

UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
DEPARTAMENTO DE ODONTOLOGIA  
CURSO DE GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA

Amanda Ferreira Chaves

**Biofuncionalização de *abutments* – Avaliação da agregação e liberação de sinvastatina  
incorporada em PLGA na superfície de titânio**

Florianópolis

2019

Amanda Ferreira Chaves

**Biofuncionalização de *abutments* – Avaliação da agregação e liberação de sinvastatina  
incorporada em PLGA na superfície de titânio**

Trabalho Conclusão do Curso de Graduação em  
Odontologia do Centro de Ciências da Saúde da  
Universidade Federal de Santa Catarina como requisito  
para a obtenção do título de Cirurgião-dentista  
Orientador: Prof. Dra. Ariadne Cristiane Cabral da Cruz  
Coorientadora: Raissa Borges Curtarelli

Florianópolis

2019

## Ficha de identificação da obra

Chaves, Amanda

Biofuncionalização de abutments - Avaliação da agregação e liberação de sinvastatina incorporada em PLGA na superfície de titânio / Amanda Chaves ; orientadora, Ariadne Cristiane Cabral da Cruz, coorientador, Raissa Borges Curtarelli, 2019.

30 p.

Trabalho de Conclusão de Curso (graduação) - Universidade Federal de Santa Catarina, Centro de Ciências da Saúde, Graduação em Odontologia, Florianópolis, 2019.

Inclui referências.

1. Odontologia. 2. Sinvastatina e PLGA. 3. Abutments. 4. Citotoxicidade . I. Cristiane Cabral da Cruz, Ariadne. II. Borges Curtarelli, Raissa . III. Universidade Federal de Santa Catarina. Graduação em Odontologia. IV. Título.

Amanda Ferreira Chaves

**Biofuncionalização de *abutments* – Avaliação da agregação e liberação de sinvastatina incorporada em PLGA na superfície de titânio**

Este Trabalho Conclusão de Curso foi julgado adequado para obtenção do Título de “cirurgião-dentista” e aprovado em sua forma final pelo Curso de Odontologia da Universidade Federal de Santa Catarina

Florianópolis, 23 de outubro de 2019.

---

Prof. Dr. Gláucia Santos Zimmermann  
Coordenador do Curso

**Banca Examinadora:**

---

Prof.(a), Dr.(a) Ariadne Cabral da Cruz  
Orientador(a)  
Universidade Federal de Santa Catarina

---

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

---

Lenin Proaño Minaca  
Avaliador  
Universidade Federal de Santa Catarina

Este trabalho é dedicado aos meus pais que fazem tudo por mim.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a **Deus** pela vida maravilhosa que tenho, pela minha saúde e a dos meus familiares e pela força que encontro Nele para seguir meu caminho com sabedoria.

Aos meus pais, **Jussara e Amarildo**, por todo o amor incondicional e incentivo para nunca desistir. Apenas posso agradecer por tudo que fazem por mim, que é essencial para eu me manter forte e conquistar meus objetivos. Gratidão por toda educação que me deram e por sempre estarem ao meu lado tanto em momentos bons ou ruins. Papai e mamãe, se há algo que faz diferença na formação da personalidade e na vida de uma pessoa é o amor que ela recebe e vocês fizeram de mim a pessoa que sou hoje. Eu tenho muito orgulho de ser filha de vocês e espero retribuir tudo que fazem por mim até hoje. Amo vocês!

Ao meu namorado **Gustavo**, por todo incentivo, amor e preocupação em momentos em que eu precisava das suas palavras e abraços. Por toda paciência comigo em momentos de estresse e por acreditar no meu potencial em tudo que eu faço. Gratidão pela nossa história de amor e superação e que possamos sempre enfrentar os obstáculos da vida juntos.

Às minhas amigas **Francine, Gabriela, Larissa, Nicolle, Carolina, Roberta e Amanda**, por fazerem parte da minha vida desde o colégio até hoje. Agradeço pelo apoio e preocupação em momentos difíceis e pelas risadas e momentos divertidos pois sempre é prazeroso estar com vocês e que possamos manter essa amizade de longos anos mesmo com a correria do dia a dia.

À minha dupla **Luísa**, por todo esse tempo de clínica juntas, sempre com respeito e lealdade. Sou imensamente grata por todo aprendizado que tivemos juntas, paciência em momentos de estresse, amizade verdadeira que construímos e por toda disposição em ajudar em momentos que eu precisei. Nunca imaginei ter uma dupla maravilhosa como você e sou grata por ter tido a oportunidade de te conhecer. Obrigada por tudo.

Aos amigos da faculdade, pois são nos momentos difíceis que realmente sabemos quem são nossos amigos e eu sei que posso contar com vocês. Sempre que precisei vocês estiveram à disposição em me ajudar sem medir esforços. Obrigada por todas as risadas e momentos alegres que vivemos na faculdade e por fazerem parte da minha vida.

À minha orientadora **Ariadne Cristiane Cabral da Cruz**, por toda paciência e disponibilidade em me ajudar. Você é inspiração para mim como pessoa e profissional.

Sempre trata as pessoas com respeito, educação e delicadeza. Suas aulas me incentivam a estudar mais e evoluir um pouco mais todos os dias. Obrigada por me apresentar a área da pesquisa em que eu sempre sonhei em trabalhar e tive a oportunidade de conhecer pessoas maravilhosas como você.

À minha coorientadora **Raissa Borges Curtarelli**, pela paciência em me ensinar e compartilhar conhecimentos para que eu pudesse realizar essa pesquisa. Obrigada por todo incentivo e disponibilidade em me ajudar. Você sempre esteve ao meu lado nos momentos de dificuldade na realização da pesquisa e me apoiando quando eu precisei. Estendo meu agradecimento à doutoranda **Mariane Sordi**, que foi importante também para realização dessa pesquisa.

A todos os **professores**, pelos ensinamentos e aprendizados em todos esses anos de graduação, bem como os funcionários **Nilceia, Daiane, Rosângela, João Batista, Luis Vianna** que estão sempre dispostos a nos ajudar. Aos **funcionários da limpeza**, por manterem o funcionamento da clínica para que possamos atender os pacientes em um ambiente limpo. Estendo meu agradecimento a todos os funcionários da universidade.

Um agradecimento especial ao professor **Wilson Pacheco**, no início da faculdade tive o prazer de ter aula com esse mestre. Além de seus ensinamentos, me ajudou em momentos de dificuldade e desespero. Sempre me estendeu à mão quando precisei e admiro sua bondade e disposição em ajudar ao outro. Algumas pessoas marcam a nossa vida com seus ensinamentos que levamos para sempre conosco. E nem sempre é por meio das palavras que aprendemos. Ética, generosidade, amizade e humildade são atitudes e qualidades que se veem nas ações, e que ficam de exemplo e inspiração. Minha gratidão a você e sua esposa **Márcia**, que sempre estiveram dispostos a me ajudar quando precisei.

