



UNIVERSIDADE FEDERAL DO PARÁ
INSTITUTO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS
LABORATÓRIO DE NEUROFARMACOLOGIA EXPERIMENTAL
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM NEUROCIÊNCIAS E BIOLOGIA
CELULAR

**EFEITO DO TRATAMENTO COMBINADO COM LASERTERAPIA E GEL DE
AÇAÍ NA FASE PROLIFERATIVA DE REPARO EM MODELO DE LESÃO POR
RUPTURA TENDÍNEA TOTAL EM RATOS**

ÁUREA GABRIELA RODRIGUES MENDES

BELÉM

2023

ÁUREA GABRIELA RODRIGUES MENDES

**EFEITO DO TRATAMENTO COMBINADO COM LASERTERAPIA E GEL DE
AÇAÍ NA FASE PROLIFERATIVA DE REPARO EM MODELO DE LESÃO POR
RUPTURA TENDÍNEA TOTAL EM RATOS**

Dissertação de Mestrado apresentada ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular da Universidade Federal do Pará como parte dos requisitos necessários para obtenção do título de Mestre em Neurociências e Biologia Celular.

Orientador: Evander de Jesus Oliveira Batista

Co-orientadora: Suellen Alessandra Soares de Moraes

BELÉM

2023

Dados Internacionais de Catalogação na Publicação (CIP) de acordo com ISBD
Sistema de Bibliotecas da Universidade Federal do Pará

Gerada automaticamente pelo módulo Ficat, mediante os dados fornecidos pelo(a)
autor(a)

M538e Mendes, Áurea Gabriela Rodrigues.
Efeito do tratamento combinado com
laserterapia e gel de açaí na fase proliferativa de
reparo em modelo de lesão por ruptura tendínea
total em ratos / Áurea Gabriela Rodrigues Mendes.
— 2023.
lxxxix, 89 f. : il. color.

Orientador(a): Prof. Dr. Evander de Jesus Oliveira
Batista
Coorientação: Prof^a. Dra. Suellen
Alessandra Soares de
Moraes

Dissertação (Mestrado) - Universidade Federal
do Pará, Instituto de Ciências Biológicas, Programa
de Pós- Graduação em Neurociências e Biologia
celular, Belém, 2023.

1. Lesão tendínea. 2. Reparo tecidual. 3.
Açaí. 4. Laserterapia. I. Título.

CDD 573.8

ÁUREA GABRIELA RODRIGUES MENDES

1 EFEITO DO TRATAMENTO COMBINADO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA FASE PROLIFERATIVA DE REPARO EM MODELO DE LESÃO POR RUPTURA TENDÍNEA TOTAL EM RATOS

Dissertação de mestrado submetida ao Programa de Pós-graduação em Neurociências e Biologia Celular do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará como requisito final para obtenção do grau de Mestre em Neurociências e Biologia Celular – área de concentração em Neurociências

Banca examinadora:

2 Prof. Dr Evander de Jesus Oliveira Batista – Orientador

Núcleo de Medicina Tropical/ Instituto de Ciências Biológicas – UFPA.

3 Prof^a. Dr. Carlomagno Pacheco Bahia – Membro da Banca

Instituto de Ciências da Saúde – UFPA.

4 Prof^a.Dra. Luana Ketlen Reis Leão – Membro da Banca

Instituto de Ciências Biológicas – UFPA

Este trabalho foi realizado no Laboratório de Neurofarmacologia Experimental do Instituto de Ciências Biológicas da Universidade Federal do Pará sob orientação do Prof. Evander de Jesus Oliveira Batista e co-orientação da Prof^a Suellen Alessandra Soares de Moares. A realização da pesquisa contou com o apoio das seguintes instituições de fomento: Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Coordenação de Aperfeiçoamento de Pessoal de Ensino Superior (CAPES) e Fundação Amazônia Amparo a Estudos e Pesquisas (Fapespa).

À Deus, aos meus pais e ao meu esposo
pelo investimento na minha formação e
pelo incentivo para que isso se tornasse
possível.

AGRADECIMENTOS

Primeiramente gostaria de agradecer à Deus, sem Ele nada disso seria possível de se concretizar. Foi Ele quem me capacitou e me deu forças para finalizar essa dissertação e assim conquistar mais um passo na minha vida acadêmica. Durante esses dois anos de mestrado, busquei colocar em prática o que diz em Mateus 6:33 “Busquem, pois, em primeiro lugar o Reino de Deus e a sua justiça, e todas essas coisas serão acrescentadas a vocês” e pude experimentar a boa, perfeita e agradável vontade de Deus sobre a minha vida.

Agradeço aos **meus pais Alexandre e Lilian** e a minha **tia Alessandra** que sempre priorizaram meus estudos e investiram na minha formação, além de me darem todo o apoio necessário durante minha caminhada acadêmica. Aos demais membros da minha família (avós, tios, primos e primas) minha gratidão por torcerem por mim e se alegrarem com as minhas conquistas.

Sou eternamente grata ao meu **esposo Rosikel** que presenciou e esteve ao meu lado me dando forças e ânimo durante todos esses anos, não permitindo que eu desistisse e nem olhasse para trás. Obrigada meu amor, por todo o apoio e amor que você depositou na minha vida durante esses dois longos anos de mestrado. Obrigada pela parceria dentro de casa! Obrigada por segurar as pontas quando eu precisei exclusivamente apenas estudar. Você é incrível!

Agradeço a minha querida orientadora **Profa^a. Dr^a. Suellen Moraes** que me proporcionou a oportunidade de conhecer o mundo científico em meados de 2016, quando eu ainda era aluna do primeiro semestre de fisioterapia. De lá para cá já se passaram 7 anos e nós continuamos juntas. Compartilhamos muitos momentos de alegria com publicações e ganho de prêmios de melhores trabalhos em congressos regionais e nacionais. Posso dizer que a profa Suellen quem fez eu me apaixonar pela pesquisa científica, lembro como se fosse hoje todos os ensinamentos que recebi diretamente dela na beira da bancada no laboratório. Obrigada por contribuir na construção da minha vida acadêmica e científica.

Aos meus amigos **Gabriel Vilar e Marcela Monteiro** que já passaram pelo

LNE e que somaram com esse trabalho, minha gratidão a vocês, são pessoas que eu levo para vida.

Aos meus colegas que fazem parte do meu grupo de pesquisa, muito obrigado por o apoio e ajuda na análise de dados **Luana, Cauã, José e Lucas**. Agradeço também aos meus amigos do LNE, **Nívia e Brenda** que me acompanharam por vezes cortar tecido no NMT, e também a todos os colegas do LNE que me ajudaram diretamente ou indiretamente durante o desenvolver desse trabalho. Agradeço imensamente ao **Prof. Dr. Evander** pela disponibilidade de usar o laboratório do NMT, assim como gostaria de agradecer a **Profª. Drª. Karen e o Prof. Dr. Anderson Herculano** por tudo o aprendizado que recebi de vocês durante esses 7 anos de LNE.

Agradeço a **Profª. Drª. Dielly** do Lanex, pela disponibilidade do uso do bióterio e do espaço do laboratório para rodar meu experimento. E falando em bióterio não poderia deixar de agradecer ao meu grande amigo bioterista **Seu Amarildo** que todas as vezes dava um jeitinho que conseguir animais para mim.

Aos meus amigos que me deram palavras de força e ânimo durante essas últimas semanas da escrita da minha dissertação, vocês não sabem o quanto isso me deu coragem e ânimo, obrigada **Lana Oliveira** por todo direcionamento e carinho depositado na minha vida. Gostaria de agradecer também a minha célula que viveu comigo a aflição desses últimos dias que parecia que nada ia dar certo, mas eu sempre tive uma palavra vinda diretamente do coração de Deus através da vida deles. Gratidão a **Andressa**, por me compreender, ao meus núcleos **Landon e Érika** por toda a força.

Por fim, agradeço a **Universidade Federal do Pará** e ao **PPGNBC** por todo apoio estrutural e a **CAPES** pelo apoio financeiro.

“Suba o primeiro degrau com fé. Não é necessário que você veja toda a escada. Apenas dê o primeiro passo”.

(Martin Luther King)

RESUMO

O extrato de açaí tem sido investigado como estratégia farmacológica devido aos seus efeitos anti-inflamatórios, antioxidantes e antinociceptivos. Além disso, estudos relatam que o laser de baixa intensidade (LBT) pode favorecer o reparo tecidual devido aos seus efeitos proliferativos no aumento do número de fibroblastos e na síntese de colágeno. Portanto, o uso combinado de açaí com LBT pode ser uma alternativa terapêutica no manejo da reparação tendínea. O objetivo deste estudo foi avaliar os efeitos do tratamento combinado com gel de açaí e LBT nos aspectos morfofuncionais e nociceptivos da lesão do tendão de calcâneo na fase proliferativa de reparo. Para isso, 40 ratos *Wistar* foram divididos em grupo controle (CTRL), lesão (LESÃO), gel de açaí 10% (LESÃO+GA), laser infravermelho 2J, (LESÃO+LAS) e tratamento combinado (LESÃO+LAS+GA). O teste de Von Frey, Ângulo Articular e Índice Funcional de Aquiles foram realizados em 0, 3, 7, e 14 dias pós-lesão (DPL). Após 14 dias, os tendões foram coletados e o padrão de organização tecidual foi analisado por H&E e Alcian Blue para avaliar as variações de glicosaminoglicanos na matriz extracelular, marcação com DAPI para quantificar o número de células e autofluorescência de colágeno para avaliar o padrão de orientação das fibras colágenas. Demonstramos melhora das características macroscópicas do tendão dos grupos tratamentos em relação ao LESÃO, o que pode estar correlacionado com melhor organização e orientação tecidual, assim como, das fibras colágenas nesses grupos. O aumento do número de células e fibroblastos foi mais evidente no grupo laser enfatizando o papel proliferativo da laserterapia. A recuperação funcional foi observada em 7 DPL no grupo laser isolado, enquanto o tratamento combinado melhorou a nocicepção na fase aguda (7º DPL). Na fase proliferativa (14º DPL), o IFA apontou melhora dos aspectos funcionais no grupo tratamento combinado. Em contrapartida, a sensibilidade nociceptiva foi reestabelecida em todos os grupos tratamentos. Em suma, nossos achados indicam que o uso combinado de gel de açaí com LBT pode ser uma alternativa terapêutica no manejo do reparo de lesões tendíneas.

Palavras-chaves: lesão tendínea; reparo tecidual; açaí; laserterapia.

ABSTRACT

Acai extract has been investigated as a pharmacological strategy due to its anti-inflammatory, antioxidant and antinociceptive effects. Furthermore, studies report that low-intensity laser (LBT) may favor tissue repair due to its proliferative effects in increasing the number of fibroblasts and collagen synthesis. Therefore, the combined use of açai with LBT may be a therapeutic alternative in the management of tendon repair. The aim of this study was to evaluate the effects of combined treatment with açai gel and LBT on the morphofunctional and nociceptive aspects of Achilles tendon injury in the proliferative phase of repair. For this, 40 Wistar rats were divided into control group (CTRL), injury (INJURY), 10% açai gel (INJURY+GA), 2J infrared laser, (INJURY+LAS) and combined treatment (INJURY+LAS+GA). The Von Frey test, Joint Angle and Achilles Functional Index were performed at 0-, 3-, 7-, and 14-days post-injury (DPL). After 14 days, the tendons were collected and the tissue organization pattern was analyzed by H&E or Alcian Blue to assess variations in glycosaminoglycans in the extracellular matrix, staining with DAPI to quantify the number of cells and collagen autofluorescence to assess the orientation pattern of collagen fibers. We demonstrated improvement in the macroscopic characteristics of the tendon in the treatment groups in relation to INJURY, which may be correlated with better organization and tissue orientation, as well as collagen fibers in these groups. The increase in the number of cells and fibroblasts was more evident in the laser group, emphasizing the proliferative role of the laser. Functional recovery was observed in 7 DPL in the isolated laser group, while the combined treatment improved nociception in the acute phase (7th DPL). In the proliferative phase (14th DPL), the IFA showed improvement in functional aspects in the combined treatment group. On the other hand, nociceptive sensitivity was reestablished in all treatment groups. In summary, our findings indicate that the combined use of açai gel with LBT may be a therapeutic alternative in the management of tendon injury repair.

Keywords: tendon injury; tissue repair; açai; laser therapy.

LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 - Ilustração dos músculos sóleo, gastrocnêmio, tendão de Aquiles e sua inserção no calcâneo.	17
Figura 2 - Diagrama esquemático da estrutura hierárquica do tendão mostrando a organização dos feixes de colágeno.	18
Figura 3 - Ilustração da sobreposição das fases do processo de reparo.	20
Figura 4 - Ilustração das fases de reparo do tendão.	22
Figura 5 - Alterações histopatológicas na tendinopatia.	24
Figura 6 - Ilustração esquemática da fisiopatologia da dor crônica no tendão.	28
Figura 7 - Espectro eletromagnético.....	31
Figura 8 - Esquema ilustrativo da emissão de energia após a transição de órbita dos elétrons.....	33
Figura 9 - Fenômenos de propagação da luz no tecido biológico.	33
Figura 10 - Mecanismo de ação do LBP, destacando seus quatro efeitos no tecido biológico.	35
Figura 11 - Principais composições químicas da <i>Euterpe Oleraceae</i>	40
Figura 12 - Delineamento experimental.....	49
Figura 13 - Efeito do tratamento com laserterapia e gel de açaí na morfologia macroscópica e pontuação macroscópica dos tendões calcâneos após lesão.....	55
Figura 14 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí na recuperação funcional de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito através do índice funcional de Aquiles.	56
Figura 15 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí na cinemática da marcha na fase de apoio médio de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito através do índice funcional de Aquiles.....	59
Figura 16 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí na cinemática da marcha na fase de apoio médio de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito através do índice funcional de Aquiles.....	60

Figura 17 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí na sensibilidade nociceptiva de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito através do teste de Von Frey.....	61
Figura 18 - Efeito do tratamento com laserterapia e gel de açaí no padrão de organização tecidual no tendão calcâneo de ratos tenotomizados.	64
Figura 19 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí no número de fibroblasto e vasos em ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito.....	65
Figura 20 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí no padrão do número de células de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito.....	66
Figura 21 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí na presença de substância fundamental em tecidos de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito.	67
Figura 22 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí no padrão de orientação das fibras colágenas no tendão calcâneo de ratos tenotomizados.	69

LISTA ABREVIATURAS E SIGLAS

AINEs	Anti-inflamatórios não esteroidais
AMPc	Adenosina monofosfato cíclico
ATP	Adenosina trifosfato
bFGF	Fator de crescimento fibroblástico básico
Ca²⁺	Cálcio
COX-2	Ciclo-oxigenase 2
EO	Euterpe oleracea
FBM	Fotobiomodulação
GAG	Glicosaminoglicanos
IGF-1	Fator de crescimento semelhante a insulina-1
IL1- β	Interleucina 1 beta
IL-6	Interleucina 6
IL-8	Interleucina 8
iNOS	Óxido nítrico-sintase induzível
LBT	Laser de baixa potência
MEC	Matriz extracelular
mW	Miliwatts
NF-Kβ	Fator nuclear Kappa Beta
NGF	Fator de crescimento nervoso
NO	Óxido Nítrico
P38-Mark	Proteínas quinases ativadas por mitógenos p38

PDGF	Fator de crescimento derivado de plaquetas
PGE2	Prostaglandina E2
ROS	Espécies reativas de oxigênio
TC	Tendão calcâneo
TGF-β	Fator de crescimento transformador beta
TNF- α	Fator de necrose tumoral alfa
TSPCs	Células tronco/progenitoras do tendão
VEGF	Fator de crescimento endotelial vascular

SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO	13
1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS.....	13
1.2. ESTRUTURA E FUNÇÃO DO TENDÃO CALCÂNEO	16
1.2. FISIOPATOLOGIA DA LESÃO TENDÍNEA	19
1.3. ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS E FUNCIONAIS APÓS LESÃO TENDÍNEA 22	
1.4. PROBLEMÁTICA DA DOR NA TENDINOPATIA	25
1.5. TERAPIAS UTILIZADAS NO TRATAMENTO DA TENDINOPATIA.....	28
1.6. LASER DE BAIXA POTÊNCIA NO REPARO TENDÍNEO	30
1.7. LASERTERAPIA NA ABSORÇÃO DE ATIVOS TÓPICOS EM LESÕES MUSCULO-ESQUELÉTICAS.....	37
1.8. AÇAÍ COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA PARA REPARO TECIDUAL	39
2. OBJETIVOS	42
2.1. OBJETIVO GERAL:.....	42
2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:	42
3. MATERIAIS E MÉTODOS	43
3.1. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS.....	43
3.2. TRATAMENTO COM LASER DE BAIXA POTÊNCIA	45
3.3. TRATAMENTO COM GEL DE AÇAÍ	46
3.4. EUTANÁSIA	46
3.10. COLORAÇÃO POR HEMATOXILINA E EOSINA	50
3.12. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA	51
3.13. CONTAGEM DE CÉLULAS.....	51
3.14. COLORAÇÃO POR ALCIAN BLUE.....	52
4. ANÁLISE ESTATÍSTICA	52
5. RESULTADOS	53
5.1. ASPECTOS MACROSCÓPICOS DO TENDÃO CALCÂNEO APÓS LESÃO TENDÍNEA	53
5.2. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA RECUPERAÇÃO FUNCIONAL APÓS LESÃO TENDÍNEA	54

3.1. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA CINEMÁTICA DA MARCHA APÓS LESÃO TENDÍNEA	57
3.2. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA SENSIBILIDADE NOCICEPTIVA APÓS LESÃO TENDÍNEA	58
3.3. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA ORGANIZAÇÃO TECIDUAL APÓS LESÃO TENDÍNEA	62
3.4. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NO NÚMERO DE CÉLULAS E MORFOLOGIA NUCLEAR APÓS LESÃO TENDÍNEA 63	
3.5. EFEITO DO TRATEMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA VARIAÇÃO DE GLICOSAMINOGLICANOS NA MATRIZ EXTRACELULAR APÓS LESÃO TENDÍNEA	63
3.6. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NO PADRÃO DE ORIENTAÇÃO DAS FIBRAS COLÁGENAS APÓS LESÃO TENDÍNEA	68
4. DISCUSSÃO	70
5. CONCLUSÃO	75
6. REFERÊNCIAS.....	75

1. INTRODUÇÃO

1.1. CONSIDERAÇÕES GERAIS

Os tendões são estruturas anatômicas que desempenham função biomecânica essencial para o movimento articular por meio da transmissão de força resultante da contração do músculo para o osso (ANDARAWIS-PURI; FLATOW; SOSLOWSKY, 2015; LEE; CHIEH; LIN; JOU *et al.*, 2017). Devido a susceptibilidade de sobrecargas mecânicas, os tendões são frequentemente acometidos com lesões que resultam em grave comprometimento da qualidade de vida, especialmente o tendão calcâneo, devido sua localização anatômica (RILEY, 2005).

O tendão calcâneo (TC) é o mais frequentemente lesionado do corpo humano, com incidência anual de 18 por 100.000 pessoas (MILLER, 2017). A causa mais comum de lesões tendíneas é o esforço exagerado ocasionando sobrecarga mecânica sobre os tendões. Dessa forma ocorre um estiramento de suas fibras, que por não suportarem a tração mecânica, podem apresentar microtraumas, rupturas parciais e totais, desenvolvendo quadro de tendinopatia (ANDARAWIS-PURI; FLATOW; SOSLOWSKY, 2015; MARCOS; LEAL JUNIOR; MESSIAS FDE; DE CARVALHO *et al.*, 2011).

A tendinopatia é atualmente descrita como degeneração ou falha na cicatrização devido à sobrecarga contínua sem recuperação adequada (SCOTT; SQUIER; ALFREDSON; BAHR *et al.*, 2020; SCOTT A FAU - BACKMAN; BACKMAN LJ FAU - SPEED; SPEED, 2015). O termo tendinite, entendido como inflamação caracterizada durante a fase aguda de lesão, não é mais tão utilizado, pois o processo inflamatório pode ou não estar presente no tendão lesionado (SCOTT; SQUIER; ALFREDSON; BAHR *et al.*, 2020). Histologicamente, a tendinopatia é caracterizada pelo aumento da espessura e degeneração do tendão (tendinose), perda da arquitetura de colágeno, aumento da quantidade de

proteoglicanos e desorganização tecidual (SCOTT A FAU - BACKMAN; BACKMAN LJ FAU - SPEED; SPEED, 2015). Essas alterações estruturais no tendão levam a redução da rigidez tendínea, alterações nas propriedades viscoelásticas e aumento da área de secção transversal que resultam no comprometimento funcional. Embora a definição original baseie-se nos achados clínicos e histopatológicos, a tendinopatia pode ser definida como dor persistente no tendão e perda da função relacionada à carga mecânica. A correlação entre dor, função e achados histopatológicos tem demonstrado importância no manejo clínico dessa condição (TRIPODI; FEEHAN; HUSARIC; SIDIROGLOU *et al.*, 2021).

Considerando a relevância e a alta incidência da tendinopatia do calcâneo, diversos tratamentos têm sido empregados para alívio da dor e para acelerar o processo de reparo (CASALECHI; DE FARIAS MARQUES; DA SILVA; AIMBIRE *et al.*, 2014). O tratamento convencional é baseado no uso de anti-inflamatórios não esteroidais, entretanto, o uso desses fármacos é controverso. O uso prolongado de AINES cursam em diminuição significativa à tração dos tendões e alteração das propriedades biomecânicas, tais efeitos colaterais resultam no aumento do risco de rupturas (SOUZA; CREPALDI; SILVA; SILVA *et al.*, 2017). Diante dessa problemática, outras terapias têm sido reportadas como alternativas para melhorar o reparo tecidual, como a laserterapia (SOUZA; CREPALDI; SILVA; SILVA *et al.*, 2017) (LOPES SILVA; PESSOA; MARIANO; CASTRO *et al.*, 2020).

O laser é uma fonte de radiação, capaz de produzir campos eletromagnéticos intensos e coerentes que se estendem do infravermelho ao ultravioleta. Os aparelhos de laser são classificados em alta potência (produz efeitos térmicos) e baixa potência (produz efeitos fotobiomoduladores), esse tem sido amplamente estudados para favorecer o processo de reparo do tendão calcâneo (GUERRA FDA; VIEIRA; DOS SANTOS DE ALMEIDA; OLIVEIRA *et al.*, 2014; LOPES SILVA; PESSOA; MARIANO; CASTRO *et al.*, 2020).

O uso do laser de baixa potência (LBP) promove três efeitos principais: analgésico, anti-inflamatório e aceleração do processo cicatricial. O laser apresenta esses efeitos devido favorecer a neovascularização, aumentar a

síntese e a reorganização das fibras de colágeno, reduzir as metaloproteinases da matriz, e diminuir a expressão de mediadores pró-inflamatórios na fase aguda, proliferativa e crônica, ocasionando melhora no desempenho biomecânico em modelo de lesão tendínea em ratos (ANDERS; LANZAFAME; ARANY, 2015; CASALECHI; DE FARIAS MARQUES; DA SILVA; AIMBIRE *et al.*, 2014; DE JESUS; SPADACCI-MORENA; DOS ANJOS RABELO; PINFILDI *et al.*, 2015; HOCHMAN, 2018; PIRES; XAVIER; ARAUJO; SILVA *et al.*, 2011). Esses efeitos biológicos estão relacionados com a interação da luz monocromática emitida pelo LBP, dentro do espectro eletromagnético visível (vermelho) e invisível (infravermelho) com as células e tecidos. Essa luz ao interagir com as moléculas fotorreceptoras (cromóforos) do complexo citocromo c oxidase localizado na mitocôndria, leva ao aumento da produção de adenosina trifosfato (ATP) e consumo de oxigênio, com potencial de gerar efeitos biológicos primários e secundários (ANDERS; LANZAFAME; ARANY, 2015; HAMBLIN, 2016; TRIPODI; FEEHAN; HUSARIC; SIDIROGLOU *et al.*, 2021). Atualmente, muitos estudos vêm trazendo tratamentos associados que potencializam os efeitos do laser de baixa potência (HASLERUD; LOPES-MARTINS; FRIGO; BJORDAL *et al.*, 2017; LUCKE; BORTOLAZZO; THEODORO; FUJII *et al.*, 2019; WOOD; PINFILDI; NEVES; PARIZOTO *et al.*, 2010).

O uso de produtos naturais como estratégia de tratamento vem se mostrando cada vez mais promissores, devido suas múltiplas propriedades terapêuticas combinadas (POULOSE; FISHER; LARSON; BIELINSKI *et al.*, 2012; SCHAUSS; WU X FAU - PRIOR; PRIOR RL FAU - OU; OU B FAU - HUANG *et al.*, 2006). A *Euterpe oleraceae* (EO), popularmente conhecida como açaí, é um dos produtos naturais que possui potencial utilização farmacológica devido acúmulo de evidências de seus efeitos anti-inflamatórios, anti-oxidativos e antinociceptivos por conta de seus componentes do grupo flavonoides e polifenóis. Esses componentes são efetivos na inibição da ciclo-oxigenase 2 (COX-2), óxido nítrico-sintase induzível (iNOS) e outros mediadores inflamatórios como, fator de necrose tumoral α (TNF α), interleucina 1 β (IL1 β) e interleucina 6 (IL-6), reduzindo assim a produção de prostaglandinas e óxido nítrico (POULOSE; FISHER; LARSON; BIELINSKI *et al.*, 2012; SUDO; NETO; MONTEIRO; AMARAL *et al.*,

2015) (JENSEN; AGER DM FAU - REDMAN; REDMAN KA FAU - MITZNER; MITZNER MA FAU - BENSON *et al.*, 2011; SCHAUSS; WU X FAU - PRIOR; PRIOR RL FAU - OU; OU B FAU - HUANG *et al.*, 2006).

