

RESSALVA

Atendendo solicitação do(a) autor(a), o texto completo desta dissertação será disponibilizado somente a partir de 22/02/2024.



UNIVERSIDADE ESTADUAL PAULISTA
“JÚLIO DE MESQUITA FILHO”
Campus de Araçatuba

JOÃO MATHEUS FONSECA E SANTOS

**Efeito da fotobiomodulação na reparação de fraturas
femorais em ratas com osteoporose experimentalmente
induzida**

Araçatuba
2023

JOÃO MATHEUS FONSECA E SANTOS

**Efeito da fotobiomodulação na reparação de fraturas
femorais em ratas com osteoporose experimentalmente
induzida**

Dissertação apresentada à Faculdade de Odontologia de Araçatuba da Universidade Estadual Paulista “Júlio de Mesquita Filho – UNESP”, como parte dos requisitos para obtenção do título de Mestre em Odontologia, na área de concentração de Cirurgia e Traumatologia Bucomaxilofacial.

Orientador: Prof. Assoc. Leonardo Perez Faverani

**Araçatuba
2023**

Catálogo na Publicação (CIP)

Diretoria Técnica de Biblioteca e Documentação – FOA / UNESP

S237e Santos, João Matheus Fonseca e.
Efeito da fotobiomodulação na reparação de fraturas femorais em ratas com osteoporose experimentalmente / João Matheus Fonseca e Santos. - Araçatuba, 2023
47 f. : il.

Dissertação (Mestrado) – Universidade Estadual Paulista, Faculdade de Odontologia de Araçatuba
Orientador: Prof. Leonardo Perez Faverani

1. Terapia com luz de baixa intensidade 2. Fraturas do fêmur 3. Osteoporose 4. Lasers I. T.

Black D7
CDD 617.6

Claudio Hideo Matsumoto CRB-8/5550

*A minha mãe, minha estrelinha, que me guia e
ilumina desde os meus primeiros passos, e por
toda essa jornada, te amo pra sempre.*

AGRADECIMENTOS

A **Deus**, quem permitiu que eu realizasse este sonho, e vem abençoando e guiando minha jornada durante a graduação e pós-graduação, me dando força em todas as dificuldades, dando sabedoria para superar todos os obstáculos da melhor maneira possível, e colocando pessoas especiais em meu caminho, das quais sou extremamente grato.

Ao **meu orientador Prof. Associado Leonardo Perez Faverani**, grande referência e inspiração como pesquisador, cirurgião e pessoa, poder conviver com o senhor é um privilégio, agradeço imensamente toda confiança que sempre depositou em mim, assim como oportunidades e ensinamentos ao longo de todos esses anos, que foram essenciais para a minha formação e desenvolvimentos deste trabalho, você ensina muito mais que ciência ou sobre cirurgia, mas como ser uma pessoa melhor e digna, não como professor, mas a partir de toda sua bondade e maneira de agir, serve a todos ao seu redor como exemplo a ser seguido. Sempre terá minha gratidão.

A **Prof^a. Associada Letícia Helena Theodoro** sou grato por todo auxílio na elaboração deste trabalho, pelo carinho e atenção que sempre dispõe, pela senhora tenho muita admiração e respeito, pois é um exemplo de como uma professora deve ser. É uma honra poder contar com sua presença em minha banca examinadora.

Ao **Prof. Dr. Gabriel Ramalho Ferreira** agradeço o pronto aceite e disponibilidade em ser banca examinadora deste trabalho, a sua colaboração será essencial para engrandecer o trabalho realizado.

Ao **Prof. Titular Valdir Gouveia Garcia** que dentro de sua sabedoria e conhecimento também muito colaborou na elaboração deste trabalho, por ti tenho muita admiração, gratidão e respeito.

