006) Effect of FGF and polylactide scaffolds on calvarial bone healing with growth factor on biodegradable polymer. *J Craniofacial Surg* **17**, 935-942.

Grunder U., Gracis S., Capelli M. (2005) Influence of the 3-D bone-to-implant relationship on esthetics. *Int J Periodontics Restorative Dent* **25**, 113–119.

Guarnieri R., Pecora G., Fini M., Aldini N. N., Giardino R., Orsini G., Piattelli A. (2004) Medical grade calcium sulfate hemihydrate in healing of human extraction sockets: clinical and histological observations at 3 months. *Journal of Periodontology* **75**, 902-908.

Holy, C. E., Dang, S. M., Davies, J. E., Shoichet, M. (1999) In vitro degradation of a novel poly(lactide-co-glycolide) 75/25 foam. *Biomaterials* **20**, 1177-1185.

Hutmacher D. W. (2000) Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* **21**, 2529-43.

Iasella J. M., Greenwell H., Miller R. L., Hill M., Drisko C., Bohra A. A., Scheetz J. P. (2003) Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. *Journal of Periodontology* **74**, 990-999.

Jung, R. E., Siegenthaler, D. W. & Hammerle, C. H. (2004) Postextraction tissue management: a soft tissue punch technique. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* **24**, 545–553.

Jung R. E., Philipp A., Annen B. M., Signorelli L., Thoma D. S., Hämmerle C. H. F., Attin T., Schmidlin P. (2013) Radiographic evaluation of different techniques for ridge preservation after tooth extraction: a randomized controlled clinical trial. *Journal of Clinical Periodontology* **40**, 90–98.

- Khan, R., Witek L., Breit M., Colon D., Tovar N., Janal M. N., Jimbo R., Coelho P. G. Bone regenerative potential of modified biphasic graft materials. *Implant Dentistry* **24**(2), 149-154.
- Lansman, S., Paakko, P., Ryhanen, J., Kellomaki, M., Waris, E., Tormala, P., Waris, T. & Ashmmakhi, N. (2006) Poly-L/D-lactide (PLDLA) fibrous implants: histological evaluation in the subcuts of experimental design. *Journal of Craniofacial Surgery* **17**, 1121-28.
- Lekovic, V., Kenney, E. B., Weinlaender, M., Han, T., Klokkevold, P., Nedic, M. & Orsini, M. (1997) A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. *Journal of Periodontology* **68**, 563-570.
- Lima, C. E. V. C., Calixtro, J. C. & Anbinder, A. L. (2011) Influence of the association between simvastatin and demineralized bovine bone matrix on bone repair in rats. *Brazilian Oral Research* **25**, 42-8.
- Maciel-Oliveira, N., Bradaschia-Correa, V. & Arana-Chavez V. E. (2011) Early alveolar bone regeneration in rats after topical administration of simvastatin. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics* **112**, 170-9.
- Maeda, T., Matsunuma, A., Kurahashi, I., Yanagawa, T., Yoshida, H. & Horiuchi, N. (2004) Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells. *Journal of Cellular Biochemistry* **92**, 458-471.
- Mansour G., Al Ashwah A., Koura A. (2014) Evaluation of simvastatin grafting around immediate dental implants in dogs. *Implant Dentistry* **23**(2):195-199.
- Messias, A. D, Aragones, A, Duek, E. A. R. (2009) PLGA-Hydroxyapatite composite scaffolds for osteoblast-like cells. *Key Engineering Materials* **396**, 461-464.
- Mladenović Ž., Sahlin-Platt A., Andersson B., Johansson A., Björn E., Ransjö M. (2011) In vitro study of the biological interface of Bio-Oss: implications of the experimental setup. *Clinical Oral Implants Research* **24**(3), 329-35.

Mundy, G., Garrett, R. & Harris, S. (1999) Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. *Science* **286**, 1946–1949.

Nair, P. N., Luder, H. U., Maspero, F. A., Fischer, J. H., Schug, J. (2006) Bio-compatibility of Beta-tricalcium phosphate root replicas in porcine tooth extraction sockets – a correlative histological, ultrastructural, and x-ray microanalytical pilot study. *J Biomater Appl* **20**, 307–324.

Nyan, M., Sato, D., Oda, M., Machida, T., Kobayashi, H., Nakamura, T. (2007) Bone formation with the combination of simvastatin and calcium sulfate in critical-sized rat calvarial defect. *Journal of Pharmacological Sciences* **104**, 384-6.

Ohnaka, K., Shimoda, S., Nawata, H., Shimokawa, H., Kaibuchi, K., Iwamoto, Y. & Takayanagi, R. (2001) Pitavastatin enhanced BMP-2 and osteocalcin expression by inhibition of Rho-associated kinase in human osteoblasts. *Biochemical Biophysical Research Communication* **287**, 337–342.

Pietrokovski, J. & Massler, M. (1967) Alveolar ridge resorption following tooth extraction. *Journal of Prosthetic Dentistry* **17**, 21–27.

Pinho M. N., Roriz V. L., Novaes A. B. Jr., Taba M. Jr., Grisi M. F., de Souza S. L., Palioto D. B. (2006) Titanium membranes in prevention of alveolar collapse after tooth extraction. *Implant Dentistry* **15**(1), 53-61.

Rothamel, D., Schwarz, F., Herten, M., Chiriac, G., Pakravan, N., Sager, M., Becker, J. (2007) Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. *Mund Kiefer Gesichtschir* **11**(2), 89-97.

Saito, E., Kang, H., Taboas, J. M., Diggs, A., Flanagan, C. L., Hollister, S. J. (2010) Experimental and computational characterization of designed and fabricated 50:50 PLGA porous scaffolds for human trabecular bone applications. *J Mater Sci Mater Med* **21**, 2371-2383.

Sàndor G. K., Kainulainen V. T., Queiroz J. O., Carmichael R. P., Oikarinen K. S. (2003) Preservation of ridge dimensions following

grafting with coral granules of 48 post-traumatic and post-extraction dento-alveolar defects. *Dental Traumatology* **19**(4), 221-7.

Schneider D., Weber F. E., Grunder U., Andreoni C., Burkhardt R., Jung R. E. (2014) A randomized controlled clinical multicenter trial comparing the clinical and histological performance of a new, modified polylactide-co-glycolide acid membrane to an expanded polytetrafluorethylene membrane in guided bone regeneration procedures. *Clinical Oral Implants Research* **25**(2),150-158.

Schropp, L., Wenzel, A., Kostopoulos, L. & Karring, T. (2003) Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. *The International journal of periodontics & restorative dentistry* **23**, 313–323.

Stein, D., Lee, Y., Schmidt, M. J., Killpack, B., Genrich, M. A. & Narayana, N. (2005) Local simvastatin effects on mandibular growth and inflammation. *Journal Periodontology* **76**, 1861-1870.

Sui, G., Yang, X., Mei, F., Hu, X., Cheng, G., Deng, X. & Ryu, S. (2007) Poly-L-lactic acid/hydroxyapatite hybrid membrane for bone tissue regeneration. *Journal of Biomedical Materials Research* **82**, 445–454.

Tan, W. L., Wong, T. L., Wong, M. C. & Lang, N. P. (2012) A systematic review of post- extractional alveolar hard and soft tissue dimensional changes in humans. *Clinical Oral Implants Research* **23**(Suppl 5), 1–21.

Thylin, M. R., McConnell, J. C., Schmid, M. J., Reckling, R. R., Ojha, J. & Bhattacharyya, I. (2002) Effects of simvastatin gels on murine calvarial bone. *Journal of Periodontology* **73**, 1141-8.

Van der Weijden, F., Dell’Acqua, F. & Slot, D. E. (2009) Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: a systematic review. *Journal of Clinical Periodontology* **36**, 1048–1058.

Vignoletti, F., Matesanz, P., Rodrigo, D., Figuero, E., Martin, C. & Sanz, M. (2012) Surgical protocols for ridge preservation after tooth

extraction. A systematic review. *Clinical Oral Implants Research* **23**(Suppl 5), 22–38.

Zhu X. Y., Daghini E., Chade A. R., Lavi R., Napoli C., Lerman A., Lerman L. O. (2008) Disparate effects of simvastatin on angiogenesis during hypoxia and inflammation. *Life Science* **83**(23-24), 801-899.

FIGURES

Figure 1

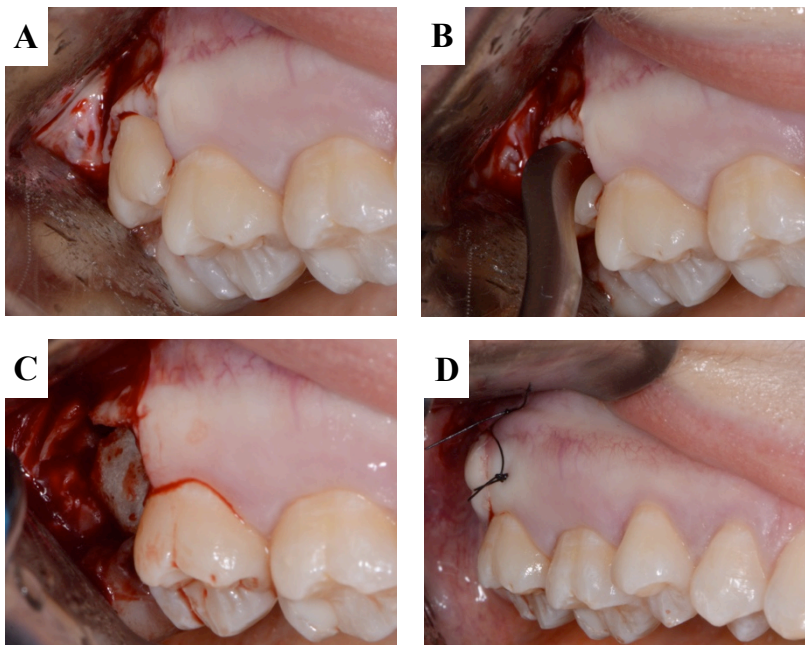


Figure 1: Surgical procedure. (A) Flap elevation. (B) Tooth luxation with dental elevator. (C) PLGA/HA/β-TCP with 2.0% simvastatin graft insertion. (D) Primary closure with suture.

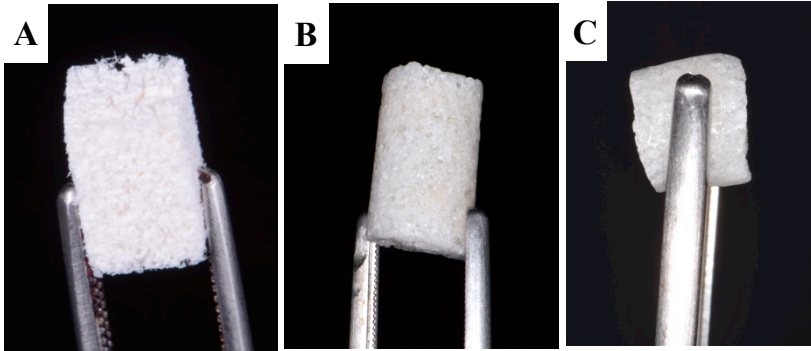
Figure 2

Figure 2: Graft biomaterials used. (A) Bio-Oss[®] Collagen. (B) PLGA/HA/ β -TCP. (C) PLGA/HA/ β -TCP with 2.0% simvastatin.

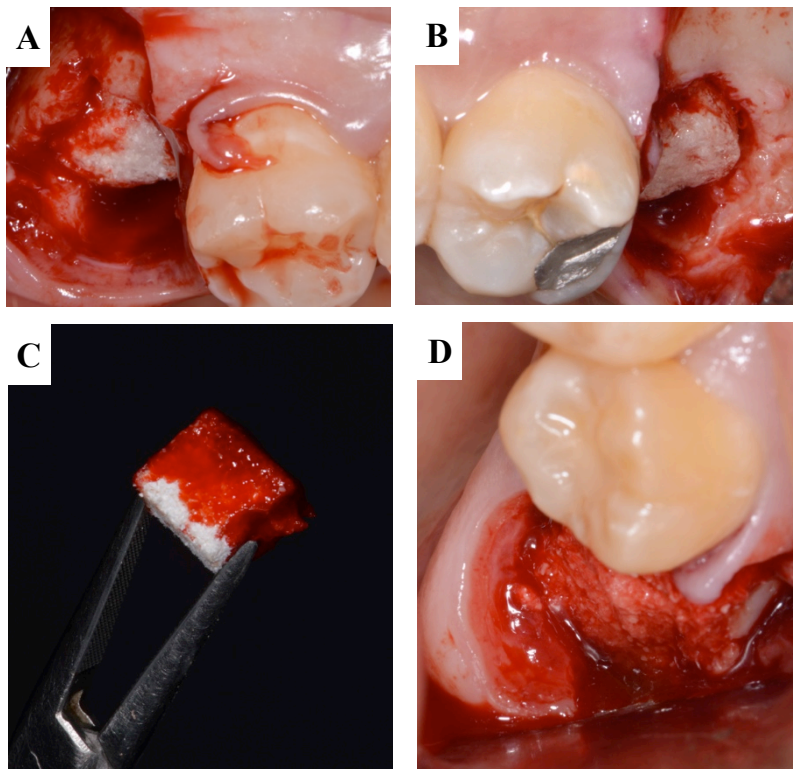
Figure 3

Figure 3: Different graft ability for wicking up blood. **(A)** PLGA/HA/ β -TCP. **(B)** PLGA/HA/ β -TCP with 2.0% simvastatin. **(C)** and **(D)** Bio-Oss[®] Collagen.

Figure 4

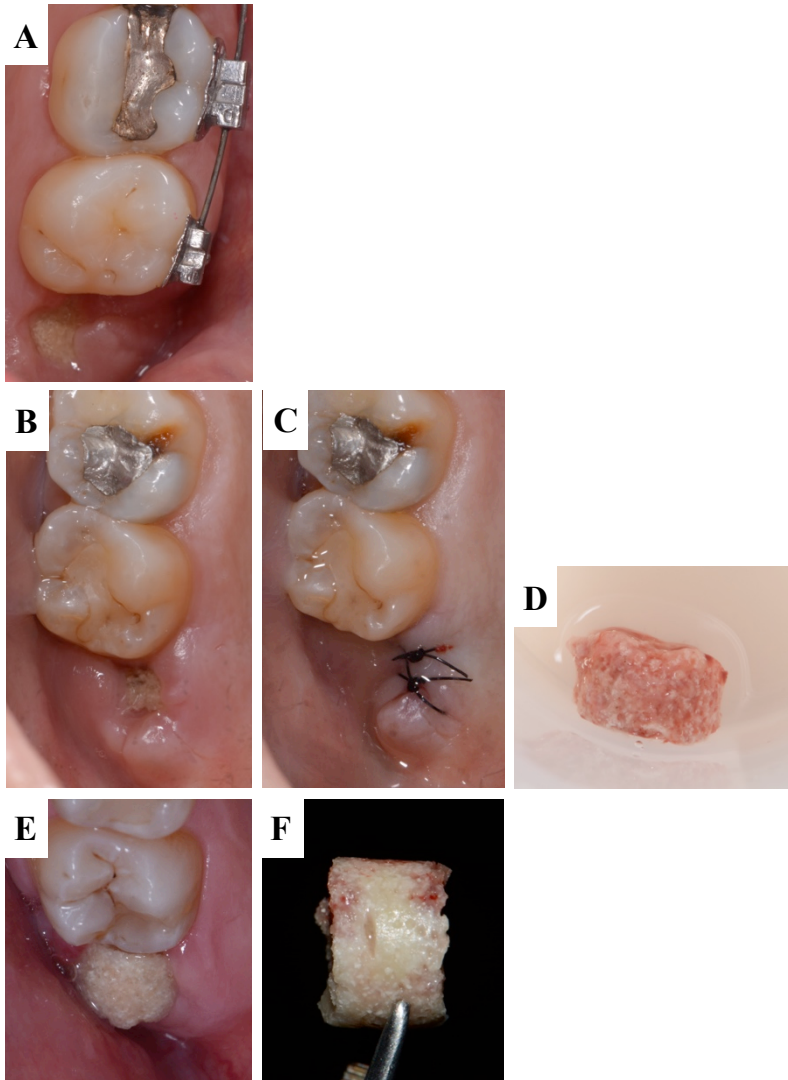


Figure 4: Lost grafts. (A) PLGA/HA/ β -TCP with 2.0% simvastatin lost after 14 days. (B), (C) and (D) PLGA/HA/ β -TCP lost after 30 days. (E) and (F) PLGA/HA/ β -TCP lost after 66 days.