Terapias não invasivas vêm ganhando mais espaço nas pesquisas científicas devido os efeitos adversos de técnicas invasivas e fármacos com efeitos colaterais. Dessa forma, o laser de baixa potência associado ao uso de produtos naturais como o açaí, pode potencializar e favorecer o processo de reparo sendo assim uma estratégia promissora de tratamento. Tendo em vista a relevância da problemática acerca das lesões do calcâneo, faz-se necessário o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas mais eficientes para melhor regeneração tecidual e recuperação sensorial e funcional.

1.2 ESTRUTURA E FUNÇÃO DO TENDÃO CALCÂNEO

Localizado na região posterior da perna, o tendão de Aquiles é descrito como o maior e mais resistente tendão do corpo humano (WONG; JARDALY; KIEL, 2022). Originalmente nomeado de Aquiles, em alusão à morte do semi-imortalizado Deus grego Aquiles, esse tendão também pode ser chamado de calcâneo devido sua inserção. Formado pela confluência dos tendões dos músculos gastrocnêmio e sóleo ao osso calcâneo (Figura 1), ele permite a transmissão de força a partir da contração muscular para o osso possibilitando o movimento articular de flexão plantar do pé (MANSFIELD; DOPKE; KORONEOS; BONADDIO *et al.*, 2022; WINNICKI; OCHALA-KLOS; RUTOWICZ; PEKALA *et al.*, 2020; WONG; JARDALY; KIEL, 2022).



Figura 1 - Ilustração dos músculos sóleo, gastrocnêmio, tendão de Aquiles e sua inserção no calcâneo.

Fonte: Wong et al., 2022.

O tendão calcâneo (TC) saudável é composto de tecido conjuntivo que inclui uma matriz extracelular (MEC) que consiste principalmente de colágeno e células especializadas denominadas tenócitos (WAGGETT; RALPHS; KWAN; WOODNUTT *et al.*, 1998). Caracterizado por uma rede organizada de fibrilas de colágeno dispostas em níveis hierárquicos, as fibrilas, por sua vez, são agrupadas principalmente longitudinalmente em fibras de colágeno, subfascículos (feixe primário), fascículos (feixe secundário), feixes terciários e o tendão em si. Cada fibra do tendão, que compreende a menor unidade visível sob microscopia de luz, é circundado por uma fina rede reticular de tecido conjuntivo: o endotendão. Os feixes terciários, assim como todo o tendão, são

cobertos por uma fina bainha de tecido conjuntivo frouxo (o epitendão) garantindo o sistema vascular, linfático e nervoso. Superficialmente o epitendão é circundado pelo paratendão, um tecido conjuntivo frouxo formado por fibras colágenas tipo I e III, fibras elásticas e células sinoviais (SHARMA; MAFFULLI, 2006; ZHANG; JU; CHEN; ZHAO *et al.*, 2022). A estrutura hierárquica do tendão é apresentada na figura 2.

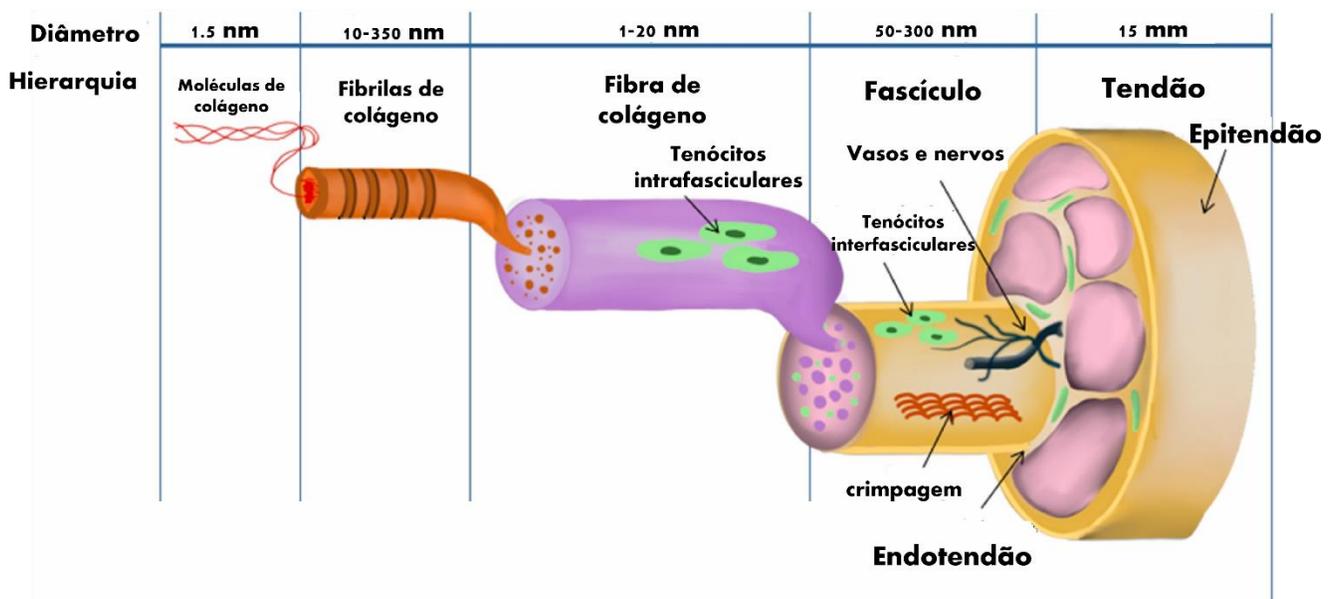


Figura 2 - Diagrama esquemático da estrutura hierárquica do tendão mostrando a organização dos feixes de colágeno.

Fonte: Adaptado de Zhang *et al.*, 2022.

O TC é composto por 95% de colágeno tipo I, representando 70% do peso seco do tendão, sendo o restante constituído por glicosaminoglicanos (GAG), proteoglicanos, glicoproteínas e outros subtipos de colágeno, como colágeno tipo III, V e XIII. (DEDERER; TENNANT, 2019; MILLAR; SILBERNAGEL; THORBORG; KIRWAN *et al.*, 2021; O'BRIEN, 1992; RILEY, 2008). As fibras de colágeno tipo I são as mais abundantes nos tendões, elas são agrupadas em feixes paralelos – o qual garante resistência e elasticidade do tecido - e

envolvidas por uma rede de proteínas que as conectam entre si e à matriz extracelular (WINNICKI; OCHALA-KLOS; RUTOWICZ; PEKALA *et al.*, 2020).

Os tenócitos, células semelhantes a fibroblastos, apresentam como características núcleos alongados, em formato de fuso, dispostos paralelamente ao longo das fibrilas de colágeno. Eles sintetizam, secretam e degradam componentes da MEC do tendão para manter a homeostase (KANNUS, 2000). Em síntese, a principal função dos tenócitos é regular o metabolismo celular para responder a estímulos mecânicos experimentados rotineiramente pelo tendão. Em resposta à carga mecânica, os tenócitos podem remodelar a MEC aumentando a síntese de colágeno e/ou degradando as fibras de colágeno existentes. Essa remodelação é essencial para a manutenção da integridade estrutural e funcional dos tendões (SHARMA; MAFFULLI, 2006; SUBRAMANIAN; KANZAKI; GALLOWAY; SCHILLING, 2018).

Ressalta-se que, em condições de homeostase, o tendão é caracterizado por ser pouco vascularizado, conseqüentemente é pouco oxigenado; recebendo suprimento sanguíneo através de vasos do perimísio, na inserção periosteal, e do tecido circunvizinho por meio dos vasos do epitendão e paratendão. Além disso, o tendão é pouco inervado, o suprimento nervoso está localizado na bainha do tendão originada da junção miotendínea. No paratendão, fibras nervosas formam ricos plexos e enviam pequenos ramos que penetram no epitendão. Enquanto o tendão propriamente dito, isto é, matriz intrafascicular, é desprovida de inervação (ACKERMANN, 2013; ACKERMANN; SALO; HART, 2016; MILLAR; SILBERNAGEL; THORBORG; KIRWAN *et al.*, 2021; RILEY, 2008).

Sendo assim, o entendimento das características do tendão saudável é fundamental para compreensão das alterações histológicas, funcionais e nociceptivas após uma lesão tendínea.

1.2. FISIOPATOLOGIA DA LESÃO TENDÍNEA

Os tendões têm fraca capacidade de cicatrização intrínseca devido sua hipocelularidade e hipovascularidade. Este problema, torna a cicatrização pouco eficiente e prolongada (BREBELS; MIGNON, 2022; SHARMA; MAFFULLI, 2006) Por esse motivo, o processo de reparo dos tendões é um mecanismo complexo e envolve várias etapas. As fases de reparo do TC podem ser divididas em três estágios principais definidas temporalmente de forma imprecisa, são elas: inflamação, proliferação e remodelação, demonstrados na figura 3 (HE; RUAN; HUANG; WANG *et al.*, 2022; SCHULZE-TANZIL; DELGADO-CALCARES; STANGE; WILDEMANN *et al.*, 2022).

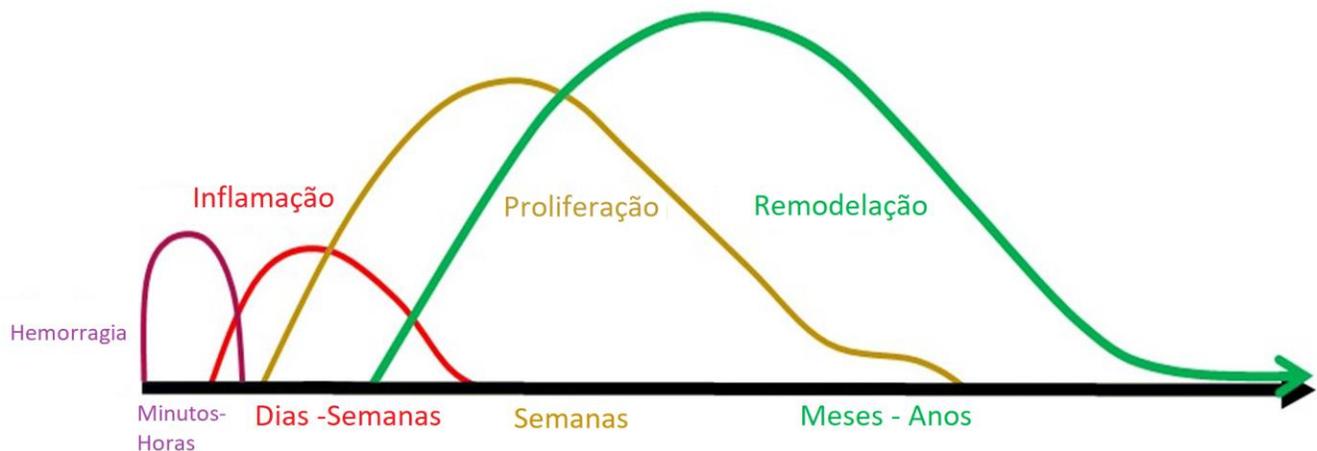


Figura 3 - Ilustração da sobreposição das fases do processo de reparo.

Fonte: Adaptado de Schulze-Tanzil et al., 2022.

O primeiro estágio do processo de reparo após lesão tendínea, é o inflamatório. Os principais componentes dessa fase são a adesão, mobilização e migração de células inflamatórias e do sistema imune para o local da lesão. Imediatamente após a lesão, ocorre o aumento da permeabilidade vascular e infiltração de células inflamatórias no local lesionado, formando um hematoma. O hematoma contém células imunes, como plaquetas, neutrófilos, monócitos, macrófagos e células-tronco/progenitoras de tendão (TSPCs). Estas últimas produzem citocinas como IL-6 e IL-1 β , responsáveis por regular as respostas imunes por meio da atração de fibroblastos para o local da lesão (HOPE;

SAXBY, 2007; MILLAR; SILBERNAGEL; THORBORG; KIRWAN *et al.*, 2021; MOLLOY; WANG Y FAU - MURRELL; MURRELL, 2003; MURRELL; LILLY; DAVIES; BEST *et al.*, 1992)

A fase de inflamação é seguida e parcialmente sobreposta pela fase de proliferação como pode ser visto na figura 3. Durante a fase de proliferação, ocorre a liberação de vários fatores de crescimento, incluindo fator de crescimento de fibroblastos básico (bFGF), fator de crescimento transformador beta (TGF- β), fator de crescimento semelhante à insulina-1 (IGF-1), fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF) e fator de crescimento endotelial vascular (VEGF) (BREBELS; MIGNON, 2022; GALVEZ; CROWE; FARNEBO; CHANG, 2014). Enquanto isso, os fibroblastos especializados (tenócitos) sintetizam componentes da MEC; principalmente colágeno tipo III, proteoglicanos e fibronectina. Neste momento, o bFGF expresso a partir de células recrutadas como tenócitos, fibroblastos e células inflamatórias atinge um pico, promovendo assim a proliferação celular e a angiogênese (BREBELS; MIGNON, 2022; MOLLOY; WANG Y FAU - MURRELL; MURRELL, 2003).

O VEGF também é altamente expresso, induzindo sinergicamente a angiogênese para oferecer nutrientes, células recrutadas e fatores celulares adicionais para a região lesionada. A matriz recém-formada é organizada aleatoriamente e forma uma ponte entre as regiões lesadas. Esta matriz extracelular promove a migração de células, estimula a diferenciação das células, atua na remodelação e aumenta a resistência mecânica da cicatriz de tendão (BEDI; MAAK; WALSH; RODEO *et al.*, 2012; RILEY, 2008).

Por último a fase de remodelação, na qual observa-se uma diminuição na celularidade e na produção de MEC. O tecido torna-se mais fibroso devido à substituição do colágeno tipo III organizado aleatoriamente por colágeno tipo I ondulado. A organização das fibras de colágeno tipo I no eixo longitudinal restaura parcialmente a resistência à tração e a rigidez do tendão (BREBELS; MIGNON, 2022; DOCHEVA; MULLER; MAJEWSKI; EVANS, 2015). Ocorre aumento na reticulação das fibrilas de colágeno e posterior conversão do colágeno tipo III para tipo I. No entanto, o processo de maturação continuará em

segundo plano para aumentar as propriedades mecânicas do tendão. Por fim, um tecido mais maduro é formado (Figura 4). A densidade celular e a atividade de síntese na região reparada não são capazes de retornar às condições normais. (LIN; CARDENAS; SOSLOWSKY, 2004; THOMOPOULOS; PARKS; RIFKIN; DERWIN, 2015).

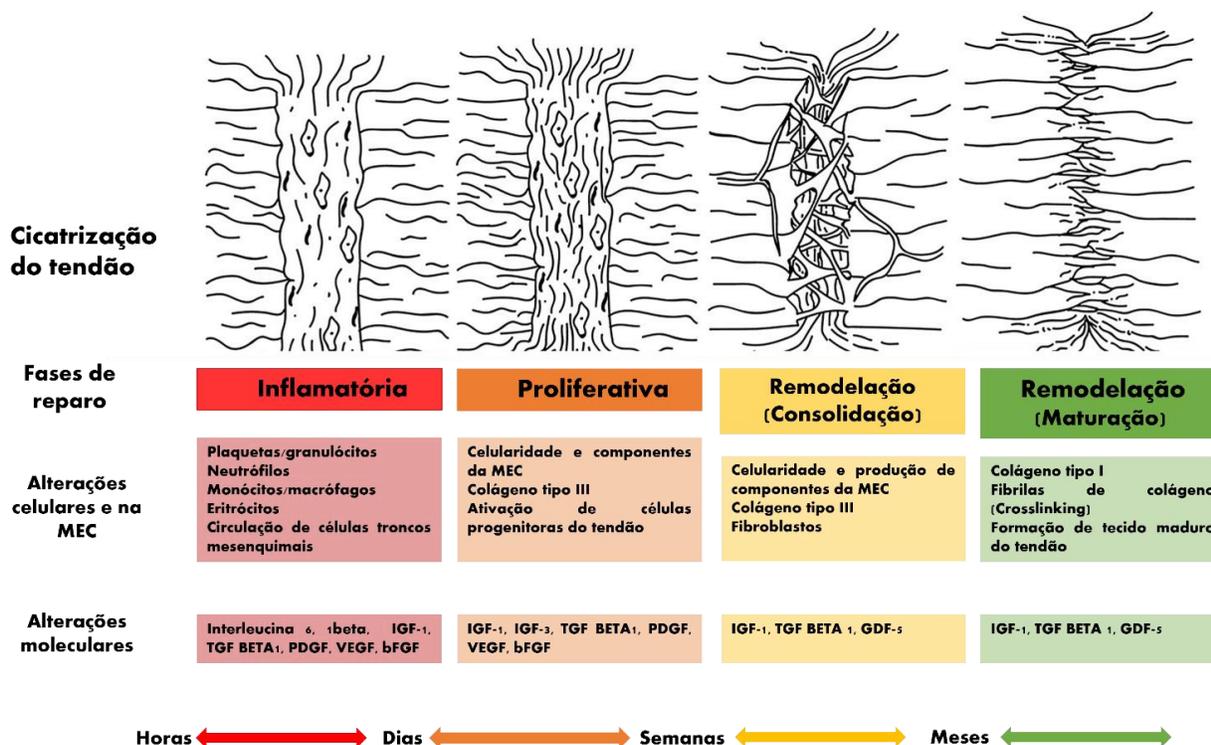


Figura 4 - Ilustração das fases de reparo do tendão.

Fonte: Adaptado de Schneider et al., 2018.

1.3. ALTERAÇÕES HISTOLÓGICAS E FUNCIONAIS APÓS LESÃO TENDÍNEA

Os mecanismos exatos do reparo tendíneo ainda não são completamente compreendidos, pois ainda há um baixo número de estudos com abordagem biomecânica, histopatológica e bioquímica, bem como pouco se sabe sobre diferenças entre modelos experimentais no processo de cicatrização (SHARMA;

MAFFULLI, 2006). Boa parte dos estudos relacionados as respostas fisiopatológicas e funcionais decorrentes das lesões no tendão utilizam modelos animais de ruptura induzida experimentalmente para estudar alterações fisiológicas e comportamentais, especialmente o modelo murino, amplamente utilizado nas pesquisas sobre anatomia, fisiopatologia do tendão (WARDEN, 2007).

Estudos demonstram que alterações histológicas mais proeminentes ocorrem na matriz extracelular, o tendão normal que antes apresentava fibras colágenas bem alinhadas, paralelas e compactas com tenócitos adjacentes, após a injúria apresenta desorganização da matriz com fibras colágenas desorganizadas, onduladas, diâmetro diminuído com perda da estrutura hierárquica típica. Além disso, ocorre a perda da integridade da MEC pela redução do conteúdo de colágeno e aumento dos componentes da matriz (proteoglicanos e glicosaminoglicanos) que resulta no enrijecimento do tendão (FU; ROLF; CHEUK; LUI *et al.*, 2010; JARVINEN; JOZSA; KANNUS; JARVINEN *et al.*, 1997; STEINMANN; PFEIFER; BROCHHAUSEN; DOCHEVA, 2020).

O tecido tendíneo apresenta aumento da densidade celular (hipercelularidade), com tenócitos arredondados e áreas de morte celular necrótica ou apoptótica. Observa-se uma hipervascularização, bem como, infiltração de fibras nervosas (figura 5). A presença de nervo que antes era presente apenas no epitendão, após a lesão é vista dentre a malha colágena, e isso pode ser acompanhada de resposta inflamatória e dor. Recentemente, os achados de aumento de inervações e substâncias nociceptivas sugerem que a

dor crônica da tendinopatia pode ser resultado direto das alterações patológicas (FU; ROLF; CHEUK; LUI *et al.*, 2010).

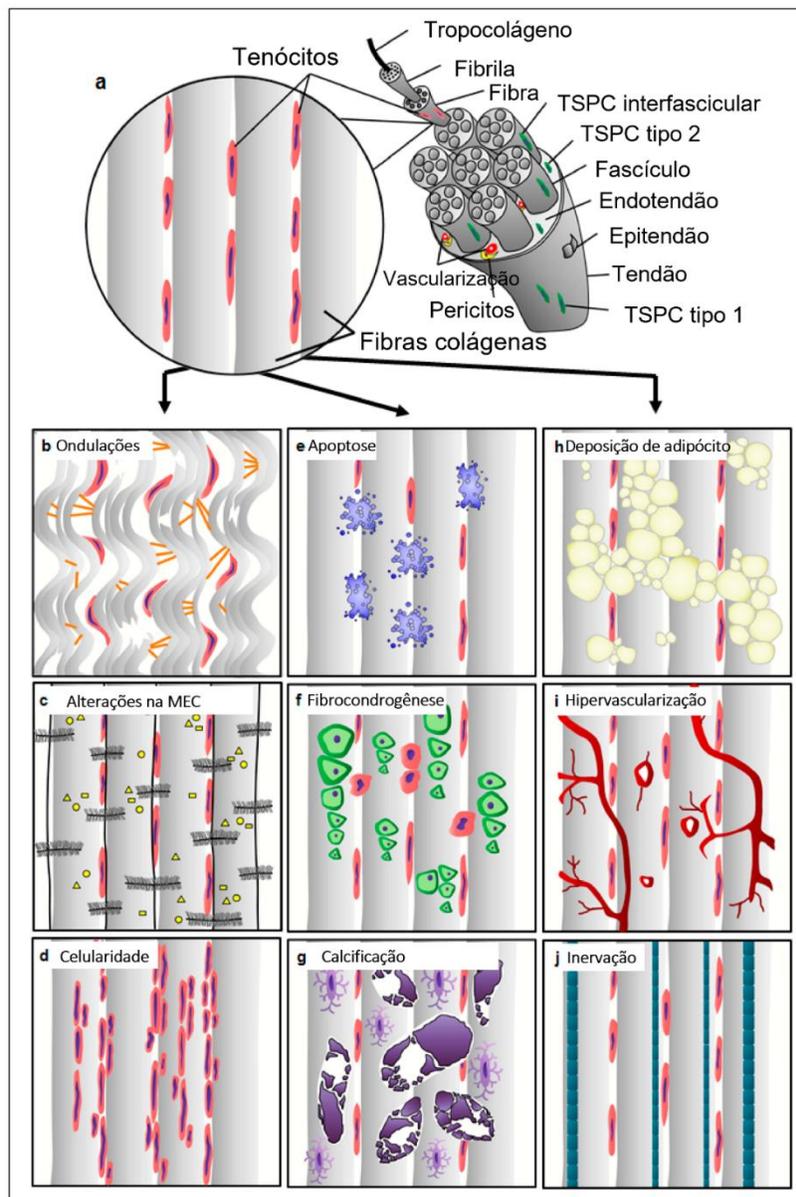


Figura 5 - Alterações histopatológicas na tendinopatia.

(a) Tecido tendíneo normal, (b) enrugamento e torção das fibras e afrouxamento da matriz, (c) aumento da produção de proteoglicanos (PG)/glicosaminoglicanos (GAG) e alterações nos perfis de citocinas, (d) hiper celularidade, (e) apoptose, (f) presença de outros tipos celulares como condrócitos (fibrocondrogênese), (g) osteócitos (calcificação), (h) acúmulo de adipócitos, (i) hipervascularização e (j) inervação.

Fonte: Adaptado de Steinaman *et al.*, 2020.

Essas alterações estruturais e histológicas alteram a rigidez do tendão, levando a uma menor resistência ao estresse e à tensão, o que, por sua vez, afeta negativamente a capacidade do tendão de transmitir força e gerar energia, predispondo o tendão a novas lesões.

Uma vez que a rigidez do tendão é essencial para a resistência do tendão à tensão, a tendinopatia pode levar a redução na força e resistência do tendão às cargas mecânicas ao longo do tempo. Essas alterações biomecânicas acarretam limitação funcional com alterações no padrão da marcha, bem como anormalidades no padrão da pegada em modelo murino. Como consequência, variações na velocidade e amplitude de movimento, na distância percorrida pelo animal e na maneira como o animal posiciona a pata e os dedos no solo para a descarga de peso indicam perda funcional decorrente da dor ou perda da integridade do tecido (LEE; HSIEH; LIANG; YEH *et al.*, 2012; LIANG; CHEN; HSIEH; LIU *et al.*, 2012; MURRELL; LILLY EG FAU - DAVIES; DAVIES H FAU - BEST; BEST TM FAU - GOLDNER *et al.*, 1992)

Vários métodos foram desenvolvidos para mensurar as alterações funcionais após lesão no tendão calcâneo, incluindo análise da marcha e análise da pegada do animal, o chamado teste do Índice Funcional de Aquiles (IFA). Recentemente, uma série de vídeos baseados sistemas de pista de caminhada foram desenvolvidos para análise da marcha em modelos de ratos. O sistema de análise de marcha baseado em vídeo determina não apenas os parâmetros espaciais, mas também inclui os parâmetros temporais para avaliar com mais precisão a recuperação funcional de tendões de Aquiles de ratos no processo de reparo (AMADO; ARMADA-DA-SILVA PA FAU - JOÃO; JOÃO F FAU - MAURÍCIO; MAURÍCIO AC FAU - LUÍS *et al.*, 2011; COUTO; FILIPE VM FAU - MAGALHÃES; MAGALHÃES LG FAU - PEREIRA; PEREIRA JE FAU - COSTA *et al.*, 2008; LIANG; CHEN; HSIEH; LIU *et al.*, 2012)

1.4. PROBLEMÁTICA DA DOR NA TENDINOPATIA

Evidências atuais sugerem que o quadro doloroso manifestado na tendinopatia não está associado a alterações histológicas no tecido, incluindo neovascularização (ACKERMANN; ALIM; PEJLER; PETERSON, 2022). Histologicamente a tendinopatia pode apresentar desorganização das fibras colágenas, aumento de colágeno tipo III, aumento de componentes da MEC e crescimento de vasos sanguíneos no tendão. Entretanto, essas características mencionadas também podem ser encontradas em pacientes assintomáticos que não expressam o quadro doloroso (DE MARCHI; POZZA; CENNA; CAVALLO *et al.*, 2018; DOCKING SI FAU - OOI; OOI CC FAU - CONNELL; CONNELL, 2015). Os achados encontrados atualmente em relação a problemática da dor na tendinopatia demonstram: (1) crescimento interno prolongado de nervos no tendão; (2) níveis elevados de mediadores de dor; (3) regulação positiva da expressão e excitabilidade dos receptores de dor e (4) vias neuroimunes envolvidos na regulação da dor (Figura 6).

