

UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - CAMPUS DE CASCAVEL  
CENTRO DE CIÊNCIAS BIOLÓGICAS E DA SAÚDE  
PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCÊNCIAS E SAÚDE – MESTRADO

**PÂMELA ANDRESSA PAULETTO**

**FOTOBIMODULAÇÃO E FIBRINA RICA EM PLAQUETAS NO MÚSCULO  
GASTROCNÊMIO SUBMETIDO A TENDINOPATIA CALCÂNEA EM RATOS**

CASCAVEL - PR

Maio - 2025

**PÂMELA ANRESSA PAULETTO**

**FOTOBIMODULAÇÃO E FIBRINA RICA EM PLAQUETAS NO MÚSCULO  
GASTROCNÊMIO SUBMETIDO A TENDINOPATIA CALCÂNEA EM RATOS**

Defesa de dissertação apresentada ao Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde – Mestrado, do Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná.

Área de concentração: Biologia, processo saúde-doença e políticas de saúde

ORIENTADOR: Dr. Gladson Ricardo Flor  
Bertolini

CASCAVEL - PR

Maio - 2025

Ficha de identificação da obra elaborada através do Formulário de Geração Automática do Sistema de Bibliotecas da Unioeste.

PAULETTO, PAMELA ANDRESSA

FOTOBIMODULAÇÃO E FIBRINA RICA EM PLAQUETAS NO MÚSCULO GASTROCNÊMIO SUBMETIDO A TENDINOPATIA CALCÂNEA EM RATOS / PAMELA ANDRESSA PAULETTO; orientador GLADSON RICARDO FLOR BERTOLINI. -- Cascavel, 2025.

77 p.

Dissertação (Mestrado Acadêmico Campus de Cascavel) -- Universidade Estadual do Oeste do Paraná, Centro de Ciências Biológicas e da Saúde, Programa de Pós-Graduação em BioCiências e Saúde, 2025.

1. TENDINOPATIA. 2. FOTOBIMODULAÇÃO. 3. FIBRINA RICA EM PLAQUETAS. 4. ATROFIA MUSCULAR. I. BERTOLINI, GLADSON RICARDO FLOR, orient. II. Título.



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Reitoria

CNPJ 78.680.337/0001-84

Rua Universitária, 1619, Jardim Universitário

Tel.: (45) 3220-3000 - www.unioeste.br

CEP: 85819-110 - Cx. P.: 701

Cascavel - PARANÁ



## Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE PÂMELA ANDRESSA PAULETTO, ALUNO(A) DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS E SAÚDE DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE, E DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO DO PROGRAMA E O REGIMENTO GERAL DA UNIOESTE.

Ao(s) 26 dia(s) do mês de março de 2025 às 9h00min, no(a) Sala 02 - Bloco FINEP - Campus de Cascavel, realizou-se a sessão pública da Defesa de Dissertação do(a) candidato(a) Pâmela Andressa Pauletto, aluno(a) do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde - nível de Mestrado, na área de concentração em Biologia, processo saúde-doença e políticas de saúde. A comissão examinadora da Defesa Pública foi aprovada pelo Colegiado do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde. Integraram a referida Comissão os(as) Professores(as) Doutores(as): Gladson Ricardo Flor Bertolini, Patrícia Oehlmeyer Nassar, Dernival Bertoncello. Os trabalhos foram presididos pelo(a) Gladson Ricardo Flor Bertolini. Tendo satisfeito todos os requisitos exigidos pela legislação em vigor, o(a) aluno(a) foi admitido(a) à Defesa de DISSERTAÇÃO DE MESTRADO, intitulada: "Fotobiomodulação e fibrina rica em plaquetas no músculo gastrocnêmio submetido a tendinopatia calcânea em ratos.". O(a) Senhor(a) Presidente declarou abertos os trabalhos, e em seguida, convidou o(a) candidato(a) a discorrer, em linhas gerais, sobre o conteúdo da Dissertação. Feita a explanação, o(a) candidato(a) foi arguido(a) sucessivamente, pelos(as) professores(as) doutores(as): Patrícia Oehlmeyer Nassar, Dernival Bertoncello. Findas as arguições, o(a) Senhor(a) Presidente suspendeu os trabalhos da sessão pública, a fim de que, em sessão secreta, a Comissão expressasse o seu julgamento sobre a Dissertação. Efetuado o julgamento, o(a) candidato(a) foi **aprovado(a)**. A seguir, o(a) Senhor(a) Presidente reabriu os trabalhos da sessão pública e deu conhecimento do resultado. E, para constar, o(a) Coordenador(a) do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná – UNIOESTE - Campus de Cascavel, lavra a presente ata, e assina juntamente com os membros da Comissão Examinadora e o(a) candidato(a).



Documento assinado digitalmente

GLADSON RICARDO FLOR BERTOLINI

Data: 27/03/2025 08:17:30-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Orientador(a) - Gladson Ricardo Flor Bertolini

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



Documento assinado digitalmente

PATRICIA OEHLMEYER NASSAR

Data: 27/03/2025 07:46:59-0300

Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

Patrícia Oehlmeyer Nassar

Universidade Estadual do Oeste do Paraná - Campus de Cascavel (UNIOESTE)



**unioeste**

Universidade Estadual do Oeste do Paraná  
Reitoria

CNPJ 78.680.337/0001-84

Rua Universitária, 1619, Jardim Universitário

Tel.: (45) 3220-3000 - [www.unioeste.br](http://www.unioeste.br)

CEP: 85819-110 - Cx. P.: 701

Cascavel - PARANÁ



## **Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde**

ATA DA DEFESA PÚBLICA DA DISSERTAÇÃO DE MESTRADO DE PÂMELA ANDRESSA PAULETTO, ALUNO(A) DO PROGRAMA DE PÓS-GRADUAÇÃO EM BIOCIÊNCIAS E SAÚDE DA UNIVERSIDADE ESTADUAL DO OESTE DO PARANÁ - UNIOESTE, E DE ACORDO COM A RESOLUÇÃO DO PROGRAMA E O REGIMENTO GERAL DA UNIOESTE.

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** DERNIVAL BERTONCELLO  
Data: 26/03/2025 16:44:22-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Dernival Bertoncello

Universidade Federal do Triângulo Mineiro (UFTM)

Documento assinado digitalmente  
**gov.br** PÂMELA ANDRESSA PAULETTO  
Data: 29/03/2025 16:12:36-0300  
Verifique em <https://validar.iti.gov.br>

---

Pâmela Andressa Pauletto

Aluno(a)

---

Coordenador(a) do Programa de Pós-Graduação em Biociências e Saúde

## RESUMO

**Introdução:** o processo patológico da tendinopatia calcânea é iniciado primordialmente por sobrecarga repetitiva do tendão, levando à lesão estrutural das fibrilas de colágeno. A doença se apresenta de forma típica num trio de dor, edema e função prejudicada. Quando instalada de forma crônica, pode repercutir no músculo gastrocnêmio com processo inflamatório e hipotrofia muscular. Múltiplas estratégias de reabilitação têm sido recomendadas para uso em pacientes com tendinopatia, como a fotobiomodulação e injeção de fibrina rica em plaquetas avançada. **Objetivo:** comparar o tratamento da fotobiomodulação e da aplicação da fibrina rica em plaquetas avançada no músculo gastrocnêmio submetido a tendinopatia calcânea. **Metodologia:** o estudo é de caráter experimental. Setenta e cinco ratos foram separados em cinco grupos: grupo controle (GC), grupo lesão (GL), grupo fibrina rica em plaquetas avançada (GA-PRF), grupo fotobiomodulação (GFBM) e grupo fibrina rica em plaquetas avançada + fotobiomodulação (GA-PRF+FBM). Os animais foram induzidos a tendinopatia calcânea através da compressão transversal por pinça do tendão calcâneo. Os animais receberam tratamento de fotobiomodulação no 2º, 4º e 6º dias após a indução, os animais do GA-PRF receberam o tratamento apenas no 2º dia após a indução e os animais do grupo de terapia combinada receberam o tratamento na mesma frequência das terapias isoladas. No dia denominado D0, D7, D14 e D21 os animais foram avaliados pelo teste de preensão manual e no D7, D14 e D21 foram eutanasiados para coleta do músculo e posterior análise histológica e morfométrica de fibras e junções neuromusculares. **Resultados:** o GL apresentou menor força muscular em comparação aos demais grupos. O GFBM, GA-PRF e GA-PRF+FBM apresentaram aumento da força muscular entre o sétimo e vigésimo primeiro dia de experimento. Quando analisada a morfologia e a histomorfometria do músculo gastrocnêmio, não foram encontrados sinais de lesão muscular e conseqüentemente de recuperação muscular com os tratamentos aplicados. Ao analisar o tecido conjuntivo, o GA-PRF+FBM apresentou aumento no colágeno tipo III. Ao analisar as JNM's foi encontrado uma divergência quanto a área, diâmetro maior e diâmetro menor, sendo que os grupos tratados com a injeção de fibrina rica em

plaquetas avançada apresentaram JNM's menores em relação ao GC, GL e GFBM.

**Conclusão:** os achados desse estudo apontaram que as terapias combinadas apresentaram maior efeito de reparo no tecido muscular por meio do aumento do colágeno tipo III do que de forma isolada.

Palavras-chave: tendinopatia; atrofia muscular; terapêutica; terapia com luz de baixa intensidade; fibrina rica em plaquetas.

# PHOTOBIMODULATION AND PLATELET-RICH FIBRIN IN THE GASTROCNEMIUS MUSCLE SUBJECTED TO CALCANEAL TENDINOPATHY IN RATS

## ABSTRACT

**Introduction:** The pathological process of calcaneal tendinopathy is primarily initiated by repetitive overload of the tendon, leading to structural damage to collagen fibrils. The disease typically presents as a triad of pain, edema, and impaired function. When it becomes chronic, it can affect the gastrocnemius muscle, causing an inflammatory process and muscle hypotrophy. Multiple rehabilitation strategies have been recommended for patients with tendinopathy, such as photobiomodulation and advanced platelet-rich fibrin injection. **Objective:** To compare the treatment effects of photobiomodulation and the application of advanced platelet-rich fibrin in the gastrocnemius muscle subjected to calcaneal tendinopathy. **Methodology:** This is an experimental study. Seventy-five rats were divided into five groups: control group (CG), injury group (IG), advanced platelet-rich fibrin group (APRF-G), photobiomodulation group (PBM-G), and advanced platelet-rich fibrin + photobiomodulation group (APRF+PBM-G). The animals were induced to calcaneal tendinopathy by transverse clamp compression of the calcaneal tendon. The photobiomodulation treatment was applied on the 2nd, 4th, and 6th days after induction, while the APRF-G animals received treatment only on the 2nd day after induction. The combined therapy group received treatments at the same frequency as the isolated therapies. On days D0, D7, D14, and D21, the animals were evaluated through a manual grip strength test. On D7, D14, and D21, the animals were euthanized for muscle collection and subsequent histological and morphometric analysis of fibers and neuromuscular junctions. **Results:** The IG group showed lower muscle strength compared to the other groups. The PBM-G, APRF-G, and APRF+PBM-G groups exhibited increased muscle strength between the seventh and twenty-first days of the experiment. When analyzing the morphology and histomorphometry of the gastrocnemius muscle, no signs of muscle injury were found, indicating muscle recovery with the applied treatments. Regarding connective tissue

analysis, the APRF+PBM-G group showed an increase in type III collagen. Neuromuscular junction (NMJ) analysis revealed differences in area, major diameter, and minor diameter, with groups treated with advanced platelet-rich fibrin injection presenting smaller NMJs compared to the CG, IG, and PBM-G groups. **Conclusion:** The findings of this study suggest that combined therapies had a greater reparative effect on muscle tissue, primarily through the increase of type III collagen, compared to isolated treatments.

Keywords: tendinopathy; muscle atrophy; therapeutics; low-intensity light therapy; platelet-rich fibrin.

## LISTA DE ILUSTRAÇÕES

Figura 1 – Método indutivo da tendinopatia calcânea em ratos	19
Figura 2 – Fibrina rica em plaquetas avançada no tubo de ensaio	20
Figura 3 – Linha do tempo do protocolo de estudo	22
Figura 4 – Avaliação da força de preensão do membro pélvico direito de ratos	24
Figura 5 – Linha do tempo para força de preensão do músculo gastrocnêmio de ratos	29
Figura 6 – Fibra muscular corada em HE do músculo gastrocnêmio de ratos	32
Figura 7 – Comparação entre grupos da relação capilar/fibra	33
Figura 8 – Parâmetros histomorfométricos do tecido conjuntivo do músculo gastrocnêmio de ratos	34
Figura 9 – Fibra muscular corada em PSR do músculo gastrocnêmio de ratos	36
Figura 10 – Parâmetros histomorfométricos das JNM's do músculo gastrocnêmio de ratos	38
Figura 11 – Fotomicrografia das Junções Neuromusculares do músculo gastrocnêmio de ratos	39

## LISTA DE TABELAS

Quadro 1 – Parâmetros da fotobiomodulação	21
Quadro 2 – Cronograma de coleta de dados	23
Quadro 3 – Parâmetros para análise do índice patológico	25
Quadro 4 – Medidas antropométricas dos animais	28
Quadro 5 – Análise de tamanho de efeito da força muscular	30
Quadro 6 – Parâmetros histomorfométricos da fibra muscular do músculo gastrocnêmio de ratos	31
Quadro 7 – Análise de tamanho de efeito do tecido conjuntivo	36
Quadro 8 – Análise de tamanho de efeito das Junções Neuromusculares	39

## LISTA DE ABREVIATURAS

AINE's	Anti-inflamatórios não esteroides
A-PRF	Advanced platelet-rich fibrina
ATP	Adenosine TriPhosphate
CCO	Citocromo C oxidase
EGF	Epidermal growth fator
ERO's	Espécies reativas de oxigênio
FBM	Fotobiomodulação
FGF	Fibroblast growth fator
GC	Grupo controle
GA-PRF	Grupo advanced platelet-rich fibrin
GA-PRF+FBM	Grupo advanced platelet-rich fibrin
GFBM	Grupo fotobiomodulação
GL	Grupo lesão
HE	Hematoxilina e eosina
IGF-1	Insulin growth fator
IL- 1 $\beta$	Interleukin 1-beta
IL-6	Interleukin 6
JNM	Junção neuromuscular
LABEF	Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional
LABEM	Laboratório Experimental de Morfologia
L-PRF	Fibrin rich in platelets and leukocytes
NADH-TR	Nicotinamida Adenina Dinucleotídeo-Tetrazólio Reductase
NO	Óxido nítrico
PCNA	Proliferating cell nuclear antigen
PDGF	Platelet-derived growth fator
PRF	Platelet-rich fibrina
PRP	Platelet-rich plasm

PSR

TGF-  $\beta$

TNF- $\alpha$

VEGF

Picrosirius-red

Transforming growth factor beta

Tumor necrosis factor alpha

Vascular endothelial growth factor

## SUMÁRIO

1. INTRODUÇÃO .....	1
2. OBJETIVOS .....	4
2.1. Objetivo geral .....	4
2.2. Objetivos específicos .....	4
3. REFERENCIAL TEÓRICO .....	5
3.1. Estrutura tendínea.....	5
3.2. Tendinopatia.....	6
3.3. Tendinopatia calcânea .....	8
3.4. Estrutura muscular .....	10
3.5. Tecido muscular e tendinopatia.....	11
3.6. Tratamentos .....	12
3.5.1 A-PRF .....	13
3.5.2 Fotobiomodulação .....	15
3. MÉTODO.....	18
3.1 Delineamento do estudo .....	18
3.2 Local e período do estudo .....	18
3.3 Animais .....	18
3.4 Grupos experimentais .....	18
3.5 Indução da tendinopatia.....	19
3.6 Intervenções .....	20
3.7 Desfechos e procedimentos metodológicos .....	22
3.8 Análises .....	24
3.9 Processamento e análise de dados .....	27
4 RESULTADOS.....	28
4.1 Massa corporal dos animais .....	28
4.2 Teste funcional .....	29
4.3 Análise morfológica e histomorfométrica do tecido muscular .....	31
4.4 Análise histomorfométrica do tecido conjuntivo .....	34
4.5 Análise histomorfométrica das Junções Neuromusculares .....	37
5 DISCUSSÃO .....	41
6 CONCLUSÕES GERAIS.....	46
REFERÊNCIAS .....	47
ANEXO.....	63

## 1. INTRODUÇÃO

Quando o equilíbrio entre o funcionamento do tendão e do músculo está afetado, lesões por uso excessivo tendem a ocorrer. A partir disso, fatores intrínsecos como desalinhamento e falhas biomecânicas, desempenham um papel causador primordial nos distúrbios dos tendões (Sharma; Maffulli, 2005).

A tendinopatia descreve um espectro de alterações que ocorrem em tendões danificados e doentes, levando à dor e redução da função. A tendinopatia é caracterizada por anormalidades na microestrutura, composição e celularidade do tendão. Um tendão alterado consiste em fibras de colágeno fragmentadas, feixes de colágeno desorganizados, acúmulo de glicosaminoglicanos e microvasculatura aumentada associada à neoinervação, levando à mudanças adversas nas propriedades materiais do tendão (Millar *et al.*, 2021).

A lesão crônica do tendão leva a alterações musculares degenerativas. O estudo realizado por Frich *et al.* (2021), revelou alterações nas fibras musculares já no primeiro mês e meio após lesão no tendão representada pela internalização de núcleos e fibras musculares de tamanhos variados após a ruptura do tendão. A degeneração foi claramente vista com uma proporção substancial de células musculares substituídas por células de gordura indicativas de degeneração das células musculares.

As lesões tendíneas são acompanhadas de inflamação, com expressão endógena de vários mediadores da inflamação pelos tenócitos, incluindo citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias e alguns fatores de crescimento (D'addona *et al.*, 2017). Alguns estudos sugerem que a inflamação desempenha um papel prejudicial nos danos musculares após tendinopatias (Frich *et al.*, 2021; Krieger *et al.*, 2017; Kuenzler *et al.*, 2017). Em análise da distribuição fenotípica e o papel causal de células inflamatórias na degeneração do músculo supraespinal em um modelo de camundongo, verificou-se que a lesão do manguito rotador estimula a infiltração exacerbada de fagócitos mononucleares, enriquece fagócitos mononucleares em subpopulações não clássicas, enriquece linfócitos T e que o esgotamento de

monócitos circulantes acelera a hipotrofia supraespinal após tenotomia e denervação (Krieger *et al.*, 2017).

O tratamento da tendinopatia envolve diferentes modalidades e distintas estratégias são indicadas para uso nesses pacientes. Os regimes terapêuticos podem ser divididos em modalidades passivas que incluem o tratamento farmacológico, ultrassom terapêutico, crioterapia, fotobiomodulação (FBM) e injeção de fibrina rica em plaquetas avançada (A-PRF) e modalidades ativas como exercícios excêntricos (Longo; Ronga; Maffulli, 2018).

No que diz respeito ao tratamento com FBM para tecidos biológicos, a aplicação contribui para a estimulação de processos celulares, aumento da ativação de mecanismos bioquímicos, redução do processo inflamatório, regeneração tecidual, cicatrização e alívio da dor (Atik, 2018). A FBM é utilizada na prática clínica e seu uso já é sustentado por vários estudos (Martimbianco *et al.*, 2020; Millar *et al.*, 2021; Alzyoud; Omoush; Al-qtaitat, 2022).