Figure 5

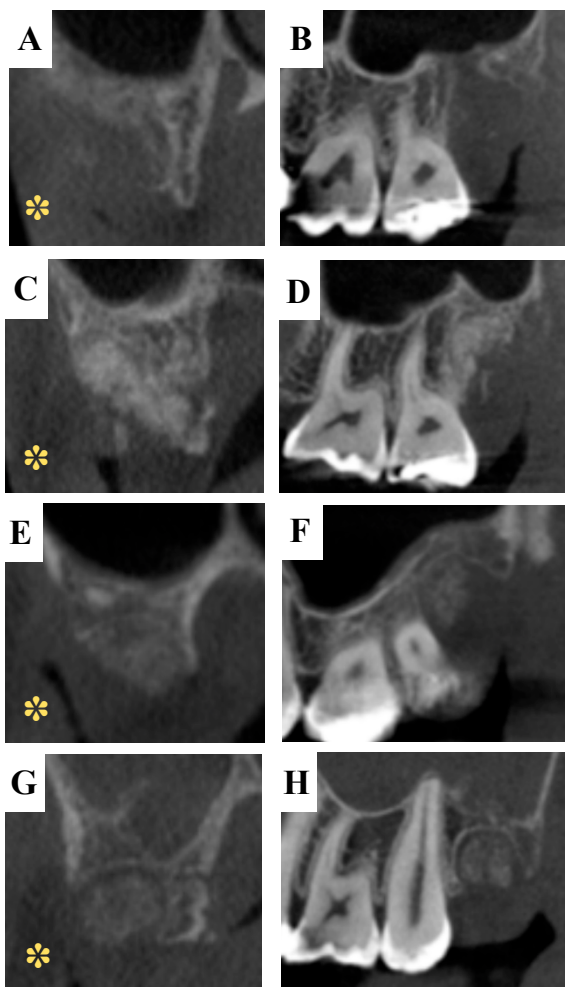


Figure 5: Representative cone-beam computed tomography (CBCT) scans of all four treatment modalities at 3 months. *buccal side. **(A)** Control - coronal plane. **(B)** Control - sagittal plane. **(C)** DBBM-C - coronal plane. **(D)** DBBM-C - sagittal plane. **(E)** PLGA/HA - coronal plane. **(F)** PLGA/HA - sagittal plane. **(G)** PLGA/HA/S - coronal plane. **(H)** PLGA/HA/S - sagittal plane.

TABLES

Table 1 - Distribution of patients included in the study and surgical sites according to treatment modalities. Florianópolis, 2015.

Patient parameters	Control	DBBM-C	PLGA/HA	PLGA/HA/S
Male/Female	5/1	2/1	2/7	1/7
Smoker/Non-smoker	1/5	1/2	1/8	1/7
Tooth position: erupted/non-erupted	0/6	2/1	4/5	4/4
Right/Left	2/4	2/1	5/4	4/4
Reason of extraction: orthodontic/preventive/ caries	4/1/1	0/2/1	5/3/1	3/4/1

DBBM-C, deproteinized bovine bone mineral with 10% collagen.

PLGA/HA, Poly(lactic-co-glycolic acid) with hydroxyapatite/ β -TCP scaffold.

PLGA/HA/S, Poly(lactic-co-glycolic acid) with hydroxyapatite/ β -TCP scaffold, with 2.0% simvastatin.

Table 2 - Distribution of clinical variables according to the surgical site. Florianópolis, 2015.

Complications	Right (n=13)	Left (n=13)
Graft loss	30.8%	30.8%
Pain	15.4%	7.7%
Infection	7.7%	0%

Table 3 - Association of clinical variables with the treatment modalities. Florianópolis, 2015.

	GROUP								PVALUE*
	Control		DBBM-C		PLGA/HA		PLGA/HA/S		
	n	%	n	%	n	%	n	%	
Graft Loss									0.023*
No	6	33.3	3	16.7	3	16.7	6	33.3	
Yes	0	0.0	0	0.0	6	75.0	2	25.0	
Pain									0.093
No	6	26.1	3	13.0	6	26.1	8	34.8	
Yes	0	0.0	0	0.0	3	100.0	0	0.0	
Infection									0.580
No	6	24.0	3	12.0	8	32.0	8	32.0	
Yes	0	0.0	0	0.0	1	100.0	0	0.0	

* Statistically significant for $\alpha < 0.05$, by Pearson's chi-squared test.

DBBM-C, deproteinized bovine bone mineral with 10% collagen.

PLGA/HA, Poly(lactic-co-glicolic acid) with hydroxyapatite/ β -TCP scaffold.

PLGA/HA/S, Poly(lactic-co-glicolic acid) with hydroxyapatite/ β -TCP scaffold, with 2.0% simvastatin.

CAPÍTULO IV

BIBLIOGRAFIA CONSULTADA

AMLER, M. H.; JOHNSON, P. L. & SALMAN, I. Histological and histochemical investigation of human alveolar socket healing in undisturbed extraction wounds. **Journal of the American Dental Association**, v.61, p.32–44, 1960.

ARAÚJO, M. & LINDHE, J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. **Journal of Clinical Periodontology**, v.32, p.212–218, 2005

ARAÚJO, M.; LINDER, E.; WENNSTROM; J. & LINDHE; J. The influence of Bio-Oss Collagen on healing of an extraction socket: an experimental study in the dog. **The International journal of periodontics & restorative dentistry**, v.28, p.123–135, 2008.

ARAÚJO, M. & LINDHE J. Ridge preservation with the use of Bio-Oss[®] collagen: A 6-month study in the dog. **Clinical Oral Implants Research**, v.20, p.433–440, 2009.

ARAÚJO, M.; SILVA, J.; MENDONÇA, A. & LINDHE, J. Ridge alterations following grafting of fresh extraction sockets in man. A randomized clinical trial. **Clinical Oral Implants Research**, v. 26, p.407–412, 2015.

ARAÚJO-PIRES, A. C.; MENDES, V. C.; FERREIRA-JUNIOR, O.; PERRI CARVALHO, P. S.; GUAN L.; DAVIES, J. E. Investigation of a Novel PLGA/CaP Scaffold in the Healing of Tooth Extraction Sockets to Alveolar Bone Preservation in Humans. **Clinical Implant Dentistry and Related Research**, 2015.

ARTZI Z.; TAL H.; DAYAN D. Porous bovine bone mineral in healing of human extraction sockets. Part 1: histomorphometric evaluations at 9 months. **Journal of Periodontology**, v.71, p.1015-23, 2000.

ATWOOD D. A. Some clinical factors related to rate of resorption of residual ridges. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v.86(2), p.119-125, 1962.

BECKER W.; CLOKIE C.; SENNERBY L.; URIST M. R.; BECKER B. E. Histologic findings after implantation and evaluation of different

grafting materials and titanium micro screws into extraction sockets: case reports. **Journal of Periodontology**, v.69, p.414-421, 1998.

BECKER W. Treatment of small defects adjacent to oral implants with various biomaterials. **Periodontology** 2000, v.33, p.26-35, 2003.

BERGLUNDH T. & LINDHE J. Healing around implants placed in bone defects treated with Bio-Oss. An experimental study in the dog. **Clinical Oral Implants Research**, v.8, p.117-24, 1997.

BODEN, S. D. Bioactive factors for bone tissue engineering. **Clin Orthop**, v.84, p.367-71, 1999.

BOULER, J. M.; LEGEROS, R. Z.; DACULSI, G. Biphasic calcium phosphates: influence of three synthesis parameters on the HA/beta-TCP ratio. **J Biomed Mater Res**, v.51, p.680-684, 2000.

BROGGINI N.; BOSSHARDT D. D.; JENSEN S. S.; BORNSTEIN M. M.; WANG C-C.; BUSER D. Bone healing around nanocrystalline hydroxyapatite, deproteinized bovine bone mineral, biphasic calcium phosphate, and autogenous bone in mandibular bone defects. **J Biomed Mater Res Part B**, v.00B, p.000-000, 2014.

BUSER, D.; DULA, K.; HESS, D.; HIRT, H. P.; BELSER, U. C. Localized ridge augmentation with autografts and barriers membranes. **Periodontol** 2000, v.19, p.151-163, 2000.

BUSER D.; MARTIN W.; BELSER U. C. Optimizing esthetics for implant restorations in the anterior maxilla: anatomic and surgical considerations. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.19, p.43-61, 2004.

CARDAROPOLI G.; ARAÚJO, M. & LINDHE, J. Dynamics of bone tissue formation in tooth extraction sites. An experimental study in dogs. **Journal of Clinical Periodontology**, v.30, p.809-818, 2003.

CARDAROPOLI C.; TAMAGNONE L.; ROFFREDO A.; GAVEGLIO L.; CARDAROPOLI G. Socket preservation using bovine bone mineral and porcine collagen membrane considerably limits the amount of horizontal and vertical bone resorption when compared with extraction alone. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v. 32, p.421-430, 2012.

CARMAGNOLA D.; ADRIAENS P.; BERGLUNDH T. Healing of human extraction sockets filled with Bio-Oss. **Clinical Oral Implants Research**, v.14, p.137-43, 2003.

CARRAGEE E. J.; HURWITZ E. L.; WEINER B. K. A critical review of recombinant human bone morphogenetic protein-2 trials in spinal surgery: emerging safety concerns and lessons learned. **Spine J**, v.11, p.471-91, 2011.

CASAGRANDE, L.; CORDEIRO, M. M.; NÖR, S. A.; NÖR, J. E. Dental pulp stem cells in regenerative dentistry. **Odontol**, v.99, p.1-7, 2011.

CHAPPARD D. Bone modeling and remodeling during osseointegration. **Rev Stomatol Chir Maxillofac Chir Orale**, v.114, p.159-65, 2013.

CHAUHAN, A. S., MARIA A., MANAGUTTI, A. Efficacy of Simvastatin in Bone Regeneration After Surgical Removal of Mandibular Third Molars: A Clinical Pilot Study. **Journal of Maxillofacial and Oral Surgery**, v.14(3), p.578-585, 2015.

CHIAPASCO M. Atlas de Cirurgia Oral. 1ª Edição, Editora Santos, 2006. 369 p.

CHIAPASCO, M.; CASENTINI, P. & ZANIBONI, M. Bone augmentation procedures in implant dentistry. **International Journal of Oral & Maxillofacial Implants**, v.24, p.237-259, 2009.

CORDEIRO, M. M.; DONG, Z.; KANEKO, T.; ZHANG, Z.; MIYAZAWA, M.; SHI, S.; SMITH, A. J.; & NÖR, J. E. (2008) Dental pulp tissue engineering with stem cells from exfoliated deciduous teeth. **Journal of Endodontics**, v.34, p.962-9, 2008.

DARBY, I.; CHEN, S. T. & BUSER, D. Ridge preservation techniques for implant therapy. **International Journal of Oral and Maxillofacial Implants** v.24(Suppl), p.260-271, 2009.

DAVIES J. E.; MATTA R.; MENDES V. C.; PERRI DE CARVALHO P. S. Development, characterization and clinical use of a biodegradable

composite scaffold for bone engineering in oro-maxillo-facial surgery. **Organogenesis**, v.6, p161-166, 2010.

DIES F.; ETIENNE D.; ABOUD N. B.; OUHAYOUN J. P. Bone regeneration in extraction sites after immediate placement of an e-PTFE membrane with or without a biomaterial. A report on 12 consecutive cases. **Clinical Oral Implants Research**, v.7(3), p.277-285, 1996.

DOLL, B.; SFEIR, C.; WINN, S.; HUARD, J.; HOLLINGER, J. Critical aspects of tissue-engineered therapy for bone regeneration. **Crit Rev Eukaryot Gene Expr**, v.11, p.173-179, 2001.

DORAIRAJAN, A.; REDDY, R. M.; KRIKLER, S. (2005) Outcome of acetabular revision using an uncemented hydroxiapatite-coated component: two-to five-year results and review. **J Arthroplasty**, v.20, p.209-212, 2005.

DRAGOO, J. L.; CHOI, J. Y.; LIEBERMAN, J. R.; HUANG, J.; ZUK, P. A.; ZHANG, J., HEDRICK, M. H.; BENHAIM, P. Bone induction by BMP-2 transduced stem cells derived from human fat. **J Orthop Res** v.21, p.622-699, 2003.

DUBUC, G.; CHAMBERLAND, A.; WASSEF, H.; DAVIGNON, J.; SEIDAH, N. G.; BERNIER, L.; PRAT, A. Statins upregulate PCSK9, the gene encoding the proprotein convertase neural apoptosis-regulated convertase-1 implicated in familial hypercholesterolemia. **Arterioscler Thromb Vasc Biol**, v.24, p.1454-1459, 2004.

EBERLI, D.; FREITAS, F. L.; ATALA, A.; YOO, J. J. Composite scaffolds for the engineering of hollow organs and tissues. **Methods**, v.47, p.109-115, 2009.

ENCARNAÇÃO I. C.; FERREIRA XAVIER C. C.; BOBINSKI F.; DOS SANTOS A. R.; CORREA M.; DE FREITAS S. F.; ARAGONEZ A.; GOLDFEDER E. M.; CORDEIRO M. M. Analysis of Bone Repair and Inflammatory Process Caused by Simvastatin Combined with PLGA+HA+bTCP Scaffold. **Implant Dentistry**, v.25, p.1-9, 2016.

ENCARNAÇÃO I. C., ARAGONEZ A., MOREIRA A. C., FERNANDES C. P., FREDEL, M. C., MÜLLER C. M. O. CORDEIRO M. M. R. (2016b) Análise das propriedades físico-químicas e mecânicas

de arcabouço poroso composto de PLGA, cerâmica bifásica e simvastatina de liberação lenta para engenharia de tecido ósseo.

FASSBENDER, K.; SIMONS, M.; BERGMANN, C.; STROICK, M.; LUTJOHANN, D.; KELLER, P.; RUNZ H.; KUHL, S.; BERTSCH, T.; VON BERGMANN, K.; HENNERICI, M.; BEYREUTHER, K.; HARTMANN, T. Simvastatin strongly reduces levels of Alzheimer's disease amyloid peptides A 42 and A 40 in vitro and in vivo. **Proc Natl Acad Sci**, v.98, p.5856–5861, 2001.

FERREIRA, L. B.; BRADASCHIA-CORREA, V.; MOREIRA, M. M.; MARQUES, N. D.; ARANA-CHAVEZ V. E. Evaluation of bone repair of critical size defects treated with simvastatin-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres in rat calvaria. **J Biomater Appl**, v.29(7), p.965-76, 2015.

FICKL, S.; ZUHR, O.; WACHTEL, H.; BOLZ, W. & HUERZELER, M. Tissue alterations after tooth extraction with and without surgical trauma: a volumetric study in the beagle dog. **Journal of Clinical Periodontology**, v.35, p.356–363, 2008.

FICKL, S.; ZUHR, O.; WACHTEL, H.; STAPPERT, C. F.; STEIN, J. M. & HURZELER, M. B. Dimensional changes of the alveolar ridge contour after different socket preservation techniques. **Journal of Clinical Periodontology**, v.35, p.906–913, 2008.

FROUM S.; CHO S. C.; ROSENBERG E.; ROHRER M.; TARNOW D. Histological comparison of healing extraction sockets implanted with bioactive glass or demineralized freeze-dried bone allograft: a pilot study. **Journal of Periodontology**, v.73, p.94-102, 2002.

