

# RESSALVA

Atendendo solicitação do(a)  
autor(a), o texto completo desta tese  
será disponibilizado somente a partir  
de 04/03/2024.



**UNESP - Universidade Estadual Paulista**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
**Faculdade de Odontologia de Araraquara**



**Lilian Caldas Quirino de Almeida**

**Avaliação do reparo ósseo em defeitos críticos preenchidos com biocerâmicas sintéticas e uma membrana sintética à base de polidioxanona.**

**Araraquara**

**2022**



**UNESP - Universidade Estadual Paulista**  
**“Júlio de Mesquita Filho”**  
**Faculdade de Odontologia de Araraquara**



**Lilian Caldas Quirino de Almeida**

**Avaliação do reparo ósseo em defeitos críticos preenchidos com biocerâmicas sintéticas e uma membrana sintética à base de polidioxanona.**

Tese apresentada à Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara, para obtenção do título de Doutora em Ciências Odontológicas, na Área de Diagnóstico e Cirurgia

**Orientador: Valfrido Antônio Pereira Filho**

**Araraquara**

**2022**

A447a

Almeida, Lilian Caldas Quirino de

Avaliação do reparo ósseo em defeitos críticos preenchidos com biocerâmicas sintéticas e uma membrana sintética à base de polidioxanona. : Avaliação do reparo ósseo em defeitos críticos preenchidos com biocerâmicas sintéticas e uma membrana sintética à base de polidioxanona. / Lilian Caldas Quirino de Almeida. -- Araraquara, 2022

124 p. : il., tabs.

Tese (doutorado) - Universidade Estadual Paulista (Unesp), Faculdade de Odontologia, Araraquara

Orientador: Valfrido Antonio Pereira Filho Pereira Filho

1. Substitutos Ósseos. 2. Modelos animais. 3. Materiais biomédicos. I. Título.

Sistema de geração automática de fichas catalográficas da Unesp. Biblioteca da Faculdade de Odontologia, Araraquara.

Dados fornecidos pelo autor(a).

Essa ficha não pode ser modificada.

**Lilian Caldas Quirino de Almeida**

**Avaliação do reparo ósseo em defeitos críticos preenchidos com biocerâmicas sintéticas e uma membrana sintética à base de polidioxanona.**

**Comissão julgadora**

**Tese para obtenção do grau de Doutora em Ciências Odontológicas**

Presidente e orientador: Prof. Dr. Valfrido Antônio Pereira Filho

2º Examinador: Prof. Dr. Marcelo Silva Monnazzi

3º Examinador: Profa. Dra. Elaine Maria Sgavioli Massucato

4º Examinador: Prof. Dra. Roberta Okamoto

5º Examinador: Prof. Dra. Maria Cristina Zindel Deboni

Araraquara, 04 de março de 2022

## **DADOS CURRICULARES**

### **Lilian Caldas Quirino de Almeida**

|                    |                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                                |
|--------------------|----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|
| <b>Nascimento</b>  | 04/05/1984 – São Paulo, São Paulo, Brasil                                                                                                                                                                                                                                                                                                                      |
| <b>Filiação</b>    | Benedita de Jesus Caldas Quirino<br>Bento Quirino Neto                                                                                                                                                                                                                                                                                                         |
| <b>2005-2008</b>   | Graduação em Odontologia, Faculdade de Odontologia de Araraquara da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho”-FOAr/Unesp, São Paulo. Título: Características Antropométricas dos Cirurgiões Dentistas e Design de Equipamentos Odontológicos. Orientador: Camila Pinelli. Bolsista Bolsa de Apoio Acadêmico e Extensão III, UNESP, Brasil.      |
| <b>2008 – 2009</b> | Estágio em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial pelo Hospital Municipal do Tatuapé - Dr. Cármino Caricchio. São Paulo, São Paulo, Brasil.                                                                                                                                                                                                                 |
| <b>2009 – 2012</b> | Residência em Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial Complexo Hospitalar Padre Bento de Guarulhos, CHPBG, São Paulo, Brasil. Bolsista da: FUNDAP.                                                                                                                                                                                                           |
| <b>2012 – 2014</b> | Mestrado em Odontologia, área de Patologia Bucal/ Estomatologia (Conceito CAPES 5).Universidade de São Paulo-USP, Brasil. Título: Expressão imuno-histoquímica da Axina1, GSK3 $\beta$ , APC e via Wnt1 nos ameloblastomas, Orientador: Décio dos Santos Pinto Júnior. Bolsista da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil. |
| <b>2018- 2022</b>  | Doutorado em andamento em Ciências Odontológicas, área de Diagnóstico e Cirurgia (Conceito CAPES 5) pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita Filho, UNESP, Brasil. Orientador: Valfrido Antônio Pereira Filho. Bolsista: Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior, CAPES, Brasil. Grande área: Ciências da Saúde.              |
| <b>2019 – 2020</b> | Docente da disciplina de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial na Universidade Nove de Julho- UNINOVE, São Paulo, São Paulo, Brasil.                                                                                                                                                                                                                       |
| <b>Atual</b>       | Cirurgiã Bucomaxilofacial do Centro de Especialidades Odontológicas- CEO-Vera Cruz, Prefeitura de São Paulo. São Paulo, São Paulo, Brasil e Docente da disciplina de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial na Universidade Nove de Julho- UNINOVE, São Paulo, São Paulo, Brasil.                                                                           |

Dedico este trabalho aos meus pais, minha base, **Benedita de Jesus Caldas Quirino** e **Bento Quirino Neto** e ao meu querido esposo e amigo, **Fábio Francisco Tavares de Almeida**.

## **AGRADECIMENTOS**

À Deus, por mais essa promessa cumprida na minha vida, por me guardar nas viagens para realizar esse doutorado, por me dar sabedoria e principalmente perseverança.

Aos meus pais, Benedita de Jesus Caldas Quirino e Bento Quirino Neto, por toda a base sólida da minha criação e educação, por sempre acreditar e incentivar os meus estudos, por todos os sacrifícios feitos para que hoje eu pudesse alcançar mais esse objetivo.