A injeção de fibrina rica em plaquetas avançada representa um avanço significativo na evolução dos concentrados de plaquetas e tem se mostrado eficaz no tratamento de lesões de tendões, ligamentos e músculos. O A-PRF atua aumentando a concentração local de fatores de crescimento no tecido e com isso auxilia a regeneração (Dietrich *et al.*, 2015; Grecu *et al.*, 2019).

Adjunto às condutas fisioterapêuticas, as condutas de outros profissionais interferem no tratamento e resolução da doença. Condutas medicamentosas nem sempre têm se mostrado em prol da melhora do quadro clínico dos pacientes. Injeções de corticosteroides e o uso de anti-inflamatórios não esteroides (AINE's) podem prejudicar a resposta fisiológica de cura dos tecidos locais, levando à progressão da doença (Cardoso *et al.*, 2019; Muaidi, 2020). Além da conduta médica, a conduta nutricional também interfere no tratamento da tendinopatia, visto que doenças metabólicas como a hipercolesterolemia, diabetes mellitus e obesidade podem ser agravantes dessa condição. É possível identificar implicações clínicas importantes para o uso de suplementos alimentares na saúde do tendão, dos quais especialmente aqueles contendo peptídeos derivados de colágeno parecem ser benéficos no tratamento da doença (Hijlkema *et al.*, 2022). Dessa forma, faz-se necessário condutas interdisciplinares alinhadas para a prevenção e resolução da doença.

O complexo muscular tríceps sural desempenha um papel importante na carga do tendão calcâneo, porém, o autor Phillips *et al.*, (2022) apontam que a fraqueza e a inflexibilidade do músculo gastrocnêmio estão significativamente associadas ao desenvolvimento da tendinopatia calcânea. Também, evidências identificaram limitações na dorsiflexão do tornozelo associadas a uma contratura isolada do músculo gastrocnêmio como uma das principais disfunções ligadas à cronicidade da dor na tendinopatia calcânea (Nawoczinski *et al.*, 2015; Arshad *et al.*, 2022).

A unidade músculo-tendão gastrocnêmio é essencial para a locomoção humana (Butler; Dominy, 2016). O músculo gastrocnêmio tem uma função biomecânica específica derivada de sua situação biarticular cruzando joelho e tornozelo, sendo que na articulação do joelho é sinergista no movimento de flexão, e na articulação do tornozelo é agonista do movimento de plantiflexão. O músculo gastrocnêmio tem duas cabeças: a cabeça lateral e a cabeça medial, os dois ventres musculares unem-se na linha média, e unem-se distalmente ao músculo sóleo para formar o tendão calcâneo (Cazeau; Stiglitz, 2014).

Tem-se ancorado na literatura quais são as sequelas musculares desenvolvidas em função da tendinopatia, porém, não foi elucidado se os tratamentos direcionados para a tendinopatia são capazes de reverter também as sequelas musculares. Assim, faz-se necessário estudos que comparem os efeitos dos tratamentos da FBM e da injeção de fibrina rica em plaquetas avançada nas sequelas do músculo gastrocnêmio desenvolvidas pela tendinopatia calcânea.

A pergunta de pesquisa desse estudo é:

Os tratamentos de fotobiomodulação e da aplicação da fibrina rica em plaquetas avançada são capazes de reverter as sequelas musculares desenvolvidas em função da tendinopatia calcânea?

## **2. OBJETIVOS**

### **2.1. Objetivo geral**

Comparar o tratamento da fotobiomodulação e da aplicação da fibrina rica em plaquetas avançada no músculo gastrocnêmio submetido a tendinopatia calcânea.

### **2.2. Objetivos específicos**

Comparar a força de preensão do membro pélvico direito em cada tipo de tratamento;

Descrever a histomorfometria do músculo gastrocnêmio conforme o tipo de tratamento;

Identificar os tipos de colágeno presentes no músculo gastrocnêmio de acordo com cada tratamento.

### 3. REFERENCIAL TEÓRICO

#### 3.1. Estrutura tendínea

Os tendões são estruturas de suporte de carga que transmitem forças produzidas pela contração muscular às alavancas esqueléticas, permitindo assim o movimento e a manutenção da postura corporal. Permitem que o músculo esteja a uma distância ideal da articulação em que atua, sem exigir um esforço excessivo (Andarawis-Puri; Flatow; Soslowsky, 2015; Bordoni; Varacallo, 2018). Exibem alta resistência mecânica, boa flexibilidade e um nível ideal de elasticidade para realizar suas funções únicas (Sharma; Maffulli, 2005).

Os tendões são de cor branca brilhante e têm uma textura fibroelástica, demonstram variação marcante em forma, podem ser cordões arredondados, faixas semelhantes a tiras ou fitas achatadas (Sharma; Maffulli, 2005).

Um tendão exibe dois tipos diferentes de fibroblastos especializados bem organizados: tenócitos e tenoblastos. Os tenócitos têm forma alongada, enquanto os tenoblastos têm forma ovóide. Na fase de cicatrização do tendão, os tenoblastos estão mais envolvidos no processo de reparação tecidual, depositando fibras colágenas. Finalmente, na última fase de reparo, os tenoblastos são transformados em tenócitos. Os tenoblastos representam aproximadamente 90% a 95% dos fibroblastos do tendão (Bordoni; Varacallo, 2018; Longo; Ronga; Maffulli, 2018). A massa seca dos tendões humanos é aproximadamente 30% da massa total do tendão, com a água respondendo pelo 70% restante (Sharma; Maffulli, 2005).

O epitendão, uma fina bainha de tecido conjuntivo frouxo contendo o suprimento vascular, linfático e nervoso para o tendão, cobre todo o tendão e se estende profundamente dentro dele entre os feixes terciários como o endotendão. O endotendão é uma fina rede reticular de tecido conjuntivo que reveste cada fibra do tendão. Superficialmente, o epitendão é circundado por paratendão. Na junçãomiotendínea, fibrilas de colágeno tendíneas inserem-se em recessos profundos formados pelos prolongamentos dos miócitos, permitindo que a tensão gerada pelas proteínas contráteis intracelulares das fibras musculares seja transmitida às fibrilas de

colágeno. Essa arquitetura complexa reduz a tensão de tração exercida sobre o tendão durante a contração muscular e evita que o colágeno ou a fibra se dobrem, desfiem, cisalhem e falhem (Bordoni; Varacallo, 2018; Sharma; Maffulli, 2005).

O comportamento biomecânico de um tendão está relacionado não apenas com a magnitude do estresse de tensão, mas também com a forma do próprio tendão. Força e resistência de um tendão são, portanto, duas entidades diferentes e dependem do diâmetro e comprimento do próprio tendão. As propriedades biomecânicas do tendão estão relacionadas ao diâmetro e disposição das fibrilas de colágeno (Bordoni; Varacallo, 2018).

Após o apanhado de informações acerca da estrutura tendínea, tem-se que o desarranjo da matriz de colágeno e alterações dos tenócitos levarão a um processo patológico discutido na sequência.

### **3.2. Tendinopatia**

O termo “tendinopatia” define a síndrome clínica caracterizada por uma combinação de dor, edema e desempenho prejudicado. Defende-se o uso do termo “tendinopatia” como um descritor genérico do quadro clínico das condições dentro e ao redor dos tendões decorrentes do uso excessivo. Apesar disso, a maioria dos médicos ainda usa o termo “tendinite” ou “tendinose”, implicando assim que o problema fundamental é inflamatório ou degenerativo. Autores sugerem que os termos “tendinite” e “tendinose” sejam usados somente após exame histopatológico (D’addona *et al.*, 2017; Sharma; Maffulli, 2005).

Elementos multifatoriais, incluindo fatores de risco modificáveis e fatores de risco intrínsecos e extrínsecos não modificáveis, estão envolvidos no desenvolvimento da tendinopatia. A maioria das tendinopatias ocorre em relação às demandas específicas de alta carga que são encontradas em esportes, mas, também, movimentos altamente repetitivos que são comumente observados em tarefas diárias de trabalho e, juntamente com a má ergonomia do local de trabalho, os trabalhadores correm risco maior de desenvolver tendinopatias (Hopkins *et al.*, 2016; Millar *et al.*, 2021).

A etiologia da tendinopatia não é totalmente compreendida, e muitas causas são teorizadas. A isquemia ocorre quando um tendão está sob carga de tração máxima. No relaxamento ocorre a reperfusão, gerando radicais livres de oxigênio; isso pode causar dano ao tendão, resultando em tendinopatia. A peroxirredoxina 5 é uma enzima antioxidante encontrada em tenócitos que protege as células contra danos causados por tais espécies que reagem ao oxigênio. Sua expressão é aumentada na tendinopatia, um achado que sustenta a visão de que o estresse oxidativo pode desempenhar um papel importante no desenvolvimento da tendinopatia. A hipóxia sozinha também pode resultar em degeneração, pois os tendões dependem do metabolismo da energia oxidativa para manter a integridade dos níveis de trifosfato de adenosina (ATP) celular (D'addona *et al.*, 2017; Sharma; Maffulli, 2005).

O processo de tendinopatia envolve tanto a matriz de colágeno quanto os tenócitos. Normalmente, as fibras de colágeno nos tendões são fortemente agrupadas de maneira paralela, mas amostras tendinopáticas mostram crimpagem desigual e irregular, afrouxamento e aumento da ondulação das fibras colágenas, com aumento do colágeno reparador tipo III e glicosaminoglicanos, bem como neovascularização anormal (D'addona *et al.*, 2017; Von Rickenbach *et al.*, 2021).

O processo patológico parece ser iniciado por sobrecarga repetitiva do tendão, levando à lesão estrutural das microscópicas fibrilas de colágeno. Em circunstâncias normais, a lesão precoce da matriz do tendão desencadeia um processo de cicatrização eficaz; no entanto, a baixa capacidade intrínseca de cicatrização do tendão ou a falta de recuperação adequada podem levar ao acúmulo gradual de danos na matriz ao longo do tempo. Essas alterações estruturais iniciais são tipicamente silenciosas clinicamente e, portanto, assintomáticas. O acúmulo progressivo de danos na matriz e as citocinas, quimiocinas, mediadores inflamatórios e nociceptores ativados secretados eventualmente levam à manifestação dos sintomas (Millar *et al.*, 2021).

Considerando que a tendinopatia pode ser desenvolvida nos múltiplos tendões do corpo, a seguir é apresentado como o processo patológico evolui no tendão calcâneo.

### 3.3. Tendinopatia calcânea

O tendão calcâneo, apesar de sua força, é um dos tendões lesionados com maior frequência no corpo humano. Representa, juntamente com o tendão patelar, um dos dois tendões mais frequentemente comprometidos por uso excessivo (Magnan *et al.*, 2014). Estudo realizado por Chen *et al.*, em 2023 avaliou a incidência da tendinopatia calcânea em 3379 corredores (com acompanhamento de cerca de dois meses), e desses, 141 participantes sofreram de tendinopatia calcânea durante o acompanhamento (incidência de 4,2%); os homens tiveram uma incidência mais alta 5,06% em comparação com as mulheres 2,86%; e, os voluntários que estavam participando de corridas de maratona tiveram uma incidência maior (5,0%) do que os participantes que correram em outras distâncias (Chen *et al.*, 2023).

A tendinopatia calcânea é mais comum em corredores de resistência, com uma incidência cumulativa ao longo da vida de 52% (Chen *et al.*, 2023). Entretanto, a doença nem sempre está associada a atividade física excessiva. Em uma série de 31% de 58 tendinopatias do calcâneo os pacientes não participavam de esportes ou atividades físicas vigorosas (Kvist, 1991). A tendinopatia calcânea apresenta, ao longo da vida, uma incidência de 6% na população em geral (Chen *et al.*, 2023).

Além da elevada incidência, existe um impacto negativo substancial da tendinopatia calcânea na qualidade de vida, na produtividade do trabalho e nos custos totais (aproximadamente 840 euros por paciente com tendinopatia calcânea, tratado de forma conservadora anualmente). Uma proporção substancial (25%–60%) de pacientes com tendinopatia calcânea apresenta sintomas durante 5–10 anos. Dada a sua natureza duradoura, a tendinopatia calcânea é um problema de saúde substancial na população ativa de meia-idade (Chen *et al.* 2023).

A apresentação clínica típica da tendinopatia calcânea inclui um trio de dor, edema e função prejudicada. Os pacientes acometidos por essa doença geralmente referem dor no tendão durante o carregamento inicial, diminuindo com a atividade continuada; à medida que a condição se torna crônica, a dor pode ser persistente, resultando em redução ou cessação da atividade (Magnan *et al.*, 2014; Silbernagel; Hanlon; Sprague, 2020).

As duas categorias principais de tendinopatia calcânea são classificadas de acordo com a localização anatômica e incluem tendinopatia insercional (na junção calcâneo-tendão) e não insercional (2 a 6 cm proximal à inserção do tendão no calcâneo) (Li; Hua, 2016).

Os fatores de risco da tendinopatia do calcâneo podem ser divididos em fatores intrínsecos e extrínsecos. Fatores intrínsecos incluem anormalidades biomecânicas da extremidade inferior, como pé pronado, discrepância no comprimento dos membros inferiores, deformidade em varo do antepé, pés cavos, mobilidade limitada da articulação subtalar e condições sistêmicas como aumento da idade, diabetes mellitus, hipertensão e obesidade. Os fatores extrínsecos incluem sobrecarga mecânica excessiva e erros de treinamento (Li; Hua, 2016; Maffulli *et al.*, 2020; Von Rickenbach *et al.*, 2021).

O diagnóstico é feito principalmente pelo exame clínico. Uma queixa típica em pessoas acometidas por essa doença é ter dificuldade para andar devido à dor e rigidez após longos períodos sentados. À medida que a condição progride, a dor pode ocorrer mesmo com pequenos esforços e pode interferir nas atividades de vida diárias. Em casos graves, a dor ocorre em repouso. Na fase aguda, o tendão está difusamente edematoso e a sensibilidade geralmente é maior a cerca de 2 a 6 cm proximal à inserção do tendão. Um edema nodular sensível geralmente está presente em casos crônicos (Longo; Ronga; Maffulli, 2018; Maffulli *et al.*, 2020; Millar *et al.*, 2021).

Na tendinopatia, o tendão torna-se espesso, irregular e acastanhado. O exame histológico do tecido afetado mostra macrófagos, neutrófilos ou outras células inflamatórias além do aumento do número de tenócitos e concentração de glicosaminoglicanos na substância fundamental, desorganização e fragmentação do colágeno e neovascularização (Li; Hua, 2016; Sharma; Maffulli, 2005).

Além das repercussões tendíneas instaladas pelo próprio processo patológico, os tecidos próximos desenvolvem alterações devido ao processo inflamatório presente e ao desuso. Entre os tecidos próximos está o músculo gastrocnêmio (Winnicki *et al.*, 2020) o qual será apresentado a seguir e as possíveis repercussões que sucedem em conjunto com a progressão da doença.

### 3.4. Estrutura muscular

O músculo esquelético é um dos tecidos mais dinâmicos e plásticos do corpo humano. Nos seres humanos, o músculo esquelético compreende aproximadamente 40% do peso corporal total e contém 50-75% de todas as proteínas do corpo (Trovato *et al.*, 2016). Do ponto de vista mecânico, a principal função do músculo esquelético é converter substâncias químicas em energia mecânica para gerar força, manter a postura e produzir movimentos que influenciam a atividade, permitem a participação em atividades sociais e ambientes ocupacionais, mantêm ou melhoram a saúde e contribuem para a independência funcional (Frontera; Ochala, 2015).

A arquitetura do músculo esquelético é caracterizada por um arranjo das fibras musculares e tecido conjuntivo. O músculo é circundado por uma camada de tecido conjuntivo conhecida como epimísio, que está conectado ao tendão. Septos de tecido conjuntivo originam-se do epimísio e circundam feixes de fibras musculares, formando o perimísio (Frontera; Ochala, 2015). Cada fibra muscular (aproximadamente dimensões de 100 µm de diâmetro e 1 cm de comprimento) é circundado por tecido conjuntivo reticular, que constitui o endomísio. O epimísio, perimísio e endomísio vascularizam e inervam o músculo (Trovato *et al.*, 2016). Os tipos de colágeno I e III estão presentes em maior abundância no epimísio, perimísio e camada reticular do endomísio e o colágeno tipo IV na membrana basal (Purslow, 2002).

No corpo humano, diferentes músculos têm diferentes predominâncias relativas dos vários tipos de fibras musculares. A presença de fibras com propriedades diferentes no mesmo músculo pode refletir uma adaptação a diferentes padrões de atividade imposta pelos neurônios motores. A classificação mais utilizada inclui três tipos de fibras: tipo I (de contração lenta, caráter oxidativo e resistente à fadiga), IIA (de contração rápida, caráter oxidativo e propriedades metabólicas intermediárias) e IIB (de contração mais rápida, caráter glicólico e fatigável) (Frontera; Ochala, 2015; Silverthorn, 2017).

A fibra muscular é caracterizada por uma típica faixa cruzada que é o resultado de um arranjo bem definido de miofibrilas no sarcoplasma. As miofibrilas consistem em miofilamentos que estão dispostos de forma organizada respondendo funcionalmente à função contrátil. Há dois tipos de miofilamentos, grossos e finos,

responsáveis pela típica banda cruzada. Os miofilamentos espessos, constituídos por feixes de moléculas de miosina, são caracterizados pela capacidade de se ligar à actina para formar o complexo actina-miosina, também, é uma ATPase capaz de fornecer a energia necessária para a contração. Os miofilamentos finos são estruturalmente compostos de actina que tem função fundamental no papel regulador no mecanismo de contração. O fragmento da miofibrila delimitado por duas linhas Z é denominado sarcômero, que é a unidade funcional da fibra muscular, capaz de gerar contração pelo deslizamento dos filamentos finos sobre os grossos. Em função da ligação dos filamentos finos dos sarcômeros adjacentes ao nível da linha Z, a contração simultânea de sarcômeros individuais resulta na contração de toda a fibra muscular (Bottinelli; Reggiani, 2000; Guyton; Hall, 2011; Squire, 2019).

Cada fibra muscular, próxima de sua porção média, faz sinapse com um neurônio motor somático, chamada de junção neuromuscular (JNM). Essa sinapse permite a comunicação entre  $\alpha$ -motoneurônio e fibras musculares esqueléticas (Neto *et al.*, 2015). A fibra nervosa forma complexo de terminais nervosos ramificados que se invaginam na superfície extracelular da fibra muscular. Assim como todas as outras sinapses, a JNM tem três componentes: (1) o terminal axonal pré-sináptico do neurônio motor, contendo vesículas sinápticas e mitocôndrias, (2) a fenda sináptica e (3) a membrana pós-sináptica da fibra muscular esquelética (Guyton; Hall, 2011).

### **3.5. Tecido muscular e tendinopatia**

O tendão é uma "ponte mecânica" que possibilita a contração do músculo para realizar o movimento final. A saúde do tendão permite que o músculo funcione adequadamente e se adapte melhor às funções que competem a ele. Além disso, um tendão saudável permite um ótimo mecanismo de mecanotransdução para as fibras contráteis, com melhor desempenho (Bordoni; Varacallo, 2018).

