

UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO
PROGRAMA DA REDE NORDESTE DE BIOTECNOLOGIA
DOUTORADO EM BIOTECNOLOGIA E SAÚDE

ANA CRISTINA FALCÃO ESTEVES

**AVALIAÇÃO DO BIOPOLÍMERO EXTRAÍDO DA CANA-DE-AÇÚCAR NO
MODELO EXPERIMENTAL DE LESÃO DO TENDÃO DO CALCÂNEO DE
RATOS.**

RECIFE | 2016

ANA CRISTINA FALCÃO ESTEVES

AVALIAÇÃO DO BIOPOLÍMERO EXTRAÍDO DA CANA-DE-AÇÚCAR NO MODELO
EXPERIMENTAL DE LESÃO DO TENDÃO DO CALCÂNEO DE RATOS.

Tese apresentada ao Programa da Rede
Nordeste de Biotecnologia e Saúde da
Universidade Federal de Pernambuco,
como requisito à obtenção do título de
Doutora em Biotecnologia e Saúde.

Orientadora:

Prof^a. Dr^a. Silvia Regina Arruda de Moraes

Coorientador:

Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar

Catálogo na fonte
Elaine Barroso
CRB 1728

Esteves, Ana Cristina Falcão

Avaliação do biopolímero extraído da cana-de-açúcar no modelo experimental de lesão do tendão do calcâneo de ratos/ Recife: O Autor, 2016.

113 folhas : il., fig., tab.

Orientadora: Silvia Regina de Arruda Moraes

Coorientador: José Lamartine de Andrade Aguiar

Tese (doutorado) – Universidade Federal de Pernambuco. Centro de Biociências. Biotecnologia e Saúde, 2016.

Inclui referências e apêndices

1. Cicatrização de ferimentos 2. Calcanhar de Aquiles 3. Biopolímeros
4. Cana-de-açúcar I. Moraes, Silvia Regina de Arruda (orientadora) II. Aguiar, José Lamartine de Andrade (coorientador)

615.5

CDD (22.ed.)

UFPE/CCB-2017-034

**“AVALIAÇÃO DO BIOPOLÍMERO EXTRAÍDO DA CANA DE AÇÚCAR NO
MODELO EXPERIMENTAL DA CICATRIZAÇÃO DO TENDÃO DO CALCÂNEO DE
RATOS”.**

ANA CRISTINA FALCÃO ESTEVES

APROVADA EM: Recife, 23 de agosto de 2016

ORIENTADORA: PROF^a DR^a SILVIA REGINA ARRUDA DE MORAES

COORDINADOR: PROF^o DR^o JOSÉ LAMARTINE DE ANDRADE AGUIAR

COMISSÃO EXAMINADORA:

PROF DR^a SÍLVIA REGINA ARRUDA DE MORAES

PROF DR^a MARIA BERNADETE DE SOUSA MAIA

PROF DR. JOSÉ LAMARTINE DE ANDRADE AGUIAR

PROF DR.^a LIRIANE BARATELLA EVÊNCIO

PROF DR. MOACYR JESUS BARRETO DE MELO REGO

Visto e permitida à impressão

Coordenador(a)

Aos meus pais, Maria do Carmo Falcão Esteves e Pedro Moacyr Santiago Esteves,
que me ensinam sempre o valor da família, que estão sempre pelos filhos e são
exemplo pra mim. Tudo o que eu e meus irmãos somos, devemos a eles.

AGRADECIMENTOS

- Primeiramente a Deus, pela força e determinação para lutar pelos meus sonhos. Pela vontade que tenho de ser uma pessoa cada vez melhor. Pela família maravilhosa, pelos amigos eternos. Agradeço por ter me permitido concluir mais uma etapa da minha vida.
- Aos meus amados pais, Pedro Moacyr e Maria do Carmo, que estão sempre presentes na minha vida, incentivando-me a não desanimar frente aos desafios da minha vida.
- Aos meus irmãos, Izabel e Djalma, que são meu porto seguro. À minha cunhada amada Kelly por todo amor.
- À minha orientadora, a Prof^a. Dra. Silvia Regina Arruda de Moraes, que é uma mãe-amiga e me deu a oportunidade de fazer parte da sua vida. Pela confiança que ela deposita em mim. Ela me faz crescer profissionalmente, me incentiva, me acalma e nas adversidades me compreende sempre me aconselhando para o melhor.
- Ao meu coorientador, Prof. Dr. José Lamartine de Andrade Aguiar, que tive o prazer de conhecer nesta caminhada e sempre que me encontrava tinha uma palavra de carinho pra me confortar. Além de enriquecer este trabalho com seu grande conhecimento.
- Ao Prof. Dário (*in memoriam*), que foi um anjo que entrou na minha vida e fez enorme diferença no meu crescimento como pessoa. Com sua maneira simples de ver o mundo me ajudou em um dos momentos mais difíceis desta pesquisa..
- Ao Prof Dr. Moacyr Rêgo que desde o início foi sempre disponível e abriu as portas do seu Laboratório para mim. Obrigada.

- À Prof^ª. Dra. Andrea Lemos por toda ajuda e dedicação para a elaboração da Revisão Sistemática fruto deste trabalho. Obrigada.
- Aos Doutorandos, Magno Texeira, Antônio Felix e aos Mestrandos Eduarda Moretti e Felipe pela disponibilidade para a realização dos procedimentos envolvidos.
- A todos os integrantes dos Laboratórios: de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia, de Materiais Poliméricos e Caracterização (LMPC) do Departamento de Engenharia Química, Núcleo de Pesquisa de Inovação Terapêutica (NUPIT), de Microscopia Eletrônica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE) e Laboratório de Engenharia da Mobilidade no Departamento de Engenharia Mecânica, pelo auxílio técnico.
- Aos amigos do Laboratório de Plasticidade Neuromuscular (LAPLAN), por ser uma família pra mim. Não tenho palavras para agradecer.
- Aos meus queridos meninos Rafael Dornelas e Rodrigo Walter, por toda dedicação, paciência, companheirismo, confiança, troca de conhecimento, enfim, vocês foram e são de grande importância pra mim.
- Aos meus colegas do Departamento de Anatomia pela compreensão e amizade nesse meu início de caminhada docente.
- À minha família por todo apoio, incentivo e compreensão pelas minhas ausências constantes. Obrigada.
- A todos os amigos que juntos compõem a verdadeira alegria de compartilhar as emoções e o aprendizado da vida, a minha eterna gratidão.

“Aqueles que se sentem
satisfeitos sentam-se e nada
fazem. Os insatisfeitos são os
únicos benfeitores do mundo.”
(Walter S. Landor)

RESUMO

O estudo avaliou no âmbito funcional, biomecânico e morfológico a aplicação do biopolímero de cana-de-açúcar como suporte para a cicatrização do tendão do calcâneo. Foram utilizados, cinquenta e cinco ratos machos, albinos, da linhagem *Wistar*, distribuídos aleatoriamente em 3 grupos: Grupo Controle (GC, n=16) sem lesão tendínea; Grupo Experimental 1 (GE1, n=19) com secção transversa completa (tenotomia) no ponto médio do tendão e subsequente sutura; e Grupo Experimental 2 (GE2, n=20) com tenotomia, seguida de sutura envolvida pelo filme de biopolímero. O Índice Funcional de Aquiles (IFA) demonstrou diferença em todos os dias pós-operatórios (dpo), quando comparado os grupos experimentais com o GC, mas não houve diferença entre o GE1 e GE2. Nos parâmetros biomecânicos, a Força Máxima foi maior no GE1 e no GE2 em relação ao GC; o mesmo ocorreu na Deformação na Força Máxima. A Tensão na Força Máxima foi menor nos grupos experimentais, bem como a Energia/Área e no Módulo Elástico em relação ao GC. A Área de Secção Transversa apresentou diferença entre os três grupos, GE2 apresentando o maior valor. Na avaliação histomorfométrica, o número de fibroblasto foi superior no GE1 e GE2 comparado ao GC, o número de fibrócitos foi diferente nos grupos entre si, com o GE1 apresentando o maior número. Além disso, o GE1 apresentou maior número de vasos sanguíneos quando comparado aos outros dois grupos. Na análise estrutural dos vasos sanguíneos dos tendões, a marcação específica para actina músculo liso foi superior no grupo GE2 em relação aos outros grupos e essa ocorreu principalmente no componente muscular dos vasos. Com estes resultados conclui-se que o biopolímero de cana-de-açúcar pode ser utilizado como suporte no processo de cicatrização tendínea, pois não prejudicou as características tendíneas ao final do experimento e parece ter histologicamente, acelerado o processo de cicatrização.

PALAVRAS-CHAVE: Tendão do Calcâneo, Lesão Tendínea, Cicatrização, Biomateriais, Bioplímero da Cana-de Açúcar.

ABSTRACT

The study evaluated the functional, biomechanical and morphological scope application of biopolymer sugarcane as support for the healing of the Achilles tendon. Were used, fifty-five male rats, albino Wistar were randomly divided into 3 groups: control group (CG, n = 16) without tendon injury; Experimental Group 1 (EG1, n = 19) with full cross section (tenotomy) at the midpoint and subsequent suturing the tendon; and Experimental Group 2 (SG2, n = 20) with tenotomy followed by suturing biopolymer enveloped by film. The Functional Index Achilles (IFA) showed differences in all postoperative days (postoperative day) compared the experimental groups with the GC, but no difference between SG1 and SG2. In biomechanical parameters, the Maximum Force was higher in SG1 and SG2 in relation to CG, the same outcome occurred with Deformation. The voltage was lower in the experimental groups and Energy / Area and the elastic modulus compared to GC. Section Transverse area was different between the three groups, SG2 presenting the highest value. The number of fibroblasts was higher in SG1 and SG2 compared to GC (GC = 96.80 ± 51.52 ; SG1 = 866.83 ± 163.84 ; SG2 = 802.58 ± 139.78 ; GCxGE1, $p = 0.000$; GCxGE2, $p = 0.000$), the number of fibrocytes was different in groups with each other, the SG1 presenting the highest number. In addition, the SG1 showed more blood vessels compared to the other two groups. In the structural analysis of the blood vessels of the tendons, specific labeling for smooth muscle actin was higher in SG2 group in relation to other groups. The labeling occurred mainly in the muscular component of the vessels. With these results it is concluded that the biopolymer sugarcane can be used as supported on tendon healing process because it does not impaired the characteristics tendinous end of the experiment and appears to have histologically accelerated the healing process.

KEYWORDS: Achilles Tendon, tendon injury, Healing, Biomaterials, Sugarcane Biopolymer.

