



UNIVERSIDADE FEDERAL DA BAHIA

FACULDADE DE ODONTOLOGIA

PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM ODONTOLOGIA E SAÚDE

RENAN FERREIRA TRINDADE

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO EFEITO DA
FOTOBIMODULAÇÃO LED NA RESPOSTA DO
TECIDO ÓSSEO DE RATOS A DIFERENTES CIMENTOS
BIOCERÂMICOS**

Salvador

2020

RENAN FERREIRA TRINDADE

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO EFEITO DA
FOTOBIMODULAÇÃO LED NA RESPOSTA DO
TECIDO ÓSSEO DE RATOS A DIFERENTES CIMENTOS
BIOCERÂMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia e Saúde da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do grau de Mestre em Odontologia e Saúde.

Orientador (a): Profa. Dra. Fabiola Bastos de Carvalho

Co-orientador: Prof. Dr. Antônio Luiz Barbosa Pinheiro

Salvador

2020

Ficha catalográfica elaborada pelo Sistema Universitário de Bibliotecas (SIBI/UFBA),
com os dados fornecidos pelo(a) autor(a).

Ferreira Trindade, Renan

Avaliação histológica do efeito da fotobiomodulação
LED na resposta do tecido ósseo de ratos a diferentes
cimentos biocerâmicos / Renan Ferreira Trindade. --
Salvador - Ba, 2020.
64 f.

Orientadora: Fabíola Bastos de Carvalho.

Coorientador: Antônio Luiz Barbosa Pinheiro .

Dissertação (Mestrado - Pós graduação em Odontologia
e Saúde) -- Universidade Federal da Bahia, Faculdade
de Odontologia da Universidade Federal da Bahia, 2020.

1. Endodontia. 2. Materiais biocompatíveis . 3.
Fototerapia. I. Bastos de Carvalho, Fabíola. II.
Barbosa Pinheiro , Antônio Luiz . III. Título.

RENAN FERREIRA TRINDADE

**AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA DO EFEITO DA
FOTOBIMODULAÇÃO LED NA RESPOSTA DO
TECIDO ÓSSEO DE RATOS A DIFERENTES CIMENTOS
BIOCERÂMICOS**

Dissertação apresentada ao Programa de Pós-graduação em Odontologia e Saúde da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia como requisito para obtenção do grau de Mestre em Odontologia e Saúde.

Salvador-Ba, 04 de março de 2020.

Banca examinadora

Fabíola Bastos de Carvalho – orientadora _____
Doutora em Odontologia pela Universidade Federal da Bahia - Universidade
Federal da Paraíba
Universidade Federal da Bahia

Viviane Palmeira da Silva _____
Doutora em Patologia Bucal na Universidade Federal do Rio Grande do Sul
Universidade Federal da Bahia

Luis Cardoso Rasquin _____
Doutor em Endodontia pela Universidade Estadual Paulista Júlio de Mesquita
Filho
Universidade Federal da Bahia

Dedicatória

Dedico este trabalho às minhas filhas **Alice Jones Trindade** e **Júlia Jones Trindade**, que me ensinam a cada dia o significado da palavra amor e a minha esposa **Fernanda Simões Jones**, por compartilhar comigo todos os momentos desta jornada.

À minha mãe **Maria Raimunda da Silva Ferreira**, por ser a pessoa responsável pelo meu crescimento pessoal, sempre me apoiando nas minhas escolhas e me dando força para vencer qualquer obstáculo nesta vida.

Aos meus irmãos **Bruno Manoel Ferreira Trindade** e **Yan Leite Trindade**, por sempre estarem comigo em qualquer situação.

À minha orientadora **Prof^a. Dr^a. Fabíola Bastos de Carvalho**, pela confiança, dedicação, paciência e pelos ensinamentos ao longo deste trabalho. Nada disso seria possível sem você. Muito obrigado por estar comigo ao longo desses 02 anos, conduzindo-me da melhor forma possível e sendo um grande exemplo profissional para mim.

Agradecimentos

Ao **Prof. Antônio Luiz Barbosa Pinheiro**, pela sua grande contribuição nesta pesquisa. Obrigado por compartilhar sua experiência e conhecimentos em Biofotônica.

Ao amigo **Prof. Dr. Luiz Guilherme Pinheiro Soares**, pela grande contribuição em praticamente todas as etapas deste trabalho, obrigado por tudo.

Aos **estagiários do Centro de biofotônica**, por fazerem parte desta pesquisa de forma tão dedicada.

Aos professores **Jean Nunes, Maria Cristina Cangussu** (Tininha) e **Flávia Caló**, pela imensa contribuição e disponibilidade nesta pesquisa, vocês foram fundamentais para a conclusão deste trabalho.

A **todos os professores do Programa de Pós Graduação em Odontologia e Saúde da faculdade de Odontologia da UFBA**, por contribuírem imensamente para minha formação profissional. Vocês transformam vidas!

Aos funcionários da FOUFBA, em especial à **Sueli e Edilson**, pela contribuição indispensável para o funcionamento da pós graduação.

Aos **colegas da turma de mestrado**, em especial à amiga **Ana Carolina Lemos Pimentel** por compartilhar comigo muitos momentos de alegria e superação nesta fase.

À **CAPES** (Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior), pelo fornecimento da bolsa de mestrado, contribuição financeira essencial para realização desta pesquisa.

RESUMO

Diversos materiais promissores para o reparo tecidual em endodontia tem emergido nos últimos anos. Dentre esses materiais destacam-se os cimentos biocerâmicos à base de silicato de cálcio, que tem demonstrado boa capacidade de indução de mineralização. A fotobiomodulação LED é uma modalidade terapêutica que, tem proporcionado diversos benefícios principalmente em tecidos ósseos danificados. Desta forma, o objetivo desse estudo foi avaliar histologicamente os efeitos da fotobiomodulação LED na resposta do tecido ósseo de ratos após a implantação dos cimentos endodônticos biocerâmicos BioMTA e Biodentine. Para isso, 26 ratos foram submetidos à cirurgia para confecção de um defeito ósseo no fêmur esquerdo. Após a confecção do defeito, os animais foram divididos em 06 grupos (GC - coágulo; e GCLED – coágulo + LED; GMTA - BioMTA; GMTALED - BioMTA + LED; GBIO - Biodentine; GBIOLED - Biodentine + LED). A fotobiomodulação LED foi realizada imediatamente após o procedimento cirúrgico, e a cada 48 horas por 15 dias. Os animais foram mortos 15 dias após a cirurgia. A peça cirúrgica removida foi encaminhada para análise histológica, em microscopia de luz. Os resultados evidenciaram que o GMTA apresentou intensa neoformação óssea, semelhante ao GC ($p > 0,05$) e quando associado a fotobiomodulação a LED (GMTALED), houve redução do infiltrado inflamatório e aumento da pavimentação osteoblástica ($p < 0,05$). O Biodentine quando associado a fotobiomodulação a LED, apresentou aumento da neoformação óssea e redução da reação de corpo estranho, em relação ao GBIO ($p < 0,05$). A fotobiomodulação a LED, sem os cimentos, apresentou efeito negativo no reparo ósseo, causando aumento da fibrose e aumento da reabsorção óssea ($p < 0,05$). Pode-se concluir que o cimento BioMTA foi superior ao Biodentine, na neoformação óssea e que a fotobiomodulação a LED foi eficaz no reparo ósseo somente quando associada ao cimento biocerâmicos Biodentine.

Palavras-chaves: Endodontia, Materiais biocompatíveis, Fototerapia.

ABSTRACT

Several materials promised for the technical repair in endodontics emerged in recent years. Other outstanding materials - calcium bioceramics based on calcium silicon, which demonstrate good mineralization induction capacity. LED photobiomodulation is a therapeutic form that offers several benefits mainly on damaged tissues. Thus, the aim of this study was to histologically evaluate the effects of LED photodiomodulation on the bone tissue response of rats after implantation of BioMTA and Biodentine bioceramic endodontic cements. For this, 26 rats were submitted to surgery to make a bone defect in the left femur of each rat. After making the bone defect, the animals were divided into 06 groups (GMTA - BioMTA; GMTALED - BioMTA + LED; GBIO - Biodentine; GBIOLED - Biodentine + LED; GC - Coágulo; e GCLED – coágulo + LED). A photobiomodulation LED was performed after the surgical procedure and every 48 hours for 15 days. The animals were killed 15 days after surgery. A removed surgical specimen was sent for historical analysis, under light microscopy. The results showed that GMTA showed intense bone neoformation, similar to GC ($p > 0.05$) and when associated with LED photobiomodulation (GMTALED), there was a reduction in the inflammatory infiltrate and an increase in osteoblastic paving ($p < 0.05$). When associated with LED photobiomodulation, Biodentine showed an increase in bone neoformation and a reduction in the foreign body reaction, in relation to GBIO ($p < 0.05$). The LED photobiomodulation, without cement, had a negative effect on bone repair, causing increased fibrosis and increased bone resorption ($p < 0.05$). It can be concluded that BioMTA was superior to Biodentine in bone neoformation and LED Photobiomodulation was effective in bone repair only when associated with Biodentine bioceramic cement.

Keywords: Endodontics, Biocompatible Materials, Phototherapy.

LISTA DE QUADROS E TABELAS

Quadro 01	Grupos experimentais e número de animais para análise	25
Quadro 02	Composição dos cimentos utilizados segundo fabricantes	25
Tabela 01	Critérios semi-quantitativos utilizados na avaliação histológica.	34

LISTA DE FIGURAS

Figura 01	Acesso cirúrgico ao fêmur esquerdo do rato	27
Figura 02	Perfuração óssea com broca trefina	28
Figura 03	Defeito ósseo de 2 mm de diâmetro realizado no fêmur esquerdo do rato	29
Figura 04	Defeito ósseo preenchido pelo cimento biocerâmico	30
Figura 05	Aparelho utilizado para fotoibiomodulação LED (FisioLED®, MMOptics, São Carlos, SP, Brasil).	31
Figura 06	Obtenção da amostra para análise	32
Figura 07	(A): Grupo coágulo – Neoformação óssea intensa e trabéculas ósseas conectadas (H/E, 20X). B: Grupo coágulo - Intensa deposição colagênica distribuída por todo osso neoformado (picrossírius, 20X). C: Grupo Coágulo LED - defeito parcialmente preenchido por trabéculas ósseas não espessas e não conectadas (H/E, 20X). D: Grupo coágulo LED - Intensa deposição colagênica distribuída por todo osso neoformado (picrossírius, 20X). Fonte: autor	36
Figura 08	Osso neoformado no defeito (GMTA) completamente preenchido e sob a forma de trabéculas ósseas espessas mais regulares. Apresentando osteócitos regulares aprisionados na matriz óssea (H/E, 20X). Fonte: autor.	38
Figura 09	Colágeno maduro preenchendo todo o osso neoformado (GMTA) este apresenta-se irregular e discreto (Picrossírius, 20X). Fonte: autor.	38
Figura 10	Osso neoformado (GMTALED) composto por trabéculas ósseas irregulares (seta preta) de espessura variável, interconectadas, com osteócitos regulares e linhas basofílicas grosseiras. Discreta pavimentação osteoblástica e presença de fibrose (seta vermelha) (H/E) Fonte: autor.	39
Figura 11	Presença de intenso infiltrado inflamatório (seta vermelha) (GMTALED) e reabsorção óssea (seta preta), (H/E). Fonte: autor.	40
Figura 12	A: Grupo Biodentine – trabéculas ósseas de espessuras variadas e interconectadas (H/E, 20X). B: Grupo Biodentine – colágeno maduro distribuído por todo osso	42

neoformado (picrossírius, 20X). C: Grupo Biodentine LED - Quase todo o defeito ósseo preenchido por osso neoformado, composto por trabéculas ósseas espessas e interconectadas (H/E, 20X). D: Grupo Biodentine LED - colágeno maduro distribuído por todo osso neoformado (picrossírius, 20X). Fonte: autor.

Figura 13	Representação gráfica da presença de neoformação óssea, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.	43
Figura 14	Representação gráfica da presença de pavimentação osteoblástica, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.	44
Figura 15	Representação gráfica da presença de deposição colagênica, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.	44
Figura 16	Representação gráfica da presença de infiltrado inflamatório, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.	45
Figura 17	Representação gráfica da presença de reação de corpo estranho, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.	46
Figura 18	Representação gráfica da presença de fibrose, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.	47
Figura 19	Representação gráfica da presença de reabsorção óssea, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.	47

LISTA DE ABREVIATURAS E SIMBOLOS

AsGaAl	Arseneto de gálio e alumínio
ATP	Adenosina-trifosfato
BMPs	Proteínas morfogenéticas ósseas
β -TCP	β -fosfato tricálcico
CEEA	Comissão de Ética na Experimentação Animal
CTM	Células tronco mesnquimais
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i> – Ácido desoxirribonucléico
FOUFBA	Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia
g	Gramas
HA	Hidroxiapatita de cálcio
HE	Hematoxilina-eosina
J	Joules
J/cm ²	Joules por centímetro quadrado
Kg	Quilograma
Laser	<i>Light Amplification by Stimulated Emission of Radiation</i>
LED	<i>Light Emitting Diode</i>
LTDA	Limitada
mL	Mililitros
mm	Milímetros
MTA	<i>Mineral Trioxide Aggregate</i>
M-CSF	<i>Macrophage Colony-Stimulating Factor</i>
mW	Miliwatts
N	Newtons
n°	Número
nm	Nanômetros
p	Nível de significância, probabilidade
Pot	Potência
PCT 27	Proteína do choque térmico 27
RANKL	<i>Receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand</i>
RUNX2	<i>Runt-related transcription factor 2</i>

s	Segundos
SPSS	<i>Statistical Package or the Social Sciences</i>
t	Tempo
TGF- β 1	<i>Transformation growth factor beta</i>
TNFSF11	<i>Tumor necrosis factor ligand superfamily member 11</i>
UFBA	Universidade Federal da Bahia
v	Versão
W	Watts
λ	Comprimento de onda
μm	Micrometro
Φ	Spot
®	Marca comercial registrada
%	Por cento

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	12
2 REVISÃO DA LITERATURA	14
2.1 Reparo ósseo	14
2.2 Cimentos a base de silicato de cálcio	16
2.4 Fotobiomodulação a LED	18
3 OBJETIVOS	20
2.1 Objetivo geral	20
2.2 Objetivos específicos	20
4 METODOLOGIA	21
4.1 Respaldo ético	21
4.2 Delineamento	21
4.3 Amostra	21
4.4 Distribuição dos grupos	22
4.5 Cirurgia experimental	22
4.6 Protocolo da fotobiomodulação LED	26
4.7 Morte e obtenção da amostra	26
4.8 Processamento histológico	28
4.9 Análise estatística	28
5. RESULTADOS	30
5.1 Análise descritiva	30
5.2 Análise estatística	36
6. DISCUSSÃO	43
7. CONCLUSÃO	48
REFERÊNCIAS	49
ANEXO A	58

1. INTRODUÇÃO

A Endodontia tem se desenvolvido bastante nos últimos 20 anos, principalmente na ciência e tecnologia dos materiais odontológicos. Dentre esses materiais destacam-se os cimentos biocerâmicos à base de silicato de cálcio, os quais têm criado muito interesse entre os profissionais, principalmente pelas suas inúmeras aplicações. A primeira geração desses cimentos é representada pelo MTA (*Mineral Trioxide Aggregate*), cuja eficácia já é comprovada na literatura científica (MACHADO *et al.*, 2016; TAHA *et al.*, 2016).

Os cimentos biocerâmicos, a base de silicato de cálcio, são indicados como material reparador e assim podem ser utilizados em perfurações radiculares, reparo de reabsorções, selamento apical em dentes com ápice aberto, capeamento pulpar, obturação de canais radiculares e obturação retrógrada em cirurgia paraendodôntica (MOINZADEH *et al.*, 2016). Ao longo dos anos esses biomateriais sofreram modificações quanto ao tipo de radiopacificador, bem como no tamanho das partículas, surgindo assim a segunda geração.

Estudos *in vitro*, acerca dos novos cimentos biocerâmicos, têm evidenciado excelente capacidade de adesão e adaptação marginal compatível com o MTA (SHOKOUHINEJAD *et al.*, 2012; SHOKOUHINEJAD *et al.*, 2013). Além disso, estudos *in vivo*, demonstram alta capacidade de deposição de matriz osteóide pela ativação de osteoblastos, quando os cimentos biocerâmicos estão em contato com osso medular, desse modo favorecendo a biomineralização e formação óssea na região (GANDOLFI *et al.*, 2017; SILVA *et al.*, 2017; LAGISETTI *et al.*, 2018).

A biocompatibilidade é um pré-requisito fundamental para materiais reparadores e um fator determinante no sucesso a longo prazo do tratamento (TAHA *et al.*, 2016). Estudos experimentais têm reportado características favoráveis, de citotoxicidade, atividade antibacteriana, adaptação marginal e potencial de mineralização (GANDOLFI *et al.*, 2016; CHEN *et al.*, 2016; RAJASEKHARAN *et al.*, 2018; JARDINE *et al.*, 2019; IAQUINTA *et al.*, 2019).

Duas modalidades terapêuticas coadjuvantes que, atualmente, tem proporcionado diversos benefícios na medicina e na odontologia, principalmente em tecidos ósseos danificados, é a fotobiomodulação a Laser (*Light Amplification*

by *Stimulated Emission of Radiation*) e a fotobiomodulação a LED (*Light Emitting Diode*).

Estudos demonstraram que a fotobiomodulação a Laser é eficaz na redução da inflamação, controle da dor, diminuição do tempo de reparação de tecidos e aumento da síntese de ATP, desse modo, estimulando a síntese de DNA e a proliferação celular (KARU *et al.*, 2014; ROSA *et al.*, 2016; SANTINONI *et al.*, 2017; KULKARNI *et al.*, 2019). Além disso, promovem a angiogênese e aumentam tanto o depósito de fibras colágenas, quanto a proliferação de fibroblastos. Na regeneração óssea a eficácia da fotobiomodulação a Laser tem sido demonstrada em diversos estudos *in vitro* e *in vivo*, sendo os seus principais benefícios o aumento do número de osteoblastos, conseqüentemente aumentando a densidade óssea em um menor tempo de reparo tecidual (ROSA *et al.*, 2016; SANTINONI *et al.*, 2017; KULKARNI *et al.*, 2019).