A todas as pessoas que de alguma forma fizeram parte do meu percurso eu agradeço com todo meu coração.

## RESUMO

O objetivo deste trabalho é avaliar a citotoxicidade de 0,6 % Sinvastatina (SIN) incorporada em ácido poli-(lático-co-glicólico) (PLGA) revestindo a superfície de titânio (Ti). Foram utilizados 24 discos de Ti de 8 mm de diâmetro e 3 mm de espessura, divididos nos seguintes grupos: G0 - somente Ti, G1 – Ti+PLGA e G2 – Ti+PLGA+0,6%SIN. Para recobrimentos dos discos de Ti com PLGA (G1 e G2), o PLGA foi dissolvido em clorofórmio a 5% (m/v), em temperatura ambiente e colocado em agitador magnético. Em seguida, foi adicionando a solução de SIN 0,6% nas amostras referentes ao G2. Os grupos G1 e G2 foram submetidos à técnica de gotejamento para eliminar o excesso de solução. Para a evaporação do solvente, as amostras permaneceram por 24h a temperatura ambiente. Após o preparo, as amostras foram esterilizadas em óxido de etileno. A avaliação da citotoxicidade de todos os grupos experimentais foi avaliada em células-tronco derivadas da polpa de dentes decíduos (SHEDs). Os testes foram realizados em triplicata nos dias 3 e 7, utilizando placas de 48 cavidades. A linhagem celular supracitada foi semeada sobre os discos a uma densidade de  $2 \times 10^4$  células por cavidade. A citotoxicidade foi determinada pelo método de MTS. As absorbâncias foram medidas por espectrofotômetro (Infinite M200, TECAN, Áustria GmbH, Grödig, Áustria) a um comprimento de onda de 490 nm e as porcentagens de células viáveis foram calculadas em relação ao G0 (controle). Por fim, a análise estatística foi realizada usando o programa *Graph Pad Software Inc.* (La Jolla, Califórnia, EUA). Os resultados dos grupos foram comparados entre si separadamente em cada tempo experimental, por meio de análise não paramétrica de variância (ANOVA) seguida do teste post hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ). Por fim, avaliando os valores obtidos através do teste MTS em SHEDs no dia 7, a porcentagem da viabilidade celular de Ti + PLGA foi de  $112,70 \pm 9,66$  enquanto o grupo de Ti + PLGA+0,6%SIN foi de  $94,88 \pm 3,92$ . Os testes realizados nos grupos Ti+ PLGA e Ti+PLGA+0,6% SIN em SHEDs no dia 3 e 7 obtiveram valores superiores à 70%, com desvios padrões pequenos, sendo biocompatíveis e não citotóxicos. Portanto, sugere que há um grande potencial da utilização do biomaterial na regeneração óssea peri-implantar.

**Palavras-chave:** PLGA 1. Sinvastatina 2. Titânio 3.



## ABSTRACT

The aim of this study is to evaluate the cytotoxicity of 0.6% Simvastatin (SIN) incorporated in Poly-(lactic-co-Glycolic) acid (PLGA) coating the titanium surface (Ti). It was used 24 Ti discs of 8 mm in diameter and 3 mm thick, divided into the following groups: G0 - only Ti, G1 - Ti + PLGA and G2 - Ti + PLGA + 0.6% SIN. For of Ti discs with PLGA coatings (G1 and G2), the PLGA was dissolved in chloroform at 5% (m/v), at room temperature and placed in magnetic stirrer. Next, it was added the solution of 0.6% SIN on the samples referring to G2. The G1 and G2 groups were submitted to the drip technique to eliminate the excess solution. For the evaporation of the solvent, the samples remained for 24h at room temperature. After preparation, the samples were sterilized in ethylene oxide. The cytotoxicity of all experimental groups was evaluated in stem cells derived from the pulp of deciduous teeth (SHEDs). The tests were performed in triplicate on days 3 and 7, using 48 cavities plates. The aforementioned cell line was seeded on the discs at a density of  $2 \times 10^4$  cells per cavity. Cytotoxicity was determined by the MTS method. The absorbances were measured by spectrophotometer (Infinite M200, Tecan, Austria GmbH, Grödig, Austria) at a wavelength of 490 nm and the percentages of viable cells were calculated in relation to the G0 (control). Finally, the statistical analysis was performed using the program Graph Pad Software Inc. (La Jolla, California, USA). The results of the groups were compared separately in each experimental time, by means of non-parametric analysis of variance (ANOVA) followed by Tukey's post Hoc test ( $p < 0.05$ ). Finally, evaluating the values obtained through the MTS test in SHEDs on day 7, the percentages of cellular viability of Ti + PLGA was  $112.70 \pm 9.66$ , while the Ti + PLGA + 0.6% SIN group was  $94.88 \pm 3.92$ . The tests performed in the Ti + PLGA and Ti + PLGA + 0.6% SIN groups in SHEDs on days 3 and 7 obtained values higher than 70%, with small standard deviations, being biocompatible and non-cytotoxic. Therefore, it suggests that there is a great potential for the use of this biofunctionalized biomaterial in peri-implant bone regeneration. Future studies should be conducted *in vitro* to evaluate the ability to induce osteoblastic differentiation of biofunctionalized discs, as well as *in vivo* studies to evaluate the biological effect of the samples.

**Keywords:** PLGA 1. Simvastatin 2. Titanium 3.

## **LISTA DE GRÁFICOS**

Gráfico 1 – Resultado da viabilidade celular pelo método do MTS aos 3 e 7 dias..... 23

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

PLGA - Ácido polilático-co-glicólico

Ti - Titânio

SIN - Sinvastatina

BMP - Proteína óssea morfogenética (do inglês, *Bone Morphogenetic Protein*)

TiZr - Titânio-zircônia

ZrO<sub>2</sub>- Óxido de zircônia

Au/Pt - Ouro/Platina

FGHs - Fibroblastos gengivais humanos

ALP - Fosfatase Alcalina (do inglês, *Alkaline phosphatase*)

RUNX2 - Fator de transcrição 2 (*Runt-related transcription factor 2*)

OCN - Osteocalcina (do inglês, *Osteocalcin*)

OPN - Osteopontina (do inglês, *Osteopontin*)

BMSCs - Células-tronco mesenquimais da medula óssea (do inglês, *Bone marrow stromal cells*)

Zn - Zinco

DMEM – Meio de Eagle modificado por Dulbecco (do inglês, *Dulbecco's modified Eagle's médium*)

