

**COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LIBERACIÓN DE SIMVASTATINA
Y ROSUVASTATINA EN DOS MEMBRANAS DE COLÁGENO**

**COMPARISON OF THE RELEASE CAPACITY OF SIMVASTATIN AND
ROSUVASTATIN ON TWO COLLAGEN MEMBRANES**

Autores:

Valentina Ortiz Montañez: Odontóloga, estudiante de postgrado de periodoncia.

Jhon Esneider Ramírez Muñoz: Odontólogo, estudiante de postgrado de periodoncia.

Hernán Santiago Garzón Vergara: Odontólogo especialista en periodoncia y pedagogía, Magister en Bioingeniería.

COMPARACIÓN DE LA CAPACIDAD DE LIBERACIÓN DE SIMVASTATINA Y ROSUVASTATINA EN DOS MEMBRANAS DE COLÁGENO

En los enfoques actuales de modulación del sistema inmune para el tratamiento de la periodontitis, los medicamentos inmunoreguladores son ampliamente estudiados, incluidas las estatinas cuya administración local genera mejoría en variables clínicas. Los vehículos para liberación controlada de medicamentos aún presentan un reto porque las condiciones del medio oral hacen que puedan degradarse o eliminarse. El uso de membranas colágenas (MC) puede ser un vehículo de liberación sostenida de medicamento. **Objetivo:** Comparar la liberación de simvastatina (SVT) y rosuvastatina (RVT) en dos membranas colágenas cuando se impregnan con 6, 10 y 20 ug/ml a 6, 12 y 24 h utilizando cromatografía líquida HPLC. **Metodología:** Estudio experimental *in vitro*. Disolución de las concentraciones de SVT y RVT en metilcelulosa. Impregnación por inmersión directa en las membranas de colágeno Biomend® y Bioguide® de 2 x 2 mm. Colocación en buffer fosfato pH 7.4 con agitación constante de 50 rpm usando el Shacker Heidolph Unimax 1010. Se tomaron las alícuotas del sobrenadante a 6, 12 y 24 horas y se leyeron en el cromatógrafo KNUARE®. **Resultados:** El pico de liberación se da a las 6 horas en las dosis de 10 y 20 ug/ml en las dos membranas, no se detecta el medicamento a las 12 o 24 horas ni en la dosis de 6 ug/ml. La membrana Biomend® libera en una mayor cantidad el medicamento comparada con Bioguide®. El medicamento Rosuvastatina tiene una menor liberación. Entre el 10-15% del medicamento se queda impregnado en la membrana. **Conclusión:** La capacidad de liberación de MC para los medicamentos STV y RTV es limitada a las 6 horas por el método de impregnación en dosis de 10 y 20 ug/ml, sin liberarse una dosis completa.

Palabras clave: Periodontitis, Simvastatina, Rosuvastatina, Membranas de colágeno.

COMPARISON OF THE RELEASE CAPACITY OF SIMVASTATIN AND ROSUVASTATIN ON TWO COLLAGEN MEMBRANES

In current approaches to modulating the immune system for treating periodontitis, immunoregulatory drugs are widely studied, including statins whose local administration improves clinical variables. Vehicles for the controlled release of drugs still present a challenge because the conditions of the oral environment mean that they can be degraded or eliminated. The use of collagen membranes (CM) can be a vehicle for sustained drug release. **Objective:** Compare the release of simvastatin (SVT) and rosuvastatin (RVT) in two collagen membranes when impregnated with 6, 10 and 20 ug/ml at 6, 12 and 24 h using HPLC liquid chromatography. **Methodology:** *In vitro* experimental study. Dissolution of SVT and RVT concentrations in methylcellulose. Impregnation by direct immersion in 2 x 2 mm Biomend ® and Bioguide ® collagen membranes. Placement in phosphate buffer pH 7.4 with constant stirring at 50 rpm using the Heidolph Unimax 1010 Shacker. Aliquots of the supernatant were taken at 6, 12 and 24 hours and read on the KNUARE ® chromatograph. **Results:** The release peak occurs at 6 hours in the doses of 10 and 20 ug/ml in the two membranes, the drug is not detected at 12 or 24 hours or in the dose of 6 ug/ml. The Biomend ® membrane releases a greater amount of medication compared to Bioguide ®. The drug Rosuvastatin has a lower release. Between 10-15% of the medication remains impregnated in the membrane. **Conclusion:** The MC release capacity for STV and RTV drugs is limited to 6 hours by the impregnation method, without releasing a full dose.