Por sua vez, a fotobiomodulação a LED também parece acelerar o processo de reparação em defeitos ósseos usando parâmetros semelhantes aos realizados na fotobiomodulação a Laser (PINHEIRO *et al.*, 2017). É demonstrado que os efeitos benéficos da fotobiomodulação a LED são provavelmente semelhantes aos da fotobiomodulação a Laser (PINHEIRO *et al.*, 2012; Soares *et al.*, 2015), assim como o seu mecanismo a nível celular (KARU *et al.*, 2004; WEISS *et al.*, 2005). Sendo as suas principais vantagens em relação ao Laser, o custo reduzido do aparelho e o maior diâmetro do *spot*, podendo abranger uma área maior de aplicação e assim resultando em um menor tempo de irradiação.

Na luz do nosso conhecimento, nota-se uma carência de estudos realizando uma análise histológica descritiva e comparativa do efeito da fotobiomodulação a LED na resposta do tecido ósseo após a implantação de cimentos endodônticos biocerâmicos, BioMTA (Intradent, Yuseong City, Daejeon, Coréia) e o Biodentine (Septodont, Saint-Maur-der Fôsses, França). Hipotetizamos que, as alterações histológicas vistas após a implantação de cimentos biocerâmicos em defeitos ósseos em fêmur de ratos, poderiam ser influenciadas pela ação da fotobiomodulação a LED. Desse modo, este estudo torna-se relevante para essa investigação pouco citada na literatura, até o momento.

2. REVISÃO DE LITERATURA

2.1 Reparo ósseo

O osso é um tecido rígido e dinâmico, que suporta e protege vários órgãos do corpo. Além disso, o osso desempenha importante papel na produção de glóbulos brancos e vermelhos, exerce importante função na homeostase mineral, como cálcio e fósforo, e fornece uma base sólida para 96 músculos esqueléticos (ABDEL MEGUID *et al.*, 2018).

Defeitos ósseos podem ocorrer devido a várias causas, como traumas, infecção, cistos, tumores e fraturas (PINHEIRO *et al.*, 2017). O reparo ósseo é um processo biológico complexo que requer etapas específicas para regeneração envolvendo mudanças em uma matriz de genes (MARSELL e EINHORN, 2011). O restabelecimento do osso, arquitetura e funcionalidade dependem da correta proliferação celular e deposição de sais de cálcio para determinar a regeneração bem sucedida do tecido ósseo lesionado (ALVES *et al.*, 2018; IAQUINTA *et al.*, 2019). Tourolle né Betts *et al.* (2020) comprovaram, através do seu estudo, uma relação direta entre as deformações mecânicas e formação de tecido ósseo mineralizado, processo que explica a importância da funcionalidade do osso para uma maturação mais eficiente no seu processo de reparo.

A matriz óssea representa a substância intercelular do tecido ósseo. É composta por vários componentes orgânicos e inorgânicos, como o colágeno tipo I, que é a mais abundante proteína no tecido ósseo, elastina, polissacarídeos e fosfato de cálcio (FARBOD *et al.*, 2014). As principais proteínas não colagênicas do osso são a sialoproteína, osteonectina, osteopontina e osteocalcina (PALMER *et al.*, 2008), que contêm resíduos de ácido aspártico e glutamicácido, com alta afinidade por íons cálcio, devido aos seus grupos carboxila carregados (PALMER *et al.*, 2008). Por outro lado, o componente inorgânico da matriz óssea é um reservatório de íons (WEATHERHOLT *et al.*, 2012).

O processo de reparo ósseo é iniciado com estímulos inflamatórios, ocorrendo uma cascata de eventos inflamatórios e regenerativos para permitir o reparo local e a cicatrização óssea (LOI *et al.*, 2016). Esse processo inclui alguns eventos sequenciais, provisórios, como liberação local e sistêmica de citocinas

pró-inflamatórias, recrutamento de células imunes para o local danificado, inflamação e edema de tecidos moles, diferenciação de células progenitoras osteogênicas, liberação local de proteínas morfogenéticas ósseas, formação de calos e remodelação óssea (GRAYSON *et al.*, 2015).

Durante o reparo ósseo, sabe-se que células troncos mesenquimais (CTM) se diferenciam em osteoblastos para permitir a formação óssea (CRANE e CAO, 2014). A migração endógena ou exógena de CTM para o local da lesão óssea é uma etapa crucial no tratamento de doenças ósseas (SU *et al.*, 2018). Em particular, o recrutamento endógeno de CTM é influenciado por mediadores inflamatórios secretados por células imunes (ALMEIDA *et al.*, 2012), TGF- β 1 liberado pela matriz óssea (WAN *et al.*, 2012).

A remodelação óssea consiste em algumas etapas sequenciais: (i) iniciação, (ii) reversão e (iii) fases de terminação. Durante a fase de iniciação, os precursores de osteoclastos são recrutados e diferenciados em osteoclastos maduros para permitir a reabsorção óssea. A osteoclastogênese requer mediadores-chave específicos, como o fator estimulador de colônias de macrófagos (M-CSF) e o ativador de receptores do ligante do fator nuclear-kB (RANKL ou TNFSF11). Em particular, o M-CSF é produzido por osteoblastos e muitos outros tipos de células; é necessário para a proliferação de precursores de osteoclastos, bem como sua diferenciação e fusão em osteoclastos (JIAO *et al.*, 2015). Durante a reabsorção óssea, vários fatores que levam ao recrutamento e diferenciação das CTMs são liberados através da remodelação óssea para permitir a formação óssea no microambiente da medula óssea (CRANE e CAO, 2014).

A próxima fase transitória, provisória ou reversa, consiste na inibição da reabsorção óssea, além do recrutamento de osteoblastos e a subsequente diferenciação que leva à formação óssea. A etapa final do ciclo de remodelação é representada pela fase de término, quando uma quantidade igual de osso reabsorvido é substituída (RAGGATT e PARTRIDGE, 2010). Osteócitos contribuem para finalizar o processo de remodelação através da produção de esclerostina, que inibe a formação óssea nos osteoblastos (VAN BEZOOIJEN *et al.*, 2005). No final do processo, os osteoblastos maduros sofrem apoptose, tornam-se células do revestimento ósseo ou se diferenciam em osteócitos (SIMS

e MARTIN, 2015). A integridade do esqueleto humano é mantida por um delicado equilíbrio entre a reabsorção óssea e a formação óssea (MCCLUNG, 2018).

Ossos corticais e trabeculares são submetidos a remodelação óssea, que é um processo contínuo ao longo da vida e desempenha um papel importante no equilíbrio da massa óssea e na homeostase mineral (TOLAR *et al.*, 2004). Além disso, duas fases diferentes podem ser distinguidas no metabolismo do tecido ósseo, matriz óssea e a fase que inclui elementos celulares, como osteoblastos, osteoclastos e osteócitos (IAQUINTA *et al.*, 2019).

Na engenharia tecidual, o conhecimento da nanoestrutura óssea e as interações entre componentes inorgânicos e orgânicos são cruciais para a produção de biomateriais com propriedades estruturais e funcionais semelhante ao tecido ósseo natural (IAQUINTA *et al.*, 2019; ALVES *et al.*, 2018). Geralmente, essas interações envolvem funções aniônicas e/ou catiônicas, que são encontrados na matriz orgânica e, por sua vez, exibem forte afinidade por cálcio ou íons de fosfato da fase mineral do osso. Grupos funcionais aniônicos, isto é, contendo carboxil e porções de ligação ao cálcio, incluindo proteínas, sequências peptídicas, aminoácidos únicos, são os grupos químicos mais amplamente investigados, considerados essenciais para melhorar a interação das fases inorgânica e orgânica em nanocompósitos sintéticos para regeneração óssea (FARBOD *et al.*, 2014).

2.2 Cimentos à base de silicato de cálcio

Os cimentos à base de silicato de cálcio são usados, atualmente, em diferentes procedimentos endodônticos, especialmente no selamento de perfurações radiculares, apicificação e como retro-obturadores em cirurgias paraendodônticas, nestas situações clínicas, estes materiais são colocados em contato com o osso alveolar medular (PRIMUS *et al.*, 2019; MOHAMED *et al.*, 2019). Um ponto crítico dessas indicações clínicas é a resposta biológica do osso medular periapical, uma vez que quantidades de material podem ser extravasadas para o tecido periapical, produzindo efeitos tóxicos, inflamação do tecido e reações de corpo estranho. Diante disso, propriedades como, biocompatibilidade, capacidade de induzir osteogênese e cementogênese, ser hidrofílico, ter estabilidade dimensional, insolúvel em fluidos teciduais, efeito

antibacteriano e de fácil manipulação são essenciais para esses biomateriais (MORETTON *et al.*, 2000; MOHAMED *et al.*, 2019). Inclusive com o uso de formulações, em que o cimento já vem pronto para uso, sem necessidade de manipulação (MACHADO *et al.*, 2016).

O MTA foi o primeiro cimento de silicato de cálcio do mercado, com um efeito estimulatório, provendo indução osteogênica e angiogênese (CHANG *et al.*, 2014; MOHAMED *et al.*, 2019). Parirokh e Torabinejad (2010) em uma revisão abrangente da literatura observaram que o MTA produz resultados favoráveis quando utilizado como material reparador, em termos de ausência de inflamação, presença de cimento e formação de tecido duro.

Apesar das inúmeras propriedades favoráveis que justifiquem o uso do MTA, desvantagens clínicas como longo tempo para presa, dificuldade de manipulação e potencial para manchamento de tecido gengival e dente, limitam a sua aplicação (SILVA *et al.*, 2019). Diferente do MTA introduzido no mercado em 1993, o BioMTA (Intradent, Yuseong City, Daejeon, Coréia) é um cimento biocerâmico que consiste em óxido de zircônia, silicato tricálcio, silicato dicálcio, aluminato tricálcio, ferro aluminato tetracálcio. Este material apresenta tempo de presa reduzido, viabilidade celular, liberação de cálcio e induz níveis de fator de crescimento endotelial vascular e fator básico de crescimento de fibroblastos similares ao MTA (CHUNG *et al.*, 2016). Entretanto, no estudo em dentes humanos realizado por Bakhtiar *et al.*, (2018) o uso do BioMTA em pulpotomias demonstrou desorganização pulpar, ausência de inflamação e mineralização descontínua, o que pode representar uma desvantagem potencial deste cimento para esta indicação.

Pesquisadores vem tentando melhorar as propriedades do MTA, com a adição de carbonato para reduzir o tempo de presa, bem como a troca do radiopacificador. O Biodentine (Septodont, Saint-Maur-der Fôsses, França) representa a segunda geração dos cimentos de silicato de cálcio, introduzido no mercado internacional em 2009, chegou ao Brasil há cerca de 2 anos. O pó é composto por silicato tricálcio, óxido de zircônia, óxido de cálcio, carbonato de cálcio, pigmento amarelo, pigmento vermelho e óxido de ferro marrom, e o líquido contém cloreto de cálcio dihidratado e água purificada. Apresenta melhores propriedades de manuseio e menor tempo de presa, provavelmente pela presença do carbonato de cálcio na composição do pó, cloreto de cálcio na

composição do líquido e redução do tamanho das partículas, comparado ao MTA. Além disso, possui características físicas muito semelhantes à dentina e apresenta baixo risco de descoloração dentária (RAJASEKHARAN *et al.*, 2018; TANG *et al.*, 2019). As propriedades de indução de mineralização deste material bioativo tem sido verificada nos níveis celular e molecular. Como demonstrado no estudo de Daltoe *et al.*, (2016), onde o Biodentine induziu níveis semelhantes de marcadores de mineralização em comparação com MTA. O uso do Biodentine no reparo de perfuração de furca mostrou que tanto este material quanto o MTA são excelentes para o reparo, mas que o MTA resulta em maior frequência no selamento completo da perfuração de furca (SILVA *et al.*, 2017).

O Biodentine e o MTA mostraram semelhante biocompatibilidade celular em diversos estudos (SILVA *et al.*, 2017; RAJASEKHARAN *et al.*, 2018; PRIMUS *et al.*, 2019). Em estudo realizado por Tang *et al.*, (2019), o Biodentine e o MTA promoveram resultados semelhantes na cicatrização óssea perirradicular após cirurgia em modelos de cães. Quando implantado em defeitos ósseos em tíbia de coelho, o Biodentine demonstrou na análise histológica, osso trabecular recém-formado com espaços medulares e traços esparsos de material residual (GANDOLFI *et al.*, 2018).

Poucos estudos realizaram uma análise descritiva e comparativa das reações no tecido ósseo entre diferentes cimentos biocerâmicos. Em estudo recente, realizado por Silva *et al.*, (2017), foi possível observar que o Biodentine e o MTA apresentaram bons resultados histopatológicos e podem ser considerados como materiais adequados para reparo de perfuração de furca. Entretanto, o MTA induziu a formação de tecido mineralizado com maior espessura e área, e apresentou maior frequência de selamento completo. O fator de transcrição relacionado ao runt 2 (RUNX2) pareceu ser um importante fator de transcrição osteogênica para o potencial biomineralizador de ambos os materiais.

2.4 Fotobiomodulação a LED

A terapia com luz é um dos métodos terapêuticos mais antigos utilizados pelos humanos. Segundo Smith (2005), em fototerapia o importante é o comprimento de onda da luz, não a coerência, ou a ausência da mesma. Entretanto, o significado clínico da coerência ainda é controverso. Inicialmente,

se atribuía os efeitos do laser à coerência, mas foi mostrado que fontes não coerentes também tem bons resultados (COMUNIAN *et al.*, 2017; SOARES *et al.*, 2017; PINHEIRO *et al.*, 2017).

Ao contrário do laser, os LEDs emitem luz usando emissão espontânea de radiação, enquanto os lasers produzem emissão estimulada de radiação, outra diferença significativa entre lasers e LEDs é a maneira como a energia é fornecida. Os LEDs fornecem uma entrega muito mais suave dos mesmos comprimentos de onda de cura, além de reduzir significativamente o consumo de energia (PINHEIRO *et al.*, 2011, ROSA *et al.*, 2016). Assim, o LED tem uma distribuição espectral diferente, talvez interagindo com um maior número de fotorreceptores (TACHIAHRA *et al.*, 2002; PINHEIRO *et al.*, 2011). Os LEDs têm ângulos ou feixes de luz mais amplos e maiores efeitos de dispersão da luz, que fornecem uma distribuição uniforme da energia luminosa em áreas mais amplas de tratamento, resultando em menor tempo de tratamento (PINHEIRO *et al.*, 2011). Além disso, a fototerapia no infravermelho é considerada livre de riscos e foi aprovada pela FDA para uso em seres humanos (DESMET *et al.*, 2006).

Estudos recentes (ROSA *et al.*, 2016; SOARES *et al.*, 2017) mostraram que a fotobiomodulação a LED induz um processo de reparo mais rápido e com osso recém-formado de boa qualidade. Essas características foram observadas quando se utilizou parâmetros semelhantes à fotobiomodulação laser. É possível que o mecanismo envolvido seja semelhante à absorção da luz pelo citocromo-C-oxidase presente na membrana mitocondrial (GERBI *et al.*, 2008; PINHEIRO *et al.*, 2011; SOARES *et al.*, 2017). Apesar do aumento de relatos bem-sucedidos de aplicações de diferentes fototerapias em muitas áreas, seu uso no reparo ósseo associado cimentos biocerâmicos ainda é escasso e precisa ser mais estudado.

O uso da fotobiomodulação a LED, também mostrou resultados satisfatórios no reparo ósseo submetido a implante de biomaterial, com aumento significativo da neoformação óssea e melhor desempenho na deposição e organização das linhas basofílicas no tecido ósseo recém-formado, caracterizando, um estágio mais avançado do processo de reparo ósseo (PINHEIRO *et al.*, 2012; SOARES *et al.*, 2015). Em estudo realizado por Pinheiro *et al.* (2012), através de análises histológica e morfométrica, notou-se que o uso da luz LED em associação com MTA, causou menos inflamação e aumentou a

deposição de colágeno. No entanto, em estudo realizado posteriormente, com uso de biomaterial, não se observou um aumento significativo da deposição de fibras colágenas com uso da fotobiomodulação a LED (PINHEIRO *et al.*, 2017).

3. OBJETIVO GERAL

O objetivo desse estudo foi avaliar os efeitos da fotobiomodulação a LED na resposta do tecido ósseo de ratos após a implantação ou não dos cimentos endodônticos biocerâmicos, BioMTA e Biodentine.

3.1 Objetivos específicos

- Descrever e comparar, histologicamente as alterações no tecido ósseo e deposição de fibras colágenas observadas em defeitos cirúrgicos confeccionados em fêmur de ratos submetidos ou não a fotobiomodulação a LED;

- Descrever e comparar, histologicamente as alterações no tecido ósseo e deposição de fibras colágenas observadas após a implantação do cimento endodôntico biocerâmico BioMTA em defeitos cirúrgicos confeccionados em fêmur de ratos submetidos ou não a fotobiomodulação a LED;

- Descrever e comparar, histologicamente as alterações no tecido ósseo e deposição de fibras colágenas observadas após a implantação do cimento endodôntico biocerâmico Biodentine em defeitos cirúrgicos confeccionados em fêmur de ratos submetidos ou não a fotobiomodulação a LED.

4. METODOLOGIA

4.1. Respaldo Ético da Pesquisa

Este experimento em animais seguiu as normas de conduta de experimentação animal da Faculdade de Medicina Veterinária e Zootecnia da Universidade Federal da Bahia (UFBA) e foi iniciado após aprovado pela Comissão de Ética na Experimentação Animal (CEEA) desta Instituição (ANEXO 1), de acordo com a LEI Nº 11.794, de 8 de outubro de 2008.

