

**UNIVERSIDADE PAULISTA- UNIP  
PROGRAMA DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DO USO DE NANOESFERAS DE  
POLY (I-LACTIDE-CO-GLYCOLIDE) CONTENDO  
DOXICICLINA COMO ADJUNTO AO  
TRATAMENTO DA PERIODONTITE CRÔNICA:  
ESTUDO CLÍNICO E ENZIMÁTICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Odontologia da Universidade  
Paulista - UNIP para obtenção do título de mestre  
em Odontologia.

**RENATA DE CÁSSIA GOMES CAMACHO**

**SÃO PAULO**

**2015**

**UNIVERSIDADE PAULISTA- UNIP**  
**PROGRAMA DE MESTRADO EM ODONTOLOGIA**

**AVALIAÇÃO DO USO DE NANOESFERAS DE  
POLY (I-LACTIDE-CO-GLYCOLIDE) CONTENDO  
DOXICICLINA COMO ADJUNTO AO  
TRATAMENTO DA PERIODONTITE CRÔNICA:  
ESTUDO CLÍNICO E ENZIMÁTICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-  
Graduação em Odontologia da Universidade  
Paulista - UNIP para obtenção do título de mestre  
em Odontologia.

Orientadora:  
Profa. Dra. Suzana Peres Pimentel

**RENATA DE CÁSSIA GOMES CAMACHO**

**SÃO PAULO**

**2015**

Camacho, Renata de Cássia Gomes.

Avaliação do uso de nanoesferas de Poly (I-Lactide-Co-Glycolide) contendo doxiciclina como adjunto ao tratamento da periodontite crônica : estudo clínico e enzimático / Renata de Cássia Gomes Camacho. - 2015.  
17 f. : il. + CD-ROM.

Dissertação de Mestrado Apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista, São Paulo, 2015.

Área de Concentração: Clínica Odontológica.  
Orientadora: Prof.<sup>a</sup> Dra. Suzana Peres Pimentel.

1. Doxiciclina. 2. Nanoesferas. 3. Periodontite crônica.  
I. Pimentel, Suzana Pires (orientadora). II. Título.

**RENATA DE CÁSSIA GOMES CAMACHO**

**AVALIAÇÃO DO USO DE NANOESFERAS DE  
POLY (I-LACTIDE-CO-GLYCOLIDE) CONTENDO  
DOXICICLINA COMO ADJUNTO AO  
TRATAMENTO DA PERIODONTITE CRÔNICA:  
ESTUDO CLÍNICO E ENZIMÁTICO**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Odontologia da Universidade Paulista - UNIP para obtenção do título de mestre em Odontologia.

Aprovado em:

**BANCA EXAMINADORA**

---

Profa. Dra. Suzana Peres Pimentel (Orientadora)  
Universidade Paulista – UNIP

---

Prof. Dr. Márcio Zaffalon Cassati  
Universidade Paulista – UNIP

---

Profa. Dra Karina Teixeira Villalpando  
Pontifícia Universidade Católica – PUC

## **DEDICATÓRIA**

Dedico este trabalho aos meus pais, José Daniel Gomes Camacho e Sueli Penha de Oliveira Camacho, à minha irmã, Helena Cristina Gomes Camacho, e ao meu noivo, Bruno Solino César, que com muito amor, carinho e paciência acompanham a minha jornada profissional e a execução deste projeto, incentivando-me a seguir em frente, rumo à realização dos meus sonhos.

## AGRADECIMENTOS

Primeiramente, agradeço a Deus a vocação para esta profissão que tanto amo e admiro.

À Universidade Paulista, que ofereceu as ferramentas necessárias para a execução de toda a pesquisa.

À inesquecível e admirável equipe de Periodontia, que me acompanha desde a Graduação, seguida pela Especialização, e me fez concretizar esta nova fase com a certeza de que, além de renomados periodontistas que são, me permitiram adquirir durante 24 meses o aprendizado de ser tanto uma periodontista mais qualificada como de me tornar uma mulher melhor. Serei grata infinitamente a todos vocês por terem contribuído para a minha maturidade.