Ao meu esposo e amigo, Fábio Francisco Tavares de Almeida, por todo o amor e apoio desde a inscrição até a defesa, por todo o suporte emocional, por não me deixar desistir quando desanimei, por toda ajuda, desde as fórmulas do Excel até a formatação, por cuidar do nosso lar quando me afastei para realizar este doutorado, eu não tenho palavras para agradecer por tanto, não conseguiria sem você, eu te amo.

À minha família, minha irmã, Tatiane Caldas Quirino, colegas de profissão, pelo incentivo e apoio, à minha sogra, Vera Lúcia Tavares de Almeida, sempre tão preocupada com o meu bem-estar e a minha vida na estrada, minha cunhada querida, Fernanda Aparecida Tavares de Almeida, minha irmã de coração e minha cúmplice, minha cunhada Fabiana Tavares de Almeida e sobrinha Michaely de Almeida Silva, a qual já plantei a sementinha da pesquisa no seu coração.

Ao meu orientador, Prof. Dr. Valfrido Antônio Pereira Filho, por realmente me orientar, por me deixar voar e aproveitar as oportunidades de vivência que a vida acadêmica me proporcionou, e por ser um amigo quando eu precisei.

À minha querida Profa Dra. Roberta Okamoto, por todo apoio, amizade, trocando fotos dos experimentos e dos filhos caninos, toda a ajuda, sempre tão acessível e com tanta clareza nas explicações, pela paciência, compreensão, dedicação e esforços, seria quase impossível realizar todo esse trabalho sem a sua ajuda, minha eterna gratidão a você e suas alunas igualmente queridas, Paula Buzo Frigério e Naara Gabriela Monteiro.

Ao Prof. Dr. Rubens Spin Neto, pela contribuição e presteza em colaborar com esse trabalho.

Aos Professores Marisa Aparecida Cabrini Gabrielli, Eduardo Hochuli Vieira, Roberto Henrique Barbeiro, José Scarso Filho, Marcelo Silva Monnazzi, Andreia Bufalino, Estela Sasso Cerri, Elaine Maria Sgavioli Massucato pela oportunidade de

aprender com cada conversa e cada atividade clínica, vocês serão sempre meus mestres.

Ao Cristiano Afonso Lamounier por todas as orientações, desde o processo seletivo até a fase final, sempre disposto a ajudar.

À Thelma Aparecida Gonçalves e ao Antônio Medeiros filho, pelas conversas, conselhos e amizade e todo o suporte técnico.

À Ana Cláudia Gregolin Costa Miranda, pela paciência nas instruções de funcionamento do laboratório e orientações de processamento das amostras, bem como das conversas e dicas de compras.

À Suleima Ferreira, sempre tão prestativa, me socorrendo para tornar possível o quase impossível, pelo bilhetinho no último dia de inclusão das peças em parafina, para sempre guardado no meu coração, com muito carinho.

À Priscila Gabriela Gentile Consolaro, por toda ajuda, bons papos e risadas para aliviar a distância e saudades de casa.

Ao Professor Dr. Laurival Antonio de Luca Júnior, pelo uso do biotério e fornecimento dos animais para essa pesquisa e pelos esclarecimentos nos momentos de dúvidas, bem como, Micail (*in memoriam*) pelas orientações e ajudas nos recebimentos dos animais.

Aos meus queridos amigos de pós-graduação, Guilherme dos Santos Trento, Pedro Henrique Azambuja Carvalho, Renato Torres Augusto Neto, Luiz Henrique Torres e Cássio Camachio, sem os quais seria impossível realizar um trabalho com essa magnitude, com tantos animais, procedimentos, vocês foram vitais, tanto para a execução quanto para tornar mais leve todo esse trabalho, obrigada pela ajuda, risadas, viagens e perrengues.

Às minhas amigas que a pós-graduação me deu, Audrey Foster Lefort Rocha, Gabriely Ferreira, Deborah Laurindo Pereira Santos, pela parceria nos trabalhos apresentados em congressos, pelos momentos compartilhando as lágrimas e risadas.

Ao amigo Giovanni Cunha, pela parceria nos trabalhos, congressos e amizade.

À todos do apoio técnico para as análises deste trabalho, Pedro Sérgio Simões, com os cortes histológicos.

À Sybele Saska e Magda Nagasawa, representando a empresa Plenum®, pela confiança e apoio para a execução desse trabalho, com fornecimento dos materiais e dos insumos das análises, além de todo o apoio técnico e científico.

A todos os residentes do Serviço de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial do Departamento de Diagnóstico e Cirurgia pela amizade e presteza e colaboração com os casos clínicos apresentados.

Minha amiga Rachel Maccheronio Dalmaso, que tanto me ajudou no início da minha vida de docente e acompanhou todas as principais e mais difíceis etapas dessa jornada, pelas traduções, obrigada por me entender tão bem.

Aos meus amigos dos CEO Vila Carrão, que tanto me apoiaram quando eu fazia a histometria entre um paciente e outro, vocês são especiais. Aos meus amigos do CEO Vera Cruz, que me receberam de braços abertos e também entendem a minha “reclusão” para terminar a minha tese.

À Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho” (Unesp), à Faculdade de Odontologia de Araraquara, em especial ao diretor Prof. Dr. Edson Alves de Campos e a Vice-Diretora, Profa. Dra. Patrícia P. N. S. Garcia, que foi minha co-orientadora no meu Trabalho de conclusão de curso da graduação, nessa faculdade, minha base desde a graduação, e ao Programa de Pós-Graduação em Ciências Odontológicas, no departamento da Diagnóstico e Cirurgia, sob a coordenação da Profa. Dra. Andreia Bufalino, por tornar real a realização desta tese.

À todos os animais, que literalmente deram a vida para que essa pesquisa fosse realizada, com muito respeito e carinho por cada animal utilizado.

À CAPES:

O presente trabalho foi realizado com o apoio da Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) – Código de financiamento 001

“O período de maior ganho em conhecimento e experiência é o período mais difícil da vida de alguém”<sup>1</sup>□  
Dalai Lama

---

<sup>1</sup>\* Disponível em: <http://fradesfranciscanos.com.br/meditacao/o-periodo-de-maior-ganho-em-conhecimento-e-experiencia-e-o-periodo-mais-dificil-da-vida-de-alguem-dalai-lama>.

