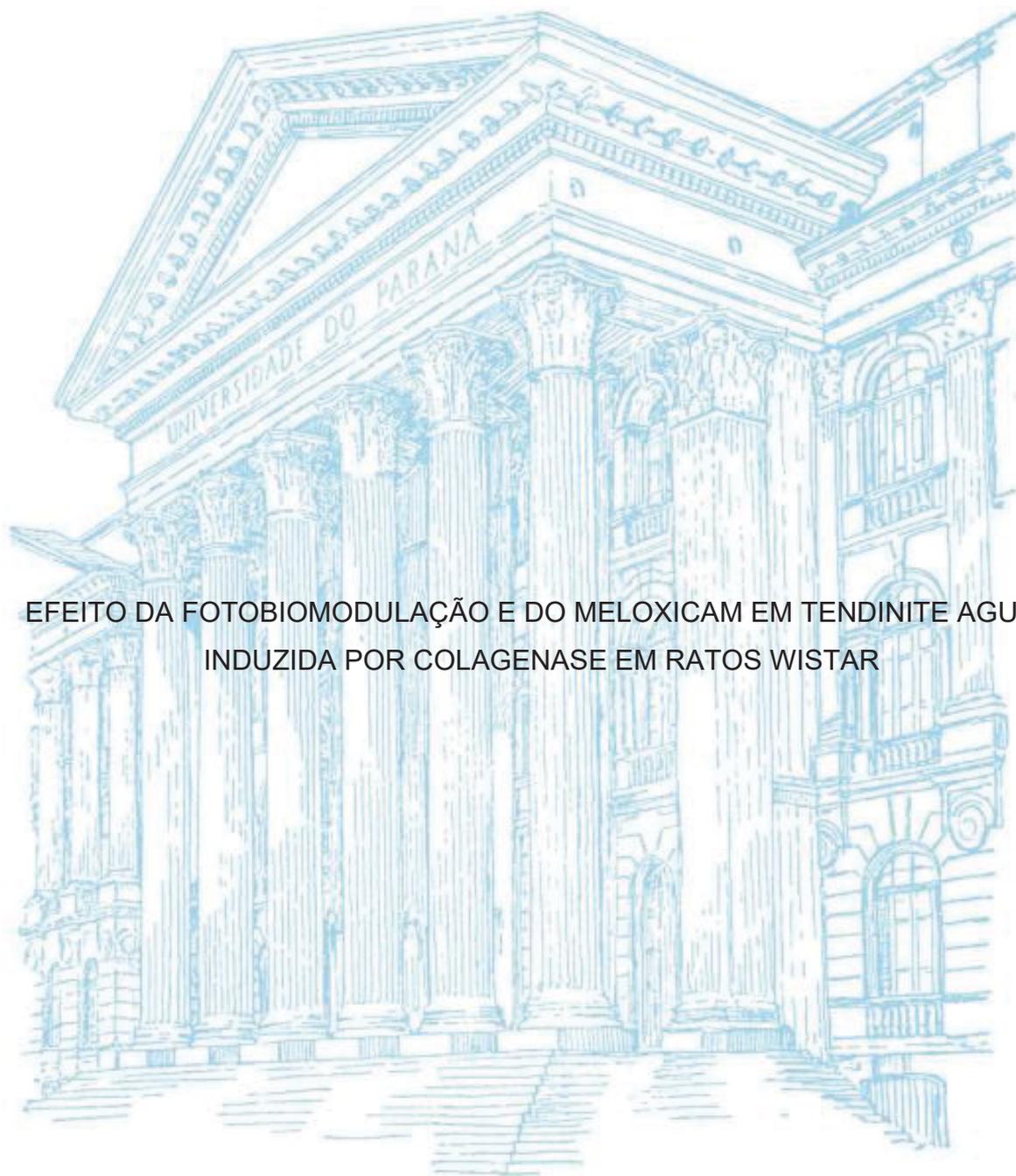


UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ

LILIANE APARECIDA OLIVEIRA DE PAULA



EFEITO DA FOTOBIMODULAÇÃO E DO MELOXICAM EM TENDINITE AGUDA
INDUZIDA POR COLAGENASE EM RATOS WISTAR

Palotina

2022

LILIANE APARECIDA OLIVEIRA DE PAULA

EFEITO DA FOTOBIMODULAÇÃO E DO MELOXICAM EM TENDINITE AGUDA
INDUZIDA POR COLAGENASE EM RATOS WISTAR

Dissertação apresentada como requisito parcial à
obtenção do título de Mestre em Biotecnologia,
Programa de Pós-graduação em Biotecnologia,
Setor Palotina, Universidade Federal do Paraná.

Orientadora: Prof^a Dr^a Erica Cristina Bueno do
Prado Guirro

Palotina

2022

Universidade Federal do Paraná. Sistemas de Bibliotecas.
Biblioteca UFPR Palotina.

- P324 Paula, Liliane Aparecida Oliveira de
Efeito da fotobiomodulação e do Meloxicam em tendinite aguda induzida por colagenase em ratos Wistar / Liliane Aparecida Oliveira de Paula.– Palotina, PR, 2022.
- Dissertação (Mestrado) – Universidade Federal do Paraná, Setor Palotina, PR, Programa de Pós-Graduação em Biotecnologia.
Orientadora: Profª Drª Erica Cristina Bueno do Prado Guirro.
1. Laserterapia. 2. Tendão de Aquiles. 3. Tendinopatia.
I. Erica Cristina Bueno do Prado Guirro. II. Universidade Federal do Paraná. III. Título.

CDU 616



MINISTÉRIO DA EDUCAÇÃO
SETOR PALOTINA
UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ
PRÓ-REITORIA DE PESQUISA E PÓS-GRADUAÇÃO
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO BIOTECNOLOGIA -
40001016083P6

TERMO DE APROVAÇÃO

Os membros da Banca Examinadora designada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação BIOTECNOLOGIA da Universidade Federal do Paraná foram convocados para realizar a arguição da dissertação de Mestrado de **LILIANE APARECIDA OLIVEIRA DE PAULA** intitulada: **EFEITO DA FOTOBIMODULAÇÃO E DO MELOXICAM EM TENDINITE AGUDA INDUZIDA POR COLAGENASE EM RATOS WISTAR**, sob orientação da Profa. Dra. ERICA CRISTINA BUENO DO PRADO GUIRRO, que após terem inquirido a aluna e realizada a avaliação do trabalho, são de parecer pela sua **APROVAÇÃO** no rito de defesa. A outorga do título de mestra está sujeita à homologação pelo colegiado, ao atendimento de todas as indicações e correções solicitadas pela banca e ao pleno atendimento das demandas regimentais do Programa de Pós-Graduação.

PALOTINA, 24 de Fevereiro de 2022.

Assinatura Eletrônica

24/02/2022 11:19:32.0

ERICA CRISTINA BUENO DO PRADO GUIRRO

Presidente da Banca Examinadora

Assinatura Eletrônica

24/02/2022 14:27:42.0

ALINE DE MARCO VIOTT

Avaliador Externo (UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARANÁ)

Assinatura Eletrônica

24/02/2022 11:44:15.0

ROBERTA CARVALHO BASILE

Avaliador Externo (CENTRO UNIVERSITÁRIO DE JAGUARIÚNA)

RUA PIONEIRO, 2153 - PALOTINA - Paraná - Brasil

CEP 85950-000 - Tel: (44) 3211-8500 - E-mail: mestradobiotecufpr@gmail.com

Documento assinado eletronicamente de acordo com o disposto na legislação federal Decreto 8539 de 08 de outubro de 2015.

Gerado e autenticado pelo SIGA-UFPR, com a seguinte identificação única: 155071

Para autenticar este documento/assinatura, acesse <https://www.prppg.ufpr.br/siga/visitante/autenticacaoassinaturas.jsp> e insira o código 155071

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus por estar comigo em todo tempo, por possibilitar que todos os envolvidos neste projeto estejam com saúde neste momento.

A minha orientadora professora Dr^a. Erica Cristina Bueno do Prado Guirro pelo desenvolvimento deste trabalho, sou muito grata por tê-la comigo desde meu primeiro ano de graduação. Você é meu exemplo de ética, dedicação, profissionalismo e tudo isso aliado a um bom coração.

Ao meu namorado Gabriel Suriano por todo apoio durante o projeto e por tudo que faz por mim e para mim.

A minha família, minha mãe Noemi Oliveira e minha irmã Bruna Oliveira de Paula pela compreensão, acolhimento e amor durante esse período.

A minha amiga e irmã de coração Júlia Zanotelli por estar sempre comigo, por ouvir minhas dificuldades e me ajudar a encontrar soluções.

A minha cachorra Dakota por ser minha companheira de escrita, de projeto e de vida.

Aos meus colegas de mestrado e amigos Franklyn Araújo e Caroline Hammerschmitt, foi muito bom estar com vocês e dividir as dificuldades e alegrias do nosso projeto.

Aos alunos de iniciação científica e amigos Mykael Dreveck e Andressa Silva pela ajuda na fase inicial e durante o projeto, foi muito bom conhecer vocês.

As colegas Bruna Bitencourt, aluna de iniciação científica e mestranda Andressa Mott pelo auxílio na fase inicial do nosso projeto.

À médica veterinária Dr^a. Nara Bernardi por ter nos doado a colagenase e ter dividido sua experiência conosco.