MTS - 3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-5-(3-carboximetoxifenil)-2-(4-sulfofenil)-2H-tetrazólio

SHEDs - Célula-tronco mesenquimal de dente decíduo (do inglês, *Stem cells from human exfoliated deciduous teeth*)

SFB - Soro Fetal Bovino

PBS - Tampão salina-fosfato (do inglês, *Phosphate Buffered Saline*)

## SUMÁRIO

<b>1</b>	<b>INTRODUÇÃO e REVISÃO DE LITERATURA .....</b>	<b>13</b>
<b>2</b>	<b>OBJETIVOS .....</b>	<b>20</b>
2.1	OBJETIVO GERAL.....	20
2.2	OBJETIVOS ESPECÍFICOS .....	20
<b>3</b>	<b>MATERIAIS E MÉTODOS .....</b>	<b>21</b>
3.1	Preparo dos discos de titânio (Ti).....	21
<b>3.1.1</b>	<b>Preparo do copolímero e Revestimento dos discos .....</b>	<b>21</b>
3.2	Linhagem celular .....	21
<b>3.2.1</b>	<b>Células-tronco da polpa de dentes decíduos SHEDs (Curitiba Biotech®) .....</b>	<b>21</b>
3.3	Teste de citotoxicidade .....	21
3.4	Análise estatística .....	22
<b>4</b>	<b>RESULTADOS .....</b>	<b>23</b>
<b>5</b>	<b>DISCUSSÃO .....</b>	<b>24</b>
<b>6</b>	<b>CONCLUSÃO.....</b>	<b>26</b>
	<b>REFERÊNCIAS.....</b>	<b>27</b>
	<b>ANEXO A.....</b>	<b>32</b>

## 1 INTRODUÇÃO E REVISÃO DE LITERATURA

A extração dentária é um dos procedimentos mais comuns na Odontologia. A perda do elemento dentário resulta em reabsorção óssea alveolar com consequente perda de dimensão óssea vertical e horizontal (ARAÚJO & LINDHE 2005). Além disso, a reabsorção óssea alveolar pode ser ocasionada por doença periodontal, patologias periapicais ou trauma no dente levando a defeitos ósseos locais (JAHANGIRI et al. 1998).

Devido à capacidade limitada de reparo em defeitos ósseos extensos, os enxertos ósseos, tanto autógenos, homogêneos, heterogêneos, como sintéticos, estão sendo utilizados para tratamento de perda óssea previamente ou concomitantemente a instalação dos implantes dentários. Entretanto, além da perda óssea previamente à instalação dos implantes, a Implantodontia tem se preocupado com a perda óssea peri-implantar, aquela que ocorre após a instalação dos implantes e das próteses implanto-suportadas. Esta perda óssea peri-implantar pode comprometer o posicionamento do tecido mole ao redor do implante e, conseqüentemente, prejudicar a estética nessas áreas. Além disto, a perda óssea peri-implantar pode apresentar proporções maiores e comprometer a estabilidade do implante, culminando com a perda do mesmo. (CHEN ET AL., 2011; HUANG ET AL., 2011; LI ET AL., 2011).

Tendo-se em vista que o presente trabalho trata de propostas para promover a regeneração óssea, cabe a revisão de conceitos de osteogênese, osteocondução e osteoindução. A osteogênese tem sido descrita como a transferência direta de células vitais para a área que irá regenerar o novo osso. A osteocondução abrange o princípio de fornecer o espaço e um substrato para os eventos celulares e bioquímicos que progridem para a formação óssea. O requisito de manutenção do espaço para muitos dos procedimentos de aumento ósseo intraoral permite que as células corretas ocupem a zona regenerada (AUKHIL et al., 1986). Por sua vez, a osteoindução se baseia no princípio de induzir células indiferenciadas derivadas do mesênquima ao longo de uma via osteoblástica com a subsequente formação de osso.

Ainda tendo em vista os objetivos do referido trabalho, vale destacar que as reabilitações protéticas, empregando-se implantes dentários, incluem a instalação dos implantes de titânio no interior do tecido ósseo maxilar ou mandibular, que substituem a raiz dentária. Em seguida, ocorre a colocação de um conector protético, que irá unir o implante à

prótese. Finalmente, a última etapa corresponde a confecção e instalação da prótese dentária. Com intuito de minimizar e/ou prevenir as perdas ósseas peri-implantes, inúmeras pesquisas tem proposto diferentes abordagens nos implantes dentários, incluindo tratamentos de superfície e modificações na geometria dos implantes. Recentemente, a literatura tem sugerido modificações nos conectores protéticos (*abutments*), seja na superfície ou na geometria dos mesmos. Tendo em vista que o titânio empregado na confecção dos conectores protéticos não apresenta bioatividade, uma das maneiras de se minimizar e/ou prevenir a perda óssea peri-implantar poderia ser o recobrimento dos conectores com substâncias osteoindutoras, promovendo uma funcionalização desses conectores.

Inúmeras moléculas bioativas vem sendo estudadas para a diferenciação celular otimizando a formação de tecido ósseo (GARIP et.al., 2010). Dentre elas, as proteínas ósseas morfogenética são as mais estudadas. Entretanto, as BMPs apresentam algumas limitações consideráveis, incluindo elevado custo, formação óssea ectópica, reabsorção óssea, necessidade de doses elevadas clinicamente que podem promover edema e dor consideráveis no pós-operatório, dentre outros. Estas limitações fizeram com que houvesse buscas por novas alternativas osteoindutoras (CIAPETTI; GRANCHI; BALDINI, 2012). Uma das alternativas seria o uso da SIN, um medicamento utilizado para diminuição do colesterol, que desempenha um papel na diferenciação de células osteoblásticas e na mineralização da matriz extracelular, estimulando assim a regeneração de tecido ósseo (HO et al., 2015; YAN et al., 2015).

A funcionalização dos conectores protéticos com SIN poderia ser realizada recobrendo os conectores com um biomaterial contendo SIN incorporada. O ácido poli-(lático-co-glicólico) (PLGA) é um dos biomateriais que vem sendo amplamente estudado para procedimentos regenerativos em Odontologia e Medicina. Esse material apresenta boas propriedades mecânicas, baixa imunogenicidade e toxicidade, bem como capacidade de incorporar e liberar moléculas bioativas. Além disso, pode ser estruturado para degradar no tempo necessário para que haja a regeneração do tecido em questão e liberação adequada das possíveis substâncias ativas incorporadas (HUTMACHER et.al., 2000).