LISTA DE FIGURAS

Figura1 -	Desenho esquemático da estrutura básica do tendão. As diferentes membranas (endotendão, epitendão e paratendão) são mostradas assim como vasos sanguíneos e nervos (DOCHEVA et al., 2014).	17
Figura 2 -	Curva típica de Força-Deformação do Ensaio Mecânico de Tração do Tendão até a falha. Demonstrando as regiões: I – Toe; II – Linear; III e IV, regiões de falha. A rigidez é a angulação da curva na região linear (MAGANARIS; NARICI; MAFFULLI, 2008).	22
Figura 3 -	Ilustração do Filme do Biopolímero de Cana-de-açúcar utilizado nesse estudo.	36
Figuras 4 -	Tendão do Calcâneo dos animais do Grupo Experimental 2, submetido à tenotomia seguida da sutura (A) e envolvido com o filme de biopolímero de cana-de-açúcar (B).	37
Figura 5 -	Passarela para deambulação utilizada para obtenção do IFA.	38
Figura 6 -	Ilustração da impressão da pata posterior direita utilizada na análise do IFA. Comprimento máximo da pata (PLF); Distância entre o primeiro e o quinto dedos (TSF) e Distância entre o segundo e o quarto dedos (ITF).	38
Figura 7 -	Complexo mio-tendíneo do músculo Tríceps Sural após dissecação, com preservação de sua fixação distal.	39
Figura 8 -	Máquina de Ensaio Mecânico (marca <i>EMIC</i> ®, modelo DL500, Paraná, Brasil).	40
Figura 9 -	Ensaio Mecânico de Tração; (A) garra superior; (B) garra inferior.	40
Figura 10 -	Gráfico Tensão x Deformação e dados obtidos através do Ensaio Mecânico	40

Figura 11 -	Fluxograma das perdas amostrais nos três grupos durante o experimento.	44
Figura 12 -	Impressão das patas direita (lesionada) e esquerda dos animais para a análise do IFA, nos períodos pré operatório, 3ºdpo, 10ºdpo, 20ºdpo e 30ºdpo dos grupos controle, experimental 1 e experimental 2.	45
Figura 13 -	Cortes histológicos de Tendões do Calcâneo dos grupos: Grupo Controle (A), Grupo Experimental 1 (B), Grupo Experimental 2 (C). Imagens fotografadas com objetiva de 40x, corados em Hematoxilina e Eosina. Observa-se o aumento da celularidade (setas) nos Grupos Experimentais (B e C) em relação ao Grupo Controle (A).	49
Figura 14 -	Painel de imunohistoquímica. A, B e C apresentando a marcação vascular de actina nos grupos GC, GE1 e GE2, respectivamente. As figuras D, E e F representam os respectivos controles negativos.	50

LISTA DE TABELAS

Tabela 1 -	Índice Funcional de Aquiles do grupo controle (GC) e dos grupos experimentais 1 e 2 (GE1 e GE2) no Pré-Operatório e no 3º, 10º, 20º e 30º dpo. Valores em Média $\pm$ Desvio Padrão.	46
Tabela 2 -	Propriedades biomecânicas do Tendão do Calcâneo do grupo controle (GC) e dos grupos experimentais 1 e 2 (GE1 e GE2). Valores em Média $\pm$ Desvio Padrão.	47
Tabela 3 -	Dados histomorfométrica do Tendão do Calcâneo do Grupo Controle (GC) e dos Grupos Experimentais 1 e 2 (GE1 e GE2). Análise realizada em 10 campos microscópicos; na objetiva de 40x, Hematoxilina e Eosina. Valores em Média $\pm$ Desvio Padrão.	50

SUMÁRIO

1	APRESENTAÇÃO / INTRODUÇÃO	15
2	REVISÃO DE LITERATURA	18
2.1	ESTRUTURA DO TENDÃO	18
2.2	PROPRIEDADES BIOMECÂNICAS DO TENDÃO	21
2.3	RUPTURA DO TENDÃO DO CALCÂNEO	24
2.4	CICATRIZAÇÃO TENDÍNEA	25
2.5	MÉTODOS DE TRATAMENTO DA LESÃO TENDÍNEA	27
2.6	BIOMATERIAIS NA CICATRIZAÇÃO TENDÍNEA	29
3	JUSTIFICATIVA	32
4	HIPÓTESE	33
5	OBJETIVO	34
5.1	OBJETIVO GERAL	34
5.2	OBJETIVO ESPECÍFICO	34
6	MATERIAIS E MÉTODOS	35
6.1	LOCAL DO ESTUDO	35
6.2	ASPECTOS ÉTICOS	35
6.3	TIPO DO ESTUDO	36
6.4	ANIMAIS/GRUPOS EXPERIMENTAIS	36
6.5	FILME DO BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR	36
6.6	PROCEDIMENTO CIRÚRGICO	37
6.7	ÍNDICE FUNCIONAL DE AQUILES	38
6.8	COLETA DO TENDÃO DO CALCÂNEO	40
6.9	ENSAIO MECÂNICO DE TRAÇÃO DO TENDÃO DO CALCÂNEO	41
6.10	HISTOMORFOMETRIA DO TENDÃO DO CALCÂNEO	42
6.11	IMUNOHISTOQUÍMICA DO TENDÃO DO CALCÂNEO	43
7	ANÁLISE ESTATÍSTICA	44
8	RESULTADOS	45
8.1	PERDAS AMOSTRAIS	45
8.2	ÍNDICE FUNCIONAL DE AQUILES	46

8.3	PROPRIEDADES BIOMECÂNCIAS DO TENDÃO DO CALCÂNEO	48
8.4	DEPÓSITO DE PATENTE	49
8.5	HISTOMORFOMETRIA DO TENDÃO DO CALCÂNEO	50
8.6	IMUNOHISTOQUÍMICA DO TENDÃO DO CALCÂNEO	51
9	DISCUSSÃO	52
10	CONCLUSÃO	58
	REFERÊNCIAS	59
	APÊNDICE A – Revisão Sistemática	75
	APÊNDICE B – Depósito de Patente	100
	ANEXO A – Aprovação do Comitê de Ética	104

1. APRESENTAÇÃO/INTRODUÇÃO

Esta tese é o resultado de uma pesquisa desenvolvida na área de concentração Biotecnologia em Saúde, do Doutorado do Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) que estudou o efeito de um biomaterial, o Biopolímero da cana de açúcar, no processo de reparação do Tendão do Calcâneo em um modelo experimental.

As desordens do Tendão do Calcâneo causam dor e incapacidade, podendo predispor a uma das lesões mais sérias e comuns do tendão que é a sua ruptura (JÓZSA et al., 1989; WOOD et al., 2010; MAQUIRRIAIN, 2011) que pode ocorrer tanto em atletas, na prática esportiva, como em pessoas não atletas, em atividades diárias, sobretudo em situação de falta de condicionamento dessa estrutura (JIALILI et al., 2011; KEARNEY; COSTA, 2012).

A principal estratégia de tratamento em casos graves da lesão do tendão é normalmente a reparação cirúrgica, porém no âmbito da engenharia tecidual a utilização de biopolímeros que apresentem resistência mecânica favorável para atuarem como suporte no processo de cicatrização tendínea desperta grande interesse no campo cirúrgico (SANDY et al., 2015).

O biopolímero de cana de açúcar é composto de por vários exopolissacarídeos, sendo 87,6 de glicose, sintetizados e excretados pela *Zoogloea sp.*, quando esta bactéria permanece em um meio rico de melaço de cana de açúcar (PATERSON-BEEDLE et al., 2000a). A celulose produzida a partir do melaço da cana de açúcar quando transformada numa matriz pode dar origem a diferentes apresentações deste biopolímero como filme, tubo, hidrogel e formas liofilizadas (PINTO et al., 2016). Por apresentar pureza, cristalinidade e poder ser esterilizado sem afetar sua estrutura e propriedades, este material torna-se implantável (RAJWADE; PAKNIKAR; KUMBHAR, 2015).

Testado previamente no tratamento de feridas cutâneas infectadas, este biopolímero apresenta efeito bacteriostático ou bactericida (MONTEIRO et al., 2007). Também foi utilizado em cirurgias otológicas como enxerto de membranas timpânicas perfuradas em modelos experimentais, causando reações inflamatórias e fibrose leve (MAYER et al., 2011). Mostrou-se ser um substituto vascular adequado quando utilizado sob a forma de remendos em artérias femorais de cães, além de

ser uma alternativa viável para a confecção de telas para próteses cirúrgicas (MARQUES et al., 2007; LIMA et al., 2005). Assim, a partir desses resultados foi pensando num modelo experimental para avaliar a aplicação desse biopolímero como coadjuvante no processo de reparação tendínea.

O projeto original deste doutorado contemplava também a associação de um protocolo de treinamento físico ao modelo experimental em questão, que, foi excluído em virtude de atrasos na obtenção de vários reagentes da pesquisa, o que culminou em conseqüente atraso no início do projeto e a decisão de redimensionar o estudo para torná-lo viável no tempo disponível para a sua realização. Entretanto, como já havia sido iniciada uma revisão da literatura buscando avaliar as evidências científicas sobre a repercussão da atividade física aeróbica na estrutura e biomecânica do tendão pós reparação, originou-se o artigo de revisão intitulado - *O efeito do exercício aeróbio na cicatrização de rupturas do tendão do calcâneo em animais: uma revisão sistemática* (incluído no Apêndice deste exemplar e submetido para publicação no periódico *Physical Therapy in Sports* - Conceito A2 na área Educação Física da CAPES. (Apêndice A).

A avaliação da reparação do tendão do Calcâneo foi realizada através dos seguintes parâmetros: funcional, onde se analisou o Índice Funcional de Aquiles (IFA) através do qual foi observado o padrão da marcha dos animais durante trinta dias após a lesão experimental; biomecânico, onde se avaliou as propriedades biomecânicas do tendão através da realização do ensaio mecânico de tração tendínea; histológico, através da mensuração da celularidade, do número de vasos sanguíneos neoformados e, por último, imunohistoquímico, através da avaliação estrutural dos vasos sanguíneos do tecido tendíneo.

Atendendo às normas vigentes do Programa de Pós-Graduação da Rede Nordeste de Biotecnologia (RENORBIO) para a elaboração desta tese, o presente exemplar está estruturado da seguinte maneira:

2. Revisão da Literatura
3. Justificativa
4. Hipótese
5. Objetivos
6. Materiais e Métodos

7. Resultados – apresentados neste exemplar em formato tradicional e contemplando um Depósito de Pedido de Patente (BR1020160044081) da Invenção intitulada “Garra para o ensaio mecânico de material biológico de animais de pequeno porte” (Anexo B).

8. Discussão

9. Conclusão

Referências bibliográficas

Apêndices

Anexos

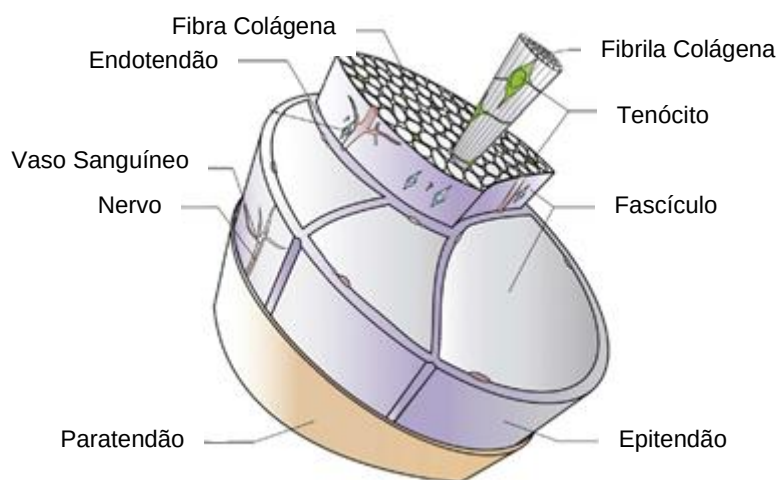
2 REVISÃO DE LITERATURA

2.1 ESTRUTURA DO TENDÃO

O tendão é um tecido conectivo altamente organizado que une o músculo ao osso e é capaz de resistir a altas tensões enquanto transmite forças entre essas estruturas, gerando movimento (KIRKENDALL; GARRETT, 1997; KANNUS, 2000; HEINEMEIER; KJAER, 2011). Esta função é possível graças ao grande contingente de moléculas de colágeno tipo I, hierarquicamente dispostos e alinhados na direção da transmissão de força (THORPE et al., 2016).

A estrutura hierárquica tendínea é formada por moléculas, fibrilas, fibras e fascículos de colágeno (figura 1). A menor unidade estrutural do tendão é a fibrila, recoberta pelo endotendão, tecido conectivo que contém vasos sanguíneos, linfáticos e nervos, e juntos formam uma fibra tendínea (KASTELIC; GALESKI; BAER, 1978). O feixe de fibras agrupado pelo epitendão forma um fascículo, que por sua vez, origina o tendão (KANNUS, 2000). Alguns tendões são ainda envolvidos por uma camada de tecido conjuntivo frouxo chamado de paratendão, que associado ao epitendão passa a ser chamado de peritendão, permitindo a livre movimentação do tendão em relação às estruturas vizinhas (WANG, 2006; YANG; ROTHRAUFF; TUAN, 2014).