À professora Dr^a. Aline de Marco Viott pela orientação e disponibilização do Laboratório de Patologia para a avaliação histopatológica.

Aos queridos Carolina Fontana minha colega de turma, ao médico veterinário residente Crisan Smaniotto e ao aluno Vinicius Dahm pelo auxílio durante a confecção e leitura das lâminas.

À professora Dr^a. Fabíola Fukushima, ao doutorando Rafael Debiage e às médicas veterinárias residentes Jéssica Sinotti, Ellen Siepman e Daniele Cristina por realizarem a anestesia e eutanásia dos animais.

À médica veterinária residente Cibele Palhari, por gentilmente realizar a avaliação ultrassonográfica dos animais.

As professoras Dr^a. Maristela Lopes e Dr^a. Geane Maciel Pagliosa por poder participar da rotina do Setor de Clínica Médica e Cirúrgica de Grandes Animais - CMCGA.

À Deborah Sandri, Bianca Dallo e Larissa Silva, médicas veterinárias residentes do setor de grandes animais e à estagiária Nathany Freitas pelo companheirismo e amizade durante esse período.

Ao meu amigo Eduardo Michelon por suas dicas preciosas e presença, mesmo que virtualmente, compartilhando as alegrias e dificuldades da pós-graduação.

À técnica Anoritta Vendrame e demais colaboradores do Hospital Veterinário UFPR-Palotina.

Ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, ao Setor Palotina e à Universidade Federal do Paraná.

À CAPES, pelo auxílio financeiro concedido na forma de bolsa de estudos. Ao Programa de Pós-graduação em Biotecnologia, ao Setor Palotina e à Universidade Federal do Paraná.

Feliz aquele que transfere o que sabe e aprende o que ensina.

Cora Coralina

RESUMO

A tendinopatia é uma afecção comum de tecidos moles causada por lesões repetitivas, por excesso de uso, esforço ou traumas. Ocorrem com frequência em humanos e animais atletas. O tratamento conservativo convencional é baseado no uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES). A fotobiomodulação com laser de baixa potência tem mostrado bons resultados no tratamento de tendinopatias, mas ainda requer mais pesquisas. O objetivo do presente estudo foi avaliar e comparar o efeito da fotobiomodulação no tratamento de tendinopatia induzida por colagenase com o uso de anti-inflamatório não esteroidal. No dia zero (D0), 81 ratos Wistar foram distribuídos em cinco grupos GC (controle – sem indução de tendinopatia e sem tratamento), GL (indução de tendinopatia e sem tratamento), GMI (indução de tendinopatia e tratamento com 2mg/kg meloxicam, SID, de D0 a D5), GMII (indução de tendinopatia e tratamento com 2mg/kg meloxicam, SID, de D2 a D7) e GFB (indução de tendinopatia e tratamento com fotobiomodulação utilizando laser de baixa potência a 808nm/3J/100mW em D2, D4, D6 e D8). Para indução da tendinite os grupos GL, GMI, GMII e GFB receberam injeção de colagenase (1mg/mL) na porção medial do tendão calcâneo, sendo este procedimento realizado sob anestesia geral com isoflurano. Os animais foram avaliados por meio de teste de locomoção em D4 e D18; avaliação ultrassonográfica em D7, D14 e D21; e, após eutanásia, avaliação histopatológica em D7, D14 e D21. No teste de locomoção não houve diferença entre grupos. Na avaliação ultrassonográfica, os achados foram compatíveis com tendinopatia e, entre tempos verificou-se que a irregularidade das fibras em GC no D7 foi menor que a verificada em D14 e em D21; e o edema em GL no D7 foi maior que o encontrado em D21. Na comparação entre tratamentos, verificou-se que em D7 a ecogenicidade de GC foi maior que o de GMII; em D14 o escore de GC foi maior que o de GFB; e em D14 e D21 o escore de irregularidade das fibras de GC foi maior que o verificado em GL. Em relação à avaliação histopatológica, entre tempos, a proporção das fibras colágenas em GMI em D7 foi maior que D21; no arranjo das fibras GMII em D7 foi maior que em D14. Ao comparar os grupos, observou-se que a quantidade de fibras colágenas em D7 o GC foi maior que a de GL, GMII e GFB; em D14 o valor de GC foi maior que o de GMI, GMII e GFB; em D21 a quantidade de fibras colágenas de GC foi superior à de GMI e GFB; no arranjo das fibras em D14 o escore de GMI e de GFB foi maior que o de GMII; o arredondamento dos fibroblastos em D7 o escore de GFB foi maior que o GMII; a densidade de fibroblastos em D7 o escore de GFB foi maior que o de GMII. Conclui-se que a fotobiomodulação é benéfica no tratamento de tendinopatia induzida por colagenase em ratos, mostrou-se promissora na diminuição da inflamação e do edema, no aumento da densidade fibras de colágeno e melhora na estrutura das fibras, apesar de não otimizar a locomoção dos animais.

Palavras-chave: Laser de baixa potência. Laserterapia. Tendão de Aquiles. Tendinopatia.

ABSTRACT

Tendinopathy is a common soft tissue condition caused by repetitive injuries, overuse, strain, or trauma. It often occurs in humans and animal athletes. Conventional conservative treatment is based on the use of non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs). Low-level laser photobiomodulation has shown good results in the treatment of tendinopathies, but still requires further research. The aim of the present study was to evaluate and compare the effect of photobiomodulation and use of non-steroidal anti-inflammatory drugs in the treatment of collagenase-induced tendinopathy. On day zero (D0), 81 Wistar rats were divided into five groups: GC (control - no tendinopathy induction and no treatment), GL (tendinopathy induction and no treatment), GMI (tendinopathy induction and treatment with 2mg/kg meloxicam, SID, from D0 to D5), GMII (induction of tendinopathy and treatment with 2mg/kg meloxicam, SID, from D2 to D7) and GFB (induction of tendinopathy and treatment with photobiomodulation using low power laser at 808nm/3J/100mW in D2, D4, D6 and D8). To induce tendinitis, groups GL, GMI, GMII and GFB received collagenase injection (1mg/mL) in the medial portion of the calcaneal tendon, this procedure being performed under general anesthesia with isoflurane. The animals were evaluated by locomotion test on D4 and D18; ultrasound evaluation on D7, D14 and D21; and, after euthanasia, histopathological evaluation on D7, D14 and D21. In the locomotion test, there was no difference between groups. In the ultrasound evaluation, the findings were compatible with tendinopathy and, between times, it was found that the irregularity of the fibers in GC on D7 was lower than that observed on D14 and D21; and the edema in GL on D7 was greater than that found on D21. Comparing treatments, it was found that in D7 the echogenicity of GC was greater than that of GMII; on D14, the GC score was higher than the GFB; and in D14 and D21, the irregularity score of the GC fibers was higher than the one verified in GL. Regarding the histopathological evaluation, between times, the proportion of collagen fibers in GMI at D7 was greater than D21; in the arrangement of GMII fibers in D7 it was greater than in D14. When comparing the groups, it was observed that the amount of collagen fibers in D7 the GC was greater than that of GL, GMII and GFB; in D14 the value of GC was higher than that of GMI, GMII and GFB; in D21 the amount of collagen fibers of GC was superior to that of GMI and GFB; in the arrangement of fibers in D14, the score of GMI and GFB was higher than that of GMII; the rounding of the fibroblasts in D7 the GFB score was higher than the GMII; the density of fibroblasts in D7 the GFB score was higher than that of GMII. It is concluded that photobiomodulation is beneficial in the treatment of collagenase-induced tendinopathy in rats, it has shown promise in reducing inflammation and edema, increasing collagen fiber density and improving fiber structure, despite not optimizing locomotion of the animals.

Key-words: Low-level laser therapy. Laser therapy. Achilles tendon. Tendinopathy.

LISTA DE FIGURAS

- FIGURA 1 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS. A – APLICAÇÃO DE COLAGENASE INTRATENDÍNEA GUIADA POR ULTRASSOM PARA INDUÇÃO DE TENDINITE EM RATOS WISTAR. B – TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO EM RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL 21
- FIGURA 2 – PROCEDIMENTOS PARA AVALIAÇÃO DO TENDÃO CALCÂNEO EM RATO WISTAR. A – AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA EM PLANO LONGITUDINAL COM PROBE LIENAR. B – COLETA DO TENDÃO CALCÂNEO PARA AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA..... 24

LISTA DE TABELAS

TABELA 1 –	LINHA DO TEMPO DOS PROCEDIMENTOS REALIZADOS NO EXPERIMENTO DE INDUÇÃO E TRATAMENTO DA TENDINITE EM RATOS.....	23
TABELA 2 –	NÚMERO DE QUADRADOS PERCORRIDOS NO OPEN FIELD (MÉDIA ± DP) POR RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB).....	25
TABELA 3 –	VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DA ECOGENICIDADE DO TENDÃO CALCÂNEO OBSERVADA NO EXAME ULTRASSONOGRÁFICO DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB).....	27
TABELA 4 –	VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DA IRREGULARIDADE DAS FIBRAS DO TENDÃO CALCÂNEO OBSERVADA NO EXAME ULTRASSONOGRÁFICO DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB).....	28
TABELA 5 –	VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DE EDEMA DO TENDÃO CALCÂNEO OBSERVADA NO EXAME ULTRASSONOGRÁFICO DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB).....	29
TABELA 6 –	PICROSIRIUS AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DA PROPORÇÃO DE COLÁGENO DO TIPO I E TIPO III NO SOFTWARE IMAGE J.....	30
TABELA 7 –	VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DA ESTRUTURA DAS FIBRAS TENDÍNEAS DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E	

	TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB).....	31
TABELA 8 –	VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DO ARRANJO DAS FIBRAS TENDÍNEAS DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB).....	32
TABELA 9 –	VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DE ARREDONDAMENTO DO NÚCLEO DOS FIBROBLASTOS DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB).....	33
TABELA 10 –	VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DE INFLAMAÇÃO (ÁREA INFILTRADA POR CÉLULAS INFLAMATÓRIAS) DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB).....	34
TABELA 11 –	VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DA NEOANGIOGÊNESE TENDÍNEA DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB).....	35
TABELA 12 –	VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DE DENSIDADE CELULAR DAS CÉLULAS TENDÍNEAS DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB).....	35

LISTA DE SIGLAS

AINE	– Anti-inflamatório Não Esteroidal.
GC	– Grupo Controle
GL	– Grupo Lesão
GFB	– Grupo Fotobiomodulação
GMI	– Grupo Meloxicam 1
GMII	– Grupo Meloxicam 2
KG	– Quilograma
MG	– Miligrama
SID	– <i>Semel In Die</i> = uma vez ao dia
UFPR	– Universidade Federal do Paraná

SUMÁRIO

1	INTRODUÇÃO.....	15
1.1	CONTEXTO E PROBLEMA.....	16
1.2	OBJETIVOS.....	16
1.2.1	Objetivo Geral.....	16
1.2.2	Objetivos Específicos.....	16
1.3	JUSTIFICATIVA.....	17
2	REVISÃO DE LITERATURA.....	18
3	MATERIAL E MÉTODOS.....	20
4	RESULTADOS E DISCUSSÃO.....	25
4.1	AVALIAÇÃO DA LOCOMOÇÃO.....	25
4.2	AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA.....	26
4.2.1	Ecogenicidade.....	26
4.2.2	Irregularidade das fibras tendíneas.....	27
4.2.3	Edema do tendão calcâneo.....	28
4.3	AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA.....	29
4.3.1	Proporção de fibras colágeno.....	29
4.3.2	Estrutura das fibras tendíneas.....	30
4.3.3	Arranjo das fibras tendíneas.....	31
4.3.4	Arredondamento do núcleo dos fibroblastos.....	32
4.3.5	Inflamação (área infiltrada por células inflamatórias)	33
4.3.6	Neoangiogênese tendínea.....	34
4.3.7	Densidade das células tendíneas (fibroblastos).....	35
5	CONCLUSÃO.....	36
	REFERENCIAS.....	37

1 INTRODUÇÃO

1.1 CONTEXTO E PROBLEMA

Os tendões desempenham função biomecânica importante na transmissão de força dos músculos para os ossos, sendo que tal função está relacionada à qualidade da estrutura tendínea, especialmente à estrutura e elasticidade das fibras colágenas (ANDARAWIS-PURI et al., 2015; LEE, et al, 2017). O colágeno presente nos tendões é predominantemente do tipo I, cerca de 60%, enquanto o colágeno do tipo III representa em média 10% (KJAER, 2004). Nos estágios iniciais da cicatrização a síntese de colágeno tipo III aumenta, na sequência ocorre a sua diminuição e a síntese e organização do colágeno tipo I (MARQUES et al., 2016).

O termo tendinopatia é usado de maneira geral para relatar afecções tendíneas causadas por uso excessivo (SHARMA; MAFFULLI, 2006). No entanto, os termos tendinite e tendinose são mais adequados ao tipo de lesão, na tendinite há inflamação e microlesões que ocorrem na fase aguda da lesão; enquanto na tendinose há degeneração do colágeno tendíneo devido a cronicidade da lesão (BASS, 2012).

A tendinopatia é considerada a lesão mais comum de tecidos moles (ANDARAWIS-PURI et al., 2015), que é causada por lesões repetitivas, por excesso de uso, esforço ou traumas, que levam a um processo inflamatório degenerativo e ruptura de fibras (MARCOS et al., 2011). As tendinopatias ocorrem comumente em humanos e animais atletas, mas pode afetar indivíduos sedentários (MARCOS et al., 2011; GOFF, 2016; WU et al., 2017). O tratamento convencional é baseado no uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES), porém esses fármacos podem gerar efeitos colaterais (SOUZA et al., 2017) e inclusive podem aumentar o risco de tendinopatias (MARCOS et al., 2011).

Uma alternativa mais recente usada para o tratamento de tendinopatias tem sido a laserterapia (SOUZA et al., 2017). A terapia a laser já recebeu diversas nomenclaturas, laser frio, terapia a laser de baixa potência, fototerapia entre outros; um consenso de nomenclatura sugeriu o termo fotobiomodulação para representar uma terapia que utiliza a luz não ionizante, que inclui lasers, LEDs e luz de banda larga, no espectro visível e infravermelho (ANDERS et al., 2015).

Estudos realizados em ratos já demonstraram efeitos significativamente melhores do laser de baixa potência comparado ao uso de diclofenaco (MARCOS et

al., 2011; MARCOS et al., 2012; NATERSTAD et al., 2018). Efeito na cicatrização capaz de preservar de características biomecânicas dos tendões (MARCOS et al., 2012). Além de reduzir a expressão de metaloproteinases (XAVIER et al., 2010; CASALECHI et al., 2013; FERNANDES DE JESUS et al., 2019) e diminuir a expressão de mediadores pró-inflamatórios na fase aguda e crônica da inflamação (PIRES et al., 2011).

O meloxicam é um anti-inflamatório não esteroidal inibidor preferencial da COX-2, com propriedades antipiréticas e analgésica (TASAKA, 2017), comumente utilizado na medicina veterinária no manejo da dor crônica em distúrbios locomotores em cães e no controle da dor de pós-operatório (CURRY et a., 2005). O uso de meloxicam também é indicado para afecções musculoesqueléticas agudas e crônicas em equinos (BOWEN et al., 2019).

Contudo, mais estudos são necessários para estabelecimento de parâmetros ideais para a fotobiomodulação, incluindo a comparação com meloxicam comumente utilizado na medicina veterinária e a verificação da qualidade da cicatrização tendínea.

1.2 OBJETIVOS

1.2.1 Objetivo Geral

Avaliar o efeito da fotobiomodulação no tratamento de tendinopatias induzidas em ratos.

1.2.2 Objetivo Específico

Comparar o efeito da fotobiomodulação com o uso de anti-inflamatório não esteroidal sobre a qualidade da locomoção com o teste *open field*;

Comparar o efeito da fotobiomodulação com o uso de anti-inflamatório não esteroidal sobre a qualidade da reparação tecidual mediante avaliação ultrassonográfica;

Comparar o efeito da fotobiomodulação com o uso de anti-inflamatório não esteroidal sobre a qualidade da reparação tecidual mediante avaliação histopatológica.

1.3 JUSTIFICATIVA

Há na literatura estudos sobre o tratamento de tendinopatias utilizando a fotobiomodulação, porém poucos estudos comparam a aplicação da fotobiomodulação com a terapia medicamentosa. Além disso, a ampla maioria dos artigos apresenta avaliação histopatológica a partir da coloração com eosina-hematoxilina, o que não permite avaliar a proporção de colágeno tipo I e III na reparação tecidual.

Dessa forma, este estudo poderá comparar o potencial terapêutico da fotobiomodulação em relação ao uso de anti-inflamatório não esteroideal, bem como a proporção dos colágenos tipos I e III durante o reparo cicatricial.

2 REVISÃO DE LITERATURA

O tendão é composto por tecido conjuntivo e essa estrutura responsável por conduzir as forças transmitidas dos músculos aos ossos (ANDARAWIS-PURI et al., 2015; GAUT; DUPREZ, 2016). São compostos por cerca de 70% de colágeno, sendo em média 95% do colágeno tipo I e uma pequena quantidade de elastina, é um tecido pouco vascularizado, especialmente em sua porção média (CHAO et al., 2011). A organização das fibras colágenas paralelas é importante para a propriedade mecânica dos tendões (ANDARAWIS-PURI et al., 2015).

As tendinopatias são disfunções multifatoriais que ocorrem nos tendões devido principalmente ao estresse mecânico repetitivo (MARCOS et al., 2011). A tendinite calcânea, assim como de outros tendões está associada a ruptura de fibras colágenas, proliferação desordenada de tenócitos e diminuição de suas propriedades biomecânicas (XAVIER et al., 2010). A reparação tendínea após a lesão aguda inclui uma fase inflamatória, seguida pela migração celular, proliferação celular e remodelamento (GAUT; DUPREZ, 2016).

Os sinais clínicos mais comuns das tendinopatias são dor, edema e claudicação (SOUZA et al., 2017). Ocorrem comumente em animais e humanos atletas (GOFF, 2016), mas podem acometer indivíduos sedentários com sobrepeso ou com postura inadequada dentre outros fatores (SOUZA et al., 2017).

O processo de recuperação de tendões é considerado longo, lento e, em muitos casos, ocorre cicatrização incompleta caracterizada por tecido desorganizado o que compromete as propriedades biomecânicas como força e elasticidade (ANDARAWIS-PURI et al., 2015; GAUT; DUPREZ, 2016; SOUZA et al., 2017).