4.2 Delineamento

Este é um estudo do tipo transversal, descritivo e comparativo.

4.3 Amostra

Foram utilizados 26 ratos albinos da espécie *Rattus norvegicus*, classe *Mammalia*, ordem *Roedentia*, da linhagem *Wistar*, adultos jovens, machos, com idade aproximada de dois meses, pesando entre 200 e 250 gramas cada um, obtidos do Centro de Criação de animais SupriLab – Suprimentos de laboratório e biotério LTDA (Cachoeira-Ba, Brasil).

Os animais foram mantidos no Laboratório de Experimentação Animal da Faculdade de Odontologia da UFBA em micro-isoladores de policarbonato individuais, forrados com maravalha autoclavada trocada diariamente, com temperatura de 22°C e luminosidade ambiente, acomodados em estante ventilada (INSIGHT Equipamentos Ltda. – Monte Alegre, Ribeirão Preto – São Paulo) com injeção direta de ar através de válvulas de aço inoxidável que possuem fechamento automático. O equipamento possui painel com comando por teclado, tipo membrana, com sensor de pressão diferencial, indicador de alarme luminoso da troca de filtros e problemas de pressão e vazão. Além disso, possui sistemas independentes de insulfamento e exaustão de ar, que proporciona um baixo índice de infecções, eliminação de odores provenientes das excreções, e baixo volume de ruídos. A alimentação dos animais foi realizada com a ração Labina® (Purina, São Paulo, Brasil) e água *ad libitum*.

4.4 Distribuição dos grupos

Os 26 animais foram divididos em 06 grupos como descrito no quadro 01.

Quadro 01 – Grupos experimentais e número de animais para análise. Fonte: autor.

Grupos	Animais (N)
Grupo C (defeito preenchido com coágulo)	3 animais
Grupo CLED (defeito preenchido com coágulo e em seguida irradiado com luz LED)	3 animais
Grupo MTA (defeito preenchido com BioMTA)	5 animais
Grupo MTALED (defeito preenchido com BioMTA e em seguida irradiado com luz LED)	5 animais
Grupo BIO (defeito preenchido com Biodentine)	5 animais
Grupo BIOLED (defeito preenchido com Biodentine e em seguida irradiado com luz LED)	5 animais
Total	26 animais

Os cimentos utilizados foram o BioMTA (Intradent, Yuseong City, Daejeon, Coréia) e o Biodentine (Septodont, Saint-Maur-der Fôsses, França) cuja composição é descrita no quadro 02.

Nos grupos GMTA, GBIO, GC os defeitos ósseos foram preenchidos com o respectivo cimento biocerâmico ou coágulo e não foi realizada fotobiomodulação a LED. Nos grupos GMTALED, GBIOLED e GCLED os defeitos ósseos foram preenchidos com o respectivo cimento biocerâmico ou coágulo e foi realizada fotobiomodulação a LED.

Quadro 02 – Composição dos cimentos segundo fabricantes. Fonte: autor.

Composição	BioMTA	Biodentine
Pó	Silicato tricálcico Silicato dicálcico Aluminato tricálcico Ferro aluminato tetracálcico Óxido de Zircônia	Silicato tricálcico Óxido de zircônio Óxido de cálcio Carbonato de cálcio Pigmento amarelo Pigmento Vermelho Óxido de Ferro marrom
Líquido	Água destilada	Cloreto de cálcio dihidratado Areo Água purificada

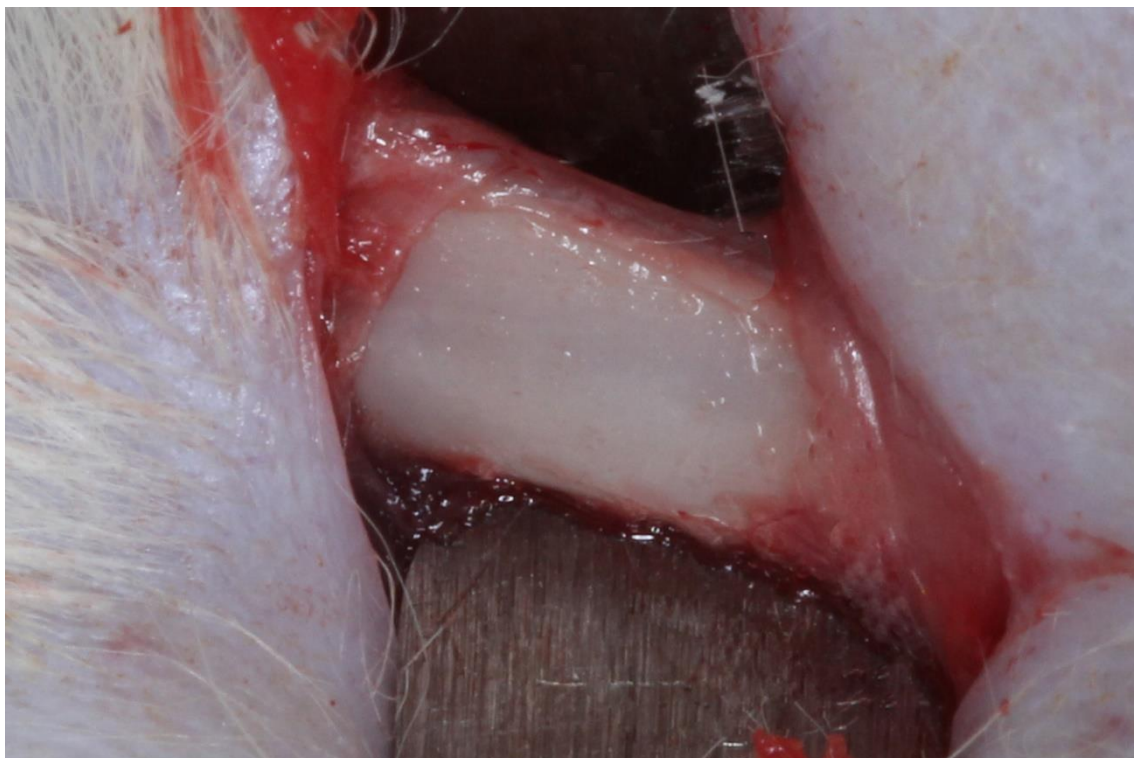
4.5 Cirurgia experimental

Os procedimentos cirúrgicos foram realizados utilizando instrumental cirúrgico, organizado em conjuntos individuais, esterilizados em autoclave, bem como, equipamentos de proteção individual, observando-se todos os princípios de rotina de assepsia e a técnica cirúrgica foi a mesma utilizada por Soares *et al.* (2015), em seu artigo.

Os animais foram submetidos à anestesia geral, com injeção intraperitoneal de Cloridrato de Quetamina 10% (Cetamin[®], Syntec, Cotia, SP, Brasil), na posologia de 0,12ml/100g e Cloridrato de Xilazina 2% (Xilazina[®], Syntec, Cotia, SP, Brasil) na posologia de 0,06ml/100g. Em seguida, foram posicionados em decúbito lateral direito para realização da tricotomia da região coxofemoral esquerda, seguida de antissepsia do campo operatório com Clorexidina a 2 % (Riohex[®], Rioquímica, São José do Rio Preto, SP, Brasil). Para o isolamento da região, foi utilizado campo fenestrado estéril.

O acesso cirúrgico ao fêmur foi obtido por meio de uma incisão na pele e tecido subcutâneo, com utilização de bisturi tipo *Bard Parker* montado com lâmina nº15 (Solidor[®], Labor import, Osasco, SP, Brasil), seguindo o longo eixo do osso, com extensão aproximada de 2 cm. Após incisão da fáscia muscular, a musculatura da região foi divulsionada, com auxílio de uma tesoura tipo *Metzemaum* e uma pinça de dissecação, até a exposição do periósteo. Em seguida, o periósteo foi incisado e posteriormente descolado, com a utilização de um descolador de periósteo tipo Molt, para exposição da área óssea (Figura 01). Técnica cirúrgica realizada conforme descrito em estudo realizado por Pinheiro *et al.*, (2011).

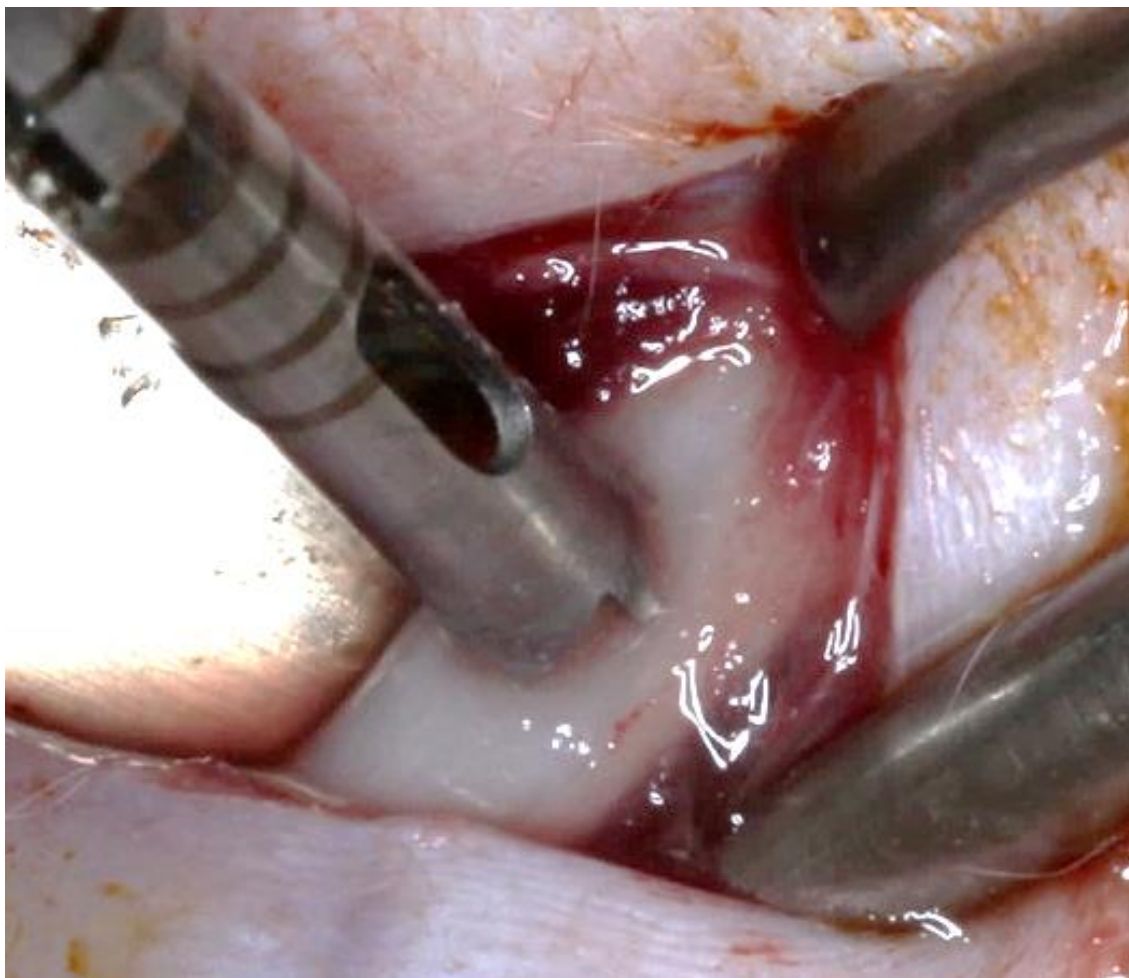
Figura 1. Acesso cirúrgico ao fêmur esquerdo do rato.



Fonte: autor.

Em seguida, a fim de padronizar a área operada, todas as cavidades ósseas foram confeccionadas no terço superior, da face lateral do fêmur esquerdo. A perfuração foi realizada através da utilização de broca tipo trefina (SIN – Sistema de Implantes, São Paulo, SP, Brasil) com 2 mm de diâmetro, montada em contra-ângulo com redução de 16:1 (Figura 2) torque de 35N (NSK, Nakanishi Inc. – Tochigi, Japão) em ângulo reto com a cortical óssea. O diâmetro foi obtido em virtude do diâmetro da própria broca e após o rompimento da cortical e acesso à região medular do osso (Figura 03). Uma sondagem foi realizada por meio de uma sonda milimetrada de Williams para constatar a profundidade de 3 mm da cavidade. Todas as perfurações ocorreram sob refrigeração constante com solução fisiológica estéril de cloreto de Sódio a 0,9%, com auxílio de um motor cirúrgico para implantes, com redução de velocidade de 16:1 (NSK, Nakanishi Inc. – Tochigi, Japão).

Figura 02. Perfuração óssea com broca trefina.



Fonte: autor.

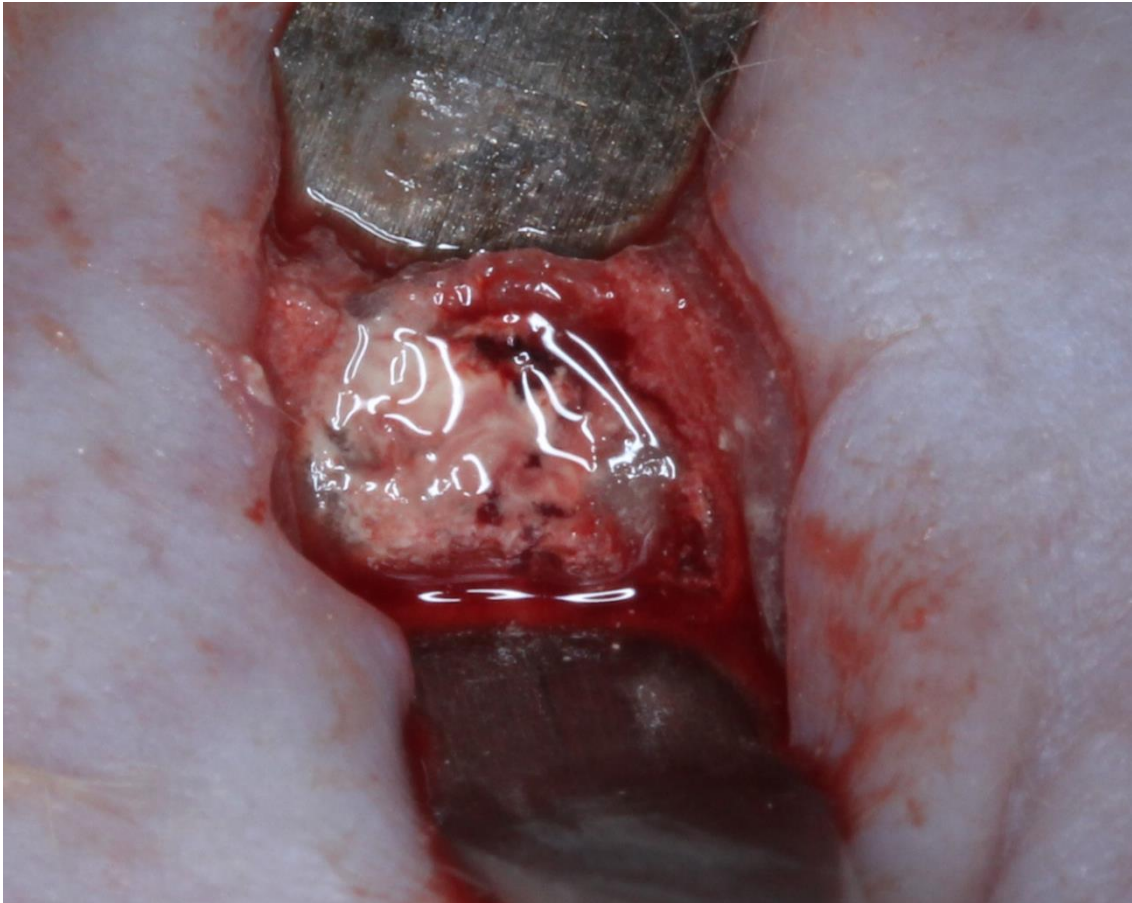
Figura 03. Defeito ósseo de 2 mm de diâmetro realizado no fêmur esquerdo do rato.



Fonte: autor.

Após a confecção do defeito ósseo, os animais dos grupos experimentais, receberam o implante dos cimentos biocerâmicos BioMTA e Biodentine. A inserção do material foi realizada com o auxílio de espátula dupla silicato 6335 nº 1 (Fava[®], Fava Metalúrgica, São Paulo, SP, Brasil), até preenchimento total do defeito (Figura 04). O BioMTA foi manipulado de acordo com as orientações do fabricante, despejando-se 0,3 g do pó na placa de vidro, junto com 3 gotas do líquido, misturando-os suavemente por 40 segundos. O Biodentine também foi manipulado conforme orientação do fabricante, colocando-se a cápsula do produto após aberta no suporte, e em seguida acrescentada cinco gotas do líquido da ampola. Após fechar a cápsula, a mesma foi colocada em um amalgamador (Pennwalt Capmaster[®], SS White Dental Product International, Estados Unidos) com velocidade de 4000/ 4200 rpm por 30 segundos.

Figura 04. Defeito ósseo preenchido pelo cimento biocerâmico.



Fonte: autor.

O procedimento de sutura, em todos os animais, foi realizado por planos, utilizando-se fio reabsorvível *catgut* simples, 2.0, agulhado, com 75 cm de comprimento, montado em agulha atraumática 3/8, circular/cilíndrica com 3 cm (Catgut®, Technofio, Goiânia, GO, Brasil) nos planos internos (muscular e fascial). Para a sutura da pele, utilizou-se fio seda preto, trançado 3.0, com 45 cm de comprimento, montado em agulha de 1,7 cm, 3/8 circular/ triangular (Seda®, Technofio, Goiânia, GO, Brasil), em pontos interrompidos.

Após o procedimento cirúrgico os animais foram acondicionados nos micro-isoladores individuais, devidamente identificados, e mantidos em observação constante e diária por todo o período de estudo.