O brotamento interno do nervo sensorial, regulado pelo fator de crescimento nervoso (NGF), em tendões patológicos parece representar importante mecanismo da dor (FREEMONT; PEACOCK TE FAU - GOUPILLE; GOUPILLE P FAU - HOYLAND; HOYLAND JA FAU - O'BRIEN *et al.*, 1997). Já foi demonstrado que o tratamento com anti-NGF diminuiu o crescimento interno do nervo e os sintomas relacionados à dor e comportamento em camundongos em modelo de osteoartrite (GHILARDI; FREEMAN KT FAU - JIMENEZ-ANDRADE; JIMENEZ-ANDRADE JM FAU - COUGHLIN; COUGHLIN KA FAU - KACZMARSKA *et al.*, 2012).

Esse crescimento interno de ramos nervosos no tendão após lesão, tem potencial de gerar nocicepção em resposta a estímulos mecânicos, térmicos ou químicos. Dessa forma, muitos pacientes sentem dor apenas ao movimentar a articulação do tornozelo pois gera estímulos mecânicos. Além disso, os pacientes podem sentir dor persistente após o término do exercício, indicando uma sensibilização dos nociceptores, o qual pode ser explicada por alterações tanto na quantidade de mediadores nociceptivos, bem como uma sensibilização periférica e central do sistema nervoso (PLAZA-MANZANO; RIOS-LEON;

MARTIN-CASAS; ARENDT-NIELSEN *et al.*, 2019; RIO; MOSELEY; PURDAM; SAMIRIC *et al.*, 2014).

A compreensão dos mecanismos subjacentes a dor é necessária para desenvolver novos tratamentos. Apesar do grande avanço, esse mecanismo ainda não é totalmente elucidado. Estudos de dor em humanos são subjetivos e limitados por considerações éticas, levando ao uso generalizado de animais como modelos para estudar a dor, sendo as espécies mais utilizadas camundongos e ratos (MOGIL, 2009). A dor não pode ser medida diretamente em roedores, sendo necessário desenvolver métodos indiretos para quantificar e avaliar comportamentos semelhantes à dor em animais não anestesiados que fossem confiáveis, reprodutíveis, sensíveis e específicos (DEUIS; DVORAKOVA; VETTER, 2017).

É importante destacar a distinção entre dor e nocicepção, a dor é definida como uma experiência sensorial e emocional desagradável associada a dano tecidual real ou potencial - por esse motivo nenhum teste pode, portanto, medir a dor em animais diretamente - já o termo nocicepção é utilizado para descrever a resposta neuronal periférica a estímulos nocivos, que engloba quaisquer estímulos, sejam eles mecânicos, térmicos, elétricos ou químicos, que tenham o potencial de causar danos aos tecidos (DUBIN; PATAPOUTIAN, 2010).

Assim, comportamentos semelhantes à dor, podem incluir a retirada de uma parte do corpo a partir de estímulo, redução da deambulação, agitação, aumento da limpeza da área afetada, alterações na marcha e na descarga de peso em roedores, e podem ser analisados como uma medida de nocicepção (DEUIS; DVORAKOVA; VETTER, 2017).

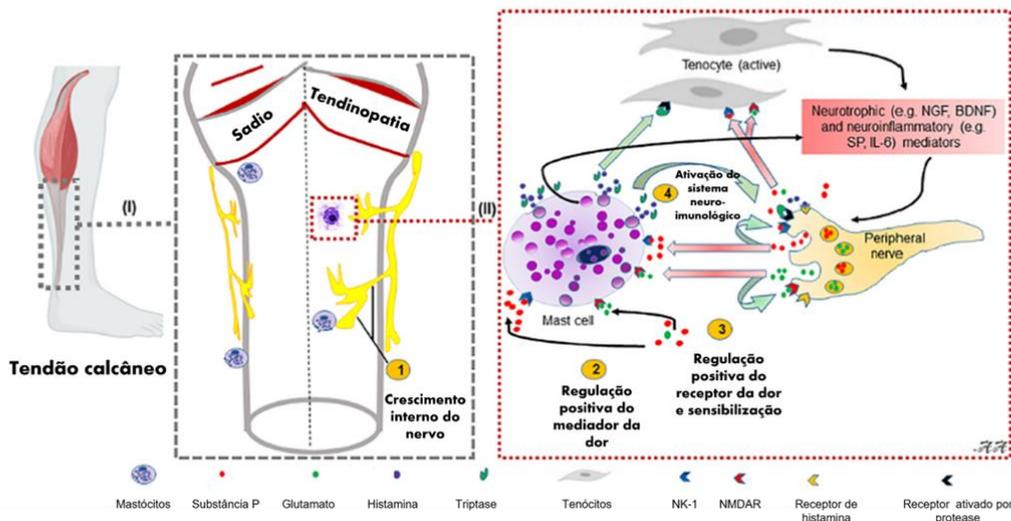


Figura 6 - Ilustração esquemática da fisiopatologia da dor crônica no tendão.

Em tendões saudáveis, as fibras nervosas, os vasos sanguíneos e as células inflamatórias estão confinadas às estruturas circundantes do tendão. Assim, pode ocorrer inflamação e dor aguda nas estruturas circundantes do tendão. Estímulos mecânicos, terminações nervosas periféricas e células tendíneas (tenócitos) podem liberar mediadores neurotróficos e neuroinflamatórios. Fatores neurotróficos, como o fator de crescimento nervoso (NGF) e o fator neurotrófico derivado do cérebro (BDNF), atuam tropicamente nas terminações nervosas causando brotamento nervoso com crescimento interno de fibras nervosas no tendão propriamente dito. Mediadores neuroinflamatórios, como glutamato e substância P (SP), podem ativar o sistema imunológico (especificamente mastócitos), tenócitos e terminações nervosas periféricas por meio de seus respectivos receptores, ou seja, receptores de glutamato (por exemplo, NMDAR1) e receptores NK1. Os mastócitos ativados liberam proteases, por exemplo, triptase, que podem funcionar impactar as células do tendão ou ativar os nervos próximos. Os mastócitos também liberam NGF, que, além disso, estimulam a regulação positiva dos receptores de dor (por exemplo, NMDR1), bem como mediadores da dor (por exemplo, SP, glutamato) nos nervos periféricos. Além disso, os tenócitos ativados impulsionam a produção de neuroinflamatórios compostos (por exemplo, SP, NGF, IL-6). SP, por sua vez, pode ativar nervos periféricos (ou seja, sensibilização) via receptores NK1 nos quais NMDAR1 torna-se ativado (fosfo-NMDAR1) e causa inflamação neurogênica. Legenda: NMDR1: receptor N-metil-D-aspartato tipo 1; NK1: neuroquinina 1.

Fonte: Adaptado de Ackermann et al., 2022. NMDAR1,

1.5. TERAPIAS UTILIZADAS NO TRATAMENTO DA TENDINOPATIA

Múltiplas estratégias de reabilitação têm sido recomendadas para uso em pacientes com tendinopatia. Embora essas abordagens atuem por mecanismos divergentes, o objetivo da terapia é reduzir os sintomas, em particular a dor, promover a cicatrização do tendão e melhorar a função do paciente. Os regimes

terapêuticos podem ser divididos em modalidades passivas, que incluem tratamentos farmacológicos, terapia de injeção, terapia por ondas de choque, ultrassonografia terapêutica e fotobiomodulação (FBM) por laser de baixa intensidade; e modalidades ativas, como exercícios excêntricos, educação do paciente e gerenciamento de carga (AICALE; BISACCIA; OLIVIERO; OLIVA *et al.*, 2020; MILLAR; SILBERNAGEL; THORBORG; KIRWAN *et al.*, 2021).

Diferentes estudos investigaram a eficácia dessas diferentes estratégias de tratamento isoladamente, bem como em combinação. Em geral, a eficácia de um tratamento deve ser determinada pela reversão da patologia da tendinopatia e não apenas pela resolução da sintomatologia (ANDRES; MURRELL, 2008).

Como abordado anteriormente, uma variedade de tratamentos conservadores tem sido proposta para controlar a tendinopatia, incluindo a fisioterapia com o emprego de recursos físicos e a farmacoterapia. Esta última modalidade de intervenção é destinada a controlar a inflamação, com injeções de corticosteroides e medicamentos anti-inflamatórios não esteroides (AINEs), entretanto, pode não ser a opção mais eficaz. As bases científicas para o uso de AINEs na tendinopatia crônica são questionáveis, pois na histologia da tendinopatia o tecido mostra poucas ou nenhuma célula inflamatória (KEARNEY; COSTA, 2010).

Alguns estudos demonstraram que os AINEs podem inibir a migração e proliferação de células do tendão e prejudicar o processo de reparo. Outro estudo descobriu que as células tendinopáticas do calcâneo *in vivo* são em grande parte não responsivas ao tratamento com ibuprofeno (1800 mg·d⁻¹) (HEINEMEIER; OHLENSCHLAEGER; MIKKELSEN; SONDER *et al.*, 2017; TSAI; HSU CC FAU - CHOU; CHOU SW FAU - CHUNG; CHUNG CY FAU - CHEN *et al.*, 2007). Além disso, o uso prolongado de AINEs aumenta o risco de doenças gastrointestinais, cardiovasculares, e complicações renais associadas a esses medicamentos (AICALE; BISACCIA; OLIVIERO; OLIVA *et al.*, 2020).

Diante dessa problemática, outras terapias têm sido reportadas como alternativas para melhorar o reparo tecidual, dentre elas o laser de baixa potência, o qual será explicado na próxima seção.

1.6. LASER DE BAIXA POTÊNCIA NO REPARO TENDÍNEO

Atualmente, na prática clínica fisioterapêutica, os recursos mecânicos e eletromagnéticos têm sido amplamente estudados para favorecer o processo de reparo do tendão calcâneo, dentre eles destaca-se a terapia de fotobiomodulação (FBM) por terapia a laser de baixa potência (DE JESUS; SPADACCI-MORENA; DOS ANJOS RABELO; PINFILDI *et al.*, 2015; FERRARESI; HUANG; DE FREITAS; CARROLL *et al.*, 2018).

Baseado nas leis fundamentais da interação da radiação luminosa com a matéria, o laser é uma fonte de radiação, capaz de produzir campos eletromagnéticos intensos e coerentes que se estendem do infravermelho ao ultravioleta. Assim, os aparelhos de laser são classificados em alta (High Intensity Laser Treatment – HILT) e baixa potência (Low-level Laser Therapy – LLLT). O laser de alta potência produz efeito térmico, tem potência superior a 500 mW e é largamente empregado em cirurgias para coagular, seccionar ou vaporizar tecidos (EMING; KRIEG T FAU - DAVIDSON; DAVIDSON, 2007; MAIYA; KUMAR P FAU - NAYAK; NAYAK, 2009). Os lasers de baixa potência são aplicados em processos de reparação tecidual, tais como traumatismos musculares, articulares, neuronais, ósseos e cutâneos. Esse tipo de laser está situado na porção visível do espectro das radiações eletromagnéticas, não produz efeito térmico e emite no máximo 500 mW de potência. Dentre as substâncias que compõem os aparelhos de laser de baixa potência encontram-se: Laser Rubi (694 nm), Arseneto (488 e 514 nm), Hélio-Neônio (632,8 nm), Krypton (521, 530, 568 e 647 nm), Arseneto de Gálio e Alumínio (805 ou 650 nm) e Arseneto de Gálio (904 nm) (LIN; JOSEPHS SF FAU - ALEXANDRESCU; ALEXANDRESCU DT FAU - RAMOS; RAMOS F FAU - BOGIN *et al.*, 2010).

A energia eletromagnética possui espectros visíveis ao olho humano e espectros não visíveis, e sua classificação baseia-se de acordo com o comprimento de onda e a frequência. O espectro é formado de radiações ultravioletas, visíveis, infravermelhas, e a luz assume cores que variam de acordo com amplitude ou intensidade luminosa, e dispõem de diferentes aplicações práticas (Figura 7) (COLOMBO; NETO ADE; SOUSA; MARCHIONNI *et al.*, 2013).

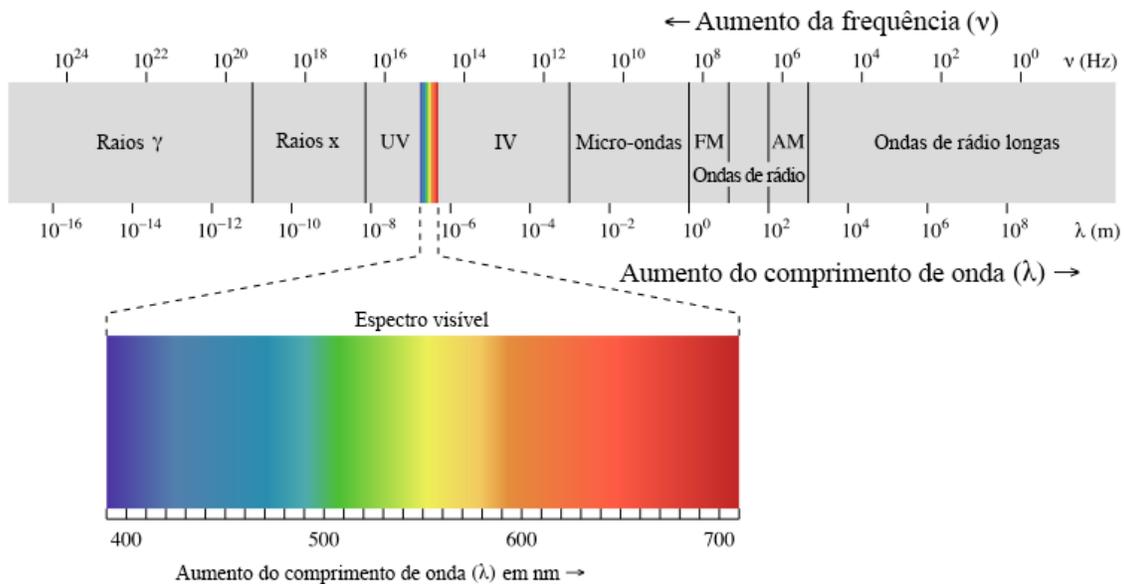


Figura 7 - Espectro eletromagnético

Fonte: Imagem disponível em UC Davis ChemWiki, CC-BY-NC-SA 3.0.

Para compreender as propriedades do laser, que resultam de determinados aspectos da interação da radiação com os átomos ou moléculas que constituem os meios materiais, é necessário recorrer aos conceitos e princípios da física. Primeiramente é fundamental entender a origem, estrutura e propagação da luz. A luz consiste nos chamados fótons, que são definidos pela quantidade de energia absorvida ou emitida pelo elétron nas suas transições de órbitas e que se propagam na forma de ondas (CHUNG; DAI; SHARMA; HUANG *et al.*, 2012). Assim, a intensidade de um feixe luminoso está intimamente ligada ao número de fótons por segundo que chegam a uma determinada área. Dessa forma, o

laser consiste em três componentes principais: meio ativo, emissão espontânea e emissão estimulada.

A primeira é responsável por constituir a luz laser, pois contém átomos ou moléculas, as quais os elétrons contidos emitem luz (fótons) através dos saltos de níveis de energia. A segunda parte principal do laser é uma fonte externa de energia, que faz com que os elétrons saltem para seus níveis mais energéticos após ficarem em estado de excitação. Os elétrons excitados se deterioram de volta para um estado de energia inferior (HAMBLIN, 2016). Nesse processo chamado de emissão espontânea, quando um elétron decai, um fóton é emitido. Com essa emissão, uma fonte de luz policromática, irradia em todas as direções e os fótons de luz são emitidos de maneira aleatória, sendo chamada de fonte de luz comum. Já o terceiro componente do laser, a emissão estimulada, ocorre quando o átomo ou molécula está inicialmente excitado de energia em um nível e energia equivalente ao fóton incidente. O fóton incidente faz o elétron retornar ao nível de energia anterior e o resultado são dois fótons, o original e o emitido, nas mesmas direção e fase, dessa forma, a emissão é substituída por uma forma mais “organizada” de emitir luz, pois fótons emitidos tem a mesma energia ou frequência (luz monocromática), mesma direção e são emitidos em instantes bem determinados (Figura 8)(CHUNG; DAI; SHARMA; HUANG *et al.*, 2012; FERRARESI; HUANG; DE FREITAS; CARROLL *et al.*, 2018).

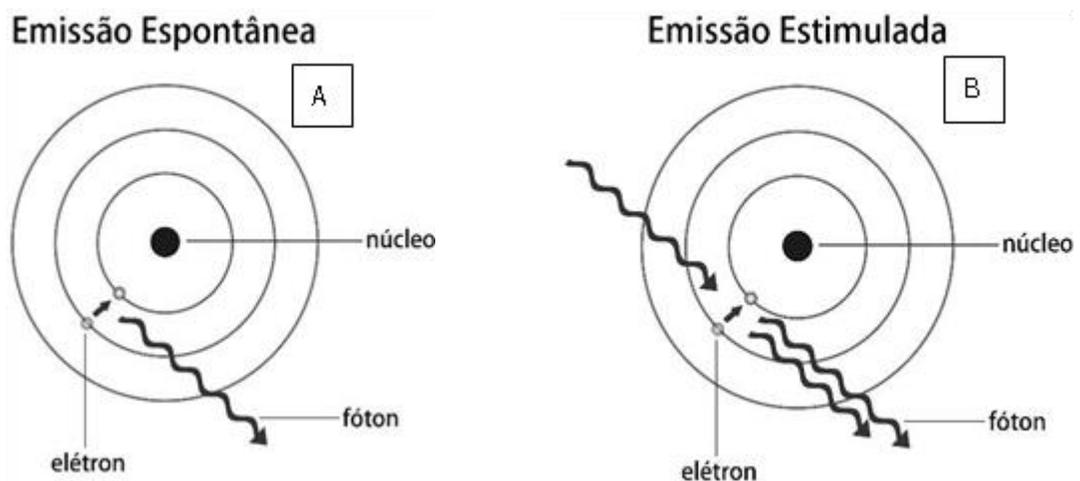


Figura 8 - Esquema ilustrativo da emissão de energia após a transição de órbita dos elétrons.

Fonte: Adaptado de Ferraresi et al., 2018.

A luz ao alcançar a superfície do tecido sofre reflexão, refração, absorção, espalhamento e transmissão (figura 9). Somente os fótons não refletidos, não absorvidos ou espalhados na mesma direção do feixe incidente são transmitidos pelo tecido.

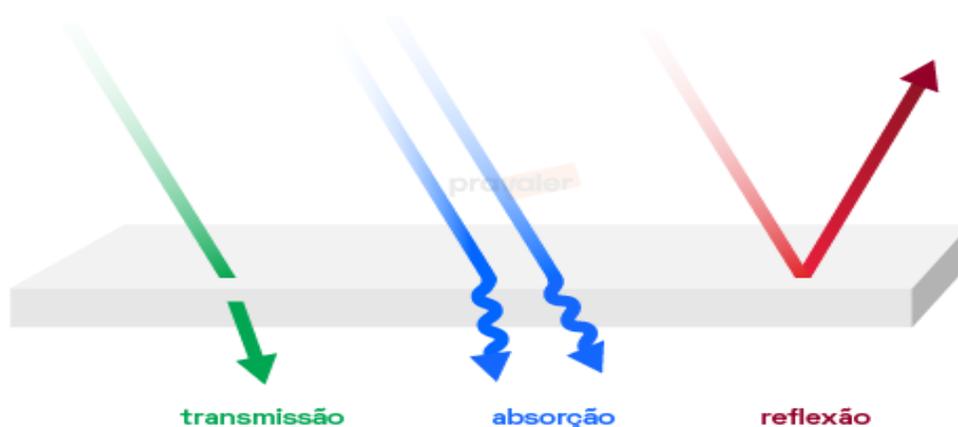


Figura 9 - Fenômenos de propagação da luz no tecido biológico.

Fonte: www.pravaler.com.br acesso em 07 de fevereiro de 2023.

Para que ocorra a absorção da luz pelo tecido biológico, a onda eletromagnética não deve retornar à superfície e nem se propagar pelo meio. A frequência da luz deve estar próxima a frequência natural, destacando a importância de um adequado comprimento de onda. Além disso, a luz terá efeito no sistema biológico vivo quando for absorvida por alguns fotorreceptores moleculares. Este fenômeno estabelece um estado molecular eletronicamente excitado que resulta em modulação da atividade celular.

A primeira lei da fotoquímica explica que para que uma luz visível de baixa potência tenha algum efeito sobre um sistema biológico vivo, os fótons devem ser absorvidos por bandas de absorção eletrônica pertencentes a alguns fotorreceptores moleculares, chamados cromóforos, que são um grupo de moléculas

inter-relacionadas que podem ser enzimas, membranas celulares, ou qualquer outra substância extracelular que possa absorver luz, como o pigmento heme da hemoglobina, mioglobina; pigmento citocromo da cadeia respiratória na mitocôndria e pigmento melanina.

A penetração da luz laser dentro do tecido é determinada principalmente pelo comprimento de onda e de maneira secundária, pela potência do aparelho, assim como também pelos fenômenos de dispersão e de absorção. Acredita-se que o pico da penetração no tecido acontece no intervalo espectral do infravermelho próximo, entre comprimentos de onda de 600 nm a 1200 nm, devido à fraca absorção pela água. A água absorve fortemente a luz infravermelha em comprimentos de onda superiores a 1100 nm. Portanto, o uso de LLLT em animais e pacientes utiliza quase que exclusivamente luz vermelha e infravermelho próximo a luz visível (600-1100 nm) (FERRARESI; HUANG; DE FREITAS; CARROLL *et al.*, 2018)

O mecanismo de ação exato do LBP ainda não foi bem estabelecido. Sabe-se que um dos cromóforos mais importantes é a citocromo c oxidase (unidade IV na cadeia respiratória mitocondrial), que contém centros heme e cobre e absorve a luz na região próxima do infravermelho. A principal hipótese é que os fótons dissociam o óxido nítrico inibitório da enzima, levando a um aumento no transporte de elétrons, no potencial de membrana mitocondrial e na produção de ATP (efeito primário). Outra hipótese diz respeito aos canais iônicos sensíveis à luz que podem ser ativados permitindo que o cálcio entre na célula. Após os eventos iniciais de absorção de fótons, inúmeras vias de sinalização são ativadas, como via de espécies reativas de oxigênio (ROS), adenosina monofosfato cíclico (AMPC), óxido nítrico (NO) e cálcio (Ca²⁺) levando à ativação de fatores de transcrição (efeito secundário). Esses fatores de transcrição, como fator nuclear kappa B (NF-κB), podem levar ao aumento da expressão de genes relacionados à síntese de proteínas, migração e proliferação celular, sinalização anti-inflamatória, proteínas antiapoptóticas e enzimas antioxidantes (efeito terciário) (figura 10). Por fim, existem também a possibilidade de efeitos quaternários (efeitos sistêmicos distantes) do LBP

associados aos tecidos que não absorveram a energia fotônica, mas ainda podem ser afetados indiretamente por secreções das células que absorveram a luz do laser (DE FREITAS; HAMBLIN, 2016; HAMBLIN, 2016) (HANNA; PAWELCZYK-MADALINSKA; SALAGEAN; NAP *et al.*, 2022).

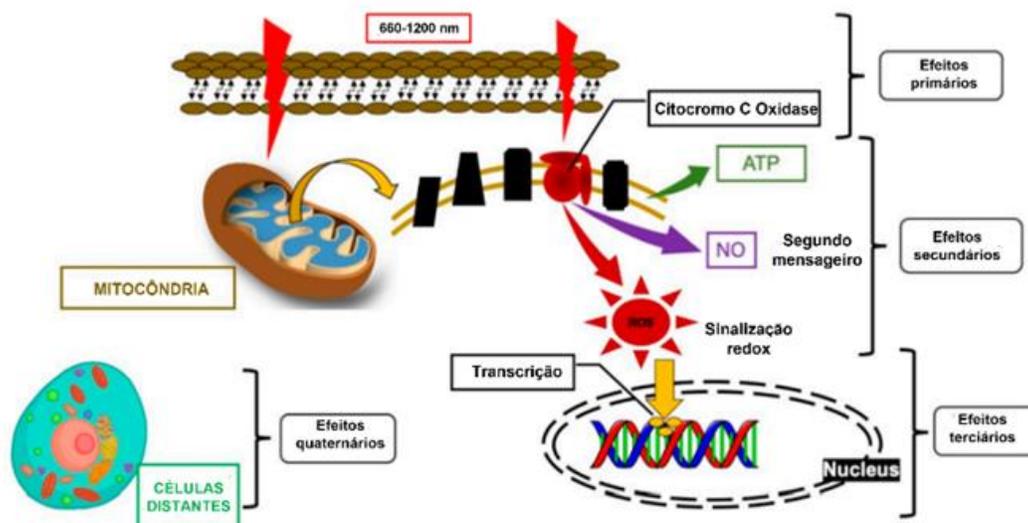


Figura 10 - Mecanismo de ação do LBP, destacando seus quatro efeitos no tecido biológico.