Faço um agradecimento especial a três grandes mestres, minha orientadora professora Suzana, professor Renato e professor Márcio; a primeira teve a paciência, o carinho e até as broncas de uma mãe, o segundo demonstrou o porquê de ter o título de professor e saber aplicar uma didática espetacular, e o terceiro me mostrou que a “sombra do leão muitas vezes era maior que o leão de fato”. Vocês foram a bússola necessária no momento de desespero.

À Michele do laboratório, que virou uma amiga e teve participação importantíssima nas análises.

À Fernanda da secretaria da pós- graduação, que com seu jeito doce sempre esteve prestativa para ajudar qualquer que fosse a dúvida.

À Giovana, minha parceira, minha amiga companheira, sua fé inabalável foi o meu pilar, seu caráter íntegro e materno me acolheu, me protegeu. Vou levar você por essa vida e por todas as que nos cruzarmos novamente.

À Bruna, seu comprometimento é um exemplo a ser seguido, sua doçura e carinho jamais serão esquecidos. Sem vocês eu não conseguiria, definitivamente.

Aos pacientes que me permitiram executar o tratamento proposto.

À equipe da Profa. Dra. Eliane Duek pela produção das nanoesferas e me permitiu adentrar nesse incrível mundo da nanotecnologia.

Finalizando, agradeço àqueles que me deram a vida, meu pai pela sua sabedoria, minha mãe pela sua ternura e inteligência; minha irmã querida pelas mensagens de ânimo e carinho; ao meu noivo amado pela paciência durante os infinitos momentos de nervosismo e decepção; aos amigos pela compreensão nas minhas ausências. Vocês todos me reergueram quando me achei incapaz.

*Às vezes ouço passar o vento; e só de  
ouvir o vento passar, vale a pena ter nascido.*

*Fernando Pessoa*

## RESUMO

A terapia mecânica com raspagem e alisamento radicular é um tratamento bem estabelecido para a descontaminação da superfície radicular dos dentes acometidos pela doença periodontal, porém existem sítios com prognósticos desfavoráveis ao tratamento convencional, e, neste caso os antibióticos sistêmicos e locais, com o auxílio de novas tecnologias, são possíveis coadjuvantes. O presente estudo avaliou clinicamente o uso de nanoesferas de Poly (L-lactide-co-glycolide) (PLGA) contendo doxiciclina 2% no tratamento de indivíduos que apresentam periodontite crônica severa. Para tanto, 43 indivíduos com diagnóstico de periodontite crônica (mínimo de 10 sítios/PS  $\geq 5$  mm e 2 sítios com PS  $\geq 7$  mm) foram divididos e tratados em 3 grupos: PLGA+Placebo (N=15), tratados por meio de *Full Mouth Ultrasonic Debridement* (FMUD) + aplicação de nanoesferas de PLGA placebo; PLGA+Doxi (N=13), tratados por meio de FMUD + aplicação de nanoesferas de PLGA contendo doxiciclina 2%, e Doxi Líquida (N=15), tratados por meio de FMUD+aplicação de doxiciclina 2% líquida. Avaliações clínicas foram realizadas no *baseline*, 1, 3 e 6 meses, para os seguintes parâmetros clínicos: Índice de Placa (IP), Índice de Sangramento (IS), Profundidade de Sondagem (PS), Posição da Margem Gengival (PMG) e Nível de Inserção Clínica (NIC). No *baseline* e após 1, 3 e 6 meses foram feitas coletas do fluido peri-implantar para avaliação dos níveis IFN- $\gamma$ , IL-1- $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-17, IL-10, TNF- $\alpha$ , pela técnica Luminex/MAGpix. Para comparação dos parâmetros clínicos foram utilizados os testes Kruskal-Wallis/Friedman ou ANOVA/Tukey ( $\alpha=5\%$ ) e para a comparação entre os níveis de cada marcador nos diferentes tempos de avaliação foi utilizado o teste de Friedman ( $\alpha=5\%$ ). Todos os tratamentos trouxeram benefícios aos indivíduos; em bolsas profundas, aos 3 meses de avaliação, a PS do grupo PLGA+Doxi (3,5mm $\pm$ 1,0mm) teve os melhores resultados com diferença estatística, quando comparado aos grupos Doxi Líquida (4,3mm $\pm$ 1,2mm) e PLGA+Placebo (4,3mm $\pm$ 1,3mm), e aos 6 meses de avaliação essas diferenças não se mantiveram. Quanto ao NIC, o grupo PLGA+Doxi (4,3mm $\pm$ 1,1mm/4,1mm $\pm$ 0,9mm) se mostrou melhor estatisticamente no primeiro mês e aos 3 meses, quando comparado ao grupo Doxi Líquida (5,2mm $\pm$ 1,1mm/4,9mm $\pm$ 0,9mm) e PLGA+Placebo (6,3mm $\pm$ 2,0mm/6,6mm $\pm$ 2,2mm), porém, aos 6 meses não houve diferença entre os grupos. Observou-se um aumento de marcadores anti-inflamatórios (IL-4, IL-10) no grupo PLGA+Doxi no 6º mês e uma redução nas citocinas pró-inflamatórias (IFN $\gamma$ ; IL-1b) apenas no grupo PLGA+Doxi no 1º mês e aumento na concentração de TNF- $\alpha$  no 3º mês após o no grupo PLGA+Placebo. Dentro dos limites do estudo, podemos concluir que a doxiciclina liberada através de nanoesferas é efetiva, em curto prazo, no tratamento coadjuvante da periodontite crônica.