Dentre as opções terapêuticas mais comumente empregadas no tratamento conservativo de tendinopatias está o uso de anti-inflamatórios não esteroidais (AINES) (MAFFULLI et al. 2020) e as injeções peritendíneas de corticosteroides (HART, 2011). No entanto, devido aos efeitos colaterais dos AINES, como úlceras gástricas, problemas renais e agregação plaquetária, outras terapias têm sido pesquisadas, entre elas a laserterapia (SOUZA et al., 2017).

Entre os anti-inflamatórios, foram estudados os efeitos do diclofenaco (MARSOLAIS et al., 2003; MARCOS et al., 2011; MARCOS et al., 2012; NATERSTAD et al., 2018), indometacina e celecoxibe em tendinopatias em ratos (FORSLUND et al., 2003) e do ibuprofeno *in vitro* (TSAI et al., 2004). Naterstad et al. (2018) também

avaliaram os efeitos de corticosteroides, dexametasona pela via intramuscular em ratos.

A laserterapia tem sido utilizada no tratamento das tendinopatias (SILVA et al., 2020). O uso do laser de baixa potência promove três efeitos principais: analgésico, anti-inflamatório e aceleração do processo cicatricial (HOCHMAN, 2018) ao favorecer a neovascularização e aumentar a síntese de colágeno (SOUZA et al., 2017).

O laser de baixa potência emite luz dentro do espectro eletromagnético visível (vermelho) ou invisível (infravermelho), sendo que ambos atuam nas moléculas fotorreceptoras (cromóforos) do complexo citocromo c oxidase, que desempenha papel fundamental no metabolismo energético mitocondrial, leva ao aumento no consumo de oxigênio e produção de ATP, com potencial para modificar uma variedade de processos biológicos (HAMBLIN, 2016). Dessa forma, a fotobiomodulação, com o uso de laser de baixa potência produz efeitos positivos sobre a resposta inflamatória reduz sua duração e acelera o reparo do tendão em ratos submetidos a lesão (SILVA et al., 2020).

Em estudos anteriores foi observado que a terapia com laser de baixa potência foi capaz de atuar na expressão de citocinas, redução da inflamação e reparo tecidual (HASLERUD et al., 2017). Essa técnica mostrou-se superior ao uso de diclofenaco que é um AINES (MARCOS et al. 2011; MARCOS, 2012) e foi eficaz para melhorar o reparo do tendão calcâneo de ratos submetidos a uma lesão parcial do tendão (OLIVEIRA et al., 2009). Iacopetti et al. (2015) verificaram que dose de 5J/cm² promoveu efeitos melhores que a dose de 10J/cm² em ovelhas com tendinite induzida por colagenase. Neves et al. (2011) correlacionaram a melhora no reparo dos tendões em ratos a potências mais altas do laser.

3 MATERIAL E MÉTODOS

O experimento foi iniciado após ser aprovado pelo Departamento de Ciências Veterinárias, Comitê Setorial de Pesquisa, Programa de Pós-graduação em Biotecnologia e Comissão de Ética no Uso de Animais do Setor Palotina da UFPR (protocolo nº43/2020).

Foram utilizados 81 ratos da espécie *Rattus norvegicus albinus*, variedade Wistar, machos e fêmeas, com 8 semanas de idade, com média de peso de 208 ± 30 g produzidos no Biotério Experimental de Roedores do Hospital Veterinário do Setor Palotina da Universidade Federal do Paraná. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno (41x33x16cm) e permaneceram em ambiente climatizado ($22 \pm 2^\circ\text{C}$), sob ciclo natural claro/escuro de 12 horas. Durante todo o experimento os animais receberam ração peletizada e água *ad libitum*. O critério de seleção dos animais para o estudo, considerou como animais hígidos aqueles que não apresentavam lesão ou claudicação de ambos os membros pélvicos.

Os animais foram aleatoriamente divididos em cinco grupos experimentais, com proporção equivalente de machos e fêmeas:

- Grupo controle (GC, n=15): sem indução de tendinite e sem tratamento;
- Grupo lesão (GL, n=15): indução de tendinite, sem tratamento;
- Grupo meloxicam (GMI, n=15): indução de tendinite, tratamento com meloxicam (2mg/kg via subcutânea, 2h após a produção da lesão e repetida a cada 24h até completar 5 dias de tratamento).
- Grupo meloxicam (GMII, n=15): indução de tendinite, tratamento com meloxicam (2mg/kg via subcutânea, 48h após a produção da lesão e repetida a cada 24h até completar 5 dias de tratamento).
- Grupo fotobiomodulação (GFB, n=21): indução de tendinite (FIGURA 1A), tratamento com fotobiomodulação. Foi utilizado equipamento de laser de baixa potência (Recover MM Optics), no espectro infravermelho com comprimento de onda 808nm em modo contínuo, com energia total de 3J e potência máxima de 100 mW/cm^2 . A caneta foi disposta em ângulo de 90° em um único ponto, na região média caudal do tendão calcâneo (FIGURA 1B). A primeira aplicação ocorreu 2h após a indução da lesão (D0) e outras sessões ocorreram a cada 48 horas em D2, D4, D6 e D8.

FIGURA 1 – PROCEDIMENTOS EXPERIMENTAIS. A – APLICAÇÃO DE COLAGENASE INTRATENDÍNEA GUIADA POR ULTRASSOM PARA INDUÇÃO DE TENDINITE EM RATOS WISTAR. B – TRATAMENTO COM FOTOBIMODULAÇÃO EM RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL.



FONTE: AUTOR (2022).

Para indução da tendinite, os animais dos grupos GL, GMI, GMII e GFB receberam 50µg/tendão de colagenase na diluição de 0,03mg/mL de solução salina 0,9% (1 mg/mL; SIGMA; C-0130) na porção média do tendão no dia zero (D0). Para realização desse procedimento, houve indução e manutenção anestésica com isoflurano diluído em 100% de O₂ em sistema aberto, via máscara. A região do tendão calcâneo direito dos ratos foi submetida à antissepsia com solução de digliconato de clorexidina 2% e em seguida ocorreu a aplicação da injeção intratendínea.

Em D4 e D18 foi realizado o teste de locomoção, no D7, D14 e D21 ocorreram as demais avaliações (TABELA 1). Em cada dia de avaliação, um terço dos animais foi avaliado, incluindo:

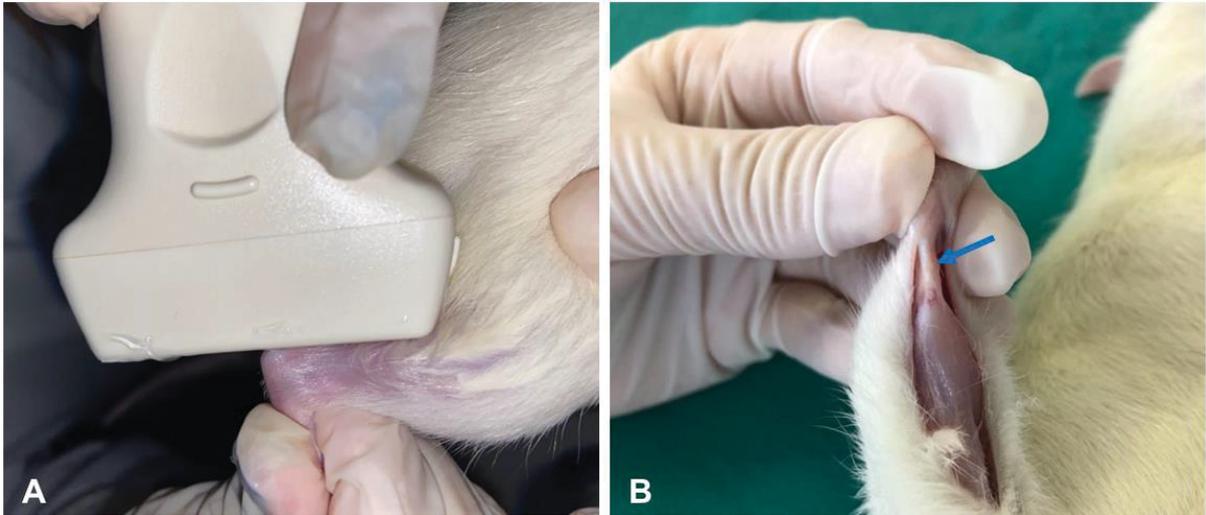
- Teste de locomoção: os animais foram analisados através do teste de *Open Field*, no qual se emprega uma base de vidro de 75cmx75xm com 25 divisões (15cmx15cm). Para verificação da atividade exploratória foram contabilizados quantos quadrados o animal percorreu no período de 5 minutos. Os animais foram soltos sempre no quadrado central e o quadrado foi considerado percorrido quando ambos os membros torácicos cruzassem a linha de um quadrado.