Figura1 - Desenho esquemático da estrutura básica do tendão. As diferentes membranas (endotendão, epitendão e paratendão) são mostradas assim como vasos sanguíneos e nervo.



Fonte: DOCHEVA et al., 2014

A matriz extracelular dos tendões é composta de aproximadamente 70% de água e 30% de matéria seca, sendo o colágeno, o seu principal conteúdo constituindo cerca de 60 a 85% de seu peso seco (JÓZSA et al., 1989; KJAER, 2007; DAHLGREN, 2007; THORPE et al., 2013). Este apresenta algumas funções importantes relacionadas à manutenção da arquitetura do tecido, à absorção e transmissão de cargas e à prevenção contra falhas mecânicas (PINS et al., 1997; SILVER; FREEMAN; SEEHRA, 2003). Existem na atualidade 28 tipos de proteínas colágenas teciduais, porém no tendão, o colágeno tipo I é o mais abundante e o grande responsável pela força mecânica tendínea (ERIKSEN et al., 2002; RICARD-BLUM, 2011; THORPE et al., 2013). Outros tipos de colágeno são encontrados em menor quantidade, como, os tipos II, IX e X que foram localizados próximos a inserções ósseas (THOMOPOULOS et al., 2003). Tanto o colágeno tipo III como os tipos IV e V podem ser encontrados no endotendão, ou seja, no centro da fibra colágena e estão envolvidos no desenvolvimento da fibra e no seu crescimento em diâmetro (DUANCE et al., 1977; BIRK et al., 1990; LOMAS et al., 2015). O colágeno tipo VI está presente na matriz pericelular de tendões nas regiões de compressão e de tensão, contribuindo assim, para a manutenção estrutural e integridade biomecânica, e o tipo XII atua em colaboração com o colágeno tipo I na transmissão de força (FELISBINO S.L.; CARVALHO, 1999; THAKKAR et al., 2014).

As fibrilas colágenas são orientadas predominantemente no sentido longitudinal, contudo em menor proporção também há nos sentidos transversal e o horizontal, conferindo ao tendão resistência aos diferentes direcionamentos das forças de tração que ocorrem durante o movimento (CHANSKY; IANNOTTI, 1991). A quantidade de colágeno e de água no tendão, além das interações entre proteínas colágenas e não colágenas define o seu comportamento viscoelástico que por sua vez, contribui para suas propriedades biomecânicas (SILVER; FREEMAN; SEEHRA, 2003b; WANG, 2006b). Dessa forma, os tendões são projetados para transmitir forças com a mínima deformação ou perda de energia.

A composição da matriz extracelular do tendão difere nos seus diferentes níveis hierárquicos (THORPE et al., 2013). A denominada matriz não-colágena do tendão é composta por glicosaminoglicanos, proteoglicanas e fibras elásticas que estão envolvidos na estabilidade das fibras colágenas (GLAZEBOOK et al., 2008). De um modo geral, as proteínas não colágenas estão em maior quantidade

localizadas em regiões que recebem cargas compressivas e em menor quantidade em regiões que são mais submetidas à tensão (THORPE et al., 2013). As cadeias de glicosaminoglicanos fazem conexão, através de seus sítios de ligação, entre as fibras colágenas e as moléculas de proteoglicanos e estes contribuem diretamente para as propriedades mecânicas dos tendões, pois fazem a distribuição de tensão entre as fibras colágenas descontínuas. Oitenta por cento das moléculas de proteoglicanos são do tipo Decorina e influenciam o alinhamento e, conseqüentemente, a estabilização das fibras colágenas (PINS et al., 1997; THORPE et al., 2013). As fibras elásticas, que corresponde de 1 a 2% do conteúdo total do tendão, fornecem ao tecido tendíneo um alto grau de flexibilidade, através de ligações covalentes com moléculas vizinhas (SCOTT; HAIGH, 1988).

Os elementos da matriz extracelular são produzidos por células, e embora haja a presença de células endoteliais, células sinoviais e condrócitos, 90-95% das células são de fibroblastos alongados denominados tenócitos e seus precursores que são os tenoblastos (WANG, 2006b; LOMAS et al., 2015). Em tendões jovens, os tenócitos são mais numerosos e estão localizados próximos às fibras colágenas, distribuídos longitudinalmente; estão ativos na geração de energia, síntese do colágeno e de todos os elementos da matriz extracelular (O'BRIEN, 1997; STROCCHI et al., 1991; THAKKAR et al., 2014). Formam também, através de seus prolongamentos, uma rede de comunicação celular permitindo uma reação coesa do tecido a forças externas, conseqüentemente, reagindo melhor às exigências mecânicas (KJÆR, 2004). Os tenoblastos são células que variam de tamanho e forma, estão organizados em fileiras fazendo conexões entre si e possuem numerosas organelas citoplasmáticas, o que reflete sua intensa atividade metabólica, caracterizando os principais tipos de célula atuantes na remodelação tecidual (MCNEILLY et al., 1996; KANNUS, 2000). O número de tenoblastos reduz com a idade, e além de se tornarem mais alongados, com menor relação núcleo-citoplasma, diminuem sua atividade metabólica (CHUEN et al., 2004).

A estrutura tendínea é de fato pouco vascularizada e este suprimento difere nos diversos tipos de tendão, porém a exata distribuição da rede vascular ainda não está totalmente esclarecida (FENWICK; HAZLEMAN; RILEY, 2002). Sabe-se que a nutrição do tendão depende da presença ou não de membranas de revestimentos; na presença delas, as regiões superficiais são nutridas por difusão de líquido

sinovial (TEMPFER; TRAWEGER, 2015). Com a técnica de angiografia foi observado que o suprimento sanguíneo do tendão ocorre através de três áreas: pela junção miotendínea, pela junção osteotendínea e pelo paratendão (AHMED et al., 1997). Os vasos estão geralmente dispostos longitudinalmente; nas enteses tendíneas, os vasos não passam diretamente do osso para o tendão, pois há uma camada de cartilagem entre essas estruturas, o que ocorre é uma anastomose com vasos do periósteo, formando uma ligação indireta com a circulação óssea (FENWICK; HAZLEMAN; RILEY, 2002).

A inervação tendínea é um tema importante para o estudo de tendinopatias, porém poucas informações se tem sobre o assunto (BENJAMIN; KAISER; MILZ, 2008). É comum observar que os nervos estão associados aos vasos, e por isso, podem estar envolvidos com a regulação do fluxo sanguíneo tendíneo (ACKERMANN et al., 2001). Em grande parte, se não exclusivamente, o suprimento nervoso do tendão é aferente e os receptores são encontrados perto da junção músculo-tendínea (STILWELL, 1957). Há quatro tipos de receptores: o tipo I, os corpúsculos de Ruffini que são receptores de pressão sensíveis ao alongamento e apresentam adaptação gradual; o tipo II, corpúsculos de Vater-Paccinian que são ativados por qualquer movimento; o tipo III, os órgãos tendinosos de Golgi que são mecanorreceptores; e os receptores do tipo IV que são as terminações nervosas livres que atuam como receptores de dor (FREEMAN; WYKE, 1967; JÓZSA; KANNUS, 1997).

2.2 PROPRIEDADES BIOMECÂNICAS DO TENDÃO

Semelhantes a outros tecidos, como pele e ligamentos, os tendões são viscoelásticos e sensíveis às diferentes forças dinâmicas a que são submetidos constantemente (WANG, 2006b). A tendência de um tendão em alongar, encurtar ou falhar motivadas cargas musculares é determinada por sua propriedade biomecânica, que se deve a organização estrutural da matriz extracelular e a interação das proteínas colágenas e não colágenas tendíneas (APARECIDA DE ARO; DE CAMPOS VIDAL; PIMENTEL, 2012; MATSON et al., 2012)

Durante o desenvolvimento do tendão, eventos bem orquestrados promovem mudanças na composição e na estrutura do tecido que são importantes para sua propriedade biomecânica, e assim, ocorre aumento da força mecânica tendínea, acompanhada do aumento de conteúdo e do diâmetro das fibras colágenas (MOORE; DE BEAUX, 1987; ANSORGE et al., 2011). A interação entre as fibras colágenas e as moléculas de proteoglicanas são primordiais, já que as estas atuam orientando e organizando as fibras colágenas tendíneas (CRIBB et al., 1995). Outro componente importante para a biomecânica do tendão são as fibras elásticas, que apesar de se apresentarem em menor quantidade entre as fibras colágenas, são essenciais para a distensão inicial dos tendões e prevenir seu alongamento excessivo (AQUINO; VIANA; FONSECA, 2005)

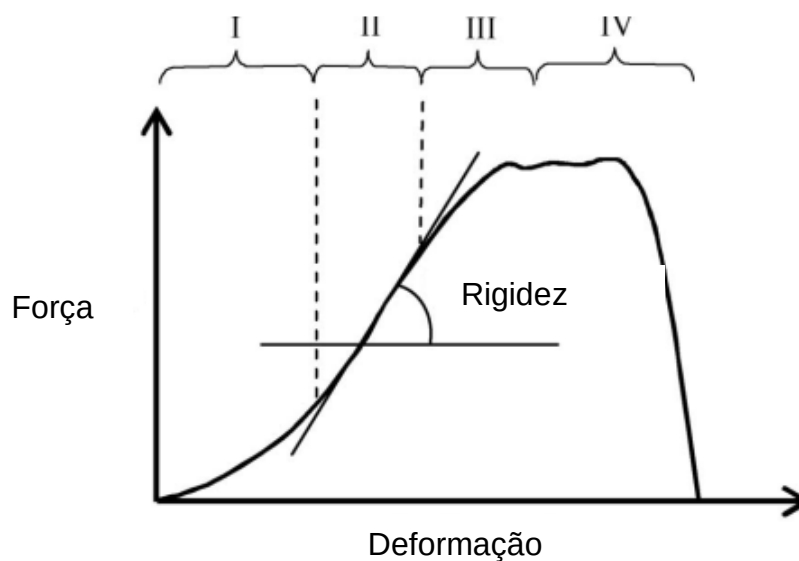
A propriedade de deformação elástica tendínea permite-o estocar energia e com isso possibilita amplificar ou atenuar a força muscular, resultando em um *feedback* mecânico durante o movimento, o que protege os músculos contra possíveis danos (ROBERTS, 2002; KONOW; AZIZI; ROBERTS, 2012). Isto quer dizer que a elasticidade do tendão poupa o trabalho muscular para melhorar a economia do movimento (ROBERTS et al., 1997; CAVAGNA; HEGLUND; TAYLOR, 1977), além de amplificar a potência muscular em algumas atividades (ALEXANDER, 2002).

A fibra colágena representa a menor estrutura tendínea que pode ser testada mecanicamente (O'BRIEN, 1997). As duas principais características mecânicas do tecido colágeno são: o *stress*-relaxamento, que graficamente é uma curva representando a diminuição da tensão ao longo do tempo na deformação constante; e a deformação, que graficamente representa o aumento do comprimento ao longo do tempo durante uma carga constante. Experimentalmente, o estudo das propriedades biomecânicas do tendão é realizado através de ensaios mecânicos (WANG, 2006a) e estas duas características geram, durante o ensaio, uma curva denominada carga-deformação (KIRKENDALL; GARRETT, 1997).

Durante a realização de ensaios mecânicos dos tecidos tendíneos, o tendão é fixado, através de garras localizadas em extremidades opostas: proximalmente, na junção miotendínea e distalmente, na entese. Em seguida o tendão é tracionando ao longo de seu eixo longitudinal sendo os dados mecânicos registrados até a falha do tecido (JAMES et al., 2008a).