O advento da osseointegração e os avanços em biomateriais e técnicas têm contribuído para o aumento da aplicação de implantes dentários na reabilitação de pacientes parciais e completamente desdentados. Muitas vezes, nesses pacientes, defeitos de tecidos moles e duros resultam de uma variedade de causas, como infecção, trauma e perda dentária. Estes criam uma base anatomicamente menos favorável para a colocação do implante. Para a terapia com

implantes dentários com prótese, a reconstrução do osso alveolar através de uma variedade de procedimentos cirúrgicos regenerativos tornou-se previsível; pode ser necessário antes da colocação do implante ou simultaneamente no momento da cirurgia do implante para fornecer uma restauração com um bom prognóstico a longo prazo. Assim, procedimentos regenerativos são usados para tratamento de defeitos ósseos, aumento de seio e aumento de rebordo horizontal e vertical (MCALLISTER; HAGHIGHAT, 2007).

Ao considerar as várias modalidades de tratamento para a substituição protética dos dentes após a perda dos mesmos, o objetivo final da terapia é fornecer uma restauração funcional que esteja em harmonia com a dentição natural adjacente. A reabsorção do osso alveolar é uma seqüela comum da perda dentária e apresenta um problema clínico, especialmente na zona estética. Isso pode comprometer o resultado estético e comprometer os aspectos funcionais e estruturais do tratamento. Para atingir este objetivo da terapia, é desejável fornecer tratamento que vise a preservação dos contornos naturais do tecido em preparação para a prótese do implante proposta (TARNOW; ESKOW; ZAMZOK, 1996). Além das perdas ósseas que ocorrem previamente à instalação dos implantes, conforme já salientado acima, as perdas ósseas peri-implantares que ocorrem após a instalação dos implantes e das próteses implanto-suportadas também representam um desafio para a manutenção da estética.

Um dos fatores que pode interferir na remodelação óssea peri-implantar depende das características tanto de superfície quanto geometria de um pilar protético. Sanz-martín et al. (2017) constataram que houve aumento estatisticamente significativo da inflamação da mucosa para os pilares de titânio quando comparados aos pilares de zircônia. Em relação aos tecidos duros peri - implantares avaliados pelas alterações radiográficas nos níveis ósseos marginais, não foram encontradas diferenças para os diferentes materiais do pilar, seu desenho macroscópico ou topografia superficial, embora o método de sua descontaminação pareceu influenciar a perda marginal do osso.

Lai, Yan e Jin (2018) avaliaram a compatibilidade celular de titânio revestido com películas de SIN, quitosana e gelatina em células-tronco mesenquimais isoladas do fêmur e da tíbia de ratos. Os resultados *in vitro* indicaram que as superfícies de titânio modificadas por películas de SIN apresentaram grande potencial para promover a disseminação, proliferação e

diferenciação osteoblástica das células-tronco mesenquimais. Além disso, a diferenciação dos osteoclastos foi suprimida.

As modificações feitas em superfícies e texturas dos conectores protéticos podem influenciar no acúmulo de biofilme oral. Em 2014, Xing e colaboradores, criaram diferentes texturas superficiais (planas, ranhuras e irregulares) em conectores protéticos de TiZr, sendo que alguns foram incorporados com hidrogênio. As rugosidades presentes na superfície dos conectores protéticos tiveram uma positiva correlação com adesão microbiana. Além disso, o acúmulo de biofilme foi menos pronunciado em superfícies planas e com ranhuras do que em superfícies irregulares. A utilização de hidrogênio em alguns conectores protéticos para promover o crescimento dos fibroblastos não afetou a formação do biofilme.

Um estudo *in vivo* em cães, analisou o tecido mole ao redor de diferentes materiais de conectores protéticos. Demonstrou-se que a dimensão de tecido mole peri-implantar em conectores de Ti e ZrO<sub>2</sub> permaneceu estável entre 2 e 5 meses de cicatrização. Em contrapartida, os pilares de Au/Pt tiveram uma mudança apical no epitélio e osso marginal no mesmo tempo de cicatrização acima. Além disso, os pilares de Au/Pt continham menores quantidades de colágeno e fibroblastos e maior quantidade de leucócitos em comparação com os pilares de Ti e ZrO<sub>2</sub>, havendo diferença na cicatrização dos tecidos moles peri-implantares em pilares de diferentes superfícies (WELANDER; ABRAHAMSSON; BERGLUNDH, 2008).

A qualidade da remodelação óssea peri-implantar desempenha um papel importante no sucesso de curto e longo prazo dos implantes dentários no qual os conectores protéticos podem interferir nesse aspecto. Em consideração a isso, foi feita uma modificação da superfície do pilar protético de zircônia com polidopamina para avaliar o comportamento dos fibroblastos gengivais humanos (FGHs) e adesão bacteriana. Após o revestimento com polidopamina, houve um aumento significativo de adesão e proliferação de FGHs em contraste com a diminuição da aderência bacteriana, tendo um grande potencial para melhorar a integração de tecido mole ao redor dos pilares de zircônia (LIU et al., 2015).

Há diferentes abordagens que podem minimizar o risco de doenças inflamatórias tardias peri-implantares e consequentemente assegurar a osseointegração completa do implante. Zekiy *et al.* (2019) mostraram a efetividade *in vivo* da abordagem com implantes com superfícies nanorevestidas com flúor e utilizando uma matriz selante antisséptica na



interface pilar-implante. Houve uma diminuição da contaminação de patógenos periodontais com a manutenção da densidade óssea peri-implantar resultando em uma osseointegração estável e conseqüentemente, resultados clínicos favoráveis ao tratamento.

Além das superfícies dos pilares protéticos interferirem na remodelação óssea peri-implantar, estudos mostram que as diferentes geometrias influenciam na manutenção óssea ao redor do implante. Kim et al. (2019) compararam duas geometrias diferentes de conectores protéticos: conexão externa e interna. A conexão interna mostrou uma tendência mais favorável a manter o nível ósseo peri-implantar ao distribuir melhor a carga mastigatória e um maior selamento na interface pilar-implante, diminuindo a possibilidade de adesão de patógenos periodontais.

As modificações feitas em geometrias ao sistema de implantes convencionais têm o objetivo de melhores resultados estéticos, biológicos e restauradores. A plataforma *Switching* utiliza o conector protético com diâmetro menor comparado à plataforma do implante, no intuito de minimizar as perdas ósseas peri-implantares, podendo assim preservar o osso marginal com a diminuição de stress sobre ele, porém, ainda há controvérsias se há diferenças no nível ósseo entre as plataformas (DUQUE et al., 2016).

Baseando-se na relação existente da presença de *micro-gap* e a perda de osso peri-implantar, tratamentos utilizando plataforma *Switching* resultaram em uma menor perda óssea com a redução da tensão no osso cortical em quase 36% com cargas axiais e 40% com cargas oblíquas, minimizando a perda óssea e aumentando a estabilidade tecidual peri-implantar com a conseqüente manutenção do nível ósseo (BOUAZZA-JUANES et al., 2015; Aslam et al., 2019).