Ao **Prof. Associado Edilson Ervolino** grande professor e pessoa especial, que muito colaborou em toda minha trajetória desde a graduação até a pós-graduação, o senhor é uma pessoa ímpar, obrigado por todo auxílio no desenvolvimento do trabalho e por sempre dispor de seu laboratório, eterna gratidão.

A **todo o grupo de pesquisa**, orientado pelo professor Leonardo, que me permitiu conhecer pessoas muito talentosas e competentes, que foram fundamentais

para o desenvolvimento deste trabalho, e de muitos outros que realizamos em todo esse período.

À **Engimplan Engenharia de Implantes**, que contribuiu grandemente para este estudo, fornecendo os materiais necessários para a realização de todo o estudo.

A **minha namorada, Arieli**, minha companheira de vida, que me dá forças em todos os momentos, e compartilha comigo todas as minhas dores, sem o seu suporte eu não chegaria até onde estou chegando hoje, afinal por trás de um grande homem sempre há uma grande mulher e você sempre me impulsiona a ir além, pra mim é uma dádiva poder ter você ao meu lado. Amo você!

Aos **meus pais**, por toda a base que sempre me deram, o que sempre me motivou a ir mais longe, a vocês tenho gratidão eterna e todo amor do mundo, sem vocês como alicerce eu não seria nada. Obrigado por tudo.

Aos colegas de pós-graduação, obrigado por toda convivência e o compartilhamento de experiência, ter vocês ao meu lado tornou o caminho mais leve.

A todos alunos de iniciação científica do nosso grupo de pesquisa, que tanto auxiliam em nossos trabalhos de pesquisa, sem vocês o desenvolvimento desde trabalho não seria possível, sempre serei muito grato, em especial a **Rafaela Sandro Stuque “Rafa”**, que participou comigo em todas as etapas deste trabalho.

A todos os funcionários e professores da Faculdade de Odontologia de Araçatuba, em especial do departamento de Diagnóstico e Cirurgia e desta faculdade, pelo auxílio prestado ao longo desses anos.

A Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Nível Superior – Brasil (CAPES) - Código de Financiamento 001 pela bolsa concedida.

“O sucesso nasce do querer, da determinação e persistência em se chegar a um objetivo. Mesmo não atingindo o alvo, quem busca e vence obstáculos, no mínimo fará coisas admiráveis.”

José de Alencar

SANTOS, J. M. F. **Efeito da fotobiomodulação na reparação de fraturas femorais em ratas com osteoporose experimentalmente induzida.** 2023. 47 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

RESUMO

Para que a reparação óssea de fraturas aconteça é fundamental que haja homeostasia, entretanto algumas condições sistêmicas podem influenciar negativamente neste processo de reparo, por algumas condições inflamatórias crônicas e alterações na microarquitetura do tecido ósseo. Para isso, 18 ratas adultas, com 6 meses de idade, foram inicialmente submetidas à ovariectomia bilateral, para indução de osteoporose, sendo que após 90 dias, as ratas foram submetidas às fraturas femorais e fixação com placas e parafusos do sistema 1,5 mm. As ratas foram divididas aleatoriamente em FBM (n=9), aquelas que foram irradiadas no período trans-cirúrgico com laser de baixa potência e SFBM (n=9), as que não foram irradiadas. Nos animais do grupo FBM, foi utilizado laser de baixa potência com comprimento de onda de 808 nm, área do spot de 0,0283 cm², potência de 100 mW durante 60 segundos, energia de 6 J/ponto, densidade de energia de 212 J/cm², de modo pontual em 5 pontos ao redor de todo o “gap” reparacional, seguindo as aplicações uma vez ao dia, durante 8 dias de pós-operatório com um intervalo de 24 horas. Os animais foram eutanasiados aos 14 e 42 dias pós-operatórios, e as amostras foram encaminhadas para análises microtomográfica, histométrica e imuno-histoquímica. Os dados foram submetidos a análise estatística (p<0,05). A análise microtomográfica não demonstrou diferenças estatísticas entre os grupos, em nenhum período experimental (p>0,05). A histometria evidenciou maior área de tecido ósseo neoformado no grupo FBM em comparação ao grupo SFBM (p<0,05), corroborando com o resultado imuno-histoquímico em que se notou maior imunomarcação de TGF-B e VEGF. Conclui-se que a utilização da terapia de fotobiomodulação por meio da irradiação com laser de diodo infra-vermelho melhorou o reparo de fraturas em fêmures de ratas com osteoporose experimentalmente induzida.