O gráfico gerado durante o ensaio mecânico curva de força x deformação do tendão apresenta quatro partes distintas, quando submetida a uma carga externa (ABRAHAMMS, 1967). A inicial chamada região “toe”, corresponde ao comportamento do tendão nos primeiros 2% da carga total aplicada, onde há o alongamento inicial do padrão de friso dos feixes de fibras colágenas. A segunda parte da curva é a chamada porção linear, onde o tendão é alongado até 4% da tensão total, resultando no alongamento total de sua estrutura helicoidal. Acima de 4%, ou seja, após a porção linear, rupturas microscópicas das fibras irão ocorrer. E além 8-10% da tensão, ocorre falha macroscópica das fibras tendíneas (BUTLER et al., 1978) (figura 2).

Figura 2 - Curva típica de Força-Deformação do Ensaio Mecânico de Tração do Tendão até a falha. Demonstrando as regiões: I – Toe; II – Linear; III e IV, regiões de falha. A rigidez é a angulação da curva na região linear (MAGANARIS; NARICI; MAFFULLI, 2008).



Fonte: MAGANARIS; NARICI; MAFFULLI, 2008

2.3 RUPTURA DO TENDÃO DO CALCÂNEO

A ruptura do tendão do Calcâneo é uma das mais comuns lesões tendíneas na população jovem (JÓZSA et al., 1989b). Nas últimas décadas, esta incidência aumentou e provavelmente, deve-se ao elevado número de indivíduos adultos, numa faixa etária compreendida entre 30 e 40 anos de idade, praticantes de esportes recreacionais ou competitivos de forma ocasional, sendo assim, a maioria das rupturas (44% - 83%) ocorre durante atividades esportivas (JÄRVINEN et al., 2001; HUTTUNEN et al., 2014; SCOTT; GREWAL; GUY, 2014). As alterações bioquímicas e biomecânicas relacionadas com o envelhecimento também desempenham um papel significativo na patogênese de lesões tendíneas (LANDVATER; RENSTRÖM, 1992). Em recente estudo epidemiológico foi mostrado que a incidência de ruptura do tendão do calcâneo aumentou em todas as idades num período de 33 anos. A causa principal foi relacionada com a prática de esportes em indivíduos jovens, porém confirmou também que o envelhecimento parece ser a causa desse aumento ter ocorrido em mulheres acima de 50 anos (LANTTO et al., 2014).

As lesões dos tendões podem ser aguda ou crônica, causadas por fatores intrínsecos ou extrínsecos, quer isoladamente ou em combinação. Nas lesões crônicas, a interação entre fatores intrínsecos e extrínsecos é comum, já na lesão aguda, fatores extrínsecos predominam, enquanto que lesões por *overuse* geralmente tem origem multifatorial (GROSS; HOFFMANN, 2013). Os fatores intrínsecos são: idade, sexo, presença ou ausência de doenças associadas, fatores genéticos, temperatura tendínea, força muscular, flexibilidade, variações anatômicas; enquanto que fatores extrínsecos são: carga, ambiente, ocupação e treinamento (REES; WILSON; WOLMAN, 2006; MAGNAN et al., 2014). É importante enfatizar que não é comum o tendão sadio falhar em resposta a tensão aplicada, quando isso ocorre, há a presença de algum tipo de patologia associada (KIRKENDALL; GARRETT, 1997).

Muitas hipóteses têm sido descritas como possíveis causas na ruptura do tendão do calcâneo, porém ainda não há consenso (MAFFULLI; WONG; ALMEKINDERS, 2003). Os fatores de risco são vários, cita-se a má vascularização do tendão, a degeneração tendínea, a disfunção muscular, o mau condicionamento

da unidade músculo-tendínea, as mudanças no padrão de treinamento e o desequilíbrio mecânico (SHARMA; MAFFULLI, 2005)

Duas teorias foram propostas para a ocorrência da ruptura do tendão do calcâneo, a teoria degenerativa e a teoria mecânica. Na primeira, a degeneração do tendão resulta em ruptura sem necessariamente aplicação de cargas excessivas, já na segunda, a ruptura geralmente ocorre após uma contração muscular excessiva em tendões saudáveis. Uma hipótese importante para o desenvolvimento de alterações degenerativas é o pobre suprimento sanguíneo do tendão, que pode resultar em hipóxia e prejuízo no metabolismo tendíneo (LONGO et al., 2013).

A pobre vascularização é uma questão que gera discussão na contribuição para o surgimento de lesões tendíneas, principalmente, na região de 3-6 cm da inserção óssea do tendão do calcâneo (ASTRÖM; WESTLIN, 1994). Porém, um estudo que objetivou examinar o suprimento de sangue do tendão do calcâneo verificou que tanto a parte distal posterior do tendão, como a parte média do tendão mostraram pobre vascularização. Como as rupturas ocorrem com maior frequência na parte média e raramente na parte distal, foi concluído que não existe uma relação direta entre o fornecimento de sangue e a incidência de ruptura (GRAF; SCHNEIDER; NIETHARD, 1992).

Alguns mecanismos de ruptura já foram descritos e o movimento de ruptura mais comum ocorre com a transferência de peso para a região do antepé com o joelho em extensão, situação que ocorre geralmente em esportes de salto; seguida da dorsiflexão súbita do tornozelo que ocorre, por exemplo, ao cair em um buraco; por último, após uma dorsiflexão súbita, posterior a uma flexão plantar, como ao cair de certa altura (ARNER; LINDHOLM; ORELL, 1959). O tipo de ruptura do tendão do calcâneo também já foi classificada em quatro tipos: o tipo 1 é uma ruptura menor que 25% do diâmetro total; na ruptura do tipo 2, o defeito é menor que 3 cm; uma falha entre 3 e 6 cm é uma ruptura do tipo 3; e na ruptura do tipo 4 o defeito é maior que 6 cm (KUWADA, 1995).

2.4 CICATRIZAÇÃO TENDÍNEA

A cicatrização natural do tendão é um processo lento devido à hipocelularidade e hipovascularização normal do tecido, sendo regulado por vários fatores de crescimento, citocinas e células (SHARMA; MAFFULLI, 2006; LIU et al., 2011). O processo de cicatrização em tendões ocorre em três fases que se sobrepõem, e a duração é dependente da localização, da gravidade e do tipo de tratamento associado (HOPE; SAXBY, 2007; DOCHEVA et al., 2014). Mesmo após um ano do início de todo o processo, a estrutura e a função do tendão não se igualam ao do tendão saudável (YANG; ROTHRAUFF; TUAN, 2013).

A primeira fase, inflamatória, ocorre logo após a lesão com a formação de um hematoma e pode durar de 24 a 48 horas. Células inflamatórias como neutrófilos, monócitos e macrófagos são atraídos para o local da lesão por intermédio de citocinas pró-inflamatórias (LIN; CARDENAS; SOSLOWSKY, 2004). Os macrófagos são as células predominantes durante esta fase, enquanto que a concentração de neutrófilos diminui após as primeiras 24 horas (MARSOLAIS; CÔTE; FRENETTE, 2001). Neste momento, a sobrevivência do tecido neoformado deve-se à presença de uma rede vascular, que surge devido aos fatores angiogênicos, sendo necessário em virtude da síntese de colágeno ser um processo altamente dependente de oxigênio (XIE et al., 2015). Durante esta fase, há também o aumento de DNA, fibronectina, glicosaminoglicanos, água, e colágeno do tipo III, que estabiliza coletivamente a matriz extracelular recém-formada (MONTGOMERY, 1989).

Na fase de proliferação, que pode se sobrepor à fase anterior, observa-se histologicamente um menor número de macrófagos e mastócitos, sendo os tipos celulares predominantes os fibroblastos. Estes apresentam seus retículos endoplasmáticos desenvolvidos, o que é indicativo de intensa síntese de componentes da matriz extracelular, tais como, colágeno (principalmente colágeno do tipo III) e proteoglicanos. Outra característica desta etapa é a grande quantidade de água e de glicosaminoglicanas (LIN; CARDENAS; SOSLOWSKY, 2004; MOLLOY et al., 2006; DOCHEVA et al., 2014).

A fase seguinte, chamada de remodelação, é um processo lento que tem seu início 6 a 8 semanas após a lesão e pode perdurar por dois anos. Nela ocorre o alinhamento progressivo das fibrilas de colágeno em feixes, restaurando a rigidez e a resistência do tendão. Ocorre também, uma diminuição na celularidade e na produção de matriz e o tecido torna-se mais fibroso através da substituição de

colágeno do tipo III por fibras do tipo I. Após cerca de 10 semanas, o estado de maturação é iniciado, o qual inclui o aumento na fibrila de colágeno e a formação de tecido tendíneo mais maduro (DOCHEVA et al., 2014).

Na atualidade dois mecanismos de cicatrização são propostos: a cicatrização extrínseca e intrínseca (JAMES et al., 2008; LOMAS et al., 2014). No primeiro, os fibroblastos e células inflamatórias migram dos tecidos periféricos e invadem a região da lesão e mais tarde promove a reparação e regeneração. No segundo mecanismo ocorre a migração e proliferação de células do endotendão e epitendão dentro do local da lesão (BEREDJIKLIAN et al., 2003). Esses mecanismos geralmente ocorrem simultaneamente, e o que determina a sobressaliência de um sobre o outro é o tipo de lesão, a sua localização e o tipo de tratamento (FENWICK; HAZLEMAN; RILEY, 2002). O mecanismo extrínseco é caracterizado pela formação de adesão, pela presença de matriz colágena desordenada com alta celularidade e pelo elevado conteúdo de água no local da lesão. Já o mecanismo intrínseco é responsável pela reorganização das fibras colágenas e manutenção da continuidade fibrilar (JAMES et al., 2008b).

O tecido cicatrizado tem alteração na presença e na organização de proteínas não colágenas assim como na sua propriedade mecânica, e isto associa-se com uma possível ruptura, pela permanência elevada da quantidade de colágeno tipo III durante todo o processo (LIU et al., 1995).

2.5 MÉTODOS DE TRATAMENTO DA LESÃO TENDÍNEA

O tratamento para a ruptura do tendão está em constante evolução, e o seu objetivo principal é a regeneração do tecido tendíneo com características estruturais e físicas comparáveis às de um tendão normal sem lesão. Porém, o melhor tratamento para a ruptura do Tendão do Calcâneo ainda é uma questão controversa (CHIODO et al., 2010). Na escolha do tratamento, deve-se considerar a natureza da ruptura, o tempo decorrido até o diagnóstico, se é uma ruptura primária ou recorrente, a idade e as condições do paciente, e se a lesão ocorre em atletas de

alto rendimento, em indivíduos que praticam esportes regularmente ou sedentários (MAQUIRRIAIN, 2011).

O tratamento da ruptura do tendão pode ser cirúrgico ou não, o que depende geralmente da preferência do cirurgião ou do paciente (SOROCEANU et al., 2012). Porém, em indivíduos atletas sugere-se geralmente o tratamento cirúrgico por este ser capaz de restabelecer o comprimento do tendão, reduzir a rigidez do tornozelo e a atrofia muscular; além do menor risco de uma re-ruptura (LYNCH, 2004; JALLAGEAS et al., 2013). Entretanto, apresenta desvantagens significativas como complicações com anestesia, infecção, adesão e alto custo (KHAN et al., 2005; TAN; SABB; KADAKIA, 2009). Existem três tipos de abordagens cirúrgicas: reparação percutânea, cirurgia aberta ou com abertura mínima (KHAN et al., 2005).

A decisão de optar pelo tratamento não cirúrgico numa ruptura do tendão do Calcâneo pode ser fundamentada em algumas medidas obtidas através do exame de ultra-sonografia, a partir dos seguintes resultados: menos de 5 mm de separação com flexão plantar máxima, menos de 10 mm de separação com o pé em posição neutra, ou maior do que 75% de aposição do tendão com o pé em 20 de flexão plantar (KOTNIS et al., 2006; POYNTON; O'ROURKE, 2001). Já o tratamento não cirúrgico convencional somada a imobilização do membro é um método pouco utilizado, por promover o retardo do processo de cicatrização como também por prejudicar as propriedades biomecânicas do tendão, como diminuição da resistência à tração, da tensão no momento da ruptura, assim como leva a atrofia, fraqueza muscular, perda de coordenação e propriocepção articular (YAMAMOTO; HAYASHI; YAMAMOTO, 1999; PALMES et al., 2002; BRING et al., 2009). A imobilização também reduz o teor de água e de proteoglicanos dos tendões e aumenta o número de ligações cruzadas de colágeno, altera o número das células e sua conformação estrutural, afetando o alinhamento das fibras colágenas (HANNAFIN JA, ARNOCZKY SP, HOONJAN A, 1995).