Fonte: Modificado de Hanna et al., 2022.

Resumidamente, os mecanismos moleculares e celulares do LBP sugerem que os fótons são absorvidos pelas mitocôndrias. Eles estimulam mais produção de ATP e baixos níveis de ROS, que ativam fatores de transcrição, como NF- κ B, para induzir muitos produtos de transcrição de genes responsáveis pelos efeitos benéficos do LBT.

Com a vantagem de não ser invasivo, as indicações do LBT são amplas, indo desde o alívio da dor até a promoção da recuperação de tendinopatias, lesões nervosas, osteoartrite e cicatrização de feridas (DE FREITAS; HAMBLIN, 2016).

Alguns estudos constataram que a fotobiomodulação por LBT pode estimular o processo de reparo tecidual de acordo com os parâmetros dosimétricos

(comprimento de onda e energia) (CASALECHI; NICOLAU RA FAU - CASALECHI; CASALECHI VL FAU - SILVEIRA; SILVEIRA L JR FAU - DE PAULA *et al.*, 2009; TORRES-SILVA; LOPES-MARTINS RA FAU - BJORDAL; BJORDAL JM FAU - FRIGO; FRIGO L FAU - RAHOUADJ *et al.*, 2015). Casalechi e colaboradores demonstraram um efeito benéfico do LBP no processo de regeneração do tendão devido a um aumento significativo no número de fibroblastos favorecendo a síntese de colágeno e melhora no reparo tecidual (CASALECHI; DE FARIAS MARQUES; DA SILVA; AIMBIRE *et al.*, 2014).

Estudos anteriores investigaram alterações no fenótipo do macrófago (infiltrado inflamatório) e na expressão de citocinas pró-inflamatórias e no remodelamento da matriz extracelular em modelos de lesões tendíneas em ratos cuja intervenção foi LBT. Os resultados mostraram que a expressão gênica de citocinas pró-inflamatórias, incluindo IL-6, é notavelmente aumentada nos estágios iniciais da lesão. No entanto, o LBP é capaz de reduzir significativamente a expressão desses mediadores inflamatórios, incluindo a IL-6, promovendo assim uma possível ação anti-inflamatória (HELRIGLE; DE CARVALHO; CASALECHI; LEAL-JUNIOR *et al.*, 2016; PIRES; XAVIER; ARAUJO; SILVA *et al.*, 2011).

Também foi demonstrado que o laser no espectro eletromagnético do infravermelho próximo é eficaz na indução de redução de citocinas pró-inflamatórias, como o TNF- α , um marcador de inflamação, que está presente principalmente durante a fase inflamatória do reparo do tendão (GUERRA FDA; VIEIRA; DOS SANTOS DE ALMEIDA; OLIVEIRA *et al.*, 2014).

O fator de crescimento endotelial vascular é um dos fatores mais importantes envolvidos na angiogênese e pode ser encontrado notadamente nas lesões do tendão de Aquiles. de Jesus *et al.* concluíram em seu estudo que a FBM por LLLT não favoreceu o aumento dos níveis de VEGF, o que os autores classificaram como um efeito positivo, pois o aumento desse mediador pode causar complicações nos tecidos tendinosos lesados (DE JESUS; SPADACCI-MORENA; DOS ANJOS RABELO; PINFILDI *et al.*, 2015).

Os resultados e a eficácia da laserterapia está intimamente ligada aos parâmetros e protocolos utilizados. Dessa forma, para a obtenção de resultados satisfatórios é preciso determinar comprimento de onda e quantidade de energia (joule) fornecida para os fotorreceptores do tecido lesionado, possibilitando a transformação da radiação em energia útil absorvida para o reparo tecidual.

Uma revisão sistemática sobre a dose-resposta do LBP no reparo do tendão calcâneo identificou uma gama de doses efetivas de luz e parâmetros usados nos estudos incluídos. Os parâmetros encontrados foram comprimento de onda principalmente na faixa do infravermelho, potência da luz de aproximadamente 60 mW (modo contínuo), 2 W cm^{-2} e 2 J ou $\sim 45 \text{ J cm}^{-2}$ por ponto de irradiação. Esses parâmetros relatados foram eficientes para controlar o processo inflamatório (diminuição dos mediadores inflamatórios principalmente) e estimular o processo de reparo (estimulação de colágeno tipo I e tipo III, redução das metaloproteinases MMP-1 e MMP-13) em tendões calcâneos de ratos (LOPES SILVA; PESSOA; MARIANO; CASTRO *et al.*, 2020).

Em vista disso, é evidente o potencial efeito terapêutico do laser de baixa intensidade no reparo do tecido tendíneo, propiciando a aceleração do processo de reparo.

1.7. LASERTERAPIA NA ABSORÇÃO DE ATIVOS TÓPICOS EM LESÕES MUSCULO-ESQUELÉTICAS

Como abordado anteriormente, a terapia com laser de baixa intensidade representa uma alternativa para o tratamento de lesões musculoesqueléticas e pode ter efeitos inibitórios ou estimulatórios, dependendo dos parâmetros utilizados no tratamento. Nesse sentido, é comum usar o termo fotobiomodulação para citar seus efeitos nos tecidos biológicos.

Atualmente, a área dermatológica vem estudando maneiras de melhorar o transporte ou absorção transdérmica de algumas substâncias ou drogas. Para fazer isso, uma variedade de meios como agentes químicos, microagulhas,

ultrassom, entre outros, têm sido utilizados. No entanto, para algumas drogas, nenhum desses meios conseguem melhorar a capacidade de absorção da substância ou droga na camada do estrato córneo (EC) na pele (LIU; ZHI; TUCHIN; LUO *et al.*, 2010) (RAPHAEL AP FAU - WRIGHT; WRIGHT OR FAU - BENSON; BENSON HA FAU - PROW; PROW, 2015).

O laser de baixa intensidade tem como características o aumento da microcirculação local, da vasodilatação e recrutamento da vascularização colateral. Essas características são amplamente aceitas e demonstradas em estudos com tecidos musculares e cicatrização da pele que poderia ajudar ainda mais na função de absorção de drogas ou outras substâncias (IHSAN, 2005).

Recentemente vem sendo estudado os efeitos sinérgicos do uso combinado da terapia de fotobiomodulação e AINEs. Foi observado que a terapia FBM isoladamente ou em combinação com diclofenaco, reduz os níveis de marcadores inflamatórios e melhora a marcha de ratos diabéticos na fase aguda da distensão muscular (DOS SANTOS; SALTORATO; MONTE; MARCOS *et al.*, 2019). Outro estudo avaliou o efeito de terapias únicas e combinadas (LBT, aplicação tópica de diclofenaco e diclofenaco intramuscular) sobre aspectos funcionais e bioquímicos em um modelo experimental de tensão muscular controlada em ratos. A análise constatou que o tratamento combinado de LBT com gel tópico de diclofenaco reduziu significativamente a expressão do gene ciclo-oxigenase 1 (COX-1) e 2 (COX-2). Além disso, o tratamento combinado teve melhores efeitos nos níveis de prostaglandinas E2 (PGE2) e nos aspectos funcionais avaliado pelo teste do índice funcional do ciático do que a aplicação tópica de diclofenaco e diclofenaco intramuscular isoladamente (DE PAIVA CARVALHO; LEAL-JUNIOR EC FAU - PETRELLIS; PETRELLIS MC FAU - MARCOS; MARCOS RL FAU - DE CARVALHO *et al.*, 2013).

Ademais, outro estudo recente avaliou o efeito sinérgico entre o LBP e aplicação tópica com gel de diclofenaco em modelo experimental de lesão muscular induzida por alongamento em ratos. Foi observado que o pico de concentração plasmática máxima de diclofenaco sódico ocorreu 30 minutos após a irradiação com laser infravermelho (830 nm) diferentemente do grupo

experimental que não teve irradiação com laser, o qual teve seu pico de concentração plasmática após 4 horas. Dessa forma, a irradiação com laser anterior a aplicação tópica gel de diclofenaco potencializou a absorção do medicamento. Esse estudo demonstrou que a associação da laserterapia e o tratamento tópico com diclofenaco (830 nm) foi eficaz em reduzir/acelerar processo inflamatório e lesão muscular em ratos além de proporcionar melhora significativa nos padrões funcionais (DE PAIVA CARVALHO; LEONARDO; MENDES; LIMA *et al.*, 2019).

Diante do exposto, nossa hipótese consiste em associar o tratamento com laser de baixa intensidade ao uso tópico de produtos naturais com propriedades terapêuticas, como o açaí, a ser abordado na próxima seção, com a finalidade de potencializar e favorecer o processo de reparo.

1.8. AÇAÍ COMO ALTERNATIVA TERAPÊUTICA PARA REPARO TECIDUAL

Euterpe oleracea Mart. (EO), popularmente conhecido como açaí, pertence à família *Arecaceae* e cresce abundantemente no Brasil. O fruto desta palmeira vem sendo amplamente estudado e destaca-se pelo grande número de atividades farmacológicas, como atividades anti-inflamatória, antioxidante, antimicrobiana, antinociceptiva, anticancerígena, antiaterogênica e cicatrizante, proteção contra síndromes metabólicas como diabetes, hipertensão e hiperlipidemia, e proteção de órgãos como pulmão, rim, fígado, coração e sistema nervoso. Embora a composição fitoquímica esteja intrinsecamente ligada às atividades biológicas identificadas, as descobertas da última década sobre o uso dessa espécie têm mostrado alternativas farmacológicas promissoras (DE ALMEIDA MAGALHAES; DE OLIVEIRA MACEDO; CONVERTI; NEVES DE LIMA, 2020).

Diferentes partes do EO como frutas, folhas, raízes e óleo de frutas têm sido estudadas para aplicação farmacológica, sugerindo diferentes atividades biológicas de acordo com sua composição química. Foram identificados por

Pacheco-Palencia e colaboradores, altas concentrações de ácidos fenólicos como, os ácidos vanílico, siríngico, p -hidroxibenzoico, protocatecuico e ferúlico, bem como oligômeros de (+) -catequina e procianidina. Os autores afirmam que os extratos enriquecidos com esses compostos são responsáveis pela atividade antioxidante (PACHECO-PALENCIA; TALCOTT ST FAU - SAFE; SAFE S FAU - MERTENS-TALCOTT; MERTENS-TALCOTT, 2008).

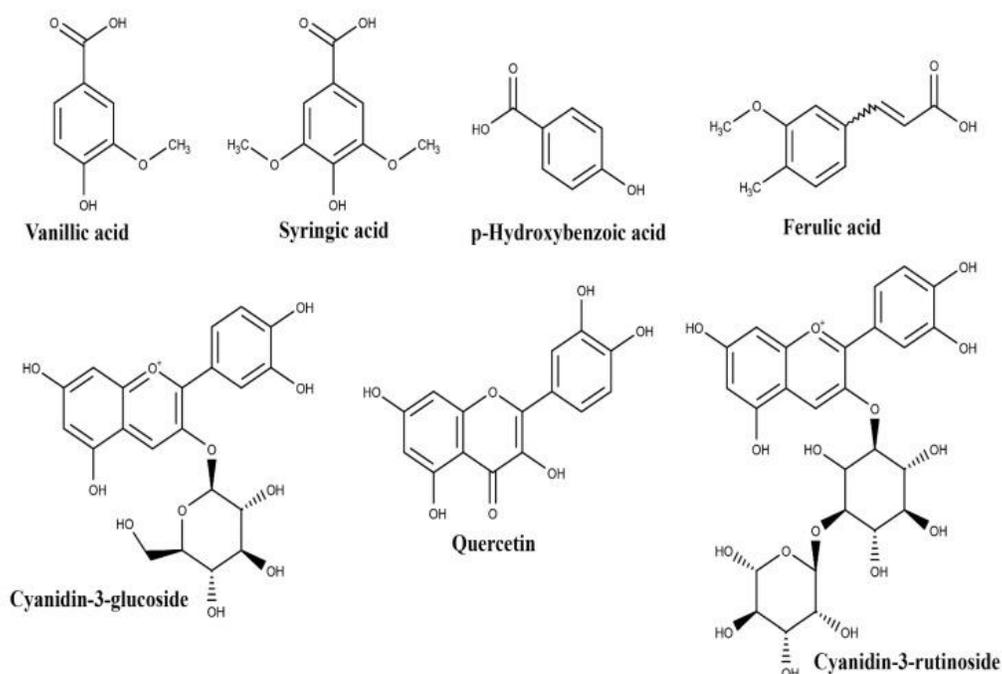


Figura 11 - Principais composições químicas da *Euterpe Oleraceae*.

Fonte: De Almeida Magalhães et al., 2020.

Outros estudos relataram a presença do flavonoide, quercetina e antocianinas, como cianidina-3-glicosídeo e cianidina-3-rutinosídeo em extratos de EO (Figura 11), confirmando sua atividade antioxidante e anti-inflamatória (AGAWA; SAKAKIBARA; IWATA; SHIMOI *et al.*, 2011; POULOSE; FISHER; LARSON; BIELINSKI *et al.*, 2012).

O efeito anti-inflamatório do EO é uma de suas atividades farmacológicas mais relatadas na literatura. A maioria dos estudos *in vitro* relata resultados

positivos nos valores de capacidade de absorção dos radicais oxigenados e diminuição da produção de ROS mesmo quando a linhagem celular utilizada foi exposta a lipopolissacarídeos (KANG; XIE; LI; NAGARAJAN *et al.*, 2011

)

Em outro estudo, utilizando células microgliciais murinas BV-2 observaram que a proteína quinase ativada por mitógeno p38 (p38-MAPK) e o fator de transcrição NF- κ B tiveram suas atividades atenuadas pelo tratamento com frações da polpa de OE, que regulava a produção de Ca^{2+} , iNOS, bem como a ativação da COX-2 (POULOSE; FISHER; LARSON; BIELINSKI *et al.*, 2012).

Ademais, um estudo in vivo, também relatou que o extrato de EO reduziu a inflamação mediada por interleucina 8 (IL-8), fator de necrose tumoral- α (TNF- α) e fator de crescimento transformador- β (TGF- β) e reduziu a expressão induzida por álcool de fator nuclear NF- κ B e CD68 em hepatócitos de ratos Wistar. Este estudo também relata uma redução no estresse oxidativo e nos danos hepáticos (ZHOU; ZHANG; WANG; QU *et al.*, 2018).

O açaí também possui propriedades antinociceptivas e antioxidantes. Um estudo clínico de Jensen et al. demonstraram que o consumo de suco de frutas da EO melhorou significativamente os dados de amplitude de movimento e intensidade da dor, bem como as atividades da vida diária em pacientes com dores nas articulações (JENSEN; AGER DM FAU - REDMAN; REDMAN KA FAU - MITZNER; MITZNER MA FAU - BENSON *et al.*, 2011). Carvalho e cols. demonstraram atividade antioxidante da polpa de açaí liofilizada em comparação com gel contendo extrato de açaí em diferentes concentrações (8%, 12%, 16% e 20%), observaram que as maiores concentrações apresentaram maior teor de fenólicos totais e, portanto, maior atividade antioxidante. (LUCIA M. JAEGER DE CARVALHO*, 2015).

Diante da junção de evidências, há um crescente interesse científico por esta planta, e um conjunto de ações que apontam para o desenvolvimento de novos medicamentos promissores para uso clínico baseado na mesma. Entretanto, pouquíssimos estudos têm priorizado ensaios clínicos, sugerindo que mais

esforços devem ser feitos para esclarecer a eficácia e segurança dos promissores extratos de açaí.

Sendo assim, a combinação do laser de baixa potência associado ao uso de produtos naturais como o açaí, pode potencializar e favorecer o processo de reparo sendo assim uma estratégia viável e não invasiva de tratamento. Tendo em vista a relevância da problemática acerca das lesões tendíneas, sobretudo do calcâneo, faz-se necessário o desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas mais eficientes para melhor regeneração tecidual, recuperação sensorial e melhora funcional.

2. OBJETIVOS

2.1. OBJETIVO GERAL:

Avaliar os efeitos do tratamento com laser de baixa potência e gel de açaí em aspectos morfofuncionais e nociceptivos na fase proliferativa de reparo após indução de lesão do tendão calcâneo pelo modelo de ruptura tendínea total.

2.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Avaliar o efeito do tratamento na sensibilidade mecânica após lesão do tendão calcâneo em ratos;

Avaliar o efeito do tratamento na recuperação funcional dos animais após lesão do tendão calcâneo em ratos.

Analisar o efeito do tratamento na organização macroscópica e no padrão de organização tecidual do tendão calcâneo na fase proliferativa de lesão;

Identificar o efeito do tratamento sobre a morfologia nuclear e o número de células no tecido na fase proliferativa de lesão;

Avaliar as possíveis variações na substância amorfa fundamental após tratamento na fase proliferativa de lesão;

Analisar o efeito do tratamento sobre o padrão de orientação das fibras colágenas na fase proliferativa de lesão.

3. MATERIAIS E MÉTODOS

3.1. ANIMAIS E GRUPOS EXPERIMENTAIS

Para o desenvolvimento do presente estudo foram utilizados ratos (*Rattus norvegicus*) da linhagem *Wistar*, machos, com aproximadamente 2 meses de idade pesando entre 150 ± 200 gramas (g), adquiridos do Biotério do Instituto de Ciências Biológicas (ICB) da Universidade Federal do Pará (UFPA) após aprovação pelo comitê de ética em pesquisa com animais experimentais da UFPA. Os animais foram mantidos em gaiolas de polipropileno padrão forradas com maravalha, mantidas em ambiente com ciclo claro/escuro de 12 horas, em temperatura de 24 °C e receberam água e ração *ad libitum*. Os experimentos serão realizados nas dependências do Laboratório Neurofarmacologia Experimental respeitando todas as normas éticas para pesquisa com animais de laboratório, estando este projeto aprovado pelo Comitê de Ética de Uso de Animal (CEUA) parecer 9091250620. Ao total, foram utilizados 40 animais, os quais foram divididos em 5 grupos experimentais, conforme descrito na tabela 1. Todos os grupos experimentais, exceto o controle, foram submetidos a ruptura total do tendão calcâneo.

Grupo	Tratamento	Período de tratamento
CTRL N=8	Sem Lesão e sem tratamento	-
LESÃO N=8	Com lesão + tratamento simulado (laser desligado e gel de carbopol)	1h após lesão e no 2 ^o , 4 ^o , 6 ^o , 8 ^o , 10 ^o e 13 ^o dia.
LESÃO+GA N=8	Com lesão + tratamento com gel de açaí a 10%	1h após lesão e 2 ^a , 4 ^a , 6 ^a , 8 ^a , 10 ^a e 13 ^a dias.
LESÃO+LAS N=8	Com lesão + tratamento com laser de baixa potência (infravermelho, 2J)	1h após lesão e 2 ^a , 4 ^a , 6 ^a , 8 ^a , 10 ^a e 13 ^a dias.
LESÃO+LAS+GA N=8	Com lesão + tratamento com laser de baixa potência (infravermelho, 2J) seguido de gel de açaí a 10%.	1h após lesão e 2 ^a , 4 ^a , 6 ^a , 8 ^a , 10 ^a e 13 ^a dias.

Tabela 1: Grupos experimentais de acordo com o tratamento

3.1. PROCEDIMENTO CIRÚRGICO

Para a realização da ruptura total do tendão calcâneo, os animais foram anestesiados por via intraperitoneal com cetamina e xilazina (100 mg/kg e 10 mg/kg, respectivamente). Após testar os reflexos dolorosos do animal para confirmar a efetividade do plano anestésico, a pele sobre a região posterior da pata posterior direita foi higienizada e tricotomizada e em seguida realizada a

asepsia do local com solução de iodo 2%. Posteriormente, foi feita uma incisão longitudinal na pele acima da inserção calcânea para ter acesso ao tendão calcâneo, o qual foi seccionado totalmente por cisalhamento transversal com auxílio de uma tesoura, seguido imediatamente por sutura segundo a técnica modificada de Kessler (MENDES; DE SOUSA; FRANÇA; DE CARVALHO *et al.*, 2021; MURRELL; LILLY EG FAU - DAVIES; DAVIES H FAU - BEST; BEST TM FAU - GOLDNER *et al.*, 1992). A pele também foi suturada com fio de poliamida monofilamento não absorvível número 4-0 e submetida novamente à asepsia. Após o procedimento não houve nenhuma restrição ou imobilização do segmento, e os animais permaneceram livres na caixa.

3.2. TRATAMENTO COM LASER DE BAIXA POTÊNCIA

Os animais dos grupos LESÃO+LAS e LESÃO+LAS+GA tiveram a região do tendão calcâneo irradiados com laser de baixa potência, no espectro de luz infravermelha. A aplicação foi realizada com a caneta posicionada em um único ponto, no modo contínuo por 20 segundos, utilizando o aparelho Recover (MM OPTICS, tecnologia para saúde, LTDA) comprimento de onda 808 nm, densidade de energia de 2 J/cm² e potência máxima de 100 mW/cm². O tratamento iniciou 1 hora após induzida a lesão e realizado no 2º, 4º, 6º, 8º, 10º e 13º dias após lesão, como no desenho experimental exemplificado na figura 12. Para o procedimento, os animais foram imobilizados manualmente e posicionados em decúbito ventral. O aparelho foi colocado perpendicular à lesão, sendo a radiação feita sempre no mesmo horário, observando um intervalo de 48 horas entre as aplicações. Óculos de proteção foram devidamente utilizados contra a radiação emitida.

3.3. TRATAMENTO COM GEL DE AÇAÍ

O extrato de açaí (*Euterpe Oleracea*) liofilizado utilizado em nosso estudo foi obtido comercialmente (Evolution Slimming, UK Limited Company, Ltda). Para a preparação do gel, foi utilizado o gel condutor de carbopol (Carbogel Ind. e Com. Ltda) como base para produção do gel de açaí. O extrato foi diluído em água destilada na concentração de 50% e adicionado ao gel de carbopol para assim ficar na concentração final de 10% para aplicação tópica no tendão calcâneo dos animais. O tratamento iniciou-se 1 hora após induzida a lesão e foi realizado no 2º, 4º, 6º, 8º, 10º e 13º dias após lesão no grupo LESÃO+GA e logo após o tratamento com laser no grupo LESÃO+ LAS+GA.

3.4. EUTANÁSIA

A morte dos animais foi induzida por injeção intraperitoneal com a mistura anestésica previamente descrita seguida de decapitação com guilhotina, conforme recomendado pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA) (BRASIL, 2013).

3.5. AVALIAÇÃO MACROSCÓPICA

Após 14 dias, os tendões foram dissecados e logo em seguida analisados através de uma avaliação macroscópica usando uma escala semiquantitativa como descrita por (STOLL; JOHN T FAU - CONRAD; CONRAD C FAU - LOHAN; LOHAN A FAU - HONDKE *et al.*, 2011). Os 12 parâmetros do sistema analisado foram ruptura do tendão, inflamação, superfície do tendão, tecidos circundantes ao tendão, nível da área lesionada, inchaço/vermelhidão, conexão ao redor do tecido e capacidade de deslizamento, espessura do tendão, cor do tendão, tensão no músculo, transição para formação de tecido saudável no

tendão. Cada parâmetros variou de 0 a 1, exceto para inchaço/vermelhidão (0 a 2) e para espessura

3.6. ÍNDICE FUNCIONAL DE AQUILES

Para análise do desempenho funcional, foi realizado o teste do Índice Funcional de Aquiles (IFA). Para isso, os ratos foram colocados em um aparato de acrílico nas dimensões de 8 cm de largura por 60 cm de comprimento e 15 cm de altura. O aparato dispõe de luz de LED contornando o assoalho da passarela com objetivo de facilitar a observação da descarga de peso da pata traseira do animal. Os animais tiveram suas pegadas filmadas pela região inferior do aparato (60 frames por segundo). Para a filmagem, uma câmera foi posicionada embaixo do aparato a distância de 0,5 m de altura. Frames com as pegadas dos animais foram obtidos por meio das filmagens e o cálculo do IFA foi analisado com auxílio do software Image J®. Os parâmetros foram contabilizados a partir do segundo par de pegadas do animal, e calculado de acordo com a equação: $IFA = 74(PLF) + 161(TSF) + 48(ITF) - 5$ (MURRELL; LILLY EG FAU - DAVIES; DAVIES H FAU - BEST; BEST TM FAU - GOLDNER et al., 1992). O teste funcional foi realizado nos dias 0, 3, 7 e 14 dias após indução a lesão.