Foi possível perceber esse mecanismo descrito por Bordoni e Varacallo (2018), em que o músculo afeta o tendão e o tendão afeta a expressão funcional do músculo. No estudo de Chi *et al.*, (2015), os autores observaram correlação positiva e significativa entre a tendinopatia do glúteo médio e mínimo e a hipotrofia muscular. Este achado também foi perceptível em grupos musculares do ombro em que o

supraespinal se mostrou mais atrofico por desuso por grandes defeitos no manguito rotador (Nakagaki *et al.*, 1994). A degeneração e a ruptura do tendão precedem a hipotrofia dos músculos glúteo médio e mínimo e esses músculos geralmente apresentam hipotrofia desproporcional em comparação com os outros músculos do quadril (Chi *et al.*, 2015). Ainda, outro estudo considera que é possível desenvolver uma hipotrofia do músculo, provavelmente devido à inatividade progressiva do ombro com evolução da tendinopatia, mesmo sem ruptura (Thomazeau *et al.*, 1996).

Alguns estudos mostram a presença de processo inflamatório no músculo supraespinal em resposta a lesões graves no manguito rotador. Sabendo que a inflamação maciça com infiltração de células imunitárias na lesão musculotendínea do manguito rotador impede a regeneração normal do músculo, isto implica que a intervenção com reparação da lesão tendínea e concomitante tratamento adjuvante alvo-específico do estado inflamatório do músculo supraespinal poderia ser um fator de sucesso e ser a chave para melhorar a recuperação muscular do manguito rotador (Frich *et al.*, 2021; Krieger *et al.*, 2017).

Tendo em vista que tratamentos que visam a melhora de lesões tendíneas têm impacto sobre as alterações musculares desenvolvidas, abaixo são apresentados quais tratamentos progredem com a melhora do quadro regenerativo da doença.

### **3.6. Tratamentos**

A cicatrização da lesão do tendão é caracterizada pelo aparecimento de inflamação, seguida de proliferação celular, reparação por deposição de colágeno e produção da matriz extracelular até remodelação; esses eventos são estimulados pela liberação de fatores de crescimento e citocinas por plaquetas no local do reparo (Shaaban *et al.*, 2022). O processo de regeneração ou reparação tecidual também requer relação harmoniosa de vários tipos de células, incluindo células de resposta imune (neutrófilos, macrófagos, linfócitos), células epiteliais, fibroblastos e células-tronco (Ghanaati *et al.*, 2014).

A partir disso, 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 (Von Rickenbach *et al.*, 2021).

Entre os tratamentos utilizados estão os AINE's, embora esse tratamento possa proporcionar algum alívio da dor nesses pacientes, eles não resultam em melhora sustentada no processo de cicatrização (Longo; Ronga; Maffulli, 2018). Além dos AINE's, as injeções de corticosteroides também são utilizadas para o tratamento, porém, as injeções podem prejudicar a resposta fisiológica de cura dos tecidos locais, levando à progressão da doença (Millar *et al.*, 2021).

Exercícios excêntricos têm sido propostos para promover a formação de ligações cruzadas de fibras de colágeno dentro do tendão, facilitando assim a remodelação (Maffulli *et al.*, 2020). Somando ao tratamento de exercícios excêntricos, estão o tratamento com ultrassom terapêutico e a crioterapia. O ultrassom terapêutico é capaz de reduzir o edema na fase inflamatória aguda de distúrbios dos tecidos moles, aliviar a dor e aumentar a função em pacientes com lesões crônicas do tendão e pode melhorar a cicatrização do tendão (Li; Hua, 2016). E a crioterapia desempenha papel na redução do aumento do fluxo sanguíneo capilar na tendinopatia de calcâneo, reduzindo a taxa metabólica do tendão e aplicando-se para o alívio da dor (Sharma; Maffulli, 2005).

Ainda, o tratamento com os concentrados de plaquetas especialmente a injeção de fibrina rica em plaquetas avançada (Dietrich *et al.*; 2015) e o tratamento com a FBM (Tripodi *et al.*, 2021) têm se apresentado potencialmente eficazes no tratamento da tendinopatia calcânea.

### **3.5.1 A-PRF**

Os concentrados de plaquetas são produtos obtidos pela centrifugação de uma amostra de sangue para separar as plaquetas do plasma (Narayanaswamy *et al.*, 2023). São utilizados como aditivos para proporcionar uma melhora na migração celular com a liberação significativa e duradoura de fatores de crescimento, que ativam o sistema imunológico e processo de reparação tecidual, bem como melhorias nas propriedades da rede de fibrina (Pereira *et al.*, 2024).

O plasma rico em plaquetas (PRP), considerado o concentrado de primeira geração, é uma concentração autóloga de fatores de crescimento derivados do

sangue total do paciente centrifugado para atingir concentrações aumentadas. Uma das desvantagens relatadas do PRP é que contém anticoagulantes, evento que interfere com o processo de cura natural, apesar de conter uma série de fatores de crescimento implicados na reparação tecidual (Kobayashi *et al.*, 2016).

Após pesquisas utilizando o PRP, investigações posteriores descobriram que o concentrado de plaquetas feito de sangue sem o uso de anticoagulantes também pode ser utilizado para melhorar a cicatrização de feridas (Choukroun *et al.*, 2001; Choukroun *et al.*, 2006; Dietrich *et al.*; 2015).

A partir da segunda geração, os concentrados foram agrupados em concentrados ricos em plaquetas e fibrina (PRF). A rede tridimensional de fibrina é capaz de imitar a matriz extracelular em termos de sua estrutura, que cria o ambiente para as células funcionarem otimamente (Ghanaati *et al.*, 2014).

A segunda geração levou à fibrina rica em leucócitos e plaquetas (L-PRF), que, além dos fatores de crescimento encontrados em concentrados de plaquetas, também apresenta alta concentração de leucócitos (Jamalpour *et al.*, 2022). Mais recentemente, um novo processo de centrifugação foi proposto, denominado centrifugação de baixa velocidade, cujo objetivo é melhorar a distribuição e a qualidade dos fatores de crescimento nas membranas usado na reconstrução de tecidos. Este novo protocolo forneceu soluções avançadas de fibrina ricas em plaquetas (A-PRF) (Pereira *et al.*, 2024).

O A-PRF parece ser um fornecedor ideal de células (especialmente neutrófilos e macrófagos), assim permitindo a estimulação mútua, criando uma relação sinérgica no interesse do tecido em regeneração (Ghanaati *et al.*, 2014).

Os resultados satisfatórios alcançados com A-PRF na reparação e ganhos teciduais são explicados por conceitos biológicos inerentes às células encontradas neste composto sendo os neutrófilos e linfócitos, mediadores inflamatórios como osteocalcina, osteonectina, fibrinogênio, fibronectina e trombospondina (Narayanaswamy *et al.*, 2023). Muito é explicado pela ação de fatores de crescimento, como o fator de crescimento derivado de plaquetas (PDGF), fator de crescimento endotelial vascular (VEGF), fator de crescimento epidérmico (EGF), fator de crescimento transformante beta (TGF- $\beta$ ) e proteínas da matriz de fibrina, que são encontradas nessas formulações em concentrações mais elevadas do que no sangue

e contribuem diretamente para a aceleração do processo de regeneração tecidual (Caruana *et al.*, 2019; Pereira *et al.*, 2024).

Em estudo realizado por Kobayashi *et al.* (2016) foi observado que o A-PRF liberou a maior quantidade total de fatores de crescimento quando comparado ao PRF ou ao PRP. O PRP demonstrou a capacidade de liberar níveis significativamente mais altos de fatores de crescimento em momentos muito iniciais, enquanto PRF e A-PRF tiveram uma liberação mais gradual de fatores de crescimento até um período de 10 dias. O A-PRF estimulou uma liberação significativamente maior de fatores de crescimento ao longo do tempo quando comparado ao PRF padrão e pode apresentar resultados benéficos para futuros procedimentos regenerativos.

Para o tendão, os principais fatores de crescimento envolvidos são o TGF- $\beta$  e FGF (Schweitzer; Zelzer; Volk, 2010). O TGF- $\beta$  é responsável por induzir quimiotaxia e mitogênese de células indiferenciadas para o local de reparo, ativando a proliferação de fibroblastos, osteoblastos e condroblastos. Já o fator de crescimento fibroblástico (FGF) é capaz de estimular diversos tipos de células, incluindo os fibroblastos, macrófagos, queratinócitos e células endoteliais, e estimular a proliferação e diferenciação celular (Caruana *et al.*, 2019).

Além dos fatores de crescimento já citados, o fator de crescimento semelhante à insulina tipo 1 (IGF-1) auxilia na migração e proliferação de fibroblastos, aumento da expressão de colágeno em tenócitos e síntese de matriz extracelular e diâmetro da fibrila em construções de tendão melhorando a resposta metabólica de fibroblastos de tendão (Shaaban *et al.*, 2022).

### **3.5.2 Fotobiomodulação**

A bioestimulação por meio da irradiação laser é uma forma simples e não invasiva de aliviar a dor e melhorar a cicatrização de feridas (Jamalpour *et al.*, 2022). O médico húngaro Endre Mester foi um pioneiro da medicina a laser, especialmente no uso de terapia a laser de baixa potência. Em 1967, apenas alguns anos após a invenção do primeiro laser funcional, ele iniciou seus experimentos com os efeitos dos lasers no câncer de pele (Hamblin, 2016).

Atualmente, a FBM é utilizada no tratamento de disfunções em articulações, tendões e músculos (Martimbianco *et al.*, 2020; Alzyoud; Omoush; Al-qtaitat, 2022). A FBM contribui para a regeneração tecidual, cicatrização e alívio da dor, estimulando processos celulares, aumentando a ativação de mecanismos bioquímicos e reduzindo a inflamação (Atik, 2018). Quando o tratamento é direcionado para tendinopatia, proporciona proliferação de fibroblastos e aumento da síntese de colágeno, o que aumenta a resistência à tração do tendão (Atik, 2018).

A teoria predominante do mecanismo fisiológico da FBM é baseada na interação entre ATP, óxido nítrico (NO) e citocromo c oxidase (CCO). Em casos de estresse celular, o NO pode se ligar competitivamente ao CCO, deslocando o oxigênio, retardando ou limitando a produção de ATP (Tripodi *et al.*, 2021). Quando aplicada, a FBM reage fotoquimicamente com células-alvo. As mitocôndrias contêm cromóforos que absorvem fótons emitidos da radiação laser. O cromóforo primário que absorve a luz vermelha é o CCO. A absorção resulta na atividade de diversas moléculas como NO, ATP, íons cálcio, espécies reativas de oxigênio (ERO's) e inúmeras outras moléculas de sinalização. A partir disso, o NO é deslocado do CCO, permitindo que o oxigênio interaja livremente com o CCO, aumentando assim a produção de ATP (Dompe *et al.*, 2020; Glass, 2021).

Foi investigado como a FBM afeta o tecido do tendão *in vitro* e em modelos animais. A FBM *in vitro* parece influenciar múltiplos mecanismos relacionados ao crescimento e à proliferação. Especificamente, a FBM pode aumentar a expressão de genes relacionados ao antígeno nuclear de células em proliferação (PCNA) e ao TGF- $\beta$  (Tsai *et al.*, 2014; Chen *et al.*, 2015), expressão de genes relacionados ao colágeno tipo I e decorina (Chen *et al.*, 2008), ambos reguladores chave da resposta de cura. Também foi demonstrado que a FBM diminui a expressão de genes relacionados à inflamação, como TNF- $\alpha$  e interleucina 6 (IL-6) em tenócitos (De Oliveira *et al.*, 2018). Os efeitos positivos da FBM também foram observados em modelos animais de tendinopatia, mostrando melhoras na função em comparação com controles não irradiados (Pires *et al.*, 2011).

Em seres humanos, a FBM é capaz de reduzir a fadiga muscular, melhorar o desempenho do treinamento, aumentar o pico de torque muscular, diminuir o estresse

oxidativo e melhorar o processo de recuperação após uma lesão muscular (Terena *et al.*, 2018).

Uma revisão sistemática realizada por Reis e colaboradores (2022), que incluiu dezenove artigos com objetivo de avaliar a aplicação da fibrina associada à FBM como estratégia para melhorar a regeneração de tecidos concluiu que a FBM contribuiu para melhorar a regeneração tecidual que utilizou compósitos de fibrina como andaimes, constituindo uma importante terapia adjuvante capaz de atuar estimulando a atividade celular, ativação das plaquetas da fibrina, angiogênese, ação osteoblástica, crescimento axonal, ação anti-inflamatória e antiedematosa, potencializando a liberação de fatores de crescimento e remodelação tecidual e aumento da síntese de colágeno (Reis *et al.*, 2022).

### **3. MÉTODO**

#### **3.1 Delineamento do estudo**

O estudo é de caráter longitudinal e experimental. Este estudo é um recorte de um projeto maior intitulado “Efeito terapêutico da fotobiomodulação, ozonioterapia e injeção de fibrina rica em plaquetas avançada na tendinopatia induzida em ratos”.

#### **3.2 Local e período do estudo**

O estudo foi desenvolvido no Laboratório de Biologia Estrutural e Funcional - LABEF e no Laboratório Experimental de Morfologia – LABEM, da Universidade Estadual do Oeste do Paraná em Cascavel. O experimento foi aprovado pela Comissão de Ética no Uso de Animais da Universidade Estadual do Oeste do Paraná no Campus de Cascavel com parecer nº 12-23 (ANEXO A).

#### **3.3 Animais**

Foram utilizados 75 ratos adultos,  $9 \pm 1$  semanas de idade, com média de massa corporal de  $274,77g \pm 5,964g$ , produzidos no Biotério Central da Universidade Estadual do Oeste do Paraná em Cascavel. Os animais foram mantidos em caixas de polipropileno e permaneceram em ambiente climatizado ( $22 \pm 2^\circ C$ ), sob ciclo claro/escuro de 12 horas. Durante todo o experimento foi fornecido aos animais ração peletizada e água *ad libitum*. Os animais foram aclimatizados nos primeiros sete dias e adaptados ao teste funcional nos sete dias seguintes. Após esse período, os animais foram aleatoriamente distribuídos em cinco grupos experimentais com 15 animais em cada grupo.

#### **3.4 Grupos experimentais**

Os grupos foram dispostos na seguinte forma:

Grupo controle (GC): Os animais não receberam procedimentos.

Grupo lesão (GL): Os animais foram submetidos à compressão tendínea para desenvolvimento da lesão e não receberam tratamento.

Grupo fotobiomodulação (GFBM): Os animais foram lesionados e tratados com FBM. A primeira aplicação ocorreu 48 horas após a indução da lesão (D2) e outras duas sessões ocorreram a cada 48 horas (D4 e D6).

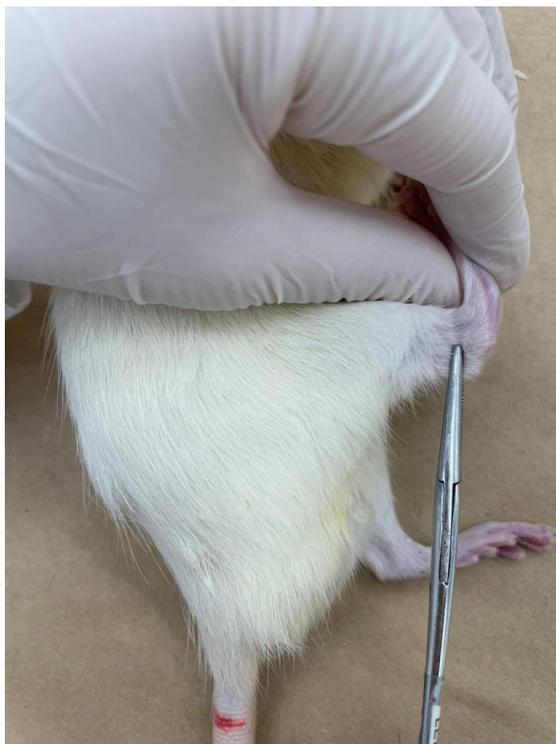
Grupo fibrina rica em plaquetas avançada (GA-PRF): Os animais foram lesionados e tratados com injeção de fibrina rica em plaquetas avançada. A aplicação ocorreu unicamente após 48 horas de indução da lesão (D2).

Grupo fibrina rica em plaquetas avançada + fotobiomodulação (GA-PRF+FBM): Os animais foram lesionados e tratados com injeção de A-PRF e com FBM. A aplicação da injeção ocorreu unicamente após 48 horas de indução da lesão (D2), mas o tratamento com FBM foi aplicado no D2, D4 e D6.

### **3.5 Indução da tendinopatia**

Para a indução da tendinopatia, os animais foram anestesiados com cloridrato de cetamina (75 mg/kg) e cloridrato de xilazina (15 mg/kg), posteriormente, o tendão calcâneo dos animais foi comprimido transversalmente no primeiro dente da cremalheira da pinça Halstead por dois minutos (Carvalho *et al.*, 2006) ilustrado na Figura 1. Após a indução da tendinopatia, os animais retornaram às caixas de polipropileno e o dia desse procedimento foi denominado D0.

Figura 1. Método de indução da tendinopatia calcânea em ratos.



Fonte: própria autora.

### 3.6 Intervenções

Tratamento A-PRF: uma amostra de sangue de 1,5mL foi obtida através de punção cardíaca (Dimauro *et al.*, 2014), de cada animal do grupo correspondente, usando agulha hipodérmica 22G, essa quantidade de sangue coletada é considerada segura conforme Ehrenfest *et al.* (2010). As amostras de sangue foram transferidas para tubos do tipo eppendorf de 2mL e imediatamente centrifugadas a 3000rpm (aproximadamente 400G) por dez minutos (Dohan *et al.*, 2006). Após a centrifugação, o produto apresentou o A-PRF no meio do tubo de ensaio (Figura 2). O A-PRF foi imediatamente retirado do tubo, com agulha hipodérmica 22G, para aplicação no tendão do animal.

Figura 2. Fibrina rica em plaquetas avançada no tubo de ensaio.



Fonte: própria autora.

Tratamento FBM: foi utilizado equipamento de laser de baixa potência, no espectro vermelho (660nm) em modo contínuo, com densidade de energia de 3 J/cm<sup>2</sup> e potência de 30 mW/cm<sup>2</sup>. A caneta foi disposta em um ângulo de 90°, em três pontos distintos, na porção distal, medial e proximal do tendão calcâneo. Para realizar o procedimento os animais foram contidos manualmente. Os parâmetros da aplicação da FBM estão apresentados no Quadro 1.

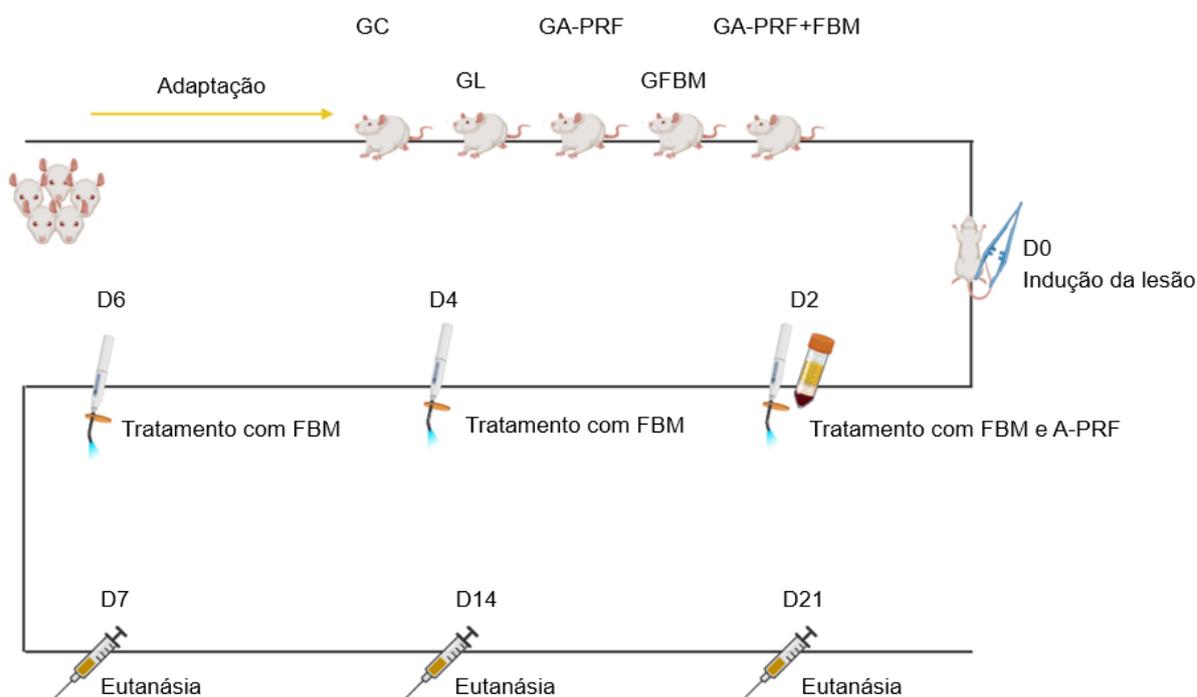
Quadro 1. Parâmetros da fotobiomodulação.