Almeida LCQ. Avaliação do reparo ósseo em defeitos críticos preenchidos com biocerâmicas sintéticas e uma membrana sintética à base de polidioxanona [Tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

## RESUMO

O uso de materiais regenerativos é uma das técnicas indicadas para a reconstrução de defeitos ósseos, com resultados mais eficazes e previsíveis, graças ao desenvolvimento da bioengenharia. O objetivo deste trabalho foi avaliar o processo de reparo ósseo utilizando biocerâmicas sintéticas e membrana absorvível a base de polidioxanona (PDO) em defeitos ósseos críticos, realizados em calvária de ratos. Os resultados foram formatados em 3 artigos científicos. Sendo, que os dois primeiros estão relacionados às biocerâmicas e o terceiro artigo, com a regeneração óssea guiada por meio da membrana de polidioxanona. Em todos os artigos foram realizadas análises de histometria, microtomografia computadorizada, imunoistoquímica e PCR. Neste estudo foram utilizados 185 animais, com a confecção de dois defeitos críticos por animal, divididos em 10 grupos experimentais, preenchidos da seguinte forma: G1: Plenum® Oss HA (PHA), G2: coágulo sanguíneo (CG); G3: Plenum® Oss  $\beta$ -TCP, G4 (PB): Cerasorb® (CS) G5: Plenum® Oss hp (PO), G6: BoneCeramic® (BC), G7: Plenum® Oss hp + Plenum® Guide (PG), G8: Plenum® Guide + coágulo (PC), e G9: Bio-Gide® + Plenum® Oss (BG) hp e G10: Bio-Gide® + coágulo (BC). Os animais foram submetidos a eutanásia após os períodos de 07, 15, 30 e 60 dias. As amostras foram coletadas e preparadas para todas as análises propostas. Na comparação entre os grupos PO e BC, não observamos diferenças estatisticamente significantes entre a formação de tecido conjuntivo, tecido ósseo e os remanescentes do biomaterial entre os grupos. Na comparação entre os grupos PB e CS, dentro dos parâmetros avaliados, não houve diferença estatística entre si, contudo, as condições celulares iniciais foram mais favoráveis para o grupo PB, ao avaliar às análises de biologia molecular. Quando comparados os grupos PG e BG, não observamos diferenças significativas pelas análises de histometria e microtomografia computadorizada, porém, o grupo PG apresentou uma imunomarcagem melhor em relação ao grupo BG. Concluímos que os materiais testados pelas análises propostas neste estudo apresentaram resultados satisfatórios e não apresentaram diferenças em comparação aos demais materiais comparadores, sendo, portanto, considerados uma opção viável como substituto ósseo sintético, bem como barreira na regeneração óssea guiada.

**Palavras chave:** Substitutos ósseos. Polidioxanona. Materiais biomédicos.

Almeida LCQ Evaluation of bone repair in critical defects filled with synthetic bioceramics and a synthetic membrane based on polydioxanone [Tese de doutorado]. Araraquara: Faculdade de Odontologia da UNESP; 2022.

## **ABSTRACT**

The use of regenerative materials is one of the techniques indicated for the repair/reconstruction of bone defects, with more effective and predictable results, thanks to the development of bioengineering. The objective of this work was to evaluate the bone repair process using synthetic bioceramics and a polydioxanone (PDO)-based resorbable membrane in critical bone defects in rat calvaria. The results were formatted in 3 scientific articles. The first two are related to bioceramics and the third article, with bone regeneration guided by a polydioxanone membrane. Histometry, computed microtomography, immunohistochemistry, and PCR analyzes were performed in all three articles. 185 rats were used in this study, with two critical defects per animal, divided into 10 experimental groups as follows: G1: Plenum® Oss HA (PHA), G2: blood clot (CG); G3: Plenum® Oss  $\beta$ -TCP, G4 (PB): Cerasorb® (CS) G5: Plenum® Oss hp (PO), G6: BoneCeramic® (BC), G7: Plenum® Oss hp + Plenum® Guide (PG), G8: Plenum® Guide + clot (PC), and G9: Bio-Gide® + Plenum® Oss (BG) hp and G10: Bio-Gide® + clot (BC). The animals were euthanized after periods of 07, 15, 30, and 60 days. The samples were collected and prepared for all proposed analyses. Comparing the PO and BC groups, we did not observe statistically significant differences between the formation of connective tissue, bone tissue, and biomaterial remnants amongst the groups by the proposed analyses. In the comparison between the PB and CS groups, within the evaluated parameters, there were no statistical differences between them, however, the initial cellular conditions were more favorable for the PB group by the molecular biology analyses. When comparing the PG and BG groups, we did not observe significant differences by histometry and computed microtomography analyses, however, the PG group presented better immunostaining in relation to the BG group. We conclude that the materials tested by the analyzes proposed in this study presented satisfactory results and did not present differences compared to the other control materials, therefore, considered viable options as synthetic bone substitutes, as well as a barrier in guided bone regeneration.

**Keywords:** Bone substitutes. Polydioxanone. Biomedical materials.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

|                                                                                                                                                                                                        |     |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----|
| <b>Figura A1-</b> Distribuição das análises dos grupos das biocerâmicas, constando a distribuição dos animais quanto aos tipos de análises, períodos de eutanásia e número de amostras .....           | 110 |
| <b>Figura A2-</b> Distribuição das análises dos grupos de regeneração óssea guiada, constando a distribuição dos animais quanto aos tipos de análises, períodos de eutanásia e número de amostras..... | 111 |
| <b>Figura A3-</b> Confeção e preenchimento dos defeitos críticos em calvária de ratos. Grupos das Biocerâmicas.....                                                                                    | 112 |
| <b>Figura A4-</b> Confeção e preenchimento dos defeitos críticos em calvária de ratos. Grupos ROG.....                                                                                                 | 113 |
| <b>Figura A5-</b> Processamento das amostras.....                                                                                                                                                      | 114 |
| <b>Figura A6-</b> Histometria do Grupo1, Plenum® Oss HA, período de 60 dias.....                                                                                                                       | 116 |
| <b>Figura A7-</b> Histometria do Grupo Plenum® Oss HA, período de 60 dias, ilustrando as mensurações por Threshold de cores, realizada pelo software ImageJ.....                                       | 117 |
| <b>Figura A8-</b> Processamento das amostras para análise de PCR.....                                                                                                                                  | 119 |
| <b>Figura A9-</b> Reconstrução bidimensional (2D). Projeção para imagens volumétricas 3D, <i>DataViewer</i> ® v. 1.4.1.....                                                                            | 121 |
| <b>Figura A10-</b> Grupo 7 Plenum Guide®+ Plenum® Oss <sub>hp</sub> ®, no lado direito do defeito e: Plenum Guide® + Coágulo, lado esquerdo do defeito, VOI- Plano Axial.....                          | 122 |
| <b>Figura A11-</b> Grupo 7 Plenum Guide®+ Plenum® Oss <sub>hp</sub> ®, no lado direito do defeito e: Plenum Guide® + Coágulo, lado esquerdo do defeito, VOI- Plano coronal.....                        | 122 |