4.6 Protocolo de fotobiomodulação a LED

Os animais dos grupos experimentais GMTALED, GBIOLED e GCLED receberam a irradiação com luz LED (FisioLED®, MMOptics, São Carlos, SP,

Brasil) realizada seguindo o protocolo ($\lambda 850 \pm 10$ nm, 150 mW, emissão contínua, $\Phi = 0,5$ cm², 20,4 J/cm² por sessão, t = 64 s, 142,8 J/cm² por tratamento) (Figura 05). O protocolo foi iniciado imediatamente após o procedimento cirúrgico, sendo aplicado com a ponteira do equipamento posicionada em contato com a pele do animal e perpendicular ao osso fêmur, em apenas um ponto sobre o defeito ósseo, devido ao tamanho da ponteira. As irradiações foram repetidas a cada 48 horas durante 15 dias, totalizando 8 aplicações.

Figura 05. Aparelho utilizado para fotoibimodulação LED (FisioLED®, MMOptics, São Carlos, SP, Brasil).



Fonte: autor.

4.7 Morte e obtenção da amostra

Para a obtenção das amostras teciduais, os animais foram mortos de acordo com o período experimental de 15 dias após as cirurgias. Para a morte dos animais foi utilizada uma injeção de dose letal de uma associação de anestésico com analgésico/relaxante muscular [Cloridrato de cetamina a 10% (cetamin), 6ml/kg e Cloridrato de xilazina a 2% (xilazin), 1,5ml/kg, ambos por via

intraperitoneal]. Os indicativos de morte foram a ausência de movimentos respiratórios, batimentos cardíacos e perda dos reflexos.

Após a constatação da morte do animal, foi realizada uma incisão longitudinal, acompanhando a cicatriz cutânea existente ao longo do fêmur operado. Após exposição óssea e localização da ferida cirúrgica, a peça foi removida, recortando o osso a aproximadamente 5 mm de cada lado da ferida (Figura 06), com auxílio de motor cirúrgico de baixa rotação com irrigação externa profusa, com disco diamantado dupla face (Fava[®], Fava Metalúrgica, São Paulo, SP, Brasil), montado em peça reta (NSK, Nakanishi Inc. – Tochigi, Japão).

Figura 06. Obtenção da amostra para análise.



Fonte: autor.

A peça cirúrgica foi colocada em frascos etiquetados, contendo solução de paraformaldeído tamponado 10%, sendo fixados por três dias e em seguida encaminhados ao Laboratório de Patologia Oral do Departamento de Propedêutica e Clínica Integrada da Faculdade de Odontologia da Universidade Federal da Bahia (FOUFBA), onde foram processados.

4.8 Processamento histológico

Após o período de fixação (72 horas), as amostras foram descalcificadas em solução de ácido fórmico 5% por um período de 15 dias e, em seguida submetidas ao processamento pela técnica histológica de rotina (Dissolveu a hematoxilina no álcool; dissolveu o alumen na água morna; juntou-se as duas soluções adicionando-se o óxido amarelo de mercúrio; deixou-se ferver em um balão volumétrico durante 5 minutos; resfriou a temperatura ambiente, em seguida filtrou-se com papel filtro e incluídas em parafina. Os cortes foram realizados em micrótomo com espessura de 5 μm , semi-seriados de 1/5, corados por hematoxilina-eosina (HE).

Para possibilitar a avaliação da deposição colagênica, utilizou-se a coloração picrossírius, através do Histokit Hematoxilina-Picrossírius (Easypath®, Erviagas, Iduatuba-SP, Brasil). Os cortes foram realizados com espessura de 5 micrômetros e dispostos em lamínas de vidro. As lamínas foram submetidas a desparafinização em xilol (duas vezes por 15') e reidratadas em soluções de etanol com concentrações decrescentes até água. A coloração foram realizadas com solução de Sirius Red a 0,1% adicionada por uma hora. Após esse processo as lamínas foram lavadas durante 2 minutos em solução de ácido clorídrico 0,01N. Por fim foi realizada contra-coloração com Hematoxilina de Harris por 6 minutos, seguido pela passagem por etanol absoluto, clarificação com xileno e montagem com resina. As mixoglobuloses foram minuciosamente analisadas em microscopia de luz polarizada e caracterizada como negativo ou positivo.

Os espécimes processados foram avaliados histologicamente, através de análise descritiva comparativa, sob microscopia de luz (AxioStar®, Zeiss, Germany), no Laboratório de Patologia Oral do Departamento de Propedêutica e Clínica Integrada da FOUFBA, em estudo cego por um único patologista experiente, de forma semiquantitativa, de acordo com os critérios encontrados no Tabela 01.

4.9 Análise estatística

Para análise estatística utilizou-se o teste não paramétrico do qui-quadrado de Pearson, com o nível de significância de 5% para comparação das proporções entre os grupos. Foi usado o *software* SPSS (*Statistical Package for the Social Sciences*) v 22.0, para Windows.

Tabela 01 – Critérios semi-quantitativos utilizados na avaliação histológica.

Critérios	Ausente	Discreto	Moderado	Intenso
Reabsorção óssea	0-5% de reabsorção de osso remanescente e/ou leito cirúrgico	Presença 5-25% de reabsorção de osso remanescente e/ou leito cirúrgico	25-50% de reabsorção de osso remanescente e/ou leito cirúrgico	>75% de reabsorção de osso remanescente e/ou leito cirúrgico
Neoformação óssea	0-5% de neoformação de osso similar ao adjacente não tratado	5-25% de neoformação de osso similar ao adjacente não tratado	25-50% de formação de osso similar ao adjacente não tratado	>50% de formação de osso similar ao adjacente não tratado
Infiltrado inflamatório	0-5% de céls. Mononucleares	<5-25% de céls. Mononucleares	25-50% de céls. Mononucleares	>50% de céls. Mononucleares
Deposição Colagênica	0-5% de deposição colagênica	5-25% de deposição colagênica	25-50% de deposição colagênica	>50% de deposição colagênica
Fibrose	Presença 0-5% de fibrose no defeito ósseo	Presença 5-25% de fibrose no defeito ósseo	Presença 25-50% de fibrose no defeito ósseo	>50% de fibrose no defeito ósseo
Reação de corpo estranho	Presença 0-5% de reação de corpo estranho no defeito ósseo	Presença 5-25% de reação de corpo estranho no defeito ósseo	Presença 25-50% de reação de corpo estranho no defeito ósseo	>50% de reação de corpo de estranho no defeito ósseo
Pavimentação osteoblástica	Presença 0-5% de pavimentação osteoblástica no osso neoformado	Presença 5-25% de pavimentação osteoblástica no osso neoformado	Presença 25-50% de pavimentação osteoblástica no osso neoformado	Presença >50% de pavimentação osteoblástica no osso neoformado

Fonte: autor.

5. RESULTADOS

5.1 Análise descritiva

Grupo Coágulo

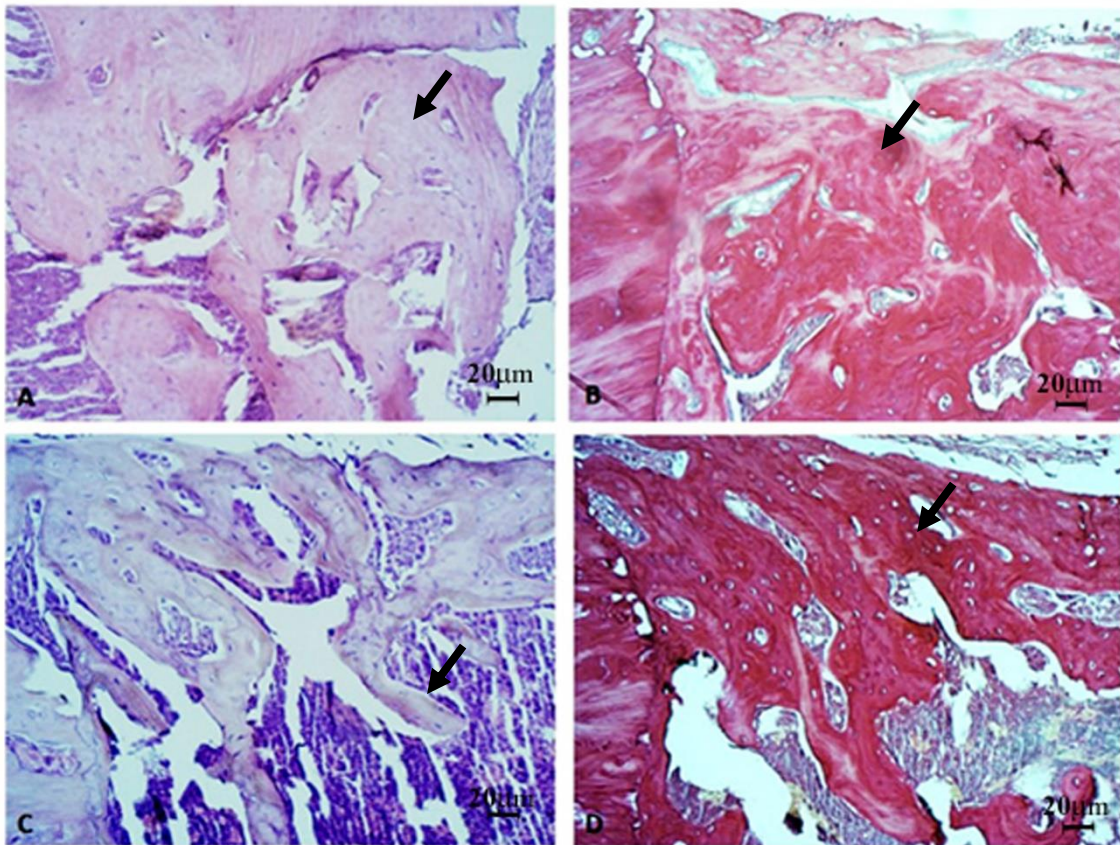
Todos os espécimes desse grupo (100%), mostraram-se com intensa neoformação óssea. O defeito ósseo apresentava-se preenchido por osso neoformado caracterizado por trabéculas ósseas espessas e interconectadas (Figura 07.A), com osteócitos regulares e linhas basofílicas paralelas entre si e não grosseiras, as quais por vezes não eram confluentes. Pavimentação osteoblástica foram eventualmente vistas, 67% dos espécimes de forma discreta e 33% de forma moderada. De permeio, observou-se intensa inflamação crônica em 100% dos espécimes. Em 33% dos espécimes observou-se diferenciação cartilaginosa. O osso neoformado era preenchido por colágeno (Figura 07.B) maduro de forma moderada (33% dos espécimes) a intensa (67% dos espécimes). Presença de reabsorção focal em 33% dos espécimes, os demais apresentavam-se com ausência de fibrose. A reação de corpo estranho permaneceu ausente em 100% dos espécimes.

Grupo Coágulo + LED

Foi observado que 66% dos espécimes desse grupo mostraram intensa neoformação óssea, e em apenas 33% essa neoformação apresentava-se moderada e o defeito parcialmente preenchido por trabéculas ósseas não espessas e não conectadas (Figura 07.C). De modo geral, o osso neoformado apresentava-se como trabéculas ósseas espessas com osteócitos típicos, linhas basofílicas paralelas entre si e por vezes grumos, pavimentação osteoblástica moderada em 66% dos espécimes e intensa em 33%. De permeio, havia intenso infiltrado inflamatório em 100% dos espécimes. Inflamação crônica apresentava-se predominante, embora em um dos espécimes mostrou-se também inflamação aguda e um outro tecido de granulação. A reabsorção óssea foi discreta em 66% dos espécimes e ausente em 33% dos espécimes. A fibrose mostrou-se ausente em 33% dos espécimes, discreta em 33% e moderada em 33% dos espécimes. Diferenciação cartilaginosa foi vista em 33% dos espécimes. O colágeno

preencheu todo o osso neoformado (Figura 07.D) em 100% dos espécimes avaliados e estava presente nas áreas de fibrose.

Figura 07. (A): Grupo coágulo – Neoformação óssea intensa e trabéculas ósseas conectadas (H/E, 20X). B: Grupo coágulo - Intensa deposição colagênica distribuída por todo osso neoformado (picrossírius, 20X). C: Grupo Coágulo LED - defeito parcialmente preenchido por trabéculas ósseas não espessas e não conectadas (H/E, 20X). D: Grupo coágulo LED - Intensa deposição colagênica distribuída por todo osso neoformado (picrossírius, 20X).



Fonte: autor.

Grupo MTA

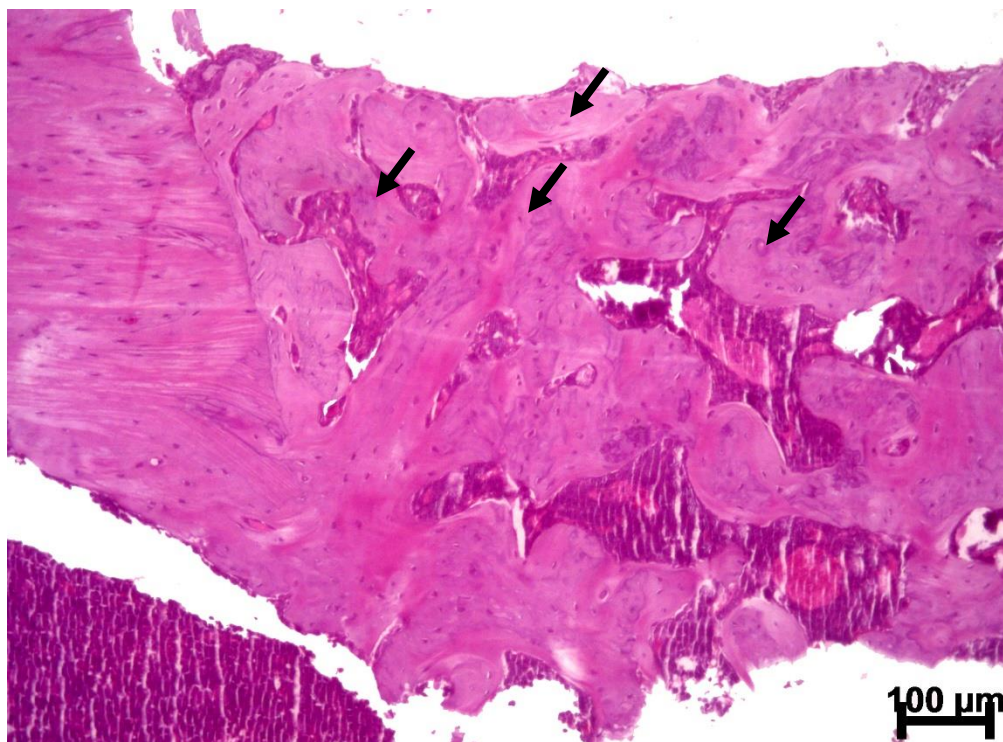
No período experimental avaliado, foi possível observar que a maioria dos espécimes desse grupo (60%) apresentaram neoformação óssea intensa e 40% apresentaram neoformação óssea moderada. Dentre os espécimes com intensa neoformação óssea, esses estavam completamente preenchidos por osso neoformado, apesar de ainda apresentar remanescente castanho enegrecido de biomaterial. Enquanto os espécimes com moderada neoformação óssea (40%)

mostraram-se parcialmente preenchidos pelo osso neoformado. Foi observado uma discreta pavimentação osteoblástica em 80% dos espécimes deste grupo e o restante do defeito ósseo apresentava-se preenchido, ou parcialmente preenchido, por uma rede eosinofílica e grumos de preenchimento remanescente de cor castanho enegrecido birreagentes.

Outras vezes evidenciou-se, o defeito quase que completamente ocupado por intensa inflamação histiocitária (80% dos espécimes), permeado por espaços pequenos ou grandes contendo no seu interior uma trama de remanescente do biomaterial, antes descrito, circundado por discreta reação gigantocelular tipo corpo estranho em 60% dos espécimes deste grupo.

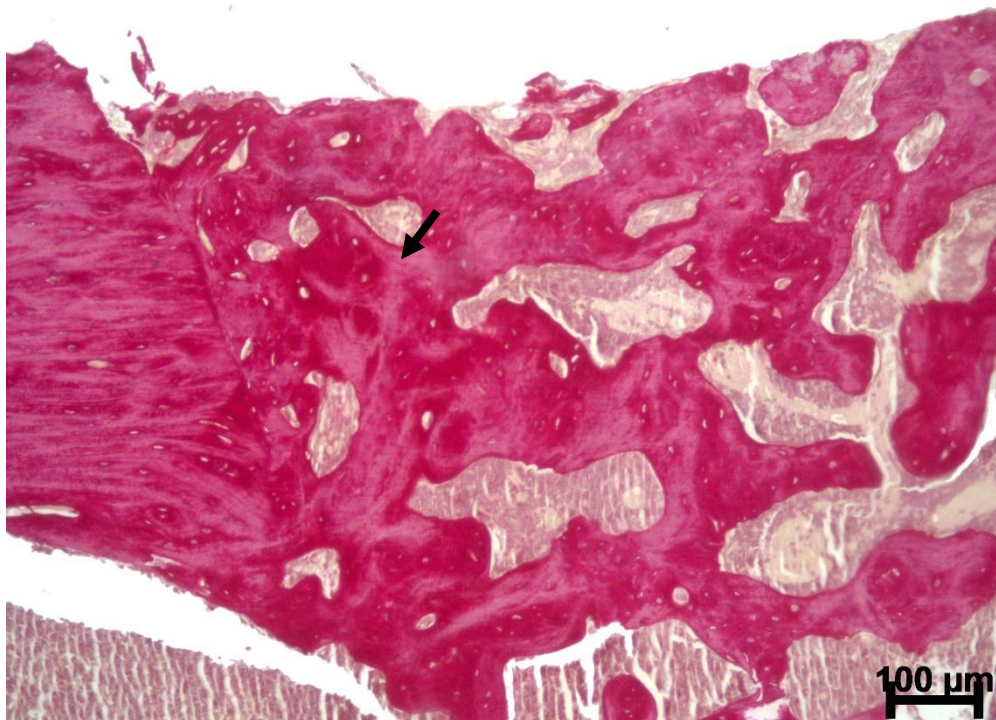
O osso neoformado no defeito completamente preenchido estava sob a forma de trabéculas ósseas espessas mais regulares, interconectadas, apresentando linhas basofílicas, muitas vezes grosseiras, osteócitos regulares e em uma discreta área de reabsorção focal em 80% dos espécimes (Figura 08). Os espaços entre o osso neoformado encontravam-se com intensa inflamação crônica (80% dos espécimes), entretanto o osso neoformado pertencente ao defeito apresentava trabéculas ósseas mais irregulares, de espessura variável e eventualmente interconectadas. O colágeno encontrava-se maduro e preenchendo todo o osso neoformado (100% dos espécimes), sendo que na área correspondente a inflamação era irregular, com espaços entre si, e apresentava-se muito discreto (Figura 09).