Parâmetro	Características
Comprimento de onda	660nm
Modo de pulso	Onda contínua
Potência	30 mW
Tamanho do ponto do feixe no alvo	0,28cm <sup>2</sup>
Duração da exposição	21 segundos
Fluência (densidade de energia)	3J/cm <sup>2</sup>
Número de pontos irradiados	3
Técnica de aplicação	Modo sem contato

	Distância de 0,5 - 1 cm do alvo
Número e frequência das sessões de tratamento	3 sessões após a indução da lesão, 2º, 4º e 6º dias.
Irradiância no alvo	107,14mW/cm <sup>2</sup>
Energia entregue durante todo o tratamento	7,56J

Na figura 3, o protocolo do estudo está ilustrado em uma linha do tempo.

Figura 3. Linha do tempo do protocolo de estudo.



Criado com: Biorender.com. GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GA-PRF = grupo injeção de fibrina rica em plaquetas. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF+FBM = grupo injeção de fibrina rica em plaquetas mais fotobiomodulação.

### 3.7 Desfechos e procedimentos metodológicos

Dados funcionais foram coletados imediatamente antes da indução no D0. As demais avaliações ocorreram a cada sete dias de acordo com o Quadro 2.

Quadro 2. Cronograma de coleta de dados.

D	Tipos de avaliação	Quantidade de animais por grupo
D0	Avaliação de força de preensão	GC = 15
		GL = 15
		GFBM = 15
		GA-PRF = 15
		GA-PRF+FBM = 15
D7	Avaliação de força de preensão e histológica.	GC = 5
		GL = 4
		GFBM = 4
		GA-PRF = 3
		GA-PRF+FBM = 3
D14	Avaliação de força de preensão e histológica.	GC = 5
		GL = 4
		GFBM = 4
		GA-PRF = 3
		GA-PRF+FBM = 3
D21	Avaliação de força de preensão e histológica.	GC = 5
		GL = 4
		GFBM = 5
		GA-PRF = 4
		GA-PRF+FBM = 3

### 3.8 Análises

Avaliação de força de preensão: foi realizada através de um transdutor que analisa a força de preensão (Insight®). Os membros escapulares do animal foram contidos de forma manual assim como o membro pélvico esquerdo para que não houvesse interferência de força no teste. Em seguida, os animais foram posicionados de modo que o membro pélvico direito estivesse agarrado a grade, sendo em seguida, tracionado posteriormente pelo tronco com força crescente até que a preensão exercida pelo membro pélvico direito fosse perdida (Bertelli; Mira, 1995) ilustrado na Figura 4. A partir disso, o aparelho mediu a força exercida pelo animal para manter a preensão. Foi utilizado a média, obtida de três medidas.

Figura 4. Avaliação da força de preensão do membro pélvico direito de ratos.



Fonte: própria autora.

Para as demais análises, os animais foram submetidos ao procedimento de eutanásia por overdose com aplicação de cetamina 180 mg/kg e xilazina 30 mg/kg, por via intraperitoneal (Favoretto; Seabra; Olivato, 2019). Os animais de cada grupo (Quadro 2) foram submetidos a eutanásia aos sete, quatorze e vinte e um dias de experimento (D7, D14 e D21, respectivamente). Em seguida foi coletado o músculo

gastrocnêmio do membro pélvico direito. O músculo foi dissecado, removido, medido com paquímetro manual, pesado em balança analítica (Bel®) e seccionado em fragmentos.

Procedimentos histológicos: os fragmentos musculares distais mediais da cabeça lateral do músculo gastrocnêmio foram fixados em Metacarn (70% Metanol + 20% clorofórmio + 10% de ácido acético glacial) por 24 horas e posteriormente armazenados em álcool 70%. Foi realizada a troca do álcool 70% após as primeiras 24 horas e novamente após o terceiro e quinto dias, no qual permaneceu armazenado até o processamento histológico. Para a confecção das lâminas, foi realizado o processo de desidratação em série alcóolica crescente, diafanização em álcool n-butílico e inclusão em parafina histológica (Suvarna; Layton; Bancroft, 2019). Posteriormente, o músculo foi seccionado no micrótomo Leipzig em cortes transversais de 7µm de espessura e confeccionadas lâminas histológicas, coradas em Hematoxilina e Eosina (HE) e Picrosirius-red (PSR) (Junqueira; Bignolas; Brentani, 1979).

Análise histomorfométrica das fibras musculares: após a confecção das lâminas, as mesmas foram coradas em HE. Para análise geral do tecido muscular foram utilizados os parâmetros da análise adaptada do índice patológico para o tecido muscular de Zazula *et al.*, (2022), que pontuou um score de 0 a 6 (sendo 0 = nenhuma, 2 = mínima, 4 = moderada e 6 = grande) de acordo com a extensão da doença, esse índice está apresentado no Quadro 3. Para a análise geral do tecido muscular e posterior análise quantitativa do tecido as lâminas foram visualizadas em objetiva de 40x e fotomicrografadas no mesmo aumento. Para a análise quantitativa dez campos por animal foram analisados para mensurar a área, diâmetro maior e menor das fibras musculares, o número total de fibras musculares, núcleos e capilares, e a relação núcleo/fibra e capilar/fibra. Foram analisadas todas as fibras musculares, núcleos e capilares que apareceram na fotomicrografia por completo.

Quadro 3. Parâmetros para análise do índice patológico.

Padrão de reação	Alteração		Fator de importância (w)
Distúrbios circulatórios e inflamatórios		Hemorragia/hiperemia/aneurisma	1
		Edema intersticial	1
		Exsudato	2
		Infiltrado inflamatório	2
Mudanças regressivas	Alterações de fibras musculares	Fibras arredondadas	2
		Fibras anguladas	2
		Fibras de divisão	2
		Degeneração hialina	3
		Vacuolização	3
		Inclusões sarcoplasmáticas	2
		Atrofia	2
		Necrose	3
		Núcleos centrais	2
		Halo basofílico	2
	Núcleos aumentados	2	
	Alterações a tecidos associados	Presença de tecido adiposo	2
		Alteração no tecido nervoso	2
Alterações de fusos		2	
Mudanças progressivas	Tecido muscular	Hipertrofia	1
		Hiperplasia	2
	Tecido conjuntivo	Hipertrofia	1
		Hiperplasia	2
Neoplasias		Benigna	2
		Maligna	3

Análise histomorfométrica do tecido conjuntivo: após a confecção das lâminas, as mesmas foram coradas em Picrosirius-Red. Para a análise as lâminas foram observadas e dez campos por animal foram fotomicrografados em objetiva de 20x. O

tecido conjuntivo foi mensurado e diferenciado por meio da porcentagem de pixels contabilizados na imagem.

Procedimento histoquímico e análise morfométrica das junções neuromusculares: para análise das junções neuromusculares, fragmentos distais laterais da cabeça medial do músculo gastrocnêmio foram fixados em Karnovsky (1965). Esse fragmento foi cortado longitudinalmente em diversas fatias com lâmina de aço inoxidável e os cortes obtidos foram submetidos à reação de esterase inespecífica (Lehrer; Ornstein, 1959). Para morfometria, a área, o maior e o menor diâmetro de cem junções neuromusculares de cada animal foram medidas nas imagens microscópicas em objetiva 20x.

As análises morfológicas e morfométricas do músculo gastrocnêmio foram baseadas em imagens obtidas por uma câmera Olympus DP71 (Tóquio, Japão) acoplada a um microscópio Olympus Bx60® utilizando o programa DP Controller 3.2.1 276.

Todos os parâmetros quantitativos analisados nas imagens da coloração de HE, PSR e da reação de esterase inespecífica para JNM, foram mensurados utilizando o programa Image-Pro Plus 6.0.

### **3.9 Processamento e análise de dados**

Os dados estão apresentados por meio de estatísticas descritivas, média e desvio padrão.

Para o cálculo amostral foi utilizado tamanho de efeito de 0,53, alfa de 5% e poder de 95%, o cálculo foi realizado no programa G\*Power.

Para análise inferencial foi utilizado o Modelo Linear Generalizado, com pós teste LSD. Foi adotado o nível de significância de 5%. Todas as análises foram realizadas no software SPSS 20.0.

Os tamanhos de efeito foram calculados pelo g de Hedges com a seguinte interpretação: insignificante <0,19; pequeno 0,20 – 0,49; médio 0,50 – 0,79; grande 0,80 – 1,29; muito grande > 1,30.

## 4 RESULTADOS

Foram eutanasiados 59 animais. Devido à anestesia e à punção cardíaca 16 animais foram perdidos durante o experimento, sendo três animais do GL, dois animais do GFBM, cinco animais do GA-PRF e seis animais do GA-PRF+FBM.

### 4.1 Massa corporal dos animais

O GL apresentou redução de 10,20% da massa corporal em relação ao GC, sendo significativamente menor ( $p < 0,001$ ). O mesmo foi observado no GFBM, com redução de 10,48% em relação ao GC ( $p < 0,001$ ), no GA-PRF com redução de 14,18% ( $p < 0,001$ ) e no GA-PRF+FBM com redução de 9,31% ( $p = 0,01$ ). Não houve diferença significativa quanto ao comprimento e largura do músculo gastrocnêmio entre os grupos. Porém, quando comparado à massa do músculo gastrocnêmio o GL apresentou redução em 5,99% em relação ao GC ( $p < 0,001$ ). O mesmo foi observado no GFBM, com redução de 7,01% em relação ao GC ( $p = 0,00$ ), no GA-PRF com redução de 11,59% ( $p < 0,001$ ) e no GA-PRF+FBM com redução de 3,84% ( $p = 0,01$ ). Os dados estão apresentados no quadro abaixo.

Quadro 4. Medidas antropométricas dos animais.

Grupos	Massa corporal dos animais (g)	Massa do músculo (mg)	Comprimento do músculo (mm)	Largura do músculo (mm)
GC	301,400 ± 6,5423 <sup>a</sup>	1,4112 ± 0,913 <sup>a</sup>	24,47 ± 0,601 <sup>a</sup>	19,13 ± 0,678 <sup>a</sup>
GL	270,667 ± 5,8752 <sup>b</sup>	1,3266 ± 0,864 <sup>b</sup>	23,91 ± 0,702 <sup>a</sup>	18,27 ± 0,792 <sup>a</sup>
GFBM	269,800 ± 5,8563 <sup>b</sup>	1,3122 ± 0,849 <sup>b</sup>	24,54 ± 0,646 <sup>a</sup>	18,77 ± 0,729 <sup>a</sup>
GA-PRF	258,667 ± 5,6147 <sup>b</sup>	1,2476 ± 0,776 <sup>b</sup>	23,60 ± 0,736 <sup>a</sup>	17,30 ± 0,831 <sup>a</sup>

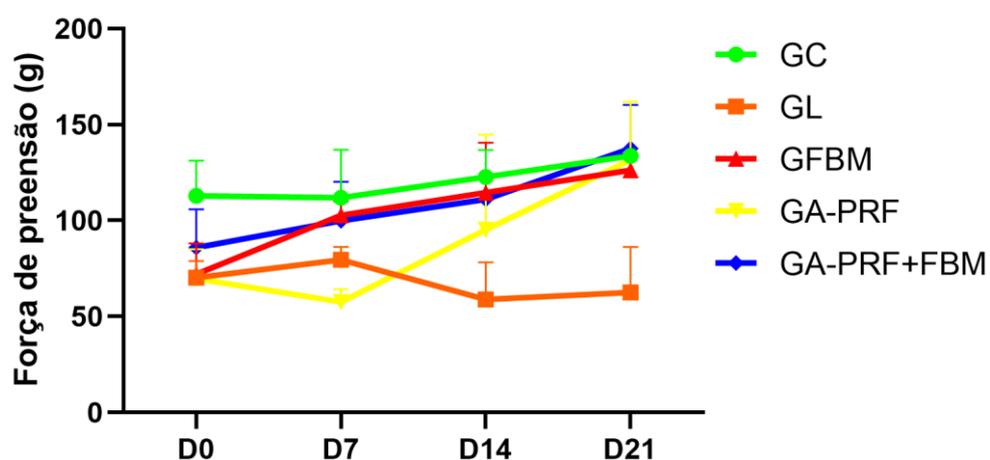
GA- PRF+FBM	273,333 ± 5,9330 <sup>b</sup>	1,3570 ± 0,749 <sup>b</sup>	24,44 ± 0,776 <sup>a</sup>	19,33 ± 0,876 <sup>a</sup>
----------------	----------------------------------	-----------------------------	----------------------------	-------------------------------

Medidas antropométricas dos animais entre dez e treze semanas de idade. GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF = grupo fibrina rica em plaquetas avançada. GA-PRF+FBM = grupo fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação. (g) = gramas. (mg) = miligramas. (mm) = milímetros. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Modelo Linear Generalizado.

## 4.2 Teste funcional

No que diz respeito ao teste funcional de força de preensão, a média de força muscular no GC se manteve maior que os outros grupos ao longo dos primeiros 14 dias (D0: 112,99 ± 22,24, D7: 111,99 ± 14,37 e D14: 122,83 ± 20,64), mas ao final dos 21 dias (D21: 133,83 ± 22,04) o GC se mostrou semelhante à média de força dos demais grupos com exceção do GL. O GL manteve sua força muscular durante a primeira semana (D0: 70,21 ± 26,69 e D7: 79,66 ± 12,08), mas apresentou redução da força a partir da segunda semana (D14: 58,99 ± 39,22) e concluiu o experimento com a menor média de força muscular entre os grupos (D21: 62,66 ± 44,36). O GFBM apresentou aumento gradativo da força muscular durante as semanas (D0: 72,16 ± 14,34, D7: 102,83 ± 24,96, D14: 114,50 ± 33,45 e D21: 126,33 ± 19,52). O GA-PRF apresentou queda na força muscular na primeira semana (D0: 69,71 ± 17,62 e D7: 57,66 ± 6,98), mas recuperou a força muscular nas semanas seguintes (D14: 95,33 ± 35,44 e D21: 131,50 ± 22,81). O GA-PRF+FBM apresentou aumento gradativo da força muscular ao longo das semanas (D0: 85,99 ± 24,76, D7: 99,99 ± 22,92, D14: 111,16 ± 3,02 e D21: 137,66 ± 34,69). Essas informações estão ilustradas na Figura 5 e tratadas estatisticamente pelo tamanho de efeito no Quadro 5.

Figura 5. Linha do tempo para força de preensão do músculo gastrocnêmio de ratos.



GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF = grupo fibrina rica em plaquetas avançada. GA-PRF+FBM = grupo fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação. (g) = gramas.

Quadro 5. Análise de tamanho de efeito da força muscular.

Grupos	Dia da avaliação	Dia da avaliação	Tamanho de efeito
GC	D0	D7	-0,051
		D14	0,567
		D21	1,257
GL	D0	D7	1,126
		D14	-0,998
		D21	-0,599
GFBM	D0	D7	2,079
		D14	2,746
		D21	3,701
GA-PRF	D0	D7	-0,884
		D14	1,042
		D21	3,334

GA-PRF+FBM	D0	D7	0,701
		D14	1,375
		D21	2,552

GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF = grupo fibrina rica em plaquetas avançada. GA-PRF+FBM = grupo fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação. Tamanhos de efeito calculados pelo g de Hedges com a seguinte interpretação: insignificante <0,19; pequeno 0,20 – 0,49; médio 0,50 – 0,79; grande 0,80 – 1,29; muito grande > 1,30.

### 4.3 Análise morfológica e histomorfométrica do tecido muscular

Não houve diferença no músculo gastrocnêmio entre os grupos segundo a análise do índice patológico para Zazula *et al.*, (2020), sendo que para todas as alterações descritas no quadro foi pontuado como 0 (Figura 6).

Quando analisada a área, diâmetro maior e diâmetro menor da fibra muscular, não foi encontrada diferença significativa entre os grupos. O mesmo foi observado para o número de fibras musculares, núcleos e capilares (Quadro 6). A relação núcleo fibra também não se mostrou estatisticamente significativa. Porém, para a relação capilar fibra, os GC e GFBM se mostraram maiores do que o GA-PRF ( $p = 0,01$  e  $p = 0,01$ ) (Figura 7).

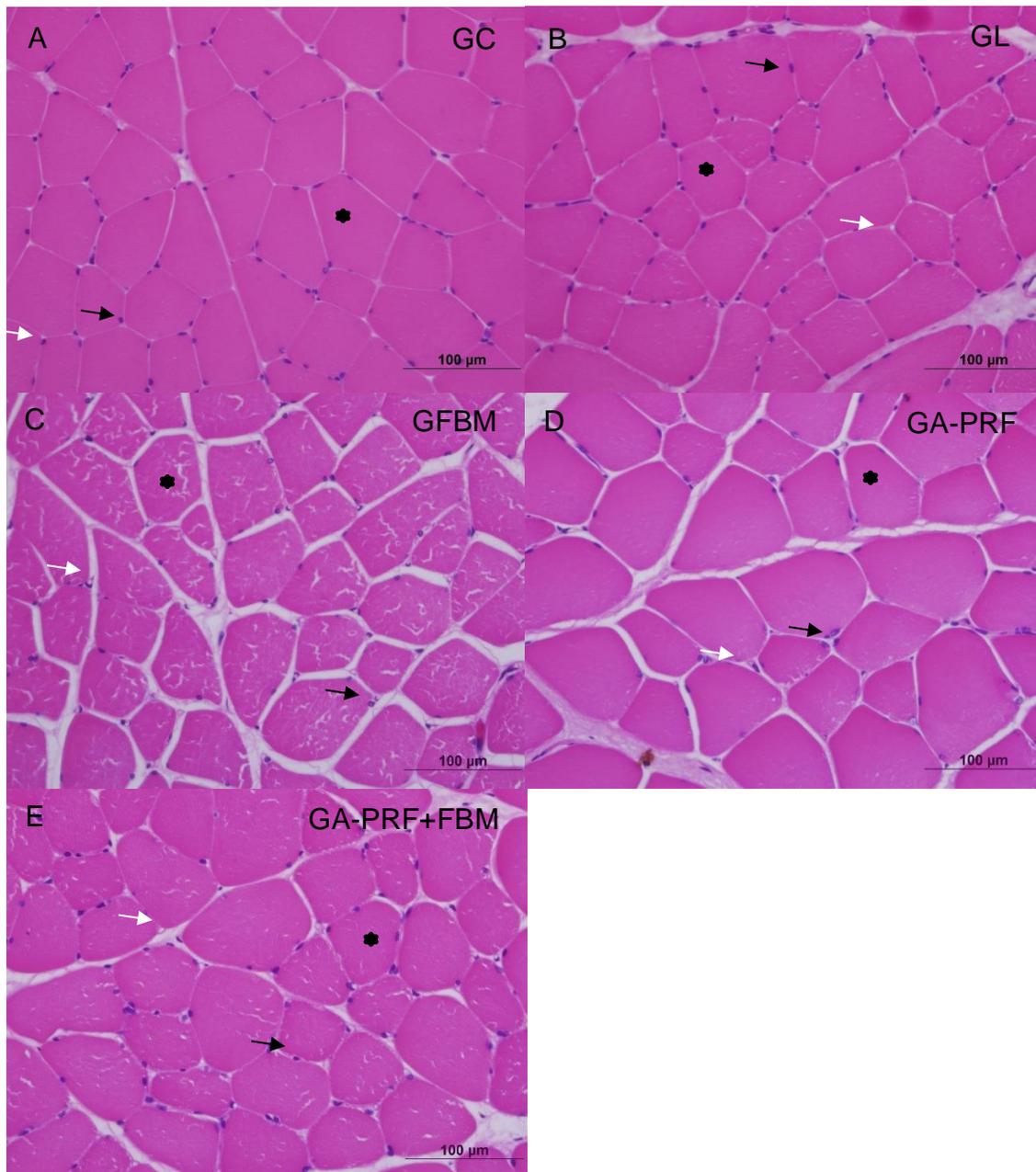
Quadro 6. Parâmetros histomorfométricos da fibra muscular do gastrocnêmio de ratos.