**Palavras-Chave:** Doxiciclina. Nanoesferas. Periodontite crônica.

## ABSTRACT

Mechanical therapy with scaling and root planing it is established treatment for decontamination of the root surface of affected teeth by periodontal disease, but there are sites with unfavorable outcomes to conventional treatment and the use of systemic and local antibiotics with new technologies are possible supporting. The present study evaluated clinically and immunologically using nanospheres Poly (L-Lactide-Co-Glycolide) (PLGA) containing 2% of doxycycline in the treatment of subjects with severe chronic periodontitis. 43 subjects were selected (minimum of 10 sites /  $PD \geq 5$  mm and 2 sites with  $PD \geq 7$  mm) were divided into 3 groups and treated: PLGA+Placebo (N=15) treated by *Full Mouth Ultrasonic Debridement* (FMUD) + PLGA nanospheres application placebo; PLGA+Doxy (N=13) treated by FMUD + PLGA nanospheres containing doxycycline 2% and Doxy Solution (N = 15) treated by FMUD+application of doxycycline 2% liquid. Clinical assessments were performed at *baseline*, 1, 3 and 6 months for the following clinical parameters: Bleeding on Probing (BOP), Probing Depth (PD), Clinical Attachment Level (CAL) and Gingival Margin Position (GMP). At *baseline*, 1, 3 and 6 months samples were taken from the peri-implant fluid for evaluation of IFN- $\gamma$  levels, IL-1- $\beta$ , IL-4, IL-6, IL-8, IL-17, IL-10, TNF- $\alpha$ , by Luminex/Magpix assay. To compare the clinical parameters were used the Kruskal-Wallis tests/Friedman or ANOVA/Tukey ( $\alpha = 5\%$ ). PD in deep pockets, at 3 months follow up, PLGA+Doxy (3.5mm $\pm$ 1.0mm) had the best results with significant statistically differences between Doxi Solution (4.3mm $\pm$ 1.2mm) and PLGA+Placebo (4.3mm $\pm$ 1.3mm) therefore at the 6 months these differences did not occur. For CAL in 1 and 3 months of evaluation, PLGA+Doxy group showed statistically better results than the Doxi Solution and PLGA+Placebo groups, however at 6 months there was no difference between groups. It was observed an increased of anti inflammatory markers (IL-4; IL-10) in PLGA+Doxy group at 6<sup>th</sup> month and a reduction in cytokines pro-inflammatory (IFN $\gamma$ ; IL-1b) only at PLGA+Doxy group at 1<sup>st</sup> month and TNF-a concentration increased at 3<sup>rd</sup> month in PLGA+Placebo group. PLGA+Doxy nanospheres in short-term may be considered a potential adjunctive therapy in chronic periodontitis treatment offering advantages in clinical and immunological parameters, especially in deep pockets.