Os novos programas de reabilitação sugerem que a mobilização precoce e a associação com carga de peso apresentam efeitos positivos no processo de cicatrização tendínea no que diz respeito à prevenção de atrofia, rigidez, adesão, trombose, devido à melhora na vascularização e na resposta imunológica (ANDERSSON; ELIASSON; ASPENBERG, 2009; KRAPP; KAIPEL; MAJEWSKI, 2012). Outros métodos usados na reabilitação deste tipo de lesão também

mostraram benefícios: uso do Ultrassom (YEUNG; GUO; NG, 2006; TSAI; TANG; LIANG, 2011), de laserterapia (WOOD et al., 2010; JOENSEN et al., 2012; JESUS et al., 2014), uso de Óxido Nítrico (XIA et al., 2006; MURRELL, 2007; BOKHARI; MURRELL, 2012).

2.6 BIOMATERIAIS NA CICATRIZAÇÃO DO TENDÃO

Como o objetivo de melhorar a resposta cicatricial de tecidos, pesquisas na área da engenharia tecidual têm sido amplamente realizadas, principalmente no campo da reconstrução cirúrgica (DOURTE; KUNTZ; SOSLOWSKY, 2008; MOSHIRI; ORYAN; MEIMANDI-PARIZI, 2013). Há um contínuo esforço em mimetizar as estruturas complexas e hierárquicas inerentes ao tecido nativo, portanto, os biomateriais produzidos podem apresentar composição molecular e estrutural previamente selecionada de acordo com as metas almejadas (MOSHIRI; ORYAN, 2012; SHEARN et al., 2013; RAJWADE; PAKNIKAR; KUMBHAR, 2015)

Para um biomaterial ser ideal, ele deve apresentar uma composição química biocompatível, ou seja, não gerar reações adversas; promover interação celular e desenvolvimento tecidual; ser biodegradável ou bioabsorvível; apresentar propriedades mecânicas favoráveis para sustentar cargas e alta resistência ao desgaste (DAVIS, 2003). Os materiais biocompatíveis utilizados, seja substituindo os tecidos humanos seja como suporte na cicatrização de feridas, provocam algum grau de inflamação, contudo, esta não deve ser de grande intensidade, mas o suficiente apenas para provocar a reparação tecidual (MAYER et al., 2011). Alguns obstáculos podem ser encontrados na utilização destes materiais, como: geração de tecidos funcionais, modo de implantação que viabilize a função celular e a manter a integridade biológica e mecânica do tecido circundante (MUSCHLER; NAKAMOTO; GRIFFITH, 2004).

Para a produção dos biomateriais, vários materiais tem sido utilizados, alguns componentes naturais como o colágeno (MURRAY et al., 2007), submucosa de intestino delgado de porco (SUCKOW et al., 2007), fibras de seda (JIN et al., 2004) e à base de quitosano (FUNAKOSHI et al., 2006), dentre os materiais sintéticos cita-se

o ácido poliglicólico, ácido polilático e copolímeros (COOPER et al., 2007; DOURTE; KUNTZ; SOSLOWSKY, 2008). Os biomateriais mais recentes são aqueles fabricados por polimerização de uma ou várias moléculas de proteínas, tais como colágeno e elastina. Porém, outras tecnologias e produtos estão sendo introduzidos e estão disponíveis comercialmente; no entanto, a maioria não passou por testes *in vivo* e seu real papel no processo de cicatrização e o resultado de seu uso ainda são desconhecidos (MOSHIRI; ORYAN; MEIMANDI-PARIZI, 2013).

Desde o seu descobrimento, a celulose bacteriana (CB) vem atraindo pesquisas em todo mundo e sua aplicabilidade na biomedicina só vem aumentando. Ela é um polissacárido não ramificado constituído de cadeias lineares de resíduos β -1,4 - glucopirranose produzido extracelularmente (SHAH et al., 2013; RAJWADE; PAKNIKAR; KUMBHAR, 2015). Em sua morfologia, apresenta uma única rede de nanofibrilas que mimetiza as propriedades da matriz extracelular. Diferente de muitos polímeros sintéticos, a celulose bacteriana é biocompatível, pois por ser um polissacarídeo é menos imuno-estimulante, e ainda integra-se ao tecido. As nanofibrilas ainda podem guiar células, sendo assim a CB é portanto, muito atraente como um suporte cicatricial para engenharia de tecidos (PETERSEN; GATENHOLM, 2011).

Dentro deste contexto de novos biomateriais há o biopolímero da cana-de-açúcar sintetizado, em 1990, na Estação Experimental de Cana de Açúcar de Carpina, da Universidade Federal Rural de Pernambuco – UFRPE. Este biopolímero contém em sua estrutura glicose, em maior concentração, e a celulose que pode ser produzido de duas maneiras: ou por síntese natural através da fotossíntese de plantas ou por síntese microbiana (PATERSON-BEEDLE et al., 2000b; MOHITE; PATIL, 2014). No caso do biopolímero da cana de açúcar, a única matéria prima utilizada para a produção de sua celulose é o melaço da cana de açúcar, através da bactéria *Zoogloea sp.* (PINTO et al., 2016).

O biopolímero *in natura*, com açúcares residuais, foi utilizado como curativos no tratamento de feridas acidentais em cães, promovendo aumento do tecido de granulação, controle da infecção e diminuição do tempo de cicatrização (COELHO et al., 2001). Posteriormente, em 2001, foi realizado uma série de ensaios químicos com o objetivo de adequar o biopolímero, em estado de pureza, resultando em um tecido homogêneo, estável, com baixa citotoxicidade e com características

físicas e químicas que atendem às especificidades morfofuncionais de diferentes tecidos (CASTRO et al., 2004).

Devido a essas características, ele vem sendo utilizado com sucesso em muitos estudos em diversas áreas da cirurgia experimental como na cicatrização de feridas cutâneas (MONTEIRO et al., 2007), na reconstrução vascular (MARQUES et al., 2007), como substituto da membrana timpânica (MAYER et al., 2011), na reconstrução do parênquima renal (TAVARES et al., 2014), na correção da incontinência urinária (SILVEIRA et al., 2014), entre outras; sob diferentes apresentações e estados físicos: membrana (LIMA et al., 2005; MARQUES et al., 2007; MAYER et al., 2011; SILVEIRA et al., 2014), película (MONTEIRO et al., 2007), esponja (TAVARES et al., 2014), gel (CORDEIRO-BARBOSA et al., 2012; AUGUSTO et al., 2014).

3 JUSTIFICATIVA

A ruptura do tendão é um problema clínico significativo em todo o mundo e o aumento de sua incidência pode estar relacionado ao aumento dos adeptos da prática esportiva e ao processo de envelhecimento, em decorrência de uma maior expectativa de vida da população. Os métodos de tratamento ainda são controversos, apesar da existência de vários estudos comparando o tratamento conservador com o cirúrgico. Por esse motivo, novas estratégias vêm sendo avaliadas no intuito de melhorar o processo cicatricial desta lesão e consequentemente, favorecer a população afetada um rápido retorno às suas atividades.

Atualmente, na área de engenharia tecidual, que visa à regeneração de tecidos biológicos, novos biomateriais estão sendo aplicados com sucesso na reparação de tecidos. Entretanto, um dos grandes desafios é o desenvolvimento de biomateriais originários de matérias primas de baixo custo, fácil acesso e com características adequadas para a função destinada.

Neste contexto, o biopolímero da cana-de-açúcar, já demonstrou em vários estudos experimentais, apresentar componentes em sua estrutura, como relatado anteriormente, com propriedades terapêuticas, além de apresentar baixa citotoxicidade e características físicas e químicas que atendem às especificidades morfofuncionais de diferentes tecidos. Como o Brasil é o maior produtor de cana-de-açúcar do mundo, a possibilidade de um novo material biocompatível e de baixo custo, capaz de ser utilizado na reconstrução tendínea, produzido a partir de uma matéria-prima abundante em nosso país motivou esta pesquisa.

4 HIPÓTESE

O Biopolímero de cana-de-açúcar utilizado como suporte no processo de cicatrização da ruptura experimental do tendão do calcâneo de ratos *Wistar* pode otimizar o processo de cicatrização e desta forma favorecer as propriedades biomecânicas do tendão pós-lesão originando uma novo tecido menos favorável a novas lesões.

5 OBJETIVOS

5.1 OBJETIVO GERAL:

Avaliar o efeito do filme de biopolímero de cana-de-açúcar como suporte da reparação da ruptura total do tendão do calcâneo em um modelo experimental, investigando seus efeitos funcionais e estruturais.

5.2 OBJETIVOS ESPECÍFICOS:

Avaliar o efeito do Biopolímero sobre:

- a) A recuperação funcional da marcha dos animais através análise do Índice Funcional do Aquiles (IFA).
- b) As Propriedades Biomecânicas do tendão através do Ensaio Mecânico de Tração, analisando os seguintes parâmetros: força máxima, tensão na força máxima, deformação na força máxima e módulo elástico.
- c) A histologia do tecido tendíneo trinta dias pós-lesão através da quantificação de fibroblastos, fibrócitos e vasos sanguíneos.
- d) A expressão da actina músculo liso no tecido tendíneo trinta dias pós-lesão.

6 METODOLOGIA

6.1 LOCAL DO ESTUDO

Esta pesquisa foi desenvolvida no Laboratório de Plasticidade Neuromuscular do Departamento de Anatomia (LAPLAN), onde os animais experimentais foram mantidos, em parceria com os seguintes laboratórios da Universidade Federal de Pernambuco:

- Laboratório de Cirurgia Experimental do Departamento de Cirurgia: realização dos procedimentos cirúrgicos;
- Laboratório de Materiais Poliméricos e Caracterização (LMPC) do Departamento de Engenharia Química: realização do ensaio mecânico de tração;
- Núcleo de Pesquisa de Inovação Terapêutica (NUPIT): realização das etapas da imunohistoquímica;
- Laboratório de Microscopia Eletrônica do Centro de Tecnologias Estratégicas do Nordeste (CETENE): realizado os procedimentos histológicos;
- Laboratório de Engenharia da Mobilidade no Departamento de Engenharia Mecânica: confecção da peça para a realização do ensaio mecânico de tração.

6.2 ASPECTOS ÉTICOS

Foram respeitados os aspectos éticos referentes à pesquisa em animais de laboratório preconizados pelo COBEA (Colégio Brasileiro de Experimentação Animal), Lei nº 6638 de 8 de maio de 1979 e Decreto nº 24645 de 10 de julho de 1934, além de estar de acordo com o *Guide for the Care and Use of Laboratory Animals*. Este estudo foi aprovado pelo Comitê de Ética em Experimentação Animal (CEEAA) da Universidade Federal de Pernambuco (UFPE), protocolo nº 23076.038181/2012-19 (Anexo A).

6.3 TIPO DE ESTUDO

Foi realizado um estudo experimental com métodos de análises de caráter qualitativo, quantitativo e semiquantitativo.

6.4 ANIMAIS EXPERIMENTAIS

Foram utilizados 81 (oitenta e um) ratos machos, albinos, da linhagem *Wistar*, com idade de 60 dias (peso médio de 210 – 320g), provenientes da colônia de criação do Departamento de Nutrição da UFPE e mantidos no biotério de experimentação do Departamento de Anatomia, sob temperatura de $22 \pm 2^{\circ}\text{C}$, num ciclo invertido de luz (18:00 às 6:00 h) e escuridão (6:00 às 18:00 h), livre acesso à água filtrada e ração (Presence) e sob condições padrão de biotério.