- Exame ultrassonográfico: foi realizado em plano longitudinal com transdutor linear (FIGURA 2A) e frequência 5 - 12 MHz (Samsung Medison SonoAce® R3), avaliou-se o escore de ecogenicidade (0= hipoecoico, 1 = normal e 2 = hiperecoico), regularidade (0 = irregular, 1 = discreta, 2 = parcial e 3 = regular) e edema (0 = ausente e 1 = presente). A avaliação foi conduzida como estudo cego.
- Estudo histopatológico: após eutanásia com overdose de isoflurano em cuba plástica hermeticamente fechada, o tendão foi coletado (FIGURA 2B) e acondicionado em formol tamponado a 10%. As lâminas confeccionadas foram coradas com eosina-hematoxilina ou picosirius red. A leitura das lâminas coradas com H&E foi realizada utilizando o microscópio Olympus® CX41RF em objetiva de 40X, avaliou-se o escore de áreas infiltradas por células inflamatórias (0= até 10%; 1= de 11 a 20%; 2= de 21 a 30%; 3= acima de 30%), neoangiogênese (0= até 10%; 1= de 11 a 20%; 2= de 21 a 30%; 3= acima de 30%), arredondamento do núcleo (0: células longas em forma de fuso; 1= ligeiramente arredondadas; 2= moderadamente arredondadas; 3= severamente arredondadas), densidade celular (0= normal; 1= ligeiramente aumentada; 2= moderadamente aumentada; 3= severamente aumentada), estrutura das fibras (0= contínua, fibra longa; 1= ligeiramente fragmentada; 2= moderadamente fragmentada; 3= severamente fragmentada) e arranjo das fibras (0= compactadas e paralelas; 1= ligeiramente soltas e onduladas; 2= moderadamente soltas, onduladas e cruzadas umas sobre as outras; 3= sem padrão identificado). A leitura das lâminas coradas com Picosirius red foram feitas no microscópio AxioCam 503 color da Zeiss® do Laboratório de Química da Universidade Tecnológica Federal do Paraná - Campus Toledo, foi avaliada a proporção de colágeno do tipo I e tipo III pela leitura em microscópio de luz polarizada, na lente de 40x, a porcentagem foi aferida pelo software Image J (National Institute of Health, EUA), que é capaz de identificar as regiões coradas amareladas ou avermelhadas como sendo de colágeno do tipo I e as regiões esverdeadas como sendo de colágeno do tipo III. A avaliação foi conduzida como estudo cego.

TABELA 1 – LINHA DO TEMPO DOS PROCEDIMENTOS REALIZADOS NO EXPERIMENTO DE INDUÇÃO E TRATAMENTO DA TENDINITE EM RATOS

Dia	Procedimento realizado
D0	Indução da tendinite com colagenase nos grupos GL, GFB, GMI e GMII Tratamento GFB Tratamento GMI
D1	Tratamento GMI
D2	Tratamento GFB Tratamento GMI Tratamento GMII
D3	Tratamento GMI Tratamento GMII
D4	Tratamento GFB Tratamento GMII Tratamento GMII Avaliação da locomoção – Teste <i>open field</i>
D5	Tratamento GMII
D6	Tratamento GFB Tratamento GMII
D7	Avaliação ultrassonográfica Eutanásia e coleta do tendão
D8	Tratamento GFB
D14	Avaliação ultrassonográfica Eutanásia e coleta do tendão
D18	Avaliação da locomoção – Teste <i>open field</i>
D21	Avaliação ultrassonográfica Eutanásia e coleta do tendão

FIGURA 2 – PROCEDIMENTOS PARA AVALIAÇÃO DO TENDÃO CALCÂNEO EM RATO WISTAR. A – AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA EM PLANO LONGITUDINAL COM PROBE LIENAR. B – COLETA DO TENDÃO CALCÂNEO PARA AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA



FONTE: AUTOR (2022).

Os dados paramétricos foram analisados por ANOVA de uma via, seguido por Tukey, com $p < 0,05$. Os dados não paramétricos submetidos ao teste Kruskal Wallis, com $p < 0,05$.

4 RESULTADOS E DISCUSSÃO

4.1 AVALIAÇÃO DA LOCOMOÇÃO

Não houve alterações significativas na comparação entre tempos e nem entre tratamentos (Tabela 2).

É importante avaliar a locomoção, pois a tendinopatia cursa com dor, edema e desempenho prejudicado (LI; HUA, 2016; MAFFULLI et al., 2020); a dor pode ser intensificada com a marcha (SILBERNAGEL et al., 2020) e, conseqüentemente, os animais com dor exacerbada reduzem a locomoção e passam a apresentar algum grau de claudicação (CADBY et al., 2013; IACOPETTI et al., 2015). O objetivo do seu uso no presente estudo foi para avaliar se a dor causada pela tendinite induzida com colagenase diminuiria a locomoção dos ratos, porém, o comportamento exploratório e a relação de dominância entre outros fatores podem ter interferido na avaliação.

Apesar de não terem sido observadas diferenças significativas, considerou-se que o uso do teste *open field*, que geralmente é utilizado em estudos comportamentais (ZELDETZ et al., 2018; KRAEUTER et al., 2019), foi adequado e pode ser implementado em outros estudos que tenham como foco verificar a recuperação em tendinopatias em roedores.

TABELA 2 – NÚMERO DE QUADRADOS PERCORRIDOS NO OPEN FIELD (MÉDIA ± DP) POR RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB):

Grupo	Semana de tratamento		p
	1ª semana	3ª semana	
GC	150,9 ± 47,7 ^{Aa}	165,5 ± 40,9 ^{Aa}	0,364
GL	148,5 ± 49,2 ^{Aa}	154,4 ± 27,5 ^{Aa}	0,745
GMI	136,4 ± 45,8 ^{Aa}	139,4 ± 24,7 ^{Aa}	0,901
GMII	145,2 ± 15,7 ^{Aa}	139,4 ± 18,6 ^{Aa}	0,608
GFB	129,6 ± 26,4 ^{Aa}	125,1 ± 41,5 ^{Aa}	0,816
p	0,844	0,164	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, p<0,05); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, p<0,05). GC – sem injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de colagenase e recebeu fotobimodulação (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

4.2 AVALIAÇÃO ULTRASSONOGRÁFICA

A ultrassonografia é um exame não invasivo, que pode fornecer informações estruturais, como espessura, presença de calcificações, ecogenicidade e alinhamento das fibras tendíneas (WU et al., 2017). Cabe ainda ressaltar que poucos estudos realizaram avaliação ultrassonográfica do tendão calcâneo de ratos e acredita-se que isso seja pelo tamanho da estrutura e limitação de algumas avaliações.

4.2.1 Ecogenicidade

Não houve diferença na comparação do escore de ecogenicidade entre tempos. Entre grupos, verificou-se em D7 que o escore de GC foi maior que o de GMII; e em D14 o escore de GC foi maior que o de GFB (Tabela 3). Em ambas as avaliações GC apresentou tendões com ecogenicidade normal, enquanto o GMII e o GFB apresentaram-se hipoecoicos.

Os resultados corroboram o encontrado por Wu et al. (2017), no qual os tendões apresentaram hipoecogenicidade nos grupos de tendinite induzida por colagenase e o grupo controle permaneceu sem alterações. LEE et al. (2016) inferem que a indução da tendinite com colagenase reduza a ecogenicidade das fibras tendíneas observadas no exame ultrassonográfico.

Segundo Berner (2017), áreas hipoecogênicas assim como hiperecogênicas podem ser observadas ultrassonograficamente, correlacionadas a detritos e sangue provenientes de ruptura e aumento de volume tendíneo. Ainda que o tratamento com laser de baixa potência não tenha apresentado normalidade na ecogenicidade, o resultado corrobora ao achado histopatológico da estrutura das fibras, que avaliou o escore de fragmentação.

TABELA 3 – VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DA ECOGENICIDADE DO TENDÃO CALCÂNEO OBSERVADA NO EXAME ULTRASSONOGRÁFICO DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB):

Grupo	Dias de tratamento			p
	D7	D14	D21	
GC	1 (1-1) ^{Aa}	1 (1-1) ^{Aa}	1 (1-1) ^{Aa}	1,000
GL	0 (0-0) ^{Aab}	0 (0-2) ^{Aab}	0 (0-2) ^{Aa}	0,311
GMI	0 (0-1) ^{Aab}	0 (0-2) ^{Aab}	0 (0-1) ^{Aa}	0,985
GMI	0 (0-0) ^{Ab}	0 (0-0) ^{Aab}	0 (0-1) ^{Aa}	0,116
GFB	0 (0-1) ^{Aab}	0 (0-0) ^{Ab}	0 (0-1) ^{Aa}	0,329
p	0,001	0,010	0,101	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, $p < 0,05$); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, $p < 0,05$). GC – sem injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de colagenase e recebeu fotobiomodulação (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

4.2.2 Irregularidade das fibras tendíneas

Entre tempos, observou-se que o escore encontrado em GC no D7 foi menor que o verificado em D14 e em D21. Na comparação entre tratamentos, em D14 e em D21 o escore de GC foi maior que o verificado em GL (Tabela 4).

O processo inflamatório causa a irregularidade das fibras e quando não há tratamento adequado sua reparação pode demorar meses (LARAIA et al., 2012). Na fase de reação inflamatória podem ser observados na ultrassonografia aumento de volume dos tendões e áreas hipocogênicas de ruptura das fibras (BERNER, 2017).

O retorno da regularidade das fibras tendíneas não foi observado nos animais tratados com fotobiomodulação no presente estudo. Em um estudo semelhante de tendinite induzida com colagenase em equinos, foram observados achados ultrassonográficos compatíveis com tendinopatia, no entanto, não foram observadas alterações nos achados dos animais tratados com laserterapia ao longo dos 40 dias de experimento (MACHADO et al., 2000). Portanto, o período de 21 dias do nosso experimento pode ter sido curto para a observação do retorno a regularidade das fibras lesionadas.