## LISTA DE ABREVIATURAS E SIGLAS

|               |                                                |
|---------------|------------------------------------------------|
| TGF- $\beta$  | Fator de Crescimento de Transformação- $\beta$ |
| BMP2          | Proteínas Morfogenéticas Ósseas                |
| RANK-L        | Receptor Ativador Nuclear Kappa – Ligante      |
| OPG           | Osteoprotegerina                               |
| OPN           | Osteopontina                                   |
| OCN           | Osteocalcina                                   |
| HA            | Hidroxiapatita                                 |
| $\alpha$ -TCP | $\alpha$ - Fosfato Tricálcico                  |
| $\beta$ -TCP  | $\beta$ - Fosfato Tricálcico                   |
| ROG           | Regeneração Óssea Guiada                       |
| PDO           | Polidioxanona                                  |
| PLGA          | Poli (lático-co-glicólico)                     |
| FDA           | Food and Drug Administration                   |
| PBS           | Tampão fosfato salino                          |
| PCR           | Reação em cadeia da polimerase                 |
| $\mu$ CT      | Microtomografia Computadorizada                |
| VOI           | Volume de Interesse                            |
| RUNX2         | Fator de transcrição 2 relacionado à runt      |
| VEGF          | Fator de crescimento vascular endotelial       |
| IBSP          | Sialoproteína óssea                            |
| BV/TV         | Porcentagem de volume ósseo                    |
| Tb.N          | Número Trabecular em mm                        |
| Tb.Sp         | Separação Trabecular em mm                     |
| Tb.Th         | Espessura Trabecular em mm                     |
| Conn Dn       | Densidade de conexões em mm <sup>3</sup>       |

## SUMÁRIO

|                               |            |
|-------------------------------|------------|
| <b>1 INTRODUÇÃO .....</b>     | <b>15</b>  |
| <b>2 PROPOSIÇÃO .....</b>     | <b>22</b>  |
| <b>3 PUBLICAÇÕES .....</b>    | <b>23</b>  |
| <b>3.1 Publicação 1 .....</b> | <b>24</b>  |
| <b>3.2 Publicação 2 .....</b> | <b>51</b>  |
| <b>3.3 Publicação 3 .....</b> | <b>76</b>  |
| <b>4 CONCLUSÕES .....</b>     | <b>104</b> |
| <b>REFERÊNCIAS .....</b>      | <b>105</b> |
| <b>APÊNDICE A .....</b>       | <b>109</b> |
| <b>ANEXO A .....</b>          | <b>124</b> |

## 1 INTRODUÇÃO

Defeitos ósseos críticos são classificados como aqueles em que o reparo ósseo não se completa espontaneamente, havendo necessidade da utilização de enxertos para o preenchimento ou reconstrução e concomitante estimulação da neoformação óssea<sup>7</sup>. Esses enxertos podem variar conforme sua origem entre autólogos, homogêneos, heterogêneos ou substitutos ósseos sintéticos (materiais aloplásticos), sendo utilizados separadamente ou de maneira combinada<sup>1,2</sup>.

Fatores fisiológicos, traumáticos, patológicos ou congênitos podem condicionar ou agravar a reabsorção óssea das cristas alveolares, levando a uma situação clinicamente limitante, inviabilizando a reabilitação oral por meio de implantes osseointegráveis<sup>3,4</sup>. Além disso, a regeneração óssea é um processo fisiológico complexo que visa a restauração ou manutenção da função óssea<sup>5,6</sup>. Esse processo envolve múltiplas fases que incluem a reabsorção do tecido ósseo necrosado e do coágulo subsequente ao trauma e desenvolvimento de processo inflamatório que propicia a liberação de fatores de crescimento que irão auxiliar na diferenciação celular e consequente formação do tecido ósseo.

Embora bastante semelhantes em vários aspectos a outros processos de reparo no organismo, o tecido ósseo demanda a presença de células osteogênicas progenitoras, sinalização osteoindutora, matriz osteocondutiva e adequado aporte sanguíneo, pois a vascularização local representa um importante fator no reparo ósseo em que há a liberação de fatores de crescimento, facilitação de oxigenação local e afluxo de nutrientes<sup>7,8,9</sup>.

A osteocondução é a capacidade do enxerto ou substituto ósseo em auxiliar o reparo tecidual, permitindo a infiltração vascular e a quimiotaxia de elementos celulares envolvidos na formação do osso como células mesenquimais indiferenciadas, osteoblastos, osteoclastos e outros. A osteoindução consiste no processo de indução da diferenciação de células mesenquimais indiferenciadas e de células osteoprogenitoras em osteoblastos após a exposição a moléculas provenientes do enxerto ou substituto ósseo<sup>5,7</sup>.

Tal cascata de eventos celulares é mediada por inúmeros fatores de diferenciação, entre eles fator de crescimento de transformação- $\beta$  (TGF- $\beta$ , *Transforming Growth Factor- $\beta$* ) e as proteínas morfogenéticas ósseas (BMP's, *Bone*

*Morphogenetic Protein*). Por fim, a osteogênese é a formação de novo osso a partir de células mesenquimais indiferenciadas e células osteoprogenitoras oriundas do enxerto ou do hospedeiro. Essas células desempenham papel importante como progenitoras de osteoblastos e são responsáveis por parte do equilíbrio homeostático, além de participarem da regulação da osteoclastogênese por meio da expressão do RANK-L (*Receptor Activator, Nuclear Kappa – Ligand*) e do OPG (*osteoprotegerina*)<sup>5</sup>.