Keywords: Periodontitis, Simvastatin, Rosuvastatin, Collagen membranes

1. Introducción

La enfermedad periodontal es una enfermedad inflamatoria crónica multifactorial ligada a una biopelícula en estado disbiótico, caracterizada por la destrucción progresiva del soporte dental (encía, hueso, cemento y el ligamento periodontal). La periodontitis tiene como características principales la pérdida de inserción clínica y de la cresta alveolar, bolsas periodontales y sangrado al sondaje (1-3). Según el Global Burden of Disease (2017) se informó que la enfermedad periodontal severa fue la sexta afección más prevalente entre 354 enfermedades sistémicas (2). Se estima que la prevalencia de la enfermedad periodontal afecta a entre 20% y 50% de habitantes en el mundo (4-6). También se documentó que la enfermedad periodontal aumenta con la edad desde la adolescencia hasta los adultos mayores teniendo un impacto directo en la calidad de vida (7,8).

Las estatinas son un grupo de medicamentos utilizados comúnmente para controlar los niveles de colesterol, han mostrado efectos prometedores en el tratamiento de la periodontitis al reducir la inflamación y promover la regeneración del tejido (9-12). Sin embargo, uno de los desafíos para el uso efectivo de las estatinas en el tratamiento de la periodontitis es la falta de un vehículo eficaz para administrar el medicamento en el surco gingival, donde ejerce su acción terapéutica (13).

Las estatinas son medicamentos ampliamente utilizados en el tratamiento de las enfermedades cardiovasculares, pero investigaciones recientes han sugerido que también pueden desempeñar un papel beneficioso en el tratamiento de la periodontitis y la cicatrización de heridas, especialmente la simvastatina y rosuvastatina (14-16). Estudios han demostrado que las estatinas pueden reducir la inflamación y la destrucción de los tejidos gingivales causados por la enfermedad periodontal. Además, se ha observado que

estos medicamentos pueden inhibir el crecimiento de bacterias periodontopatógenas, lo que contribuye a promover salud gingival (11,16,20).

La administración del medicamento en el surco gingival presenta varios desafíos a tener en cuenta. En primer lugar, uno de los principales obstáculos es la dificultad de acceso al área afectada, porque el surco gingival es una pequeña hendidura entre el diente y la encía, lo que dificulta la aplicación precisa del medicamento. Además, la forma en que el medicamento se introduce en el surco gingival también puede ser un desafío. Los métodos actuales de administración incluyen el uso de sondas y jeringas, pero su precisión y eficacia son limitadas (17). Otro desafío importante es la duración y frecuencia de la administración del medicamento. Para que sea efectivo, el medicamento debe aplicarse regularmente y durante un período prolongado de tiempo debido al barrido por la saliva o por el fluido crevicular. Actualmente, no existe un vehículo óptimo que garantice una administración precisa y controlada del medicamento en cavidad oral. Estos desafíos en la administración del medicamento en el surco gingival deben seguirse investigando para mejorar el tratamiento de la periodontitis y maximizar los beneficios de las estatinas en este contexto clínico (18).

Los métodos de administración existentes para las estatinas en el tratamiento de la periodontitis presentan varias limitaciones. Uno de los principales desafíos es la dificultad para lograr una distribución uniforme del medicamento en el surco gingival. Los métodos actuales, como enjuagues o geles tópicos, pueden no ser capaces de alcanzar todas las áreas afectadas de la boca, lo que resulta en una falta de eficacia en el tratamiento (9,10), además de requerir un gran compromiso del paciente, lo que dificulta su cumplimiento. Otro problema es la corta duración de acción de las estatinas cuando se administran de forma convencional, lo que implica la necesidad de aplicaciones frecuentes para mantener un efecto terapéutico. Estas limitaciones destacan la necesidad de desarrollar un vehículo

eficaz que permita una administración más precisa, uniforme y prolongada de las estatinas en el surco gingival (18).

Por lo tanto, es necesario explorar nuevos vehículos eficaces que permita administrar las estatinas directamente en el surco gingival. En este sentido, se deben considerar diferentes factores, como la capacidad de lograr una distribución uniforme del medicamento en el surco gingival, la duración de la liberación del fármaco y la ausencia de efectos secundarios adversos (21).