Figura 08. Osso neoforado no defeito (GMTA) completamente preenchido e sob a forma de trabéculas ósseas espessas mais regulares. Apresentando osteócitos regulares aprisionados na matriz óssea (H/E, 20X).



Fonte: autor.

Figura 09. Colágeno maduro preenchendo todo o osso neoforado (GMTA), este apresenta-se irregular e discreto (Picrossírius, 20X).



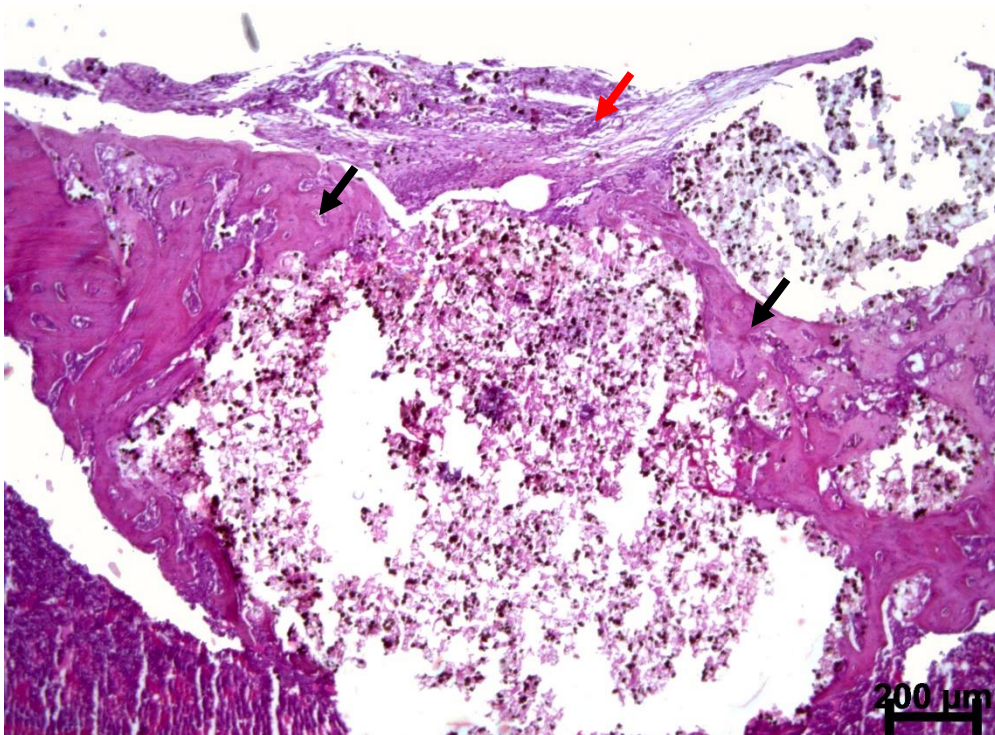
Fonte: autor.

Grupo MTALED

A maioria dos espécimes desse grupo (80%) encontravam-se preenchidos com neoformação óssea moderada, também preenchidos por numerosos espaços contendo uma rede anfifílica em meio a pequenos grumos de biomaterial dourado e birreagente, que apresentava uma intensa reação gigantocelular tipo corpo estranho, na maioria dos espécimes (60%).

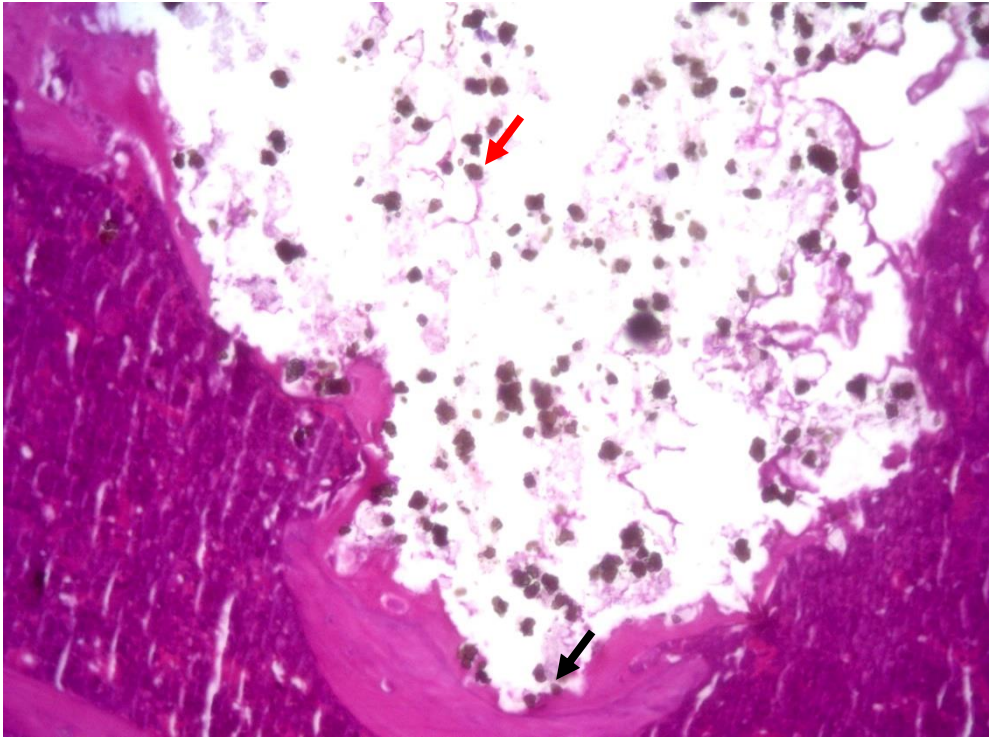
O osso neoformado era composto por trabéculas ósseas irregulares de espessura variável, interconectadas ou não, com osteócitos regulares ou não, linhas basofílicas grosseiras (Figura 10). Discreta (60%) a moderada (40%) pavimentação osteoblástica, discreta reabsorção óssea (80%) e fibrose (60%). Houve também moderada (60%) a intensa inflamação crônica (20%) (Figura 11). O osso neoformado estava preenchido por colágeno maduro (100%) e destacadas áreas de fibrose.

Figura 10. Osso neoformado (GMTALED) composto por trabéculas ósseas irregulares (seta preta) de espessura variável, interconectadas, com osteócitos regulares e linhas basofílicas grosseiras. Discreta pavimentação osteoblástica e presença de fibrose (seta vermelha) (H/E).



Fonte: autor.

Figura 11. Presença de intenso infiltrado inflamatório (seta vermelha) (GMTALED) e reabsorção óssea (seta preta), (H/E).



Fonte: autor.

Grupo BIO

Em apenas 20% dos espécimes desse grupo o defeito ósseo estava preenchido por intensa neoformação óssea; nestes e nos outros espécimes o osso neoformado encontrava-se ora de forma regular, ora de forma irregular. Apresentava, por vezes, trabéculas ósseas interconectantes (Figura 12.A), áreas de pavimentação osteoblástica e outras áreas com diferenciação cartilaginosa. Permeados por inflamação crônica e aguda intensa em 60% dos espécimes. Eventualmente foi possível observar os defeitos ósseos preenchidos, consideravelmente, pelo biomaterial, que era representado por uma trama eosinofílica irregular, granular, em meio a granulos acantomatoso birreagentes, mostrando muitas vezes uma moderada reação gigantocelular tipo corpo estranho (60% dos espécimes). Áreas de discreta reabsorção óssea foram vistas em 100% dos espécimes. Bem como áreas de discreta (20%), moderada (20%) e ausência de fibrose (60% dos espécimes). O colágeno maduro foi observado

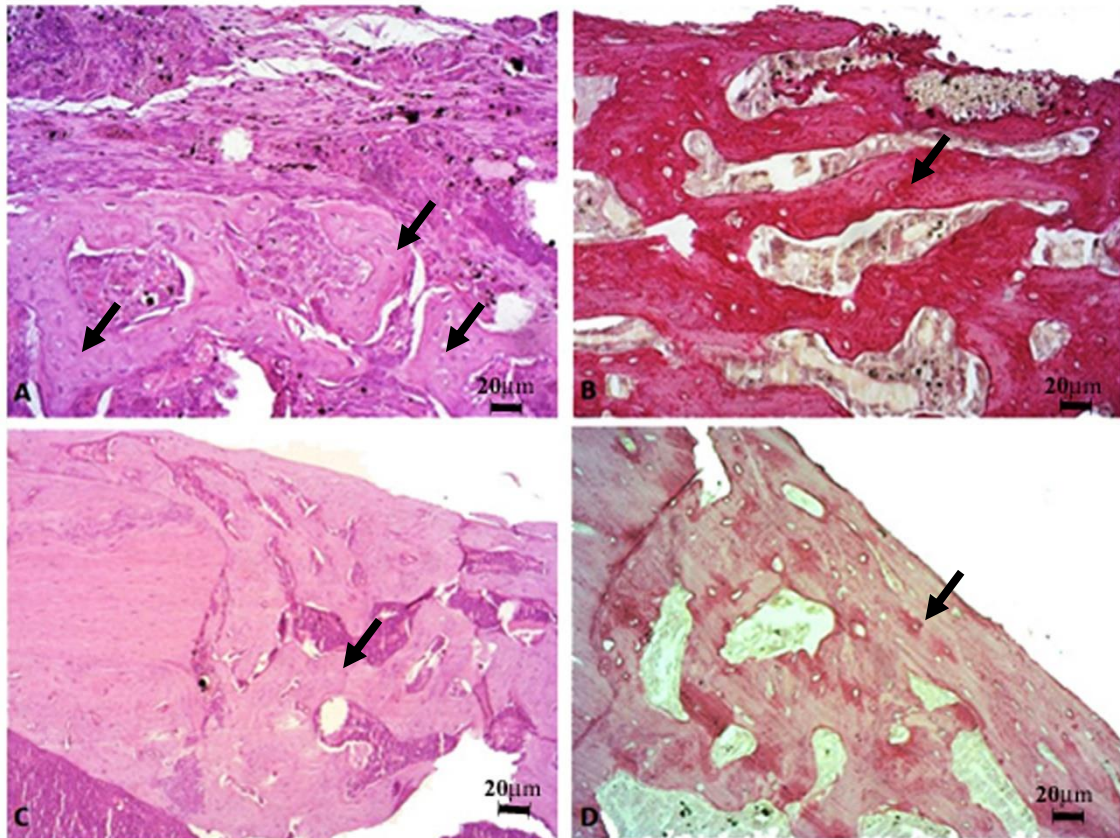
(Figura 12.B), de forma intensa em 100% dos espécimes, ocupando todo o osso neoformado em quase 100% do trabeculado ósseo. Nos locais onde se observou o biomaterial, o colágeno estava irregular e como se fossem pequenos grumos confluentes.

Grupo BIOLED

Em 60% dos espécimes desse grupo, observou-se intensa neoformação óssea, 20% com moderada e 20% com discreta. Quase todo o defeito ósseo estava preenchido por osso neoformado, composto por trabéculas ósseas de espessuras variadas e interconectadas (Figura 12.C), exibindo por vezes discreta pavimentação osteoblástica em 60% dos espécimes e áreas focais de discreta reabsorção óssea em 60% dos espécimes. De permeio, foi possível observar intensa inflamação crônica em 80% dos espécimes, bem como remanescente de material de natureza exógena caracterizado por uma trama, ora mais granular ou mais regularmente distribuído de material de aspecto granular eosinofílico ou granular pequeno de material castanho, por vezes birreagente

Observou-se fibrose em 20% dos espécimes e em 80% a fibrose estava ausente. Além disso, foi possível observar discreta reação gigantocelular tipo corpo estranho em 80% dos espécimes. O colágeno maduro foi observado (Figura 12.D), de forma intensa em 100% dos espécimes, ocupando todo o osso neoformado em quase 100% do trabeculado ósseo, que se observou o biomaterial, o colágeno estava irregular e como se fossem pequenos grumos confluentes.

Figura 12. A: Grupo Biodentine – trabéculas ósseas de espessuras variadas e interconectadas (H/E, 20X). B: Grupo Biodentine – colágeno maduro distribuído por todo osso neoformado (picrossírius, 20X). C: Grupo Biodentine LED - Quase todo o defeito ósseo preenchido por osso neoformado, composto por trabéculas ósseas espessas e interconectadas (H/E, 20X). D: Grupo Biodentine LED - colágeno maduro distribuído por todo osso neoformado (picrossírius, 20X).



Fonte: autor.

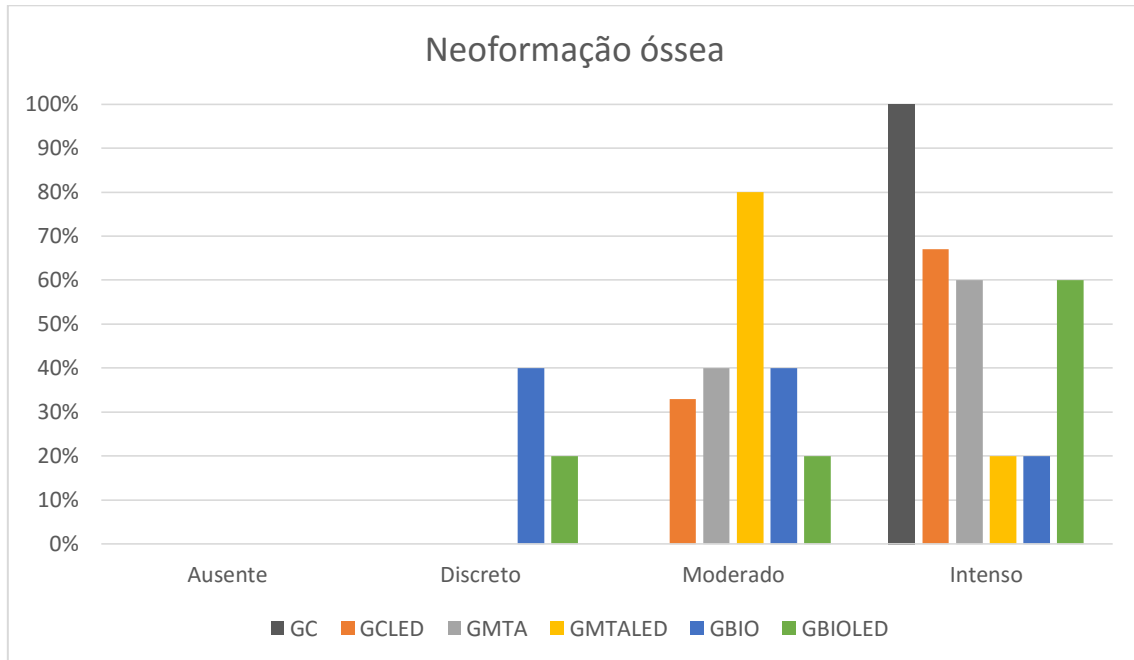
5.2 Análise estatística

O resultado da análise semi-quantitativa, seguindo os critérios da Tabela 01, foi obtido e organizado em percentual. A partir dos valores obtidos foi possível realizar a análise comparativa entre os grupos.

Na análise comparativa, utilizou-se o GC para comparação com os demais grupos, por se tratar do grupo controle utilizado nesta pesquisa. Notou-se que no critério de neoformação óssea o GMTA não apresentou diferença estatisticamente significativa ($p=0,068$) com o GC, enquanto os grupos GMTALED e GBIO apresentaram menor neoformação óssea (Figura 13), com

diferença estatisticamente significativa quando comparados ao coágulo ($p < 0,05$). Diante dessas comparações, nota-se que o GMTA, obteve uma melhor neoformação óssea que os grupos GMTALED e GBIO, e a luz LED não influenciou de forma significativa neste critério.

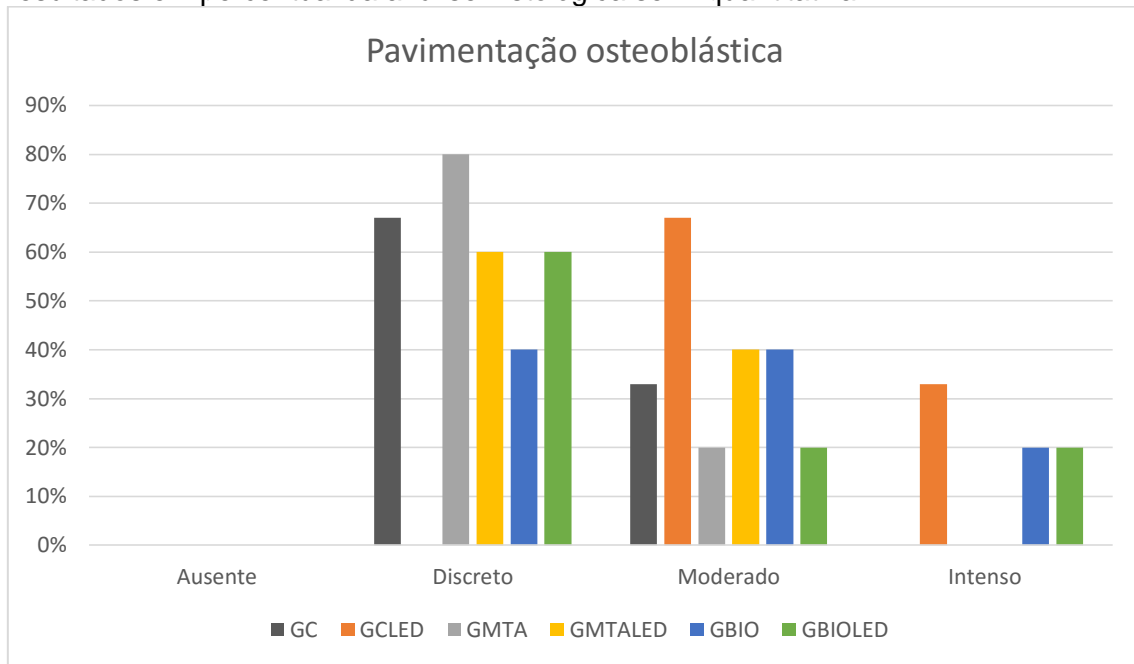
Figura 13. Representação gráfica da presença de neoformação óssea, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.