3.7. ÂNGULO ARTICULAR

Para analisar a cinemática do movimento, foi utilizado o teste do ângulo articular, que consiste na filmagem da marcha do animal em linha reta sobre o mesmo aparato usado para o IFA. Para executar esta análise, os animais foram imobilizados e tiveram as articulações do tornozelo, joelho e quadril localizadas por meio da palpação e identificadas com caneta marcadora de maneira bem visível em pontos chave (lateral ao joelho; lateral ao tornozelo e na cabeça do quinto metatarso), de modo a ser possível observar esses pontos na filmagem. Em seguida, os animais foram colocados no aparato para a filmagem, cuja foi realizada com auxílio de um tripé com câmera acoplada, posicionado a 1,20 m

de altura em relação ao solo, e à distância de 1 m do aparato. Após obtenção por filmagem (60 quadros/segundo) de pelo menos 3 passadas sequenciais dos animais, os vídeos foram salvos no formato AVI no computador para posterior análise pelo software Image J® (LIANG; CHEN; HSIEH; LIU et al., 2012). As fases da marcha analisadas foram apoio médio e pré-balanço, devido ao maior tempo a elas atribuídas no ciclo da marcha e a estabilidade do movimento articular delas permitir a visualização adequada do ângulo articular nas condições de captura de imagem da câmera de vídeo. O teste funcional foi realizado nos dias 0, 3, 7 e 14 dias após indução a lesão.

3.8. SENSIBILIDADE NOCICEPTIVA

Para avaliar a resposta nociceptiva dos animais foi utilizado o teste manual de Von Frey (PITCHER; RITCHIE J FAU - HENRY; HENRY, 1999). Neste teste, os animais serão colocados individualmente em pequenas gaiolas de acrílico transparente em uma plataforma plana, cujo piso é de malha plástica fenestrada que permite a passagem do filamento. Cada rato será colocado no aparato por 15 minutos para ambientação. O limiar mecânico de retirada da pata foi determinado usando monofilamentos (SORRI-BAURU, Brasil) com gramaturas que variam de 0,05 g a 10 g, o qual foi aplicado perpendicularmente à superfície plantar da pata traseira até se curvar. O método utilizado para determinar a sensibilidade mecânica foi o “estímulo ascendente”. Esse método fornece uma estimativa do limiar de retirada mecânica, e baseia-se na aplicação de monofilamentos com força crescente até que uma resposta de retirada seja observada (retirada rápida da pata, lambem ou sacudir a pata). Foi considerada uma resposta positiva para o filamento testado se a o comportamento de retirada da pata atingir 40% em 10 aplicações e o número de respostas positivas para cada filamento foi plotado e convertido em porcentagem (DEUIS; DVORAKOVA; VETTER, 2017). O teste sensorial foi realizado nos dias 0, 3, 7 e 14 dias após indução a lesão.

3.9. PREPARAÇÃO HISTOLÓGICA

Após 14 dias, as amostras do tendão foram dissecadas, coletas e fixadas em formalina tamponada a 10% por um período de 48 horas. Posteriormente as amostras foram desidratadas e submetidas a uma série gradativa de banhos de álcool começando com 70% e progredindo até álcool absoluto. Em seguida, os tendões foram diafanizados em Xilol por 2 horas e por mais 2 horas na etapa de impregnação da parafina. A última etapa é a inclusão, o qual as amostras foram colocadas em um pequeno recipiente coberto com parafina fundida para formação do bloco de parafina contendo o tecido. Para microtomia foram realizados cortes longitudinais de 5 micrômetros (μm) de espessura em micrômetro Leica (CM3050 S). A desparafinização foi realizada em estufa de secagem a 56°C por 24 horas. As lâminas com cortes longitudinais foram criteriosamente organizadas e numeradas, sendo mantidas congeladas a -20°C até o momento do uso.

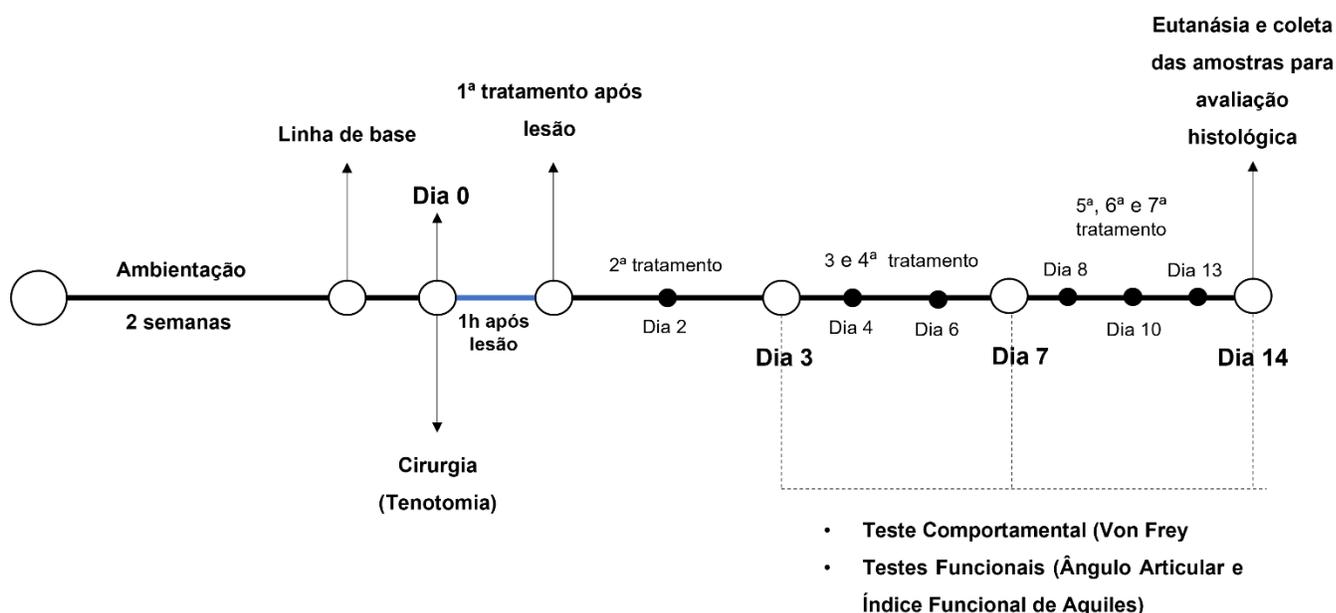


Figura 12 - Delineamento experimental

3.10. COLORAÇÃO POR HEMATOXILINA E EOSINA

Para avaliar a integridade e organização tecidual no tendão calcâneo foi utilizada a técnica de coloração por hematoxilina e eosina (H&E). Para essa coloração as lâminas com os cortes histológicos foram inicialmente diafanizadas em xilol por 1 minuto, seguido de uma bateria de álcool absoluto por 4 minutos. Após isso as lâminas foram imersas em água destilada por 1 minuto e posteriormente coradas com Hematoxilina de Harris por 3 minutos e novamente imersas em água destilada. Em seguida, as lâminas foram imersas em eosina por 30 segundos e lavadas em água destilada corrente por mais 1 minuto. Por fim, as lâminas foram desidratadas em álcool absoluto e montadas em Permount® (Fisher Scientific. New Jersey, USA). Os cortes foram analisados utilizando microscópio de luz (Nikon, Eclipse E800 Yokohama, Japan) com câmera digital (Nikon, DXM 1200, Japan) acoplada, fotografados em lentes objetivas de 20x e 40x. As imagens foram armazenadas para posterior análise cega pela escala semiquantitativa de Movin conforme descrito (CHEN; YU Q FAU - WU; WU B FAU - LIN; LIN Z FAU - PAVLOS *et al.*, 2011).

3.11. NÚMERO DE FIBROBLASTOS

Para quantificar o número de fibroblasto, as lâminas foram coradas com HE, como descrito anteriormente por Casalechi e colaboradores. Seis campos visuais foram selecionados aleatoriamente de cada secção e imagens foram capturadas sob microscopia de campo claro com aumento de 20 x. As células em cada campo visuais foram contadas manualmente com auxílio do software Image J®.

3.12. ANÁLISE HISTOPATOLÓGICA

A análise histopatológica foi realizada por um sistema de pontuação semiquantitativa proposta por Chen e colaboradores (2011) em lâminas coradas com HE, para isso, três seções foram selecionadas aleatoriamente de cada amostra por um pesquisador e a análise duplo-cega foi realizada por outros dois avaliadores. A escala consiste em seis parâmetros avaliados: estrutura da fibra, arranjo das fibras, arredondamento dos núcleos, inflamação, aumento da vascularização e densidade celular. Essas variáveis foram quantificadas usando uma escala de 0 a 3, com 0 sendo um parâmetro normal e 3 sendo totalmente anormal. Portanto, um tendão sadio teria escore total 0 e um tendão anormal 18

3.13. CONTAGEM DE CÉLULAS

Para contagem de células, amostras foram incubadas por 1 minuto com o marcador nuclear 4',6-diamidino-2-fenilindol (DAPI), na concentração de 1:10.000. Após a marcação com DAPI, imagens foram capturadas através de microscopia de fluorescência (Nikon, Eclipse Ni, Yokohama, Japan) com câmera digital (Nikon, DXM 1200, Japan) para a quantificação do número de células. Para isso, utilizamos os recursos do programa de computação Image J® (National Institute of Mental Health, USA). As imagens passaram por um tratamento para aumentar o contraste, para evidenciar ainda mais apenas os núcleos e evitando marcação inespecífica de fundo azulado. Em seguida, as imagens foram convertidas para o formato binário, conforme indicado pelo programa, e então solicitado que o programa realizasse a análise de partículas, as quais tiveram os valores máximos e mínimos previamente medidos com auxílio da ferramenta "straight line" para calibração do programa conforme descrito (MORAES; OLIVEIRA; CRESPO-LOPEZ; PICANCO-DINIZ *et al.*, 2013). Os dados de cada imagem foram salvos para posterior análise estatística.

3.14. COLORAÇÃO POR ALCIAN BLUE

Para avaliar as variações de substância amorfa fundamental na matriz extracelular, foi utilizada a coloração com Alcian Blue (AB). Os cortes foram corados por Alcian Blue (1g de Alcian Blue em 100 ml de ácido acético a 3%, com pH de 2,7) por 30 minutos, lavados em água destilada por 10 minutos, em seguida foram montados em glicerol 30%. Para quantificação da intensidade de coloração por AB, as imagens foram analisadas pelo software *Image J*[®] (National Institute of Mental Health, USA). Primeiramente, as fotomicrografias tiveram o background subtraído e foram transformadas para 8 bit e convertidas para o formato binário para posterior mensuração pela escala de cinza. Cada foto forneceu um valor médio em *pixel* em uma escala de brilho que varia de 0 a 255.

3.15. ANÁLISE DA AUTOFLUORESCÊNCIA DE COLÁGENO

Para verificar o padrão de organização das fibras colágenas, que são naturalmente fluorescentes, foi utilizada a técnica de autofluorescência de colágeno, conforme descrito anteriormente por Hoell et al. Cortes longitudinais (5 mm) foram incubados por 30 s com solução de eosina. Regiões proximais, mediais e as distais do tecido do tendão foram avaliadas por microscopia de fluorescência com filtro padrão para fluoresceína isotiocianato (FITC). A organização e o alinhamento das fibras colágenas foram avaliados qualitativamente por fotomicrografias obtidas através de um sistema de câmera digital (Nikon, DXM 1200, Japan) acoplado ao microscópio de fluorescência (Nikon, Eclipse Ni, Yokohama, Japan).

4. ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para a análise estatística dos dados o teste de normalidade Kolmogorov - Smirnov foi primeiramente utilizado. Posteriormente, foi realizado o teste de Kruskal- Wallis ou a Análise de Variância de um fator (one way ANOVA) com pós-teste de Tukey para comparações múltiplas, bem como a análise descritiva dos dados. O programa Prism 8 (GraphPad, La Jolla, EUA) foi utilizado. Os valores de p inferiores a 0,05 foram considerados estatisticamente significativos. Os dados foram expressos como média \pm desvio padrão ou mediana e intervalo interquartil.

5. RESULTADOS

5.1. ASPECTOS MACROSCÓPICOS DO TENDÃO CALCÂNEO APÓS LESÃO TENDÍNEA

No 14^o dia após cirurgia, a morfologia macroscópica dos tendões lesionados foi observada (Figura 13-A). Os tendões saudáveis do grupo CTRL exibiu uma superfície branca e lisa, sem qualquer adesão ao tecido circundante. O oposto foi observado nos demais grupos que foram submetidos a ruptura total do tendão calcâneo, os quais apresentaram múltiplas aderências com o paratendão, fáscia e tecido subcutâneo e aumento da espessura. Todos os grupos lesionados (LESÃO: $12,8 \pm 1,3$; LESÃO+GA: $10,2 \pm 0,8$; LESÃO+LAS: $9,6 \pm 1,1$; LESÃO+LAS+GA: $10,2 \pm 0,8$ vs CTRL, $p < 0,0001$) tiveram aumento significativo da pontuação macroscópica em comparação ao CTRL ($0,4 \pm 0,5$). Os grupos tratados tiveram uma redução significativa da pontuação (LESÃO+GA: $10,2 \pm 0,8$; LESÃO+LAS: $9,6 \pm 1,1$; LESÃO+LAS+GA: $10,2 \pm 0,8$,

$p < 0,004$) em relação ao grupo LESÃO (LESÃO: $12,8 \pm 1,3$), demonstrando melhora na morfologia macroscópica do tendão calcâneo nos grupos tratados tanto com laserterapia e gel de açaí isoladamente quanto com o tratamento combinado (Figura 13-B).

5.2. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA RECUPERAÇÃO FUNCIONAL APÓS LESÃO TENDÍNEA

Avaliamos se após a lesão tendínea, os tratamentos influenciavam na recuperação funcional dos animais (Figura 14). Para análise funcional da pata posterior dos animais, foi utilizado o teste do índice funcional de Aquiles. Os valores do teste sugerem que quanto mais negativo, maior o comprometimento funcional. Os resultados do IFA mostraram que todos os grupos que sofreram a lesão apresentaram queda nos valores do IFA (LESÃO: -97.9 ± 21 ; LESÃO+GA: -92.5 ± 17.8 ; LESÃO+LAS: -81.8 ± 16 ; LESÃO+GA+LAS: -84.5 ± 29.5 , $p < 0,0001$) em relação ao CTRL (1.29 ± 8.7), tornando-o mais negativo no 3º DPL independente do tratamento. Não foi observado diferença entre os grupos lesionados neste dia de análise. No 7º DPL, apenas os grupos LESÃO, LESÃO+GA e LESÃO+LAS+GA permaneceram com valores inferiores ao do CTRL ($p = 0,013$). Não foi observado diferença estatística entre os grupos LESÃO+LAS e CTRL evidenciando que o grupo tratado com laser de forma isolada apresentou melhora precoce na resposta funcional no 7º DLP.

Já no 14º DPL, verificamos que apenas o grupo LESÃO+LAS+GA retornou aos valores próximos ao CTRL, não apresentando diferença estatisticamente significativa. O LESÃO manteve valores mais negativos em comparação ao LESÃO+LAS+GA e CTRL (-62.6 ± 2.3 vs -32.2 ± 4.8 ; -1.44 ± 4.5 , $p = 0,0003$) refletindo em manutenção da piora do desempenho funcional, enquanto os animais tratados com a combinação do laser e gel de açaí não diferiram do CTRL.

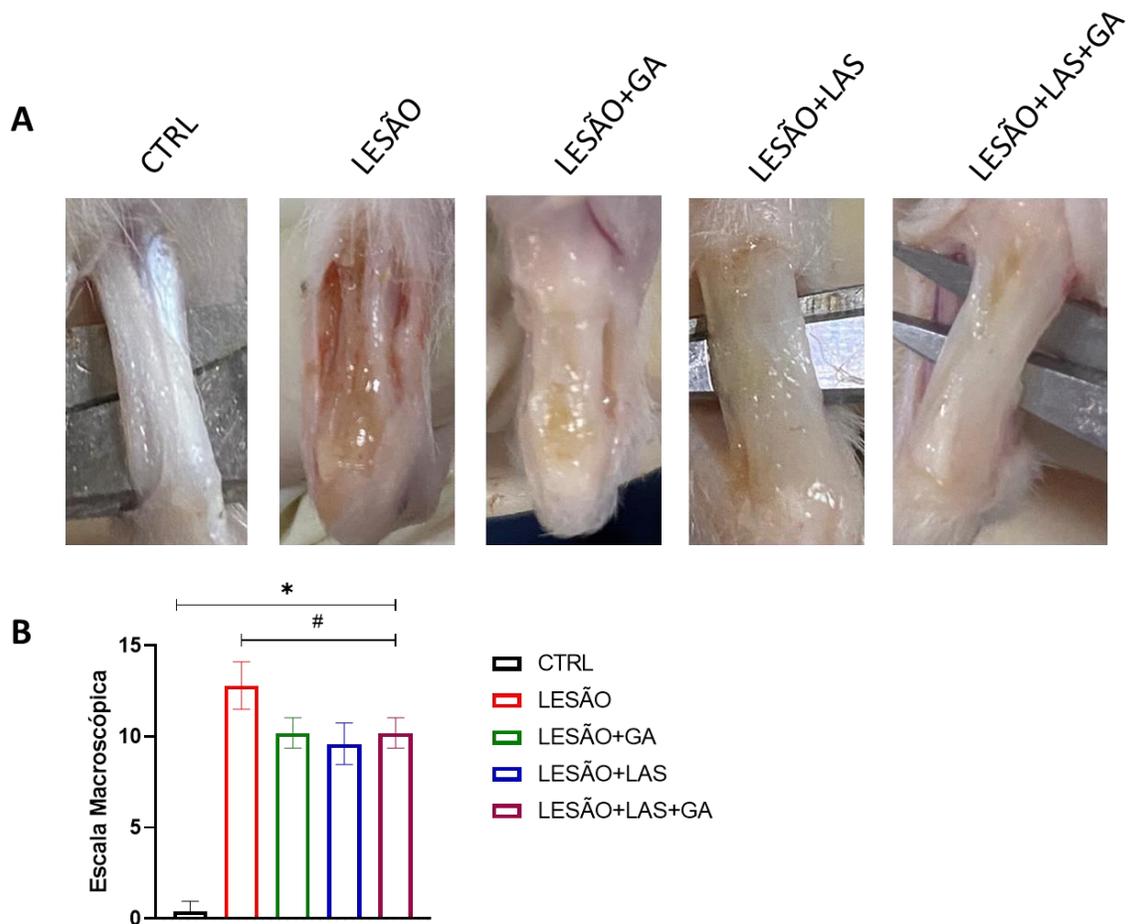


Figura 13 - Efeito do tratamento com laserterapia e gel de açaí na morfologia macroscópica e pontuação macroscópica dos tendões calcâneos após lesão. (A) a morfologia macroscópica dos tendões foi observada no dia 14 pós lesão. (B) Avaliação macroscópica da cicatrização do tendão usando o sistema de pontuação. Os dados são expressos como média \pm DP. * (todos os grupos vs CTRL, $p < 0,001$); # (LESÃO+GA, LESÃO+LAS, LESÃO+LAS+GA vs LESÃO, $p < 0,004$).

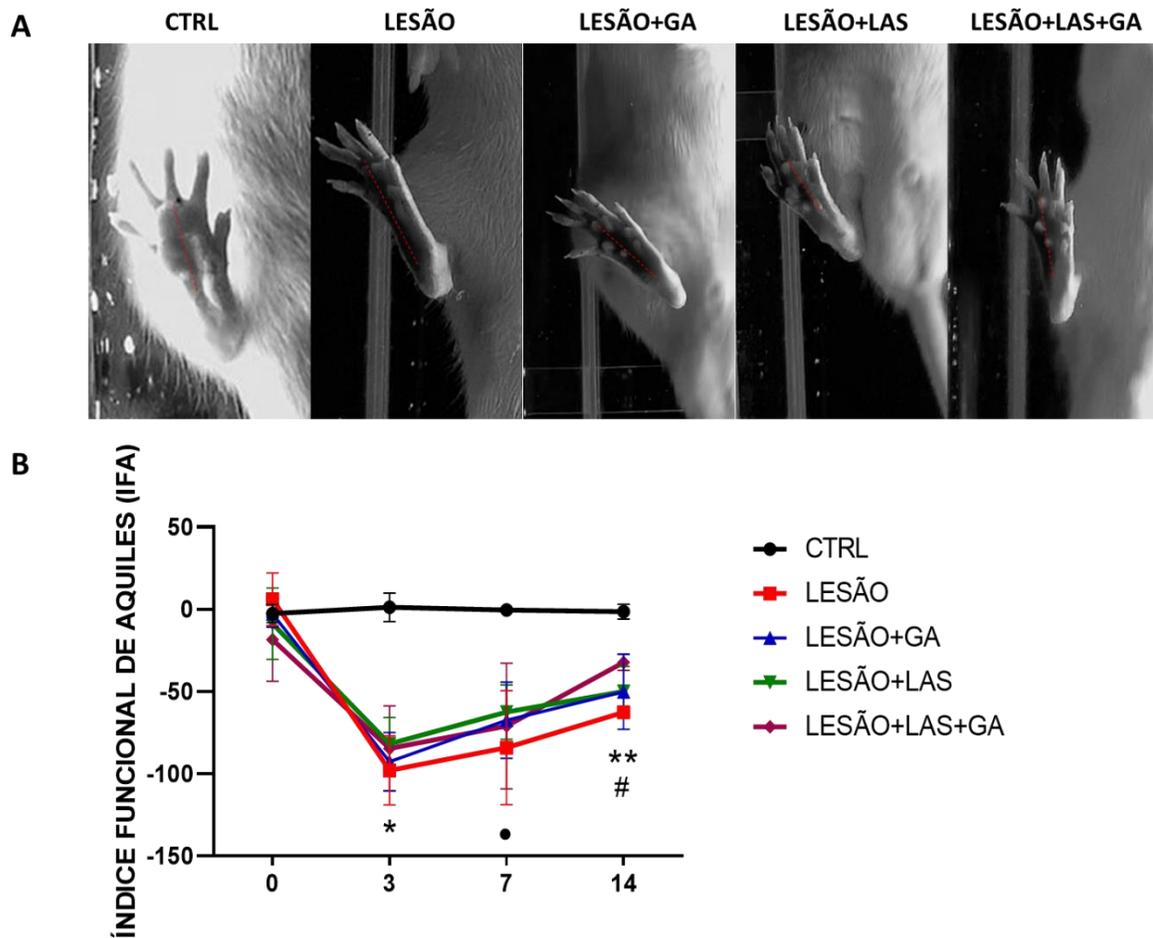


Figura 14 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí na recuperação funcional de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito através do índice funcional de Aquiles. Os animais foram analisados antes da lesão e posterior a lesão até o 14^o dia. $N \geq 5$. (A) Imagens representativas do comprimento da pegada dos animais no 14^o DPL. (B) Índice funcional de Aquiles. Média \pm DP. Anova-Tukey, * $p < 0,001$ todos os grupos vs CTRL. • $p = 0,013$ LESÃO, LESÃO+GA e LESÃO+LAS+GA vs CTRL. ** $p > 0,002$ LESÃO, LESÃO+GA, LESÃO+LAS vs CTRL. # $p = 0,036$ LESÃO vs LESÃO+LAS+GA.

3.1. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA CINEMÁTICA DA MARCHA APÓS LESÃO TENDÍNEA

Para verificar as variações no ângulo articular em resposta ao tratamento utilizado, os animais foram analisados em dois pontos importantes da marcha. Na fase de apoio médio, a pata posterior do animal está em contato com o solo e tem o peso do corpo transferido para esta, enquanto o lado contralateral inicia a fase de balanço. A fase de pré-balanço é caracterizada pela flexão da pata analisada ao nível da junção metatarso-falangeana a fim de se preparar para sair do contato com o solo e iniciar a fase de balanço.

Os resultados referentes a fase de apoio médio indicam que antes da lesão, não houve variação do ângulo articular entre os grupos. No 3º DPL, apenas o LESÃO, LESÃO+GA e LESÃO+GA+LAS ($p = 0,011$) apresentaram redução do ângulo articular em relação ao CTRL. Não foi observado nessa fase da marcha alterações no ângulo articular nos dias 7º e 14º DPL (Figura 15).

Na fase de pré-balanço não houve diferença no ângulo articular entre os grupos no dia 0 (antes da lesão), contudo, no 3º DLP todos os grupos ($p = 0,001$) apresentaram uma redução nos valores angulares quando comparados ao CTRL. Já no 7º DPL, todos os grupos ($p < 0,0001$) mantiveram a redução dos valores do ângulo em relação ao CTRL, entretanto, nesse ponto de tempo é possível observar que o grupo LESÃO+LAS ($p < 0,0001$) apresentou aumento na angulação em comparação aos grupos LESÃO, LESÃO+GA e LESÃO+LAS+GA, mas ainda não alcançando os valores do CTRL.

No 14º DPL, é importante destacar que não houve diferença entre o grupo LESÃO+LAS e CTRL. Diferente do que ocorre com os demais grupos, cuja diferença é mantida em relação ao CTRL. Além disso, ocorreu aumento do ângulo articular do grupo LESÃO+LAS ($p = 0,03$) em comparação ao grupo LESÃO, evidenciando melhora nos aspectos da marcha no grupo tratado com laserterapia (Figura 16).