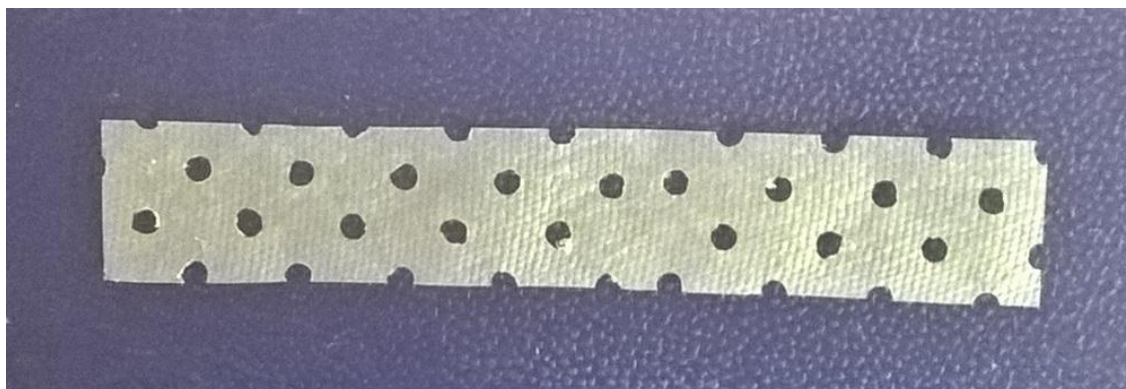
Os animais foram distribuídos em três grupos: Grupo Controle (GC, n=27), Grupo Experimental 1 (GE1, n=27) e Grupo Experimental 2 (GE2, n=27); de forma que em cada grupo houvesse filhotes de nutrízes diferentes para evitar que algum fator genético influenciasse os resultados. No GC não foi realizada lesão experimental do tendão do calcâneo, porém, o GE1 e o GE2 sofreram uma secção transversa completa (tenotomia) no ponto médio do tendão do calcâneo com subsequente sutura com o fio 5-0 CATGUT (ETHICON). Apenas no GE2, a sutura foi envolvida pelo filme do biopolímero de cana-de-açúcar.

6.5 FILME DE BIOPOLÍMERO DE CANA-DE-AÇÚCAR

O filme de Biopolímero de cana-de-açúcar utilizado nesse estudo foi obtido na Estação Experimental de Cana-de-Açúcar de Carpina da Universidade Federal Rural de Pernambuco (UFRPE). O melaço da cana de açúcar é o único material utilizado para a obtenção deste biopolímero, que uma vez sintetizado é submetido a um processo químico para redução de seus açúcares. Em sua estrutura química pura apresenta: glicose (87,57%), xilose (8,58%), ribose (1,68%), ácido glicurônico (0,83%), manose (0,82%), arabinose (0,37%), galactose (0,13%), ramnose (0,01%)

e fucose (0,01%). Além disso, o produto passa por um processo de extração a vácuo de água que produz a matriz da celulose bacteriana. A partir dessa matriz, foi extraído o filme (Figura 3).

Figura 3 - Ilustração do Filme do Biopolímero de Cana-de-açúcar utilizado nesse estudo.



6.6 PROCEDIMENTO CIRÚRGICO (Indução da lesão do tendão do calcâneo)

Ao atingirem a idade de 60 dias, todos os animais foram anestesiados com uma solução de Cloridrato de Xilazina a 2% (ANASEDAN) e de Quetamina a 10% (SYNTEC) por via intramuscular, na dosagem total de 0,2 ml da solução para cada 100g de peso do animal [1:1] (MASSONE, 1988). Uma incisão longitudinal na pele da região póstero-inferior da pata direita próximo ao calcâneo foi realizada para a exposição e identificação do Tendão do Calcâneo. No GC houve apenas a retirada do tendão do Músculo Plantar enquanto que o Tendão do Calcâneo permaneceu intacto. Nos Grupos Experimentais, além da retirada do tendão do Músculo Plantar, o Tendão do Calcâneo foi seccionado no seu ponto médio com auxílio de um bisturi nº15. No GE1 foi realizada apenas sutura utilizando o fio 5-0 CATGUT (ETHICON), enquanto que no GE2 foi realizada a sutura sendo esta envolvida com o filme do biopolímero (0,6cm x 1,8cm) (figuras 3, 4 A e 4B). Logo após esse procedimento, a sutura na pele foi realizada com fio 4-0 CATGUT cromado. Em seguida foi administrado analgésico intramuscular (Dipirona Monoidratada – 50mg/ml; 0,1ml/100g) antibióticoterapia tópica (Rifamicina SV sódica – 10mg/ml; Sulfato de Neomicina + Bacitrina – 5mg/g + 250UI/g) e intramuscular (Enrofloxacin – 10%; 0,05ml/animal). O tendão do músculo plantar foi retirado em todos os grupos para

evitar interferências durante a avaliação biomecânica, afinal em animais quadrúpedes o músculo plantar é funcionalmente mais desenvolvido (MURRELL et al., 1991; ELIASSON; ANDERSSON; ASPENBERG, 2009).]

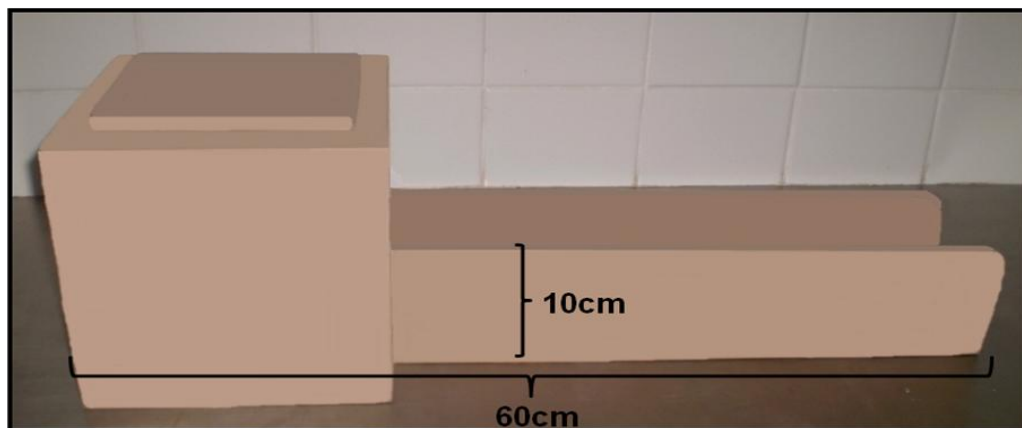
Figuras 4 - Tendão do Calcâneo dos animais do Grupo Experimental 2, submetido à tenotomia seguida da sutura (A) e envolvido com o filme de biopolímero de cana-de-açúcar (B).



6.7 DETERMINAÇÃO DO ÍNDICE FUNCIONAL DE AQUILES (IFA)

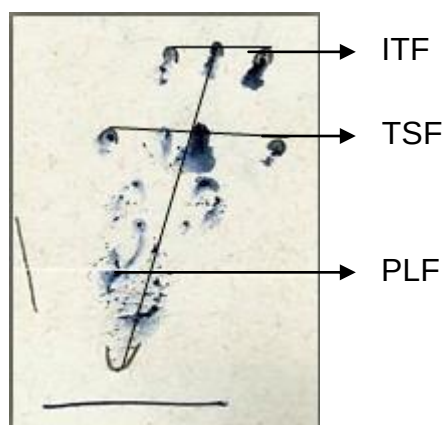
Para a avaliação funcional da recuperação da marcha do animal, foi aplicado o IFA nos animais de todos os grupos, nos seguintes tempos do estudo: no pré-operatório e nos 3°, 10°, 20° e 30° dias do pós-operatório (dpo) (MURRELL et al., 1991). Os animais deambularam em uma passarela de 10 cm de largura e 60 cm de comprimento sobre um papel branco (figura 5). Tiveram suas patas marcadas, na região plantar, com uma tinta azul a fim de imprimirem suas passadas em um papel branco colocado na passarela.

Figura 5 - Passarela para deambulação utilizada para obtenção do IFA.



O IFA é obtido através da seguinte fórmula, $74(\text{PLF}) + 161 (\text{TSF}) + 48 (\text{ITF}) - 5$, que leva em consideração três fatores: comprimento máximo da pata (PLF – *footprint length factor*), distância entre o primeiro e o quinto dedos (TSF – *toe spread factor*) e fator distância entre o segundo e o quarto dedos (ITF – *intermediary toe-spread factor*) (figura 6). A medição desses fatores foi realizada por dois avaliadores independentes e cegos, através das imagens escaneadas das patas dos animais e com o auxílio do software *Image Tool for Windows* versão 3.0.

Figura 6 - Ilustração da impressão da pata posterior direita utilizada na análise do IFA. Comprimento máximo da pata (PLF); Distância entre o primeiro e o quinto dedos (TSF) e Distância entre o segundo e o quarto dedos (ITF).



Os valores numéricos do IFA expressam a funcionalidade da marcha dos animais: quanto mais próximos de -100, indicam menor funcionalidade da marcha; enquanto que mais próximo a zero, indicam marcha mais funcional (MURRELL et al.,

1991).

6.8 PROCEDIMENTO PARA RETIRADA DO TENDÃO DO CALCÂNEO

Trinta dias após o a colocação do filme do biopolímero, todos os animais foram novamente anestesiados com solução de Cloridrato de Xilazina a 2% (ANASEDAN) e Quetamina a 10% (SYNTEC) por via intramuscular, em uma quantidade total de 0,2 ml da solução para cada 100 g de peso do animal, na proporção de 1:1 (MASSONE, 2011) para a coleta do tendão. Uma incisão foi realizada ao longo da superfície supero-lateral da pata direita do animal próximo a articulação do coxo-femoral, para remoção e dissecação do complexomiotendíneo do músculo Tríceps Sural, sendo distalmente preservado a fixação distal deste músculo no calcâneo e, conseqüentemente, o pé do animal (figura 7). Para a eutanásia dos animais foi injetado 1ml de Cloreto de Potássio (KCl) intracardíaco em cada animal.

Figura 7 - Complexo mio-tendíneo do músculo Tríceps Sural após dissecação, com preservação de sua fixação distal.



Após a coleta, seis tendões de cada grupo foram encaminhados para o processamento histológico. Os demais tendões (21 para cada grupo) foram colocados em recipiente térmico, recoberto por gaze levemente umedecido com

solução salina a 0,9%, para preservação das amostras, e imediatamente encaminhados para realização do ensaio mecânico convencional no Laboratório de Polímeros – Departamento de Engenharia Química da UFPE.

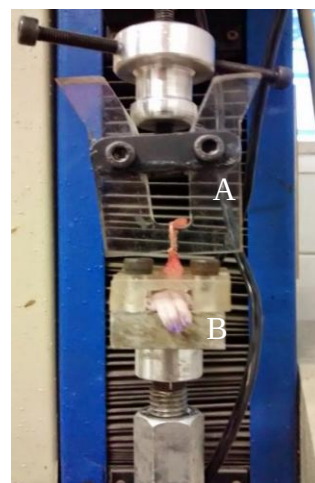
6.9 ENSAIO MECÂNICO DE TRAÇÃO DO TENDÃO DO CALCÂNEO

A avaliação mecânica do tendão foi realizada no trigésimo dia pós-operatório. Com o complexo miotendíneo do Tríceps Sural dissecado, inicialmente foi mensurada a Área de Seção Transversal (AST) dos Tendões do Calcâneo, através da fórmula da elipse (SILVEIRA; NERY, 1999), que é a estrutura geométrica que mais se assemelha ao tendão do calcâneo. Para esta avaliação foi utilizada uma máquina de ensaio mecânico (marca *EMIC*®, modelo DL500, Paraná, Brasil) (figura 8), na qual foram acopladas duas peças confeccionadas especialmente para este tipo de amostra, com o objetivo de realizar a tração tendínea o mais próximo da posição anatômica. A pata do animal foi fixada numa garra inferior (figura 9, B), onde o tendão foi mantido inserido no osso calcâneo; e a junção mio-tendínea do Tendão do Calcâneo foi fixada na garra superior (figura 9, A).