El colágeno se ha descrito como un biomaterial compatible y de fácil obtención que puede permitir la liberación controlada de medicamentos. Generalmente se combina con otros biomateriales con el fin de suplir sus propiedades mecánicas y/o biológicas (22). Las membranas colágenas utilizadas actualmente para regeneración ósea que se encuentran comercialmente pueden considerarse como un vehículo de liberación de medicamento de simvastatina y rosuvastatina aprovechando su potencial terapéutico en periodontitis (23-26). Esto reduciría costos en la fabricación y permitiría una acción terapéutica en un biomaterial que ha sido previamente verificado en cuanto a biocompatibilidad y degradación. Aunque la simvastatina y rosuvastatina ya han sido mezclados previamente con otros materiales poliméricos y contruidos en esponjas (27-30) con fines de cicatrización y regeneración, la investigación continúa en la búsqueda de un vehículo más adecuado para su liberación. El objetivo fue comparar la liberación de simvastatina (SVT) y rosuvastatina (RVT) en dos membranas colágenas cuando se impregnan con 6, 10 y 20 ug/ml a 6, 12 y 24 h utilizando cromatografía líquida HPLC.

2. Metodología

Estudio de tipo experimental *in vitro*. Se realizó la preparación en metilcelulosa de simvastatina y rosuvastatina a 6, 10 y 20 ug/ml de acuerdo con el protocolo de Thylin, et al (2002) (31). Se dividieron las membranas colágenas en muestras de 2 mm x 2 mm. Se procedió a realizar la impregnación de los medicamentos en las membranas mediante inmersión directa durante 30 minutos. Se colocó cada membrana en un buffer fostato (pH 7.4) y se sometió a agitación en el Shacker Unimax 1012 a 60 rpm. La temperatura fue de 37°C, evaluando la concentración a las 6, 12 y 24 horas. La concentración fue evaluada tomando alícuotas del sobrenadante y utilizando el equipo de cromatografía líquida KNUARE.



Imagen 1. Colocación de las muestras en Shacker Unimax 1012.

Consideraciones éticas

Según la resolución número 8430 de 1993 la investigación se considera como riesgo SIN RIESGO.

3.Resultados

Tiempo	Concentración inicial	Simvastatina (detección)		Rosuvastatina (detección)	
6 horas	Membrana	Biomend ®	Bioguide ®	Biomend ®	Bioguide ®
	6 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml
	10 ug/ml	9,1 ug/ml	7,3 ug/ml	5,32 ug/ml	3,35 ug/ml
	20 ug/ml	15,65 ug/ml	13,8 ug/ml	12 ug/ml	9,41 ug/ml
12 horas	Membrana	Biomend ®	Bioguide ®	Biomend ®	Bioguide ®
	6 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml
	10 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml
	20 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml
24 horas	Membrana	Biomend ®	Bioguide ®	Biomend ®	Bioguide ®
	6 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml
	10 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml
	20 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml	0 ug/ml

Tabla 1. En la tabla es posible evidenciar que, para las dos membranas evaluadas, el pico de liberación se da a las 6 horas, ni a las 12 o 24 horas son detectables los medicamentos. De forma general, la membrana Biomend ® libera en una mayor cantidad el medicamento comparada con Bioguide ®. El medicamento Rosuvastatina tiene una menor liberación. Hay un porcentaje de medicamento que se queda impregnado en la membrana.

4. Discusión

De forma general, las membranas colágenas evaluadas permitieron una liberación del medicamento con un pico a las 6 horas donde se detectó la mayoría de la dosis colocada. Posteriormente, no fue posible una detección completa de la dosis, lo que sugiere que una parte queda impregnada en la membrana que terminará por liberarse una vez empiece su proceso de degradación.

La menor liberación que se evidenció en la membrana Bioguide ® comparada con Biomend ® puede deberse a que la primera, es una membrana bilaminar, con una superficie lisa y otra rugosa. La superficie lisa impide el crecimiento de tejido conectivo, mientras que la rugosa favorece la adhesión celular y la angiogénesis. Esto la convierte en una membrana relativamente más gruesa, comparada con Biomend ® que es más delgada y flexible, lo cual de acuerdo con el comportamiento de liberación que tuvo, puede relacionarse a una mayor impregnación del medicamento y a que esto efectivamente dificulta una liberación más rápida porque el tiempo de evaluación no corresponde al de degradación. Adicionalmente, está constituida por colágeno porcino vs colágeno bovino, y los tiempos de reabsorción son diferentes entre 4 y 8 semanas para Biomend ® y 6 a 9 meses para Bioguide ®, situaciones que pueden influir en la probabilidad de liberación del medicamento.