3.2. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA SENSIBILIDADE NOCICEPTIVA APÓS LESÃO TENDÍNEA

Para avaliar o comportamento semelhante a dor, foi utilizado o teste de Von Frey manual. Não houve diferença entre os grupos do dia 0 (antes da lesão), todos os grupos permaneceram com limiares normais entre 4 e 10 g. No 3º DPL, ocorreu redução do limiar de retirada da pata de todos os grupos lesionados (LESÃO: 1.5 ± 0.8 ; LESÃO+GA: 1.8 ± 3.1 ; LESÃO+LAS: 2.8 ± 3.1 ; LESÃO+LAS+GA: 2 ± 0 , $p=0.0006$) se comparado ao CTRL (6.2 ± 3.1). Já no 7º dia, apenas os grupos LESÃO, LESÃO+LAS e LESÃO+GA ($p = 0,002$) permaneceram com aumento da sensibilidade em relação ao CTRL, não sendo observado diferença entre o LESÃO+LAS+GA e CTRL, dessa forma, o tratamento combinado teve retorno da sensibilidade mecânica mais precoce que os demais grupos.

No 14º dia, apenas LESÃO ($p = 0,009$) permaneceu com limiar de retirada da pata reduzido em comparação ao LESÃO+LAS e CTRL. Os grupos tratamentos alcançaram limiares semelhantes ao CTRL, não foi observado diferença estatística entre os grupos (Figura 17).

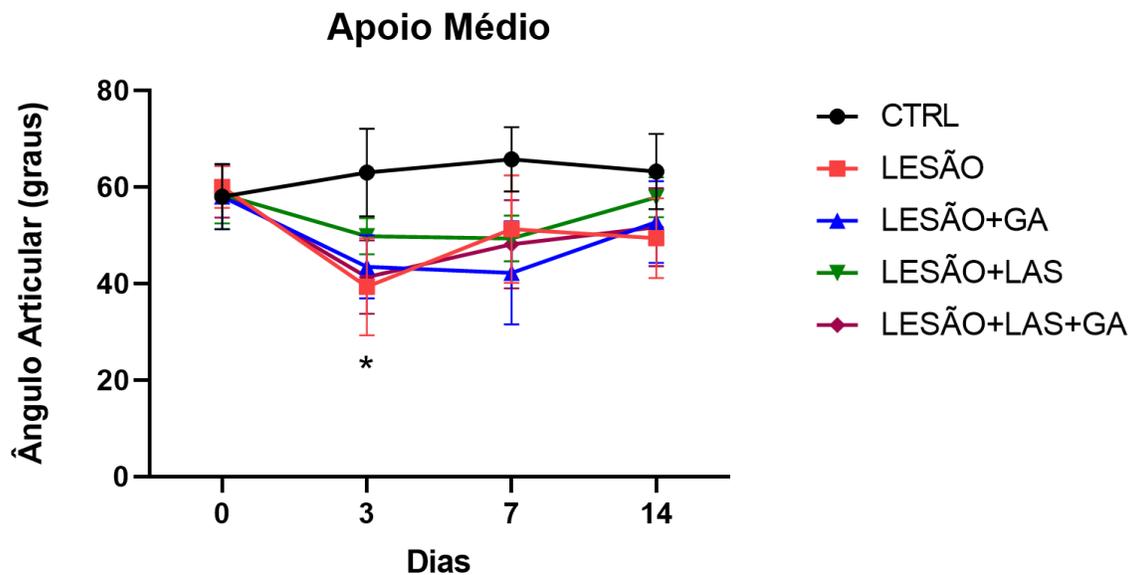


Figura 15- Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí na cinemática da marcha na fase de apoio médio de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito através do índice funcional de Aquiles. Os animais foram analisados antes da lesão e posterior a lesão até o 14º dia. N ≥ 8. * p = 0,01 LESÃO, LESÃO+GA e LESÃO+LAS+GA vs CTRL.

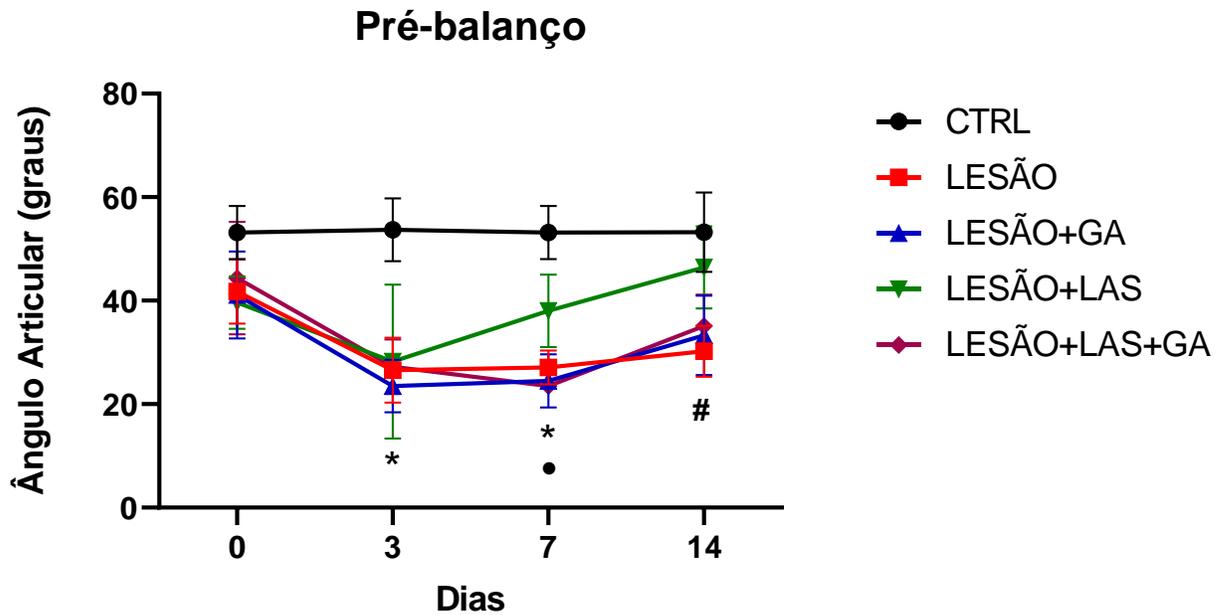


Figura 16 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí na cinemática da marcha na fase de apoio médio de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito através do índice funcional de Aquiles. Os animais foram analisados antes da lesão e posterior a lesão até o 14º dia. $N \geq 8$. * $p = 0,001$ todos os grupos vs CTRL. • $p < 0,001$ todos os grupos vs LESÃO+LAS. # $P = 0,0007$ LESÃO vs LESÃO+LAS.

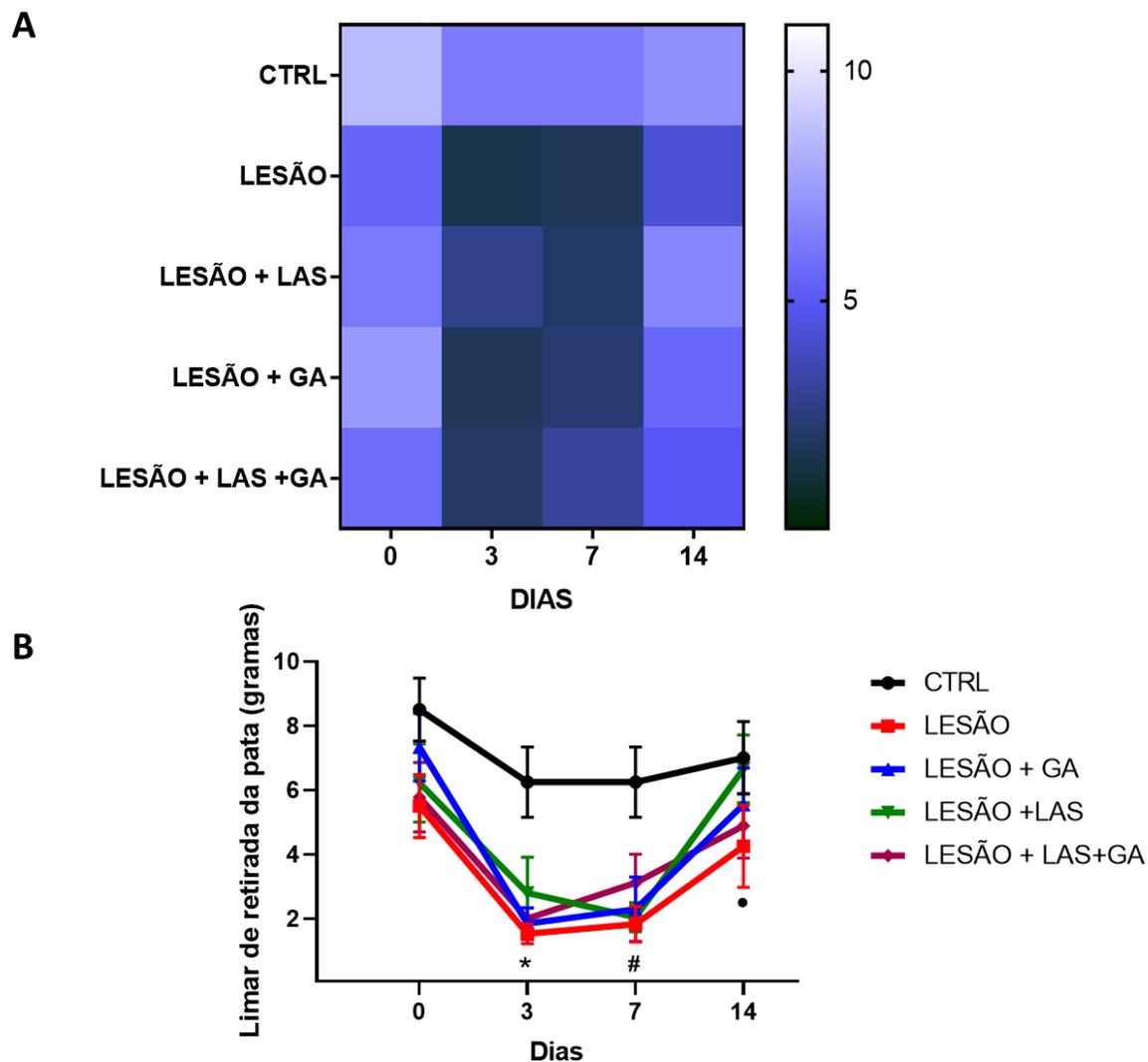


Figura 17 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí na sensibilidade nociceptiva de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito através do teste de Von Frey. (A) *Heat-map* representativo das alterações na sensibilidade mecânica, azul mais escuro significa redução do limiar de retirada. (B) gráfico dos valores do limiar de retirada da pata. Os animais foram analisados antes da lesão e posterior a lesão até o 14º dia. $N \geq 5$. Média \pm DP. Anova Tukey, * $p < 0,0006$ todos os grupos vs CTRL. # $p = 0,002$ LESÃO, LESÃO+GA e LESÃO+LAS vs CTRL. • $p = 0,009$ LESÃO vs. LESÃO+LAS e CTRL.

3.3. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA ORGANIZAÇÃO TECIDUAL APÓS LESÃO TENDÍNEA

Com intuito de avaliar se o tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí influenciava no padrão de organização tecidual após 14 dias de lesão, avaliamos cortes histológicos por microscopia de luz corados com hematoxilina-eosina.

Os resultados demonstrados na figura 18 apontam o tecido tendíneo do grupo CTRL com características histológicas normais, pouco número de células, morfologia alongada e orientação em fileira; ausência de vasos sanguíneos ou terminais nervosos e matriz extracelular em abundância, tendo o colágeno tipo I como principal constituinte.

Nos grupos LESÃO, LESÃO+GA, LESÃO+LAS e LESÃO+LAS+GA a desorganização celular e tecidual é evidente em relação ao grupo CTRL. Contudo, destacamos a melhor organização tecidual nos grupos LESÃO+GA, LESÃO+LAS e LESÃO+LAS+GA e pior padrão de organização no grupo LESÃO.

O grupo LESÃO apresenta desorganização da matriz com fibras colágenas desalinhas, presença de células com morfologia nuclear arredondada, presença de vasos sanguíneos e perda da orientação tecidual. Nos três grupos de tratamentos é possível observar a predominância de células mais alongadas e finas se comparado ao grupo LESÃO, além da melhora na orientação celular com tendência a disposição das células em fileiras, caracterizando um padrão mais próximo de um tendão saudável (CTRL).

Na pontuação histopatológica total, ocorreu aumento significativo do escore do grupo LESÃO+LAS ($p=0,004$) e LESÃO ($p=0,018$) em comparação ao CTRL, evidenciando piora nos aspectos histopatológicos gerais. Não foi observado diferença estatística entre os grupos LESÃO+GA e LESÃO+LAS+GA e o grupo CTRL.

Em relação ao número de fibroblasto, todos os grupos tratados aumentaram o número de fibroblasto em relação ao CTRL, entretanto, o grupo LESÃO+LAS teve aumento ainda maior se comparado ao LESÃO+LAS+GA.

3.4. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NO NÚMERO DE CÉLULAS E MORFOLOGIA NUCLEAR APÓS LESÃO TENDÍNEA

Observamos através da marcação com DAPI (Figura 20) que houve aumento no número de células no tecido de todos os animais lesionados (LESÃO: 1266.8 ± 269.9 ; LESÃO+GA: 1525.8 ± 370.1 ; LESÃO+LAS 2133.6 ± 488 ; LESÃO+LAS+GA 1414.9 ± 364 , $p < 0.007$) em relação ao grupo CTRL (355.3 ± 65.4). Além disso, destaca-se aumento significativo na quantidade celular no grupo LESÃO+LAS ($p < 0,001$) quando comparado ao LESÃO, LESÃO+GA, LESÃO+LAS+GA. Notamos também que a organização e morfologia mais alongada, análoga ao CTRL, foi encontrada com maior evidência no grupo LESÃO+LAS+GA (tratamento combinado), enquanto mais desalinhamento e morfologia celular arredondada foi verificada no grupo LESÃO.

3.5. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NA VARIAÇÃO DE GLICOSAMINOGLICANOS NA MATRIZ EXTRACELULAR APÓS LESÃO TENDÍNEA

Nossos resultados mostraram que após lesão do tendão calcâneo houve aumento na intensidade de coloração de glicosaminoglicanos em todos os grupos ($p = 0,005$) se comparado ao CTRL (Figura 21). Não foi observado diferença entre o grupo LESÃO e os grupos tratados.

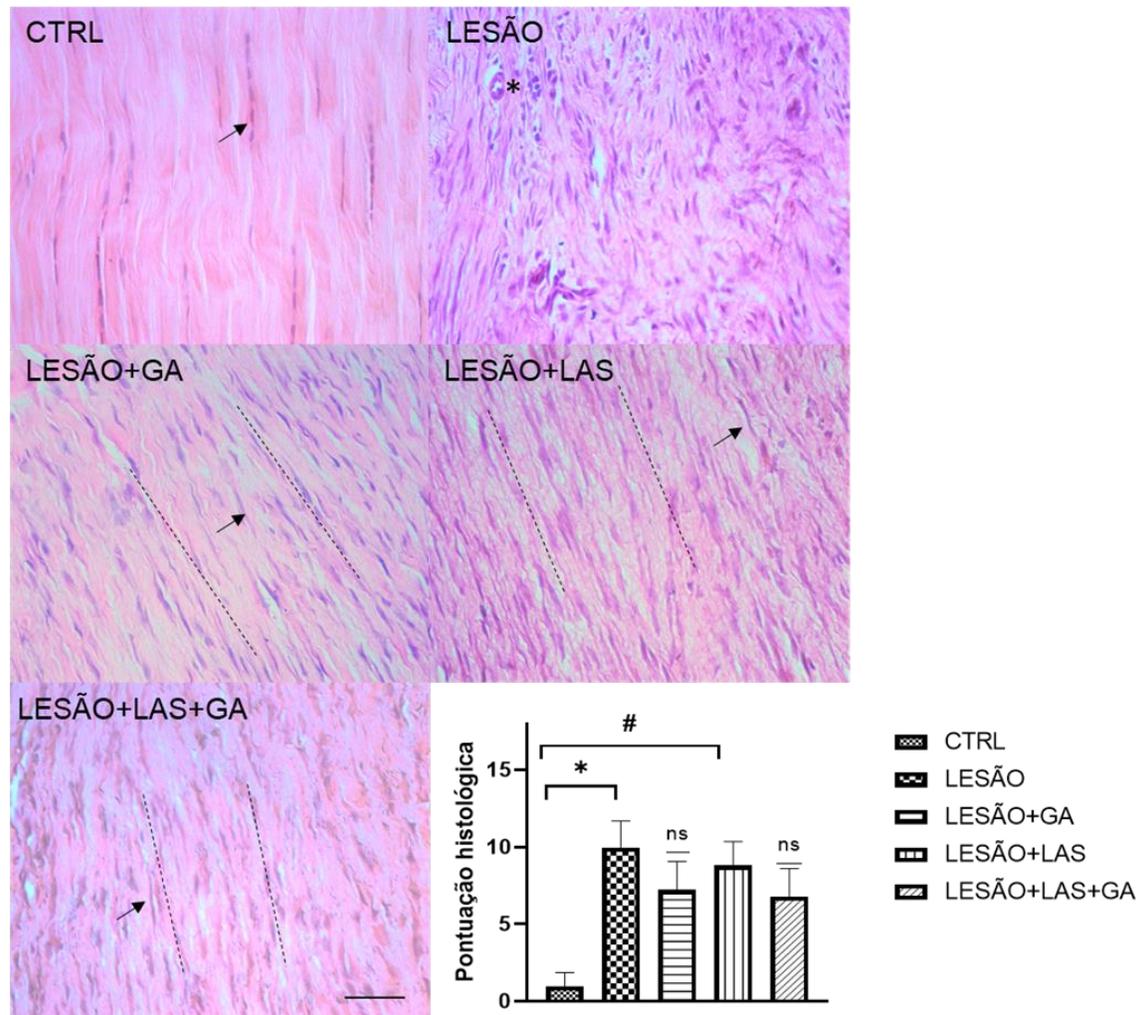


Figura 18 - Efeito do tratamento com laserterapia e gel de açaí no padrão de organização tecidual no tendão calcâneo de ratos tenotomizados. As secções histológicas com cortes longitudinais do tendão calcâneo de ratos foram coradas com HE e analisadas em microscopia de campo claro. Asterisco (*) indica presença de vasos sanguíneos. Seta preta indica a morfologia nuclear em formato mais alongado e o padrão de orientação tecidual e alinhamento celular delimitado por áreas pontilhadas em branco. Objetiva:20x. Barra de escala:100 μ m. Os animais foram analisados antes da lesão e posterior a lesão até o 14^o dia. N \geq 5. Média \pm DP. Anova-Tukey, * p = 0,018 LESÃO vs CTRL. # p=0,04 LESÃO+LAS vs CTRL. Aumento: 40x. Barra: 100 μ m.

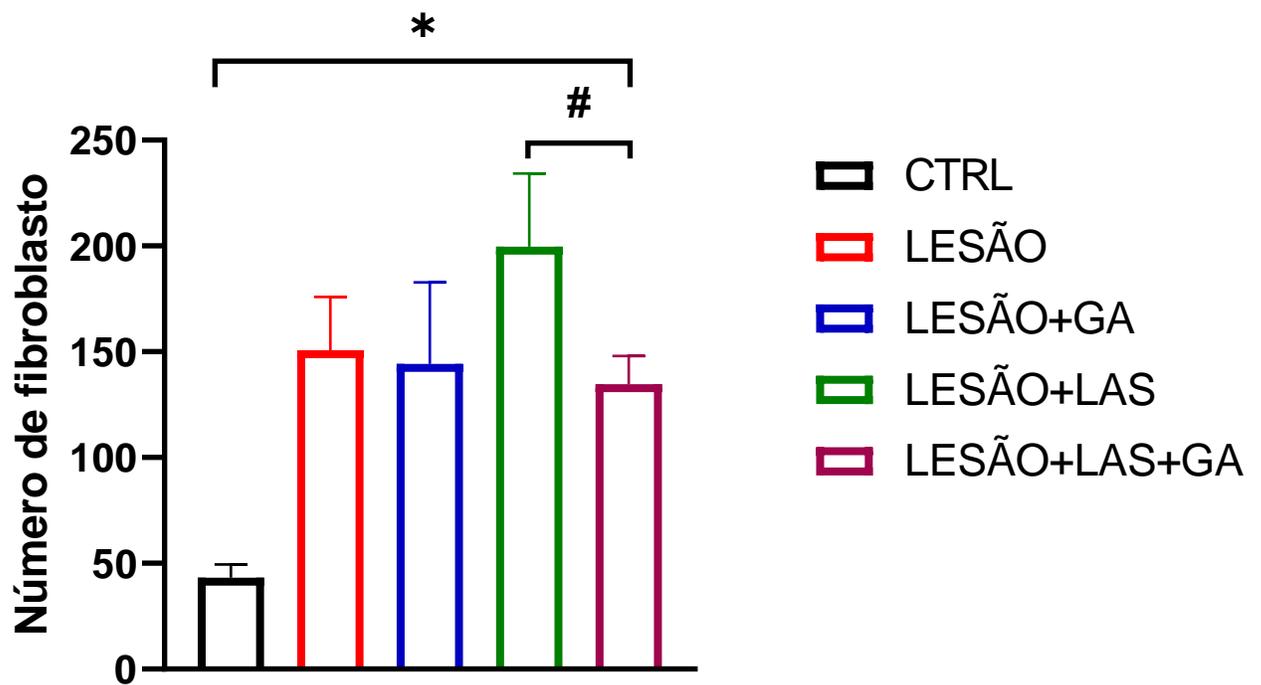


Figura 19 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí no número de fibroblasto e vasos em ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito. $N \geq 6$. Média \pm DP. Anova-Tukey. A, * $p < 0,0001$ todos os grupos vs CTRL. # $p=0,04$ LESÃO+LAS vs LESÃO+LAS+GA.

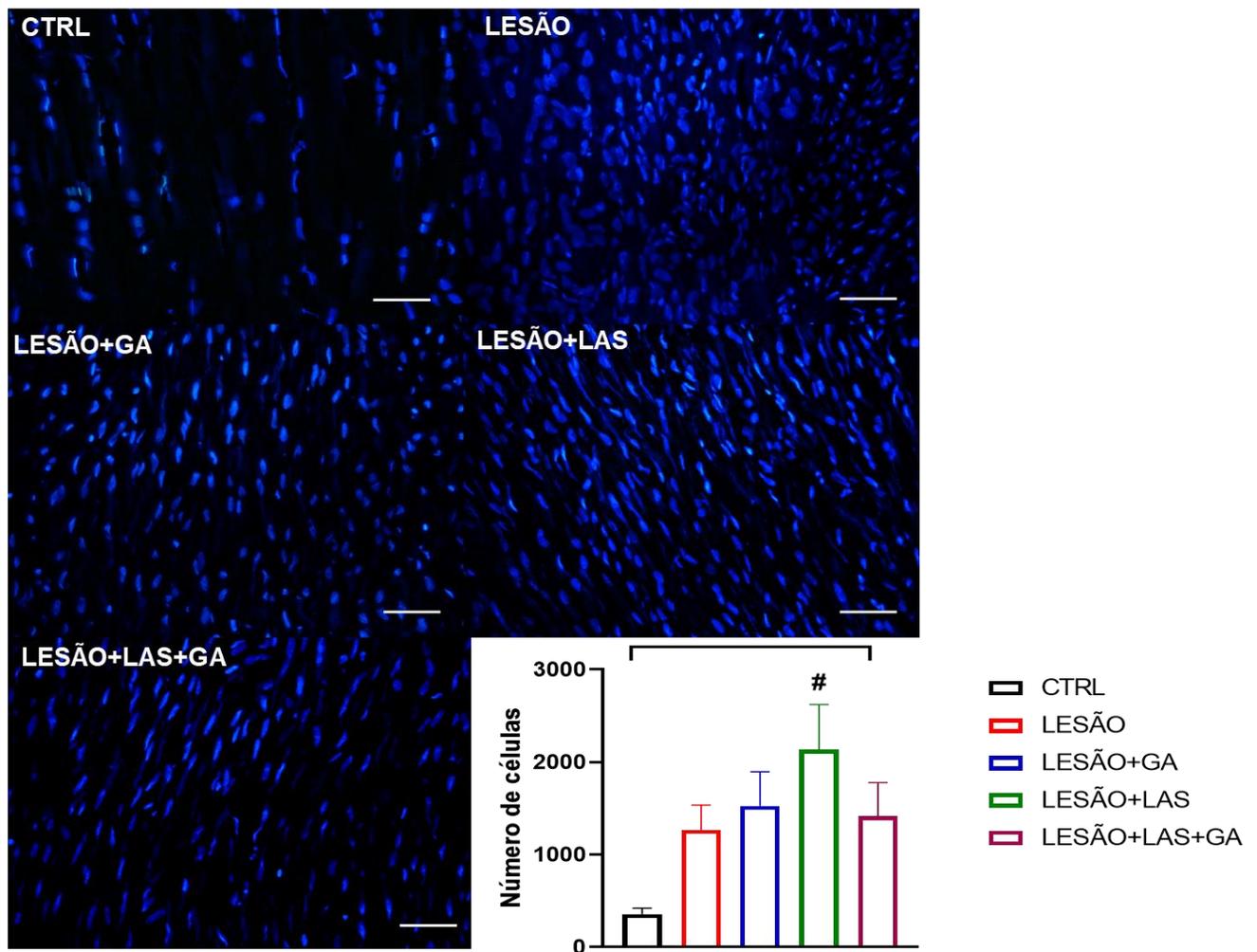


Figura 20 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí no padrão do número de células de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito. As secções histológicas foram marcadas com DAPI e analisadas por microscopia de fluorescência no 14^o DPL. $N \geq 5$. Média \pm DP. Anova-Tukey, * $p < 0,0001$ todos os grupos vs CTRL. # $p = 0,001$ LESÃO+LAS vs todos os grupos. Aumento: 40x. Barra: 100 μ m.