Figura 8 - Máquina de Ensaio Mecânico (marca *EMIC*®, modelo DL500, Paraná, Brasil).



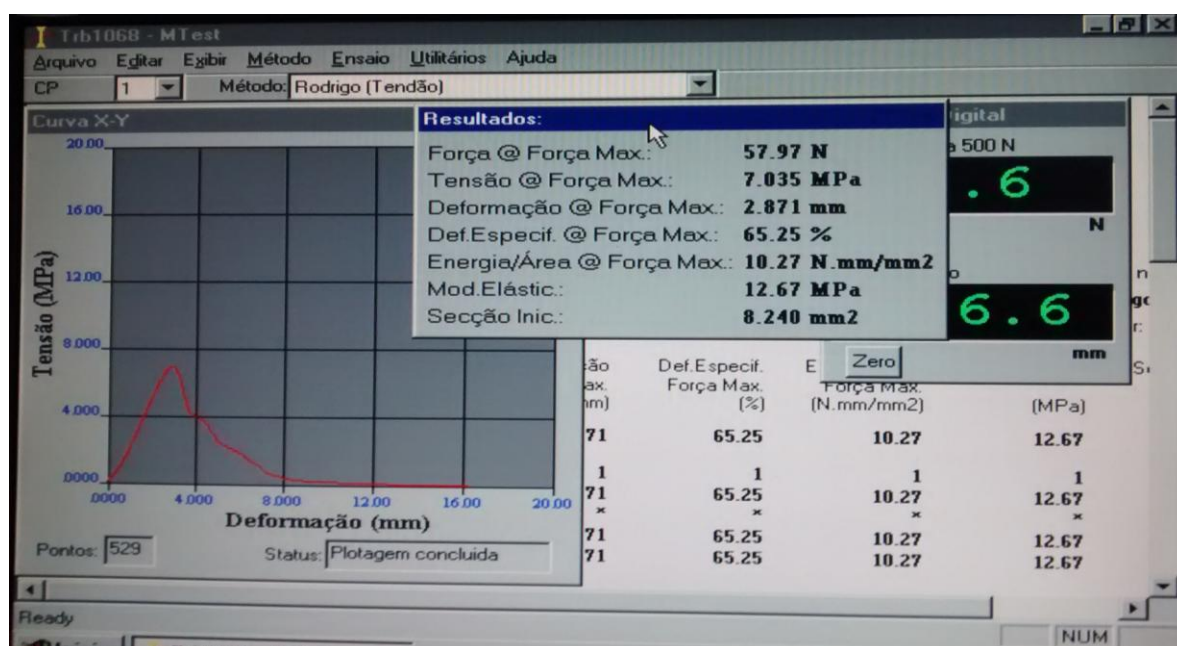
Figura 9 - Ensaio Mecânico de Tração; (A) garra superior; (B) garra inferior.



As amostras foram tracionadas pela máquina até o ponto de ruptura, com velocidade de 0,1 mm/s e célula de carga de 500 N. Acoplado a máquina, o *software*

Tesc® gerou dois gráficos (carga *versus* deformação e tensão *versus* deformação) através dos quais foram obtidos os parâmetros analisados do ensaio (figura 10): Força Máxima (N) – maior valor de força gerada pela célula de carga da máquina no momento da falha; Módulo elástico (MPa) – rigidez intrínseca da amostra, graficamente representado pela tangente da região mais linear da curva tensão x deformação; Tensão na força máxima (MPa) – força de resistência gerada pelo tendão que se opõe a força gerada pela máquina por unidade de área, obtido pelo quociente da Força máxima pela Área de Secção Transversa; Deformação na Força Máxima (mm) – variação de dimensão da amostra; Deformação Específica (%) - quociente entre o comprimento base e a deformação máxima multiplicado por 100 e Energia/Área (N.mm/mm²) – a quantidade de energia que é distribuída por unidade de área tendínea.

Figura 10 - Gráfico Tensão x Deformação e dados obtidos através do Ensaio Mecânico



6.10 HISTOMORFOMETRIA DO TENDÃO DO CALCÂNEO

Seis tendões de cada grupo foram dissecados e fixados numa imersão de formol tamponado a 10% por 48 horas, em seguida, foram desidratados em etanol e

embebidos em parafina para a realização de secções longitudinais na espessura de 5µm e montagem de lâminas, utilizando lamínula e ethelan.

Para as análises histomorfométrica, as amostras tendíneas foram coradas com Hematoxilina/Eosina (HE) e foram fotografadas imagens de 10 campos por animal utilizando a objetiva de 40x. Com auxílio de um computador acoplado ao microscópio óptico (Leica DM 500), através do programa LAS EZ Version 2.0.0 ICC50, dois avaliadores individualmente, analisaram com auxílio do *software* MESURIM PRÓ 08, os seguintes parâmetros: quantidade de fibroblastos, de fibrócitos e de vasos sanguíneos.

6.11 IMUNOHISTOQUÍMICA DO TENDÃO DO CALCÂNEO

Para a análise da imunohistoquímica, as preparações do tendão do calcâneo foram desparafinizadas em xilol e reidratadas em concentrações crescentes de etanol (70, 80, 95, e 100%). Em seguida, para a realização do bloqueio da peroxidase endógena foi utilizado solução de metanol-peróxido de hidrogênio 0,3% (v/v) (DAKO) à temperatura ambiente (TA) por 15 min. Em seguida, foi utilizada solução de PBS – albumina de soro bovino 1% (Sigma Aldrich) por 1h TA.

As amostras foram incubadas com o anticorpo primário actina (H-6) mouse (SANT-SC-376421) e anti-IgG (para controle negativo) por 2h TA. Finalmente, a revelação foi procedida com DAB-H₂O₂ e a contra coloração foi feita com Hematoxilina. Os controles positivos foram baseados em amostras que sempre expressaram a proteína.

7 ANÁLISE ESTATÍSTICA

Para todas as análises foram utilizado o *software* SPSS (Statistical Package for the Social Sciences, versão 18) e os dados foram expressos em média $\pm$ desvio padrão. A normalidade de cada resultado foi analisada através do teste de Kolmogorov-Smirnov.

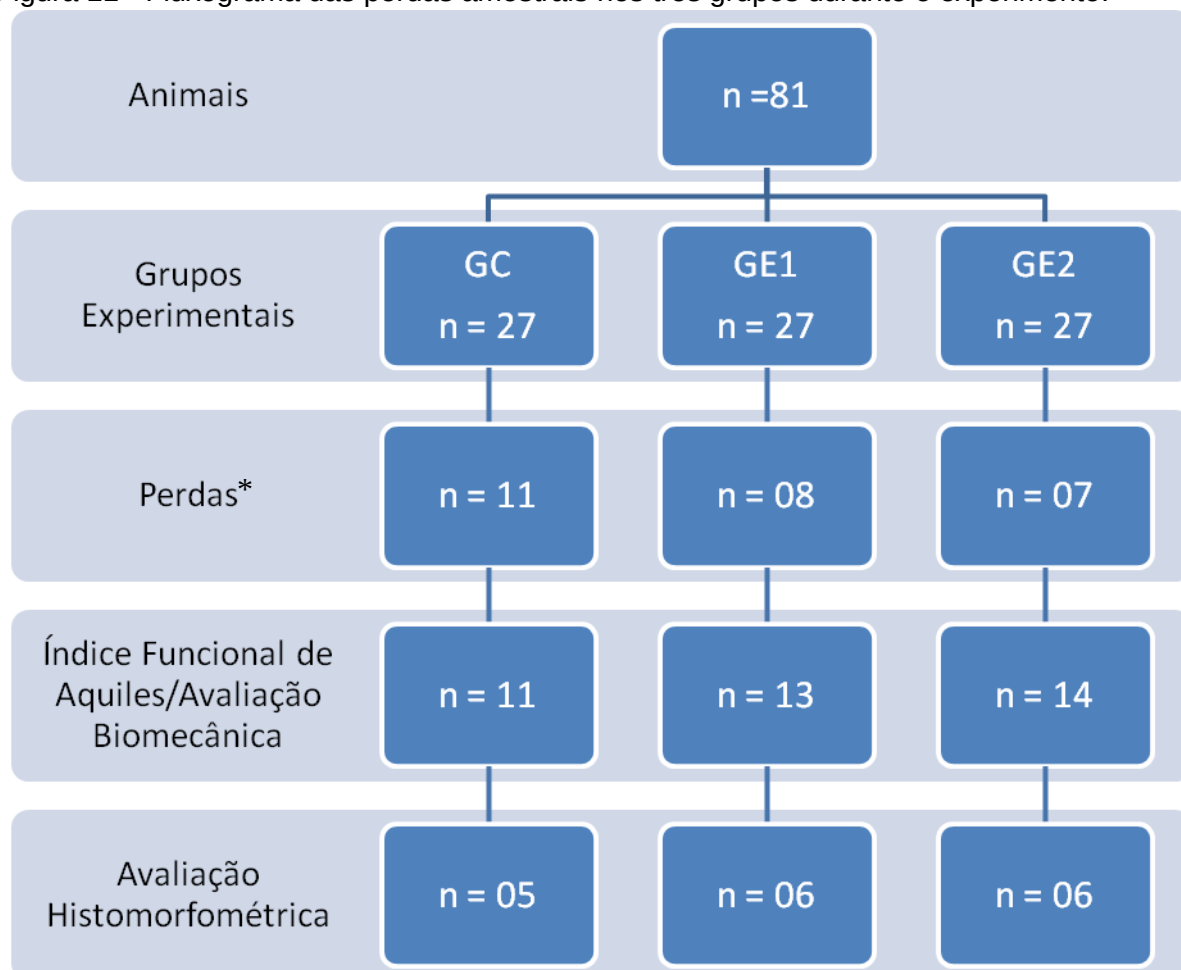
Na análise do IFA foi utilizado o Teste ANOVA (*one-way*) seguido do PÓS-HOC de Tukey. Para os dados paramétricos do Ensaio Mecânico de Tração (Força Máxima, Deformação Força Máxima e Área de Secção Transversa) foi utilizado o Teste ANOVA seguido do PÓS-HOC de Tukey, enquanto que para os dados não-paramétricos (Tensão Força Máxima, Energia por Área e Módulo Elástico) foi utilizado o Teste de Kruskal-Wallis seguido do teste de Mann-Whitney. O Teste ANOVA também foi utilizado para a análise dos dados histomorfométricos, seguido do PÓS-HOC de Tukey. Em todos os testes foi admitida uma confiabilidade de 95%.

8 RESULTADOS

8.1 PERDAS AMOSTRAIS

De um total de oitenta e um animais, a amostra final incluiu cinquenta e cinco animais. Destes, o grupo controle (GC) foi constituído por dezesseis animais, o grupo experimental 1 (GE1) dezenove animais e o grupo experimental 2 (GE2) com vinte animais. Desta forma, houve uma perda amostral final de 26 tendões. As perdas ocorreram por motivos variados: reação ao anestésico utilizado (n=1) ou complicações do procedimento cirúrgico (n=1), além de problemas de ordem operacional durante a realização da análise biomecânica do tendão que ocasionou a maior quantidade de perdas da amostra (n=24) (Figura 11).

Figura 11 - Fluxograma das perdas amostrais nos três grupos durante o experimento.



*Especificação das perdas amostrais: **GC**: reação anestésica (n=1), procedimento cirúrgico (n=1), análise biomecânica (n=9); **GE1**: procedimento cirúrgico (n=1), análise biomecânica (n=7); **GE2**: análise biomecânica (n=7).