Bao et al. (2010) estudaram o papel da SIN incorporada em PLGA *in vitro*. Verificaram que não houve inibição do metabolismo celular em relação ao grupo controle com a utilização da SIN e PLGA e ainda indicaram maior atividade das células, o que permite sua utilização na regeneração óssea. Além disso, um estudo realizado por Ho et al. (2015), mostraram que o uso de SIN aumentou a diferenciação osteogênica das células-tronco mesenquimais ativando a sinalização celular que desempenha um papel crucial na formação de osso induzida por SIN *in vivo*. Esses resultados sugeriram que a SIN é um fator osteoindutor potente, que combinada com células-tronco mesenquimais, pode ser utilizada na engenharia tecidual óssea.

Wang *et al.* (2018) utilizaram biocerâmicas de fosfato de cálcio combinadas com a SIN incorporada em PLGA *in vitro* e concluíram que podem ser utilizadas para estimular a diferenciação osteogênica *in vitro* e a osteoindução *in vivo*, sendo potencial uso clínico para o tratamento de defeitos ósseos críticos e fraturas.

Na diferenciação osteogênica, há diversos genes importantes tais como: ALP, RUNX2, OCN E OPN. O estudo mostrou que a SIN poderia aumentar o nível de expressão desses genes, promover a formação de nódulos de cálcio e induzir a diferenciação de células tronco mesenquimais em osteoblastos (ZHANG *et al.*, 2018).

Niu, Ding e Zhang (2012) avaliaram os efeitos da SIN na diferenciação osteogênica em células-tronco mesenquimais (BMSCs) que expressaram o osteocalcina e o sialoproteína do osso em condições normais, entretanto, sua expressão foi aumentada significativamente depois da incubação com SIN por 14 dias. Depois que as BMSCs foram incubadas com SIN por 21 dias, formaram uma estrutura nodular.

Montazerolghaem *et al.* (2015) utilizaram a combinação de zinco (Zn) e SIN para melhorar a regeneração óssea, reduzindo a resposta aguda das células inflamatórias. Uma combinação de Zn e de SIN provocou a diferenciação de células pré-osteoblasticas (MC3T3-E1). A combinação de Zn/SIN pode ser uma alternativa significativa e segura para melhorar a maturação dos osteoblastos enquanto simultaneamente reduz a resposta aguda dos monócitos circundantes.

Ho *et al.* (2015) utilizaram a combinação de sulfato de cálcio com SIN e PLGA (SIN/PLGA) que melhoraram substancialmente a atividade osteogênica e angiogênica e promoveram a cicatrização óssea em defeitos ósseos críticos em calvária de ratos. Essa combinação exibiu os efeitos da osteocondução e osteoindução para aplicação clínica. Esses dados sugerem que esta combinação nova do substituto do osso possa melhorar o apoio biomecânico para a formação adiantada da cicatrização óssea, e pode assim ser usado para curar defeitos substanciais do osso.

Ferreira *et al.* (2014) avaliaram o potencial osteindutor da SIN com PLGA no reparo de defeitos ósseos em calvária de ratos. A microscopia eletrônica de varredura mostrou que os defeitos tratados com PLGA e SIN estavam quase completamente reparados após 60 dias com a formação de uma matriz óssea organizada. O estudo mostrou que a SIN carregada em microesferas de PLGA melhorou a formação óssea em defeitos de tamanho crítico em ratos.

O osso neoformado em contato com o copolímero degradante, bem como o aspecto lamelar de sua matriz mineralizada, sugeriu os efeitos osteoindutivos e osteocondutores combinados desse biomaterial.

## **2 OBJETIVOS**

### **2.1 OBJETIVO GERAL**

Avaliar a citotoxicidade de 0,6% SIN (SIN) incorporada em PLGA sobre a superfície de titânio.

### **2.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Avaliar a citotoxicidade de SIN incorporada em PLGA sobre a superfície de titânio em células-tronco da polpa de dente decíduo (SHEDs, Curitiba Biotech, Curitiba, Paraná, Brasil) em 3 e 7 dias.

### **3 MATERIAIS E MÉTODOS**

As amostras da presente pesquisa foram divididas nos seguintes grupos: G0 - somente o disco de Ti, G1 – discos recobertos com PLGA e G2 – discos recobertos com PLGA e 0,6% SIN.

#### **3.1 PREPARO DOS DISCOS DE TITÂNIO (TI)**

Foram preparados 24 discos de Ti com 8 mm de diâmetro e 3 mm de espessura. Para tanto, após os cortes dos discos a partir da barra de Ti, os mesmos foram lixados com lixa de carbetto de silício entre 400 a 1200 Mesh e higienizados com álcool isopropílico.

##### **3.1.1 Preparo do copolímero e Revestimento dos discos**

Foi utilizado PLGA dissolvido em clorofórmio a 5% (m/v), em temperatura ambiente sob agitação constante. Posteriormente, para as amostras do G2, foi adicionada solução de 0,6% SIN. Os grupos G1 e G2 foram submetidos à técnica de gotejamento para eliminar o excesso de solução do polímero. Após isso, aguardou-se a evaporação do solvente por 24h. Após o preparo, as amostras dos grupos G0, G1 e G2 foram esterilizadas em óxido de etileno.

#### **3.2 LINHAGEM CELULAR**

##### **3.2.1 Células-tronco da polpa de dentes decíduos SHEDs (Curitiba Biotech®)**

As SHEDs foram cultivadas com DMEM com 10% de SFB a 37°C com 5% CO<sub>2</sub>.

#### **3.3 TESTE DE CITOTOXICIDADE**

As SHEDs foram cultivadas sobre os discos (G0, G1 e G2), sendo que cada disco está em uma cavidade da placa de 48 cavidades. Foram semeados 60uL da suspensão celular contendo  $2 \times 10^4$  células por disco. Foi aguardado 4 horas para que as células possam se aderir aos discos. Após isso, foram adicionados 200uL de meio de cultura em cada cavidade e as placas foram incubadas a 37 °C e 5% CO<sub>2</sub>.