Palavras-chave: Terapia com Luz de Baixa Intensidade. Fratura femoral. Osteoporose. Lasers.

SANTOS, J. M. F. **Effect of photobiomodulation on fracture repair on femoral fracture in rats with experimentally induced osteoporosis**. 2023. 47 f. Dissertação (Mestrado) – Faculdade de Odontologia de Araçatuba, Universidade Estadual Paulista, Araçatuba, 2023.

ABSTRACT

Homeostasis is essential for bone repair of fractures to occur, however some systemic conditions may negatively influence this repair process, due to some chronic inflammatory conditions and changes in the microarchitecture of bone tissue. For this, 18 adult rats, aged 6 months, were initially submitted to bilateral ovariectomy, to induce osteoporosis, and after 90 days, the rats were submitted to femoral fractures and fixation with plates and screws of the 1.5 mm system. Rats were randomly divided into FBM (n=9), those that were irradiated in the trans-surgical period with low power laser, and SFBM (n=9), those that were not irradiated. In animals from the FBM group, a low power laser was used with a wavelength of 808 nm, spot area of 0.0283 cm², power of 100 mW for 60 seconds, energy of 6 J/point, energy density of 212 J /cm², punctually in 5 points around the entire reparative “gap”, following the applications once a day, during 8 postoperative days with an interval of 24 hours. The animals were euthanized at 14 and 42 days after surgery, and the samples were sent for microtomographic, histometric and immunohistochemical analyses. Data were submitted to statistical analysis (p<0.05). The microtomographic analysis did not demonstrate statistical differences between the groups, in any experimental period (p>0.05). Histometry showed a greater area of newly formed bone tissue in the FBM group compared to the SFBM group (p<0.05), corroborating the immunohistochemical result in which greater immunostaining of TGF-B and VEGF was noted. It is concluded that the use of photobiomodulation therapy through infrared diode laser irradiation improved the repair of fractures in femurs of female rats with experimentally induced osteoporosis.

Keywords: Low-Level Light Therapy. Femoral Fractures. Osteoporosis. Lasers.

LISTA DE FIGURAS

- Figura 1 – Etapas cirúrgicas do procedimento cirúrgico de ovariectomia. (A) Incisão nos flancos das ratas. (B) Divulsão dos planos anatômicos subcutâneos. (C) Acesso ao peritônio. (D) Incisão do peritônio e acesso a cavidade abdominal. (E) Localização do ovário e chifre uterino. (F) Laqueadura do chifre uterino. (G) Ovário removido. (H) Reposição dos tecidos laqueados. (I) Sutura dos planos internos. (J) Sutura do plano superficial. 19
- Figura 2 – Etapas cirúrgicas do procedimento cirúrgico de simulação de fratura femoral (A) Incisão na porção lateral do fêmur. (B) Exposição do fêmur. (C) Fixação prévia do fêmur com placas e parafusos do sistema 1.5 mm. (D) Osteotomia realizada para simulação de fratura femoral – aspecto final. 21
- Figura 3 – Protocolo de terapia de FBM com laser em baixa intensidade. 22
- Figura 4 – Imagem esquemática da terapia de FBM com laser - pontos vermelhos indicam os 5 pontos selecionados para a irradiação trans-cirúrgica. 23
- Figura 5 – Imagem esquemática da suspensão pela cauda dos animais. 24
- Figura 6 – Valores médios de BV/TV, onde (* e #) representam a diferença estatisticamente significante entre os tempos experimentais ($p < 0.05$). 28
- Figura 7 – Valores médios de Tb.Th, Tb.N e Tb.SP, onde não houve diferença estatisticamente significante. 29
- Figura 8 – Representação tridimensional dos grupos FBM e SFBM, representados de forma sequencial de tempos experimentais. 29
- Figura 9 – Representação gráfica da Área de osso neoformado (AON), para os grupos FBM e SFBM, onde (* e #) representam a diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$). 30
- Figura 10 – Imagens representativas dos grupos experimentais, na região do “gap” reparacional, FBM e SFBM, objetiva de 4x. 31
- Figura 11 – Gráfico e fotomicrografias representativas da contagem 31