FROUM S.; CHO S. C.; ELIAN N.; ROSENBERG E.; ROHRER M.; TARNOW D. Extraction sockets and implantation of hydroxyapatites with membrane barriers: a histologic study. **Implant Dentistry**, v.13, p.153-164, 2004.

FROUM S.; WALLACE S. S.; CHO S. C.; ELIAN N.; TARNOW D. P. Histomorphometric comparison of a biphasic bone ceramic to an organic bovine bone for sinus augmentation: 6- to 8-month postsurgical assessment of vital bone formation. A pilot study. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v.28, p.273-281, 2008.

GÓMEZ, G.; KORAKIYOSKI, S.; GONZÁLEZ, M. M.; LANSMAN, S.; ELLA, V.; SALO, T.; KELLOMAKI, M.; ASHAMMAKHI, N.; ARNAUD, E. Effect of FGF and polylactide scaffolds on calvarial bone healing with growth factor on biodegradable polymer. **J Craniofacial Surg**, v.17, p.935-942, 2006.

GUARNIERI R.; PECORA G.; FINI M.; ALDINI N. N.; GIARDINO R.; ORSINI G.; PIATTELLI A. Medical grade calcium sulfate hemihydrate in healing of human extraction sockets: clinical and histological observations at 3 months. **Journal of Periodontology**, v.75, p.902-908, 2004.

GRUNDER U.; GRACIS S.; CAPELLI M. Influence of the 3-D bone-to-implant relationship on esthetics. **Int J Periodontics Restorative Dent**, v.25, p.113-119, 2005.

HAMMERLE, C. H. & KARRING, T. Guided bone regeneration at oral implant sites. **Periodontology 2000**, v.17, p.151-75, 1998.

HEBERER S.; AL-CHAWAF B.; HILDEBRAND D.; NELSON J. J.; NELSON K. Histomorphometric analysis of extraction sockets augmented with Bio-Oss Collagen after a 6-week healing period: a prospective study. **Clinical Oral Implants Research**, v.19, p.1219-1225, 2008.

HEBERER S.; AL-CHAWAF B.; JABLONSKI C.; NELSON J. J.; LAGE H.; NELSON K. Healing of ungrafted and grafted extraction sockets after 12 weeks: a prospective clinical study. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.26, p.385-392, 2011.

HO, M.; CHIANG, C.; LIU, Y.; KUO, M. Y.; LIN, S.; LAI, J. & LEE, B. Highly efficient release of lovastatin from poly(lactic-co-glycolic acid) nanoparticles enhances bone repair in rats. **Journal of Orthopaedic Research**, v.28, p.1343-51, 2011.

HOLY, C. E.; DANG, S. M.; DAVIES, J. E.; SHOICHET, M. In vitro degradation of a novel poly(lactide-co-glycolide) 75/25 foam. **Biomaterials**, v.20, p.1177-1185, 1999.

HUANG X.; HUANG Z.; LI W. Highly efficient release of simvastatin from simvastatin-loaded calcium sulphate scaffolds enhances segmental bone regeneration in rabbits. **Mol Med Rep**, v.9, p.2152-2158, 2014.

HUTMACHER D. W. Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. **Biomaterials**, v.21, p.2529-43, 2000.

IASELLA J. M.; GREENWELL H.; MILLER R. L.; HILL M.; DRISKO C.; BOHRA A. A.; SCHEETZ J. P. Ridge preservation with freeze-dried bone allograft and a collagen membrane compared to extraction alone for implant site development: a clinical and histologic study in humans. **Journal of Periodontology**, v.74, p.990-999, 2003.

ISHIHARA, K.; ARAI, H.; NAKABAYASHI, N.; MORITA, S.; FURUYA, K. Adhesive bone cement containing hydroxiapatite particle as bone compatible filler. **J Biomed Mater Res**, v.26, p.937-942, 1992.

JACOBSON, R. H.; WANG, P.; GLUECK, C. J. Myositis and rhabdomyolysis associated with concurrent use of simvastatin and nefazodone. **JAMA**, v.277(4), p.296-297, 1997.

JANSEN, J. A.; VEHOF, J. W. M.; RUHE, P. Q.; KROEZE-DEUTMAN, H; KUBOKI, Y.; TAKITA, H.; HEDBERG, E. L.; MIKOS, A. G. Growth factor-loaded scaffolds for bone engineering. **Journal of Control Release**, v.101, p.127-136, 2005.

JUNG R. E.; SIEGENTHALER D. W.; HÄMMERLE C.H. (2004) Postextraction tissue management: a soft tissue punch technique. **International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry**, v.24(6), p.545-553.

JUNG R. E.; THOMA D. S.; HÄMMERLE C. H. F. Assessment of the potential of growth factors for localized alveolar ridge augmentation: a systematic review. **Journal of Clinical Periodontology**, v.35(Suppl. 8), p.255–281, 2008.

JUNG R. E.; PHILIPP A.; ANNEN B. M.; SIGNORELLI L.; THOMA D. S.; HÄMMERLE C. H. F.; ATTIN T.; SCHMIDLIN P. Radiographic evaluation of different techniques for ridge preservation after tooth extraction: a randomized controlled clinical trial. **Journal of Clinical Periodontology**, v.40, p.90–98, 2013.

KHAN, R.; WITEK L.; BREIT M.; COLON D.; TOVAR N.; JANAL M. N.; JIMBO R.; COELHO P. G. Bone regenerative potential of modified biphasic graft materials. **Implant Dentistry**, v.24(2), p.149-154, 2015.

KIM, S. E.; THANH THUY, T. T.; LEE, J. H.; RO, J. Y.; BAE, Y. A.; KONG, Y.; AHN, J. Y.; LEE, D. S.; OH, Y. M.; LEE, S. D.; LEE, Y. S. Simvastatin inhibits induction of matrix metalloproteinase-9 in rat alveolar macrophages exposed to cigarette smoke extract. **Exp Mol Med**, v.30, p.277-287, 2009.

KIM Y.; NOWZARI H.; S. K. RICH S. K. Risk of Prion Disease Transmission through Bovine-Derived Bone Substitutes: A Systematic Review. **Clinical Implant Dentistry and Related Research**, v.15 (5), p.645-653, 2013.

KOJRO E.; GIMPL G.; LAMMICH S.; MARZ W.; FAHRENHOLZ F. Low cholesterol stimulates the nonamyloidogenic pathway by its effect on the alpha-secretase ADAM 10. **Proc Natl Acad Sci**, v.98, p.5815–5820, 2001.

KUREISHI, Y.; LUO, Z.; SHIOJIMA, I.; BIALIK, A.; FULTON, D.; LEFER, D. J.; SESSA, W. C.; WALSH, K. The HMG-CoA reductase inhibitor simvastatin activates the protein kinase Akt and promotes angiogenesis in normocholesterolemic animals. **Nat Med**, v.6, p.1004–1010, 2000.

KUTKUT, A.; ANDREANA, S.; MONACO, E. Esthetic consideration for alveolar socket preservation prior to implant placement: description of a technique and 80-case series report. **Gen Dent**, v.60(6), p.398-403, 2012.

KWAK, B.; MULHAUPT, F.; MYIT, S.; MACH, F. Statins as a newly recognized type of immunomodulator. **Nat Med**, v.6, p.1399 –1402, 2000.

LACOSTE, L.; LAM, J. Y.; HUNG, J.; LETCHACOVSKI, G.; SOLYMOSS, C. B.; WATERS, D. Hyperlipidemia and coronary disease. Correction of the increased thrombogenic potential with cholesterol reduction. **Circulation**, v.92, p.3172–3177, 1995.

LANSMAN, S.; PAAKKO, P.; RYHANEN, J.; KELLOMAKI, M.; WARIS, E.; TORMALA, P.; WARIS, T. & ASHMMAKHI, N. Poly-L/D-lactide (PLDLA) fibrous implants: histological evaluation in the subcuts of experimental design. **Journal of Craniofacial Surgery**, v.17, p.1121-28, 2006.

LASCHKE, M. W.; STROHE, A.; MENGER, M. D.; ALINI, M.; EGLIN, D. In vitro and in vivo evaluation of a novel nanosize hydroxyapatite particles/poly(ester-urethane) composite scaffold for bone tissue engineering. **Acta Biomater**, v.6, p.2020-2027, 2010.

LEKOVIC, V.; KENNEY, E. B.; WEINLAENDER, M.; HAN, T.; KLOKKEVOLD, P.; NEDIC, M. & ORSINI, M. A bone regenerative approach to alveolar ridge maintenance following tooth extraction. Report of 10 cases. **Journal of Periodontology**, v.68, p.563–570, 1997.

LIMA, C. E. V. C.; CALIXTRO, J. C. & ANBINDER, A. L. Influence of the association between simvastatin and demineralized bovine bone matrix on bone repair in rats. **Brazilian Oral Research**, v.25, p.42-8, 2011.

LOPES, M. A.; MONTEIRO, F. J.; SANTOS, J. D. Glass-reinforced hydroxiapatite composites: fracture toughness and hardness dependence on microstructural characteristics. **Biomaterials**, v.20, p.2085-2890, 1999.

MA, B.; CLARKE, S. A.; BROOKS, R. A.; RUSHTON, N. The effect of simvastatin on bone formation and ceramic resorption in a peri-implant defect model. **Acta Biomater**, v.4, p.149-155, 2008.

MACIEL-OLIVEIRA, N.; BRADASCHIA-CORREA, V. & ARANA-CHAVEZ V. E. Early alveolar bone regeneration in rats after topical administration of simvastatin. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, Oral Radiology & Endodontics**, v.112, p.170-179, 2011.

MAEDA, T.; MATSUNUMA, A.; KAWANE, T. & HORIUCHI, N. Simvastatin promotes osteoblast differentiation and mineralization in MC3T3–E1 cells. **Biochemical and Biophysical Research Communications**, v.280, p.874–877, 2001.

MAEDA, T.; MATSUNUMA, A.; KURAHASHI, I.; YANAGAWA, T.; YOSHIDA, H. & HORIUCHI, N. Induction of osteoblast differentiation indices by statins in MC3T3-E1 cells. **Journal of Cellular Biochemistry**, v.92, p.458–471, 2004.

MANSOUR G.; AL ASHWAH A.; KOURA A. Evaluation of simvastatin grafting around immediate dental implants in dogs. **Implant Dentistry**, v.23(2), p.195-199, 2014.

MCALLISTER, B. S. & HAGHIGHAT, K. Bone augmentation techniques. **Journal of Periodontology**, v.78, p.377–396, 2007.

MESSIAS, A. D; ARAGONES, A; DUEK, E. A. R. PLGA-Hydroxyapatite composite scaffolds for osteoblast-like cells. **Key Engineering Materials**, v.396, p.461-464, 2009.

MLADENOVIC Ž.; SAHLIN-PLATT A.; ANDERSSON B.; JOHANSSON A.; BJÖRN E.; RANSJÖ M. In vitro study of the biological interface of Bio-Oss: implications of the experimental setup. **Clinical Oral Implants Research**, v.24(3), p.329-35, 2011.

MOON, H.; KIM, S. E.; YUN, Y. P.; HWANG, Y.; BANG, J. B.; PARK, J.; KWON; I. K. Simvastatin inhibits osteoclast differentiation by scavenging reactive oxygen species. **Exp Mol Med**, v.43, p.605-612, 2011

MUNDY, G.; GARRETT, R. & HARRIS, S. Stimulation of bone formation in vitro and in rodents by statins. **Science**, v.286, p.1946–1949, 1999.

NAIR, P. N.; LUDER, H. U.; MASPERO, F. A.; FISCHER, J. H.; SCHUG, J. Bio-compatibility of Beta-tricalcium phosphate root replicas in porcine tooth extraction sockets – a correlative histological, ultrastructural, and x-ray microanalytical pilot study. **J Biomater Appl**, v.20, p.307–324, 2006.

NAKA, T.; SAKODA, T.; DOI, T.; AKAGAMI, T.; TSUJINO, T.; MASUYAMA, T.; OHYANAGI, M. Mechanical stretch induced interleukin-18 expression through angiotensin subtype 1 receptor and endothelin-1 in cardiomyocytes. **Prep Biochem Biotechnol**, v.38, p.201-212, 2008.

NEVINS M.; CAMELO M.; DE PAOLI S.; FRIEDLAND B.; SCHENK R. K.; PARMA-BENFENATI S.; SIMION M.; TINTI C.; WAGENBERG B. A study of the fate of the buccal wall of extraction sockets of teeth with prominent roots. **International Journal of Periodontics and Restorative Dentistry**, 26(1), p.19-29, 2006.

NORTON M. R.; ODELL E. W.; THOMPSON I. D.; COOK R. J. Efficacy of bovine bone mineral for alveolar augmentation: a human histologic study. **Clinical of Oral Implants Research**, v.14(6), p.775-83, 2003.

NYAN, M.; SATO, D.; ODA, M.; MACHIDA, T.; KOBAYASHI, H.; NAKAMURA, T. Bone formation with the combination of simvastatin and calcium sulfate in critical-sized rat calvarial defect. **Journal of Pharmacological Sciences**, v.104, p.384-6, 2007.

NYAN, M.; SATO, D.; KIHARA, H.; MASCHIDA, T. & OHYA, K. Effects of the combination with tricalcium phosphate and simvastatin on bone regeneration. **Clinical of Oral Implants Research**, v.20, p.280-287, 2009.

OHNAKA, K.; SHIMODA, S.; NAWATA, H.; SHIMOKAWA, H.; KAIBUCHI, K.; IWAMOTO, Y. & TAKAYANAGI, R. Pitavastatin enhanced BMP-2 and osteocalcin expression by inhibition of Rho-associated kinase in human osteoblasts. **Biochemical Biophysical Research Communication**, v.287, p.337-342, 2001.

OXLUND H.; ANDREASSEN, T. Simvastatin treatment partially prevents ovariectomy- induced bone loss while increasing bone formation. **Bone**, v.34, p.609-618, 2004.

OZEÇ, I.; KILIÇ, E.; GÜMÜS, C. & GÖZE, F. Effect of local simvastatin application on mandibular defects. **Journal of Craniofacial Surgery**, v.18, p.546-50, 2007.

PARK, J. B. The use of simvastatin in bone regeneration. **Medicina Oral, Patologia Oral y Cirugia Bucal**, v.14, p.485-8, 2009.

PIETROKOVSKI, J. & MASSLER, M. Alveolar ridge resorption following tooth extraction. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v.17, p.21–27, 1967.

PINHO, M. N.; RORIZ, V. L.; NOVAES, A. B. JR.; TABA, M. JR.; GRISI, M. F.; DE SOUZA; S. L., PALIOTO, D. B. Titanium membranes in prevention of alveolar collapse after tooth extraction. **Implant Dentistry**, v.15(1), p.53-61, 2006.

PRADEEP, A. R.; PRIYANKA, N.; KALRA, N.; NAIK, S. B.; SINGH, S. P.; MARTANDE, S. Clinical efficacy of subgingivally delivered 1.2-mg simvastatin in the treatment of individuals with Class II furcation defects: a randomized controlled clinical trial. **Journal of Periodontology**, v.83, p.1472-1479, 2012.

PRADEEP, A. R.; THORAT, M. S. Clinical effect of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of patients with chronic periodontitis: a randomized clinical trial. **Journal of Periodontology**, v.81, p.214-222, 2010.

PRADEEP, A. R.; RAO, N. S.; BAJAJ, P.; KUMARI, M. Efficacy of subgingivally delivered simvastatin in the treatment of patients with type 2 diabetes and chronic periodontitis: a randomized double-masked controlled clinical trial. **Journal of Periodontology**, v.84, p.24-31, 2013.

PULLISAAR, H.; RESELAND, J. E.; HAUGEN, H. J.; BRINCHMANN, J. E.; OSTRUP, E. Simvastatin coating of TiO₂ scaffold induces osteogenic differentiation of human adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. **Biochem Biophys Res Commun**, v.447(1), p.139-44, 2014.