Debido a su biocompatibilidad y perfil de seguridad bien establecido, el colágeno representa una matriz favorable para la administración de fármacos *in situ*. El colágeno es de particular interés como polímero natural para la administración de fármacos, ya que es un importante componente natural constituyente del tejido conectivo y un componente estructural importante. El colágeno es único en sus diferentes niveles de orden estructural: primario, secundario, terciario y cuaternario. *In vivo*, las moléculas de colágeno forman

fibras que tienen una orientación interna y estructural específica y reforzadas juntas por dos tipos de reticulación covalente: intramolecular e intermolecular. Esta reticulación intermolecular es esencial para formar fibras macromoleculares y, en consecuencia, para su estabilidad mecánica y otras características físicas (32).

Los biomateriales hechos de colágeno ofrecen varias ventajas: son biocompatibles y no tóxicos. Tienen una estructura física y química definida, y unas propiedades biológicas e inmunológicas compatibles. Además, la cinética de liberación del fármaco en este tipo de matrices puede verse influenciada por modificación de las características (porosidad, densidad) o por diferentes regímenes de tratamiento químico afectando su tasa de degradación. La carga con gentamicina ha demostrado que las matrices de colágeno pueden ser útiles para la liberación de este tipo de antibiótico (33).

En algunos casos, para que el colágeno pueda resultar un vehículo efectivo para la liberación del medicamento, se requiere la mezcla con otro tipo de material que logre mantener una liberación controlada. Por ejemplo, en el artículo de Mulazzi, et al., (2021) quienes reportaron que las infecciones microbianas producidas durante el tratamiento quirúrgico óseo, causantes de osteomielitis y fallos de los implantes, siguen siendo un desafío abierto en ortopedia. Las terapias convencionales suelen ser ineficaces y se asocian con efectos secundarios graves debido a la cantidad de fármacos administrados por vía sistémica. En este estudio, se diseñó e investigó un injerto óseo osteoinductor y bioabsorbible medicado por su capacidad para controlar la liberación de antibióticos *in situ*. Esto representa una solución ideal para la erradicación o prevención de infecciones y, al mismo tiempo, repara defectos óseos. El clorhidrato de vancomicina y el sulfato de gentamicina, aquí considerados para las pruebas, se cargaron en una matriz híbrida mimética ósea hecho de fibras de colágeno biomineralizadas con hidroxiapatita dopada con magnesio (MgHA/Coll) Se puede utilizar como un sistema de administración local

controlada de antibióticos. Se seleccionó un método de carga fácil para que fuera reproducible rápidamente en el quirófano. El mantenimiento de la eficacia antibacteriana de los fármacos liberados y la bioseguridad de los soportes medicados se evaluaron con pruebas microbiológicas e *in vitro*, que demostraron que los soportes de MgHA/Coll eran seguros y eficaces como sistema de administración local durante una terapia de duración prolongada, con resultados prometedores. para la prevención de infecciones relacionadas con defectos óseos en cirugías óseas (34).

Con relación a lo anterior, se propuso en el presente trabajo el método de impregnación de tal forma que fuera reproducible fácilmente en la clínica. Sin embargo, este método no resultó ser eficaz para el mantenimiento del medicamento en la matriz durante varias horas, pues, aunque se observó una pequeña dosis que aparentemente se mantiene en la membrana, se libera de forma relativamente rápida (6 horas) que, si bien funcionaría para un proceso agudo de inflamación, se esperaría que el medicamento pudiese tener una acción más prolongada. Tal es el caso de lo que reporta Xiang J, et al. (2022) quienes elaboraron una membrana similar a una malla cargada con atorvastatina mediante la técnica de electrohilado. Esta es una técnica que permite tener un mayor control sobre la cantidad de medicamento colocado y sobre la conformación topográfica de la matriz. Como resultado, encontraron que esta malla crea un microambiente único que promueve la secreción paracrina de factores inductores por parte de las células madre mesenquimales, acelerando así la cicatrización de heridas (35). Esto se logró por la fabricación conjunta de la membrana con la adición del medicamento, diferente al método de impregnación que en estos medicamentos evaluados no permitió generar una liberación prolongada.