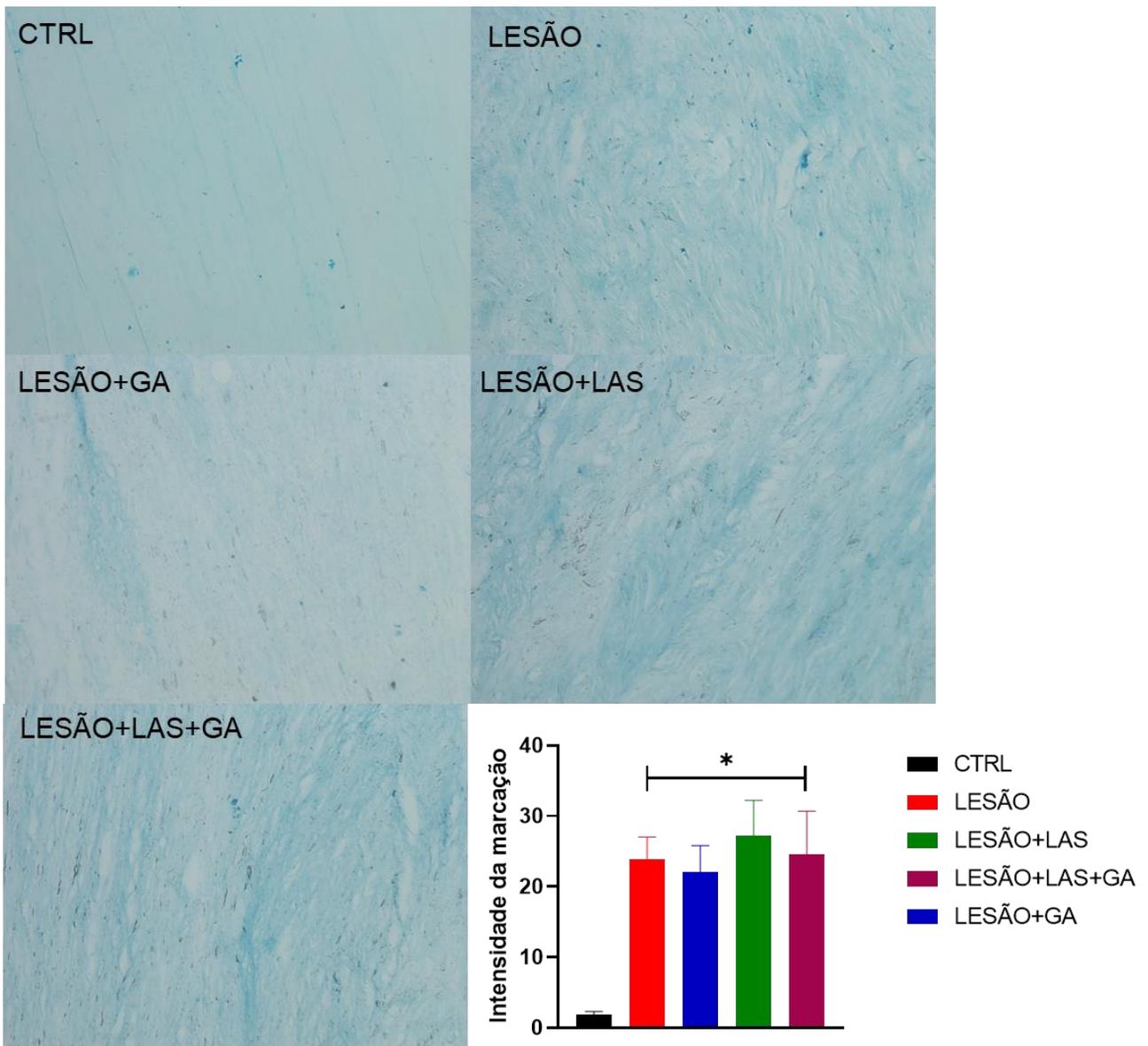


Figura 21 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açai na presença de substância fundamental em tecidos de ratos submetidos à ruptura total do tendão de Aquiles direito. As lâminas foram coradas com Alcian Blue (A) e posteriormente quantificadas através da intensidade de coloração (B). $N \geq 5$. Média \pm DP. Anova-Tukey, * $p = 0,04$ LESÃO, LESÃO+LAS, LESÃO+LAS+GA vs CTRL. ns= sem diferença estatística entre CTRL e LESÃO+GA. A, aumento: 20x.

3.6. EFEITO DO TRATAMENTO COM LASERTERAPIA E GEL DE AÇAÍ NO PADRÃO DE ORIENTAÇÃO DAS FIBRAS COLÁGENAS APÓS LESÃO TENDÍNEA

A presença de colágeno alinhado é essencial para a função do tendão. Assim, para observar padrão de orientação das fibras colágenas no tecido, utilizamos da fluorescência natural do colágeno quando exposto a radiação ultravioleta. O grupo CTRL apresenta uma matriz colágena bem abundante, organizada e com orientação das fibras em paralelo. Após 14 dias de lesão no tendão, todos os grupos apresentaram uma maior densidade das fibras colágenas e desorganização da matriz colágena com orientação aleatória das fibras em relação ao grupo CTRL. Embora os tecidos estejam bem distintos do CTRL, é possível observar melhor alinhamento das fibras colágenas com tendência a orientação em feixes paralelo nos grupos LESÃO+GA, LESÃO+LAS e LESÃO+LAS+GA em comparação ao LESÃO (Figura 22). Ademais, foi observado a morfologia das fibrilas de colágenos em formato de “crimp” em todos os grupos tratamento, contudo, em maior quantidade no grupo tratado com laser isoladamente. Isso sugere uma possível adaptação funcional da MEC com objetivo de aumentar a rigidez do tendão e a eficiência da transmissão da força.

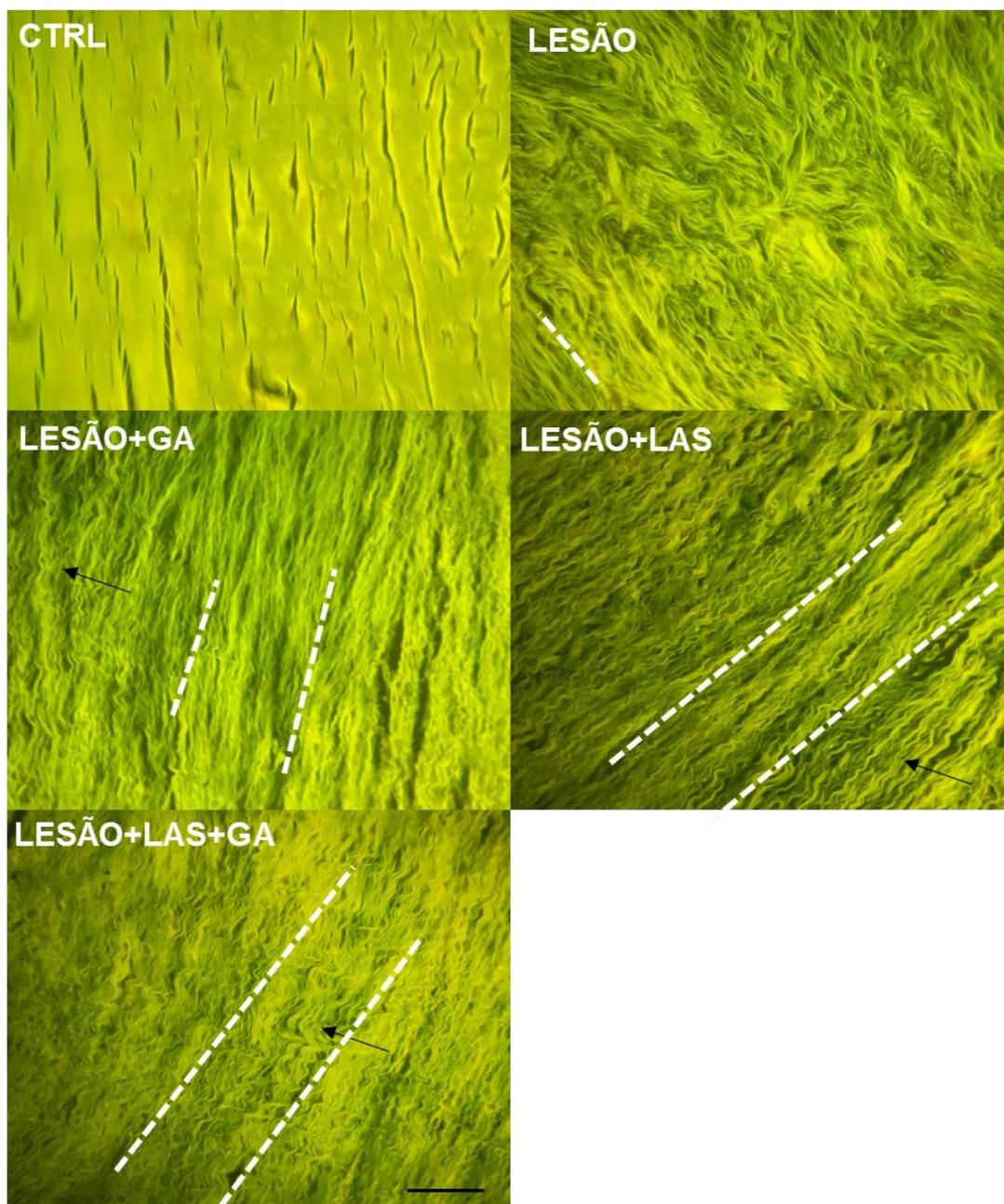


Figura 22 - Efeito do tratamento combinado com laserterapia e gel de açai no padrão de orientação das fibras colágenas no tendão calcâneo de ratos tenotomizados. As seções histológicas foram marcadas com HE e analisadas com microscopia de fluorescência. As linhas tracejadas indicam a tendência ao realinhamento das fibras colágenas. Aumento: 40x. Barra: 100 μ m.

4. DISCUSSÃO

As lesões tendíneas representam cerca de 30% a 50% das lesões relacionadas ao esporte, entre as quais a tendinopatia do calcâneo representa 55-65% das lesões totais do tendão tornando umas das condições musculoesqueléticas mais frequentes. Devido ser uma condição debilitante caracterizada por dor progressiva e limitação funcional que afeta a qualidade de vida dos indivíduos, terapias alternativas vêm sendo desenvolvidas para o manejo do reparo tendíneo. Nessa pesquisa, buscamos investigar os efeitos do tratamento combinado com laserterapia e gel de açaí nos aspectos morfofuncionais e nociceptivos após lesão tendínea em ratos.

O presente estudo é o primeiro a investigar a funcionalidade do animal após tratamento com laserterapia. Nossos resultados demonstraram que a recuperação funcional no IFA é reestabelecida em 7 dias pós-lesão no grupo tratado com laser isoladamente. Essa recuperação precoce da função pode estar relacionada a um aumento significativo no número de fibroblastos favorecendo a síntese de colágeno e melhora no reparo tecidual, além da modulação do processo inflamatório com a redução de citocinas pró-inflamatórias (CASALECHI; DE FARIAS MARQUES; DA SILVA; AIMBIRE *et al.*, 2014).

Já foi demonstrado que o LBT é capaz de reduzir significativamente os níveis de expressão de IL-6 e TNF- α , citocinas inflamatórias presentes na fase aguda da lesão, promovendo uma possível ação anti-inflamatória e acelerando o processo de reparo (GUERRA FDA; VIEIRA; DOS SANTOS DE ALMEIDA; OLIVEIRA *et al.*, 2014; HELRIGLE; DE CARVALHO; CASALECHI; LEAL-JUNIOR *et al.*, 2016). Demonstramos no trabalho que em 7 dias o grupo tratado com laser isolado apresentou melhora no padrão da marcha na fase de pré-balanço, corroborando com os achados sobre o efeito anti-inflamatório do LBT na fase aguda do reparo tendíneo (SOUZA; CREPALDI; SILVA; SILVA *et al.*, 2017).

Diante disso, a possível ação anti-inflamatória do laser na fase aguda, pode estar repercutindo na redução da percepção dolorosa do animal e assim

contribuindo para a melhora funcional observada tanto no IFA quanto no AA nas duas fases analisadas da marcha.

Ao investigar se a melhora funcional tem relação com a nocicepção, verificamos que no 7º dia o grupo tratamento combinado (laser + gel de açaí) teve retorno da sensibilidade mecânica mais precocemente que os demais grupos. O efeito sinérgico dos dois tratamentos parece estar relacionado com a melhora nociceptiva.

Semelhante a laserterapia, o açaí reduz a inflamação mediada por redução da expressão IL-8 e NF-κB (ZHOU; ZHANG; WANG; QU *et al.*, 2018). Além disso, o açaí possui propriedades antinociceptivas. Sudo e colaboradores usaram diferentes metodologias para investigar a atividade antinociceptiva do extrato de EO de forma aguda e crônica por gavagem em camundongos e observaram que o tratamento com EO (30, 100 ou 300 mg/kg/dia) mostrou atividade antinociceptiva dependente da dose (SUDO; NETO; MONTEIRO; AMARAL *et al.*, 2015).

Outro estudo investigou o efeito antinociceptivo de extratos de flores e caules de EO, observando em ratos uma redução de até 50% no número total de contorções abdominais induzidas por ácido acético (MARINHO; HERDY; SÁ; S. *et al.*, 2012). Dessa forma, é possível que o efeito antinociceptivo observado em nosso trabalho no grupo combinado pode estar potencializado pelo LBT e gel de açaí.

Ao analisar a fase proliferativa no 14º DPL, observamos um melhor desempenho funcional na locomoção dos animais no tratamento combinado, pois os valores do índice funcional de Aquiles retornaram aos valores próximos de animais controles. A análise da marcha evidenciou, nesse ponto de tempo, melhora em seu padrão apenas no tratamento com laser isolado. Esses resultados demonstram a ação benéfica do LBT, decorrentes do seu efeito anti-inflamatório e proliferativo já descritos anteriormente (NAKAJIMA; NAKAHATA; YAMADA; YOSHIZAWA *et al.*, 2021), e o possível efeito sinérgico das duas terapias influenciando positivamente o desempenho funcional na fase proliferativa de reparo.

Quanto a análise histológica, em nosso modelo experimental, notamos que os grupos que receberam tratamento apresentaram um padrão histológico notavelmente melhor, conforme os parâmetros de melhora já relatados na literatura

(MILLAR; SILBERNAGEL; THORBORG; KIRWAN *et al.*, 2021). Diferente dos achados para o grupo LESÃO que as características histopatológicas permaneceram com maior desorganização celular. Esse dado se confirma com a pontuação histopatológica, o qual foi observado em 14 DPL o reestabelecimento das características histológicas do LESÃO+GA e LESÃO+LAS+GA para os níveis do CTRL. Embora, o grupo LESÃO+LAS tenha permanecido com a pontuação elevada, isso pode ser explicado pelo fato de que dentro das seis variáveis presentes nessa escala, está a densidade celular que em 14 dias permanece aumentada devido a fase de reparo proliferativa, e somado a isso, o próprio LBT induz a proliferação e migração de mais células para o local de lesão como bem descrito pela literatura (FERRARESI; HUANG; DE FREITAS; CARROLL *et al.*, 2018).

Nossos achados relacionados ao aumento número de células no grupo LESÃO+LAS corroboram com a literatura, confirmando mais uma vez o papel proliferativo no LBT potencializado na fase proliferativa de reparo.

Ao quantificar o número de fibroblasto, verificamos o aumento no número dessas células no tratamento com laser isolado em comparação ao tratamento combinado (laser + açai) evidenciando o papel proliferativo da laserterapia.

O laser de baixa potência favorece a indução da atividade mitótica dos fibroblastos, que estimulam a produção do fator de crescimento fibroblástico básico, importante para a proliferação e diferenciação celular. Essas células são fundamentais para deposição e remodelação da matriz extracelular assim como para a síntese do colágeno (SOUZA; CREPALDI; SILVA; SILVA *et al.*, 2017). Salate e colaboradores, observaram alinhamento fibroblastos de melhor qualidade no grupo de ratos tratado com laser (660 nm), cuja terapia foi iniciada seis horas após a indução de lesão no tendão calcâneo. (SALATE; BARBOSA G FAU - GASPAR; GASPAR P FAU - KOEKE; KOEKE PU FAU - PARIZOTTO *et al.*, 2005).

Aliado a isso, nossos resultados demonstraram melhor alinhamento das fibras colágenas com tendência a orientação em feixes paralelos nos grupos LESÃO+GA, LESÃO+LAS, LESÃO+LAS+GA em comparação ao grupo sem tratamento. Estudos

relatam que a carga mecânica imposta precocemente ao tecido acelera o alinhamento das fibras colágenas e a polimerização das fibrilas dentro das fibras de colágeno (ENWEMEKA; SPIELHOLZ NI FAU - NELSON; NELSON, 1988). Corroborando com nossos resultados funcionais, em que a recuperação foi observada em 7 DPL depositando maior carga mecânica ao tecido e assim favorecendo o alinhamento das fibras de colágeno.

Ademais, considera-se o alinhamento de fibras colágenas como efeito positivo ocasionado pela laserterapia uma vez que está associado com proliferação de fibroblastos, células responsáveis pela síntese de colágeno. Sendo assim, maiores quantidade de colágeno associado ao estímulo mecânico, pode repercutir positivamente no alinhamento das fibras colágenas (GUERRA FDA; VIEIRA; DOS SANTOS DE ALMEIDA; OLIVEIRA *et al.*, 2014; PIRES; XAVIER; ARAUJO; SILVA *et al.*, 2011). Importante destacar que em nosso trabalho observamos fibrilas de colágeno com tendência ao alinhamento longitudinal em todos os grupos tratados, dispostas em feixes com um padrão ondulado, chamado *crimp*. A estrutura crimpada é estabelecida durante o desenvolvimento embrionário e desempenha um papel vital no comportamento mecânico do tendão, atuando como um amortecedor durante a sobrecarga mecânica (HERCHENHAN; KALSON; HOLMES; HILL *et al.*, 2012).

Já os benefícios do gel de açaí podem ser justificados pela própria composição química da planta. Seu extrato contém flavonoides e polifenóis, responsáveis pela atividade anti-inflamatória, antiapoptóticas e antioxidante (MUELLER; BROCKMUELLER; KUNNUMAKKARA; SHAKIBAEI, 2022).

Em um estudo de Fu *et al.*, a quercetina foi investigada para a cicatrização do tendão patelar em ratos, observou-se que a administração das flavonas não só melhorou o estresse dos tendões em cicatrização, especialmente nos estágios iniciais, mas também o alinhamento das fibras, a deposição de colágeno, a cicatrização e a recuperação do tendão patelar, sugerindo que eles poderiam ser eficazes para a melhoria da recuperação de lesões no tendão (FU; HUI CW FAU - LI; LI LC FAU - CHEUK; CHEUK YC FAU - QIN *et al.*, 2005).

A recuperação funcional do tendão calcâneo está interligada com a melhor organização das fibras colágenas no eixo longitudinal restaurando parcialmente a resistência à tração e a rigidez do tendão (BREBELS; MIGNON, 2022). Estudos demonstram que o alinhamento da matriz extracelular e das células residentes do tendão estão relacionados com a aumento da tensão mecânica imposta ao tecido (ANDARAWIS-PURI; FLATOW; SOSLOWSKY, 2015; LAVAGNINO; WALL; LITTLE; BANES *et al.*, 2015). O tendão funciona principalmente transmitindo cargas de tração do músculo para o osso, proporcionando estabilidade e maior eficiência no movimento do sistema musculoesquelético. Essa função de transferência de carga provavelmente servirá como estímulo mecânico primário para as células do tendão. Essas cargas de tração são transferidas para as células do tendão através de vários componentes matriz. (BANES; TSUZAKI M FAU - YAMAMOTO; YAMAMOTO J FAU - FISCHER; FISCHER T FAU - BRIGMAN *et al.*, 1995; LAVAGNINO; WALL; LITTLE; BANES *et al.*, 2015). Diante do exposto, nossos resultados estão em concordância com esses achados, onde mostramos que a aplicação tópica do gel de açaí usados isoladamente ou em combinação com o laser apresentou efeitos positivos no alinhamento das fibras colágenas e potencializou a melhora funcional, o que demonstra o papel benéfico da mecanotransdução no tecido tendíneo.

Em quatorze dias após a lesão, quando ocorre o pico da fase proliferativa, foi observado aumento na concentração de GAGs em todos os grupos lesionado do presente trabalho. Como na fase proliferativa ocorre a síntese dos componentes da MEC já era esperado o aumento de glicosaminoglicanos em todos os grupos lesionados.

Ressaltamos que é a primeira vez que é estudado a laserterapia e a combinação de gel de açaí no tratamento de lesão do tendão calcâneo, além desse estudo ser o primeiro a investigar as repercussões funcionais do uso da laserterapia em lesões tendíneas. Os achados desse trabalho podem auxiliar no desenvolvimento de novas abordagens terapêuticas para melhor regeneração tecidual, recuperação sensorial e melhora funcional levando em consideração o tipo de resposta em cada fase de reparo.

5. CONCLUSÃO

- ✓ A laserterapia melhora o desempenho funcional e o padrão da marcha na fase aguda do reparo tendíneo.
- ✓ O tratamento combinado reestabelece a funcionalidade na fase proliferativa do reparo tendíneo.
- ✓ O tratamento combinado tem efeito antinociceptivos tanto na fase aguda quanto na proliferativa do reparo tendíneo.
- ✓ O tratamento isolado e combinado com laserterapia e gel de açaí melhora a morfologia macroscópicas do tendão calcâneo em 14 DPL.
- ✓ O tratamento isolado e combinado do LBT e gel de açaí promovem melhora no padrão de organização tecidual e celular.
- ✓ A laserterapia promove aumento no número de células e na proliferação de fibroblastos.
- ✓ O tratamento isolado e combinado com laserterapia e gel de açaí resultam no melhor alinhamento das fibras colágenas.

6. REFERÊNCIAS

ACKERMANN, P. W. Neuronal regulation of tendon homeostasis. **Int J Exp Pathol**, 94, n. 4, p. 271-286, Aug 2013.

ACKERMANN, P. W.; ALIM, M. A.; PEJLER, G.; PETERSON, M. Tendon pain - what are the mechanisms behind it? **Scand J Pain**, Jul 18 2022.

ACKERMANN, P. W.; SALO, P.; HART, D. A. Tendon Innervation. **Adv Exp Med Biol**, 920, p. 35-51, 2016.

AGAWA, S.; SAKAKIBARA, H.; IWATA, R.; SHIMOI, K. *et al.* Anthocyanins in Mesocarp/Epicarp and Endocarp of Fresh *Euterpe oleracea*

and their Antioxidant Activities and Bioavailability. **Food Science and Technology Research**, 17, n. 4, p. 327-334, 2011.

AICALE, R.; BISACCIA, R. D.; OLIVIERO, A.; OLIVA, F. *et al.* Current pharmacological approaches to the treatment of tendinopathy. **Expert Opin Pharmacother**, 21, n. 12, p. 1467-1477, Aug 2020.

AMADO, S.; ARMADA-DA-SILVA PA FAU - JOÃO, F.; JOÃO F FAU - MAURÍCIO, A. C.; MAURÍCIO AC FAU - LUÍS, A. L. *et al.* The sensitivity of two-dimensional hindlimb joint kinematics analysis in assessing functional recovery in rats after sciatic nerve crush. n. 1872-7549 (Electronic), 2011.

ANDARAWIS-PURI, N.; FLATOW, E. L.; SOSLOWSKY, L. J. Tendon basic science: Development, repair, regeneration, and healing. **J Orthop Res**, 33, n. 6, p. 780-784, Jun 2015.

ANDERS, J. J.; LANZAFAME, R. J.; ARANY, P. R. Low-level light/laser therapy versus photobiomodulation therapy. **Photomed Laser Surg**, 33, n. 4, p. 183-184, Apr 2015.

ANDRES, B. M.; MURRELL, G. A. Treatment of tendinopathy: what works, what does not, and what is on the horizon. **Clin Orthop Relat Res**, 466, n. 7, p. 1539-1554, Jul 2008.

BANES, A. J.; TSUZAKI M FAU - YAMAMOTO, J.; YAMAMOTO J FAU - FISCHER, T.; FISCHER T FAU - BRIGMAN, B. *et al.* Mechanoreception at the cellular level: the detection, interpretation, and diversity of responses to mechanical signals. n. 0829-8211 (Print), 1995.

BEDI, A.; MAAK, T.; WALSH, C.; RODEO, S. A. *et al.* Cytokines in rotator cuff degeneration and repair. **J Shoulder Elbow Surg**, 21, n. 2, p. 218-227, Feb 2012.

BREBELS, J.; MIGNON, A. Polymer-Based Constructs for Flexor Tendon Repair: A Review. **Polymers (Basel)**, 14, n. 5, Feb 23 2022.

CASALECHI, H. L.; DE FARIAS MARQUES, A. C.; DA SILVA, E. A.; AIMBIRE, F. *et al.* Analysis of the effect of phototherapy in model with traumatic Achilles tendon injury in rats. **Lasers Med Sci**, 29, n. 3, p. 1075-1081, May 2014.