**Keywords:** Doxycycline, Nanospheres, Chronic Periodontitis

## SUMÁRIO

<b>INTRODUÇÃO .....</b>	<b>10</b>
<b>CONCLUSÃO GERAL .....</b>	<b>13</b>
<b>REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO .....</b>	<b>38</b>

## INTRODUÇÃO

O fator etiológico primário da doença periodontal é a placa bacteriana, resultando na progressão da inflamação dos tecidos de suporte<sup>1</sup>. A periodontite crônica é uma doença infecciosa multifatorial associada a anaeróbios gram-negativos presentes na microflora subgingival<sup>2</sup>. Clinicamente, observa-se que indivíduos com periodontite crônica apresentam acúmulo de placa supra e subgingival, inflamação gengival com posterior formação de bolsa, juntamente com perda de inserção e, ocasionalmente, sítios supurados<sup>3</sup> e perda óssea, observada radiograficamente<sup>4</sup>.

O diagnóstico diferencial da periodontite crônica é baseado na idade do paciente, taxa de progressão da doença em relação ao tempo e quantidade de fatores locais presentes<sup>2</sup>, sendo dividida em leve, moderada e severa; e os fatores retentivos de placa são importantes desencadeadores, uma vez que podem dificultar a remoção do biofilme durante a escovação.

A terapia periodontal visa à biocompatibilização da superfície radicular por meio da remoção do biofilme dental com raspagem e alisamento radicular (RAR), juntamente com controle de placa. Esses procedimentos possibilitam o restabelecimento da saúde periodontal<sup>5,6</sup>. Recentemente, estudos demonstraram que indivíduos podem ser tratados pelo tradicional esquema de raspagem em quadrantes ou pelo protocolo de “*Full Mouth Ultrasonic Debridement*” (FMUD), que é um tratamento caracterizado pela raspagem de todos os dentes da cavidade bucal em um único procedimento, através de instrumentação ultrassônica em uma única sessão. Este esquema terapêutico apresenta resultados tão bons quanto o esquema convencional de raspagem<sup>7,8,9</sup>.

Entretanto, alguns sítios podem não responder adequadamente ao tratamento devido à presença de bolsas periodontais profundas e limitações anatômicas que dificultam o acesso à instrumentação e ao controle de placa<sup>10,11</sup>. Desse modo, estratégias terapêuticas farmacológicas coadjuvantes à terapia mecânica, como o uso de medicações antimicrobianas locais e sistêmicas, podem promover benefícios clínicos e microbiológicos<sup>12,13,14</sup>.

A literatura mostra que antibióticos sistêmicos coadjuvantes à terapia mecânica podem melhorar os resultados clínicos<sup>14</sup>. Os mais comumente utilizados são as penicilinas e as tetraciclina, que produzem resultados favoráveis no tratamento da periodontite agressiva quando se associa a amoxicilina ao metronidazol<sup>15</sup>. O uso de antimicrobianos com atuação local também apresenta relevância em sítios que respondem de maneira desfavorável à RAR,

pois permite que o fármaco seja colocado no interior do sítio de modo a liberar a medicação, não produzindo nenhum efeito adverso sistêmico<sup>16,17,18,19,20</sup>. Revisões sistemáticas têm demonstrado efeito benéfico significativo no uso de antimicrobianos locais como coadjuvantes na RAR, quando comparado a estudos com RAR somente<sup>21</sup>.