RAO, N. S.; PRADEEP, A. R.; BAJAJ, P.; KUMARI, M.; NAIK, S. B. Simvastatin local drug delivery in smokers with chronic periodontitis: a randomized controlled clinical trial. **Australian Dental Journal**, v.58, p.156-162, 2013.

RICHTER, R. (2011-06-28) "Medtronic's spinal fusion product shown to be harmful in bold review by medical journal and its Stanford editors". Inside Stanford Medicine (Stanford School of Medicine).

RIOS, H. F.; LIN, Z.; OH, B.; PARK, C. H.; GIANNOBILE, W. V. Cell- and gene-based therapeutic strategied for periodontal regenerative medicine. **Journal of Periodontology**, v.82, p.1223-1237, 2011.

ROTHAMEL, D.; SCHWARZ, F.; HERTEN, M.; CHIRIAC, G.; PAKRAVAN, N.; SAGER, M.; BECKER, J. Dimensional ridge alterations following tooth extraction. An experimental study in the dog. **Mund Kiefer Gesichtschir**, p.11(2), v.89-97, 2007.

SAITO, E.; KANG, H.; TABOAS, J. M.; DIGGS, A.; FLANAGAN, C. L.; HOLLISTER, S. J. Experimental and computational characterization of designed and fabricated 50:50 PLGA porous scaffolds for human trabecular bone applications. **J Mater Sci Mater Med**, v.21, p.2371-2383, 2010.

SAKODA, K.; YAMAMOTO, M.; NEGISHI, Y.; LIAO, J. K.; NODE, K.; IZUMI, Y. Simvastatin decreases IL-6 and IL-8 production in epithelial cells. **J Dent Res**, v.85, p.520-523, 2006.

SAMADI, N.; ABBADESSA, A.; DI STEFANO, A.; VAN NOSTRUM, C. F.; VERMONDEN, T.; RAHIMIAN, S.; TEUNISSEN, E. A.; VAN STEENBERGEN, M. J.; AMIDI, M.; HENNINK, W. E. The effect of lauryl capping group on protein release and degradation of poly(D,L-lactic-co-glycolic acid) particles. **Journal of Controlled Release** v.172 (2), p.436–443, 2013.

SANDOR G. K.; KAINULAINEN V. T.; QUEIROZ J. O.; CARMICHAEL R. P.; OIKARINEN K. S. Preservation of ridge dimensions following grafting with coral granules of 48 post-traumatic and post-extraction dento-alveolar defects. **Dental Traumatology**, v.19(4), 221-7, 2003.

SCHNEIDER D.; WEBER F. E.; GRUNDER U.; ANDREONI C.; BURKHARDT R.; JUNG R. E. A randomized controlled clinical multicenter trial comparing the clinical and histological performance of a new, modified polylactide-co-glycolide acid membrane to an expanded polytetrafluorethylene membrane in guided bone regeneration procedures. **Clinical Oral Implants Research**, v.25(2), p.150-158, 2014.

SCHROPP, L.; WENZEL, A.; KOSTOPOULOS; L. & KARRING, T. Bone healing and soft tissue contour changes following single-tooth extraction: a clinical and radiographic 12-month prospective study. **The International journal of periodontics & restorative dentistry**, v.23, p.313–323, 2003.

SERVICE, R. F. Tissue engineers build new bone. **Science**, v.289, p.1498–1500, 2000.

SHAHABI S.; NAJAFI F.; MAJDABADI A.; HOOSHMAND T.; NAZARPAK M. H.; KARIMI B.; FATEMI S. M. Effect of Gamma Irradiation on Structural and Biological Properties of a PLGA-PEG-Hydroxyapatite Composite. **The Scientific World Journal Volume**, 420616, 2014.

SOGAL A.; TOFE A. J. Risk assessment of bovine spongiform encephalopathy transmission through bone graft material derived from bovine bone used for dental applications. **Journal of Periodontology**, v.70(9), p.1053-1063, 1999.

STALL, A.; FRITH, J. C.; FRENCH, M. H.; SWARTZ, J.; GUNGOR, T.; HARRITY T. W.; TAMASI, J.; ROGERS, M. J; FEYEN, J. H. The ability of statins to inhibit bone resorption is directly related to their inhibitory effect on HMG-CoA reductase activity. **J Bone Miner Res**, v.18, p.88-96, 2003.

STEIN, D.; LEE, Y.; SCHMIDT, M. J.; KILLPACK, B.; GENRICH, M. A. & NARAYANA, N. Local simvastatin effects on mandibular growth and inflammation. **Journal Periodontology**, v.76, p.1861-1870, 2005.

SUI, G.; YANG, X.; MEI, F.; HU, X.; CHENG, G.; DENG, X. & RYU, S. Poly-L-lactic acid/hydroxyapatite hybrid membrane for bone tissue regeneration. **Journal of Biomedical Materials Research**, v.82, p.445–454, 2007.

TALLGREN A. The continuing reduction of the residual alveolar ridges in complete denture wearers: a mixed-longitudinal study covering 25 years. **Journal of Prosthetic Dentistry**, v.27(2), p.120-132, 1972.

TAN, W. L.; WONG, T. L.; WONG, M. C. & LANG, N. P. A systematic review of post- extractional alveolar hard and soft tissue

dimensional changes in humans. **Clinical Oral Implants Research**, v.23(Suppl 5), p.1–21, 2012.

THYLIN, M. R.; MCCONNELL, J. C.; SCHMID, M. J.; RECKLING, R. R.; OJHA, J. & BHATTACHARYYA, I. Effects of simvastatin gels on murine calvarial bone. **Journal of Periodontology**, v.73, p.1141-8, 2002.

TÜRKER, N. S.; ÖZER, A. Y.; KUTLU, B.; NOHUTCU, R.; SUNGUR A.; BILGILI H.; EKIZOGLU M.; ÖZALP M. The effect of gamma radiation sterilization on dental biomaterials. **Tissue Engineering and Regenerative Medicine**, v.11(5), p.341-349, 2014.

URIST M. R. Bone: formation by autoinduction. **Science**, v.150(3698), p.893-899, 1965.

VANCE G. S.; GREENWELL H.; MILLER R. L.; HILL M.; JOHNSTON H.; SCHEETZ J. P. Comparison of an allograft in an experimental putty carrier and a bovine-derived xenograft used in ridge preservation: a clinical and histologic study in humans. **Int J Oral Maxillofac Implants**, v.19(4), p.491-497, 2004.

VAN DER WEIJDEN, F.; DELL'ACQUA, F. & SLOT, D. E. Alveolar bone dimensional changes of post-extraction sockets in humans: a systematic review. **Journal of Clinical Periodontology**, v.36, p.1048–1058, 2009.

VASILIC N.; HENDERSON R.; JORGENSON T.; SUTHERLAND E.; CARSON R. The use of bovine porous bone mineral in combination with collagen membrane or autologous fibrinogen/fibronectin system for ridge preservation following tooth extraction. **J Okla Dent Assoc**, v.93(4), p.33-38, 2003.

VIGNOLETTI, F.; MATESANZ, P.; RODRIGO, D.; FIGUERO, E.; MARTIN, C. & SANZ, M. Surgical protocols for ridge preservation after tooth extraction. A systematic review. **Clinical Oral Implants Research**, v.23(Suppl 5), p.22–38, 2012.

YUN K. I.; KIM D. J.; PARK J. U. Osteogenic potential of adult stem cells from human maxillary sinus membrane by Simvastatin in vitro:

preliminary report. **J Korean Assoc Oral Maxillofac Surg**, v.39(4), p.150-155, 2013, 2013.

WANG, P. S.; SOLOMON, D. H.; MOGUN, H.; AVORN, J. HMG-CoA reductase inhibitors and the risk of hip fractures in elderly patients. **JAMA**, v.283, p.3211-3216, 2000.

WEITZ-SCHMIDT, G. Statins as anti-inflammatory agents. **Trends in Pharmacological Sciences**, v.23, p.482-486, 2002.

WHANG, K. M.; MCDONALD, J.; KHAN, A. & SATSANGI, N. A novel osteotropic biomaterial OG-PLG: synthesis and in vitro release. **Journal of Biomedical Materials Research A**, v.74, p.237-246, 2005.

WU, Z.; LIU, C.; ZANG, G. & SUN, H. The effect of simvastatin on remodeling of the alveolar bone following tooth extraction. **International Journal of Oral & Maxillofacial Surgery**, v.37, p.170-176, 2008.

ZHANG, J.; DRICU, A. & SJÖVALL, J. Studies on the relationships between 7 alpha-hydroxylation and the ability of 25- and 27-hydroxycholesterol to suppress the activity of HMG-CoA reductase. **Biochimica et Biophysica Acta**, v.18, p.241-9, 1997.

ZHU X. Y.; DAGHINI E.; CHADE A. R.; LAVI R.; NAPOLI C.; LERMAN A.; LERMAN L. O. Disparate effects of simvastatin on angiogenesis during hypoxia and inflammation. **Life Science**, v.83(23-24), p.801-899, 2008.

CAPÍTULO V

APÊNDICES

APÊNDICE A – Metodologia Expandida

Considerações éticas

Todos os procedimentos e materiais foram submetidos e aprovados pelo Comitê de Ética em Pesquisa com Seres Humanos da Universidade Federal de Santa Catarina (CEPSH-UFSC), sob o número de parecer 931.099. Este pode ser visualizado no Apêndice C.

Este foi um estudo clínico, prospetivo, controlado, randomizado, de boca dividida realizado em humanos. O fato de estudos *in vitro* (Pereira-Neto 2010) e *in vivo*, em ratos (Alécio 2014; Encarnação 2016a) com o mesmo material já terem sido realizados previamente, possibilitou a realização deste estudo em seres humanos.

Seleção da amostra

Participaram da pesquisa 13 pacientes, com uma idade média de $22,8 \pm 3,7$ anos, que necessitavam de exodontia bilateral dos terceiros molares superiores. A escolha das cristas pós-extração de terceiros molares como futuro local a regenerar deveu-se à possibilidade de se conseguir uma maior amostra durante o curto período durante o qual este estudo teria de ser realizado. Os terceiros molares superiores foram escolhidos para a pesquisa em detrimento dos inferiores pela maior facilidade de fechamento primário após a extração dentária e, assim, tentar evitar a exposição precoce do enxerto. No entanto, apesar de só os superiores entrarem na pesquisa, os inferiores que estivessem presentes também seriam removidos no mesmo tempo cirúrgico, para benefício do paciente. As indicações para exodontia dentária diagnosticadas foram cáries, ortodontia e preventiva. Como pré-requisito para inclusão no estudo, os pacientes tinham de ser saudáveis a nível sistémico e não fumar mais de 20 cigarros/dia. Foram incluídos apenas pacientes que apresentassem terceiros molares superiores bilateralmente, independentemente de estes estarem erupcionados ou inclusos. A localização em boca do terceiro molar (erupcionado ou incluso) não foi padronizada para permitir a obtenção da maior amostra possível. Na Tabela 1 é apresentada a distribuição dos pacientes e região a operar de acordo com as modalidades de tratamento. Os pacientes que não obedeciam a todos os critérios de inclusão foram excluídos do estudo.

Os pacientes foram informados sobre a pesquisa e os que aceitaram participar assinaram o Termo de Consentimento Livre e Esclarecido. (Apêndice C)

Tabela 1 - Distribuição dos pacientes e região a operar de acordo com as modalidades de tratamento.

Parâmetros dos pacientes	Controle	OBMD-C	PLGA/HA	PLGA/HA/S
Homem/Mulher	5/1	2/1	2/7	1/7
Fumante/Não fumante	1/5	1/2	1/8	1/7
Posição dentária: erupcionado/incluso	0/6	2/1	4/5	4/4
Direito/Esquerdo	2/4	2/1	5/4	4/4
Razão de extração: ortodontia/preventiva/cáries	4/1/1	0/2/1	5/3/1	3/4/1

OBMD-C, Osso bovino mineral desproteínizado com 10% de colágeno.

PLGA/HA – Poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a enxerto ósseo cerâmico bifásico (sintético) composto por hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio.

PLGA/HA/S – Poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a enxerto ósseo cerâmico bifásico (sintético) composto por hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio, com adição de sinvastatina a 2,0%.

Preparo dos arcabouços de PLGA/HA/ β -TCP e PLGA/HA/ β -TCP com sinvastatina a 2,0%

Os enxertos dos grupos teste PLGA/HA e PLGA/HA/S foram fabricados no Núcleo de Pesquisas em Materiais Cerâmicos e Compósitos (CERMAT), Departamento de Engenharia Mecânica, Universidade Federal de Santa Catarina, sob supervisão do Prof. Dr. Águedo Aragones. Os materiais utilizados na produção dos arcabouços podem ser vistos no Apêndice B (Fig. 1).

Os arcabouços foram produzidos com copolímero de poli(ácido láctico-co-glicólico) associado a hidroxiapatita/beta fosfato tricálcico (PLGA/HA/ β -TCP), e obtidos pela técnica de evaporação de solvente. O copolímero de poli(ácido láctico-co-glicólico) (PLGA) (Resomer, Evonik Ind., Essen - Alemanha), na proporção 82:18 (m:m), foi dissolvido em clorofórmio PA (ChCl_3 - Synth - LabSynth, Diadema, São Paulo - Brasil) (10% m/v), em temperatura ambiente. Após a dissolução completa do polímero, foram adicionadas partículas de 50 μm de um enxerto ósseo cerâmico bifásico (sintético), quimicamente sintetizado de alta pureza, composto por hidroxiapatita e β -trifosfato de cálcio na proporção 70% - 30% (30% m/m) (Genphos Genius, Baumer, Mogi Mirim, Brasil), bem como a sacarose (Microbiology - Merck, Darmstadt - Alemanha) na proporção de 75% (m/v) com granulação inferior a 500 μm . Essa solução foi vertida em moldes cilíndricos de 5 mm de diâmetro. Após a evaporação de solvente, a sacarose foi removida usando-se álcool polivinílico PS ($\text{C}_2\text{H}_4\text{O}$), Vetec Química Fina Ltda, Rio de Janeiro). A estrutura química de uma cadeia polimérica de poli(ácido láctico-co-glicólico) e sua degradação por hidrólise podem ser vistas no Apêndice B (Fig. 2).

No grupo com sinvastatina repetiu-se o processo, porém, após a dissolução completa do polímero (PLGA) no clorofórmio, a sinvastatina (Simvastatin, PHR1438-1G, Fluka, Sigma-Aldrich, Brasil) foi diluída nessa solução de PLGA em clorofórmio numa concentração de 2,0% em relação à massa do polímero (m/m). A Figura 3 do Apêndice B mostra a estrutura química da sinvastatina.

O processo descrito foi adaptado de Encarnação et al. (2016a).

O processo de esterilização por radiação gama tem demonstrado ser seguro e o método mais eficaz para materiais à base de PLGA (Shababi et al. 2014; Turker et al. 2014). Assim, neste estudo, os arcabouços foram embalados em sterilebag e depois esterilizados a 20 kGy em radiação gama.

Intervenção cirúrgica

Previamente ao início do estudo, foi obtido o termo de consentimento livre e esclarecido de todos os pacientes. Relativamente à randomização, esta foi realizada por meio de sorteio com papéis numerados por uma pessoa independente, que não conhecia o protocolo do estudo.

As cirurgias foram realizadas na clínica particular Faccial – Clínica Levy Rau, Baía Sul Medical Center, Florianópolis, Brasil. Todas as cirurgias foram realizadas com recurso à sedação com óxido nítrico. Os pacientes foram anestesiados com cloridrato de mepivacaína com epinefrina 1:100 000 (Mepiadre 100, DFL, Rio de Janeiro, Brazil). A abordagem escolhida para exodontia, técnica previamente descrita (Chiapasco et al. 2006), consistiu na realização de um retalho de acesso triangular, em que foi feita uma incisão relaxante, com uma lâmina de bisturi 15c, na tuberosidade e outra distal ao 2º molar, preservando-se, assim, o periodonto dos molares erupcionados adjacentes.