CASALECHI, H. L.; NICOLAU RA FAU - CASALECHI, V. L.; CASALECHI VL FAU - SILVEIRA, L., Jr.; SILVEIRA L JR FAU - DE PAULA, A. M. B. *et al.* The effects of

low-level light emitting diode on the repair process of Achilles tendon therapy in rats. n. 1435-604X (Electronic), 2009.

CHEN, J.; YU Q FAU - WU, B.; WU B FAU - LIN, Z.; LIN Z FAU - PAVLOS, N. J. *et al.* Autologous tenocyte therapy for experimental Achilles tendinopathy in a rabbit model. n. 1937-335X (Electronic), 2011.

CHUNG, H.; DAI, T.; SHARMA, S. K.; HUANG, Y. Y. *et al.* The nuts and bolts of low-level laser (light) therapy. **Ann Biomed Eng**, 40, n. 2, p. 516-533, Feb 2012.

COLOMBO, F.; NETO ADE, A.; SOUSA, A. P.; MARCHIONNI, A. M. *et al.* Effect of low-level laser therapy (λ 660 nm) on angiogenesis in wound healing: a immunohistochemical study in a rodent model. **Braz Dent J**, 24, n. 4, p. 308-312, 2013.

COUTO, P. A.; FILIPE VM FAU - MAGALHÃES, L. G.; MAGALHÃES LG FAU - PEREIRA, J. E.; PEREIRA JE FAU - COSTA, L. M. *et al.* A comparison of two-dimensional and three-dimensional techniques for the determination of hindlimb kinematics during treadmill locomotion in rats following spinal cord injury. n. 0165-0270 (Print), 2008.

DE ALMEIDA MAGALHAES, T. S. S.; DE OLIVEIRA MACEDO, P. C.; CONVERTI, A.; NEVES DE LIMA, A. A. The Use of Euterpe oleracea Mart. As a New Perspective for Disease Treatment and Prevention. **Biomolecules**, 10, n. 6, May 26 2020.

DE FREITAS, L. F.; HAMBLIN, M. R. Proposed Mechanisms of Photobiomodulation or Low-Level Light Therapy. **IEEE J Sel Top Quantum Electron**, 22, n. 3, May-Jun 2016.

DE JESUS, J. F.; SPADACCI-MORENA, D. D.; DOS ANJOS RABELO, N. D.; PINFILDI, C. E. *et al.* Low-level laser therapy in IL-1 β , COX-2, and PGE2 modulation in partially injured Achilles tendon. **Lasers Med Sci**, 30, n. 1, p. 153-158, Jan 2015.

DE MARCHI, A. A.-O.; POZZA, S.; CENNA, E.; CAVALLO, F. *et al.* In Achilles tendinopathy, the neovascularization, detected by contrast-enhanced ultrasound (CEUS), is abundant but not related to symptoms. n. 1433-7347 (Electronic), 2018.

DE PAIVA CARVALHO, R. L.; LEAL-JUNIOR EC FAU - PETRELLIS, M. C.; PETRELLIS MC FAU - MARCOS, R. L.; MARCOS RL FAU - DE CARVALHO, M. H. C. *et al.* Effects of low-level laser therapy (LLLT) and diclofenac (topical and

intramuscular) as single and combined therapy in experimental model of controlled muscle strain in rats. n. 1751-1097 (Electronic), 2013.

DE PAIVA CARVALHO, R. L.; LEONARDO, P. S. L. M.; MENDES, G. D.; LIMA, F. P. S. *et al.* Pharmacokinetic and Pharmacodynamics of Sodium Diclofenac (Topical and IM) Associated with Laser Photobiomodulation on Skeletal Muscle Strain in Rats. **International Journal of Photoenergy**, 2019, p. 1-12, 2019.

DEDERER, K. M.; TENNANT, J. N. Anatomical and Functional Considerations in Achilles Tendon Lesions. **Foot Ankle Clin**, 24, n. 3, p. 371-385, Sep 2019.

DEUIS, J. R.; DVORAKOVA, L. S.; VETTER, I. Methods Used to Evaluate Pain Behaviors in Rodents. **Front Mol Neurosci**, 10, p. 284, 2017.

DOCHEVA, D.; MULLER, S. A.; MAJEWSKI, M.; EVANS, C. H. Biologics for tendon repair. **Adv Drug Deliv Rev**, 84, p. 222-239, Apr 2015.

DOCKING SI FAU - OOI, C. C.; OOI CC FAU - CONNELL, D.; CONNELL, D. Tendinopathy: Is Imaging Telling Us the Entire Story? n. 1938-1344 (Electronic), 2015.

DOS SANTOS, L. S.; SALTORATO, J. C.; MONTE, M. G.; MARCOS, R. L. *et al.* PBMT and topical diclofenac as single and combined treatment on skeletal muscle injury in diabetic rats: effects on biochemical and functional aspects. **Lasers Med Sci**, 34, n. 2, p. 255-262, Mar 2019.

DUBIN, A. E.; PATAPOUTIAN, A. Nociceptors: the sensors of the pain pathway. **J Clin Invest**, 120, n. 11, p. 3760-3772, Nov 2010.

EMING, S. A.; KRIEG T FAU - DAVIDSON, J. M.; DAVIDSON, J. M. Inflammation in wound repair: molecular and cellular mechanisms. n. 1523-1747 (Electronic), 2007.

ENWEMEKA, C. S.; SPIELHOLZ NI FAU - NELSON, A. J.; NELSON, A. J. The effect of early functional activities on experimentally tenotomized Achilles tendons in rats. n. 0894-9115 (Print), 1988.

FERRARESI, C.; HUANG, Y.-Y.; DE FREITAS, L. F.; CARROLL, J. D. *et al.* **Low-Level Light Therapy: Photobiomodulation**. 2018. 9781510614161.

FREEMONT, A. J.; PEACOCK TE FAU - GOUPILLE, P.; GOUPILLE P FAU - HOYLAND, J. A.; HOYLAND JA FAU - O'BRIEN, J. *et al.* Nerve ingrowth into diseased intervertebral disc in chronic back pain. n. 0140-6736 (Print), 1997.

FU, S. C.; HUI CW FAU - LI, L. C.; LI LC FAU - CHEUK, Y. C.; CHEUK YC FAU - QIN, L. *et al.* Total flavones of Hippophae rhamnoides promotes early restoration of ultimate stress of healing patellar tendon in a rat model. n. 1350-4533 (Print), 2005.

FU, S. C.; ROLF, C.; CHEUK, Y. C.; LUI, P. P. *et al.* Deciphering the pathogenesis of tendinopathy: a three-stages process. **Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol**, 2, p. 30, Dec 13 2010.

GALVEZ, M. G.; CROWE, C.; FARNEBO, S.; CHANG, J. Tissue engineering in flexor tendon surgery: current state and future advances. **J Hand Surg Eur Vol**, 39, n. 1, p. 71-78, Jan 2014.

GHILARDI, J. R.; FREEMAN KT FAU - JIMENEZ-ANDRADE, J. M.; JIMENEZ-ANDRADE JM FAU - COUGHLIN, K. A.; COUGHLIN KA FAU - KACZMARSKA, M. J. *et al.* Neuroplasticity of sensory and sympathetic nerve fibers in a mouse model of a painful arthritic joint. n. 1529-0131 (Electronic), 2012.

GUERRA FDA, R.; VIEIRA, C. P.; DOS SANTOS DE ALMEIDA, M.; OLIVEIRA, L. P. *et al.* Pulsed LLLT improves tendon healing in rats: a biochemical, organizational, and functional evaluation. **Lasers Med Sci**, 29, n. 2, p. 805-811, Mar 2014.

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

HANNA, R.; PAWELCZYK-MADALINSKA, M.; SALAGEAN, T.; NAP, M. E. *et al.* A Novel Concept of Combined High-Level-Laser Treatment and Transcutaneous Photobiomodulation Therapy Utilisation in Orthodontic Periodontal Interface Management. **Sensors (Basel)**, 22, n. 6, Mar 15 2022.

HASLERUD, S.; LOPES-MARTINS, R. A.; FRIGO, L.; BJORDAL, J. M. *et al.* Low-Level Laser Therapy and Cryotherapy as Mono- and Adjunctive Therapies for Achilles Tendinopathy in Rats. **Photomed Laser Surg**, 35, n. 1, p. 32-42, Jan 2017.

HE, P.; RUAN, D.; HUANG, Z.; WANG, C. *et al.* Comparison of Tendon Development Versus Tendon Healing and Regeneration. **Front Cell Dev Biol**, 10, p. 821667, 2022.

HEINEMEIER, K. M.; OHLENSCHLAEGER, T. F.; MIKKELSEN, U. R.; SONDER, F. *et al.* Effects of anti-inflammatory (NSAID) treatment on human tendinopathic tissue. **J Appl Physiol** (1985), 123, n. 5, p. 1397-1405, Nov 1 2017.

HELIGLE, C.; DE CARVALHO, P.; CASALECHI, H. L.; LEAL-JUNIOR, E. C. *et al.* Effects of low-intensity non-coherent light therapy on the inflammatory process in the calcaneal tendon of ovariectomized rats. **Lasers Med Sci**, 31, n. 1, p. 33-40, Jan 2016.

HERCHENHAN, A.; KALSON, N. S.; HOLMES, D. F.; HILL, P. *et al.* Tenocyte contraction induces crimp formation in tendon-like tissue. n. 1617-7940 (Electronic), 2012.

HOCHMAN, L. Photobiomodulation Therapy in Veterinary Medicine: A Review. **Top Companion Anim Med**, 33, n. 3, p. 83-88, Sep 2018.

HOPE, M.; SAXBY, T. S. Tendon healing. **Foot Ankle Clin**, 12, n. 4, p. 553-567, v, Dec 2007.

IHSAN, F. R. Low-level laser therapy accelerates collateral circulation and enhances microcirculation. n. 1549-5418 (Print), 2005.

JARVINEN, M.; JOZSA, L.; KANNUS, P.; JARVINEN, T. L. *et al.* Histopathological findings in chronic tendon disorders. **Scand J Med Sci Sports**, 7, n. 2, p. 86-95, Apr 1997.

JENSEN, G. S.; AGER DM FAU - REDMAN, K. A.; REDMAN KA FAU - MITZNER, M. A.; MITZNER MA FAU - BENSON, K. F. *et al.* Pain reduction and improvement in range of motion after daily consumption of an açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp-fortified polyphenolic-rich fruit and berry juice blend. n. 1557-7600 (Electronic), 2011.

KANG, J.; XIE, C.; LI, Z.; NAGARAJAN, S. *et al.* Flavonoids from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and their antioxidant and anti-inflammatory activities. n. 0308-8146 (Print), 2011

KANNUS, P. Structure of the tendon connective tissue. n. 0905-7188 (Print), 2000.

KEARNEY, R.; COSTA, M. L. Insertional achilles tendinopathy management: a systematic review. n. 1071-1007 (Print), 2010.

LAVAGNINO, M.; WALL, M. E.; LITTLE, D.; BANES, A. J. *et al.* Tendon mechanobiology: Current knowledge and future research opportunities. **J Orthop Res**, 33, n. 6, p. 813-822, Jun 2015.

LEE, H. Y.; HSIEH, T. H.; LIANG, J. I.; YEH, M. L. *et al.* Quantitative video-based gait pattern analysis for hemiparkinsonian rats. **Med Biol Eng Comput**, 50, n. 9, p. 937-946, Sep 2012.

LEE, S. Y.; CHIEH, H. F.; LIN, C. J.; JOU, I. M. *et al.* Characteristics of Sonography in a Rat Achilles Tendinopathy Model: Possible Non-invasive Predictors of Biomechanics. **Sci Rep**, 7, n. 1, p. 5100, Jul 11 2017.

LIANG, J. I.; CHEN, M. Y.; HSIEH, T. H.; LIU, C. Y. *et al.* Video-based gait analysis for functional evaluation of healing achilles tendon in rats. **Ann Biomed Eng**, 40, n. 12, p. 2532-2540, Dec 2012.

LIN, F.; JOSEPHS SF FAU - ALEXANDRESCU, D. T.; ALEXANDRESCU DT FAU - RAMOS, F.; RAMOS F FAU - BOGIN, V. *et al.* Lasers, stem cells, and COPD. n. 1479-5876 (Electronic), 2010.

LIN, T. W.; CARDENAS, L.; SOSLOWSKY, L. J. Biomechanics of tendon injury and repair. **J Biomech**, 37, n. 6, p. 865-877, Jun 2004.

LIU, C.; ZHI, Z.; TUCHIN, V. V.; LUO, Q. *et al.* Enhancement of skin optical clearing efficacy using photo-irradiation. **Lasers Surg Med**, 42, n. 2, p. 132-140, Feb 2010.

LOPES SILVA, R. S. D.; PESSOA, D. R.; MARIANO, R. R.; CASTRO, A. B. S. *et al.* Systematic Review of Photobiomodulation Therapy (PBMT) on the Experimental Calcaneal Tendon Injury in Rats. **Photochem Photobiol**, 96, n. 5, p. 981-997, Sep 2020.

LUCIA M. JAEGER DE CARVALHO*, D. S. V., Danielle da Costa Leite, Jacqueline Carvalho Peixoto, Mirian R. Moura. TOTAL PHENOLICS AND ANTIOXIDANT ACTIVITY OF A FUNCTIONAL GEL BASED ON AÇAÍ (Euterpe oleracea Martius) PULP. **JOURNAL OF ADVANCES IN AGRICULTURE**, 3, 2015.

LUCKE, L. D.; BORTOLAZZO, F. O.; THEODORO, V.; FUJII, L. *et al.* Low-level laser and adipose-derived stem cells altered remodelling genes expression and improved collagen reorganization during tendon repair. **Cell Prolif**, 52, n. 3, p. e12580, May 2019.

MAIYA, A. G.; KUMAR P FAU - NAYAK, S.; NAYAK, S. Photo-stimulatory effect of low energy helium-neon laser irradiation on excisional diabetic wound healing dynamics in Wistar rats. n. 1998-3611 (Electronic), 2009.

MANSFIELD, K.; DOPKE, K.; KORONEOS, Z.; BONADDIO, V. *et al.* Achilles Tendon Ruptures and Repair in Athletes-a Review of Sports-Related Achilles Injuries and Return to Play. **Curr Rev Musculoskelet Med**, 15, n. 5, p. 353-361, Oct 2022.

MARCOS, R. L.; LEAL JUNIOR, E. C.; MESSIAS FDE, M.; DE CARVALHO, M. H. *et al.* Infrared (810 nm) low-level laser therapy in rat achilles tendinitis: a consistent alternative to drugs. **Photochem Photobiol**, 87, n. 6, p. 1447-1452, Nov-Dec 2011.

MARINHO, B. G.; HERDY, S. A.; SÁ, A. C.; S., G. B. S. M. E. M. F. *et al.* Atividade antinociceptiva de extratos de açaí (Euterpe oleraceae Mart.). **Revista Brasileira de Farmacognosia**, 2012.

MENDES, Á. G. R.; DE SOUSA, G. G. V.; FRANÇA, M. d. S.; DE CARVALHO, C. A. M. *et al.* Astrocyte reactivity in spinal cord and functional impairment after tendon injury in rats. **Heliyon**, 7, n. 4, 2021.

MILLAR, N. L.; SILBERNAGEL, K. G.; THORBORG, K.; KIRWAN, P. D. *et al.* Tendinopathy. **Nat Rev Dis Primers**, 7, n. 1, p. 1, Jan 7 2021.

MILLER, C. P. M. C., Christopher P. MD. Open Repair of Achilles Tendon Ruptures. **Techniques in Foot & Ankle Surgery**, 16(2):p 62-67, June 2017, 2017.

MOGIL, J. S. Animal models of pain: progress and challenges. n. 1471-0048 (Electronic), 2009.

MOLLOY, T.; WANG Y FAU - MURRELL, G.; MURRELL, G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. n. 0112-1642 (Print), 2003.

MORAES, S. A.; OLIVEIRA, K. R.; CRESPO-LOPEZ, M. E.; PICANCO-DINIZ, D. L. *et al.* Local NO synthase inhibition produces histological and functional recovery in Achilles tendon of rats after tenotomy: tendon repair and local NOS inhibition. **Cell Tissue Res**, 353, n. 3, p. 457-463, Sep 2013.

MUELLER, A. L.; BROCKMUELLER, A.; KUNNUMAKKARA, A. B.; SHAKIBAEI, M. Modulation of Inflammation by Plant-Derived Nutraceuticals in Tendinitis. **Nutrients**, 14, n. 10, May 12 2022.

MURRELL, G. A.; LILLY, E. G.; DAVIES, H.; BEST, T. M. *et al.* The Achilles Functional Index. **J Orthop Res**, 10, n. 3, p. 398-404, May 1992.

MURRELL, G. A.; LILLY EG FAU - DAVIES, H.; DAVIES H FAU - BEST, T. M.; BEST TM FAU - GOLDNER, R. D. *et al.* The Achilles Functional Index. n. 0736-0266 (Print), 1992.

NAKAJIMA, T.; NAKAHATA, A.; YAMADA, N.; YOSHIZAWA, K. *et al.* Grafting of iPS cell-derived tenocytes promotes motor function recovery after Achilles tendon rupture. **Nat Commun**, 12, n. 1, p. 5012, Aug 18 2021.

O'BRIEN, M. Functional Anatomy and Physiology of Tendons. **Clinics in Sports Medicine**, 11, n. 3, p. 505-520, 1992/07/01/ 1992.

PACHECO-PALENCIA, L. A.; TALCOTT ST FAU - SAFE, S.; SAFE S FAU - MERTENS-TALCOTT, S.; MERTENS-TALCOTT, S. Absorption and biological activity of phytochemical-rich extracts from açai (*Euterpe oleracea* Mart.) pulp and oil in vitro. n. 0021-8561 (Print), 2008.

PIRES, D.; XAVIER, M.; ARAUJO, T.; SILVA, J. A., Jr. *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 Med Sci**, 26, n. 1, p. 85-94, Jan 2011.

PLAZA-MANZANO, G.; RIOS-LEON, M.; MARTIN-CASAS, P.; ARENDT-NIELSEN, L. *et al.* Widespread Pressure Pain Hypersensitivity in Musculoskeletal and Nerve Trunk Areas as a Sign of Altered Nociceptive Processing in Unilateral Plantar Heel Pain. **J Pain**, 20, n. 1, p. 60-67, Jan 2019.

POULOSE, S. M.; FISHER, D. R.; LARSON, J.; BIELINSKI, D. F. *et al.* Anthocyanin-rich acai (*Euterpe oleracea* Mart.) fruit pulp fractions attenuate inflammatory stress signaling in mouse brain BV-2 microglial cells. **J Agric Food Chem**, 60, n. 4, p. 1084-1093, Feb 1 2012.

RAPHAEL AP FAU - WRIGHT, O. R. L.; WRIGHT OR FAU - BENSON, H. A.; BENSON HA FAU - PROW, T. W.; PROW, T. W. Recent advances in physical delivery enhancement of topical drugs. n. 1873-4286 (Electronic), 2015.

RILEY, G. Chronic tendon pathology: molecular basis and therapeutic implications. **Expert Rev Mol Med**, 7, n. 5, p. 1-25, Mar 24 2005.

RILEY, G. Tendinopathy--from basic science to treatment. **Nat Clin Pract Rheumatol**, 4, n. 2, p. 82-89, Feb 2008.

RIO, E.; MOSELEY, L.; PURDAM, C.; SAMIRIC, T. *et al.* The pain of tendinopathy: physiological or pathophysiological? **Sports Med**, 44, n. 1, p. 9-23, Jan 2014.

SALATE, A. C.; BARBOSA G FAU - GASPAR, P.; GASPAR P FAU - KOEKE, P. U.; KOEKE PU FAU - PARIZOTTO, N. A. *et al.* Effect of In-Ga-Al-P diode laser irradiation on angiogenesis in partial ruptures of Achilles tendon in rats. n. 1549-5418 (Print), 2005.

SCHAUSS, A. G.; WU X FAU - PRIOR, R. L.; PRIOR RL FAU - OU, B.; OU B FAU - HUANG, D. *et al.* Antioxidant capacity and other bioactivities of the freeze-dried Amazonian palm berry, *Euterpe oleracea* mart. (acai). n. 0021-8561 (Print), 2006.

SCHULZE-TANZIL, G. G.; DELGADO-CALCARES, M.; STANGE, R.; WILDEMANN, B. *et al.* Tendon healing: a concise review on cellular and molecular mechanisms with a particular focus on the Achilles tendon. **Bone Joint Res**, 11, n. 8, p. 561-574, Aug 2022.

SCOTT A FAU - BACKMAN, L. J.; BACKMAN LJ FAU - SPEED, C.; SPEED, C. Tendinopathy: Update on Pathophysiology. n. 1938-1344 (Electronic), 2015.

SCOTT, A.; SQUIER, K.; ALFREDSON, H.; BAHR, R. *et al.* ICON 2019: International Scientific Tendinopathy Symposium Consensus: Clinical Terminology. **British Journal of Sports Medicine**, 54, n. 5, p. 260-262, 2020.

SHARMA, P.; MAFFULLI, N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. n. 1108-7161 (Print), 2006.

SOUZA, M. V. d.; CREPALDI, J.; SILVA, T. d. O.; SILVA, M. B. *et al.* Laserterapia para tratamento de tendinopatia induzida em ratos wistar. **Veterinária e Zootecnia** v. 24 n. 3 (2017) 2017.

STEINMANN, S.; PFEIFER, C. G.; BROCHHAUSEN, C.; DOCHEVA, D. Spectrum of Tendon Pathologies: Triggers, Trails and End-State. **Int J Mol Sci**, 21, n. 3, Jan 28 2020.

STOLL, C.; JOHN T FAU - CONRAD, C.; CONRAD C FAU - LOHAN, A.; LOHAN A FAU - HONDKE, S. *et al.* Healing parameters in a rabbit partial tendon defect following tenocyte/biomaterial implantation. n. 1878-5905 (Electronic), 2011.

SUBRAMANIAN, A.; KANZAKI, L. F.; GALLOWAY, J. L.; SCHILLING, T. F. Mechanical force regulates tendon extracellular matrix organization and tenocyte morphogenesis through TGFbeta signaling. **Elife**, 7, Nov 26 2018.

SUDO, R. T.; NETO, M. L.; MONTEIRO, C. E.; AMARAL, R. V. *et al.* Antinociceptive effects of hydroalcoholic extract from *Euterpe oleracea* Mart. (Acai) in a rodent model of acute and neuropathic pain. **BMC Complement Altern Med**, 15, p. 208, Jul 2 2015.

THOMOPOULOS, S.; PARKS, W. C.; RIFKIN, D. B.; DERWIN, K. A. Mechanisms of tendon injury and repair. **J Orthop Res**, 33, n. 6, p. 832-839, Jun 2015.

TORRES-SILVA, R.; LOPES-MARTINS RA FAU - BJORDAL, J. M.; BJORDAL JM FAU - FRIGO, L.; FRIGO L FAU - RAHOUADJ, R. *et al.* The low level laser therapy (LLLT) operating in 660 nm reduce gene expression of inflammatory mediators in the experimental model of collagenase-induced rat tendinitis. n. 1435-604X (Electronic), 2015.

TRIPODI, N.; FEEHAN, J.; HUSARIC, M.; SIDIROGLOU, F. *et al.* The effect of low-level red and near-infrared photobiomodulation on pain and function in tendinopathy: a systematic review and meta-analysis of randomized control trials. **BMC Sports Sci Med Rehabil**, 13, n. 1, p. 91, Aug 14 2021.

TAI, W. C.; HSU CC FAU - CHOU, S.-W.; CHOU SW FAU - CHUNG, C.-Y.; CHUNG CY FAU - CHEN, J. *et al.* Effects of celecoxib on migration, proliferation and collagen expression of tendon cells. n. 0300-8207 (Print), 2007.

WAGGETT, A. D.; RALPHS, J. R.; KWAN, A. P. L.; WOODNUTT, D. *et al.* Characterization of collagens and proteoglycans at the insertion of the human achilles tendon. **Matrix Biology**, 16, n. 8, p. 457-470, 1998/03/01/ 1998.

WARDEN, S. J. Animal models for the study of tendinopathy. **Br J Sports Med**, 41, n. 4, p. 232-240, Apr 2007.

WINNICKI, K.; OCHALA-KLOS, A.; RUTOWICZ, B.; PEKALA, P. A. *et al.* Functional anatomy, histology and biomechanics of the human Achilles tendon - A comprehensive review. **Ann Anat**, 229, p. 151461, May 2020.

WONG, M.; JARDALY, A. H.; KIEL, J. Anatomy, Bony Pelvis and Lower Limb, Achilles Tendon. *In: StatPearls*. Treasure Island (FL), 2022.

WOOD, V. T.; PINFILDI, C. E.; NEVES, M. A.; PARIZOTO, N. A. *et al.* Collagen changes and realignment induced by low-level laser therapy and low-intensity ultrasound in the calcaneal tendon. **Lasers Surg Med**, 42, n. 6, p. 559-565, Aug 2010.

ZHANG, S.; JU, W.; CHEN, X.; ZHAO, Y. *et al.* Hierarchical ultrastructure: An overview of what is known about tendons and future perspective for tendon engineering. **Bioact Mater**, 8, p. 124-139, Feb 2022.

ZHOU, J.; ZHANG, J.; WANG, C.; QU, S. *et al.* Açai (*Euterpe oleracea* Mart.) attenuates alcohol-induced liver injury in rats by alleviating oxidative stress and inflammatory response. n. 1792-0981 (Print), 2018.