TABELA 4 – VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DA IRREGULARIDADE DAS FIBRAS DO TENDÃO CALCÂNEO OBSERVADA NO EXAME ULTRASSONOGRÁFICO DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB):

Grupo	Dias de tratamento			p
	D7	D14	D21	
GC	1 (1-1) ^{Aa}	3 (2-3) ^{Ba}	3 (2-3) ^{Ba}	0,005
GL	0 (0-3) ^{Aa}	0 (0-2) ^{Ab}	1 (0-2) ^{Ab}	0,621
GMI	2 (1-3) ^{Aa}	2 (0-3) ^{Aab}	2 (1-3) ^{Aab}	0,840
GMII	3 (0-3) ^{Aa}	1 (1-2) ^{Aab}	2 (2-3) ^{Aab}	0,058
GFB	3 (1-3) ^{Aa}	2 (0-3) ^{Aab}	2 (2-3) ^{Aab}	0,188
p	0,055	0,029	0,024	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, $p < 0,05$); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, $p < 0,05$). GC – sem injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de colagenase e recebeu laser de baixa potência (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

4.2.3 Edema do tendão calcâneo

Na comparação entre tempos, o escore observado em GL no D7 foi maior que o escore encontrado em D21. Não houve diferença na comparação entre os tratamentos (Tabela 5). O edema pode ser encontrado como alteração peritendínea isolada ou juntos com outras alterações, como já foi observado em cavalos de corrida (ULKE et al., 2020). A presença de edema está correlacionada a fase inicial da inflamação (VOLETI et al., 2012) o que explicaria o escore encontrado no presente estudo.

Os animais tratados com laser de baixa potência não apresentaram edema no exame ultrassonográfico, enquanto os animais dos grupos GL, GMI e GMII, embora sem diferença significativa, apresentaram edema na avaliação do D7, o que pode ser considerado um benefício do tratamento com laser em relação aos AINES. Marcos et al. (2011) concluíram que o laser na dose de 3J reduziu a formação de edema, quando comparado ao diclofenaco que é um AINE.

TABELA 5 – VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DE EDEMA DO TENDÃO CALCÂNEO OBSERVADA NO EXAME ULTRASSONOGRÁFICO DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB):

Grupo	Dias de tratamento			p
	D7	D14	D21	
GC	0 (0-0) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	1,000
GL	1 (0-1) ^{Aa}	0 (0-0) ^{ABa}	0 (0-0) ^{Ba}	0,030
GMI	0 (0-1) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	0,116
GMII	0 (0-1) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	0,116
GFB	0 (0-1) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	0,122
p	0,378	1,000	1,000	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, $p < 0,05$); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, $p < 0,05$). GC – sem injeção de collagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de collagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de collagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de collagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de collagenase e recebeu fotobiomodulação (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

4.3 AVALIAÇÃO HISTOPATOLÓGICA

Em tendinopatias, a avaliação histopatológica de lâminas coradas com eosina-hematoxilina é comumente utilizada para analisar a estrutura e arranjo das fibras, arredondamento do núcleo, inflamação, densidade celular (CHEN et al, 2014), hemorragia, espessura do epitendão (URDZIKOVA et al., 2014), ruptura de colágeno e infiltração de tenócitos (HASLERUD et al., 2017). A coloração picrossirius red permite avaliar a proporção de diferentes tipos de fibras de colágeno sob luz polarizada (MARQUES et al., 2016).

4.3.1 Proporção de fibras colágeno

Na comparação entre tempos verificou-se alteração significativa apenas em GMI, quando a proporção de fibras de colágeno em D7 foi maior que a observada em D21. Ao comparar os tratamentos, em D7 a quantidade de fibras de colágeno de GC foi maior que a encontrada em GL, GMII e GFB; em D14 o valor de GC foi maior que o de GMI, GMII e GFB; em D21 a quantidade de fibras de colágeno de GC foi superior ao observado em GMI e GFB (Tabela 6). Embora o tratamento com fotobiomodulação não tenha sido estatisticamente significativo, observou-se uma porcentagem maior de colágeno do D7 em relação ao D21, semelhante ao encontrado por Naterstad et al.

(2018), onde houve aumento da quantidade de fibras colágenas apenas na fase inicial entre 12 e 24 horas da indução da tendinite.

TABELA 6 – PICROSIRIUS AVALIAÇÃO DA PORCENTAGEM DA PROPORÇÃO DE COLÁGENO DO TIPO I E TIPO III NO SOFTWARE IMAGE J:

Grupo	Dias de tratamento			p
	D7	D14	D21	
GC	73,4 ± 2,7 ^{Aa}	72,4 ± 1,7 ^{Aa}	72,4 ± 4,2 ^{Aa}	0,843
GL	62,5 ± 5,9 ^{Ab}	68,6 ± 1,1 ^{Aab}	62,5 ± 5,4 ^{Aab}	0,094
GMI	68,6 ± 0,9 ^{Aab}	63,7 ± 3,3 ^{ABb}	58,9 ± 7,2 ^{Bb}	0,020
GMI	65,8 ± 4,3 ^{Ab}	63,3 ± 4,4 ^{Ab}	61,1 ± 1,3 ^{Aab}	0,162
GFB	64,8 ± 3,8 ^{Ab}	64,4 ± 1,5 ^{Ab}	60,0 ± 8,3 ^{Ab}	0,447
P	0,002	0,002	0,013	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, $p < 0,05$); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, $p < 0,05$). GC – sem injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de colagenase e recebeu fotobiomodulação (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

4.3.2 Estrutura das fibras tendíneas

No escore de estrutura das fibras tendíneas não houve diferença na comparação entre tempos e nem entre grupos (Tabela 7). O grupo tratado com fotobiomodulação, apesar de não significativo, apresentou melhora em relação a estrutura das fibras no D14 e D21, estavam levemente fragmentadas. Semelhante ao observado por Haslerud et al. (2017), em que os grupos tratados com laser apresentaram fibras com pequeno grau de ruptura.

Oliveira et al. (2009) verificaram em seu estudo que as fibras colágenas durante a fase inicial de reparo responderam de forma benéfica ao tratamento com laser de baixa potência.

TABELA 7 – VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DA ESTRUTURA DAS FIBRAS TENDÍNEAS DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB):

Grupo	Dias de tratamento			p
	D7	D14	D21	
GC	1 (0-2) ^{Aa}	1 (1-2) ^{Aa}	1 (0-3) ^{Aa}	0,691
GL	2 (1-2) ^{Aa}	1 (1-2) ^{Aa}	1 (0-2) ^{Aa}	0,493
GMI	1 (1-2) ^{Aa}	2 (1-2) ^{Aa}	2 (1-3) ^{Aa}	0,178
GMII	1 (1-2) ^{Aa}	1 (1-2) ^{Aa}	1 (0-2) ^{Aa}	0,819
GFB	2 (1-3) ^{Aa}	1 (1-2) ^{Aa}	1 (1-2) ^{Aa}	0,556
P	0,258	0,662	0,216	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, $p < 0,05$); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, $p < 0,05$). GC – sem injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de colagenase e recebeu fotobiomodulação (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

4.3.3 Arranjo das fibras tendíneas

Entre tempos, o escore de GMII em D7 foi maior que o verificado em D14. Na comparação entre tratamentos, em D14 o escore de GMI e de GFB foi maior que o de GMII (Tabela 8). Dessa forma, o tratamento com fotobiomodulação foi similar ao tratamento com anti-inflamatório iniciado precocemente após a lesão.

A organização das fibras tendíneas ocorre na fase de remodelação do tecido após a lesão e está relacionada a restauração da estrutura e função do tendão (CHAN et al., 2007), sendo possível observar moderada organização e paralelismo das fibras tendíneas na terceira semana de avaliação histopatológica após tratamento com laser de baixa potência em tendinopatia induzida cirurgicamente (SOUZA et al., 2017).

Naterstad et al. (2018) verificaram que o laser de baixa potência foi mais efetivo que o diclofenaco, que é um AINE, para promover o aumento do colágeno nas fases iniciais e manter a organização das fibras tendíneas na área lesionada em tendinopatia induzida por colagenase.

Marcos et al. (2012) concluíram que o tratamento com laser de baixa potência diferente do uso do diclofenaco foi capaz de preservar características semelhantes a tendões saudáveis, com diminuição da inflamação e aumento da resistência.

Outras variáveis da terapia com laser de baixa potência podem influenciar no arranjo das fibras. Oliveira et al. (2009) observaram que cinco dias de tratamento consecutivos promoveram melhora na orientação das fibras, ao passo que Neves et al. (2011) correlacionaram a melhora de realinhamento com a potência utilizada.

TABELA 8 – VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DO ARRANJO DAS FIBRAS TENDÍNEAS DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB):

Grupo	Dias de tratamento			p
	D7	D14	D21	
GC	0 (0-2) ^{Aa}	1 (0-2) ^{Aab}	2 (0-3) ^{Aa}	0,305
GL	2 (0-2) ^{Aa}	1 (1-3) ^{Aab}	1 (0-2) ^{Aa}	0,531
GMI	2 (1-3) ^{Aa}	2 (1-3) ^{Aa}	2 (0-3) ^{Aa}	0,948
GMII	1 (1-2) ^{Aa}	0 (0-1) ^{ABb}	1 (1-1) ^{Ba}	0,035
GFB	2 (1-3) ^{Aa}	2 (1-3) ^{Aa}	2 (1-3) ^{Aa}	0,831
P	0,156	0,012	0,349	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, $p < 0,05$); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, $p < 0,05$). GC – sem injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de colagenase e recebeu fotobiomodulação (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

4.3.4 Arredondamento do núcleo dos fibroblastos

Na avaliação do arredondamento do núcleo de fibroblastos não houve diferença na comparação entre tempos. Entre tratamentos, em D7 o escore de GFB foi maior que o GMII (Tabela 9).