Fibras de vinil acetato etileno contendo tetraciclina foram precursoras na atuação local, em sítios com periodontite crônica, demonstrando significativo ganho de inserção clínico<sup>22,23</sup>. Estudos avaliaram a aplicação local de diversos agentes antimicrobianos, como gel de metronidazol, discos de clorexidina ou gel de doxiciclina 10%, que não apresentaram benefícios adicionais à RAR<sup>24,25,26,27,28</sup>, devido ao sistema de liberação da medicação na bolsa periodontal, à dificuldade de penetração e manutenção, ou à rápida e curta liberação das drogas antimicrobianas, cuja ação sobre os microrganismos resultou inadequada ou insuficiente<sup>29</sup>.

Portanto, o uso de outras formas de liberação para manutenção dos agentes microbianos dentro dos sítios pode gerar benefícios adicionais aos tratamentos da doença periodontal. Um dos antimicrobianos de grande interesse terapêutico atual é a doxiciclina, derivada da tetraciclina, com amplo espectro contra anaeróbios gram-positivos e gram-negativos, incluindo organismos relacionados à etiologia da doença periodontal<sup>30,31</sup>. Ela inibe a síntese proteica dos microrganismos e, mesmo em doses sub-antimicrobianas, apresenta algumas características importantes para o processo de doença periodontal, como inibição de metaloproteinases (MMPs)<sup>4,32,33,34</sup>, inibição da degranulação de células polimorfonucleares (PMN)<sup>32,35</sup>, aumento da produção de TGFβ13<sup>36</sup>, redução da destruição do colágeno e reabsorção do osso alveolar<sup>37</sup>.

Sistemicamente, a doxiciclina é administrada a partir de doses sub-antimicrobianas via oral (2x/dia durante 3 meses), através de tabletes contendo 20mg de doxiciclina (Periostat®), atuando de maneira coadjuvante à RAR em indivíduos com periodontite crônica, sendo observada a inibição da colagenase, com resultados clínicos de ganho de inserção melhores do que no grupo controle<sup>25</sup>. Localmente, a doxiciclina administrada em forma de gel (Atridox® / Hiclato de Doxiciclina 10% gel) demonstrou eficácia na redução da PS (0,9±1,3mm) e ganho de NIC (0,7±0,8mm), num estudo paralelo comparativo<sup>38,30,39,40</sup>.

Atualmente, com os avanços da nanotecnologia, o desenvolvimento de um sistema de liberação controlada de drogas baseado nesta tecnologia visa permitir a penetração e a manutenção da concentração ativa da medicação no interior do sítio afetado, através da

introdução de nanoesferas de PLGA (l-Lactide-Co-Glycolide) e da incorporação de antibióticos contendo doxiciclina 2%, adicionando benefícios ao tratamento da periodontite crônica<sup>41,42,43,44</sup>.

Dessa forma, o presente estudo visa avaliar clinicamente e imunologicamente o uso das nanoesferas de PLGA contendo doxiciclina 2% no tratamento adjunto da periodontite crônica.

## **CONCLUSÃO GERAL**

Apesar de suas limitações, este estudo permite concluir que a aplicação local de nanoesferas PLGA Poly (I-Lactide-Co-Glycolide) contendo doxiciclina 2%, em curto prazo, pode ser considerada uma terapia coadjuvante potencial no tratamento de periodontite crônica, oferecendo resultados favoráveis aos parâmetros clínicos, especialmente nas bolsas profundas.