Fonte: autor.

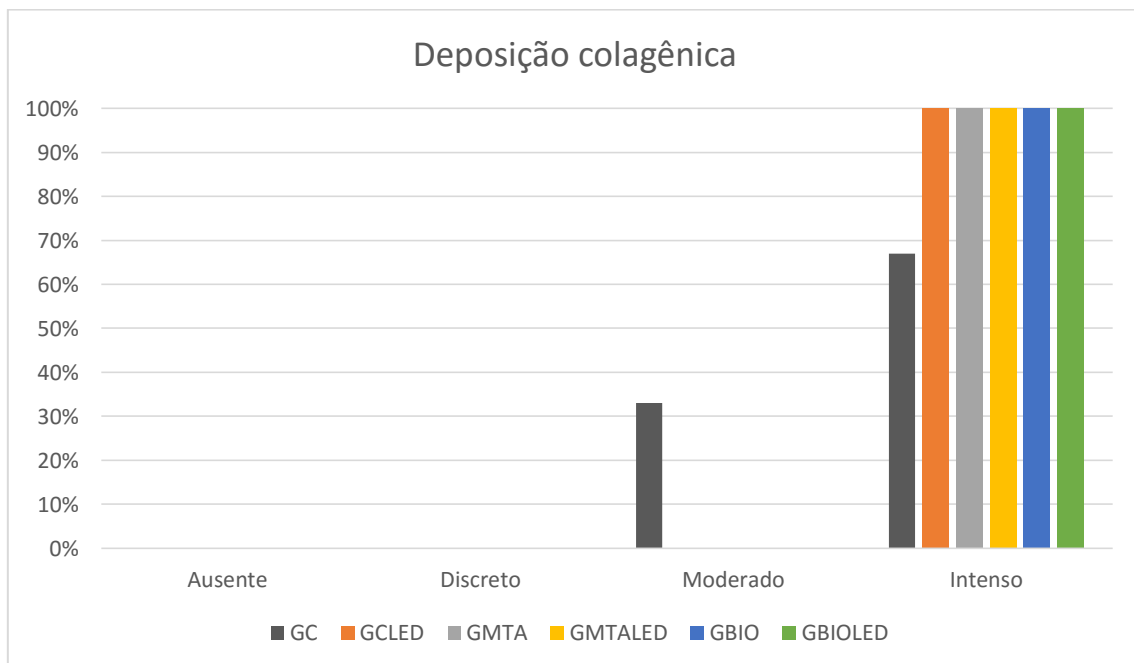
Nos critérios de pavimentação osteoblástica e deposição colagênica, não houve diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$) entre o GC e os demais grupos (Figuras 14 e 15). Desse modo, nota-se que os cimentos biocerâmicos e a fotobiomodulação a LED não influenciaram nesses critérios de reparo ósseo.

Figura 14. Representação gráfica da presença de pavimentação osteoblástica, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.



Fonte: autor.

Figura 15. Representação gráfica da presença de deposição colagênica, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.

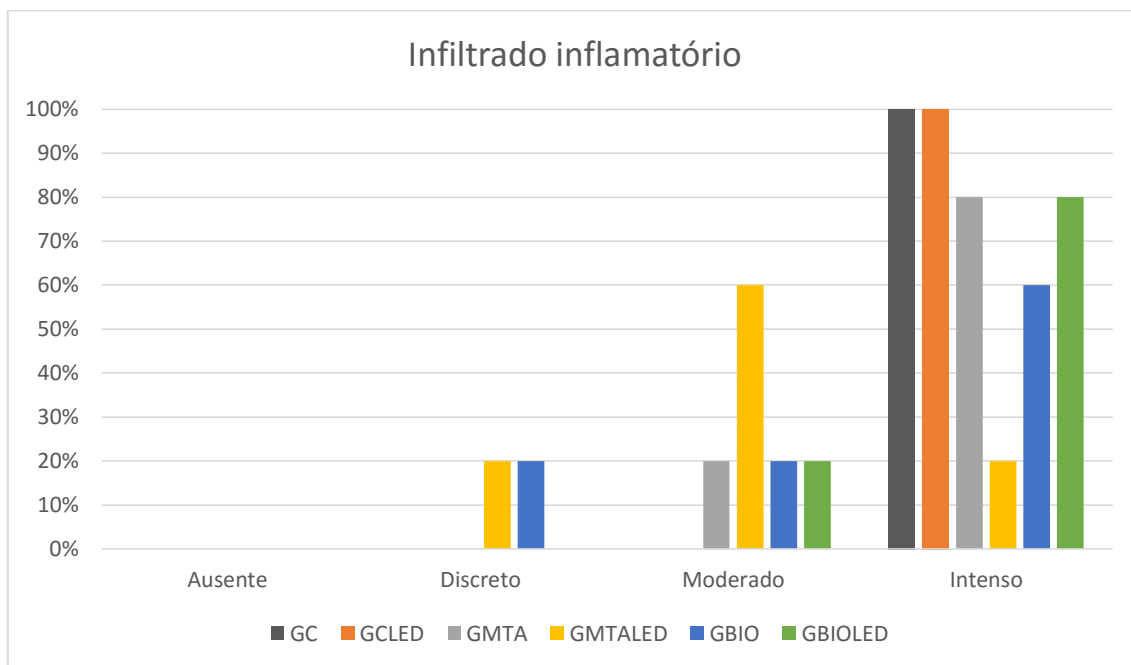


Fonte: autor.

O infiltrado inflamatório, mostrou-se intenso, em 100% dos espécimes, nos Grupos GC e GCLLED, no período avaliado. Evidenciando assim, que a

photobiomodulation a LED não influenciou na inflamação ($p > 0,05$). No entanto, notou-se diferença estatisticamente significativa ($p < 0,05$), na redução do infiltrado inflamatório, quando se comparou o GMTALED com o GC e GCLED (Figura 16).

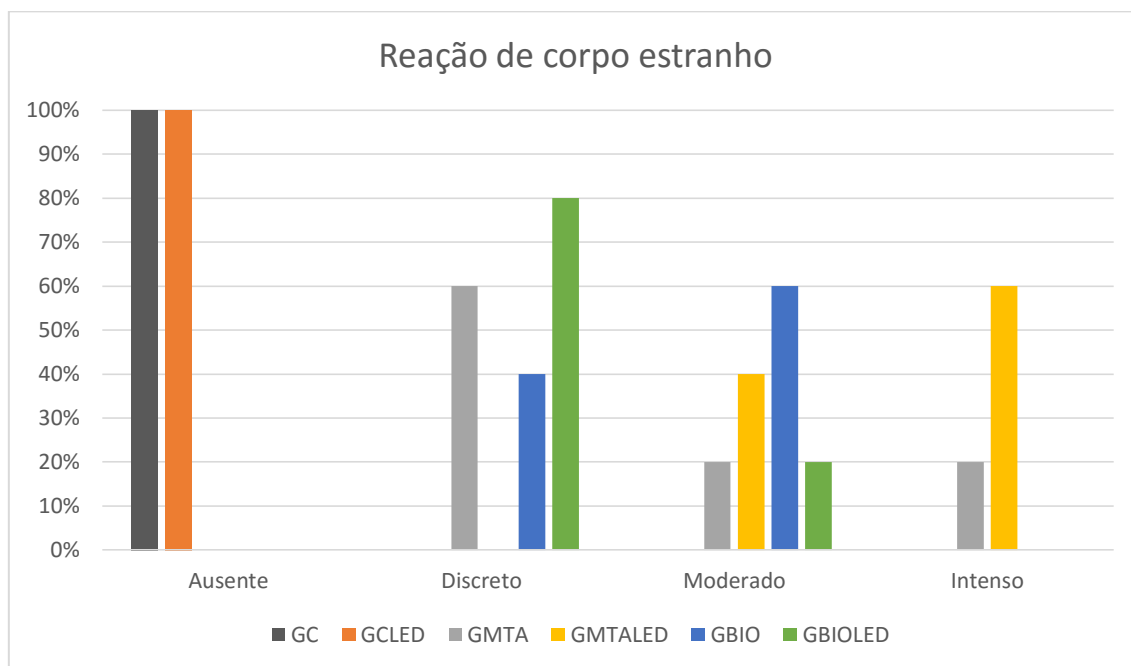
Figura 16. Representação gráfica da presença de infiltrado inflamatório, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.



Fonte: autor.

A reação de corpo estranho mostrou-se ausente, em todos os espécimes, dos grupos GC e GCLED. O GMTALED evidenciou intensa reação de corpo estranho e mostrou diferença estatisticamente significantes, quando comparado com o GBIO ($p=0,042$), GBIOLED ($p < 0,05$). Não houve diferença estatisticamente significativa entre os grupos GMTA e GBIO, na reação de corpo estranho (Figura 17).

Figura 17. Representação gráfica da presença de reação de corpo estranho, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa..



Fonte: autor

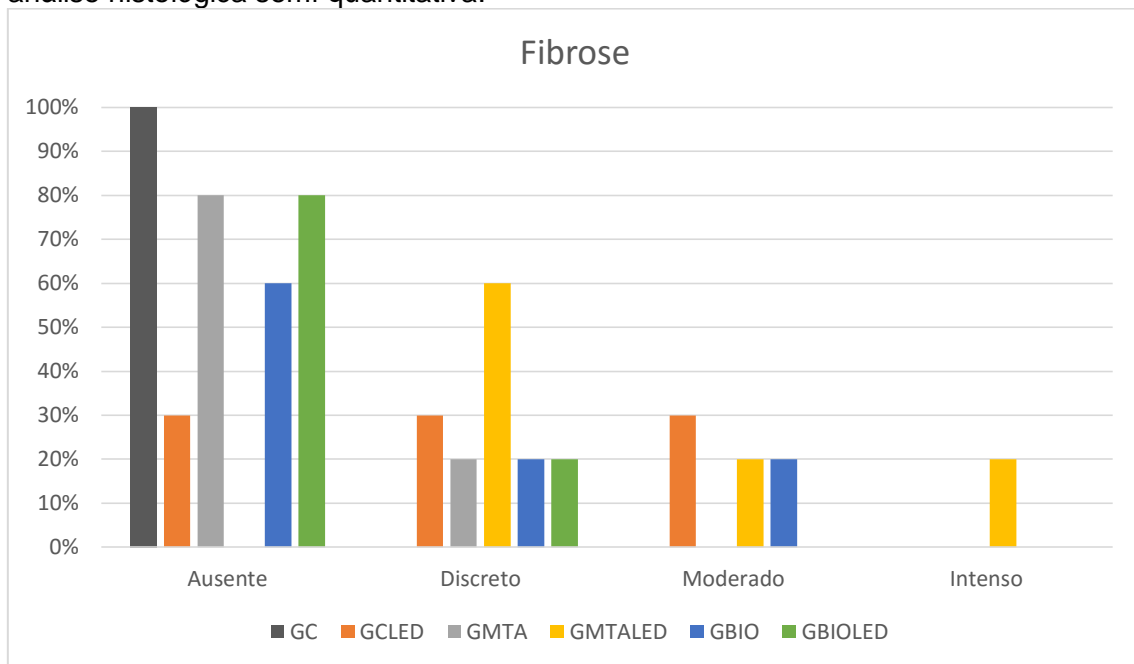
A fibrose foi menor nos grupos GMTA, GBIOLED e GC, onde não foram encontradas diferenças estatisticamente significantes ($p > 0,05$) entre eles. Na análise comparativa notou-se diferença estatisticamente significativa entre o GMTA e GMTALED, com aumento da fibrose no GMTALED (Figura 18) em relação ao GMTA ($p=0,02$).

A presença de reabsorção óssea foi maior no GMTALED (Figura 19) e estatisticamente significativa ($p=0,032$), quando comparado ao GC. Os demais grupos não apresentaram diferenças estatísticas ($p > 0,05$).

A análise dos resultados permite observar que o GMTA apresentou melhores resultados nos critérios avaliados, com maior neoformação óssea, menor formação de fibrose e discreta reabsorção óssea. E quando comparado com o GC, que é o grupo com melhor parâmetro de comparação para a reparação óssea normal, obteve resultados semelhantes nos critérios avaliados.

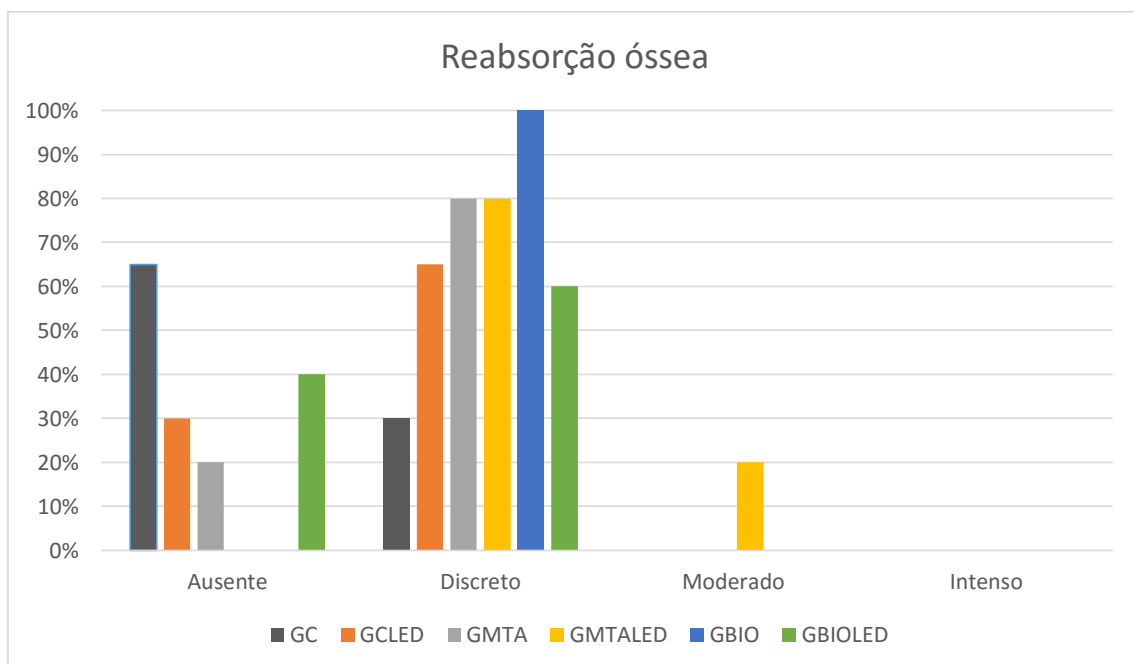
A fotobiomodulação a LED não evidenciou melhora no reparo ósseo nos grupos analisados, causando aumento da fibrose e da reabsorção óssea no GC. Além disso, na análise comparativa entre GMTA e GMTALED, houve maior reação de corpo estranho no GMTALED.

Figura 18. Representação gráfica da presença de fibrose, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.



Fonte: autor

Figura 19. Representação gráfica da presença de reabsorção óssea, resultados em percentual da análise histológica semi-quantitativa.



Fonte: autor.

Diante dos resultados, pode-se evidenciar que o cimento BioMTA foi superior ao Biodentine na neoformação óssea e na redução da reabsorção óssea. Quando associado a fotobiomodulação a LED (GMTALED), além dos critérios já citados, mostrou-se eficaz na redução do infiltrado inflamatório e no aumento da pavimentação osteoblástica.

O Biodentine mostrou-se eficaz somente quando associado a luz LED, pois após a fotobiomodulação a LED (GBIOLED), apresentou aumento da neoformação óssea e redução da reação de corpo estranho. No entanto, a fotobiomodulação a LED apresentou efeito negativo no reparo ósseo, causando aumento da fibrose e aumento da reabsorção óssea, no GCLED.

6. DISCUSSÃO

Os cimentos biocerâmicos são frequentemente utilizados em cirurgias paraendodônticas e o contato com o tecido ósseo é inevitável. Diante disso, muitos pesquisadores utilizam os defeitos ósseos como modelos para o estudo do processo de reparo tecidual associado aos cimentos biocerâmicos (GANDOLFI *et al.*, 2017; QUINTANA *et al.*, 2018; FAKHERAN *et al.*, 2019). Nesse contexto, optou-se pela utilização do rato em nosso estudo, pois o processo de reparo é ser similar ao observado em humanos, inclusive sendo o DNA dos ratos homólogos com o humano; desta forma a resposta reparadora, sob uma variedade de condições, tem sido bem documentada (PINHEIRO *et al.*, 2011; SOARES *et al.*, 2015; QUINTANA *et al.*, 2018).

Diversos estudos, em modelo animal, associam a fotobiomodulação a LED à uma melhora no reparo ósseo (SOHN *et al.*, 2015; LEE *et al.*, 2016; PINHEIRO *et al.*, 2018), assim como suas aplicações em seres humanos também demonstram efeitos positivos, principalmente na regressão de edema pós-operatório, no entanto, ainda são escassos os estudos em seres humanos (BAEK *et al.*, 2019). Até o momento, o mecanismo de ação da luz LED no tecido ósseo não é totalmente claro, e poucos estudos abordaram o efeito da fotobiomodulação a LED em osteoblastos, osteoclastos e a via de sinalização pela qual a irradiação regula as respostas osteoclastogênicas.