do número de osteócitos, onde (* e #) representam a diferença estatística entre os grupos experimentais. Objetiva de 100x

Figura 12 – Imagem representativa em uma objetiva de 10x, 32 demonstrando maior volume de tecido ósseo neoformado na região do “gap” reparacional para o grupo FBM quando comparado a SFBM, em ambos os tempos experimentais.

Figura 13 - Representação gráfica da Área de tecido conjuntivo, para 33 os grupos FBM e SFBM, onde (* e #) representam a diferença estatística entre os grupos ($p < 0.05$).

Figura 14 – Gráfico e fotomicrografias representativas da contagem 33 de células inflamatórias. Objetiva de 100x.

Figura 15 – Gráfico e fotomicrografias representativas da contagem 34 de células inflamatória. Objetiva de 100x.

Figura 16 – (1) Gráficos representativos da média do número de 35 células imunomarcadas por BMP-2, OCN, TGF- β e VEGF; (2) Fotomicrografias representativas da contagem de células imunomarcadas. Objetiva de 100x.

LISTA DE SIGLAS

AON	Área de osso neoformado
CEUA	Comissão de de Ética no uso de animais
COBEA	Colégio Brasileiro de Experimentação Animal
FBM	Fotobiomodulação/Grupo experimental com fotobiomodulação
nm	Nanômetros
SFBM	Grupo experimental sem fotobiomodulação
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular
OCN	Osteocalcina
TGF- β	Fator de crescimento transformante beta- β
BMP-2	Proteína morfogenética óssea

SUMÁRIO

1 INTRODUÇÃO	13
2 OBJETIVOS	16
3 METODOLOGIA	17
3.1 Animais	17
3.2 Cálculo amostral	17
3.3 Ovariectomia Bilateral	18
3.4 Fraturas femorais	19
3.5 Grupos experimentais	21
3.6 Terapia de Fotobiomodulação	22
3.7 Suspensão pela cauda	23
3.2 Métodos de análises	24
3.2.1 Microtomografia Computadorizada (Micro-Ct)	24
3.2.2 Processamento laboratorial para tecidos descalcificados	25
3.2.3 Análises histológica e histométrica	26
3.2.3 Processamento e Análise Imuno-histoquímica	26
3.3 Análise estatística	27
4 RESULTADOS	28
4.1 Microtomografia Computadorizada (Micro-Ct)	28
4.2 Análises histológica e histométrica	30
4.3 Análise imuno-histoquímica	34
5 DISCUSSÃO	36
6 CONCLUSÃO	40
REFERÊNCIAS	41
ANEXOS	45
ANEXO B	46

1 INTRODUÇÃO

O tecido ósseo pode ser lesado por uma série de mecanismos, incluindo infecções, tumores, comprometimento do suporte sanguíneo, e também os traumas, que comumente dão origem às fraturas, que são de grande importância no âmbito médico-odontológico (SATHYENDRA; DAROWISH, 2013). O reparo ósseo de fraturas envolve um processo complexo, que necessita de uma grande quantidade de citocinas, mediadores químicos inflamatórios e grupos celulares, a fim de substituir o tecido lesado, por um novo tecido ósseo sadio, e assim restabelecendo as suas propriedades mecânicas e biológicas (BORRELLI et al., 2012; DATTA et al., 2008; SATHYENDRA; DAROWISH, 2013).