Grupos	Área ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro maior ( $\mu\text{m}$ )	Diâmetro menor ( $\mu\text{m}$ )	Número de fibras	Número de núcleos	Número de capilares
GC	3863,06 $\pm 198,14^a$	79,18 $\pm$ 2,29 <sup>a</sup>	55,47 $\pm$ 1,48 <sup>a</sup>	21,46 $\pm$ 1,05 <sup>a</sup>	43,70 $\pm$ 1,47 <sup>a</sup>	15,23 $\pm$ 1,62 <sup>a</sup>
GL	3319,60 $\pm 170,27^a$	72,08 $\pm$ 2,08 <sup>a</sup>	51,80 $\pm$ 1,38 <sup>a</sup>	24,01 $\pm$ 1,05 <sup>a</sup>	42,26 $\pm$ 1,42 <sup>a</sup>	15,80 $\pm$ 1,68 <sup>a</sup>
GFBM	3498,50 $\pm 179,45^a$	74,22 $\pm$ 2,14 <sup>a</sup>	52,83 $\pm$ 1,41 <sup>a</sup>	23,20 $\pm$ 1,05 <sup>a</sup>	41,13 $\pm$ 1,38 <sup>a</sup>	16,41 $\pm$ 1,75 <sup>a</sup>

GA-PRF	3562,62 ± 182,73 <sup>a</sup>	75,34 ± 2,18 <sup>a</sup>	53,51 ± 1,43 <sup>a</sup>	22,15 ± 1,05 <sup>a</sup>	38,70 ± 1,30 <sup>a</sup>	11,80 ± 1,25 <sup>a</sup>
GA- PRF+FB M	3503,24 ± 179,69 <sup>a</sup>	73,94 ± 2,13 <sup>a</sup>	52,70 ± 1,41 <sup>a</sup>	22,18 ± 1,05 <sup>a</sup>	39,41 ± 1,32 <sup>a</sup>	12,93 ± 1,37 <sup>a</sup>

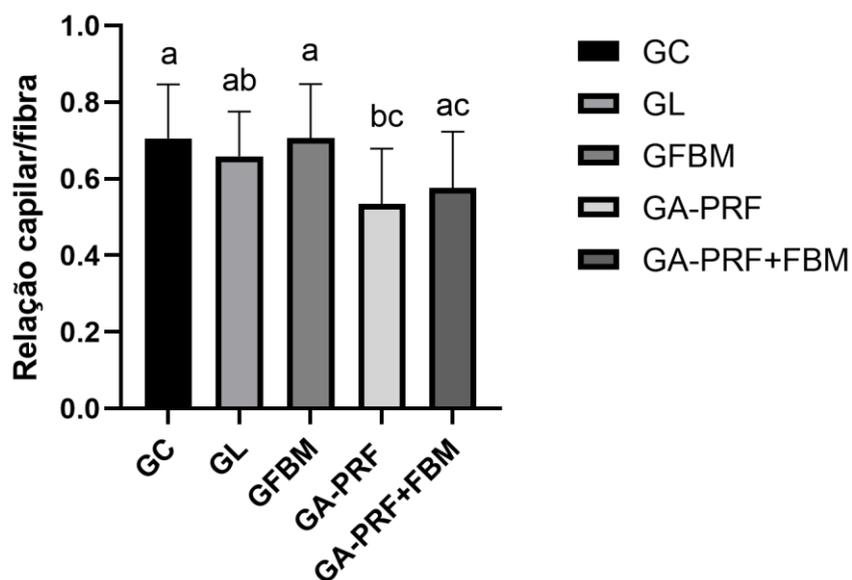
Parâmetros histomorfométricos da fibra muscular do músculo gastrocnêmio de ratos entre dez e treze semanas de idade. GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF = grupo fibrina rica em plaquetas avançada. GA-PRF+FBM = grupo fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação.  $\mu\text{m}$  = micrometro. Valores seguidos pela mesma letra não diferem significativamente entre si pelo teste de Modelo Linear Generalizado.

Figura 6. Fibra muscular corada em HE do músculo gastrocnêmio de ratos.



Fotomicrografias do músculo gastrocnêmio de ratos com idade entre dez e treze semanas. Secção transversa da fibra muscular corada em hematoxilina e eosina em aumento de 40x (A-E). GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF = grupo fibrina rica em plaquetas avançada. GA-PRF+FBM = grupo fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação. (A-E) fibra muscular poligonal (asterisco), núcleo periférico (seta preta), e capilar sanguíneo (seta branca).

Figura 7. Comparação entre grupos da relação capilar/fibra.



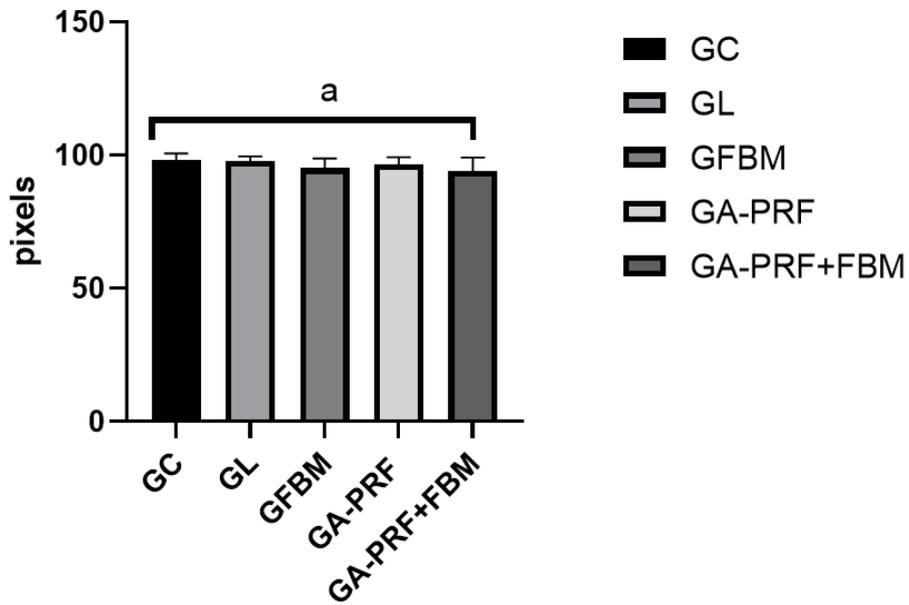
GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF = grupo fibrina rica em plaquetas avançada. GA-PRF+FBM = grupo fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação.

#### 4.4 Análise histomorfométrica do tecido conjuntivo

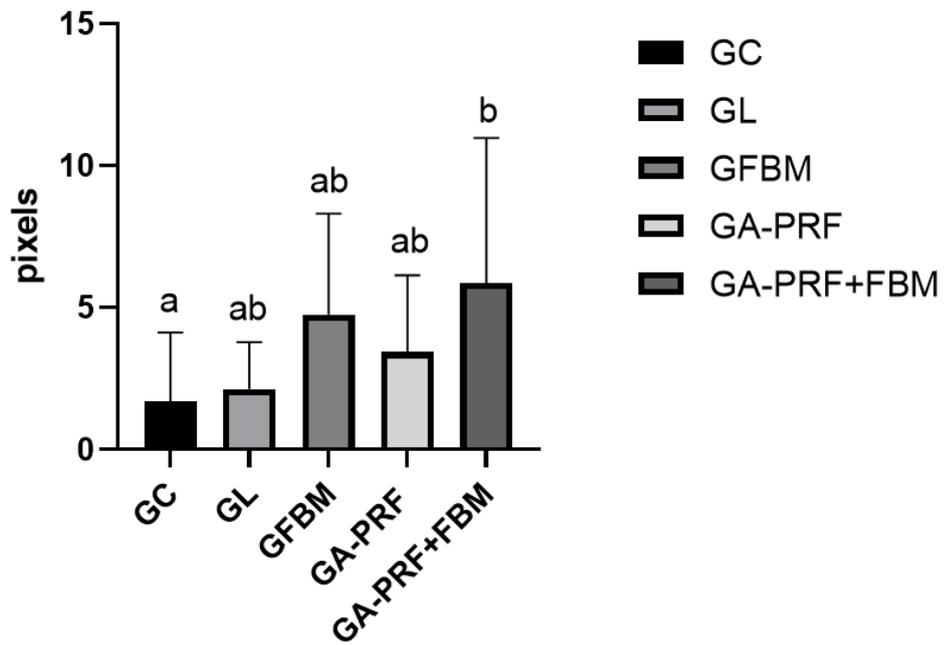
Ao analisar o colágeno tipo I, nenhuma diferença estatística foi observada entre os grupos. Porém, ao analisar o colágeno tipo III, foi observado que o GA-PRF+FBM apresentou diferença estatística desse tipo de colágeno no músculo gastrocnêmio em relação ao GC ( $p = 0,03$ ). E, ao analisar o tecido conjuntivo, o GL apresentou diferença estatística em comparação ao GC ( $p < 0,001$ ) (Figura 8 e 9).

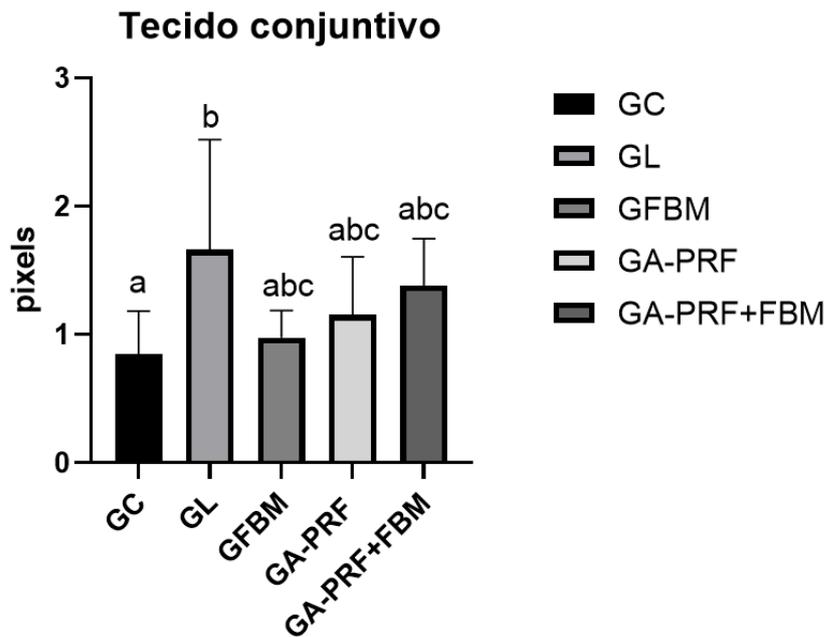
Figura 8. Parâmetros histomorfométricos do tecido conjuntivo do músculo gastrocnêmio de ratos.

### Colágeno tipo I



### Colágeno tipo III





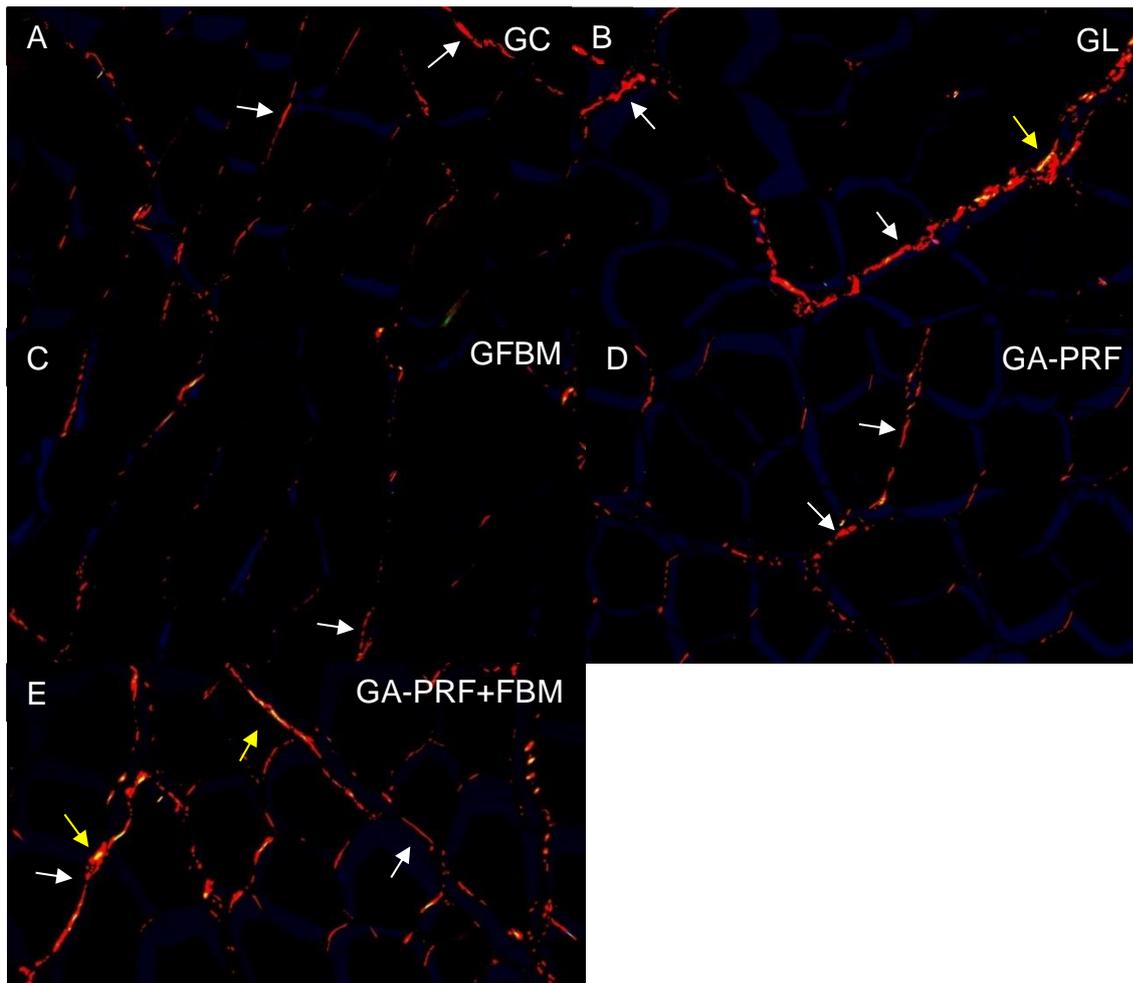
GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF = grupo fibrina rica em plaquetas avançada. GA-PRF+FBM = grupo fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação.

Quadro 7. Análise de tamanho de efeito do tecido conjuntivo.

Grupo		Grupo	Colágeno I	Colágeno III	Tecido conjuntivo
Controle	X	Lesão	0,192	0,206	0,81
Controle	X	FBM	1,018	1,005	0,45
Controle	X	A-PRF	0,661	0,676	0,754
Controle	X	A-PRF+FBM	1,049	1,041	1,515

FBM = fotobiomodulação. A-PRF = fibrina rica em plaquetas avançada. A-PRF+FBM = fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação. Tamanhos de efeito calculados pelo g de Hedges com a seguinte interpretação: insignificante <0,19; pequeno 0,20 – 0,49; médio 0,50 – 0,79; grande 0,80 – 1,29; muito grande > 1,30.

Figura 9. Fibra muscular corada em PSR do músculo gastrocnêmio de ratos.



Fotomicrografias do músculo gastrocnêmio de ratos com idade entre dez e treze semanas. Secção transversa após coloração em Picrosirius-red em aumento de 20x (A-E). GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF = grupo fibrina rica em plaquetas avançada. GA-PRF+FBM = grupo fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação. (A-E) seta branca (colágeno tipo I), seta amarela (colágeno tipo III).