Lee *et al.* (2016), relataram que a fotoirradiação a LED atenua a osteoclastogênese induzida por RANKL, via proteína do choque térmico (PCT 27), que é uma proteína que tem sua expressão aumentada quando a célula é exposta a um aumento de temperatura ou outras formas de estresse. Em nosso estudo, notou-se aumento da reabsorção óssea no grupo GMTALED em relação ao grupo GC ($p = 0,032$), no entanto esse aumento pode estar mais relacionado ao efeito do cimento biocerâmico no tecido ósseo, pois os demais grupos não apresentaram diferença estatisticamente significativa nesse critério. Portanto, em nosso estudo, não se observou a ação da fotobiomodulação a LED em atenuar a reabsorção óssea, ao contrário do relatado por Lee *et al.* (2016).

Atualmente, a fotobiomodulação a LED ganhou considerável atenção por sua capacidade de regular as propriedades de remodelação óssea, impedindo a perda óssea na osteoporose e outras doenças ósseas reabsortivas (ASAGAI

2014; LEE *et al.*, 2016). Além disso, afeta positivamente o metabolismo ósseo, aumentando a formação óssea e suprimindo a reabsorção óssea (Sohn *et al.*, 2015; Lee *et al.*, 2016). Diante dos resultados encontrados em nosso estudo, observou-se que o grupo GBIO obteve melhora dos resultados somente quando associado a luz LED, pois após a fotobiomodulação a LED (GBIOLED), apresentou aumento da neoformação óssea e redução da reação de corpo estranho. No entanto, a fotobiomodulação a LED apresentou efeito negativo no reparo ósseo, causando aumento da fibrose e aumento da reabsorção óssea, no (GCLED). Esses resultados diferentes dos relatados por Lee *et al.*, (2016) e Sohn *et al.*, (2016), podem ser justificados pela diferença na metodologia, haja vista que nosso estudo foi realizado em animais, enquanto os estudos citados foram em cultura de células.

Os efeitos benéficos da fotobiomodulação a LED no tecido ósseo, podem ser observados com o uso de diferentes comprimentos de ondas. Nos estudos de Sohn *et al.*, (2015) e Lee *et al.*, (2016), realizados em culturas de células, a fotoirradiação com LED vermelho (635 nm) suprimiu significativamente a ativação dos osteoclastos, resultando em uma diminuição da área de reabsorção. Em estudo realizado por Dereci *et al.*, (2016), utilizando um defeito ósseo em calvária de ratos, associado ao uso do LED azul (400 – 490 nm), notou-se melhora, estatisticamente significativa, na regeneração óssea do grupo irradiado em relação ao grupo controle. No entanto, em estudo realizado em cultura de células, posteriormente, por Yuan *et al.* (2017), foi demonstrado que a irradiação com LED azul (470 nm) tem efeitos tóxicos nas células troncos mesenquimais derivadas da medula óssea, caracterizados pela inibição da proliferação celular e diferenciação osteogênica e a indução de apoptose celular.

Em nosso estudo, optou-se pelo uso da fotobiomodulação com LED infravermelho (850 nm), devido a sua maior capacidade de penetração nos tecidos e por resultados satisfatórios obtidos em estudos anteriores realizados no tecido ósseo (SOARES *et al.*, 2015; ROSA *et al.*, 2016; PINHEIRO *et al.*, 2017). Porém, não foi observado em nosso estudo, melhora significativa na deposição de fibras colágenas, todos os grupos apresentaram intensa deposição, independente do cimento ou da fotobiomodulação a LED. Ao contrário do estudo realizado por Soares *et al.*, (2015), observaram que a fotobiomodulação com LED infravermelho (850 nm), melhorou significativamente

o processo de reparo ósseo, submetidos ou não ao uso de enxertos ósseos, causando aumento na proliferação de fibroblastos, condroblastos e osteoblastos, além de aumento na deposição de fibras colágenas

Diante dos achados encontrados na literatura e considerando os resultados deste estudo, notou-se que a fotobiomodulação a LED aumentou a reabsorção óssea e fibrose no GCLED, quando comparado ao GC. Seus efeitos foram benéficos apenas quando associados ao cimento biocerâmico Biodentine, como foi observado no GBIOLED, com aumento da neoformação óssea e redução da reação de corpo estranho, em relação ao GBIO. Tais resultados, podem ser justificados baseado no estudo de Lee *et al.*, (2016), citado anteriormente, que correlaciona o efeito favorável da fotobiomodulação a LED a situações de maior estresse celular. Desse modo, acredita-se que o estresse celular pode ter sido causado pela presença do Biodentine no tecido ósseo. Esse maior efeito de estresse celular causado pelo Biodentine, pode ter associação com sua composição, principalmente na composição do líquido que contém cloreto de cálcio (KANG *et al.*, 2013).

Foi possível evidenciar, no presente estudo, que o cimento BioMTA foi superior ao Biodentine na neoformação óssea e na redução da reabsorção óssea e isso mostra que o BioMTA apresentou menor efeito nocivo ao tecido ósseo. Possivelmente, essa pode ser uma justificativa para a pouca influência da fotobiomodulação a LED no reparo ósseo associado ao cimento BioMTA.

Dentre os cimentos biocerâmicos, o MTA foi desenvolvido e considerado o material de escolha para reparo radicular e procedimentos endodônticos cirúrgicos, por muitos anos (VON ARX *et al.*, 2019). Esses cimentos hidrofílicos formam o hidrato de silicato de cálcio e o hidróxido de cálcio em contato com a água (CAMILLERI, 2015). A liberação de íons cálcio e hidroxila promove a formação de tecido mineralizado (GIRAUD *et al.*, 2019), enquanto a alcalinidade contribui para a eliminação microbiana (ARIAS-MOLIZ *et al.*, 2017).

A nova geração de materiais a base de silicato tricálcico contém modificações que visam eliminar as limitações do MTA e aprimorar suas propriedades físico-químicas (KOUTROULIS *et al.*, 2019). No presente estudo, foi utilizado o Biodentine, que possui em seu componente líquido o cloreto de cálcio como acelerador e um polímero hidrossolúvel (Areo) que serve como agente redutor de água (RAJASEKHARAN *et al.*, 2018), essa composição torna

o seu tempo de presa reduzido, de até 12 minutos a contar do início da mistura. Tal característica é essencial para procedimentos cirúrgicos.

O Biodentine apresenta propriedades adequadas, como baixa solubilidade, alta liberação de cálcio, tempo curto de endurecimento, radiopacidade, baixa citotoxicidade e resposta adequada quando em contato com tecidos conjuntivos (GRECH *et al.*, 2013; GOMES-CORNÉLIO *et al.*, 2017). Comportamento diferente foi observado no presente estudo, onde o grupo GBIO apresentou reduzida neoformação óssea e alta reação de corpo estranho, quando comparado ao grupo GC. O líquido do Biodentine é composto por água destilada, cloreto de cálcio e um polímero hidrossolúvel redutor de água, enquanto o líquido do BioMTA é água destilada (DA FONSECA *et al.*, 2019). Existem evidências de que o cloreto de cálcio, um acelerador da reação de presa, quando adicionado ao MTA, reduz a viabilidade de células MG-63 (derivadas de tecidos de osteossarcoma humano (Kang *et al.*, 2013). Desta forma, a composição do líquido do Biodentine pode ser, pelo menos em parte, responsável pela reduzida neoformação óssea e alta reação de corpo estranho. No entanto, houve aumento da neoformação óssea e diminuição da reação de corpo estranho quando associado a fotobiomodulação a LED. Desse modo, sugere-se que esta associação entre Biodentine e a fotobiomodulação a LED pode gerar melhores resultados no processo de reparo do tecido ósseo. Esse efeito pode ser atribuído a característica pró-inflamatória da fotobiomodulação a LED, pois a predominância do infiltrado inflamatório encontrado no GBIOLED foi crônico, ao contrário do GBIO que apresentou inflamação aguda e crônica, no mesmo período de observação (15 dias).

Em estudo, *in vitro*, realizado por Dahake *et al.* (2019), o Biodentine obteve maior potencial de osteoindução que o MTA, porém foi um estudo realizado em cultura de células. Nos resultados do nosso estudo, realizado em animais, evidenciou-se maior capacidade de induzir a neoformação óssea com uso do BioMTA quando comparado ao Biodentine, desse modo, pode-se atribuir uma maior bioatividade ao BioMTA.

A resposta do tecido ósseo aos cimentos biocerâmicos também foi testada por Quintana *et al.*, (2019), através de um estudo experimental em ratos. Nesse estudo foram utilizados os cimentos ProRoot MTA (Dentsply Sirona, York, PA, USA), MTA Angelus (MTA-A; Angelus Soluções Odontológicas, Londrina,

PR, Brasil), Biodentine (BD; Septodont, Saint-Maur-der Fôsses, França) e NeoMTA Plus (Avalon Biomed Inc., Brandenton, FL, USA). Com base nos resultados e métodos utilizados, os autores concluíram que todos os materiais mostraram um pH alcalino, tempo de presa apropriado e boas respostas biológicas em contato com o tecido ósseo do rato. Porém foi utilizado apenas o critério de neoformação óssea na avaliação histológica desse estudo. Devido ao maior número de critérios utilizados na avaliação histológica em nosso estudo, como reabsorção óssea, fibrose, deposição colagênica, reação de corpo estranho e pavimentação osteoblástica, foi possível encontrar diferenças na resposta óssea aos diferentes cimentos utilizados.

Em nosso estudo, foi observado a presença de fibrose nos grupos BioMTA e Biodentine, com aumento significativo após a fotobiomodulação a LED (GMTALED e GBIOLED). No estudo realizado por Gandoulf *et al.*, (2018), avaliaram o potencial indutor e a bioatividade do Biodentine, MTA plus e ProRoot MTA, no osso medular de coelhos e notou-se que a neoformação óssea estava presente em todos os grupos com os cimentos biocerâmicos e não foram observados necrose nem fibrose.

Atualmente, outra associação bastante promissora, na regeneração óssea é o uso dos cimentos biocerâmicos associados a enxertos ósseos. Em estudo em cães, realizado por Fakheran *et al.*, (2019), o uso do Retro MTA ou Retro MTA + β -TCP coberto com uma membrana de colágeno resultou na regeneração dos tecidos periodontais. No entanto, o Retro MTA + β -TCP mostrou tendência a melhores resultados do que o uso do Retro MTA sozinho. Diante disso, mais estudos devem ser realizados para melhor entendimento desta relação, haja vista que durante a cirurgia paraendodôntica, o uso de enxertos ósseos em grandes lesões endodônticas é uma opção de tratamento.

7. CONCLUSÃO

Pode-se concluir que o BioMTA foi o cimento biocerâmico com melhor desempenho na neoformação óssea e na redução da reabsorção óssea, em comparação com o Biodentine. Além disso, quando associado à fotobiomodulação a LED, notou-se redução do infiltrado inflamatório.

A fotobiomodulação a LED exerceu influência positiva quando associada ao cimento biocerâmico Biodentine, com aumento da neoformação óssea e redução da reação de corpo estranho. No entanto, no reparo ósseo sem associação com os cimentos biocerâmicos (Grupos GC e GCLED), a fotobiomodulação a LED apresentou resultados desfavoráveis, tais como aumento da reabsorção óssea e da fibrose.

REFERÊNCIAS

ABDEL MEGUID, E., KE, Y., JI, J., EL-HASHASH, A. H. K. Stem cells applications in bone and tooth repair and regeneration: New insights, tools, and hopes. **J. Cell. Physiol.** v.233, n.581, p.1825–1835, mai., 2018.

ABD-ELAAL A. Z., EL-MEKAWII H. A., SAAFAN A. M., EL GAWAD L. A., ELHAWARY Y. M., ABDELRAZIK M. A. Evaluation of the effect of low level diode laser therapy applied during the bone consolidation period following mandibular distraction osteogenesis in the human. **Int J Oral Maxillofac Surg.** v.44, n.8, p. 989–997, mai., 2015.

ALMEIDA, C. R., VASCONCELOS, D. P., GONÇALVES, R. M., AND BARBOSA, M. A. Enhanced mesenchymal stromal cell recruitment via natural killer cells by incorporation of inflammatory signals in biomaterials. **J R Soc Interface,** v. 9, p. 261–271, fev. 2012.

ALVES A. M. M., DE MIRANDA FORTALEZA L. M., FILHO A. L. M. M., FERREIRA D. C. L., DA COSTA C. L. S., VIANA V. G. F., SANTOS J. Z. L. V., DE OLIVEIRA R. A., DE MEIRA GUSMÃO G. O., SOARES L. E. S. Evaluation of bone repair after application of a norbixin membrane scaffold with and without laser photobiomodulation (λ 780 nm). **Lasers Med Sci.** V. 33, n. 7, p. 1493-1504, set. 2018.

ARIAS-MOLIZ, M. T., FARRUGIA, C., LUNG, C. Y. K., WISMAYER, P. S. & CAMILLERI, J. Antimicrobial and biological activity of leachate from light curable pulp capping materials. **J. Dent.** V. 64, p. 45–51, set., 2017.

ASAGAI Y. The effect of LLLT on bone metabolism in children with severe cerebral palsy (a secondary publication). **Laser Ther.** V. 23, n. 4, p. 243–247, dez., 2014.

BAEK, W. Y., BYUN, I. H., YUN, I. S., KIM, J. Y., ROH, T. S., LEW, D. H., & KIM, Y. S. The effect of light-emitting diode (590/830 nm)-based low-level laser therapy on posttraumatic edema of facial bone fracture patients. **J Craniomaxillofac Surg.** v. 45, n. 11, p. 1875–1877, set. 2017.

CAMILLERI, J. Mineral trioxide aggregate: present and future developments. **Endod. Topics.** v. 32, n. 1, p. 31–46, mai., 2015.

CAMILLERI, J., SORRENTINO, F., DAMIDOT, D. Characterization of un-hydrated and hydrated BioAggregate and MTA Angelus. **Clin. Oral Investig.** V. 19, n. 3, p. 689–698, abr., 2015.

CHANG S. W., LEE S. Y., KANG S. K., KUM K. Y., KIM E. C. In vitro biocompatibility, inflammatory response, and osteogenic potential of 4 root canal sealers: Sealapex, Sankin apatite root sealer, MTA Fillapex, and iRoot SP root canal sealer. **J Endod.** v.40, n.10, p.1642-1648, out. 2014.

CHEN, I., SALHAB, I., SETZER, F. C., KIM, S., NAH, H.-D. A New Calcium Silicate–based Bioceramic Material Promotes Human Osteo- and Odontogenic Stem Cell Proliferation and Survival via the Extracellular Signal-regulated Kinase Signaling Pathway. **J Endod**, v.42, n.3, p.480–486, mar., 2016.

COMUNIAN CR, CUSTÓDIO ALN, DE OLIVEIRA LJ, DUTRA CEA, D'ALMEIDA FERREIRA NETO M, REZENDE CMF. Photobiomodulation with LED and laser in repair of mandibular socket rabbit: clinical evaluation, histological, and histomorphometric. **Oral Maxillofac Surg.**, v. 21, n. 2, p. 201-206, jun. 2017.

COSTA F, SOUSA GOMES P, FERNANDES MH. Osteogenic and Angiogenic response to calcium silicate–based endodontic sealers. **J Endod.** V. 42, n. 1, p.113–119. Jan., 2016.

CRANE J. L., AND CAO X. Bone marrow mesenchymal stem cells and TGF- β signaling in bone remodeling. **J. Clin. Invest.** v. 124, n. 2, p. 466–472, fev., 2014.

DA FONSECA TS, SILVA GF, GUERREIRO-TANOMARU JM, DELFINO MM, SASSO-CERRI E, TANOMARU-FILHO M, CERRI PS. Biodentine and MTA modulate immunoinflammatory response favoring bone formation in sealing of furcation perforations in rat molars. **Clin Oral Investig.** v.23, n. 3, p. 1237-1252, mar., 2019.

DALTOE M. O., PAULA-SILVA F. W., FACCIOLI L. H., GATON-HERNANDEZ P. M., DE ROSSI A., BEZERRA SILVA L. A. Expression of mineralization markers during pulp response to Biodentine and Mineral Trioxide Aggregate. **J Endod.** v.42, n.4, p. 596-603, abr., 2016.

DERECI Ö., SINDEL A., SERAP TORU H., YÜCE E., AY S., TOZOĞLU S. The Comparison of the Efficacy of Blue Light-Emitting Diode Light and 980-nm Low-Level

Laser Light on Bone Regeneration. **J Craniomaxillofac Surg**. V. 27, n. 8, p. 2185–2189, nov. 2016.

DESMET K. D., PAZ D. A., CORREY J. J. Clinical and experimental applications of NIR-LED photobiomodulation. **Photomed Laser Surg**. v.24, n. 2, p. 121–128, abr., 2006.

FAKHERAN, O., BIRANG, R., SCHMIDLIN, P. R., RAZAVI, S. M., & BEHFARNIA, P. Retro MTA and tricalcium phosphate/retro MTA for guided tissue regeneration of periodontal dehiscence defects in a dog model: a pilot study. **Biomater res**, v. 23, n. 1, ago. 2019.

FARBOD, K., NEJADNIK, M. R., JANSEN, J. A., AND LEEUWENBURGH, S. C. G. Interactions between inorganic and organic phases in bone tissue as a source of inspiration for design of novel nanocomposites. **Tissue Eng Part B Rev**, v. 20, n. 2, p. 173–188, abr., 2014.

GANDOLFI, M. G., IEZZI, G., PIATTELLI, A., PRATI, C., & SCARANO, A. Osteoinductive potential and bone-bonding ability of ProRoot MTA, MTA Plus and Biodentine in rabbit intramedullary model: Microchemical characterization and histological analysis. **Dent Mater**, v. 33, n. 5, p. 221–238, mai., 2017.