A citotoxicidade foi avaliada em 3 e 7 dias. Para o teste MTS, após cada período experimental, os discos foram transferidos para novas placas. Posteriormente, as células foram lavadas com PBS e foram adicionados 300 µL de meio acrescidos de 60 µL de solução de MTS. Após 2 horas e 30 minutos de incubação, as absorbâncias foram determinadas por

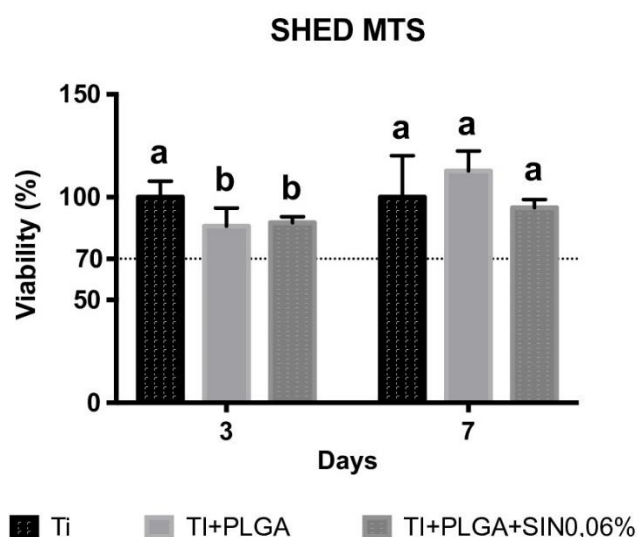
espectrofotômetro (Infinite M200, TECAN, Áustria GmbH, Grödig, Áustria) a um comprimento de onda de 490 nm. As porcentagens de células viáveis foram calculadas em relação aos controles positivos (G0). Os testes foram realizados em triplicata.

### **3.4 ANÁLISE ESTATÍSTICA**

A análise estatística foi realizada usando o programa *Graph Pad Software Inc.* (La Jolla, Califórnia, EUA). Os resultados dos grupos foram comparados entre si separadamente em cada tempo experimental, por meio de análise não paramétrica de variância (ANOVA) seguida do teste post hoc de Tukey ( $p < 0,05$ ).

#### 4 RESULTADOS

A citotoxicidade dos discos de titânio foi avaliada através do teste colorimétrico MTS. Foram calculadas as porcentagens das células viáveis em relação ao controle positivo (meio de cultura e células). Por fim, os resultados foram colocados em um gráfico de porcentagens de média  $\pm$  desvio padrão. Comparando os valores obtidos através do teste MTS realizado em SHEDs, percebe-se que no dia 3 a porcentagem da viabilidade celular de Ti + PLGA foi de  $85,87 \pm 8,79$  enquanto o grupo de Ti + PLGA+ 0,6%SIN foi de  $87,57 \pm 2,87$ . Por fim, avaliando os valores obtidos através do teste MTS em SHEDs no dia 7, a porcentagem da viabilidade celular de Ti + PLGA foi de  $112,70 \pm 9,66$  enquanto o grupo de Ti + PLGA+0,6%SIN foi de  $94,88 \pm 3,92$ . Os testes realizados nos grupos Ti+ PLGA e Ti+PLGA+0,6% SIN em SHEDs no dia 3 e 7 obtiveram valores superiores à 70%, com desvios padrões pequenos, sendo biocompatíveis e não citotóxicos.



**Gráfico 1:** Resultado da viabilidade celular pelo método do MTS aos 3 e 7 dias. Diferentes letras referem-se a diferença estatisticamente significativa (ANOVA, post hoc de Tukey,  $p < 0,05$ ).

## 5 DISCUSSÃO

Há estudos que demonstram que a SIN possui um grande potencial osteogênico e biocompatibilidade, o que sugere a possibilidade do seu uso clínico na engenharia tecidual óssea (PAGKALOS et al., 2010). Neste estudo, os discos de titânio revestidos com PLGA e SIN foram submetidos ao teste de avaliação de citotoxicidade em células-tronco mesenquimais de dentes decíduos em tempos experimentais de 3 e 7 dias. Observou-se que os discos de Ti biofuncionalizados com PLGA e SIN não foram citotóxicos para as SHEDs, o que indica a possibilidade de uso futuro destes materiais.

Para melhorar o desfecho clínico dos biomateriais, há a possibilidade da combinação de hormônios, fatores de crescimento e fármacos para que os defeitos ósseos possam ser adequadamente substituídos por osso neoformado, na tentativa de substituir os enxertos autólogos (MARTIN; BETTENCOURT, 2018). Com base nisso, o biomaterial utilizado foi o PLGA que possui propriedades físico químicas relevantes tais como: baixa toxicidade, biodegradabilidade e capacidade de incorporar e liberar moléculas bioativas (MIR; AHMED; REHMAN, 2017).

Até hoje, o enxerto autógeno é o padrão ouro para procedimento cirúrgico, mas em casos em que tenha um defeito ósseo pequeno, pode-se utilizar os biomateriais com segurança e eficácia. A melhoria das propriedades osteocondutivas dos biomateriais com associação da liberação controlada de compostos osteoindutivos, por exemplo, a SIN, é uma possibilidade para substituir o osso autógeno que resultará em maior rapidez, menor custo e praticidade (MARTIN; BETTENCOURT, 2018). Nesse estudo, foi utilizado o método simples de evaporação do solvente para que houvesse uma liberação controlada da SIN devido à sua baixa hidrossolubilidade (LI; ROUAUD; PONCELET, 2008).

A SIN é muito utilizada para diminuir os níveis de colesterol, e ao mesmo tempo, têm efeitos promissores para a regeneração tecidual óssea (KARAJI et al., 2017). Com base nisso, as células de interesse desse estudo, possuem grande potencial osteogênico, que são as células-tronco mesenquimais de dentes decíduos (SHEDs).

Deve-se atentar às altas doses de SIN, que por sua vez, podem ser citotóxicas e causar respostas inflamatórias, no qual a dose ideal ainda está sendo estudada para que haja a possibilidade da sua utilização na regeneração óssea. (PAPADIMITRIOU et al., 2015). Nesse



estudo, foram utilizados os discos de Ti revestidos com PLGA e 0,6% SIN e não se mostrou citotóxico, obtendo resultados favoráveis para que futuramente seja utilizado como um regenerador ósseo em pacientes com perdas ósseas peri-implantares. A SIN se mostrou biocompatível para as células-tronco mesenquimais de dentes decíduos (SHEDs), sendo que no dia 3 a porcentagem da viabilidade celular das amostras com PLGA sem SIN foi de  $85,87\% \pm 8,79$  enquanto com SIN foi de  $87,57\% \pm 2,87$  e no dia 7 as amostras com PLGA sem SIN foi de  $112,70\% \pm 9,66$  enquanto as amostras com SIN foi de  $94,88\% \pm 3,92$ . Tendo em vista que os valores foram superiores a 70%, pode-se afirmar que as amostras foram biocompatíveis e não foram citotóxicas.