Esse resultado corrobora Souza et al. (2017) que encontraram grande quantidade de fibroblastos arredondados após duas semanas de tratamento com laser em tendinopatias induzidas. Ao contrário de Locke et al. (2020) que não observaram mudança no formato do núcleo de fibroblastos do tendão de animais tratados com laser de baixa potência.

TABELA 9 – VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DE ARREDONDAMENTO DO NÚCLEO DOS FIBROBLASTOS DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB):

Grupo	Dias de tratamento			p
	D7	D14	D21	
GC	2 (0-2) ^{Aab}	1 (0-2) ^{Aa}	2 (1-2) ^{Aa}	0,442
GL	2 (1-3) ^{Aab}	1 (0-3) ^{Aa}	1 (0-1) ^{Aa}	0,158
GMI	2 (1-3) ^{Aab}	2 (0-3) ^{Aa}	3 (1-3) ^{Aa}	0,656
GMII	1 (0-1) ^{Ab}	1 (1-2) ^{Aa}	1 (1-2) ^{Aa}	0,122
GFB	3 (1-3) ^{Aa}	2 (1-3) ^{Aa}	1 (0-3) ^{Aa}	0,198
P	0,044	0,358	0,066	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, $p < 0,05$); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, $p < 0,05$). GC – sem injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de colagenase e recebeu fotobiomodulação (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

4.3.5 Inflamação (área infiltrada por células inflamatórias)

Não houve diferença na comparação entre tempos e nem entre grupos (Tabela 10). Embora não tenha sido observada diferença estatística, em D7 os grupos com indução de tendinopatia apresentaram maior densidade de células inflamatórias em relação ao observado no D21. Em um estudo semelhante não foi observada diferença entre o infiltrado inflamatório no grupo controle e grupo tratamento com laserterapia, apenas entre os tempos (SOUZA et al., 2017).

Casalechi et al. (2013) e Pires (2010) observaram que o laser de baixa potência foi capaz de modular mediadores inflamatórios nas fases aguda e crônica da tendinopatia induzida por colagenase.

Em dois estudos de um mesmo grupo de pesquisa, um único tratamento com laser de baixa potência após a indução da tendinite com colagenase foi capaz de diminuir significativamente a resposta inflamatória de curto prazo comparada ao tratamento com diclofenaco (MARCOS et al., 2011; MARCOS et al., 2012). Ainda que no presente trabalho a fotobiomodulação não tenha demonstrado resultado significativo comparada ao tratamento com AINE, continua sendo uma opção terapêutica por não apresentar efeitos colaterais.

TABELA 10 – VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DE INFLAMAÇÃO (ÁREA INFILTRADA POR CÉLULAS INFLAMATÓRIAS) DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB):

Grupo	Dias de tratamento			p
	D7	D14	D21	
GC	0 (0-0) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	1,000
GL	1 (0-3) ^{Aa}	0 (0-1) ^{Aa}	0 (0-0) ^{Aa}	0,131
GMI	1 (0-3) ^{Aa}	0 (0-2) ^{Aa}	0 (0-1) ^{Aa}	0,133
GMI	0 (0-3) ^{Aa}	0 (0-1) ^{Aa}	0 (0-1) ^{Aa}	0,638
GFB	1 (0-3) ^{Aa}	0 (0-1) ^{Aa}	0 (0-1) ^{Aa}	0,129
P	0,195	0,564	0,728	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, $p < 0,05$); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, $p < 0,05$). GC – sem injeção de collagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de collagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de collagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de collagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de collagenase e recebeu fotobimodulação (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

4.3.6 Neoangiogênese tendínea

Não houve diferença na comparação entre tempos e nem entre grupos (Tabela 11). Segundo Hochman (2018) a neoangiogênese é decorrente do aumento do óxido nítrico, um dos efeitos celulares estimulados pelo laser de baixa potência.

No estudo de Ferreira et al. (2015) foi observada maior densidade de vasos no grupo controle em relação aos grupos tratados com laser de baixa potência e grupo lesão. No presente estudo, embora não significativo, ocorreu o contrário o GFB apresentou maior neoangiogênese quando comparado ao GC, o que sugere que o laser de baixa potência tenha estimulado a neoangiogênese.

No D21 foi observada a diminuição da neovascularização, condizente com o esperado no processo de cicatrização. Os dados encontrados corroboram Souza et al. (2017) que não observaram diferença estatística entre o grupo laser e grupo controle, mas verificaram redução na neoangiogênese em D21 em ambos os grupos.

TABELA 11 – VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DA NEOANGIOGÊNESE TENDÍNEA DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB):

Grupo	Dias de tratamento			p
	D7	D14	D21	
GC	1 (0-3) ^{Aa}	0 (0-1) ^{Ab}	0 (0-2) ^{Aa}	0,422
GL	1 (0-3) ^{Aa}	1 (0-3) ^{Aab}	0 (0-1) ^{Aa}	0,220
GMI	2 (0-3) ^{Aa}	3 (0-3) ^{Aa}	2 (1-3) ^{Aa}	0,839
GMII	1 (0-3) ^{Aa}	0 (0-1) ^{Ab}	0 (0-2) ^{Aa}	0,359
GFB	2 (0-3) ^{Aa}	2 (0-3) ^{Aab}	1 (0-3) ^{Aa}	0,655
P	0,798	0,158	0,062	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, $p < 0,05$); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, $p < 0,05$). GC – sem injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de colagenase e recebeu fotobiomodulação (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

4.3.7 Densidade das células tendíneas (fibroblastos)

Não houve diferença na comparação entre tempos. Entre tratamentos, observou-se em D7 que o escore de GFB foi maior que o de GMII (Tabela 12). Esse achado corrobora Souza et al. (2017) que verificaram que a fotobiomodulação promoveu aumento na quantidade de fibroblastos. Os fibroblastos são responsáveis pela síntese de colágeno em todos os estágios da cicatrização (VOLETI et al., 2012), mas é desejável que ocorra redução gradativa durante o processo de reparação tendínea (PIRES et al, 2010), exatamente como ocorreu no GFB.

TABELA 12 – VALOR DA MEDIANA (MÍNIMO – MÁXIMO) DO ESCORE DE DENSIDADE CELULAR DAS CÉLULAS TENDÍNEAS DE RATOS SUBMETIDOS À LESÃO TENDÍNEA EXPERIMENTAL E TRATADOS COM TERAPIA CONVENCIONAL OU COM FOTOBIMODULAÇÃO (GFB):

Grupo	Dias de tratamento			p
	D7	D14	D21	
GC	1 (0-2) ^{Aab}	1 (0-2) ^{Aa}	1 (0-2) ^{Aa}	0,921
GL	1 (1-2) ^{Aab}	1 (1-3) ^{Aa}	1 (0-1) ^{Aa}	0,092
GMI	1 (1-3) ^{Aab}	2 (0-3) ^{Aa}	1 (1-3) ^{Aa}	0,968
GMII	0 (0-1) ^{Ab}	0 (0-1) ^{Aa}	0 (0-1) ^{Aa}	0,756
GFB	2 (1-3) ^{Aa}	2 (1-3) ^{Aa}	1 (0-2) ^{Aa}	0,182
P	0,021	0,111	0,131	---

Sendo: Letras maiúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre colunas (teste t, $p < 0,05$); letras minúsculas sobrescritas diferentes indicam diferença entre linhas (ANOVA de uma via, $p < 0,05$). GC – sem injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GL - injeção de colagenase intratendínea e sem tratamento; GMI – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D0; GMII – injeção de colagenase intratendínea e recebeu meloxicam 0,2% 2mg/kg SID, 5 dias a partir de D2; GFB – injeção de colagenase e recebeu fotobiomodulação (808nm/3J/100mW) durante 5 dias a partir de D0 com intervalo de 48h.

5 CONCLUSÃO

A fotobiomodulação é benéfica no tratamento de tendinopatia induzida por colagenase em ratos, mostrou-se promissora na diminuição da inflamação e do edema, no aumento da densidade fibras de colágeno e melhora na estrutura das fibras, apesar de não otimizar a locomoção dos animais.