Após a exodontia dentária, remoção de forma cuidadosa do tecido de granulação com instrumentos manuais e irrigação com água para injeção (B. Braun, Melsungen AG, Alemanha), cada local da extração foi aleatoriamente distribuído por um dos três grupos teste de técnica de preenchimento com biomaterial ou pelo grupo de controle, de acordo com papéis numerados:

- Osso bovino mineral desproteínizado com 10% de colágeno (Bio-Oss® Collagen, Geistlich Pharma AG, Wolhusen, Switzerland) a nível ósseo (OBMD-C)
- Arcabouço de poli(ácido láctico-co-glicólico) e hidroxiapatita/ β -TCP (PLGA/HA/ β -TCP) abaixo da crista óssea (PLGA/HA)
- Arcabouço de poli(ácido láctico-co-glicólico) e hidroxiapatita/ β -TCP (PLGA/HA/ β -TCP) + 2,0% de Sinvastatina abaixo da crista óssea (PLGA/HA/S).

No grupo controle, nenhum tratamento foi realizado e a cicatrização ocorreu de forma espontânea pela formação do coágulo.

Resumidamente, os materiais de regeneração óssea foram aplicados da seguinte forma: no grupo OBMD-C, o biomaterial de enxerto Bio-Oss® Collagen foi colocado no interior do envelope ósseo da extração, numa posição nunca coronal à margem óssea, de acordo com uma técnica previamente descrita (Jung et al. 2004). No grupo PLGA/HA e PLGA/HA/S, após remoção do biomaterial da embalagem,

este foi cortado de acordo com as dimensões do local a enxertar e aplicado diretamente, sempre abaixo do limite coronal da crista óssea.

Os tecidos foram reposicionados e suturados com fio de sutura Nylon 5.0 (Ethicon, Johnson&Johnson Company, SP, Brasil).

Os pacientes foram instruídos a realizar bochechos com Digluconato de clorexidina 0,12% (Noplak, Laboratório Daudt Oliveira, Rio de Janeiro, Brasil), 3 vezes ao dia durante uma semana. Receberam também medicação analgésica em caso de dor (30 mg Tylex), antibiótico (500 mg Amoxicilina) 8-8h por 7 dias e anti-inflamatório (2 mg de Dexametasona) 12-12h por 3 dias.

Todos os pacientes retornaram após 7 a 10 dias para verificar o pós-operatório e para remoção de sutura.

Posteriormente, Tomografias Computadorizadas por Feixe Cônico foram realizadas após 3 meses de pós-operatório, a alguns pacientes, a fim de ver qual o comportamento na mineralização óssea dos vários biomateriais utilizados.

Proservação

As restantes consultas de controle pós-operatório foram realizadas na clínica Faccial – Clínica Levy Rau, Baía Sul Medical Center e na Clínica do Mestrado em Implantodontia, no Centro de Ensino e Pesquisas em Implantes Dentários (CEPID), Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Santa Catarina.

Análises

Avaliação clínica

Todos os pacientes foram avaliados previamente, durante e 1 e 3 meses após as cirurgias. A avaliação foi feita por meio de exame clínico intra-oral e foram realizadas fotografias intra-orais à região onde havia sido feita a cirurgia, a fim de fazer um levantamento de possíveis complicações (infecções, deiscência da ferida, perda de enxerto). Por perda de enxerto se entende tanto a perda precoce, ocorrida na primeira semana de pós-operatório, como a tardia, ocorrida após este período. Foi também perguntado aos pacientes se, durante o período de pós-operatório, tinham sentido algum tipo de dor no local operado ou próximo deste.

Avaliação radiográfica

As imagens tomográficas foram adquiridas no aparelho PreXion 3D (Prexion, Inc., San Mateo, CA, USA), definido em 90 kVp e 4 mA.

O tempo de exposição foi de 10 s, com FOV de 8 cm, e a resolução da imagem (voxel) de 0,1 mm.

Análise estatística dos dados

Os dados foram inseridos em uma planilha Excel[®] onde foi realizada a consistência dos mesmos. Após, foram exportados para o software SPSS[®] 20.0. Foi realizada uma análise descritiva das variáveis. Para verificar a associação das variáveis com o desfecho, utilizou-se o teste Qui-quadrado de Pearson ou Exato de Fisher, considerando-se estatisticamente significativas as associações com valor $p < 0,05$.

APÊNDICE B - Figuras da metodologia expandida

Figura 1 - Fabricação dos arcabouços dos grupos PLGA/HA e PLGA/HA/S.

A - Poli((L)lático-co-carbonato de trimetileno) (Resomer[®] LT 706 S, Evonik Ind., Essen - Alemanha);

B - Poli(ácido glicólico) (Resomer[®] LG 824 S, Evonik Ind., Essen - Alemanha);

C - Sinvastatina (Simvastatin, PHR1438-1G, Fluka, Sigma-Aldrich, Brasil);

D - Sacarose (Microbiology – Merck, Darmstadt - Alemanha);

E - Hidroxiapatita/Beta fosfato tricálcico (Genphos Genius, Baumer, Mogi Mirim, Brasil);

F - Moldes cilíndricos de 5 mm de diâmetro;

G - Arcabouço final, pronto para ser embalado e esterilizado por radiação gama.

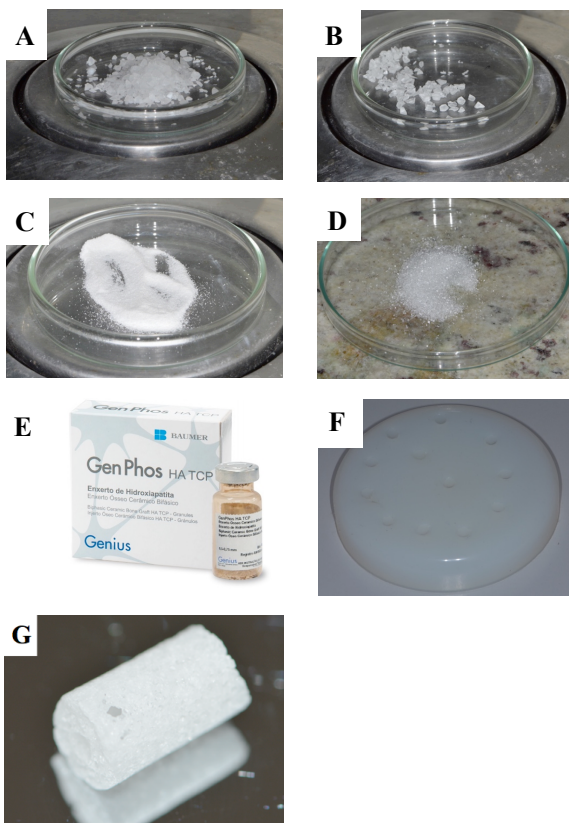


Figura 2 - Estrutura química de uma cadeia polimérica de poli(ácido láctico-co-glicólico) e do ácido glicólico e láctico resultantes da sua quebra por hidrólise.

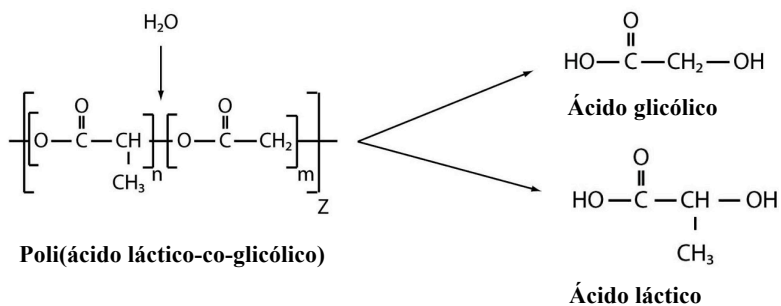


Figura 3 - Estrutura química da sinvastatina.

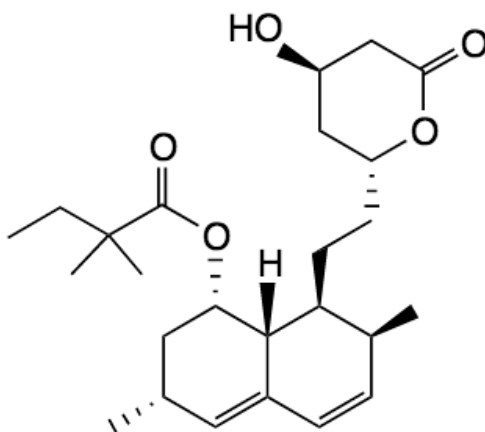
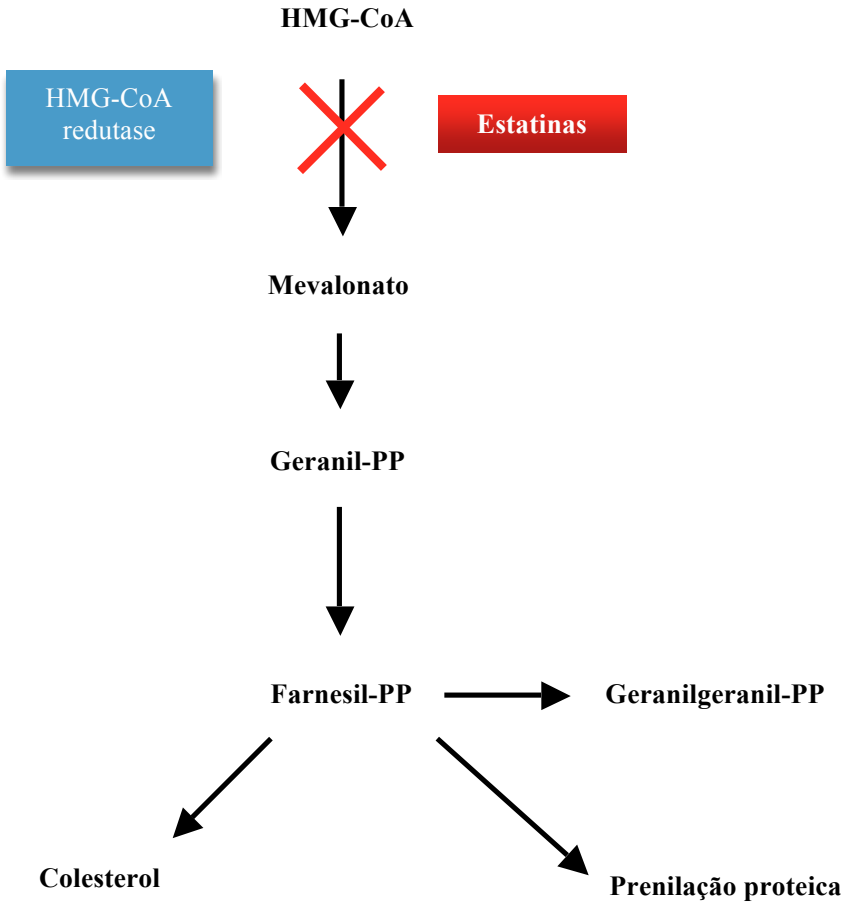


Figura 4 - Esquema da inibição da enzima HMG-CoA redutase no ciclo do mevalonato.



APÊNDICE C – Termo de Consentimento Livre e Esclarecido

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA- UFSC**CENTRO DE ESTUDOS E PESQUISA EM IMPLANTES
DENTÁRIOS-CEPID****TERMO DE CONSENTIMENTO LIVRE E ESCLARECIDO**

Título do Projeto: Avaliação clínica do reparo ósseo de alvéolos pós-extração de terceiros molares com arcabouços de PLGA+HA com e sem Sinvastatina.

O propósito desta pesquisa é testar alguns materiais que auxiliam na reabilitação de pacientes que, devido a perdas dentárias, são impossibilitados de restabelecimento de sua função e estética oral. Esta reabilitação normalmente é feita através de implantes dentários, porém nem sempre as condições em que o paciente se apresenta para o profissional são as ideais para a colocação de implantes. Os biomateriais, objetivo de estudo desta pesquisa, visam auxiliar no restabelecimento de condições satisfatórias para a reabilitação do paciente. Fatores como quantidade óssea, quantidade e qualidade de gengiva e implantes já colocados anteriormente de forma insatisfatória, podem ser indicadores de necessidade de uso de biomateriais para atingir o objetivo final, a reabilitação.

Se você concordar em cooperar com esta pesquisa, esteja ciente que você passará por um ou mais procedimentos cirúrgicos, os quais podem causar certo desconforto após sua realização, porém este desconforto não foge à normalidade de procedimentos cirúrgicos pequenos rotineiramente realizados na odontologia.

Alguns procedimentos deverão ser seguidos pelos pesquisadores, para que, ao final do estudo, possamos comparar os resultados de cada paciente e chegarmos a uma conclusão em relação a esses materiais:

· Avaliação clínica pré-operatória;

- Avaliação clínica pós-operatória Imediata (após 7 dias da cirurgia você deverá comparecer ao local em que foi operado para um exame);
- Avaliação clínica pós-operatória Mediata (após 4, 16 e 24 semanas você deverá comparecer na clínica do Mestrado em Implantodontia (CEPID), no Centro de Ciências da Saúde, na Universidade Federal de Santa Catarina, para um acompanhamento clínico das condições de cicatrização);
- Nas avaliações pós-cirúrgicas, bem como no exame inicial e nas visitas de controle, serão realizadas, quando necessários, fotografias digitais, exames radiográficos e exames médicos;
- Os materiais deste estudo possuem similaridade aos produtos comercialmente disponíveis e com registro na ANVISA e não provocam nenhum dano à saúde;

Fica claro, através deste documento, que você tem a liberdade de desistir de participar desse estudo em qualquer momento que desejar, sem nenhum prejuízo de qualquer natureza.

A participação na pesquisa não acarretará nenhum custo adicional ao paciente voluntário além daqueles previstos para este tipo de tratamento.

Os resultados obtidos durante este estudo serão mantidos em sigilo. A Universidade Federal de Santa Catarina (UFSC) não o identificará em caso de exposição e/ou publicação dos mesmos e os dados serão publicados somente em revistas científicas e/ou congressos científicos, nunca identificando o seu nome.

Ao assinar este termo no qual consta o seu nome, idade, e número do prontuário, você estará declarando que por meio de livre e espontânea vontade participará como voluntário do projeto de pesquisa citado acima, de responsabilidade do pesquisador Ricardo de Souza Magini. Você poderá obter informações do andamento da pesquisa através do telefone (48) 3721-9077, da Universidade Federal de Santa Catarina.

Florianópolis, ____ de _____ de 20__.

Nome do voluntário _____.

Data de nascimento ____/____/____.

_____ RG: _____

Assinatura do paciente

APÊNDICE D – Parecer do Comitê de Ética UFSC



CENTRO DE PESQUISAS
ONCOLÓGICAS -CEPON



PARECER CONSUBSTANCIADO DO CEP

DADOS DO PROJETO DE PESQUISA

Título da Pesquisa: AVALIAÇÃO CLÍNICA DO REPARO ÓSSEO DE ALVÉOLOS PÓS-EXTRAÇÃO DE TERCEIROS MOLARES COM ARCABOUÇOS DE PLGA+HA COM E SEM SINVASTATINA

Pesquisador: Miguel Alexandre Pereira Pinto Noronha de Oliveira

Área Temática:

Versão: 1

CAAE: 39260414.0.0000.5355

Instituição Proponente: Departamento de Odontologia

Patrocinador Principal: Financiamento Próprio
Departamento de Odontologia

DADOS DO PARECER

Número do Parecer: 931.099

Data da Relatoria: 04/12/2014

Apresentação do Projeto:

O presente projeto de pesquisa é uma Dissertação de Mestrado a ser apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da UFSC na área de Implantodontia.

A pesquisa foi formulada para testar biomateriais que podem auxiliar a regenerar a perda de tecido ósseo que ocorre após a extração dentária.