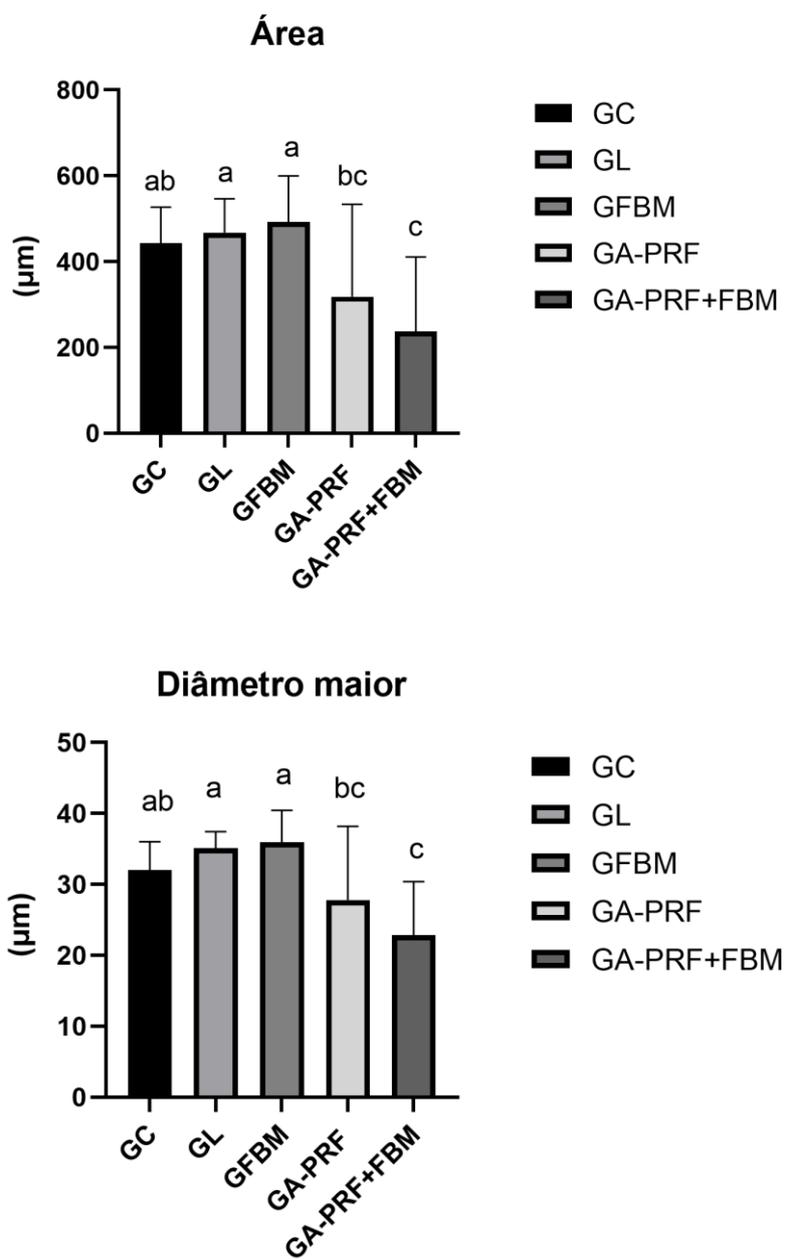
#### 4.5 Análise histomorfométrica das Junções Neuromusculares

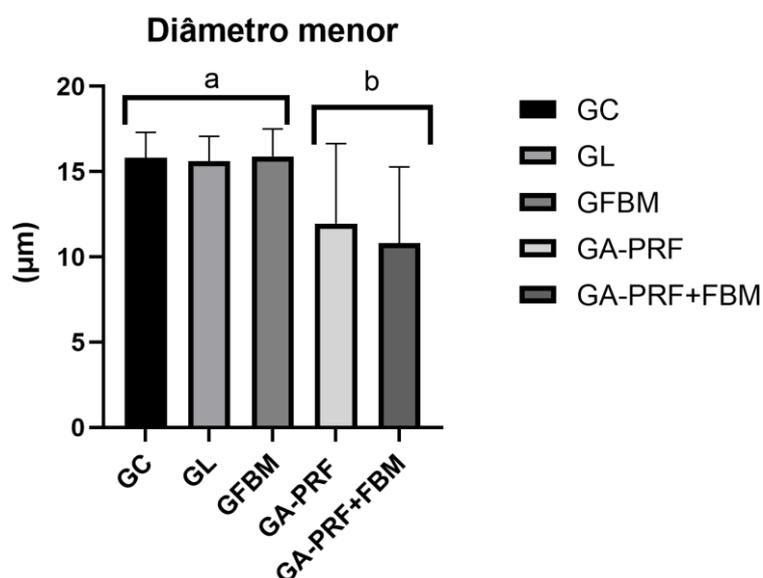
O GA-PRF+FBM se mostrou com área menor que o GC ( $p = 0,01$ ). A área das JNM's do GL é estatisticamente maior em relação ao GA-PRF ( $p = 0,05$ ) e ao GA-PRF+FBM ( $p < 0,001$ ). O GFBM apresentou maior área de JNM's significativa em relação ao GA-PRF ( $p = 0,02$ ) e GA-PRF+FBM ( $p < 0,001$ ) (Figura 10 e 11).

O GA-PRF+FBM se mostrou com diâmetro maior das JNM's menor que o GC ( $p = 0,01$ ). O GL e o GFBM também se mostraram significativamente maiores em relação aos grupos GA-PRF ( $p = 0,03$  e  $p = 0,02$ ) e GA-PRF+FBM ( $p < 0,001$  e  $p < 0,001$ ) (Figura 10 e 11).

O diâmetro menor das JNM's se mostrou com maior média nos grupos GC, GL e GFBM. Os quais apresentaram significância estatística maiores em relação aos grupos que fizeram o uso do A-PRF, que foram o GA-PRF ( $p = 0,02$ ;  $p = 0,03$  e  $p = 0,02$ ) e o GA-PRF+FBM ( $p = 0,00$ ;  $p = 0,00$  e  $p = 0,00$ ) (Figura 10 e 11).

Figura 10. Parâmetros histomorfométricos das JNM's do músculo gastrocnêmio de ratos.





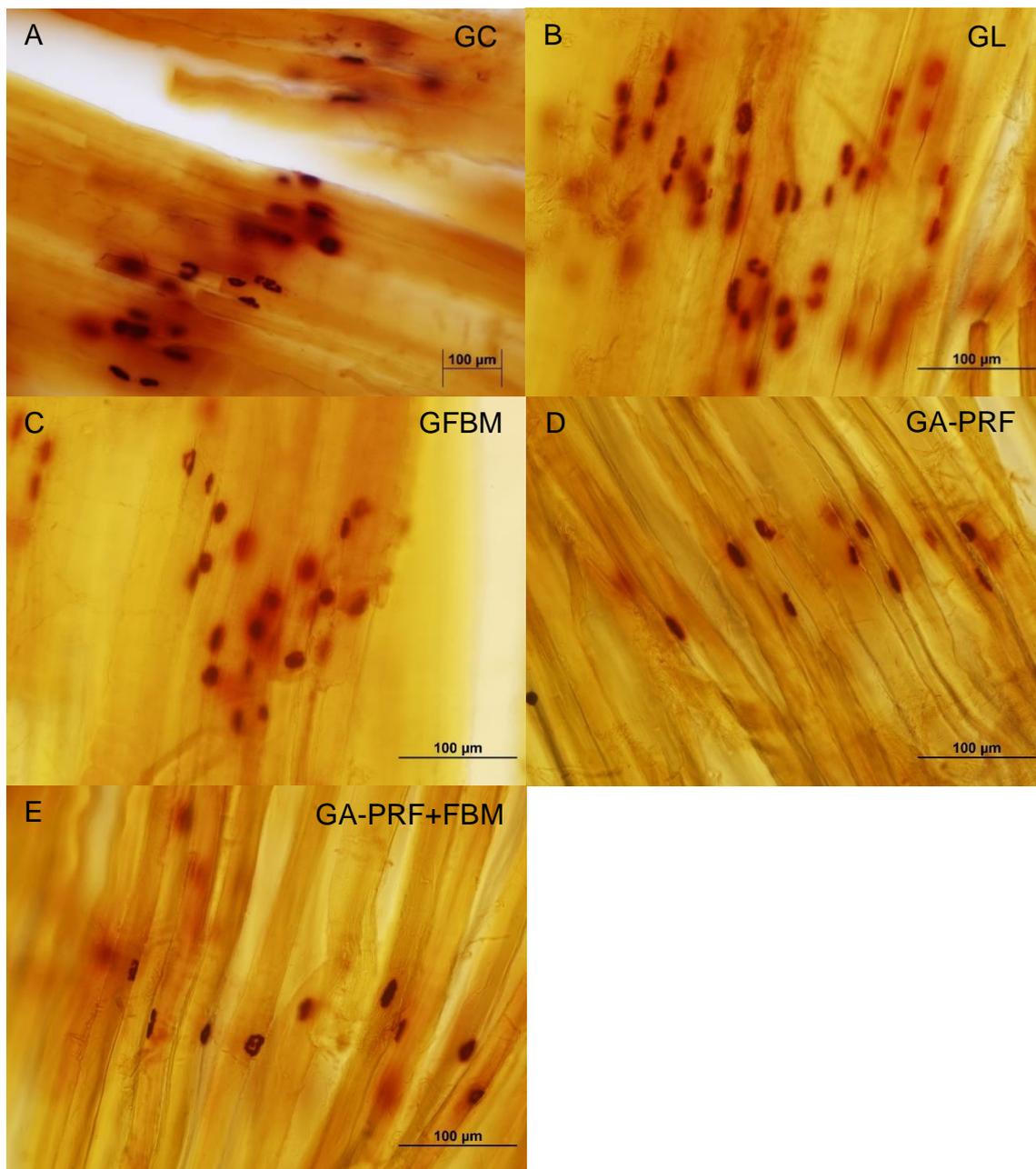
GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF = grupo fibrina rica em plaquetas avançada. GA-PRF+FBM = grupo fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação. µm = micrometro.

Quadro 8. Análise de tamanho de efeito das Junções Neuromusculares.

Grupo		Grupo	Área	Diâmetro maior	Diâmetro menor
Controle	X	Lesão	0,307	0,947	0,136
Controle	X	FBM	0,509	0,918	0,064
Controle	X	A-PRF	0,765	0,533	1,093
Controle	X	A-PRF+FBM	1,507	1,511	1,5

FBM = fotobiomodulação. A-PRF = fibrina rica em plaquetas avançada. A-PRF+FBM = fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação. Tamanhos de efeito calculados pelo g de Hedges com a seguinte interpretação: insignificante <0,19; pequeno 0,20 – 0,49; médio 0,50 – 0,79; grande 0,80 – 1,29; muito grande > 1,30.

Figura 11. Fotomicrografia das Junções Neuromusculares do músculo gastrocnêmio de ratos.



Fotomicrografias do músculo gastrocnêmio de ratos com idade entre dez e treze semanas. Secção longitudinal após a reação de esterase inespecífica em aumento de 20x (A-E). GC = grupo controle. GL = grupo lesão. GFBM = grupo fotobiomodulação. GA-PRF = grupo fibrina rica em plaquetas avançada. GA-PRF+FBM = grupo fibrina rica em plaquetas avançada mais fotobiomodulação.

## 5 DISCUSSÃO

O presente estudo analisou as repercussões de uma lesão em tendão calcâneo, tratado com FBM e A-PRF, no gastrocnêmio de ratos wistar. O modelo de lesão utilizado, apresentado na literatura, visa mimetizar uma lesão do tendão (Carvalho *et al.*, 2006; Nakazawa *et al.*, 2024). Contudo, no presente estudo foi realizada adaptação pela compressão direta sobre a pele. Apesar de utilizado para análise do tendão, os estudos de Carvalho *et al.* (2006) e Nakazawa *et al.* (2024), não analisaram os músculos periarticulares para comprovar a extensão da lesão.

Com a análise de tamanho de efeito foi possível observar que os animais do GL apresentaram declínio da força muscular ao longo das semanas, o que pode estar associado à inibição muscular artrogênica, a qual representa um mecanismo de proteção desencadeada pela lesão dos músculos periarticulares ou estruturas articulares que protegem os músculos do aumento do estresse após lesões (Anjos *et al.*, 2023). A inibição muscular artrogênica diminui a eficiência do recrutamento de motoneurônios e a capacidade de ativação autônoma dos músculos, ativando interneurônios inibitórios que fazem sinapse com neurônios motores (Dong *et al.*, 2024). Posteriormente, à medida que os sintomas inflamatórios agudos diminuem, as alterações neurológicas persistem, levando a déficits de longo prazo na ativação muscular. No estudo de Kim *et al.* (2024), foi encontrada associações positivas moderadas entre inibição artrogênica do sóleo e incapacidade do tornozelo em pacientes com entorses agudas do tornozelo.

O aumento do tecido conjuntivo no músculo lesionado é uma resposta comum do organismo após uma lesão muscular. Isso faz parte do processo de cicatrização, em que ocorre uma infiltração de células inflamatórias e uma formação de tecido fibroso para reparar o dano (Macedo *et al.*, 2016). O GL apresentou tecido conjuntivo elevado em comparação ao GFBM e ao GC, esse aumento da densidade do tecido conjuntivo é característico do músculo esquelético em processo de fibrose (Macedo *et al.*, 2016).

A terapia por FBM no espectro vermelho é amplamente utilizada em lesões de pele e/ou superficiais, sendo eficaz para estimular fibroblastos (Dungel *et al.*, 2023).

Por esse motivo foi utilizado o comprimento de onda de 660nm, pois o tendão calcâneo encontra-se superficialmente sob a pele e, para promover o reparo, é necessário o estímulo aos fibroblastos (Cavalcanti *et al.*, 2024).

Os grupos tratados com FBM apresentaram aumento gradativo da força muscular observado pela análise de tamanho de efeito. É conhecido na literatura que a FBM é utilizada para acelerar a recuperação muscular, reduzir a fadiga e potencializar o desempenho em atividades físicas (Atik, 2018). Há algumas hipóteses que explicam o mecanismo pelo qual a FBM auxilia no ganho de força muscular. Rossato *et al.* (2020) apontam que a luz é absorvida pela citocromo C oxidase (CCO), uma enzima mitocondrial que estimula a cadeia de transporte de elétrons. Isso eleva a produção de ATP, fornecendo mais energia para as células musculares durante o exercício. Já Ferraresi *et al.* (2011), relatam que a FBM pode levar à ressíntese de fosfocreatina, aumentando a atividade mitocondrial e restaurando a energia necessária para a atividade contrátil muscular. E ainda, a FBM estimularia a remoção e oxidação do ácido láctico, um coproduto do metabolismo anaeróbico e indutor de fadiga, prevenindo ou retardando a perda de desempenho (Serighelli *et al.*, 2024).

O desenvolvimento de uma nova rede de vasos no local da lesão é extremamente importante para uma regeneração muscular bem-sucedida (Alves *et al.*, 2014). Esse processo ocorre sob a atividade sinérgica de fatores de crescimento, o VEGF, especialmente desempenha papel muito importante, exercendo diferentes efeitos sobre o endotélio vascular, incluindo a proliferação de células endoteliais, sobrevivência dessas células através da inibição da apoptose, aumento da permeabilidade vascular, vasodilatação, migração e adesão de células endoteliais e subsequente fusão entre novos vasos (Melincovici *et al.*, 2018), promovendo, dessa forma, o processo denominado como angiogênese (Assis *et al.*, 2012; Assis *et al.*, 2013).

No presente estudo, foi observado que o GFBM manteve a relação capilar por fibra semelhante ao do GC. O que indica que não houve perda de capilares como no GA-PRF, que mostrou essa medida reduzida em comparação ao GFBM e GC. Esse achado vai ao encontro do estudo de Nakano *et al.* (2009), onde a razão capilar-miofibra, no músculo tratado com FBM, foi maior em relação ao músculo não tratado com FBM após a indução da atrofia muscular. Isso sugere que a irradiação com FBM

induz angiogênese no músculo, o que é consistente com os achados de relatórios anteriores.

A escolha do tratamento de A-PRF é explicado por conceitos biológicos inerentes às células encontradas neste composto. O A-PRF promove uma liberação mais sustentada de fatores de crescimento como o IGF-1, PDGF, VEGF, FGF, EGF e proteínas da matriz de fibrina, em comparação com o PRP ou PRF clássico. Essa liberação prolongada pode favorecer uma regeneração tendínea mais eficiente e estável, especialmente em lesões crônicas (Pereira *et al.*, 2023). O A-PRF forma uma matriz tridimensional rica em fibrina, que atua como suporte físico para a migração celular e a proliferação de fibroblastos e outras células envolvidas na reparação do tendão (Kobayashi *et al.*, 2016).

Embora não tenha sido observado diferença significativa para as avaliações de força muscular, os animais do GC apresentaram aumento gradativo de força muscular com a análise de tamanho de efeito, e isso pode ser explicado porque os animais estão sujeitos à aprendizagem motora, que é uma mudança de comportamento resultado da experiência. O processo de aprendizagem motora consiste em aprendizagem precoce ou rápida, caracterizada por ganhos rápidos de desempenho normalmente observados na primeira sessão de prática, e aprendizagem tardia ou lenta, marcada pelo desenvolvimento gradual de habilidades e consolidação do desempenho ao longo de semanas ou meses (Hehl *et al.*, 2025). O estágio rápido de aprendizagem de habilidades motoras foi estudado em humanos (Lehéricy *et al.*, 2005) e em roedores (Yin *et al.*, 2010).

O grupo tratado apenas com a injeção de A-PRF apresentou redução da força muscular na primeira semana, recuperando-a nas semanas seguintes. É possível que o local tratado possa experimentar uma resposta inflamatória temporária, especialmente nos primeiros dias. Essa lesão inicial é parte do processo de cicatrização e pode causar dor, inchaço e desconforto muscular, o que pode afetar a força imediatamente após a aplicação (Grandi; Silveira, 2017). Após a fase inicial de desconforto, o A-PRF estimula o processo de regeneração muscular, o que pode levar a uma recuperação mais rápida e, eventualmente, ao aumento da força muscular a longo prazo, à medida que o tecido se cura e se adapta ao exercício ou ao treinamento (Ivarez; Martin, 2018).

O colágeno tipo III é uma das primeiras formas de colágeno a serem depositadas em tecidos danificados, desempenhando um papel fundamental nas fases iniciais da reparação da lesão muscular. No GA-PRF+FBM, foi percebido o aumento do colágeno tipo III, isso porque ele desempenha papel importante na fase proliferativa, sendo predominante e auxiliando na regeneração dos tecidos ao formar uma rede menos densa que facilita a migração celular, a deposição de nova matriz e a angiogênese. Assim, o aumento do colágeno tipo III no músculo lesionado é um mecanismo essencial para promover a recuperação e reorganização do tecido danificado (Mann *et al.*, 2011; Calvi *et al.*, 2012).

Esse aumento no colágeno tipo III, provavelmente se deu pelo fato de que os tratamentos com FBM e PRF possuem capacidade de estimular a síntese de colágeno tipo III. A FBM é capaz de estimular a atividade de fibroblastos, as células responsáveis pela produção de colágeno, especialmente nas fases iniciais da cicatrização. Isso acelera a deposição de colágeno tipo III, que é crítico para a formação da matriz extracelular provisória no músculo lesionado (Souza *et al.*, 2011; Paraguassú *et al.*, 2014; Brito *et al.*, 2017; Terena *et al.*, 2017). O PRF proporciona alta liberação de fatores de crescimento, como o PDGF, TGF- $\beta$  e VEGF. Esses fatores estimulam a proliferação de fibroblastos e células musculares satélites, responsáveis pela produção da matriz extracelular, incluindo o colágeno tipo III (Borrione *et al.*, 2010).

Apenas o GA-PRF+FBM apresentou aumento do colágeno tipo III, de forma que os tratamentos isolados não promoveram diferença estatística entre os grupos. Isso se dá porquê quando utilizados os tratamentos de forma combinada, ambas as terapias atuam de maneira biomoduladora, ou seja, regulam processos celulares e bioquímicos para controlar a inflamação, promover a regeneração e aliviar a dor. Esses efeitos ocorrem devido a redução das citocinas pró-inflamatórias como TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IL-6, que são responsáveis pelo prolongamento da inflamação e aumentam a IL-10, uma citocina anti-inflamatória que favorece a recuperação tecidual (Chamusca *et al.*, 2010; Takamori *et al.*, 2018). Esse achado está de acordo com o estudo realizado por Pomini *et al.* (2019), no qual os animais do grupo tratado com a terapia combinada apresentaram melhor cicatrização do enxerto ósseo do que os grupos de terapia isolada.

À medida que a cicatrização progride, o colágeno tipo III é gradualmente substituído pelo colágeno tipo I, que é mais resistente e contribui para a restauração da força e função muscular (Jarvinen *et al.*, 2005). O aumento inicial do colágeno tipo III facilita essa transição, servindo como base para o remodelamento posterior. Não foi possível perceber aumento no colágeno tipo I entre os grupos; isso se deve ao fato de que a transição para colágeno tipo I ocorre de forma gradual e lenta, e acredita-se necessitar de um estudo mais longo para perceber a presença aumentada desse colágeno. Essa substituição lenta de colágeno foi percebida no estudo de Vidal *et al.* (2024), onde o aumento do colágeno tipo I foi observada somente após 30 dias de lesão.