As biocerâmicas representam uma classe de materiais regenerativos desenvolvidas no intuito de servir de arcabouço mineralizado para proliferação de células progenitoras ósseas, principalmente pelo fato de apresentarem em sua composição fosfato de cálcio e por possuir uma composição química similar ao tecido ósseo. As biocerâmicas sintéticas apresentam características osteocondutivas em testes *in vitro* e *in vivo*, servindo não apenas como arcabouço, mas também estimulando a migração celular<sup>10,11,12,13</sup>.

A combinação de íons cálcio e fósforo em suas apresentações mais estáveis, a hidroxiapatita (HA) e os fosfatos tricálcicos  $\alpha$ -TCP e  $\beta$ -TCP, constituem uma estrutura química de cerâmicas mais bioativas<sup>14,15</sup>. Estes compostos sintéticos são química e estruturalmente similares à matriz óssea mineral dos mamíferos, o que pode ser priorizado seu uso como substituto ósseo para a reparação óssea<sup>16,17</sup>.

Neste contexto, um substituto ósseo ideal deve apresentar variedade de forma e tamanho, e adequadas propriedades mecânicas e biológicas, além disso, deverão ser biocompatíveis, osteocondutivos, bioativos e preferencialmente absorvíveis, para que possam ser substituídos por osso neoformado. Em geral, materiais absorvíveis aloplásticos são os mais escolhidos para a regeneração óssea, pois funcionam como uma matriz para o aumento de volume e para a manutenção do espaço do defeito, sendo gradualmente substituídos pelo osso neoformado<sup>18</sup>.

Nery, em 1975, foi pioneiro no uso de biocerâmicas em defeitos ósseos periodontais induzidos em animais, desde então diversos estudos buscaram otimizar as aplicações das biocerâmicas na regeneração óssea<sup>11,12,15,19</sup>.

Dentro do escopo das pesquisas realizadas com HA e  $\beta$ -TCP foi observado que, enquanto a primeira apresentava uma reabsorção mais lenta, o segundo tinha uma alta taxa de reabsorção nos primeiros dias após a aplicação em defeitos ósseos em animais<sup>19,20,21</sup>. A reabsorção do  $\beta$ -TCP está relacionada diretamente às fases de fosfato de cálcio, que é a sua respectiva razão molar  $\text{Ca}^{2+}/\text{P}$ , a qual está diretamente

relacionada a sua taxa de degradação, ou seja, quanto maior a razão molar  $\text{Ca}^{2+}/\text{P}$ , menor será a taxa de degradação *in vitro* ou *in vivo*<sup>18,22</sup>.

Devido a sua lenta taxa de reabsorção, a HA também apresenta deficiências no processo de neoformação óssea, no entanto é capaz de manter a estrutura e o arcabouço por um período duradouro<sup>23</sup>. Por outro lado, o  $\beta$ -TCP apresenta alta solubilidade e rápida reabsorção, favorecendo a neoformação óssea, mas dificultando a manutenção do arcabouço<sup>14,17</sup>. Contudo, a taxa de degradação também está diretamente relacionada ao tamanho das partículas e a cristalinidade da biocerâmica. Partículas nanométricas degradam mais rapidamente do que as partículas submicron e micrométricas, devido às nanopartículas favorecerem a ação mais rápida dos osteoclastos ou macrófagos sobre a superfície do biomaterial. A cristalinidade também altera a taxa de degradação, uma vez que estruturas altamente cristalinas são mais resistentes à dissolução do que estruturas amorfas ou semi-cristalinas<sup>24</sup>.

Mais recentemente, as evoluções ocorridas no processo de fabricação permitiram a síntese de  $\beta$ -TCP com porosidades interconectadas, não interferindo nas propriedades mecânicas do material. O  $\beta$ -TCP Cerasorb® tem, multi poros abertos interconectados, com micro, médio e macroporos (5  $\mu\text{m}$  - 500  $\mu\text{m}$ ) e uma porosidade geral de aproximadamente 65%. Os grânulos são poligonais, com formato irregular e aumentam a intercalação e o travamento no interior da cavidade do defeito<sup>14,17,25</sup>.

Em contrapartida, na tentativa de melhorar os resultados obtidos com  $\beta$ -TCP novas associações têm sido implementadas na área das biocerâmicas. Desta forma, as biocerâmicas bifásicas (HA/ $\beta$ -TCP) têm sido desenvolvidas por combinarem as propriedades favoráveis das duas cerâmicas, promovendo ao mesmo tempo uma reabsorção mais lenta, mas permitindo a manutenção do arcabouço para a neoformação óssea em percentuais maiores<sup>10,13,15,17,20,21</sup>.

Inicialmente o processo de fabricação da biocerâmica bifásica (HA/ $\beta$ -TCP) por sinterização, em temperaturas elevadas, limitou sua utilização nos procedimentos de enxertia<sup>11,14,17,26</sup>. Este processo não permitia a formação de micro e nanoporosidades no material, necessários para a migração celular e vascular e à incorporação do enxerto<sup>25</sup>.

A biocerâmica Straumann® BoneCeramic™, é uma biocerâmica bifásica sintética, composta por 60% de hidroxiapatita e 40% de  $\beta$ -fosfato tricálcio, sinterizado a uma temperatura de 1100 – 1500°C, com porosidade de 90%, sendo esses poros interconectados de 100 a 500  $\mu\text{m}$  de diâmetro, considerado como um biomaterial

osteocondutor. Novos compostos de HA/ $\beta$ -TCP têm sido lançados comercialmente desde então, e a proporção entre os componentes têm sido objeto de pesquisa constante. Proporções de HA/ $\beta$ -TCP: 20/80, 30/70, 40/70, 50/50, 60/40, 70/30 e 80/20 já foram testadas na literatura<sup>12,13,15,19,21,27</sup>.

Uma nova biocerâmica bifásica foi desenvolvida pela empresa Plenum<sup>®</sup>, sob o nome comercial de Plenum<sup>®</sup> Oss<sub>hp</sub><sup>®</sup>, constituída de hidroxiapatita e  $\beta$ -fosfato de tricálcio (HA:  $\beta$ -TCP) na proporção 70:30. A macro e microporosidade garante um crescimento celular osteogênico eficiente promovendo a regeneração óssea no sítio do defeito ósseo. Por sua vez, a microporosidade e rugosidade superficial facilitam a difusão de fluidos biológicos e a adesão celular. Além disso, a macro e microestrutura, apresenta área superficial de 1,85 m<sup>2</sup>/g, porcentagem de porosidade de 52,32%, com diâmetro médio interno de 0,34  $\mu$ m e densidade real 3.5870 g/cm<sup>3</sup>, que conferem alta propriedade hidrofílica ao produto, tornando-o facilmente manipulável em fluidos (soro fisiológico, plasma rico em plaquetas e fibrina ou sangue do próprio paciente) em diversas aplicações para reconstrução óssea.