Com a perda dentária, verifica-se que o processo alveolar sofre atrofia que varia de pessoa para pessoa, esta perda traz prejuízos funcionais, estéticos e inclusive de autoestima ao indivíduo. Os biomateriais auxiliam no restabelecimento de condições satisfatórias para reabilitação do paciente.

Em busca de alternativas com menores riscos e custos, que consigam estimular a osteogênese, tem-se observado através de vários estudos as estatinas. Estas são úteis no tratamento de hipercolesterolemia, um fator de risco essencial para o aparecimento da aterosclerose. Uma destas estatinas, a sinvastatina mostrou aumentar o nível de expressão de BMPs nas células ósseas e a estimular a formação óssea.

A sinvastatina, quando administrada em baixas dosagens, observa-se um efeito proangiogênico. Quando as dosagens são altas e os níveis de sinvastatina são tóxicos são observados efeitos antiangiogênicos. Tal como os fatores de crescimento, a sinvastatina requer um meio condutor

Endereço: Rodovia Admar Gonzaga,655 - SC 404

Bairro: Itacorubi

CEP: 88.034-000

UF: SC

Município: FLORIANOPOLIS

Telefone: (48)3331-1502

Fax: (48)3331-1502

E-mail: cep@cepon.org.br



**CENTRO DE PESQUISAS
ONCOLÓGICAS -CEPON**



Continuação do Parecer: 931.099

adequado que controle a sua liberação local para permitir a formação óssea. Estudos recentes testaram o efeito da aplicação local da sinvastatina associada a diferentes carregadores, como a gelatina, hidroxiapatita (HA) ácido polilático (PLA), poli-glicólico (PGA), nanopartículas adicionadas ao PLGA (HO, et al., 2011).

Os estudos feitos em animais onde se usou a sinvastatina mostraram potencial em aumentar a formação óssea.

Estudos realizados recentemente demonstraram que a sinvastatina estimulou a osteogênese em células estaminais humanas adultas, o que traz boas perspectivas quanto à sua utilização em humanos.

A pesquisa irá avaliar se o uso da sinvastatina incorporada aos arcabouços de PLGA+HA e em Bio-Oss Collagen®, estimula a mineralização óssea, obtendo-se um melhor resultado quando comparado com a não utilização de qualquer biomaterial.

É um Estudo Fase I, controlado, randomizado, simples cego, desenhado para avaliar a influência da sinvastatina e arcabouços de PLGA+HA no reparo ósseo em alvéolos pós-extração dentária de terceiros molares.

O estudo será realizado em 25 pacientes, que necessitam de exodontia bilateral dos terceiros molares superiores. Para regenerar o local da extração serão colocados diferentes tipos de biomateriais. As cirurgias serão realizadas em pacientes de clínicas particulares dos municípios de Florianópolis e São José. As posteriores consultas de controle serão realizadas na clínica do Mestrado em Implantodontia, no Centro de Ensino e Pesquisas em Implantes Dentários (CEPID), Centro de Ciências da Saúde (CCS), Universidade Federal de Santa Catarina.

Critérios de Inclusão:

Faixa etária 18-40 anos; Pacientes com indicação de exodontia de terceiros molares superiores; Ser voluntário e estar disposto a cumprir todos os procedimentos relacionados ao estudo.

Critério de Exclusão: Fumantes ativos (20 cigarros dia); Diabetes insulino-dependente; História de doença maligna, radioterapia ou quimioterapia nos últimos 5 anos; Gravidez ou paciente hospitalizado; Pacientes em tratamento médico com drogas que afetem a remodelação óssea ou cicatrização da mucosa; Doenças metabólicas do tecido conjuntivo; Infecção ativa/potencial no local do implante ou em outro lugar da boca; Abuso de substâncias; Pacientes alérgicos a qualquer componente dos materiais testados; Envolvimento em outras investigações clínicas.

A metodologia do estudo dividi-se em 5 etapas:

1 - seleção de 25 pacientes que necessitam de exodontia bilateral dos terceiros molares superiores. 2 - DISTRIBUIÇÃO DOS GRUPOS - Grupo I: Não preenchimento (Coágulo); Grupo II: Bio-

Endereço: Rodovia Admar Gonzaga, 655 - SC 404

Bairro: Itacorubi

CEP: 88.034-000

UF: SC

Município: FLORIANOPOLIS

Telefone: (48)3331-1502

Fax: (48)3331-1502

E-mail: cep@cepon.org.br



CENTRO DE PESQUISAS
ONCOLÓGICAS - CEPON



Continuação do Parecer: 931.099

Oss Collagen®; Grupo III: PLGA+HA; Grupo IV: Bio-Oss Collagen®+Sinvastatina; Grupo V: PLGA+HA+Sinvastatina. 3 - OBTENÇÃO E PREPARO DO ARCABOUÇO DE PLGA+HA. 4 - PREPARO DA SINVASTATINA: A sinvastatina, aplicada ao arcabouço de PLGA+HA e ao Bio-Oss Collagen®, previamente à sua implantação, será utilizada a uma concentração de 0,2%. 5 - FASE CIRÚRGICA. MEDICAÇÃO PRÉ - OPERATÓRIA. Decorridos 6 meses de pós-operatório, os pacientes serão submetidos a uma 2ª cirurgia para coleta da biópsia, no local da prévia extração.

Análise dos dados: A cicatrização dos tecidos será avaliada, clínica e fotograficamente, antes da extração dentária e nos posteriores seguimentos.

Objetivo da Pesquisa:

Este estudo tem como objetivo avaliar, em humanos, a capacidade osteoindutora da sinvastatina, incorporada ao PLGA+HA e ao Bio-Oss Collagen® e possíveis reações inflamatórias associadas ao seu uso.

Avaliação dos Riscos e Benefícios:

Os riscos da aplicação da sinvastatina não têm grande relevância clínica. Diversos estudos anteriores mostraram que baixas doses de sinvastatina não têm impacto na formação óssea, enquanto que altas dosagens levam a alguma estimulação do processo inflamatório, atrasando o reparo. Como a dose de sinvastatina que vai ser aplicada ao arcabouço de PLGA+HA e ao Bio-Oss Collagen® é pequena, (0,2%), sua aplicação não trará grandes riscos para o paciente.

Benefícios: A sinvastatina tem despertado um grande interesse na área da medicina regenerativa devido aos seus resultados promissores. Destes podem-se destacar a regeneração dos discos da coluna vertebral, a fusão espinal em casos de mielomeningocele ou espinha bífida e também na área da traumatologia. Tem sido investigado o efeito osteogênico do uso local de sinvastatina em reparos ósseos em animais, com bons resultados. A associação de arcabouços e sinvastatina tem apresentado um grande potencial para aumentar a formação óssea. Estudos realizados recentemente demonstraram que a sinvastatina estimulou a osteogênese em células estaminais humanas adultas, o que traz boas perspectivas quanto à sua utilização em humanos.

Comentários e Considerações sobre a Pesquisa:

Pesquisa de interesse científico e social, que poderá melhorar a reabilitação oral e estética de pacientes que tiveram perdas dentárias .

Endereço: Rodovia Admar Gonzaga,655 - SC 404
Bairro: Itacorubi **CEP:** 88.034-000
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3331-1502 **Fax:** (48)3331-1502 **E-mail:** cep@cepon.org.br



CENTRO DE PESQUISAS
ONCOLÓGICAS -CEPON



Continuação do Parecer: 931.099

A utilização de biomateriais poderá permitir o tratamento clínico regenerativo dos pacientes que, por várias fatores (quantidade óssea, quantidade e qualidade da gengiva, retração do processo alveolar etc), estavam impossibilitados de ter acesso aos implantes dentários.

A pesquisa esta de acordo com as determinações da Resolução CNS 466/2012.

Considerações sobre os Termos de apresentação obrigatória:

Nas informações básicas sobre o projeto, no item sobre a necessidade ou não da dispensa do TCLE, é colocado como resposta que Sim, quando deverá ser Não, apesar dos baixos riscos que os pesquisadores colocam sobre o procedimento ao participante da pesquisa, é importante e fundamental a anuência do mesmo.

Recomendações:

Alterar a informação sobre a dispensa do TCLE e aplicá-lo obrigatoriamente.

Conclusões ou Pendências e Lista de Inadequações:

n.a

Situação do Parecer:

Aprovado

Necessita Apreciação da CONEP:

Não

Considerações Finais a critério do CEP:

Qualquer alteração no projeto original deve ser imediatamente comunicada ao CEP, para análise e aprovação. Relatórios semestrais sobre a pesquisa devem ser apresentados ao CEP.

FLORIANOPOLIS, 11 de Janeiro de 2015

Assinado por:
Luiz Roberto Medina dos Santos
(Coordenador)

Endereço: Rodovia Admar Gonzaga,655 - SC 404
Bairro: Itacorubi **CEP:** 88.034-000
UF: SC **Município:** FLORIANOPOLIS
Telefone: (48)3331-1502 **Fax:** (48)3331-1502 **E-mail:** cep@cepon.org.br

ANEXOS

ANEXO A – Normas do Periódico Journal of Clinical Periodontology para publicação de artigos.

Author Guidelines

Content of Author Guidelines: [1. General](#), [2. Ethical Guidelines](#), [3. Manuscript Submission Procedure](#), [4. Manuscript Types Accepted](#), [5. Manuscript Format and Structure](#), [6. After Acceptance](#) **Relevant Documents:** [Sample Manuscript](#), [Copyright Transfer Agreement](#) **Useful Websites:** [Submission Site](#), [Articles published in Journal of Clinical Periodontology](#), [Author Services](#), [Wiley-Blackwell's Ethical Guidelines](#), [Guidelines for Figures](#)

The journal to which you are submitting your manuscript employs a plagiarism detection system. By submitting your manuscript to this journal you accept that your manuscript may be screened for plagiarism against previously published works.

1. GENERAL *Journal of Clinical Periodontology* publishes original contributions of high scientific merit in the fields of periodontology and implant dentistry. Its scope encompasses the physiology and pathology of the periodontium, the tissue integration of dental implants, the biology and the modulation of periodontal and alveolar bone healing and regeneration, diagnosis, epidemiology, prevention and therapy of periodontal disease, the clinical aspects of tooth replacement with dental implants, and the comprehensive rehabilitation of the periodontal patient. Review articles by experts on new developments in basic and applied periodontal science and associated dental disciplines, advances in periodontal or implant techniques and procedures, and case reports which illustrate important new information are also welcome. Please read the instructions below carefully for details on the submission of manuscripts, the journal's requirements and standards as well as information concerning the procedure after a manuscript has been accepted for publication in *Journal of Clinical Periodontology*. Authors are encouraged to visit [Wiley-Blackwell's Author Services](#) for further information on the preparation and submission of articles and figures.

2. ETHICAL GUIDELINES

Journal of Clinical Periodontology adheres to the below ethical guidelines for publication and research. **2.1. Authorship and Acknowledgements** Authors submitting a paper do so on the

understanding that the manuscript have been read and approved by all authors and that all authors agree to the submission of the manuscript to the Journal. *Journal of Clinical Periodontology* adheres to the definition of authorship set up by The International Committee of Medical Journal Editors (ICMJE). According to the ICMJE authorship criteria should be based on 1) substantial contributions to conception and design of, or acquisition of data or analysis and interpretation of data, 2) drafting the article or revising it critically for important intellectual content and 3) final approval of the version to be published. Authors should meet conditions 1, 2 and 3. It is a requirement that all authors have been accredited as appropriate upon submission of the manuscript. Contributors who do not qualify as authors should be mentioned under Acknowledgements. Please note that it is a requirement to include email addresses for all co-authors at submission. If any of the email-addresses supplied are incorrect the corresponding author will be contacted by the journal administrator. **Acknowledgements:** Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited.

2.2. Ethical Approvals

Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether

appropriate procedures have been used. **2.3 Clinical Trials** Clinical trials should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A [CONSORT checklist](#) should also be included in the submission material. *Journal of Clinical Periodontology* encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/>, <http://isrctn.org/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper. **2.4 DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations** Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly. **2.5 Conflict of Interest and Sources of Funding** Authors are required to disclose all sources of institutional, private and corporate financial support for their study. Suppliers of materials (for free or at a discount from current rates) should be named in the source of funding and their location (town, state/county, country) included. Other suppliers will be identified in the text. If no funding has been available other than that of the author's institution, this should be specified upon submission. Authors are also required to disclose any potential conflict of interest. These include financial interests (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee,) or provision of study materials by their manufacturer for free or at a discount from current rates. Author's conflict of interest (or information specifying the absence of conflicts of interest) and the sources of funding for the research will be published under a separate heading entitled "Conflict of Interest and Sources of Funding Statement". See Editor-in-Chief Maurizio Tonetti's [Editorial on Conflict of Interest and Sources of Funding](#) and www.icmje.org/#conflicts for generally accepted definitions. **2.6 Appeal of Decision** Under exception circumstances, authors may appeal the editorial decision. Authors who wish to appeal the decision on their submitted paper may do so by e-mailing the editorial office at cpeedoffice@wiley.com with a detailed explanation for why they find reasons to appeal the decision. **2.7 Permissions** If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers. **2.8 Copyright Assignment** Authors submitting a paper do so on the understanding that the work and its essential

substance have not been published before and is not being considered for publication elsewhere. The submission of the manuscript by the authors means that the authors automatically agree to assign exclusive copyright to Wiley-Blackwell if and when the manuscript is accepted for publication. The work shall not be published elsewhere in any language without the written consent of the publisher. The articles published in this journal are protected by copyright, which covers translation rights and the exclusive right to reproduce and distribute all of the articles printed in the journal. No material published in the journal may be stored on microfilm or videocassettes or in electronic database and the like or reproduced photographically without the prior written permission of the publisher. Correspondence to the journal is accepted on the understanding that the contributing author licences the publisher to publish the letter as part of the journal or separately from it, in the exercise of any subsidiary rights relating to the journal and its contents. Upon acceptance of a paper, authors are required to assign the exclusive licence to publish their paper to Wiley-Blackwell. Assignment of the exclusive licence is a condition of publication and papers will not be passed to the publisher for production unless licence has been assigned. (Papers subject to government or Crown copyright are exempt from this requirement; however, the form still has to be signed). A completed [Copyright Transfer Agreement](#) (CTA) must be sent to the Editorial Office before any manuscript can be published. Authors must send the completed CTA upon receiving notice of manuscript acceptance, i.e., do not send the CTA at submission.

The CTA should be sent to:

Journal of Clinical Periodontology Editorial Office Wiley-Blackwell
John Wiley & Sons Ltd 9600 Carsington Road Oxford OX4 2DQ UK

Or by email to: cpeedoffice@wiley.com

For questions concerning copyright, please visit [Wiley-Blackwell's Copyright FAQ](#).

2.9 OnlineOpen

OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non- subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms. Any

authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at: <https://onlinelibrary.wiley.com/onlineOpenOrder>. Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

3. MANUSCRIPT SUBMISSION PROCEDURE

Manuscripts should be submitted electronically via the online submission site <http://mc.manuscriptcentral.com/jcpe>. The use of an online submission and peer review site enables immediate distribution of manuscripts and consequentially speeds up the review process. It also allows authors to track the status of their own manuscripts. Complete instructions for submitting a paper is available online and below. Further assistance can be obtained from the Journal Admin, Rosie Ledger, at cpeedoffice@wiley.com.