La investigación es amplia en la colocación de antibióticos a las membranas de colágeno, tal es el caso de lo reportado por Hartinger JM, et al. (2020) quienes cargaron con

rifampicina a membranas de colágeno, y obtuvieron, por un lado, una mejora en las propiedades mecánicas a través de la adición del medicamento, y adicionalmente las esponjas retardaron la liberación de rifampicina *in vitro*, lo que se tradujo en al menos 22 horas de liberación de rifampicina en el modelo de rata. Esto fue significativamente más prolongado que el que se logró mediante la administración de una solución de rifampicina subcutánea (36). Las condiciones moleculares de las estatinas pueden generar que la liberación se realice de forma rápida en las matrices de colágeno, la literatura es escasa en mencionar esta interacción entre membranas previamente fabricadas y estos medicamentos. Sin embargo, es importante destacar que las condiciones del ensayo correspondían a un medio con pH neutro buffer sin ataque enzimático por parte de metaloproteinasas, una situación que también se debe tener presente para conocer la degradación de la membrana y su capacidad de liberación de medicamentos. Los sistemas de administración de fármacos dirigidos a las interacciones del colágeno y a sus funciones biológicas y físicas aún se encuentran en las primeras etapas de desarrollo (37).

5. Conclusiones

La capacidad de liberación de simvastatina y rosuvastatina cuando son cargadas por método de impregnación en las membranas colágenas Biomend ® y Bioguide ® es limitada a las 6 horas en las dosis de 10 y 20 ug/ml, sin liberarse una dosis completa, siendo mayor la liberación para simvastatina y para Biomend ®. La dosis de 6 ug/ml no fue detectable por una posible impregnación completa en la capa externa de la membrana. A las 12 y 24 horas el medicamento no fue detectable.

6. Recomendaciones

- Evaluar la liberación del medicamento en un medio ácido como lo es una herida periodontal (5.2 a 6.5 pH) para verificar la degradación de la membrana y la posibilidad de una liberación completa del medicamento, además de aumentar las dosis de los medicamentos colocados.
- Evaluar otros métodos de carga del medicamento a la membrana diferentes a la impregnación.

Referencias Bibliográficas

1. Papapanou PN, Sanz M, Buduneli N, Dietrich T, Feres M, Fine DH, et al. Periodontitis: Consensus report of workgroup 2 of the 2017 World Workshop on the Classification of Periodontal and Peri-Implant Diseases and Conditions. In: Journal of Clinical Periodontology. Blackwell Munksgaard; 2018. p. S162–70.
2. James SL, Abate D, Abate KH, Abay SM, Abbafati C, Abbasi N, et al. Global, regional, and national incidence, prevalence, and years lived with disability for 354 diseases and injuries for 195 countries and territories, 1990–2017: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2017. The Lancet [Internet]. 2018 Nov;392(10159):1789–858. Available from: <https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673618322797>
3. Bobetsis YA, Graziani F, Gürsoy M, Madianos PN. Periodontal disease and adverse pregnancy outcomes. Vol. 83, Periodontology 2000. Blackwell Munksgaard; 2020. p. 154–74.
4. Trindade D, et al. Prevalence of periodontitis in dentate people between 2011 and 2020: A systematic review and meta-analysis of epidemiological studies. J Clin Periodontol. 2023 May;50(5):604-626
5. Eke PI, Wei L, Borgnakke WS, Thornton-Evans G, Zhang X, Lu H, McGuire LC, Genco RJ. Periodontitis prevalence in adults ≥ 65 years of age, in the USA. Periodontol 2000. 2016 Oct;72(1):76-95.
6. Tonetti MS, Greenwell H, Kornman KS. Staging and grading of periodontitis: Framework and proposal of a new classification and case definition. J Periodontol. 2018 Jun 1;89:S159–72.