Hua, Ti e Xu (2014) utilizaram o PLGA no osso alveolar de cães e assim como nesse estudo, o PLGA foi biocompatível e não citotóxico, demonstrando uma viabilidade celular superior que 5%. Além disso, Ho *et al.* (2015) avaliaram a capacidade osteoindutiva da SIN incorporada ao PLGA como substituto ósseo promovendo o aumento da atividade osteogênica e conseqüentemente, a cicatrização óssea em defeitos ósseos de tamanho crítico em calvária de rato. Além de não ser citotóxico, apresentou efeitos de osteocondução e osteoindução. Resultados estes que se desejou obter nesse estudo, que também avaliou a SIN incorporada ao PLGA e não apresentou efeito citotóxico.

## **6 CONCLUSÃO**

O presente estudo demonstrou a partir do teste de citotoxicidade do Ti revestido com PLGA e SIN incorporada, em células-tronco mesenquimais de dentes decíduos (SHEDs), que as amostras tanto de Ti+PLGA quanto Ti+PLGA+0,6%SIN foram biocompatíveis e não citotóxicas. Portanto, sugere que há um grande potencial da utilização do biomaterial na regeneração óssea peri-implantar. Estudos futuros devem ser conduzidos *in vitro* para se avaliar a capacidade de indução de diferenciação osteoblástica dos discos biofuncionalizados, bem como estudos *in vivo* para avaliar o efeito biológico das amostras.

## REFERÊNCIAS

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

ASLAM, Ayesha et al. Effect of platform switching on peri-implant bone: A 3D finite element analysis. **The Journal Of Prosthetic Dentistry**, [s.l.], v. 121, n. 6, p.935-940, jun. 2019. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.prosdent.2018.08.011>.

BAO, Trinh-quang et al. Fabrication and characterization of porous poly(lactic-co-glycolic acid) (PLGA) microspheres for use as a drug delivery system. **Journal Of Materials Science**, [s.l.], v. 46, n. 8, p.2510-2517, 3 dez. 2010. Springer Nature.

BOUAZZA-JUANES, K et al. Effect of platform switching on the peri-implant bone: A finite element study. **Journal Of Clinical And Experimental Dentistry**, [s.l.], p.483-488, 2015. Medicina Oral, S.L.. <http://dx.doi.org/10.4317/jced.52539>.

Chen, W.C., Anderson, K.W., Albeiruti, A., et al., 2011. Evaluating osteochondral defect repair potential of autologous rabbit bone marrow cells on type II collagen scaffold. *Cytotechnology*, 63(1):13-23.

DUQUE, Andrés Duque et al. Prevalence of peri-implant disease on platform switching implants: a cross-sectional pilot study. **Brazilian Oral Research**, [s.l.], v. 30, n. 1, p.350-366, 2016. FapUNIFESP (SciELO). <http://dx.doi.org/10.1590/1807-3107bor-2016.vol30.0005>.

FERREIRA, Lorraine B et al. Evaluation of bone repair of critical size defects treated with simvastatin-loaded poly(lactic-co-glycolic acid) microspheres in rat calvaria. **Journal Of Biomaterials Applications**, [s.l.], v. 29, n. 7, p.965-976, 10 set. 2014. SAGE Publications. <http://dx.doi.org/10.1177/0885328214550897>

Garip, S Severcan, F Determination of simvastatin-induced changes in bone composition and structure by Fourier transform infrared spectroscopy in rat animal model. *J Pharm Biomed Anal* 2010;52(4):580–588

HO, Mei-ling et al. Combination of calcium sulfate and simvastatin-controlled release microspheres enhances bone repair in critical-sized rat calvarial bone defects. *International*

Journal Of Nanomedicine, [s.l.], p.7231-7245, dez. 2015. Dove Medical Press Ltd..  
<http://dx.doi.org/10.2147/ijn.s88134>

HO, Mei-ling et al. Simvastatin enhances Rho/actin/cell rigidity pathway contributing to mesenchymal stem cells' osteogenic differentiation. **International Journal Of Nanomedicine**, [s.l.], p.5881-5894, set. 2015. Dove Medical Press Ltd..

HO, Mei-ling et al. Simvastatin enhances Rho/actin/cell rigidity pathway contributing to mesenchymal stem cells' osteogenic differentiation. **International Journal Of Nanomedicine**, [s.l.], p.5881-5995, set. 2015. Dove Medical Press Ltd..

HUA, Nan; TI, Vivian Lao; XU, Yuanzhi. Biodegradable Effect of PLGA Membrane in Alveolar Bone Regeneration on Beagle Dog. **Cell Biochemistry And Biophysics**, [s.l.], v. 70, n. 2, p.1051-1055, 16 maio 2014. Springer Science and Business Media LLC.  
<http://dx.doi.org/10.1007/s12013-014-0022-5>

Huang, J., Yao, C.L., Wei, Y.H., et al., 2011. Repair of bone defect in caprine tibia using a laminated scaffold with bone marrow stromal cells loaded poly(L-lactic acid)/  $\beta$ -tricalcium phosphate. *Artif. Organs*, 35(1):49-57.

Hutmacher, DW Scaffolds in tissue engineering bone and cartilage. *Biomaterials* 2000;21(24):2529–2543

Jahangiri, L., Devlin, H., Ting, K. & Nishimura, I. (1998) Current perspectives in residual ridge remodeling and its clinical implications: a review. *Journal of Prosthetic Dentistry* 80, 224–237.

KARAJI, Zahra et al. Biofunctionalization of Titanium Granules with Simvastatin for Improving Osteogenic Activity and Antibacterial Properties (Ex Vivo Study). **The International Journal Of Oral & Maxillofacial Implants**, [s.l.], v. 32, n. 6, p.1266-1272, nov. 2017. Quintessence Publishing. <http://dx.doi.org/10.11607/jomi.6063>.

KIM, Jin-cheol et al. Influence of implant-abutment connection structure on peri-implant bone level in a second molar: A 1-year randomized controlled trial. **The Journal Of Advanced Prosthodontics**, [s.l.], v. 11, n. 3, p.147-156, 2019. The Korean Academy of Prosthodontics (KAMJE). <http://dx.doi.org/10.4047/jap.2019.11.3.147>.

LAI, Min; YAN, Xufeng; JIN, Ziyang. The response of bone cells to titanium surfaces modified by simvastatin-loaded multilayered films. **Journal Of Biomaterials Science**,

**Polymer Edition**, [s.l.], v. 29, n. 15, p.1895-1908, 7 out. 2018. Informa UK Limited. <http://dx.doi.org/10.1080/09205063.2018.1517483>.

Li, J., Hong, J., Zheng, Q., et al., 2011. Repair of rat cranial bone defects with nHAC/PLLA and BMP-2-related peptide or rhBMP-2. *J. Orthop. Res.*, 29(11):1745-1752.