Foram realizados estudos pré-clínicos com modelo animal, em ratos, para a biocerâmica Plenum<sup>®</sup> Oss<sub>hp</sub>, testes relacionados à sensibilidade dérmica maximizada, reatividade intracutânea e toxicidade aguda, atendendo à todas as normas internacionais, e com resultados satisfatórios para cada teste. Fonte: M3Health Ind. Com. De Prod. Odont. e Correlatos SA, Jundiaí, São Paulo, Brasil.

Em geral, os materiais regenerativos sintéticos absorvíveis são os materiais de escolhas para reparação óssea; visto que, estes materiais são isentos de possíveis contaminantes ou moléculas orgânicas advindas dos enxertos homogêneos e heterogêneos, os quais possam induzir respostas imunológicas<sup>28</sup>.

Ainda não há um consenso sobre a proporção mais indicada para procedimentos de enxertia óssea, devendo provavelmente tal proporção ser ajustada de acordo com as condições de cada indivíduo, para pacientes que necessitem da manutenção do arcabouço por mais tempo, a proporção de HA deve ser maior do que a de  $\beta$ -TCP e para o paciente que já possui um arcabouço e necessitam de uma maior taxa de neoformação a proporção de  $\beta$ -TCP deve ser maior que a de HA<sup>17</sup>.

Além do uso de substitutos ósseos, as técnicas de regeneração óssea guiada (ROG;) também apresentam alta relevância clínica<sup>2,3,29,30</sup>. A ROG é uma abordagem terapêutica que induz a osteopromoção pelo uso de membranas, absorvíveis e não absorvíveis, como barreiras mecânicas. As membranas têm como função evitar a

migração de células epiteliais para o interior defeito, promovendo a manutenção do espaço do defeito ósseo e novos estudos sugerem mais um novo papel para a utilização de membranas, com evidências celulares e moleculares do comportamento bioativo, ao invés de uma barreira passiva das membranas, contribuindo com maior eficácia para favorecer a neoformação óssea<sup>30,31,32</sup>.

Enquanto as membranas absorvíveis, usualmente fabricadas com colágeno, apresentam como vantagem a permeabilidade e nutrição do tecido adjacente, apresentam a desvantagem de serem rapidamente absorvidas, antes do tempo necessário para incorporação do enxerto<sup>29,31</sup>. Por outro lado, as membranas baseadas em polímeros sintéticos, não absorvíveis ou absorvíveis, mantem o espaço ou substituto ósseo de preenchimento/reconstrução no local desejado por um período mais prolongado, com previsibilidade clínica desejável até sua remoção ou reabsorção. No entanto, as membranas não absorvíveis apresentam a desvantagem de não permitir a nutrição do tecido adjacente e necessitarem de um procedimento cirúrgico adicional para a sua remoção<sup>30,33</sup>. Nesse aspecto, se faz necessária pesquisa e desenvolvimento de novas membranas sintéticas absorvíveis para ROG, as quais refletem em resultados clínicos com boa previsibilidade. Dentre as propriedades requeridas para uma membrana com finalidade para ROG incluem: bioatividade, adequado tempo de reabsorção, biocompatibilidade e habilidade de manutenção do espaço durante o processo de reparação do defeito ósseo<sup>34</sup>.

Adicionalmente, dependendo do processo empregado na produção de membranas baseada em polímeros sintéticos, estas membranas podem promover excelente bioatividade, devido a sua composição química, área e topografia superficial, favorecendo uma melhor interação célula/material.

Dentre os polímeros sintéticos, o polidioxanona (PDO) têm emergido como uma excelente alternativa para produção de materiais para engenharia tecidual, pela sua excelente resposta celular em relação à proliferação/diferenciação e biocompatibilidade, além de possuir elevada força mecânica e moderada taxa de degradação *in vivo*<sup>35,36</sup>.

A polidioxanona é um polímero sintetizado pelo monômero precursor *p*-dioxanona, onde possui um oxigênio do grupo éter na estrutura de cadeia polimérica, conferindo flexibilidade ao material e são degradados por hidrólise.

A maioria dos materiais regenerativos poliméricos sofrem degradação enzimática, principalmente os de origem animal, como as membranas a base de

colágeno, já os polímeros degradáveis por hidrólise, como a PDO, são polímeros que possuem ligações químicas hidroliticamente lábeis em sua cadeia. Os grupos funcionais suscetíveis para hidrólise incluem ésteres, anidridos, carbonatos, amidas, entre outros. A degradação dos polímeros  $\alpha$ -ésteres, ocorre por meio de uma cisão não específica destas ligações éster e essa degradação depende da porosidade, cristalinidade, peso molecular, e área superficial, sendo que os grupos terminais ácidos aumentam a propriedade hidrofílica e catalisam a reação. Os subprodutos finais são excretados principalmente na urina, sendo o restante eliminado por meio de digestão celular ou exalado como dióxido de carbono<sup>37</sup>.

Rowland *et al.*<sup>38</sup>, relataram que *scaffolds* à base de PDO apresentaram resultados superiores a *scaffolds* de poli-lático-glicólico (PLGA) em relação a diferenciação de células-tronco mesenquimais em células osteoblásticas e condrogênicas<sup>38</sup>. Além disso, o PDO tem sido amplamente utilizado como material absorvíveis de sutura, com aprovação pelo *Food and Drug Administration* (FDA), além de apresentar um perfil seguro para aplicação em dispositivos médicos, como em placas para o fechamento de comunicação oronasal, perfuração de septo, reconstrução de soalho de órbita pela taxa de leve a moderada reação inflamatória de corpo estranho e completa degradação dentro de 5 a 12 meses, dependendo do método e condições do processo de manufatura<sup>39,40</sup>. Contudo, os relatos na literatura em relação à segurança biológica e as propriedades químicas e mecânicas do PDO, permite confiabilidade no desenvolvimento de novos produtos à base de PDO para aplicações em reparação/regeneração tecidual.