7. Sanz M, Herrera D, Kebschull M, Chapple I, Jepsen S, Beglundh T, et al. Treatment of stage I–III periodontitis—The EFP S3 level clinical practice guideline. *J Clin Periodontol*. 2020 Jul 1;47(S22):4–60.
8. Jiang J, Shi X, He Q, Gao L, Yang K, Wang T, Li Z, Liu M. Correlation between health literacy and life quality in elderly patients with chronic periodontitis. *Hua Xi Kou Qiang Yi Xue Za Zhi*. 2023 Dec 1;41(6):694-700.
9. Pradeep AR, Karvekar S, Nagpal K, Patnaik K, Guruprasad CN, Kumaraswamy KM. Efficacy of Locally Delivered 1.2% Rosuvastatin Gel To Non-Surgical Treatment of Patients With Chronic Periodontitis: A Randomized, Placebo-Controlled Clinical Trial. *J Periodontol*. 2015 Jun;86(6):738–45.
10. Pradeep AR, Thorat MS. Clinical Effect of Subgingivally Delivered Simvastatin in the Treatment of Patients with Chronic Periodontitis: A Randomized Clinical Trial. *J Periodontol*. 2010 Feb;81(2):214–22.
11. Petit C, Batool F, Bugueno IM, Schwinté P, Benkirane-Jessel N, Huck O. Contribution of statins towards periodontal treatment: A review. Vol. 2019, *Mediators of Inflammation*. Hindawi Limited; 2019.
12. Türer A, Türer ÇÇ, Balli U, Durmuşlar MC, Önger ME, Çelik HH. Effect of local rosuvastatin administration on calvarial bone defects. *Journal of Craniofacial Surgery*. 2016;27(8):2036–40.
13. Sharma P, Singh A, Mallapragada S. Sub-gingival delivery of simvastatin and rosuvastatin for treatment of chronic periodontitis with diabetes mellitus: A randomized controlled clinical-radiographic pilot study. *J Oral Biol Craniofac Res*. 2023 Mar-Apr;13(2):315-320.

14. Cruz R, Moraschini V, Calasans-Maia MD, de Almeida DCF, Sartoretto SC, Granjeiro JM. Clinical efficacy of simvastatin gel combined with polypropylene membrane on the healing of extraction sockets: A triple-blind, randomized clinical trial. *Clin Oral Implants Res.* 2021 Jun 1;32(6):711–20.
15. Türer A, Durmuşlar MC, Şener I, Misir AF, Önger ME. The Effect of Local Rosuvastatin on Mandibular Fracture Healing. *J Craniofac Surg.* 2016 Nov 1;27(8):e758–61.
16. Tahamtan S, Shirban F, Bagherniya M, Johnston TP, Sahebkar A. The effects of statins on dental and oral health: A review of preclinical and clinical studies. Vol. 18, *Journal of Translational Medicine.* BioMed Central Ltd.; 2020.
17. Zhang Y, Jiang R, Lei L, Yang Y, Hu T. Drug delivery systems for oral disease applications. *J Appl Oral Sci.* 2022 Mar 9;30:e20210349.
18. Kulchar RJ, Singh R, Ding S, Alexander E, Leong KW, Daniell H. Delivery of biologics: Topical administration. *Biomaterials.* 2023 Nov;302:122312.
19. Ruan F, Zheng Q, Wang J. Mechanisms of bone anabolism regulated by statins. Vol. 32, *Bioscience Reports.* 2012. p. 511–9.
20. Bertl K, Steiner I, Pandis N, Buhlin K, Klinge B, Stavropoulos A. Statins in nonsurgical and surgical periodontal therapy. A systematic review and meta-analysis of preclinical in vivo trials. Vol. 53, *Journal of Periodontal Research.* Blackwell Munksgaard; 2018. p. 267–87.
21. Bitto A, Minutoli L, Altavilla D, Polito F, Fiumara T, Marini H, et al. Simvastatin enhances VEGF production and ameliorates impaired wound healing in experimental diabetes. *Pharmacol Res.* 2008 Feb;57(2):159–69.