Para que o reparo ósseo ocorra é fundamental que haja boas condições para promoção do mecanismo complexo da reparação óssea. Por outro lado há diversos fatores que podem influenciar diretamente no desempenho do metabolismo ósseo como o tipo e intensidade do trauma, a estabilidade na osteossíntese de fraturas, outros fatores locais e sistêmicos (CLAES; RECKNAGEL; IGNATIUS, 2012).

As alterações sistêmicas como artrite reumatoide, doenças pulmonares obstrutivas e lúpus eritematoso sistêmico desencadeiam um quadro inflamatório crônico, que influenciam negativamente o reparo, já que uma grande quantidade de citocinas pró-inflamatórias associadas a essas doenças promovem uma ação osteoclastogênica (CLAES; RECKNAGEL; IGNATIUS, 2012; JIAO; XIAO; GRAVES, 2015). Além disso, algumas condições podem causar alterações diretas na microarquitetura óssea, como é o caso da osteoporose, caracterizada como um distúrbio no tecido ósseo que leva a diminuição significativa da densidade mineral óssea. Diante de algumas condições sistêmicas pode haver aumento da incidência de complicações no tratamento de fraturas, como a maior taxa de morbidade, pseudoartroses e infecções (GIANNOUDIS et al., 2007; ISLAM et al., 2005).

Com o avanço da idade e aumento da expectativa de vida, condições crônicas tornam-se mais prevalentes na população, assim, é comum que no âmbito médico-odontológico, o tratamento de fraturas seja de maior dificuldade e com maior número de complicações, sendo assim tornam-se necessárias estratégias para obtenção de uma otimização do reparo ósseo (THORNGREN et al., 2005).

Os princípios da terapia de fotobiomodulação (FBM), vem sendo amplamente estudados e demonstrando benefícios clínicos na odontologia (CRONSHAW et al.,

2020). A terapia de FBM com laser em baixa intensidade consiste na aplicação de uma luz vermelha, com comprimento de onda na faixa de 600 a 700 nm, ou infravermelha, de 780 a 1100 nm, com o objetivo de otimizar a reparação tecidual, além de diminuir a intensidade do processo inflamatório e promover analgesia (GARCIA;THEODORO, 2020).

Estudos *in vitro* demonstraram utilizando diferentes comprimentos de onda (630 e 808 nm), o potencial da terapia de FBM na estimulação da diferenciação de células mesenquimais em células da linhagem osteogênica, influenciando dessa forma diretamente a ossificação, e assim encorajando novos estudos experimentais (ABRAMOVITCH-GOTTLIB et al., 2005; AMAROLI et al., 2018).

Estudos *in vivo* sugerem o grande potencial osteogênico por demonstrarem que animais tratados com terapia de FBM apresentaram maior neoformação óssea e conseqüentemente melhor reparo ósseo em fraturas (MOSTAFAVINIA et al., 2015; SELLA et al., 2015). A terapia de FBM promove a proliferação de vasos sanguíneos e angiogênese, favorecendo a irrigação local, melhora a resposta celular, diminui o estresse oxidativo, promove a organização das fibras colágenas, tornando o ambiente favorável para a migração de células osteoblásticas e para deposição de tecido mineralizado (MOSTAFAVINIA et al., 2018).

Batista *et al.* (2015) concluiu que a terapia de FBM promove um efeito biomodulador, principalmente nos estágios iniciais do reparo, tanto em tecidos moles quanto em tecidos mineralizados, dessa forma, modulando o processo inflamatório e induzindo a uma rápida deposição de matriz óssea, o que é importante principalmente para pacientes que apresentem condições que atrasem o reparo.