3.1. Getting Started Launch your web browser (supported browsers include Internet Explorer 5.5 or higher, Safari 1.2.4, or Firefox 1.0.4 or higher) and go to the journal's online Submission Site: <http://mc.manuscriptcentral.com/jcpe> • Log-in or, if you are a new user, click on 'register here'. • If you are registering as a new user. - After clicking on 'register here', enter your name and e-mail information and click 'Next'. Your e-mail information is very important. - Enter your institution and address information as appropriate, and then click 'Next.' - Enter a user ID and password of your choice (we recommend using your e-mail address as your user ID), and then select your areas of expertise. Click 'Finish'. • If you are registered, but have forgotten your log in details, enter your e-mail address under 'Password Help'. The system will automatically send you your user ID and a new temporary password. • Log-in and select 'Corresponding Author Center'. **3.2. Submitting Your Manuscript** • After you have logged into your 'Corresponding Author Center', submit your manuscript by clicking the submission link under 'Author Resources'. • Enter data and answer questions as appropriate. You may copy and paste directly from your manuscript and you may upload your pre-prepared covering letter. • Click the 'Next' button on each screen to save your work and advance to the next screen. • You are required to upload your files. - Click on the 'Browse' button and locate the file on your computer. - Upload your manuscript main document complete with title page, statement concerning source(s) of funding and conflict(s) of interest, abstract, clinical relevance section, references, tables and figure legends as “main

document". Upload figures as 'figures'. For clinical trials a Consort Checklist will be required, and it should be uploaded as "supplementary file for review". If any unpublished papers are referenced in the reference list, a digital version of the referenced paper should also be uploaded as "supplementary file for review". - Select the designation of each file in the drop down next to the Browse button. - When you have selected all files you wish to upload, click the 'Upload Files' button. • Review your submission (in HTML and PDF format). Notice that all documents uploaded as supplementary files for review will not be viewable in the HTML and PDF format. Click the 'Submit' button when you are finished reviewing.

3.3. Manuscript Files Accepted Manuscripts should be uploaded as Word (.doc) or Rich Text Format (.rft) files (not write-protected) plus separate figure files. GIF, JPEG, PICT or Bitmap files are acceptable for submission, but only high-resolution TIF or EPS files are suitable for printing. The files will be automatically converted to HTML and PDF on upload and will be used for the review process. The text file must contain the entire manuscript including title page, abstract, clinical reference, main text, references, acknowledgement, statement of source of funding and any potential conflict of interest, tables, and figure legends, but no embedded figures. In the text, please reference any figures as for instance 'Figure 1', 'Figure 2' etc to match the tag name you choose for the individual figure files uploaded. Manuscripts should be formatted as described in the Author Guidelines below. Please note that any manuscripts uploaded as Word 2007 (.docx) will be automatically rejected. Please save any .docx file as .doc before uploading.

3.4. Blinded Review All manuscripts submitted to *Journal of Clinical Periodontology* will be reviewed by two or more experts in the field. Papers that do not conform to the general aims and scope of the journal will, however, be returned immediately without review. *Journal of Clinical Periodontology* uses single blinded review. The names of the reviewers will thus not be disclosed to the author submitting a paper.

3.5. Suggest a Reviewer *Journal of Clinical Periodontology* attempts to keep the review process as short as possible to enable rapid publication of new scientific data. In order to facilitate this process, please suggest the name and current email address of one potential international reviewer whom you consider capable of reviewing your manuscript. In addition to your choice the editor will choose one or two reviewers as well.

3.6. Suspension of Submission Mid-way in the Submission Process You may suspend a submission at any phase before clicking the 'Submit' button and save it to submit later. The manuscript can then be

located under 'Unsubmitted Manuscripts' and you can click on 'Continue Submission' to continue your submission when you choose to. **3.7. E-mail Confirmation of Submission** After submission you will receive an e-mail to confirm receipt of your manuscript. If you do not receive the confirmation e-mail after 24 hours, please check your e-mail address carefully in the system. If the e-mail address is correct please contact your IT department. The error may be caused by some sort of spam filtering on your e-mail server. Also, the e-mails should be received if the IT department adds our e-mail server (uranus.scholarone.com) to their whitelist. **3.8. Manuscript Status** You can access ScholarOne Manuscripts (formerly known as Manuscript Central) any time to check your 'Author Centre' for the status of your manuscript. The Journal will inform you by e-mail once a decision has been made. **3.9. Submission of Revised Manuscripts** To submit a revised manuscript, locate your manuscript under 'Manuscripts with Decisions' and click on 'Submit a Revision'. Please remember to delete any old files uploaded when you upload your revised manuscript. **3.10 Resubmissions** If your manuscript was given the decision of reject and resubmit, you might choose to submit an amended version of your manuscript. This should be submitted as a new submission following the guidelines above under 3.2. In addition you should upload comments to the previous review as “supplementary files for review”.

4. MANUSCRIPT TYPES ACCEPTED

Journal of Clinical Periodontology publishes original research articles, reviews, clinical innovation reports and case reports. The latter will be published only if they provide new fundamental knowledge and if they use language understandable to the clinician. It is expected that any manuscript submitted represents unpublished original research. **Original Research Articles** must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary, repeated. Original articles will be published under the heading of clinical periodontology, implant dentistry or pre-clinical sciences and must conform to the highest international standards in the field. **Clinical Innovation Reports** are suited to describe significant improvements in clinical practice such as the report of a novel surgical technique, a breakthrough in technology or practical approaches to recognized clinical challenges. They should conform to the highest scientific and clinical practice standards. **Case Reports** illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable but their merit needs to provide high priority for publication in the Journal. On rare occasions, completed cases displaying non-

obvious solutions to significant clinical challenges will be considered. **Reviews** are selected for their broad general interest; all are refereed by experts in the field who are asked to comment on issues such as timeliness, general interest and balanced treatment of controversies, as well as on scientific accuracy. Reviews should take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors' own previous work, so extensive citation of the authors' own publications is discouraged. The use of state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. Reviews are frequently commissioned by the editors and, as such, authors are encouraged to submit a proposal to the Journal. Review proposals should include a full-page summary of the proposed contents with key references.

5. MANUSCRIPT FORMAT AND STRUCTURE

5.1. Format Language: The language of publication is English. Authors for whom English is a second language may choose to have their manuscript professionally edited before submission to improve the English. It is preferred that manuscript is professionally edited. A list of independent suppliers of editing services can be found at http://authorservices.wiley.com/bauthor/english_language.asp. Japanese authors can also find a list of local English improvement services at <http://www.wiley.co.jp/journals/editcontribute.html>. All services are paid for and arranged by the author, and use of one of these services does not guarantee acceptance or preference for publication.

Abbreviations, Symbols and Nomenclature: *Journal of Clinical Periodontology* adheres to the conventions outlined in Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Medical and Scientific Editors and Authors. Abbreviations should be kept to a minimum, particularly those that are not standard. Non-standard abbreviations must be used three or more times and written out completely in the text when first used. **5.2. Structure** All articles submitted to *Journal of Clinical Periodontology* should include Title Page, Abstract, and References. In addition, Journal of Clinical Periodontology requires that all articles include a section on Clinical Relevance and disclose Source of Funding and Conflict of Interests. Figures, Figure Legends and Tables should be included where appropriate. All manuscripts should emphasize clarity and brevity. Authors should pay special attention to the presentation of their findings so that they may be communicated clearly. Technical jargon should be avoided as much as possible and be clearly explained where its use is unavoidable. **Title Page:** The title must be concise and contain no more than 100 characters including spaces. The title page should include a running title of no more than 40 characters; 5-10 key words, complete

names of institutions for each author, and the name, address, telephone number, fax number and e-mail address for the corresponding author. **Conflict of Interest and Source of Funding:** Authors are required to disclose all sources of institutional, private and corporate financial support for their study. Suppliers of materials (for free or at a discount from current rates) should be named in the source of funding and their location (town, state/county, country) included. Other suppliers will be identified in the text. If no funding has been available other than that of the author's institution, this should be specified upon submission. Authors are also required to disclose any potential conflict of interest. These include financial interests (for example patent, ownership, stock ownership, consultancies, speaker's fee,) or provision of study materials by their manufacturer for free or at a discount from current rates. Author's conflict of interest (or information specifying the absence of conflicts of interest) and the sources of funding for the research will be published under a separate heading entitled "Conflict of Interest and Source of Funding Statement". See Editor-in-Chief Maurizio Tonetti's [Editorial on Conflict of Interest and Source of Funding](#) and www.icmje.org/#conflicts for generally accepted definitions.

Abstract: is limited to 200 words in length and should not contain abbreviations or references. The abstract should be organized according to the content of the paper. For Original Research Articles the abstract should be organized with aim, materials and methods, results and conclusions. For clinical trials, it is encouraged that the abstract finish with the clinical trial registration number on a free public database such as clinicaltrials.gov. **Clinical Relevance:** This section is aimed at giving clinicians a reading light to put the present research in perspective. It should be no more than 100 words and should not be a repetition of the abstract. It should provide a clear and concise explanation of the rationale for the study, of what was known before and of how the present results advance knowledge of this field. If appropriate, it may also contain suggestions for clinical practice. It should be structured with the following headings: scientific rationale for study, principal findings, and practical implications. Authors should pay particular attention to this text as it will be published in a highlighted box within their manuscript; ideally, reading this section should leave clinicians wishing to learn more about the topic and encourage them to read the full article. **Acknowledgements:** Under acknowledgements please specify contributors to the article other than the authors accredited.

5.3. Original Research Articles

These must describe significant and original experimental observations and provide sufficient detail so that the observations can be critically evaluated and, if necessary, repeated. Original articles will be published under the heading of clinical periodontology, implant dentistry or pre-clinical sciences and must conform to the highest international standards in the field. The word limit for original research articles is 3500 words, and up to 7 items (figures and tables) may be included. Additional items can be included as supplementary files online (please see 5.9 below).

Main Text of Original Research Articles should be organized with Introduction, Materials and Methods, Results and Discussion. The background and hypotheses underlying the study, as well as its main conclusions, should be clearly explained. Please see Sample Manuscript.

Introduction: should be focused, outlining the historical or logical origins of the study and not summarize the results; exhaustive literature reviews are not appropriate. It should close with the explicit statement of the specific aims of the investigation. **Material and Methods:** must contain sufficient detail such that, in combination with the references cited, all clinical trials and experiments reported can be fully reproduced. As a condition of publication, authors are required to make materials and methods used freely available to academic researchers for their own use. This includes antibodies and the constructs used to make transgenic animals, although not the animals themselves. **(a) Clinical trials** should be reported using the CONSORT guidelines available at www.consort-statement.org. A [CONSORT checklist](#) should also be included in the submission material. If your study is a randomized clinical trial, you will need to fill in all sections of the CONSORT Checklist. If your study is not a randomized trial, not all sections of the checklist might apply to your manuscript, in which case you simply fill in N/A. *Journal of Clinical Periodontology* encourages authors submitting manuscripts reporting from a clinical trial to register the trials in any of the following free, public clinical trials registries: www.clinicaltrials.gov, <http://clinicaltrials.ifpma.org/clinicaltrials/>. The clinical trial registration number and name of the trial register will then be published with the paper. **(b) Statistical Analysis:** As papers frequently provide insufficient detail as to the performed statistical analyses, please describe with adequate detail. For clinical trials intention to treat analyses are encouraged (the reasons for choosing other types of analysis should be highlighted in the submission letter and clarified in the manuscript). **(c) DNA Sequences and Crystallographic Structure Determinations:** Papers reporting protein or DNA sequences and crystallographic structure determinations will not be accepted

without a Genbank or Brookhaven accession number, respectively. Other supporting data sets must be made available on the publication date from the authors directly. **(d) *Experimental Subjects:*** Experimentation involving human subjects will only be published if such research has been conducted in full accordance with ethical principles, including the World Medical Association [Declaration of Helsinki](#) (version 2008) and the additional requirements, if any, of the country where the research has been carried out. Manuscripts must be accompanied by a statement that the experiments were undertaken with the understanding and written consent of each subject and according to the above mentioned principles. A statement regarding the fact that the study has been independently reviewed and approved by an ethical board should also be included. When experimental animals are used the methods section must clearly indicate that adequate measures were taken to minimize pain or discomfort. Experiments should be carried out in accordance with the Guidelines laid down by the National Institute of Health (NIH) in the USA regarding the care and use of animals for experimental procedures or with the European Communities Council Directive of 24 November 1986 (86/609/EEC) and in accordance with local laws and regulations.

All studies using human or animal subjects should include an explicit statement in the Material and Methods section identifying the review and ethics committee approval for each study, if applicable. Editors reserve the right to reject papers if there is doubt as to whether appropriate procedures have been used. **Results:** should present the observations with minimal reference to earlier literature or to possible interpretations. **Discussion:** may usefully start with a brief summary of the major findings, but repetition of parts of the abstract or of the results section should be avoided. The discussion section should end with a brief conclusion and a comment on the potential clinical relevance of the findings. Statements and interpretation of the data should be appropriately supported by original references.

The discussion may usefully be structured with the following points in mind (modified from the proposal by [Richard Horton \(2002\), The Hidden Research Paper, The Journal of the American Medical Association, 287, 2775-2778](#)). Not all points will apply to all studies and its use is optional, but we believe it will improve the discussion section to keep these points in mind. Summary of key finding * Primary outcome measure(s) * Secondary outcome measure(s) * Results as they relate to a prior hypothesis Strengths and Limitations of the Study * Study Question * Study Design * Data Collection * Analysis *

Interpretation * Possible effects of bias on outcomes Interpretation and Implications in the Context of the Totality of Evidence * Is there a systematic review to refer to? * If not, could one be reasonably done here and now? * What this study adds to the available evidence * Effects on patient care and health policy * Possible mechanisms Controversies Raised by This Study Future Research Directions * For this particular research collaboration * Underlying mechanisms * Clinical research

5.4. Clinical Innovation Reports These are suited to describe significant improvements in clinical practice such as the report of a novel surgical technique, a breakthrough in technology or practical approaches to recognized clinical challenges. They should conform to the highest scientific and clinical practice standards.

The word limit for clinical innovation reports is 3000 words, and up to 12 items (figures and tables) may be included. Additional items can be included as supplementary files online (please see 5.9 below).

The main text of Clinical Innovation Reports should be organized with Introduction, Clinical Innovation Report, Discussion and Conclusion.

5.5. Case Reports

Case reports illustrating unusual and clinically relevant observations are acceptable but their merit needs to provide high priority for publication in the Journal. On rare occasions, completed cases displaying non-obvious solutions to significant clinical challenges will be considered.

The main text of Case Reports should be organized with Introduction, Case report, Discussion and Conclusion.

5.6. Reviews

Reviews are selected for their broad general interest; all are refereed by experts in the field who are asked to comment on issues such as timeliness, general interest and balanced treatment of controversies, as well as on scientific accuracy. Reviews should take a broad view of the field rather than merely summarizing the authors' own previous work, so extensive citation of the authors' own publications is discouraged. The use of state-of-the-art evidence-based systematic approaches is expected. Reviews are frequently commissioned by the editors and, as such, authors are encouraged to submit a proposal to the Journal. Review proposals should include a full-page summary of the proposed contents with key references. The word limit for reviews is 4000 words.

The main text of Reviews should be organized with Introduction, Review of Current Literature, Discussion and Conclusion.