22. An B, Lin YS, Brodsky B. Collagen interactions: Drug design and delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016 Feb 1;97:69-84. doi: 10.1016/j.addr.2015.11.013. Epub 2015 Nov 26. PMID: 26631222.
23. Ranjan R, Patil SR, Veena HR. Effect of in-situ application of simvastatin gel in surgical management of osseous defects in chronic periodontitis—A randomized clinical trial. *J Oral Biol Craniofac Res.* 2017 May 1;7(2):113–8.
24. Pradeep AR, Garg V, Kanoriya D, Singhal S. Platelet-Rich Fibrin With 1.2% Rosuvastatin for Treatment of Intrabony Defects in Chronic Periodontitis: A Randomized Controlled Clinical Trial. *J Periodontol.* 2016 Dec;87(12):1468–73.
25. Ambrósio LMB, Rovai ES, Sendyk DI, Holzhausen M, Pannuti CM. Does the adjunctive use of statins provide additional benefits to nonsurgical periodontal treatment? A systematic review and meta-analysis. Vol. 53, *Journal of Periodontal Research.* Blackwell Munksgaard; 2018. p. 12–21.
26. Gautam K, Kapoor A, Mathur S, Rizwan Ali A, Choudhary A, Shekhawat A. Comparative evaluation of autogenous bone graft and autologous platelet-rich fibrin with and without 1.2 mg in situ rosuvastatin gel in the surgical treatment of intrabony defect in chronic periodontitis patients. *Contemp Clin Dent.* 2022 Jan 1;13(1):69–77.
27. Ibrahim HK, Fahmy RH. Localized rosuvastatin via implantable bioerodible sponge and its potential role in augmenting bone healing and regeneration. *Drug Deliv.* 2016 Nov 21;23(9):3181–92.
28. Swati S, Gopalkrishna P, Nayak UY, Ginjupalli K, Hrishi TS, Chandrashekar C, R RA, K P, P L. Simvastatin in polymer bioscaffold for bone regeneration. An in vitro and in vivo analysis. *Stomatologija.* 2021;23(4):114-120.

29. Monjo M, Rubert M, Wohlfahrt JC, Rønold HJ, Ellingsen JE, Lyngstadaas SP. In vivo performance of absorbable collagen sponges with rosuvastatin in critical-size cortical bone defects. *Acta Biomater.* 2010;6(4):1405–12.
30. Pradeep AR, Karvekar S, Nagpal K, Patnaik K, Raju A, Singh P. Rosuvastatin 1.2 mg In Situ Gel Combined With 1:1 Mixture of Autologous Platelet-Rich Fibrin and Porous Hydroxyapatite Bone Graft in Surgical Treatment of Mandibular Class II Furcation Defects: A Randomized Clinical Control Trial. *J Periodontol.* 2016 Jan;87(1):5–13.
31. Thylin MR, McConnell JC, Schmid MJ, Reckling RR, Ojha J, Bhattacharyya I, Marx DB, Reinhardt RA. Effects of simvastatin gels on murine calvarial bone. *J Periodontol.* 2002 Oct;73(10):1141-8.
32. J.Y. Exposito, C. Cluzel, R. Garrone, C. Lethias, Evolution of collagens, *Anat. Rec.* 2002; 268: 302 – 316.
33. Ruszczak Z, Friess W. Collagen as a carrier for on-site delivery of antibacterial drugs. *Adv Drug Deliv Rev.* 2003 Nov 28;55(12):1679-98.
34. Mulazzi M, Campodoni E, Bassi G, Montesi M, Panseri S, Bonvicini F, Gentilomi GA, Tampieri A, Sandri M. Medicated Hydroxyapatite/Collagen Hybrid Scaffolds for Bone Regeneration and Local Antimicrobial Therapy to Prevent Bone Infections. *Pharmaceutics.* 2021 Jul 16;13(7):1090.
35. Xiang J, Zhou L, Xie Y, Zhu Y, Xiao L, Chen Y, Zhou W, Chen D, Wang M, Cai L, Guo L. Mesh-like electrospun membrane loaded with atorvastatin facilitates cutaneous wound healing by promoting the paracrine function of mesenchymal stem cells. *Stem Cell Res Ther.* 2022 May 7;13(1):190.

36. Hartinger JM, Lukáč P, Mlček M, Popková M, Suchý T, Šupová M, Chlup H, Horný L, Závora J, Adámková V, Slanař O, Kozlík P, Molnarova K, Honsová E, Lambert L, Grus T. Rifampin-Releasing Triple-Layer Cross-Linked Fresh Water Fish Collagen Sponges as Wound Dressings. *Biomed Res Int.* 2020 Oct 16;2020:3841861.
37. An B, Lin YS, Brodsky B. Collagen interactions: Drug design and delivery. *Adv Drug Deliv Rev.* 2016 Feb 1;97:69-84.