No entanto não há um consenso na literatura sobre os parâmetros físicos e clínicos adequados que devem ser utilizados durante terapia de FBM em tecidos biológicos. Tem-se observado nos estudos uma variabilidade muito grande em relação ao comprimento de onda, energia de irradiação, frequência e número de irradiações de luzes em baixa intensidade nos tecidos biológicos. Entretanto, já é estabelecido que luzes emitidas nas faixas do infra-vermelho próximo (760 à 850 nm de comprimento de onda), tem maior capacidade de penetração tecidual e resposta biológica (BAYAT et al., 2018).

Hamblin e Demidova (2006) já definiram o possível mecanismo de ação da luz no tecidos bioológicos, como também descreveram que a irradiação na faixa do infra-vermelho é mais efetiva para terapia de FBM dos tecidos mais profundos.

Segundo os autores o efeito direto da FBM sobre as mitocôndrias gera maior produção de ATP, modulação das espécies reativas de oxigênio e indução de fatores de transcrição . Seus efeitos, por sua vez, levam ao aumento da proliferação e migração celular (particularmente por fibroblastos), modulação nos níveis de citocinas, aumento da liberação de fatores de crescimento, modulam os mediadores inflamatórios e aumentam a oxigenação tecidual.

Diante da problemática de atraso do reparo ósseo, e a necessidade do estabelecimento de parâmetros adequados de irradiação dos tecido na terapia de FBM, tornam-se relevantes o desenvolvimneto de pesquisas experimentais que avaliem o efeito da FBM na reparação do tecido ósseo em fraturas, em ratas ovariectomizadas.

A hipótese nula é de que a terapia de FBM utilizando laser em baixa intensidade não interferiria no processo de reparo do tecido ósseo em comparação a não aplicação da fotobiomodulação (SFBM).

6 CONCLUSÃO

Conclui-se que a terapia de fotobiomodulação com laser de baixa potencia empregada em múltiplas sessões nos parametros utilizados no presente estudo promoveu melhora do reparo ósseo, acelerando a neoformação do tecido ósseo em áreas de simulação de fraturas femorais em ratas com osteoporose experimentalmente induzida.

REFERÊNCIAS

- ABD-ELAAL, A. Z. et al. Evaluation of the effect of low-level diode laser therapy applied during the bone consolidation period following mandibular distraction osteogenesis in the human. **International journal of oral and maxillofacial surgery**, v. 44, n. 8, p. 989–997, 1 ago. 2015.
- ABRAMOVITCH-GOTTLIB, L. et al. Low level laser irradiation stimulates osteogenic phenotype of mesenchymal stem cells seeded on a three-dimensional biomatrix. **Lasers in medical science**, v. 20, n. 3–4, p. 138–146, dez. 2005.
- ALT, V. et al. A new metaphyseal bone defect model in osteoporotic rats to study biomaterials for the enhancement of bone healing in osteoporotic fractures. **Acta biomaterialia**, v. 9, n. 6, p. 7035–7042, 2013.
- AMAROLI, A. et al. The Effects of Photobiomodulation of 808 nm Diode Laser Therapy at Higher Fluence on the in Vitro Osteogenic Differentiation of Bone Marrow Stromal Cells. **Frontiers in physiology**, v. 9, n. FEB, 23 fev. 2018.
- BATISTA, J. D. et al. Low-level laser therapy on bone repair: is there any effect outside the irradiated field? **Lasers in medical science**, v. 30, n. 5, p. 1569–1574, 22 jul. 2015.
- BAYAT, M. et al. Comparison of effects of LLLT and LIPUS on fracture healing in animal models and patients: A systematic review. **Progress in biophysics and molecular biology**, v. 132, p. 3–22, 1 jan. 2018.
- BENETTI, F. et al. In vivo analysis of the presence of heme oxygenase-1, transcription factor Jun-D and CD90+/CD73+/CD105+/CD45- cells in the pulp of bleached teeth. **International endodontic journal**, v. 52, n. 12, p. 1723–1737, 1 dez. 2019.
- BORRELLI, J. et al. Physiological challenges of bone repair. **Journal of orthopaedic trauma**, v. 26, n. 12, p. 708–711, dez. 2012.
- BOUXSEIN, M. L. et al. Guidelines for assessment of bone microstructure in rodents using micro-computed tomography. **Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research**, v. 25, n. 7, p. 1468–1486, jul. 2010.
- BRITEÑO-VÁZQUEZ, M. et al. Low power laser stimulation of the bone consolidation in tibial fractures of rats: a radiologic and histopathological analysis. **Lasers in medical science**, v. 30, n. 1, p. 333–338, 1 jan. 2015.
- CHANG, W. D. et al. Therapeutic outcomes of low-level laser therapy for closed bone fracture in the human wrist and hand. **Photomedicine and laser surgery**, v. 32, n. 4, p. 212–218, 1 abr. 2014.
- CHEN, J. et al. Gelatin microspheres containing calcitonin gene-related peptide or substance P repair bone defects in osteoporotic rabbits. **Biotechnology letters**, v. 39, n. 3, p. 465–472, 1 mar. 2017.