GIRAUD T., JEANNEAU C., ROMBOUTS C., BAKHTIAR H., LAURENT P., ABOUT I. Pulp capping materials modulate the balance between inflammation and regeneration. **Dent. Mater**. V. 35, n. 1, p. 24–35, jan. 2019.

GOMES-CORNÉLIO A. L., RODRIGUES E. M., SALLES L. P., MESTIERI L. B., FARIA G., GUERREIRO-TANOMARU J. M., TANOMARU-FILHO M. Bioactivity of MTA plus, biodentine and an experimental calcium silicatebased cement on human osteoblast-like cells. **Int Endod J**. v. 50, n. 1, p. 39– 47, jan. 2017.

GRAYSON, W. L., BUNNELL, B. A., MARTIN, E., FRAZIER, T., HUNG, B. P., AND GIMBLE, J. M. Stromal cells and tem cells in clinical bone regeneration. **Nat Rev Endocrinol**, v. 11, n. 3, p. 140–150, mar., 2015.

GRECH L., MALLIA B., CAMILLERI J. Investigation of the physical properties of tricalcium silicate cement-based root-end filling materials. **Dent Mater**. V. 29, n. 2, p. 20–28. Fev. 2013.

IAQUINTA M., MAZZONI E., BONONI I., ROTONDO J., MAZZIOTTA C., MONTESI M., SPRIO S., TAMPIERI A., TOGNON M. G., MARTINI F. Adult stem cells for bone regeneration and repair. **Front. Cell Dev. Biol**, v.7, p. 268, nov., 2019.

JARDINE, A. P., MONTAGNER, F., QUINTANA, R. M., ZACCARA, I. M., KOPPER, P. M. P. Antimicrobial effect of bioceramic cements on multispecies microcosm biofilm: a confocal laser microscopy study. *Clinical Oral Investigations*. **Clin Oral Investig**. v. 23, n. 3, p. 1367-1372, mar., 2019.

JIAO, H., XIAO, E., GRAVES, D. T. Diabetes and Its Effect on Bone and Fracture Healing. **Curr Osteoporos Rep**, v. 13, n. 5, p. 327–335, out., 2015.

KANG JY, LEE BN, SON HJ, KOH JT, KANG SS, SON HH, CHANG HS, HWANG IN, HWANG YC, OH WM. Biocompatibility of mineral trioxide aggregate mixed with hydration accelerators. **J Endod**. v. 39, n. 4, p. 497-500 apr., 2013.

KARU T. I., PYATIBRAT L. V., AFANASYEVA N. I. A novel mitochondrial signaling pathway activated by visible-to-near infrared radiation. **Photochem Photobiol**. v.80, n. 2, p. 366–372, out., 2004.

KULKARNI, S., MEER, M., GEORGE, R. Efficacy of photobiomodulation on accelerating bone healing after tooth extraction: a systematic review. **Lasers Med Sci**. v.34, n. 4, p. 685–692, jun. 2019.

LAGISETTI A. K., HEGDE P., HEGDE M. N. Evaluation of bioceramics and zirconia-reinforced glass ionomer cement in repair of furcation perforations: An in vitro study. **J Conserv Dent**. v. 21, n. 2, p. 184-189, abr., 2018.

LEE, G., KIM, B., KO, Y., PARK, M., KIM, D., RYU, K. H., LIM, W. Regulation of RANKL-Induced Osteoclastogenesis by 635-nm Light-Emitting Diode Irradiation Via HSP27 in Bone Marrow-Derived Macrophages. **Photomed Laser Surg.**, v. 35, n. 2, p. 78–86, fev., 2017.

LOI, F., CÓRDOVA, L. A., PAJARINEN, J., LIN, T., YAO, Z., AND GOODMAN, S. B. Inflammation, fracture and bone repair. **Bone**, v. 86, p. 119–130, mai., 2016.

MACHADO, J., JOHNSON, J. D., PARANJPE, A. The Effects of Endosequence Root Repair Material on Differentiation of Dental Pulp Cells. **J Endod.** v. 42, n. 1, p.101–105, jan., 2016.

MARSELL R., EINHORN T. A. The biology of fracture healing. **Injury.** v. 42, n. 6, p. 551–555, jun., 2011.

MCCLUNG, M. R. Romosozumab for the treatment of osteoporosis. **Osteoporos Sarcopenia**, v. 4, n. 1, p. 11–15, mar., 2018.

MOINZADEH, A. T., AZNAR PORTOLES, C., SCHEMBRI WISMAYER, P., CAMILLERI, J. Bioactivity Potential of EndoSequence BC RRM Putty. **J Endod.** v. 42, n. 4, p. 615–621, abr. 2016.

MORETTON T. R., BROWN C. E. J. R., LEGAN J. J., KAFRAWY A. H. Tissue reactions after subcutaneous and intraosseous implantation of mineral trioxide aggregate and ethoxybenzoic acid cement. **J Biomed Mater Res.** V.52, n. 3, p. 528–33, dez. 2000.

OLIVEIRA GONÇALVES J. B, BUCHAIM D. V, SOUZA BUENO C. R, POMINI K. T., BARRAVIERA B., JÚNIOR R. S., et al. Effects of low-level laser therapy on autogenous bone graft stabilized with a new heterologous fibrin sealant. **J Photochem Photobiol B**, v. 162, p.663-668, nov. 2016.

OLIVEIRA SAMPAIO S. C., MONTEIRO J. S., CANGUSSÚ M. C., PIRES SANTOS G. M., DOS SANTOS M. A., DOS SANTOS J. N., PINHEIRO A. L. B. Effect of laser and LED phototherapies on the healing of cutaneous wound on healthy and iron-deficient Wistar rats and their impact on fibroblastic activity during wound healing. **Lasers Med Sci**, v.28, n. 3, p. 799–806, mai. 2013.

PALMER, L. C., NEWCOMB, C. J., KALTZ, S. R., SPOERKE, E. D., AND STUPP, S. I. Biomimetic systems for hydroxyapatite mineralization inspired by bone and enamel. **Chem. Rev.** v. 108, n 11, p. 4754–4783, nov. 2008.

PARIROKH M, TORABINEJAD, M. Mineral Trioxide Aggregate: A Comprehensive Literature Review—Part III: Clinical Applications, Drawbacks, and Mechanism of Action. **J Endod.** V. 36, n. 3, p. 400-413, mar., 2010.

PARK J. B., AHN S. J., KANG Y. G., KIM E. C., H. E. O. J. S., KANG K. L. Effects of increased low-level diode laser irradiation time on extraction socket healing in rats. **Lasers Med Sci**, v. 30, n. 2, p. 719–726, ago., 2015.

PINHEIRO A. L. B., SOARES L. G. P., CANGUSSÚ M. C. T., SANTOS N. J., BARBOSA A. F. S., SILVEIRA L. Effects of LED phototherapy on bone defects grafted with MTA, bone morphogenetic proteins and guided bone regeneration: a Raman spectroscopic study. **Lasers Med Sci**, v. 27, n.5, p. 903–916, out. 2012.

PINHEIRO A. L. B., SOARES L. G. P., ACIOLE G. T. S., CORREIA N. A., BARBOSA A. F. S., RAMALHO L. M. P., DOS SANTOS J. N. Light microscopic description of the effects of laser phototherapy on bone defects grafted with mineral trioxide aggregate, bone morphogenetic proteins, and guided bone regeneration in a rodent model. **J Biomed Mater Res**, v. 98, n. 2, p. 212–221, mai. 2011.

PINHEIRO, A. L. B., SOARES, L. G. P., MARQUES, A. M. C., CANGUSSÚ, M. C. T., PACHECO, M. T. T., & SILVEIRA, L. Biochemical changes on the repair of surgical bone defects grafted with biphasic synthetic micro-granular HA + β -tricalcium phosphate induced by laser and LED phototherapies and assessed by Raman spectroscopy. **Lasers Med Sci**, v.32, n. 3, p. 663–672, abr. 2017.

QUINTANA, R. M., JARDINE, A. P., GRECHI, T. R., GRAZZIOTIN-SOARES, R., ARDENGHI, D. M., SCARPARO, R. K., KOPPER, P. M. P. Bone tissue reaction, setting time, solubility, and pH of root repair materials. **Clin Oral Investig**, v. 23, n. 3, p. 1359–1366, mar. 2019.

RAGGATT L. J., PARTRIDGE N. C. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. **J. Biol. Chem.** v. 285, n. 33, p. 25103–25108, ago., 2010.

RAJASEKHARAN, S., MARTENS, L. C., CAUWELS, R. G. E. C., ANTHONAPPA, R. P. Biodentine material characteristics and clinical applications: a 3 year literature review and update. **Eur Arch Paediatr Dent**, v. 19, n. 1, p. 1–22, fev., 2018.

ROSA, C. B., HABIB, F. A. L., DE ARAÚJO, T. M., DOS SANTOS, J. N., CANGUSSU, M. C. T., BARBOSA, A. F. S., ... PINHEIRO, A. L. B. Laser and LED phototherapy on midpalatal suture after rapid maxilla expansion: Raman and histological analysis. **Lasers Med Sci**, v. 32, n. 2, p. 263–274, fev., 2016.

SABERI E. A., FARHAD-MOLLASHAHI N., SARGOLZAEI AVAL, F., SABERI, M. Proliferation, odontogenic/osteogenic differentiation, and cytokine production by human stem cells of the apical papilla induced by biomaterials: a comparative study. **Clin Cosmet Investig Dent**. V. 11, p. 181–193, jul., 2019.

SANTINONI C. D., OLIVEIRA H. F., BATISTA V. E., LEMOS C. A., VERRI F. R. Influence of low-level laser therapy on the healing of human bone maxillofacial defects: a systematic review. **J Photochem Photobiol B**, v. 169, p. 83–89, abr. 2017.

SELLA V. R., DO BOMFIM F. R., MACHADO P. C., DA SILVA MORSOLETO M. J., CHOEFI M., PLAPLER H. Effect of low-level laser therapy on bone repair: a randomized controlled experimental study. **Lasers Med Sci**, v. 30, n. 3, p.1061–1068, abr., 2015.

SHAHI S., RAHIMI S., YAVARI H. R., GHASEMI N., REZAIE Y., MIRZAPOUR S. Effect of the Bone Graft on the Surface Microhardness of Endodontic Biomaterials. **Iran Endod J**. v. 13, n. 2, p. 200-203, 2018.

SHOKOUHINEJAD N., GORJESTANI H., NASSEH A. A., HOSEINI A., MOHAMMADI M., SHAMSHIRI A. R. Push-out bond strength of gutta-percha with a new bioceramic sealer in the presence or absence of smear layer. **Aust Endod J**, v. 39, n. 3, p. 102-106, dez. 2013.

SHOKOUHINEJAD N., NEKOO FAR M. H., RAZMI H., SAJADI S., DAVIES T. E., SAGHIRI M. A., DUMMER P. M. H. Bioactivity of EndoSequence Root Repair Material and Bioaggregate. **Int Endod J**, v. 45, n. 12, p. 1127–1134, dez., 2012.

SILVA L., PIERONI K., NELSON-FILHO P., SILVA R. A. B., HERNANDEZ-GATON P., LUCISANO M. P., PAULA-SILVA F. W. G., DE QUEIROZ A. M. Furcation perforation: periradicular tissue response to biodentine as a repair material by histopathologic and indirect immunofluorescence analyses. **J Endod**. v. 43, n. 7, p. 1137-1142, jul. 2017.

SIMS, N. A., AND MARTIN, T. J. Coupling Signals between the Osteoclast and Osteoblast: How are Messages Transmitted between These Temporary Visitors to the Bone Surface? **Front Endocrinol**, v. 970, n. 6, p. 1-5, mar., 2015.

SOARES L. G. P., MARQUES A. M. C., GUARDA M. G., ACIOLE J. M. S., PINHEIRO A. L. B., DOS SANTOS J. N. Repair of Surgical Bone Defects Grafted with Hydroxylapatite + β -TCP and Irradiated with $\lambda=850$ nm LED Light. **Braz Dent J**, v. 26, n. 1, p. 19–25, dez. 2015.

SOHN H., KO Y., PARK M., KIM D., MOON Y. L., JEONG Y. J., LIM W. Effects of light-emitting diode irradiation on RANKL-induced osteoclastogenesis. **Lasers Surg Med**. V. 47, n. 9, p. 745–755. Nov. 2015.

SOUZA MERLI A. L., MEDEIROS V. P., TOMA L., REGINATO R. D., KATCHBURIAN E., NADER H. B., et al. The low level laser therapy effect on the remodeling of bone extracellular matrix. **Photochem Photobiol**, v. 88, n.5, p.1293-301, set/out., 2012.

TACHIAHRA R., FARINELLIW A., ANDERSON R. Low intensity light induced vasodilation in vivo. **Lasers Surg Med**, v. 30, p.11, jan. 2002.

TAHA N. A., SAFADI R. A., ALWEDAIE M. S. Biocompatibility Evaluation of EndoSequence Root Repair Paste in the Connective Tissue of Rats. **J Endod**, v. 42, n.10, p. 1523–1528, out. 2016.

TIM C. R., BOSSINI P. S., KIDO H. W., MALAVAZI I., VON ZESKA KRESS M. R., CARAZZOLLE M. F., PARIZOTTO N. A., RENNÓ A. C. Effects of low-level laser therapy on the expression of osteogenic genes during the initial stages of bone healing in rats: a microarray analysis. **Lasers Med Sci**. v. 30, n. 9, p. 2325-2333, set. 2015.

TOLAR, J., TEITELBAUM, S. L., AND ORCHARD, P. J. Osteopetrosis. **N Engl J Med**. v. 351, n. 992, p. 2839–2849, 2004.

TOMÁS-CATALÁ CJ, COLLADO-GONZÁLEZ M, GARCÍA-BERNAL D, ONATESANCHEZ RE, FORNER L, LLENA C, LOZANO A, MORALEDA JM, RODRIGUEZ-LOZANO FJ. Biocompatibility of new pulpcapping materials NeoMTA plus, MTA repair HP, and biodentine on human dental pulp stem cells. **J Endod**. V. 44, n 1, p. 126–132, jan., 2018.

TOUROLLE NÉ BETTS D. C., WEHRLE E., PAUL G. R., KUHN G. A., CHRISTEN P., HOFMANN S., MÜLLER R. The association between mineralised tissue formation and the mechanical local in vivo environment: Time-lapsed quantification of a mouse defect healing model. **Sci Rep**, v. 10, n. 1, jan., 2020.

VAN BEZOOIJEN, R. L., PAPAPOULOS, S. E., AND LÖWIK, C. W. G. M. Bone morphogenetic proteins and 1005 their antagonists: the sclerostin paradigm. **J. Endocrinol Invest.** v. 28, n. 8, p. 15–17, 2005.

VON ARX T., JENSEN S. S., JANNER S. F. M., HÄNNI S., BORNSTEIN M. M. A 10-year follow-up study of 119 teeth treated with apical surgery and root-end filling with mineral trioxide aggregate. **J. Endod.** V. 45, n. 4, p. 394–401, mar., 2019.

WEATHERHOLT, A. M., FUCHS, R. K., AND WARDEN, S. J. Specialized connective tissue: bone, the structural framework of the upper extremity. **J Hand Ther**, v. 25, n. 2, p. 123–131, abr-jun., 2012.

WEISS R. A., MCDANIEL D. H., GERONEMUS R. G., WEISS M. A., BEASLEY K. L., MUNAVALLI G. M., BELLEW G. Clinical experience with light emitting diode (LED) photomodulation. **Dermatol Surg**, v. 31, n. 9, p. 1199–1205, set. 2005.

YUAN Y., YAN G., GONG R., ZHANG L., LIU T., FENG C., YANG L. Effects of Blue Light Emitting Diode Irradiation On the Proliferation, Apoptosis and Differentiation of Bone Marrow-Derived Mesenchymal Stem Cells. **Cell Physiol Biochem.** V. 43, n. 1, p. 237–246, ago., 2017.

ZAMPARINI F., SIBONI F., PRATI C., TADDEI P. GANDOLFI M. G. Properties of calcium silicate-monobasic calcium phosphate materials for endodontics containing tantalum pentoxide and zirconium oxide. **Clin. Oral Investig.** V. 23, n. 1, p. 445–457, mai., 2019.

ANEXO A

Certificado de aprovação em comitê de ética no uso de animais



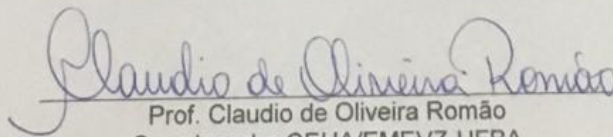
Universidade Federal da Bahia
Escola de Medicina Veterinária e Zootecnia
Comitê de Ética no Uso de Animais
 Av. Ademar de Barros, 500 – Ondina-40170-110 Salvador-BA
 Fone: (071) 3283-6704/6708/ - Fax: 3283-6718
 E-mail: escmev@ufba.br

CERTIFICADO

Certificamos que a proposta intitulada “**Avaliação histológica do efeito da fotobiomodulação laser e led na resposta do tecido ósseo de ratos a diferentes cimentos biocerâmicos**”, registrada com o nº **102/2018**, sob a responsabilidade do(a) **Prof. (a) Fabíola Bastos de Carvalho**, e que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto humanos), para fins de pesquisa científica (ou ensino), encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovada pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA) da Escola de Medicina Veterinária da Universidade Federal da Bahia, **em reunião de 19/03/2019**.

Finalidade	() Ensino (X) Pesquisa Científica () Extensão
Vigência da autorização	14/03/2019 à 28/10/2019
Espécie/linhagem/raça	<i>Rattus norvegicus, linhagem Wistar</i>
Nº de animais	90
Peso/Idade	200 à 250g / 2 a 3 meses
Sexo	Machos
Origem	SUPRILAB – Sup. De lab. E biotério

Salvador, 21/03/2019.


 Prof. Claudio de Oliveira Romão
 Coordenador CEUA/EMEVZ-UFBA