## REFERÊNCIAS DA INTRODUÇÃO

1. Chatuverdi TP, Srivastava R, Srivastava AK, Gupta V, Verma PK. Doxycycline poli e-caprolactone nanofibers in patients with chronic periodontitis-a clinical evaluation. *J Clin Diagn Res* 2013 Oct;7(10):2339-42.
2. Abba M, Acosta A, Arévalo A, Aristizabal F, Gamboa F, Garcia DA, Martinez D, Mizrahi D. Presence and antimicrobial profile of gram-negative facultative anaerobe rods in patients with chronic periodontitis and gingivitis. *Acta Odontol Latinoam* 2013; 26(1): 24-30.
3. Novák L, Strnad L. The results of therapy for chronic periodontitis II. Effects of some biological and therapeutic factor. *Cesk Stomatol* 1969 Mar; 69(2):109-18.
4. Kumar RS, Prakash S. Impaired neutrophil and monocyte chemotaxis in chronic and aggressive periodontitis and effects of periodontal therapy. *Indian J Dent Res* 2012 Jan-Feb; 23(1): 69-74.
5. Lebendiger M, Manor A, Shifer A, Tovel H. Bacterial invasion of periodontal tissues in advanced periodontitis in humans. *J Periodontol* 1984 Oct; 55 (10): 567-73.
6. Waerhaug J. Healing of the dento-epithelial junction following subgingival plaque control. II: As observed on extracted teeth. *J Periodontol* 1978 Mar;49(3):119-34.
7. Ueda PH, Casati MZ, Casarin RC, Pera C, Pimentel SP, Cirani FR. Supportive periodontal treatment and Full-Mouth Ultrasonic Debridement: a randomized controlled clinical trial. *Oral Health Prev Dent* 2014 Mar (Epub ahead of print)
8. Apatzidou DA, Zygogianni P, Sakellari D, Konstandinidis A. Oral hygiene reinforcement in the simplified periodontal treatment of 1 hour. *J Clin Periodontol* 2014 Feb;41(2):149-56.
9. Cirano FR, Pera C, Ueda P, Casarin RC, Ribeiro FV, Pimentel SP, Casati MZ. Clinical and metabolic evaluation of one-stage, full mouth, ultrasonic debridement as a therapeutic approach for uncontrolled type 2 diabetic patients with chronic periodontitis. *Quintessence Int* 2012 Sep; 43(8): 671-81.
10. Greenstein G. Nonsurgical periodontal therapy in 2000: a literature review. *J Am Dent Ass* 2000; 131:1580-1592.
11. Cafesse RG, Sweeney PL, Smith BA. Scalloping and root planning with and without periodontal flap surgery. *J Clin Periodontol* 1986;13;205:210.
12. Emingil G, Atilla G, Sorsa T, Luoto H, Kirilmaz L, Baylass H. The effect of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase 8-levels in chronic periodontitis. *J Periodontol* 2004Jan;75(1):106-15.