- CHEN, X. et al. Effect of Bone Mineral Density on Rotator Cuff Tear: An Osteoporotic Rabbit Model. **PloS one**, v. 10, n. 10, 14 out. 2015.
- CINTRA, L. T. A. et al. Evaluation of an experimental rat model for comparative studies of bleaching agents. **Journal of applied oral science : revista FOB**, v. 24, n. 2, p. 171–80, 1 abr. 2016.
- CLAES, L.; RECKNAGEL, S.; IGNATIUS, A. Fracture healing under healthy and inflammatory conditions. **Nature reviews. Rheumatology**, v. 8, n. 3, p. 133–143, mar. 2012.
- CRONSHAW, M. et al. Photobiomodulation Dose Parameters in Dentistry: A Systematic Review and Meta-Analysis. **Dentistry journal**, v. 8, n. 4, 1 dez. 2020.
- DATTA, H. K. et al. The cell biology of bone metabolism. **Journal of clinical pathology**, v. 61, n. 5, p. 577–587, maio 2008.
- DE OLIVEIRA, D. et al. Short term sodium alendronate administration improves the peri-implant bone quality in osteoporotic animals. **Journal of applied oral science : revista FOB**, v. 25, n. 1, p. 42–52, 1 jan. 2017.
- EVANS, H. M.; LONG, J. A. Characteristic Effects upon Growth, Oestrus and Ovulation Induced by the Intraperitoneal Administration of Fresh Anterior Hypophyseal Substance. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 8, n. 3, p. 38–39, mar. 1922.
- FAVERANI, L. P. et al. Raloxifene but not alendronate can compensate the impaired osseointegration in osteoporotic rats. **Clinical oral investigations**, v. 22, n. 1, p. 255–265, 1 jan. 2018.
- GIANNOUDIS, P. et al. Fracture healing in osteoporotic fractures: Is it really different?. A basic science perspective. **Injury**, v. 38, n. SUPPL. 1, mar. 2007.
- GLÖSEL, B. et al. Review of Dental Implant Rat Research Models Simulating Osteoporosis or Diabetes. **The International journal of oral & maxillofacial implants**, v. 25, p. 516–524, jan. 2010.
- HAMBLIN, M. R.; DEMIDOVA, T. N. Mechanisms of low level light therapy. **Mechanisms for Low-Light Therapy**, v. 6140, p. 614001, 9 fev. 2006.
- ISLAM, A. A. S. et al. Healing of fractures in osteoporotic rat mandible shown by the expression of bone morphogenetic protein-2 and tumour necrosis factor-alpha. **The British journal of oral & maxillofacial surgery**, v. 43, n. 5, p. 383–391, out. 2005.
- JIAO, H.; XIAO, E.; GRAVES, D. T. Diabetes and Its Effect on Bone and Fracture Healing. **Current osteoporosis reports**, v. 13, n. 5, p. 327–335, 7 out. 2015.
- LIU, Y. et al. Osteoporosis influences osteogenic but not angiogenic response during bone defect healing in a rat model. **Injury**, v. 44, n. 7, p. 923–929, jul. 2013.
- MARCHINI, L.; ETTINGER, R.; HARTSHORN, J. Personalized Dental Caries Management for Frail Older Adults and Persons with Special Needs. **Dental clinics of North America**, v. 63, n. 4, p. 631–651, 1 out. 2019.