Neste estudo, foi avaliada uma nova membrana sintética e absorvível, a base de polidioxanona, sob nome comercial de Plenum® Guide (M3 Health Ind. Com. de Prod. Med. Odont. e Correlatos S.A, Jundiaí, Brasil), apresentando cristalinidade de 55%, formada por filamentos com diâmetros entre 500 nanômetros a 2 micrômetros.

Foram realizados testes mecânicos, teste de intumescimento e de resistência à tração, bem como estudos pré-clínicos, em modelo animal com ratos, para avaliar a sensibilização dérmica maximizada e teste de toxicidade sistêmica aguda, todos de acordo as normas internacionais, e com resultados satisfatórios para todos os testes realizados<sup>37</sup>.

Os materiais regenerativos atuais disponíveis no mercado, são de origem animal ou sintética, e em sua maioria, produzidos a partir de materiais importados, o que aumenta o custo devido ao uso de tecnologia estrangeira e das taxas de

importação, custos esses, que são repassados para os pacientes, aumentando o valor do procedimento.

Com o desenvolvimento de novos materiais regenerativos sintéticos, de origem nacional, obtidos por novos processos de fabricação, estes custos podem ser reduzidos, devido ao uso de tecnologia nacional, e, por ser de origem sintética, terá uma disponibilidade em menor tempo, pois não depende das etapas de processamento das quais os materiais regenerativos de origem animal necessitam ser submetidos. A partir desses aspectos, portanto, a produção pode ser em maior escala, atendendo todo o mercado nacional e internacional, gerando desenvolvimento ao país em todas as esferas de mercado.

Para a inserção de novos materiais regenerativos no mercado deve ser precedida por pesquisas bem delineadas e, preferencialmente, em modelo animal, com avaliações completas, como a análise de microtomografia computadorizada, a qual permite avaliar a arquitetura dos tecidos e dos remanescentes de biomateriais sem a destruição das amostras, permitindo que outras análises possam ser realizadas, como a histometria e análises de biologia molecular, como a imunohistoquímica e a expressão gênica, a fim de determinar sua previsibilidade, eficácia e segurança.

## 4 CONCLUSÃO

Por meio da metodologia empregada neste estudo, foi possível concluir que:

1. O Plenum® Osshp, demonstrou ser eficaz no processo de reparo ósseo, além de preencher com maior facilidade os defeitos críticos, sendo semelhante ao controle comercial, sendo considerado uma opção eficaz como substituto ósseo sintético na clínica em implantodontia.
2. O Plenum® Oss  $\beta$ -TCP, dentro dos parâmetros avaliados, apresentou resultados semelhantes na comparação com o biomaterial padrão, demonstrando condições celulares iniciais mais favoráveis que o controle positivo.
3. A membrana Plenum® Guide, é uma opção de membrana sintética, absorvível e eficaz na regeneração óssea guiada.

## REFERÊNCIAS\*

1. Giannoudis PV, Dinopoulos H, Tsiridis E. Bone substitutes: an update. *Injury*. 2005; 36(3): 20-7.
2. O'Keffe RJ, Tyiapatnaputi P, Xie C, Li TF, Clark C, Zuscik MJ, et al. COX-2 has a critical role during incorporation of structural bone allografts. *Ann N Y Acad Sci*. 2006; 1068: 532-42.
3. Peñarrocha-Oltra D, Demarchi CL, Maestre-Ferrín L, Peñarrocha-Diago M, Peñarrocha-Diago M. Comparison of immediate and delayed implants in the maxillary molar region: a retrospective of 123 implants. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2012; 27: 604-10.
4. Polo-Corrales L, Latorre-Esteves M, Ramirez-Vick JE. Scaffold design for bone regeneration. *J Nanosci Nanotechnol*. 2014; 14: 15-56.
5. Sommerfeldt D, Rubin C. Biology of bone and how it orchestrates the form and function of the skeleton. *Eur Spine J*. 2001; 10: 86-95.
6. Chiarello E, Cadossi M, Tedesco C, Capra P, Calamelli C, Shehu A, Giannini S. Autograft, allograft and bone substitutes in reconstructive orthopedic surgery. *Aging Clin Exp Res*. 2013; 25: 101-3.
7. Hing KA. Bone repair in the twenty-first century: biology, chemistry or engineering? *Philos Trans A Math Phys Eng Sci*. 2004; 362: 2821-50.
8. Filvaroff EH. VEGF and bone. *J Musculoskel Neuron Interact*. 2003; 3(4): 304-7.
9. Klenke FM, Liu Y, Yuan H, Hunziker EB, Siebenrock KA, Hofstetter W. Impact of pore size on the vascularization and osseointegration of ceramic bone substitutes in vivo. *J Biomed Mater Res A*. 2008; 85(3): 777-86.
10. Nery EB, LeGeros RZ, Lynch KL, Lee K. Tissue response to biphasic calcium phosphate ceramic with different ratios of HA/beta TCP in periodontal osseous defects. *J Periodontol*. 1992; 63: 729-35.
11. Ebrahimi M, Pripatnanont P, Suttapreyasri S, Monmaturapoj N. In vitro biocompatibility analysis of novel nano-biphasic calcium phosphate scaffolds in different composition ratios. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2014; 102(1): 52-61.
12. Yang C, Unursaikhan O, Lee JS, Jung UW, Kim CS, Choi SH. Osteoconductivity and biodegradation of synthetic bone substitutes with different tricalcium phosphate contents in rabbits. *J Biomed Mater Res - Part B Appl Biomater*. 2014; 102(1):80-8.

---

\* De acordo com o Guia de Trabalhos Acadêmicos da FOAr, adaptado das Normas Vancouver.