Em geral, a cicatrização do tendão progride por uma fase inflamatória (dias), seguida por uma fase reparadora (semanas) e termina com uma fase de remodelação (meses) (Docheva *et al.*, 2014). Estudo realizado por Wong *et al.*, (2020) demonstrou, por resultados histológicos, que a implantação de PRF leva ao início de um processo reparador do tendão caracterizado pelo aumento da proliferação e diferenciação de tenócitos. No presente estudo, foi observado que os GA-PRF e GA-PRF+FBM apresentaram JNM menores em área, diâmetro maior e diâmetro menor do que os grupos que não receberam a intervenção com A-PRF. Isso pode ser explicado porque durante a fase de reparo, a tensão mecânica no tendão e nos tecidos adjacentes pode alterar a morfologia e funcionalidade da JNM, promovendo adaptações que podem incluir aumento ou redução de sua área funcional (Wong *et al.*, 2020).

Este estudo apresenta uma limitação quanto a não observância das características moleculares da inflamação por meio de testes para análise dos biomarcadores inflamatórios. Sugere-se aos estudos futuros que seja realizado um ensaio imunoenzimático para análise das citocinas pró-inflamatórias e anti-inflamatórias. Também sugere-se que seja realizado o modelo de lesão com incisão cirúrgica para ser possível analisar a extensão da lesão no tecido muscular.

## 6 CONCLUSÕES GERAIS

Esse estudo se dedicou a esclarecer os efeitos dos tratamentos com fotobiomodulação e da fibrina rica em plaquetas avançada no músculo gastrocnêmio submetido a tendinopatia calcânea. Os achados desse estudo apontaram que as terapias combinadas apresentaram maior efeito de reparo no tecido muscular por meio do aumento do colágeno tipo III do que de forma isolada. Contudo, a terapia com fotobiomodulação foi capaz de manter a relação capilar por fibra, o que não foi percebido na terapia com A-PRF. Por outro lado, a terapia com A-PRF resultou na redução do tamanho das JNM, o que não ocorreu nos demais grupos, e ambos os tratamentos contribuíram para a recuperação da força muscular ao término do experimento.

## REFERÊNCIAS

ANJOS, Typhanie; GABRIEL, François; VIEIRA, Thais D; HOPPER, Graeme P; SONNERY-COTTET, Bertrand. Neuromotor Treatment of Arthrogenic Muscle Inhibition After Knee Injury or Surgery. **Sports Health**, v. 16, n. 3, p. 383-389, 2024.

ALVES, A.N; FERNANDES, K.P.S; DEANA, A.M; BUSSADORI, S.K; MESQUITA-FERRARI, R.A. Effects of low-level laser therapy on skeletal muscle repair: a systematic review. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, v: 93, p. 1073–1085, 2014.

ALZYOUD, Jihad A.M; OMOUSH, Samya A.; AL-QTAITAT, Aiman. Photobiomodulation for Tendinopathy: A Review of Preclinical Studies. **Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery**, v. 40, n. 6, p. 370–377, 2022.

ANDARAWIS-PURI, Nelly; FLATOW, Evan L; SOSLOWSKY, Louis J. Tendon basic science: development, repair, regeneration, and healing. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 33, n. 6, p. 780–784, 2015.

ARSHAD, Zaki; SHDEFAT, Sofyan; IQBAL, Adil M; BATHIA, Maneesh. Gastrocnemius release is an effective management option for Achilles tendinopathy: a systematic review. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 30, p. 4189-4197, 2022.

ASSIS, Livia; MORETTI, Ana I.S; ABRAHÃO, Thalita B; CURY, Vivian; SOUZA, Heraldo P; HAMBLIN, Michael R; PARIZOTTO, Nivaldo A. Low-level laser therapy (808 nm) reduces inflammatory response and oxidative stress in rat tibialis anterior muscle after cryolesion. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 44, v. 9, p. 726-735, 2012.

ASSIS, Livia; MORETTI, Ana I.S; ABRAHÃO, Thalita B; SOUZA, Heraldo P;

HAMBLIN, Michael R; PARIZOTTO, Nivaldo A. Low-level laser therapy (808 nm) contributes to muscle regeneration and prevents fibrosis in rat tibialis anterior muscle after cryolesion. **Lasers in Medical Science**, v. 28, n. 3, p. 947-955, 2013.

ATIK, O. Sahap. Photobiomodulation for Achilles Tendinopathy. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 36, n. 1, p. 1–2, 2018.

BERTELLI, J A; MIRA, J C. The grasping test: a simple behavioral method for objective quantitative assessment of peripheral nerve regeneration in the rat *Journal of Neuroscience Methods*. [S. l.: s. n.], 1995.

BORDONI, Bruno; VARACALLO, Matthew. Anatomy, Tendons. **Orthopaedic Sports Medicine**, 2018.

BORRIONE, P; GIANFRANCESCO, A; PEREIRA, M.T; PIGOZZI, F. Platelet-rich plasma in muscle healing. **American Journal of Physical Medicine & Rehabilitation**, v. 89, n. 10, p. 854-861, 2010.

BOTTINELLI, R; REGGIANI, C. Human skeletal muscle fibres: molecular and functional diversity. **Progress in Biophysics & Molecular Biology**, v. 73, p. 195-262, 2000.

BRITO, Adriana; ALVES, Agnelo N; RIBEIRO, Beatriz G; BARBOSA, Daniel V.D.E; MAGALHÃES, Erick M.R; FERNANDES, Kristianne P.S; BUSSADORI, Sandra K; GOULARDINS, Juliana B; MESQUITA-FERRARI, Raqueal A. Effect of photobiomodulation on connective tissue remodeling and regeneration of skeletal muscle in elderly rats. **Lasers in Medical Science**, 2017.

BUTLER, Erin E; DOMINY, Nathaniel J. Architecture and functional ecology of the human gastrocnemius muscle-tendon unit. **Journal of Anatomy**, v. 228, p. 561-568, 2016.

CALVI, Eliziane N.C; NAHAS, Fabio X; BARBOSA, Marcus V; CALIL, José A; IHARA, Silvia S.M; SILVA, Marcelo S; FRANCO, Marcello F; FERREIRA, Lydia M. An experimental model for the study of collagen fibers in skeletal muscle. **Acta Cirúrgica Brasileira**, v. 27, n. 10, 2012.

CARDOSO, Tanusha B; PIZZARI, Tania; KINSELLA, Rita; HOPE, Daniele; COOK, Jill L. Current trends in tendinopathy management. **Best Practice & Research Clinical Rheumatology**, v. 33, n. 1, p. 122–140, 2019.

CARUANA, Andrea; SAVINA, Daniele; MACEDO, José P; SOARES, Sandra C. From Platelet-Rich Plasma to Advanced Platelet-Rich Fibrin: Biological Achievements and Clinical Advances in Modern Surgery. **European Journal of Dentistry**, 2019.

CARVALHO, Paulo T; SILVA, Iandara S; REIS, Filipe A; BELCHIOR, Ana C; AYDOS, Ricardo D; FACCO, Gilberto G; DOURADO, Doroty M. Histological Study of tendon healing in malnourished Wistar rats treated with ultrasound therapy. **Acta Cirurgia Brasileira**, v. 21, 2006.

CAVALCANTI, Marcos F X S; CABETTE, Roseli A; MORAES, Angelina C; DIOMEDE, Francesca; TRUBIANI, Oriana; MARIA, Durvanei A. The effects in vitro of photobiomodulation over fibroblasts and extracellular matrix. **Photobiomodulation, Photomedicin and Laser Surgery**, v. 42, n. 2, 2024.

CAZEAU, Cyrille; STIGLITZ, Yves. Effects of gastrocnemius tightness on forefoot during gait. **Foot and Ankle Clinics of North America**, 2014.

CHAMUSCA, Flávia V; REIS, Silvia RA; LEMAIRE, Denise; MEDRADO, Alena P. Mediators of the systemic effects of inflammation and photobiomodulatory therapies: a literature review. **Revista de Ciências Médicas e Biológicas**, v. 11, n. 1, p. 70-78, 2012.

CHEN, Chia-Hsin; TSAI, Jin-Lian; WANG, Yan-Hsiung; LEE, Chia-Ling; CHEN, June-

Kai; HUANG, Mao-Hsiung. Low-Level Laser Irradiation Promotes Cell Proliferation and mRNA Expression of Type I Collagen and Decorin in Porcine Achilles Tendon Fibroblasts In Vitro. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 27, p. 646-650, 2008.

CHEN, Mei-Hsiu; HUANG, Yun-Chien; SUN, Jui-Sheng; CHAO, Yuan-Jung; CHEN, Ming-Hong. Second messengers mediating the proliferation and collagen synthesis of tenocytes induced by low-level laser irradiation. **Lasers in Medical Science**, v. 30, p. 263-272, 2015.

CHEN, Wenbo; CLOOSTERMAN, Kyra; BIERMA-ZEINSTRA, Sita; MIDDELKOOP, Marienke; ROS, Robert-Jan. Epidemiology of insertional and middle portion achilles tendinopathy in runners: a cohort study. **Journal of Sports and Health Sciences**, 2023.

CHI, Andrew S; LONG, Suzanne S; ZOGA, Adam C; READ, Paul J; DEELY, Diane M; PARKER, Laurence; MORRISON, William B. Prevalence and pattern of gluteus medius and minimus tendon pathology and muscle atrophy in older individuals using MRI. **Skeletal Radiology**, v. 44, n. 12, p. 1727–1733, 2015.

CHOUKROUN, Joseph; ADDA, F; SCHOEFFLER, C; VERVELLE, A. Une opportunité en paro-implantologie: le PRF. **Implantologie**, v. 4, p. 55-62, 2001.

CHOUKROUN, Joseph; DISS, Antoine; SIMONPIERI, Alain; GIRARD, Marie O; SCHOEFFLER, Christian; DOHAN, Steve L; DOHAN, Antony J; MOUHAYI, Jaafar; DOHAN, David M. Platelet-rich fibrin (PRF): a second-generation platelet concentrate. Part V: histologic evaluations of PRF effects on bone allograft maturation in sinus lift. **Oral surgery, oral medicine, oral pathology, oral radiology, and endodontics**, v. 101, n. 3, p. 299–303, 2006.

D'ADDONA, Alessio; MAFFULI, Nicola; FORMISANO, Silvestro; ROSA, Donato. Inflammation in tendinopathy. **The Surgeon**, v. 15, n. 5, p. 297–302, 2017.

DE OLIVEIRA, Helenita Antonia; ANTONIO, Ednei L; SILVA, Flávio A; CARVALHO, Paulo T.C; FELICIANO, Regiane; YOSHIKAWA, Amanda; VIEIRA, Stella S; MELO, Brunno L; LEAL-JUNIOR, Ernesto C.P; LABAT, Rodrigo; BOCALINI, Danilo S; JUNIOR, José A.S; TUCCI, Paulo J.F; SERRA, Andrey J. Protective effects of photobiomodulation against resistance exercise-induced muscle damage and inflammation in rats. **Journal of Sports Sciences**, v. 36, n. 20, p. 2349–2357, 2018.

DIETRICH, Franciele; DURÉ, Gustavo L; KLEIN, Caroline P; BAMPI, Vinicius F; PADOIN, Alexandre V; SILVA, Vinicius D; BRAGA-SILVA, Jeferson. Platelet-Rich Fibrin Promotes an Accelerated Healing of Achilles Tendon When Compared to Platelet-Rich Plasma in Rat. **World journal of plastic surgery**, v. 4, n. 2, p. 101–109, 2015.

DIMAURO, Ivan; GRASSO, Loredana; FITTIPALDI, Simona; FANTINI, Cristina; MERCATELLI, Neri; RACCA, Silvia; GEUNA, Stefano; GIANFRANCESCO, Alessia; CAPOROSSO, Daniela; PIGOZZI, Fabio; BORRIONE, Paolo. Platelet-Rich Plasma and Skeletal Muscle Healing: A Molecular Analysis of the Early Phases of the Regeneration Process in an Experimental Animal Model. **Plos One**, v.9, n. 7, 2014.

DOCHEVA, Denitsa; MULLER, Sebastian A; MAJEWSKI, Martin; EVANS, Christopher H. Biologics for tendon repair. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 21, n. 84, p. 222-239, 2014.

DOHAN, David M; CHOUKROUN, Joseph; DISS, Antoine; DOHAN, Steve L; DOHAN, Anthony J; MOUHYI, Jaafar; GOGLY, Bruno. Platelet-rich fibrin (PRF): A second-generation platelet concentrate. Part I: Technological concepts and evolution. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology, and Oral Radiology**, v. 101, p. 37-44, 2006.

DOMPE, Claudia; MONCRIEFF, Lisa; MATYS, Jacek; GRZECH-LESNIAK, Kinga; KOCHEROVA, Ievgeniia; BRYJA, Artur; BRUSKA, Malgorzata; DOMINIAK, Marzena; MOZDZIAK, Paul; SKIBA, Tarcio H; SHIBLI, Jamil A; VOLPONI, Ana A; KEMPISTY,

Bartosz; DYSZKIEWICZ-KONWINSKA, Marta. Photobiomodulation-Underlying Mechanism and Clinical Applications. **Journal of Clinical Medicine**, v.9, 2020.

DONG, Shiyu. LIU, Yanhao; LIU, Ziyin; SHEN, Peixin; SUN, Hao; ZHANG, Ping; FONG, Daniel T.P; SONG, Qipeng. Can Arthrogenic Muscle Inhibition Exist in Peroneal Muscles Among People with Chronic Ankle Instability? A Cross-sectional Study. **Sports Medicine**, v. 10, n. 35, 2024.

DUNGEL, Pedro; SUTALO, Sanja; SLEZAK, Cyrill; KEIBL, Cláudia; SCHADL, Barbara; SCHNIDAR, Harald; METZGER, Madalena; MEIXNER, Barbara; HARTMANN, Jaana; OESTERREICHER, Johannes; REDL, Heinz; SLEZAK, Paulo. Wavelength-dependent effects of photobiomodulation for wound Care in diabetic wounds. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 24, n. 6, 2023.

EHRENFES, David Dohan; LEMO, Niksa; JIMBO, Ryo; SAMMARTINO, Gilberto. Selecting a relevant animal model for testing the in vivo effects of Choukroun's platelet-rich fibrin (PRF): rabbit tricks and traps. **Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology Oral Radiology**. v. 110, n. 4, p. 413-416, 2010.

FAVORETTO, Samantha Mesquita; SEABRA, Denise Isoldi; OLIVATO, Márcia Carolina Millán. **Guia de eutanásia para animais de ensino e pesquisa**. 1. ed. p. 10. Universidade Federal de São Paulo, 2019.

FERRARESI, Cléber; OLIVEIRA, Taysa B; ZAFALON, Leonardo O; REIFF, Rodrigo B.M; BALDISSERA, Vilmar; PEREZ, Sérgio E.A; JÚNIOR, Euclides M; PARIZOTTO, Nivaldo A. Effects of low level laser therapy (808 nm) on physical strength training in humans. **Lasers in Medical Science**, v. 26, n. 3, p. 349-358, 2011.

FRICH, Lars Henrik; FERNANDES, Livia R; SCHRODER, Henrik; HEJBOL, Eva K; NIELSEN, Pernille V; JORGENSEN, Puk H; STENSBALLE, Allan; LAMBERTSEN, Kate L. The inflammatory response of the supraspinatus muscle in rotator cuff tear conditions. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 30, n. 6, p. 261-275, 2021.

FRONTERA, Walter R; OCHALA, Julien. Skeletal Muscle: A Brief Review of Structure and Function. **Calcified Tissue International**, v. 96, p. 183-195, 2015.

GHANAATI, Shahram; BOOMS, Patrick; ORLOWSKA, Anna; KUBESCH, Alica; LORENZ, Jonas; RUTKOWSKI, Jim; LANDES, Constantin; SADLER, Robert; KIRKPATRICK, C J; CHOUKROUN, Joseph. Advanced platelet-rich fibrin: a new concept for cell-based tissue engineering by means of inflammatory cells. **Journal of Oral Implantology**, 2014.

GLASS, Graeme E. Photobiomodulation: The Clinical Applications of Low-Level Light Therapy. **Aesthetic Surgery Journal**, V. 41, n 6, p. 723-738, 2021.

GRANDI, F.M; SILVEIRA, A.L.P. Terapia autóloga com plasma rico em plaquetas em ortopedia e medicina esportiva. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 52, n. 5, p. 512-520, 2017.

GRECU, Alexandru Florian; RECLARU, Lucien; ARDELEAN, Lavinia C; NICA, Oliviu; CIUCA, Eduard M; CIUREA, Marius E. Platelet-Rich Fibrin and Its Emerging Therapeutic Benefits for Musculoskeletal Injury Treatment. **Medicina**, v. 55, n. 5, p. 141, 2019.

GUYTON, Arthur C; HALL, John E. **Tratado de Fisiologia Médica**. Elsevier, ed. 12, São Paulo, 2011.

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

HEHL, Melina; MALDEREN, Shanti V; BLASHCHUK, Svitlana; SUNAERT, Stefan; EDDEN, Richard A, E; SWINNEN, Stephan P; CUYPERS, Koen. The reciprocal relationship between short-and long-term motor learning and neurometabolites. **Human Brain Mapping**, v. 4, n. 46, 2025.

HIJLKEMA, Aveline; ROOZENBOOM, Caroline; MENSINK, Marco; ZWERVER, Johannes. The impact of nutrition On tendon health and tendinopathy: a systematic review. **Journal of the International Society of Sports Nutrition**, v. 19, n. 1, p. 474–504, 2022.

HOPKINS, Chelsea; FU, Sai-Chuen; CHUA, Eldrich; HU, Xiaorui; ROLF, Christer; MATTILA, Ville M; QIN, Ling; YUNG, Patrick S; CHAN, Kai-Ming. Critical review on the socio-economic impact of tendinopathy. **Asia-Pacific Journal of Sports Medicine, Arthroscopy, Rehabilitation and Technology**, v. 4, p. 9–20, 2016.

IVAREZ, C; MARTIN, J. Fibrina rica em plaquetas e seus efeitos na recuperação do músculo esquelético. **Sports Medicine & Rehabilitation Journal**, v. 5, n. 2, p. 142-149, 2018.

JAMALPOUR, Mohammad R; SHAHABI, Shiva; BAGHESTANI, Mehdi; SHOKRI, Abbas; JAMSHIDI, Shokoofeh; KHAZAEI, Salman. Complementarity of surgical therapy, photobiomodulation, A-PRF and L-PRF for management of medication-related osteonecrosis of the jaw (MRONJ): an animal study. **BMC Oral Health**, v. 22, p. 241, 2022.

JARVINEN, Tero A; JARVINEN, Teppo L.N; KAARIAINEN, Minna; KALIMO, Hannu; JARVINEN, Markku. Muscle injuries: biology and treatment. **The American Journal of Sports Medicine**, v. 33, n.5, 2005.

JUNQUEIRA, L.C.U; BIGNOLAS, G; BRENTANI, R.R. Picrosirius staining plus polarization microscopy, a specific method for collagen detection in tissue sections. **Histochemical Journal**, v. 11, p. 447-455, 1979.

KARNOVSKY, M.J. A formaldehyde-glutaraldehyde fixative of high osmolality for use in electron microscopy, **Journal of Cell Biology**, v. 27, p. 1A-149A, 1965.

KIM, Kyung-Min; KIM, Joo-Sung; Needle, Alan R. Soleus arthrogenic muscle inhibition following acute lateral ankle sprain correlates with symptoms and ankle disability but not with postural control. **Journal of Sport and Health Science**, v. 13, p. 559-568, 2024.