13. Quirynen M, Teughls W, De Soete M, Steenberghe D. Topical antiseptics and antibiotics in the initial therapy of chronic adult periodontitis: microbiological aspects. *Periodontology* 2000. 2002;28;72:90.
14. Haffajee AD, Socransky SS, Gunsolley J. Systematic anti-infective periodontal therapy. A systematic review. *Annals of Periodontology* 2003;8:115-81.
15. Keestra JAJ, Grosjean I, Coucke W, Quirynen M, Teughels W. Non- surgical periodontal therapy with systematic antibiotics in patients with untreated chronic periodontitis: a systematic review and meta-analysis. *J Periodontal Res* 2014; Aug doi 10.1111/jre 12221.
16. Rams TE, Slots J. Local delivery of antimicrobial agents in the periodontal pocket. *Periodontol* 2000.1996 Feb;10:139-59
17. Martins RS, Moreira MM, Muniz FW, de Oliveira CC, de Moraes ME, de Sousa Carvalho. Azithromycin: a new concept in adjuvant treatment of periodontitis. *Eur J Pharmacol* 2013 Apr 5; 705(1-3): 135-9.
18. Pârvu AE, Alb SF, Crăciun A, Taulescu MA. Efficacy of subantimicrobial-dose doxycycline against nitrosative stress in chronic periodontitis. *Acta Pharmacol Sin* 2013 Feb;34(2):247-54. doi: 10.1038/aps.2012.129. Epub 2012 Nov 12.
19. Socransky SS, Haffajee AD, Teles R, Wennstrom JL, Lindhe J, Bogren A, Hasturk H, Van Dyke T, Wang X, Goodson JM. Effect of periodontal therapy on the subgingival microbiota over a 2-year monitoring period.I. Overall effect and kinetics of change. *J Clin Periodontol* 2013. Aug; 40(8):771-80.
20. Bonito AJ, Lux L, Lohr KN. Impact of local adjuncts to scaling and root planing in periodontal disease therapy: systematic review. *J Periodontol* 2005;76:1227-1236
21. Matesanz-Pérez P, Garcia-Gargallo M, Figuero E, Bascones-Martinez A, Sanz M, Herrera D. A systematic review on the effects of local antimicrobials s adjuncts to subgingival debridement, compared with subgingival debridement alone, in the treatment of chronic periodontitis. *J Clin Periodontol* 2013;40:227-241.
22. Goodson JM, Haffajee AD, Socransky SS, Kent R, Teles R, Haturk H, Bogren A, Van Dyke T, Wennstrom J, Lindhe J. Control of periodontal infections: a randomized controlled trial I. The primary outcome attachment gain and pocket depth reduction at treated sites. *J Clin Periodontol* 2012 Jun;39(6): 526-36.
23. Yelein F, Demirel K, Onan U. Evaluation of adjunctive tetracycline fiber therapy with scaling and root planing: short -term clinical results. *Periodontol Clin Invest* 1999;21:23-27.
24. Srivastava R. Chlorhexidine chip and tetracycline fibers as adjunct to scaling and root planing – A clinical study. *Braz J Oral Sci* 2009; 8(4): 201- 205.

25. Górska R, Nédzi Gorá M, The effects of the initial treatment phase and of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and MMP-8, MMP-9, and TIMP-1 levels in the saliva and peripheral blood of patients with chronic periodontitis. *Arch Immunol Ther Exp.*, Nov 2006, 54: 419–426.
26. Barbanti SH, Santos AR Jr, Zavaglia CA, Duek EA. Porous and dense poly(L-lactic acid) and poly (D,L-lactic acid-co-glycolic acid) scaffolds: in vitro degradation in culture medium and osteoblasts culture. *J Mater Sci Mater Med* 2004 Dec;15(12):1315-21.
27. Salvi GE, Collins JG, Yalda B, Arnold RR, Lang NP, Offenbacher S Monocytic TNF alpha secretion patterns in IDDM patients with periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1997a; 24:8-16.
28. Tomasi C, Koutouzis T, Wennstrom JL. Locally delivered doxycycline as an adjunct to mechanical debridement at retreatment of periodontal pockets. *J Periodontol* 2008;79(3):431-9.
29. Bogren A, Teles RP, Torresyap G, Haffajee AD, Socransky SS, Wennstrom JL. Locally delivered doxycycline during supportive periodontal therapy: a 3-year study. *J Periodontol* 2008;79(5):827-35.
30. Garrett S, Johnson L, Drisko CH, Adams DF, Bandt C, Beiswanger B, et al. Two 9 Months multicenter studies evaluating locally delivered doxycycline hyclate 8.5%, placebo control oral hygiene and scaling and root planing in the treatment of periodontitis. *J Periodontol* 1999;70:490-503.
31. Walker CB, Godowsky KC, Borden L, Lennon J, Nango S, Stone C, Garret S. The effect of sustained release doxycycline on the anaerobic flora and antibiotic resistant patterns in subgingival plaque and saliva. *J Periodontol* 2000;71:768-774.
32. Burggraf D, Trinkl A, Dichgans M, Hamann GF. Doxycycline inhibits MMPs via modulation of plasminogen activators in focal cerebral ischemia. *Neurobiol Dis* 2007;25(3):506-13.
33. Fiotti N, Altamura N, Moretti M, Wassermann S, Zacchigna S, Farra R, Dapas B, Consoloni L, Giacca M, Grassi G et al. Short term effects of doxycycline on matrix metalloproteinases 2 and 9. *Cardiovasc Drugs Ther* 2009;23(2):153-9.
34. Gapski R, Hasturk H, Van Dyke TE, Oringer RJ, Wang S, Braun TM, Giannobile WV. Systemic MMP inhibition for periodontal wound repair: results of a multi-centre randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol* 2009;36(2):149-56.
35. Agan S, Sonmez S, Serdar M. The effect of topical doxycycline usage on gingival crevicular fluid MMP-8 levels of chronic and aggressive periodontitis patients: a pilot study. *Int J Dent Hygiene* 2006;4:114-121.