13. Kakar A, Rao BHS, Hegde S, Deshpande N, Lindner A, Nagursky H, et al. Ridge preservation using an in situ hardening biphasic calcium phosphate ( $\beta$ -TCP/HA) bone graft substitute—a clinical, radiological, and histological study. *Int J Implant Dent*. 2017; 3(1): 25.
14. Gerike W, Bienengräber V, Henkel KO, Bayerlein T, Proff P, Gedrange T, et al. The manufacture of synthetic non-sintered and degradable bone grafting substitutes. *Folia Morphol (Warsz)*. 2006; 65(1): 54–5.
15. Lee JH, Ryu MY, Baek H-R, Lee KM, Seo J-H, Lee H-K. Fabrication and evaluation of porous Beta-Tricalcium Phosphate/hydroxyapatite (60/40) composite as a bone graft extender using rat calvarial bone defect model. *Sci World J*. 2013; 2013:1–9.
16. Zhang J, Liu W, Schnitzler V, Tancret F, Bouler JM. Calcium phosphate cements for bone substitution: Chemistry, handling and mechanical properties. *Acta Biomater*. 2014; 10(3): 1035–49.
17. Ebrahimi M, Botelho MG, Dorozhkin S V. Biphasic calcium phosphates bioceramics (HA/TCP): Concept, physicochemical properties and the impact of standardization of study protocols in biomaterials research. *Mater Sci Eng C*. 2017; 71: 1293–312.
18. Saska S, Mendes LS, Gaspar AMM, Capote TSDO. Bone substitute materials in implant dentistry. In: Turkyilmaz I. *Current concepts in dental implantology*. Croatia: INTECH; 2015. p. 158-67.
19. Jensen SS, Bornstein MM, Dard M, Bosshardt DD, Buser D. Comparative study of biphasic calcium phosphates with different HA/TCP ratios in mandibular bone defects. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 2009; 90(1):171-81.
20. Lobo SE, Arinzeh TL. Biphasic calcium phosphate ceramics for bone regeneration and tissue engineering applications. *Materials (Basel)*. 2010; 3(2): 815–26.
21. Lim H-C, Zhang M-L, Lee J-S, Jung U-W, Choi S-H. Effect of different hydroxyapatite:  $\beta$ -tricalcium phosphate ratios on the osteoconductivity of biphasic calcium phosphate in the rabbit sinus model. *Int J Oral Maxillofac Implants*. 2015; 30(1): 65–72.
22. Le Guéhennec L, Layrolle P, Daculsi G. A review of bioceramics and fibrin sealant. *Eur Cell Mater*. 2004. 8: 1-10; discussion 10-1.
23. Einhorn TA. Enhancement of fracture healing. *J Bone Joint Surg Am*. 1995;77: 940-56.
24. Saska S, Barud HS, Gaspar AM, Marchetto R, Ribeiro SJ, Messaddeq Y. Bacterial cellulose-hydroxyapatite nanocomposites for bone regeneration. *Int J Biomater*. 2011; 175362.

25. Li X, Guo B, Xiao Y, Yuan T, Fan Y, Zhang X. Influences of the steam sterilization on the properties of calcium phosphate porous bioceramics. *J Mater Sci Mater Med*. 2016; 27(1): 1–10.
26. Brogginini N, Bosshardt DD, Jensen SS, Bornstein MM, Wang CC, 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 Appl Biomater*. 2015; 103(7): 1478–87.
27. Macedo RM, Lacerda SA, Okamoto R, Shahdad S, Brentegani LG. vital bone formation after grafting of autogenous bone and Biphasic Calcium Phosphate bioceramic in extraction sockets of rats: histological, histometric, and immunohistochemical evaluation. *Implant Dent*. 2018; 27(6): 615-22.
28. Fernández RF, Bucchi C, Navarro P, Beltrán V, Borie E. Bone grafts utilized in dentistry: an analysis of patients' preferences. *BMC Med Ethics*. 2015; 16(1): 71.
29. Chiapasco M, Zaniboni M, Boisco M. Augmentation procedures for the rehabilitation of deficient edentulous ridges with oral implants. *Clin Oral Implants Res*. 2006; 17(Suppl): 136–59.
30. Elgali I, Omar O, Dahlin C, Thomsen P. Guided bone regeneration: materials and biological mechanisms revisited. *Eur J Oral Sci*. 2017; 125: 315-37.
31. Chiapasco M, Zaniboni M. Clinical outcomes of GBR procedures to correct peri-implant dehiscences and fenestrations: a systematic review. *Clin Oral Implants Res*. 2009; 20(Suppl): 113-23.
32. Turri A, Elgali I, Vazirisani F, Johansson A, Emanuelsson L, Dahlin C, et al. Guided bone regeneration is promoted by the molecular events in the membrane compartment. *Biomaterials*. 2016; 84: 167-83.
33. Bottino MC, Thomas V, Schmidt G, Vohra YK, Chu TM, Kowolik MJ, Janowski GM. Recent advances in the development of GTR/GBR membranes for periodontal regeneration—a materials perspective. *Dent Mater* 2012; 28: 703–21.
34. Ignatius AA, Ohnmacht M, Claes LE, Kreidler J, Palm F. A composite polymer/tricalcium phosphate membrane for guided bone regeneration in maxillofacial surgery. *J Biomed Mater Res*. 2001; 58(5): 564-9.
35. Li WJ, Tuli R, Huang X, Laquerriere P, Tuan RS. Multilineage differentiation of human mesenchymal stem cells in a three-dimensional nanofibrous scaffold. *Biomaterials* 2005; 26: 5158–66.
36. Hakimi O, Murphy R, Stachewicz U, Hislop S, Carr AJ. An electrospun polydioxanone patch for the localisation of biological therapies during tendon repair. *Eur Cell Mater* 2012; 24: 344–57; discussion 357.

37. Saska S, Pilatti L, Silva ESS, Nagasawa MA, Câmara D, Lizier N, et al. Polydioxanone-Based membranes for bone regeneration. *Polymers (Basel)*. 2021; 13(11): 1685.
38. Rowland DCL, Aquilina T, Klein A, Hakimi O, Alexis-Mouthuy P, Carr AJ, et al. A comparative evaluation of the effect of polymer chemistry and fiber orientation on mesenchymal stem cell differentiation. *J Biomed Mater Res Part A* 2016; 104A: 2843–53.
39. Sabino MA, González S, Márquez L, Feijoo JL. Study of the hydrolytic degradation of polydioxanone PPDx. *Polym Degrad Stab*. 2000; 69(2): 209–16.
40. Goonoo N, Jeetah R, Bhaw-Luximon A, Jhurry D. Polydioxanone-based biomaterials for tissue engineering and drug/gene delivery applications. *Eur J Pharm Biopharm*. 2015; 97: 371-91.