KOBAYASHI, Eizaburo; FLUCKIGER, Laura; FUJIOKA-KOBAYASHI, Masako; SAWADA, Kosaku; SCULEAN, Anton; SCHALLER, Benoit; MIRON, Richard J. Comparative release of growth factors from PRP, PRF, and advanced-PRF. **Clinical Oral Investigations**, v. 20, n. 9, p. 2353–2360, 2016.

KRIEGER, J. R; TELLIER L.E; OLLUKAREN, M.T; TEMENOFF, J.S; BOTCHWEY E.A. Quantitative Analysis of Immune Cell Subset Infiltration of Supraspinatus Muscle After Severe Rotator Cuff Injury. **Regenerative Engineering and Translational Medicine**, v. 3, n. 2, p. 82–93, 2017.

KUENZLER, Michael B; NUSS, Katja; KAROL, Agnieszka; SCHAR, Michael O; HOTTIGER, Michael; RANIGA, Sumit; KENKEL, David; RECHENBERG, Brigitte; ZUMSTEIN, Matthias. Neer Award 2016: reduced muscle degeneration and decreased fatty infiltration after rotator cuff tear in a poly(ADP-ribose) polymerase 1 (PARP-1) knock-out mouse model. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 26, n. 5, p. 733–744, 2017.

KVIST, M. Achilles tendon injuries in athletes. **Annales Chirurgiae et Gynaecologiae**, v. 80, p. 188 – 201, 1991.

LEHÉRICY, Stéphane; BENALI, Habib; MOORTELE, Pierre-François; PÉLÉGRINE-ISSAC, Mélanie; WAECHTER, Tobias; UGURBIL, Kamil; DOYON, Julien. Distinct basal ganglia territories are engaged in early and advanced motor sequence learning. **Proceedings of the National Academy of Sciences**, v. 102, n. 35, p. 12566-12571, 2005.

LEHRER, GM; ORNSTEIN, L. A diazo coupling method for the electron microscopic

localization of cholinesterase. **Journal of Biophysical and Biochemical Cytology**, v. 6, n. 3, p. 399-406, 1959.

LI, Hong-Yun; HUA, Ying-Hui. Achilles Tendinopathy: Current Concepts about the Basic Science and Clinical Treatments. **BioMed Research International**, v. 2016, p. 1–9, 2016.

LONGO, Umile Giuseppe; RONGA, Mario; MAFFULLI, Nicola. Achilles Tendinopathy. **Sports Medicine and Arthroscopy Review**, v. 26, n. 1, p. 16–30, 2018.

MACEDO, Ana C.B; YWAZAKI, Julye L; MACEDO, Rafael M; NORONHA, Lucia; GOMES, Ana R.S. Morphologic study of different treatments for gastrocnemius muscle contusion in rats. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 51, n. 6, p. 697-706, 2016.

MAFFULLI, Nicola; LONGO, Umile G; KADAKIA, Anish; SPIEZIA, Filippo. Achilles tendinopathy. **Foot and Ankle Surgery**, v. 26, n. 3, p. 240–249, 2020.

MAGNAN, Bruno; BONDI, Manuel; PIERANTONI, Silvia; SAMAILA, Elena. The pathogenesis of Achilles tendinopathy: A systematic review. **Foot and Ankle Surgery**, v. 20, n. 3, p. 154–159, 2014.

MANN, Christopher J; PERDIGUERO, Eusebio; KHARRAZ, Yacine; AGUILAR, Susana; PESSINA, Patrizia; SERRANO, Antonio L; MUÑOZ-CÁNOVES, Pura. Aberrant repair and fibrosis development in skeletal muscle. **Skeletal Muscle Journal**, v. 1, n. 11, 2011.

MARTIMBIANCO, Ana L.C; FERREIRA, Raphael E.S; LATORRACA, Carolina O.C; BUSSADORI, Sandra K; PACHECO, Rafael L. Photobiomodulation with low-level laser therapy for treating Achilles tendinopathy: a systematic review and meta-analysis. **Clinical Rehabilitation**, v. 34, n. 6, p. 713–722, 2020.

MELINCOVICI, Carmen S; BOSCA, Adiana B; SUSMAN, Sergiu; MARGINEAN,

Mariana; MIHU, Carina; ISTRATE, Mihnea; MOLDOVAN, Ioana-Maria; ROMAN, Alexandra L; MIHU, Camen L. Vascular endothelial growth factor (VEGF) – key factor in normal and pathological angiogenesis. **Romanian Journal of Morphology and Embryology**, v. 59, n. 2, p. 455-467, 2018.

MILLAR, Neal L; SILBERNAGEL, Karin G; THORBORG, Kristian; KIRWAN, Paul D; GALATZ, Leesa M; ABRAMS, Geoffrey D; MURREL, George A.C; McINNES, Ian B; RODEO, Scott A. Tendinopathy. **Nature reviews. Disease primers**, v. 7, n. 1, p. 1, 2021.

MUAIDI, Qassim I. Rehabilitation of patellar tendinopathy. **Journal of Musculoskeletal Neuronal Interactions**, v. 20, n. 4, p. 535–540, 2020.

NAKAGAKI, Kimio. OZAKI, Jiro; TOMITA, Yasuharu; TAMAI, Susumu. Alterations in the supraspinatus muscle belly with rotator cuff tearing: Evaluation with magnetic resonance imaging. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 3, n. 2, p. 88–93, 1994.

NAKANO, Jiro; KATAOKA, Hideki; SAKAMOTO, Jyunya; ORIGUCHI, Tomoki; OKITA, Minoru; YOSHIMURA, Toshiro. Low-level laser irradiation promotes the recovery of atrophied gastrocnemius skeletal muscle in rats. **Experimental Physiology**, v. 94, n. 9, p. 1005-1015, 2009.

NAKAZAWA, Katusmasa; TOYODA, Hiromitsu; MANAKA, Tomoya; ORITA, Kumi; KIRAKAWA, Yoshihiro; SAITO, Kosuke; LIO, Ryosuke; SHIMATANI, Akiyoshi; BAN, Yoshitaka; YAO, Hana; OTSUKI, Ryosuke; TORII, Yamato; JUN-SEOK, Ah; SHIRAFUJI, Tatsuru; NAKAMURA, Hiroaki. In vivo study on the repair of rat Achilles tendon injury treated with non-thermal atmospheric-pressure helium microplasma jet. **Journal Plos One**, v. 19. n. 5, 2024.

NARAYANASWAMY, Ragunathan; PATRO, Bishnu P; JEYARAMAN, Naveen;

GANGADARAN, Prakash; RANJENDRAN, Ramya L; NALLAKUMARASAMY, Arulkumar; JEYARAMAN, Madhan; RAMANI, Prasanna; AHN, Byeong-Cheol. Evolution and Clinical Advances of Platelet-Rich Fibrin in Musculoskeletal Regeneration. **Bioengineering**, v. 10, n. 1, p. 58, 2023.

NAWOCZENSKI, Deborah A; BARSKE, Heather; TOME, Joshua; DAWSON, Laura K; ZLOTNICKI, Jason P; DIGIOVANNI, Benedict F. Isolated gastrocnemius recession for achilles tendinopathy: strength and functional outcomes. **The Journal of Bone and Joint Surgery**, v. 97, p. 99-105, 2015.

NETO, Walter K. CIENA, Adriano P; ANARUMA, Carlos A. SOUZA, Romeu R. GAMA, Eliane F. Effects of exercise on neuromuscular junction components across age: systematic review of animal experimental studies. **BioMed Central**, v. 8, p. 713, 2015.

PARAGUASSÚ, Gardênia M; XAVIER, Flavia C.A; CANGUSSU, Maria C.T; RAMALHO, Maria J.P; CURY, Patricia R; SANTOS, Jean N; PINHEIRO, Antonio L.B; RAMALHO, Luciana M.P. Effect of laser phototherapy (660 nm) on type I and III collagen expression during wound healing in hypothyroid rats: an immunohistochemical study in a rodent model. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 32, n. 5, 2014.

PEREIRA, Vinicius B S; LAGO, Carlos A P; ALMEIDA, Renata A C; BARBIRATO, Davi S; VASCONCELOS, Belmiro C E. Biological and Cellular Properties of Advanced Platelet-Rich Fibrin (A-PRF) Compared to Other Platelet Concentrates: Systematic Review and Meta-Analysis. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, p. 482, 2024.

PHILLIPS, B; BUCHHOLTZ, K; BURGESS, T.L. Gastrocnemius muscle architecture in distance runners with and without Achilles tendinopathy. **South African Journal of Sports Medicine**, V. 34, n. 1, 2022.

PIRES, Débora; XAVIER, Murilo; ARAÚJO, Tiago; SILVA, José A; AIMBIRE, Flavio;

ALBERTINI, Regiane. Low-level laser therapy (LLLT; 780 nm) acts differently on mRNA expression of anti- and pro-inflammatory mediators in an experimental model of collagenase-induced tendinitis in rat. **Lasers in Medical Science**, v. 26, p. 85-94, 2011.

POMINI, Karina T; BUCHAIM, Daniela V; ANDREO, Jesus C; ROSSO, Marcelie P.O; COLETTA, Bruna B.D; GERMAN, Iris J.S; BIGUETTI, Ana C.C; SHINOHARA, André L; JUNIOR, Geraldo M.R; SHINDO, João V.T.C; ALCALDE, Murilo P; DUARTE, Marco A.H; TEIXEIRA, Daniel B; BUCHAIN, Rogério L. Fibrin sealant derived from human plasma as a scaffold for bone grafts associated with photobiomodulation therapy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, 2019.

PURSLOW, Peter. The structure and functional significance of variations in the connective tissue within muscle. **Comparative Biochemistry and Physiology**, v. 133, p. 947-966, 2002.

REIS, Carlos H; BUCHAIM, Daniela V; ORTIZ, Adriana C; FIDELES, Simone O; DIAS, Jefferson A; MIGLINO, Maria A; TEIXEIRA, Daniel B; PEREIRA, Eliana S; CUNHA, Marcelo R; BUCHAIM, Rogerio L. Application of Fibrin Associated with Photobiomodulation as a Promising Strategy to Improve Regeneration in Tissue Engineering: A Systematic Review. **Polymers**, 2022.

ROSSATO, Mateus; DELLAGRANA, Rodolfo A; SAKUGAWA, Rafael L; BARONI, Bruno M; DIEFENTHAELER, Fernando. Dose-response effect of photobiomodulation therapy on muscle performance and fatigue during a multiple-set knee extension exercise: a randomized, crossover, double-blind placebo-controlled trial. **Photobiomodulation, Photomedicine, and Laser Surgery**, v. 38, n. 12. p. 758-765, 2020.

SCHWEITZER, Ronen; ZELZER, Elazar; VOLK, Talila. Connecting muscles to tendons: tendons and musculoskeletal development in flies and vertebrates. **Development**, v. 137, n. 17, p. 2807–2817, 2010.

SERIGHELLI, Fernanda; SILVA, Danilo O; REGINATO, Giovana A; POCAI, Bruna L; VIEIRA, Dennis D; CARVALHO, Alberito R. Can photobiomodulation improve quadriceps strength and endurance outcomes in asymptomatic adults? A double-blind randomized controlled trial. **Journal of Bodywork & Movement Therapies**, v. 37, p. 94-100, 2024.

SHAABAN, Gadallah; RAFAT, Ahmed; FADEL, Mostafa S; ELGOHARY, Islam; SHARSHAR, Ahmed; MISK, Tarik N. Clinical and histopathological studies on the efficacy of multiple injections of I-PRF versus the single use of A-PRF in repair of achilles tendon rupture in dogs: an experimental study. **Journal of Current Veterinary Research**, v. 4, n. 2, 2022.

SHARMA, Pankaj; MAFFULLI, Nicola. Tendon Injury and Tendinopathy. **The Journal of Bone & Joint Surgery**, v. 87, n. 1, p. 187–202, 2005.

SILBERNAGEL, Karin Grävare; HANLON, Shawn; SPRAGUE, Andrew. Current Clinical Concepts: Conservative Management of Achilles Tendinopathy. **Journal of Athletic Training**, v. 55, n. 5, p. 438–447, 2020.

SILVERTHORN, Dee Unglaub. **Fisiologia Humana: uma abordagem integrada**. Artmed, v. 7, p. 371-373, 2017.

SOUZA, Thais O.F; MESQUITA, Dayane A; FERRARI, Raquel A.M; JUNIOR, Décio S.P; CORREA, Luciana; BUSSADORI, Sandra K; FERNANDES, Kristianne P.S; MARTINS, Manoela D. Phototherapy with low-level laser affects the remodeling of types I and III collagen in skeletal muscle repair. **Lasers in Medicine and Science**, v. 26, p. 803-814, 2011.

SQUIRE, John. Special Issue: The Actin-Myosin Interaction in Muscle: Background and Overview. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 20, 2019.

SUVARNA, Kim S; LAYTON, Christopher; BANCROFT, John D. **Bancroft's Theory and Practice of Histological Techniques E-Book**, 2019.

TAKAMORI, Esther R; TEIXEIRA, Marcus VT; MENEZES, Karla; CARIAS, Rosana BV; BOROJEVIC, Radovan. Platelet-rich fibrin: preparation, quality definition, clinical use. **Revista Vida em Debate: Sociedade, Ciência & Tecnologia**, v. 6, n. 1, p. 118-124, 2018.

TERENA, Stella Maris Lins; FERNANDES, Kristianne, P.S; BUSSADORI, Sandra K; JUNIOR, Aldo B; SILVA, Daniela F.T; MAGALHAES, Eric M.R; FERRARI, Raquel A.M. Infrared Laser Improves Collagen Organization in Muscle and Tendon Tissue During the Process of Compensatory Overload. **Photomedicine and Laser Surgery**, v. 36, n. 3, p. 130–136, 2018.

THOMAZEAU, Herve; ROLLAND, Yan; LUCAS, Christophe; DUVAL, Jean-Marie; LANGLAIS, Frantz. Atrophy of the supraspinatus belly: Assesment by MRI in 55 patients with rotator cuff pathology. **Acta Orthopaedica**, v. 67, n. 3, p. 264–268, 1996.

TRIPODI, Nicholas; FEEHAN, Jack; HUSARIC, Maja; SIDIROGLOU, Fotios; APOSTOLOPOULOS, Vasso. 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 Science, Medicine and Rehabilitation**, v. 13, n. 1, p. 91, 2021.

TROVATO, Francesca M; IMBESI, Rosa; CONWAY, Nerys; CASTROGIOVANNI, Paola. Morphological and Functional Aspects of Human Skeletal Muscle. **Journal of Functional Morphology and Kinesiology**, v. 1, p. 289-302, 2016.

TSAI, Chung-Wen; CHENG, Ju-Wen; CHEN, Jean-Lon; CHEN, Chen-Yin; CHANG, Hsiang-Ning; LIAO, Yu-Hsin; LIN, Miao-Sui; PANG, Jong-Whei. Low-level laser irradiation stimulates tenocyte proliferation in association with increased NO synthesis and upregulation of PCNA and cyclins. **Lasers in Medical Science**, v. 29, p. 1377-

1384, 2014.

VIDAL, Laura; LOPEZ-GARZON, Maria; VENEGAS, Vanesa; VILA, Ingrid; DOMÍNGUEZ, David; RODAS, GIL; MAROTTA, Mario. A novel tendon injury model, induced by collagenase administration combined with a thermo-responsive hydrogel in rats, reproduces the pathogenesis of human degenerative tendinopathy. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 25, 2024.

VON RICKENBACH, Kristian J; BORGSTROM, Haylee; TENFORDE, Adam; BORGSTEIN, Joanne; McInnis Kelly C. Achilles Tendinopathy: Evaluation, Rehabilitation, and Prevention. **Current Sports Medicine Reports**, v. 20, n. 6, p. 327–334, 2021.

YIN, Henry; MULCARE, Shweta P; HILÁRIO, Monica R.F; CLOUSE, Emily; HOLLOWAY, Terrell; DAVIS, Margaret; HANSSON, Anita C; LOVINGER, David M; COSTA, Rui M. Dynamic reorganization of striatal circuits during the acquisition and consolidation of a skill. **Nature Neuroscience**, v. 12, n. 3, p. 333-341, 2009.

WINNICKI, Kamil; OCHALA-KLOS, Anna; RUTOWICZ, Bartosz; PEKALA, Przemyslaw; TOMASZEWSKI, Krzysztof. Functional anatomy, histology and biomechanics of the human Achilles tendon — A comprehensive review. **Annals of Anatomy**, 2020.

WONG, Chin-Chean; HUANG, Yu-Min; CHEN, Chih-Hwa; LIN, Feng-Huei; YEH, Yi-Yen; BAI, Meng-Yi. Cytokine and growth factor delivery from implanted platelet-rich fibrin enhances rabbit achilles tendon healing. **International Journal of Molecular Sciences**, v. 2, n. 21, 2020.

ZAZULA, Matheus Felipe; ANDRADE, Barbara Z; BOARO, Carolina T; KIRSCH, Christian B; REGINATO, Aline; PERETTI, Ana L; COSTA, Rose M; BERTOLINI, Gladson R.F; NALIWAJKO, Katya; GUIMARAES, Ana T.B; RIBEIRO, Lucineia F.C. Development of a histopathological index for skeletal muscle analysis in *Rattus norvegicus* (Rodentia: Muridae). **Acta Histochemica**, v. 124, n. 4, p. 151892, 2022.

## ANEXO

### ANEXO A – APROVAÇÃO DO COMITÊ DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS



#### Autorização

O Protocolo nº 12-23 intitulado "Efeito terapêutico da fotobiomodulação e injeção de fibrina rica em plaquetas em tendinopatia induzida por colagenase em ratos", sob a responsabilidade de Gladson Ricardo Flor Bertolini que envolve a produção, manutenção ou utilização de animais pertencentes ao filo *Chordata*, subfilo *Vertebrata*, para fins de pesquisa científica encontra-se **Aprovado** para execução, mas solicitamos que os pesquisadores incorporem no item 9.6 do protocolo o nome do Biotério onde será realizada a experimentação. Além disso, solicitamos a revisão da redação do item 13, pois há uma série de erros de linguagem, seguindo de acordo com as Normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle de Experimentação Animal (CONCEA) e foi aprovado pelo Comitê de Ética no Uso de Animais (CEUA) do UNIOESTE em reunião de 06/10/2023. Essa Autorização não substitui o Certificado Experimental de realização ética da pesquisa, necessitando do encaminhamento do Relatório Final de execução do Projeto para sua emissão.

FINALIDADE	Pesquisa Científica
Vigência da autorização	10/2023 – 12/2023
Espécie/linhagem/raça	Rato Wistar
N. de animais	75
Peso/Idade	250g/ 10 semanas
Sexo	Masculino
Origem	Biotério Central da Unioeste.

Cascavel, 16 de outubro de 2023

  
**Profa. Dra. Sara Cristina Sagae,**  
Comite de Ética de Animais da Unioeste - CEUA  
Vice-coordenadora do CEUA

Assinatura Simples realizada por: **Larissa Macedo Pinto (XXX.133.379-XX)** em 16/10/2023 16:55 Local: UNIOESTE/CEUA. Inserido ao protocolo **20.914.856-0** por: **Larissa Macedo Pinto** em: 16/10/2023 16:52. Documento assinado nos termos do Art. 38 do Decreto Estadual nº 7304/2021. A autenticidade deste documento pode ser validada no endereço: <https://www.eprotocolo.pr.gov.br/spiweb/validarDocumento> com o código: **2ff8620359a78ff36a38e21d606b6e7b**.