LI, Ming; ROUAUD, Olivier; PONCELET, Denis. Microencapsulation by solvent evaporation: State of the art for process engineering approaches. **International Journal Of Pharmaceutics**, [s.l.], v. 363, n. 1-2, p.26-39, nov. 2008. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ijpharm.2008.07.018>.

LIU, Mingyue et al. Surface modification of zirconia with polydopamine to enhance fibroblast response and decrease bacterial activity in vitro: A potential technique for soft tissue engineering applications. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 136, p.74-83, dez. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2015.06.047>.

MARTIN, Victor; BETTENCOURT, Ana. Bone regeneration: Biomaterials as local delivery systems with improved osteoinductive properties. **Materials Science And Engineering: C**, [s.l.], v. 82, p.363-371, jan. 2018. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.msec.2017.04.038>.

McAllister, B. S., & Haghghat, K. (2007). Bone Augmentation Techniques. *Journal of Periodontology*, 78(3), 377–396. doi:10.1902/jop.2007.060048

MIR, Maria; AHMED, Naveed; REHMAN, Asim Ur. Recent applications of PLGA based nanostructures in drug delivery. **Colloids And Surfaces B: Biointerfaces**, [s.l.], v. 159, p.217-231, nov. 2017. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.colsurfb.2017.07.038>.

MONTAZEROLGHAEM, Maryam et al. Simvastatin and zinc synergistically enhance osteoblasts activity and decrease the acute response of inflammatory cells. *Journal Of Materials Science: Materials in Medicine*, [s.l.], v. 27, n. 2, p.327-345, 24 dez. 2015. Springer Nature. <http://dx.doi.org/10.1007/s10856-015-5639-4>

NIU, Jianyi; DING, Gang; ZHANG, Li. Effects of simvastatin on the osteogenic differentiation and immunomodulation of bone marrow mesenchymal stem cells. *Molecular Medicine Reports*, [s.l.], v. 12, n. 6, p.8237-8240, 23 out. 2012. Spandidos Publications. <http://dx.doi.org/10.3892/mmr.2015.4476>.

PAGKALOS, Joseph et al. Simvastatin induces osteogenic differentiation of murine embryonic stem cells. **Journal Of Bone And Mineral Research**, [s.l.], v. 25, n. 11, p.2470-2478, 18 jun. 2010. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.163>.

PAPADIMITRIOU, Konstantinos et al. Effects of local application of simvastatin on bone regeneration in femoral bone defects in rabbit. **Journal Of Cranio-maxillofacial Surgery**, [s.l.], v. 43, n. 2, p.232-237, mar. 2015. Elsevier BV. <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcms.2014.11.011>.

SANZ-MARTÍN, Ignacio et al. Effects of modified abutment characteristics on peri-implant soft tissue health: A systematic review and meta-analysis. **Clinical Oral Implants Research**, [s.l.], v. 29, n. 1, p.118-129, 26 out. 2017. Wiley.

WANG, Chau-zen et al. Combination of a Bioceramic Scaffold and Simvastatin Nanoparticles as a Synthetic Alternative to Autologous Bone Grafting. **International Journal Of Molecular Sciences**, [s.l.], v. 19, n. 12, p.4099-5023, 18 dez. 2018. MDPI AG.

WELANDER, Maria; ABRAHAMSSON, Ingemar; BERGLUNDH, Tord. The mucosal barrier at implant abutments of different materials. **Clinical Oral Implants Research**, [s.l.], v. 19, n. 7, p.635-641, jul. 2008. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1600-0501.2008.01543.x>.

XING, Rui et al. The influence of surface nanoroughness, texture and chemistry of TiZr implant abutment on oral biofilm accumulation. **Clinical Oral Implants Research**, [s.l.], v. 26, n. 6, p.649-656, 20 fev. 2014. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/clr.12354>.

YAN, Qi et al. Controlled release of simvastatin-loaded thermo-sensitive PLGA-PEG-PLGA hydrogel for bone tissue regeneration: in vitro and in vivo characteristics. **Journal Of Biomedical Materials Research Part A**, [s.l.], v. 103, n. 11, p.3580-3589, 29 maio 2015. Wiley.

ZEKIY, Angelina O. et al. Antiseptic sealant and a nanocoated implant-abutment interface improve the results of dental implantation. **Clinical Implant Dentistry And Related Research**, [s.l.], p.5-8, 16 ago. 2019. Wiley. <http://dx.doi.org/10.1111/cid.12822>.

ZHANG, M. et al. Simvastatin induces osteogenic differentiation of MSCs via Wnt/ $\beta$ -catenin pathway to promote fracture healing. **European Review For Medical And Pharmacological**

**Sciences**, [s.l.], v. 22, n. 9, p.2896-2905, maio 2018. Verduci Editore s.r.l..  
[http://dx.doi.org/10.26355/eurrev\\_201805\\_14992](http://dx.doi.org/10.26355/eurrev_201805_14992).

## ANEXO A – Ata de apresentação do trabalho de conclusão de curso



UNIVERSIDADE FEDERAL DE SANTA CATARINA  
CENTRO DE CIÊNCIAS DA SAÚDE  
CURSO DE ODONTOLOGIA  
DISCIPLINA DE TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO DE ODONTOLOGIA

**ATA DE APRESENTAÇÃO DO TRABALHO DE CONCLUSÃO DE CURSO**

Aos 23 dias do mês de outubro de 2019, às 16 horas,  
em sessão pública no (a) CCS desta Universidade, na presença da

Banca Examinadora presidida pelo Professor

André Christiane Cabral da Cruz

e pelos examinadores:

- 1- Osvaldo Augusto Magalhães Benfatti
- 2- Leonor Thell Pascho Minacci

o aluno Amanda Ferreira Chaves

apresentou o Trabalho de Conclusão de Curso de Graduação intitulado:

Biofuncionalização de abutments - Análise da  
da aplicação e liberação de um sistema incorporada

como requisito curricular indispensável à aprovação na Disciplina de Defesa do TCC e a integralização do Curso de Graduação em Odontologia. A Banca Examinadora, após reunião em sessão reservada, deliberou e decidiu pela aprovção do referido Trabalho de Conclusão do Curso, divulgando o resultado formalmente ao aluno e aos demais presentes, e eu, na qualidade de presidente da Banca, lavrei a presente ata que será assinada por mim, pelos demais componentes da Banca Examinadora e pelo aluno orientando.

em PLGA  
na super-  
fície de  
titânio

[Assinatura]  
Presidente da Banca Examinadora

[Assinatura]  
Examinador 1

[Assinatura]  
Examinador 2

Amanda Ferreira Chaves  
Aluno