36. Lee HM, Ciancio SG, Tuter G, Ryan ME, Komaroff E, Golub LM. Subantimicrobial dose doxycycline efficacy as a matrix metalloproteinase inhibitor in chronic periodontitis patients is enhanced when combined with a non-steroidal anti-inflammatory drug. *J Periodontol* 2004;75(3):453-63.
37. Gurkan A, Emingil G, Cinarcik S, Berdeli A. Post-treatment effects of subantimicrobial dose doxycycline on clinical parameters and gingival crevicular fluid transforming growth factor-beta1 in severe, generalized chronic periodontitis. *Int J Dent Hyg* 2008;6(2):84-92.
38. Polson AM, Garret S, Stoller NH, Brandt CL, Hanes PJ, Killov WJ, Southard GL, Duke SP, Bogle GC, Drisko CH, Friesen LR. Multicenter comparative evaluation of subgingivally delivered sanguinarine and doxycycline in the treatment of periodontitis. Clinical results. *J Periodontol* 1997b;68:119-126
39. Machion L, Andia DC, Lecio G, Nociti FH, Casati MZ, Sallum AW, Sallum EA. Locally delivered doxycycline as an adjunctive therapy to scaling and root planing in the treatment of smokers a 2-year follow-up. *J Periodontol* 2006;77:603-613.
40. Machion L, Andia DC, Benati BB, Carvalho MD, Nogueira-Filho G, Casati MZ, Nociti FH, Sallum AW, Sallum EA. Locally delivered doxycycline as an adjunctive therapy to scaling and root planing in the treatment of smokers: a clinical study. *J Periodontol* 2004;75:464-469.
41. Pietro L, Silva DR, do Carmo Alberto-Rincon M, Duek EA. The microscopical characterization of membranes poly (L-glycolic-co-lactic acid) with and without added plasticizer: an in vivo study. *J Mater Sci Mater Med* 2008 Mar;19(3):1069-74.
42. Wennström JL, Newman HN, MacNeill SR, Killoy WJ, Griffiths GS, Gillam DG, et al. Utilization of locally delivered doxycycline in non surgical treatment of chronic periodontitis, a comparative multicenter trial of two treatment approaches. *J Clin Periodontol* 2001;28:753-61.
43. Coraça DC, Duek EA, Padovani CA, Camilli JA. Osteointegration of poly(L: -lactic acid) PLLA and poly(L: -lactic acid) PLLA/poly(ethylene oxide) PEO implants in rat tibiae. *J Mater Sci Mater Med* 2008 Jul;19(7):2699-704.
44. Barbanti SH, Santos AR Jr, Zavaglia CA, Duek EA. Porous and dense poly(L-lactic acid) and poly(D,L-lactic acid-co-glycolic acid) scaffolds: in vitro degradation in culture medium and osteoblasts culture. *J Mater Sci Mater Med* 2004 Dec;15(12):1315-21.