MEIRA, P. S. et al. AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA E HISTOMORFOMÉTRICA DO REPARO ÓSSEO EM TÍBIAS OSTEOTOMIZADAS DE RATOS (*Rattus norvegicus albinus*), SUBMETIDAS A TRATAMENTO COM ULTRASSOM, FRENTE À PRESENÇA E AUSÊNCIA DE CARGA. [s.d.].

MOSTAFAVINIA, A. et al. Effect of Pulsed Wave Low-Level Laser Therapy on Tibial Complete Osteotomy Model of Fracture Healing With an Intramedullary Fixation. **Iranian Red Crescent medical journal**, v. 17, n. 12, p. 12, 1 dez. 2015.

MOSTAFAVINIA, A. et al. Evaluation of the Effects of Photobiomodulation on Partial Osteotomy in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. **Photomedicine and laser surgery**, v. 36, n. 8, p. 406–414, 1 ago. 2018a.

MOSTAFAVINIA, A. et al. Evaluation of the Effects of Photobiomodulation on Partial Osteotomy in Streptozotocin-Induced Diabetes in Rats. **Photomedicine and laser surgery**, v. 36, n. 8, p. 406–414, 1 ago. 2018b.

PERCIE DU SERT, N. et al. The ARRIVE guidelines 2.0: updated guidelines for reporting animal research. **BMJ open science**, v. 4, n. 1, 24 fev. 2020.

PERES-UENO, M. J. et al. Model of hindlimb unloading in adult female rats: Characterizing bone physicochemical, microstructural, and biomechanical properties. **PLoS ONE**, v. 12, n. 12, 1 dez. 2017.

POLO, T. O. B. et al. Plasma Electrolytic Oxidation as a Feasible Surface Treatment for Biomedical Applications: an in vivo study. **Scientific reports**, v. 10, n. 1, 1 dez. 2020.

POLO, T. O. B. et al. Is an anodizing coating associated to the photobiomodulation able to optimize bone healing in ovariectomized animal model? **Journal of photochemistry and photobiology. B, Biology**, v. 217, 1 abr. 2021.

RAJAEI JAFARABADI, M. et al. The effects of photobiomodulation and low-amplitude high-frequency vibration on bone healing process: a comparative study. **Lasers in medical science**, v. 31, n. 9, p. 1827–1836, 1 dez. 2016.

RAMALHO-FERREIRA, G. et al. Alveolar bone dynamics in osteoporotic rats treated with raloxifene or alendronate: confocal microscopy analysis. **Journal of biomedical optics**, v. 20, n. 3, p. 038003, 26 mar. 2015a.

RAMALHO-FERREIRA, G. et al. Alveolar bone dynamics in osteoporotic rats treated with raloxifene or alendronate: confocal microscopy analysis. **Journal of biomedical optics**, v. 20, n. 3, p. 038003, 26 mar. 2015b.

RAMALHO-FERREIRA, G. et al. Effect of antiresorptive drugs in the alveolar bone healing. A histometric and immunohistochemical study in ovariectomized rats. **Clinical oral investigations**, v. 21, n. 5, p. 1485–1494, 1 jun. 2017.

SATHYENDRA, V.; DAROWISH, M. Basic science of bone healing. **Hand clinics**, v. 29, n. 4, p. 473–481, nov. 2013.