5.7. References

It is the policy of the Journal to encourage reference to the original papers rather than to literature reviews. Authors should therefore keep

citations of reviews to the absolute minimum. We recommend the use of a tool such as EndNote or Reference Manager for reference management and formatting. EndNote reference styles can be searched for here: <http://www.endnote.com/support/enstyles.asp> Reference Manager reference styles can be searched for here: <http://www.refman.com/support/rmstyles.asp> Please note that all unpublished papers (submitted or in press) included in the reference list should be provided in a digital version at submission. The unpublished paper should be uploaded as a supplementary file for review. Reference style (Harvard): References in the text should quote the last name(s) of the author(s) and the year of publication (Brown & Smith 1966). Three or more authors should always be referred to as, for example, Brown et al. 1966. A list of references should be given at the end of the paper and should follow the recommendations in Units, Symbols and Abbreviations: A Guide for Biological and Medical Editors and Authors, (1975), p. 36. London: The Royal Society of Medicine. a) The arrangement of the references should be alphabetical by first author's surname. b) The order of the items in each reference should be: (i) for journal references: name(s) of author(s), year, title of paper, title of journal, volume number, first and last page numbers. (ii) for book references: name(s) of author(s), year, chapter title, title of book in italics, edition, volume, page number(s), town of publication, publisher. c) Authors' names should be arranged thus: Smith, A. B., Jones, D. E. & Robinson, F. C. Note the use of the ampersand and omission of comma before it. Authors' names when repeated in the next reference are always spelled out in full. d) The year of publication should be surrounded by parentheses: (1967). e) The title of the paper should be included without quotation marks. f) The journal title should be written in full, italicised (single underlining in typescript), and followed by volume number in bold type (double underlining on typescript) and page numbers. Examples: Botticelli, D., Berglundh, T. & Lindhe, J. (2004) Hard-tissue alterations following immediate implant placement in extraction sites. *Journal of Clinical Periodontology* 10, 820-828. doi:10.1111/j.1600-051X.2004.00565.x Lindhe, J., Lang, N.P. & Karring, K. (2003) *Periodontology and Implant Dentistry*. 4th edition, p. 1014, Oxford. Blackwell Munksgaard. Bodansky, O. (1960) Enzymes in tumour growth with special reference to serum enzymes in cancer. In *Enzymes in Health and Disease*, eds. Greenberg, D. & Harper, H. A., pp. 269-278. Springfield: Thomas. URL: Full reference details must be given along with the URL, i.e. authorship, year, title of document/report and URL. If this information is not available, the reference should be removed and

only the web address cited in the text. Example: Smith A. (1999) Select Committee Report into Social Care in the Community [WWW document]. URL <http://www.dhss.gov.uk/reports/report0394498.html> [accessed on 7 November 2003]

5.8. Tables, Figures and Figure Legends Tables: should be double-spaced with no vertical rulings, with a single bold ruling beneath the column titles. Units of measurements must be included in the column title. Figures: All figures should be planned to fit within either 1 column width (8.0 cm), 1.5 column widths (13.0 cm) or 2 column widths (17.0 cm), and must be suitable for photocopy reproduction from the printed version of the manuscript. Lettering on figures should be in a clear, sans serif typeface (e.g. Helvetica); if possible, the same typeface should be used for all figures in a paper. After reduction for publication, upper-case text and numbers should be at least 1.5-2.0 mm high (10 point Helvetica). After reduction symbols should be at least 2.0-3.0 mm high (10 point). All half-tone photographs should be submitted at final reproduction size. In general, multi-part figures should be arranged as they would appear in the final version. Each copy should be marked with the figure number and the corresponding author's name. Reduction to the scale that will be used on the page is not necessary, but any special requirements (such as the separation distance of stereo pairs) should be clearly specified. Unnecessary figures and parts (panels) of figures should be avoided: data presented in small tables or histograms, for instance, can generally be stated briefly in the text instead. Figures should not contain more than one panel unless the parts are logically connected; each panel of a multipart figure should be sized so that the whole figure can be reduced by the same amount and reproduced on the printed page at the smallest size at which essential details are visible. Figures should be on a white background, and should avoid excessive boxing, unnecessary colour, shading and/or decorative effects (e.g. 3-dimensional skyscraper histograms) and highly pixelated computer drawings. The vertical axis of histograms should not be truncated to exaggerate small differences. The line spacing should be wide enough to remain clear on reduction to the minimum acceptable printed size. Figures divided into parts should be labelled with a lower-case, boldface, roman letter, a, b, and so on, in the same typesize as used elsewhere in the figure. Lettering in figures should be in lower-case type, with the first letter capitalized. Units should have a single space between the number and the unit, and follow SI nomenclature or the nomenclature common to a particular field. Thousands should be separated by thin spaces (1 000). Unusual units or abbreviations should

be spelled out in full or defined in the legend. Scale bars should be used rather than magnification factors, with the length of the bar defined in the legend rather than on the bar itself. In general, visual cues (on the figures themselves) are preferred to verbal explanations in the legend (e.g. broken line, open red triangles etc.) **Preparation of Electronic Figures for Publication** Although low quality images are adequate for review purposes, print publication requires high quality images to prevent the final product being blurred or fuzzy. Submit EPS (lineart) or TIFF (halftone/photographs) files only. MS PowerPoint and Word Graphics are unsuitable for printed pictures. Do not use pixel-oriented programmes. Scans (TIFF only) should have a resolution of 300 dpi (halftone) or 600 to 1200 dpi (line drawings) in relation to the reproduction size (see below). EPS files should be saved with fonts embedded (and with a TIFF preview if possible). For scanned images, the scanning resolution (at final image size) should be as follows to ensure good reproduction: lineart: >600 dpi; half-tones (including gel photographs): >300 dpi; figures containing both halftone and line images: >600 dpi.

Detailed information on our digital illustration standards can be found at <http://authorservices.wiley.com/bauthor/illustration.asp>. Check your electronic artwork before submitting it: <http://authorservices.wiley.com/bauthor/eachecklist.asp>. **Permissions** : If all or parts of previously published illustrations are used, permission must be obtained from the copyright holder concerned. It is the author's responsibility to obtain these in writing and provide copies to the Publishers.

Figure Legends: should be a separate section of the manuscript, and should begin with a brief title for the whole figure and continue with a short description of each panel and the symbols used; they should not contain any details of methods. **5.9. Supplementary Material**

Supplementary material, such as data sets or additional figures or tables that will not be published in the print edition of the Journal but which will be viewable in the online edition, can be uploaded as 'Supporting information for review and online publication only'. Please see <http://authorservices.wiley.com/bauthor/suppmat.asp> for further information on the submission of Supplementary Materials.

6. AFTER ACCEPTANCE

Upon acceptance of a paper for publication, the manuscript will be forwarded to the Production Editor who is responsible for the production of the journal. **6.1 Proof Corrections** The corresponding author will receive an email alert containing a link to a web site. A working email

address must therefore be provided for the corresponding author. The proof can be downloaded as a PDF (portable document format) file from this site. Acrobat Reader will be required in order to read this file. This software can be downloaded (free of charge) from the following Web site: www.adobe.com/products/acrobat/readstep2.html. This will enable the file to be opened, read on screen, and printed out in order for any corrections to be added. Further instructions will be sent with the proof. Hard copy proofs will be posted if no e-mail address is available; in your absence, please arrange for a colleague to access your e-mail to retrieve the proofs. Proofs must be returned to the Production Editor within three days of receipt. As changes to proofs are costly, we ask that you only correct typesetting errors. Excessive changes made by the author in the proofs, excluding typesetting errors, will be charged separately. Other than in exceptional circumstances, all illustrations are retained by the publisher. Please note that the author is responsible for all statements made in his work, including changes made by the copy editor.

6.2 Early View (Publication Prior to Print) The Journal of Clinical Periodontology is covered by Wiley-Blackwell's Early View service. Early View articles are complete full-text articles published online in advance of their publication in a printed issue. Early View articles are complete and final. They have been fully reviewed, revised and edited for publication, and the authors' final corrections have been incorporated. Because they are in final form, no changes can be made after online publication. The nature of Early View articles means that they do not yet have volume, issue or page numbers, so Early View articles cannot be cited in the traditional way. They are therefore given a Digital Object Identifier (DOI), which allows the article to be cited and tracked before it is allocated to an issue. After print publication, the DOI remains valid and can continue to be used to cite and access the article.

6.3 Production Tracking Online production tracking is available for your article once it is accepted by registering with [Wiley-Blackwell's Author Services](#).

7 ONLINEOPEN OnlineOpen is available to authors of primary research articles who wish to make their article available to non-subscribers on publication, or whose funding agency requires grantees to archive the final version of their article. With OnlineOpen, the author, the author's funding agency, or the author's institution pays a fee to ensure that the article is made available to non-subscribers upon publication via Wiley Online Library, as well as deposited in the funding agency's preferred archive. For the full list of terms and conditions, see

[http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen Terms](http://wileyonlinelibrary.com/onlineopen#OnlineOpen_Terms) Any authors wishing to send their paper OnlineOpen will be required to complete the payment form available from our website at: <https://onlinelibrary.wiley.com/onlineOpenOrder>

Prior to acceptance there is no requirement to inform an Editorial Office that you intend to publish your paper OnlineOpen if you do not wish to. All OnlineOpen articles are treated in the same way as any other article. They go through the journal's standard peer-review process and will be accepted or rejected based on their own merit.

ANEXO B – Produção científica durante o Mestrado

1. Artigos completos publicados

MAGINI, RS; BENFATTI, CAM; BIANCHINI, MA; CARDOSO, AC; SOUZA, JCM; SCHIOCHETT, C; PASSONI, BB; NORONHA OLIVEIRA, MAPP. Reflexões sobre ciência translacional: a experiência de 12 anos de um programa brasileiro de pós-graduação em Implantodontia. **Implant News**, v. 11, p. 49-56, 2014.

2. Artigos em fase de elaboração

NORONHA OLIVEIRA, MAPP; DALAGO, H; SCHULDT FILHO, G; ASSUNÇÃO PEREIRA, PESSÔA RODRIGUES, M; de BORTOLI JÚNIOR, NILTON; MAGINI, RS; BIANCHINI, M. Influence of controlled diabetes on bleeding on probing status and radiographic bone loss.

SCHUNEMANN, WVH; NORONHA OLIVEIRA, MAPP; SOUZA, JCM; MAGINI, RS. Efeito de partículas metálicas liberadas dos implantes dentários sobre os tecidos peri-implantares.

SUAREZ, JD; NORONHA OLIVEIRA, MAPP; IVICH, JR; BENFATTI, CAM. Technique for transfer impression and subsequent provisionalization of implants loaded in a immediate and delayed manner.

SCHIOCHETT, C; NORONHA OLIVEIRA, MAPP; de LUCA CANTO, G; MAGINI, RS; MEZZOMO, LA; CORDEIRO, MMR. Dental pulp stem cells in regeneration of periodontal tissues: a systematic review.

3. Capítulos de livro publicados

1. CASTRO, D; JUANITO, G; BENFATTI, C; OLIVEIRA, M; MAGINI, R; PIATTELLI, A; ARAÚJO, C. Evaluation of collagen fibers orientation around different connection implants. **Biodental Engineering III**. 1ed.Londres: CRC Press, 2014, v. 1, p. 253-258.

2. NORONHA OLIVEIRA, MAPP; RIBEIRO, DA; MACEDO, P; MAGINI, RS. Princípios básicos de cirurgia. In: Ricardo de Souza Magini. (Org.). **Noções de Implantodontia Cirúrgica**. 1ed. São Paulo: Artes Médicas, 2014, p. 53-76.

4. Produção de Anais

1. NORONHA OLIVEIRA, MAPP; DALAGO, HR; SCHULDT-FILHO, G; JACOB, SMM; FURTADO, JVM; DE BORTOLI JUNIOR, N; MAGINI, R. S.; BIANCHINI, MA. Influência da diabetes no sangramento à sondagem dos tecidos peri-implantares. In: 31ª Reunião Anual da SBPqO, 2014, Águas de Lindóia. Brazilian Oral Research (Suppl 1). São Paulo: ABEC - Associação Brasileira de Editores Científicos, 2014. v. 28. p. 379-379.
2. NORONHA OLIVEIRA MAPP; JUANITO, GP; PEREIRA NETO, AL; PIAIA, L; PAES, CQ; BIANCHINI, MA; CARDOSO, AC; BENFATTI, CAM; ARAGONES, A; PORTO, L; PIMENTA, A; MAGINI, RS. Silver Nanoparticles Bacteriological Inhibitory Effect on PLGA-HA: In Vitro Study. In: IADR 83rd General Session and Exhibition, 2014, Dubrovnik. Journal of Dental Research (Special Issue C). Thousand Oaks, CA: Sage Publications, 2014. v. 93.
3. JUANITO, GP; NORONHA OLIVEIRA MAPP; PEREIRA NETO, AL; PEREIRA, U; BARBOSA, LCA; BIANCHINI, MA; CARDOSO, AC; BENFATTI, CAM; ARAGONES, A; PORTO, L; PIMENTA, A; MAGINI, RS. Antibiofilm Effect and Cell Viability of Lactams on Polymeric Surfaces. In: 665 - IADR 83rd General Session and Exhibition, 2014, Dubrovnik. Journal of Dental Research (Special Issue C). Thousand Oaks, CA: Sage Publications, 2014. v. 93.
4. NORONHA OLIVEIRA, MAPP; JUANITO, GP; MORSCH, CS; MONTERO, JD; HENRIQUES, B; DOTTO, M; MAGINI, RS; SOUZA, JCM. Surface changes of dental implant systems in sodium fluoride: an in vitro study.. In: EuroPerio8, London, UK, 2015, Londres. Poster, 2015.
5. NORONHA OLIVEIRA, MAPP; ENCARNAÇÃO, IC; ARAGONES, A; MÜLLER, CM; CORDEIRO, MMR. Bioactive

and absorbable composite porous scaffold for bone tissue engineering: PLGA, biphasic ceramic and Simvastatin slow release. In: 24th Annual Congress of European Association for Osseointegration, Estocolmo. Poster, 2015.

5. Apresentação de trabalhos

1. NORONHA OLIVEIRA, MAPP; DALAGO, HR; SCHULDT-FILHO, G; JACOB, SMM; FURTADO, JVM; DE BORTOLI JUNIOR, N; MAGINI, RS; BIANCHINI, MA. Influência da diabetes no sangramento à sondagem dos tecidos peri-implantares. In: 31ª Reunião Anual da SBPqO, 2014, Águas de Lindóia. Brazilian Oral Research (Suppl 1). São Paulo: ABEC - Associação Brasileira de Editores Científicos, 2014. v. 28. p. 379-379.
2. NORONHA OLIVEIRA MAPP; JUANITO, GP; PEREIRA NETO, AL; PIAIA, L; PAES, CQ; BIANCHINI, MA; CARDOSO, AC; BENFATTI, CAM; ARAGONES, A; PORTO, L; PIMENTA, A; MAGINI, RS. Silver Nanoparticles Bacteriological Inhibitory Effect on PLGA-HA: In Vitro Study. In: IADR 83rd General Session and Exhibition, 2014, Dubrovnik. Journal of Dental Research (Special Issue C). Thousand Oaks, CA: Sage Publications, 2014. v. 93.
3. JUANITO, GP; NORONHA OLIVEIRA MAPP; PEREIRA NETO, AL; PEREIRA, U; BARBOSA, LCA; BIANCHINI, MA; CARDOSO, AC; BENFATTI, CAM; ARAGONES, A; PORTO, L; PIMENTA, A; MAGINI, RS. Antibiofilm Effect and Cell Viability of Lactams on Polymeric Surfaces. In: 665 - IADR 83rd General Session and Exhibition, 2014, Dubrovnik. Journal of Dental Research (Special Issue C). Thousand Oaks, CA: Sage Publications, 2014. v. 93.
4. NORONHA OLIVEIRA, MAPP; JUANITO, GP; MORSCH, CS; MONTERO, JD; HENRIQUES, B; DOTTO, M; MAGINI, RS; SOUZA, JCM. Surface changes of dental implant systems in sodium fluoride: an in vitro study.. In: EuroPerio8, London, UK, 2015, Londres. Poster, 2015.
5. NORONHA OLIVEIRA, MAPP; ENCARNAÇÃO, IC; ARAGONES, A; MÜLLER, CM; CORDEIRO, MMR. Bioactive

and absorbable composite porous scaffold for bone tissue engineering: PLGA, biphasic ceramic and Simvastatin slow release. In: 24th Annual Congress of European Association for Osseointegration, Estocolmo. Poster, 2015.

6. Participação em eventos

3º ICOI-Brasil, Universidade Positivo, Curitiba - PR, 2014.

31ª Reunião Anual da Sociedade Brasileira de Pesquisa Odontológica – SBPqO, Águas de Lindóia – SP, 2014.

IADR 83rd General Session and Exhibition, Dubrovnik - Croácia, 2014.

EuroPerio8 Congress, Londres - Reino Unido, 2015.

24th Annual Congress of European Association for Osseointegration, Estocolmo - Suécia, 2015.