REFERÊNCIAS

- ANDARAWIS-PURI, N.; FLATOW, E. L.; SOSLOWSKY, L. J. Tendon basic science: development, repair, regeneration, and healing. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 33, n.6, p.780-784, 2015.
- ANDERS, J. J.; LANZAFAME R.J.; ARANY, P. R. Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 33, n. 4, p. 183-184, 2015.
- BASS, E. Tendinopathy: why the difference between tendinitis and tendinosis matters **International Journal of Therapeutic Massage and Bodywork**, v. 5, n. 1, p. 14-17, 2012.
- BERNER, D. Diagnostic imaging of tendinopathies of the superficial flexor tendon in horses. **Veterinary Record**, v. 181, n. 24, p. 652-654, 2017.
- BOWEN, I. M. et al. BEVA primary care clinical guidelines: analgesia. **Equine Veterinary Journal**, v. 52, n. 2, p. 13-27, 2020.
- CADBY, J. A. et al. Further characterisation of an experimental model of tendinopathy in the horse. **Equine Veterinary Journal**, v. 45, n. 5, p. 642-648, 2013.
- CASALECHI, H. L. et al. Low-Level Laser Therapy in experimental model of collagenase-induced tendinitis in rats: effects in acute and chronic inflammatory phases. **Lasers in Medical Science**, v. 28, n. 3, p.989-995, 2013.
- CHAN, H. K. F.; FUNG, D. T. C.; NG, G. Y. F. Effects of low-voltage microamperage stimulation on tendon healing in rats. **Journal of orthopaedic and sports physical therapy**, v.37, n. 7 p. 399-403, 2007.
- CHEN, L et al. Tendon derived stem cells promote platelet-rich plasma healing in collagenase-induced rat achilles tendinopathy. **Cellular Physiology Biochemistry**, v. 34, n. 6, p. 2153-2168, 2014.
- CHAO, Y-H. et al. The cross-talk between transforming growth factor-beta1 and ultrasound stimulation during mechanotransduction of rat tenocytes. **Connective Tissue Research**, v. 52, n. 4, p. 313-321, 2011.
- CURRY, S. L.; COGAR, S. M.; COOK, J. L. Nonsteroidal antiinflammatory drugs: a review. **Journal of the American Animal Hospital Association**, v. 41, n. 5, p. 298-309, 2005.
- ENWEMEKA, C. S.; REDDY, G. K. The biological effects of laser therapy and other physical modalities on connective tissue repair processes. **Laser Therapy**, v. 12, n.1, p. 22-30, 2000.
- FERNANDES DE JESUS et al. Photobiomodulation of matrix metalloproteinases in rat calcaneal tendons. **Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery**. v. 37, n. 7, p. 421-427, 2019.

FERREIRA, R. et al. Achilles tendon vascularization of proximal, medial, and distal portion before and after partial lesion in rats treated with phototherapy. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 33, n. 12, p. 579-584, 2015.

FORSLUND, C.; BYLANDER, B.; ASPENBERG, P. Indomethacin and celecoxib improve tendon healing in rats. **Acta Orthopaedica Scandinavica**, v. 74, n.4, p. 465-469, 2003.

GAUT, L; DUPREZ, D. Tendon development and diseases. **WIREs Developmental Biology**, v. 5, n. 1, p.5-23, 2016.

GOFF, L. Equine sports medicine and performance management. *In*: MCGOWAN, C. M.; GOFF, L. **Animal Physiotherapy: Assessment, Treatment and Rehabilitation of Animals**. 2ª edição. Chichester: Wiley blackwell, 2016. p. 329-346.

HAMBLIN, M. R. Photobiomodulation or low-level laser therapy. **Journal of Biophotonics**, v. 9, n.11-12, p. 1122-1124, 2016.

HART, L. Corticosteroid and other injections in the management of tendinopathies: a review. **Clinical Journal of Sport Medicine**, v. 21, n 6, p. 540-1, 2011.

HASLERUD, S. et al. Low-Level Laser Therapy and cryotherapy as mono- and adjunctive therapies for achilles tendinopathy in rats. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 35, n. 1, p. 32-42, 2017.

HOCHMAN, L. Photobiomodulation therapy in veterinary medicine: a review. **Topics in Companion Animal Medicine**, v. 33, n. 3 p. 83-88, 2018.

IACOPETTI, I. et al. Effect of MLS laser therapy with different dose regimes for the treatment of experimentally induced tendinopathy in sheep: pilot study. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 33, n. 3, 154-163, 2015.

KJAER, M. Role of Extracellular Matrix in Adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. **Physiological Reviews**, v.84, n. 2, p. 649–698, 2004.

KRAEUTER, A. K.; GUEST, P. C; SARNYAI, Z. The open field test for measuring locomotor activity and anxiety-like behavior. **Methods in Molecular Biology**, v. 1916, p. 99-103, 2019.

LARAIA S. E. M. et al. Effect of low-level laser therapy (660 nm) on acute inflammation induced by tenotomy of Achilles tendon in rats. **Photochemistry and Photobiology**. v.88, n 6, p. 1546-1550, 2012.

LEE, S-Y. et al. Characteristics of sonography in a rat achilles tendinopathy model: possible non-invasive predictors of biomechanics. **Scientific Reports**, v. 7, n. 5100 p. 1-11, 2017.

LI, H-Y.; HUA, Y-H. Achilles tendinopathy: current concepts about the basic science and clinical treatments. **BioMed Research International**, v. 2016, p.1-9, 2016.

LOCKE, R. C. et al. Photobiomodulation does not influence maturation and mildly improves functional healing of mouse achilles tendons. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 38, n. 8, p. 1866-1875, 2020.

MACHADO, M. V. M. et al. Efeito da laserterapia em tendinite experimental no tendão flexor digital superficial em equinos: estudo histológico e ultra-sonográfico. **Archives of Veterinary Science**, v.5, p.111-115, 2000.

MAFFULLI, N. et al. Achilles tendinopathy. **Foot Ankle Surg**, v. 26, n. 3, p. 240-249, 2020.

MARCOS, R. L. et al. Infrared (810 nm) Low-Level Laser Therapy in rat achilles tendinitis: a consistent alternative to drugs. **Photochemistry and Photobiology**, v. 87, n. 6, p. 1447-1452, 2011.

MARCOS, R. L. et al. Low-Level Laser Therapy in collagenase-induced achilles tendinitis in rats: analyses of biochemical and biomechanical aspects. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 30, n. 12, p.1945-1951, 2012.

MARQUES, A. C.F et al. Photobiomodulation therapy on collagen type I and III, vascular endothelial growth factor, and metalloproteinase in experimentally induced tendinopathy in aged rats. **Lasers in Medical Science**, v. 31, n. 9, p. 1915-1923, 2016.

MARSOLAIS, D.; CÔTÉ, C. H.; FRENETTE, J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug reduces neutrophil and macrophage accumulation but does not improve tendon regeneration. **Laboratory Investigation**, v. 83, n. 7, p. 991-999, 2003.

NATERSTAD, I. F. et al. Comparison of photobiomodulation and anti-inflammatory drugs on tissue repair on collagenase-induced achilles tendon inflammation in rats. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 36, n. 3, p.137-145, 2018.

NEVES, M. A. I. et al. Different power settings of LLLT on the repair of the calcaneal tendon. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 29, n. 10, 2011.

OLIVEIRA, F. S. et al. Effect of low level laser therapy (830 nm) with different therapy regimes on the process of tissue repair in partial lesion calcaneous tendon. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 41, n. 4, p. 271-276, 2009.

PIRES, D. et al. Low-Level Laser Therapy (LLLT; 780 nm) acts differently on mRNA expression of anti- and pro-inflammatory mediators in an experimental model of collagenase-induced tendinitis in rat. **Lasers in Medical Science**, v. 26, n. 1, p. 85-94, 2011.

SHARMA, P.; MAFFULLI, N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. **Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, v. 6, n. 2, p.181-190, 2006.

SILBERNAGEL, K. G.; HANLON, S.; SPRAGUE, A. Current clinical concepts: conservative management of achilles tendinopathy. **Journal of Athletic Training**, v.55, n.5, p. 438-447, 2020.

SILVA, R. S. D. L. et al. Systematic review of photobiomodulation therapy (PMBT) on the experimental calcaneal tendon injury in rats. **Photochemistry and Photobiology**, v. 96, n. 5, p. 981-997, 2020.

SOUZA, M. V. et al. Laserterapia para tratamento de tendinopatia induzida em ratos wistar: estudo histomorfométrico. **Veterinária e Zootecnia**, Viçosa, v. 24, n. 3, p. 538-553, 2017.

TASAKA, A. C. Anti-inflamatórios não esteroidais. *In*: SPINOSA, H. S.; GORNIK, S. L.; BERNARDI, M. M. **Farmacologia aplicada a medicina veterinária**. 6ª edição. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2017. p. 430.

TSAI, W-C et al. Ibuprofen inhibition of tendon cell proliferation and upregulation of the cyclin kinase inhibitor p21^{CIP1}. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 22, n. 3, p. 586-591, 2004.

ULKE, Ç. G.; DENIZ, S-I; NUREDDIN, Ç. Evaluation of return rates to races in racehorses after tendon injuries: lesion-related parameters. **Journal of Equine Veterinary Science**, v. 87, p. 1-8, 2020.

URDZIKOVA, L. M. et al. Human multipotent mesenchymal stem cells improve healing after collagenase tendon injury in the rat. **BioMedical Engineering OnLine**. v. 13, n. 42, p. 1-15, 2014.

VOLETI, P. B.; BUCKLEY, M. R.; SOSLOWSKY, L. Tendon healing: repair and regeneration. **Annual Review of Biomedical Engineering**, v. 14, p.47-71, 2012.

WU, P-T. et al. Dynamic weight bearing analysis is effective for evaluation of tendinopathy using a customized corridor with multi-directional force sensors in a rat model. **Scientific Reports**, v. 7, n. 8708, p. 1-10, 2017.

XAVIER, M. et al. Anti-Inflammatory effects of Low-Level Light Emitting Diode therapy on achilles tendinitis in rats. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 42, v. 6, p. 553-558, 2010.

ZELDETZ, V. et al. A new method for inducing a depression-like behavior in rats. **Journal of Visualized Experiments**. v. 132, e57137, p. 1-8, 2018.