8.2 ÍNDICE FUNCIONAL DE AQUILES

A avaliação das impressões das pegadas, nos animais submetidos à lesão completa do tendão, demonstrou pegadas mais estreitas e com maior comprimento quando comparadas com as dos animais não lesionados. Observou-se também a melhora gradativa desde padrão morfológico, aproximando-se ao padrão normal até o final do experimento (Figura 12). Os três grupos apresentaram valores do IFA equivalentes no primeiro dia da análise (pré-operatório). Nos dias subsequentes, houve diferença nos valores quando comparado os grupos experimentais com o controle em todos os momentos da avaliação pós cirúrgica (3º dpo, 10º dpo, 20º dpo 30º dpo). Não foi observada diferença dos valores do IFA entre os grupos experimentais 1 e 2. Entretanto, os dois grupos experimentais demonstraram um comportamento semelhante, com aumento da negatividade no 3º dpo e relativa melhora com o passar dos dias (tabela 1).

Figura 12 - Impressão das patas direita (lesionada) e esquerda dos animais para a análise do IFA, nos períodos pré operatório, 3ºdpo, 10ºdpo, 20ºdpo e 30ºdpo dos grupos controle, experimental 1 e experimental 2.

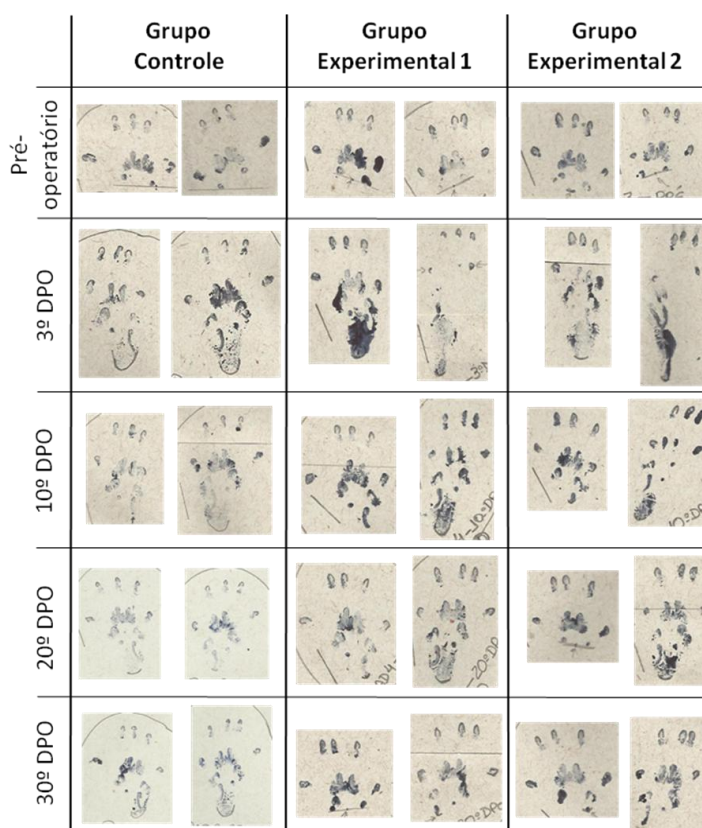


Tabela 1 - Índice Funcional de Aquiles do grupo controle (GC) e dos grupos experimentais 1 e 2 (GE1 e GE2) no Pré-Operatório e no 3º, 10º, 20º e 30º dpo. Valores em Média $\pm$ Desvio Padrão.

Momento da Avaliação	GC (n=11)	GE1 (n=13)	GE2 (n=14)	p
Pré-operatório	-2,15 $\pm$ 17,75	-9,39 $\pm$ 18,93*	-6,57 $\pm$ 20,90	0,661*
3º dpo	4,93 $\pm$ 29,59	-97,21 $\pm$ 18,43	-84,36 $\pm$ 25,93	0,000 [#] 0,000 ^{\$}
10º dpo	9,23 $\pm$ 31,44	-72,25 $\pm$ 27,45	-68,16 $\pm$ 20,31	0,000 [#] 0,000 ^{\$}
20º dpo	2,03 $\pm$ 20,91	-48,10 $\pm$ 12,70	-40,49 $\pm$ 12,04	0,000 [#] 0,000 ^{\$}
30º dpo	-3,78 $\pm$ 19,49	-22,68 $\pm$ 16,43	-30,60 $\pm$ 10,42	0,015 [#] 0,000 ^{\$}

*Teste ANOVA

[#],^{\$}Teste ANOVA com o post-hoc de Tukey: [#]GCxGE1, ^{\$}GCxGE2.

8.3 PROPRIEDADES BIOMECÂNICAS DO TENDÃO DO CALCÂNEO

Trinta e oito amostras tendíneas tiveram suas propriedades mecânicas avaliadas. Com o protocolo de ensaio mecânico utilizado, foram obtidos os valores numéricos das mensurações de cinco variáveis biomecânicas: Força Máxima (N), Módulo Elástico (MPa), Tensão na Força Máxima (MPa), Deformação na Força Máxima (N) e Energia/Área (N.mm/mm²) e de uma variável morfométrica diretamente ligada aos aspectos biomecânicos: a Área de Secção Transversa (mm²), apresentados nas tabelas 2.

Tabela 2 - Propriedades biomecânicas do Tendão do Calcâneo do grupo controle (GC) e dos grupos experimentais 1 e 2 (GE1 e GE2). Valores em Média $\pm$ Desvio Padrão.

Parâmetros Biomecânicos	GC n=11	GE1 n=13	GE2 n=14	P GCxGE1	p GCxGE2	p G1xGE2
Força Máxima (N)	35,85 $\pm 7,15$	47,78 $\pm 8,05^*$	46,15 $\pm 6,49^{**}$	0,001	0,003	0,830
Módulo Elástico (MPa)	27,31 $\pm$ 9,20	12,63 $\pm 4,55^*$	10,84 $\pm 3,25^{**}$	0,000	0,000	0,375
Tensão Força Máxima (MPa)	19,60 $\pm$ 6,85	5,37 $\pm 0,98^*$	4,54 $\pm 1,20^{**}$	0,000	0,000	0,094
Deformação Força Máxima (mm)	2,13 $\pm 0,43$	2,9 $\pm 0,51^*$	2,88 $\pm 0,29^{**}$	0,000	0,000	0,991
Energia/Área (N.mm/mm²)	26,65 $\pm$ 12,93	8,67 $\pm 1,90^*$	7,05 $\pm 2,20^{**}$	0,000	0,000	0,054
Área de Secção Transversa (mm²)	2,10 $\pm 0,79$	9,00 $\pm 1,20^*$	10,59 $\pm 2,22^{**,\S}$	0,000	0,000	0,036

Anova *one-way*/Tukey (Força Máxima, Deformidade Força Máxima, Área de Secção Transversa);

Kruskal-Wallis/Mann Whitney (Tensão da Força Máxima, Energia/Área, Módulo Elástico);
p<0,05 *GCxGE1, **GCxGE2, [§]G1xG2

Em cinco (05) parâmetros analisados, observou-se diferença dos grupos experimentais em relação ao GC, porém, não houve diferença entre eles. No parâmetro Força Máxima, o GE1 e o GE2 apresentaram valores mais altos em relação ao GC. O mesmo comportamento foi observado nos parâmetros Deformação na Força Máxima e na Área de Secção Transversa. A Tensão na Força Máxima foi menor nos grupos experimentais quando comparados ao GC. Observou-se também

valores mais baixos no GE1 e GE2 em relação aos controles nas variáveis Energia/Área e Módulo elástico. Apenas no parâmetro AST, houve diferença entre os grupos GE1 e GE2, sendo os valores deste último, maiores.

8.4 DEPÓSITO DE PATENTE

Durante a realização do Ensaio Mecânico de Tração do Tendão do Calcâneo, dificuldades foram encontradas no que diz respeito à preensão das extremidades do tendão em virtude do mesmo apresentar uma maior área de secção transversa após sua cicatrização. Dessa forma houve a necessidade de se criar uma peça juntamente com colaboradores do Laboratório de Engenharia da Mobilidade no Departamento de Engenharia Mecânica que permitisse uma boa fixação do tendão à máquina de ensaio mecânico. O formulário do Depósito de Patente dessa peça está contemplado no Anexo B.

8.5 HISTOMORFOMETRIA DO TENDÃO DO CALCÂNEO

Pôde-se observar nas imagens do grupo controle um padrão mais coeso, paralelo e ordenado das fibras colágenas interpostas de células achatadas (tenócitos); já nas imagens dos grupos experimentais as fibras colágenas apresentam um padrão mais desordenado e um aumento visível da celularidade. Também foi observado um discreto alinhamento das fibras no GE2 comparado com o GE1 (Figura 13).

Foi observada maior quantidade de fibroblastos nos grupos experimentais (GE1 e GE2) quando comparados ao GC. Da mesma forma o número de fibrócitos foi maior nos dois grupos experimentais quando comparados com o controle, entretanto o GE1 apresentou um valor maior que o GE2. Em relação ao número de vasos sanguíneos, o GE1 apresentou maior número quando comparado aos outros dois grupos.

Dessa forma, observa-se que o GE1 se apresentou com valores maiores em todas as variáveis analisadas em relação ao GC, enquanto o GE2 mostrou um padrão mais próximo do apresentado pelo GC, como pode ser visto na tabela 3.

Figura 13 - Cortes histológicos de Tendões do Calcâneo dos grupos: Grupo Controle (**A**), Grupo Experimental 1 (**B**), Grupo Experimental 2 (**C**). Imagens fotografadas com objetiva de 40x, corados em Hematoxilina e Eosina. Observa-se o aumento da celularidade (setas) nos Grupos Experimentais (**B** e **C**) em relação ao Grupo Controle (**A**).

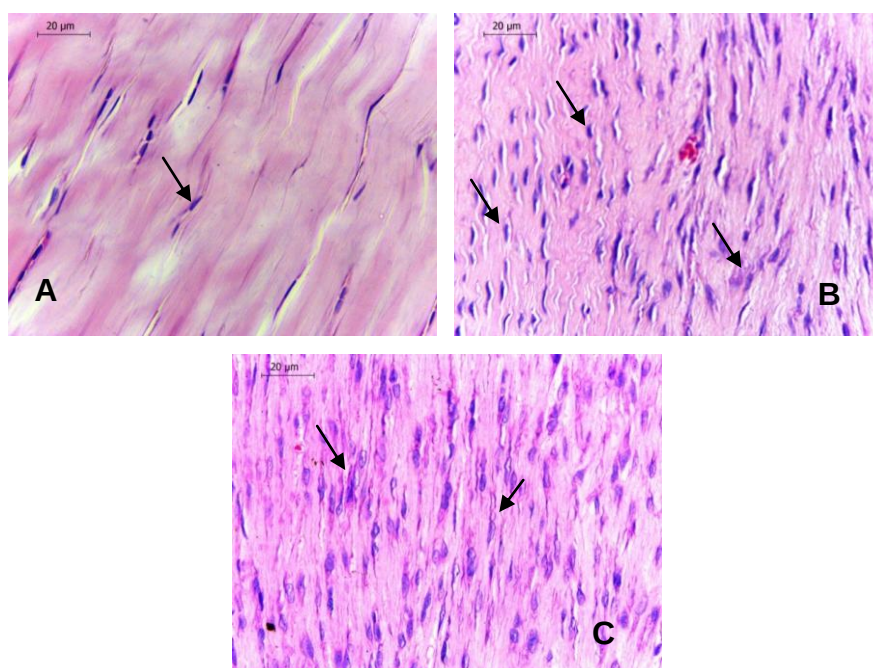


Tabela 3 - Dados histomorfométrica do Tendão do Calcâneo do Grupo Controle (GC) e dos Grupos Experimentais 1 e 2 (GE1 e GE2). Análise realizada em 10 campos microscópicos; na objetiva de 40x, Hematoxilina e Eosina. Valores em Média $\pm$ Desvio Padrão.

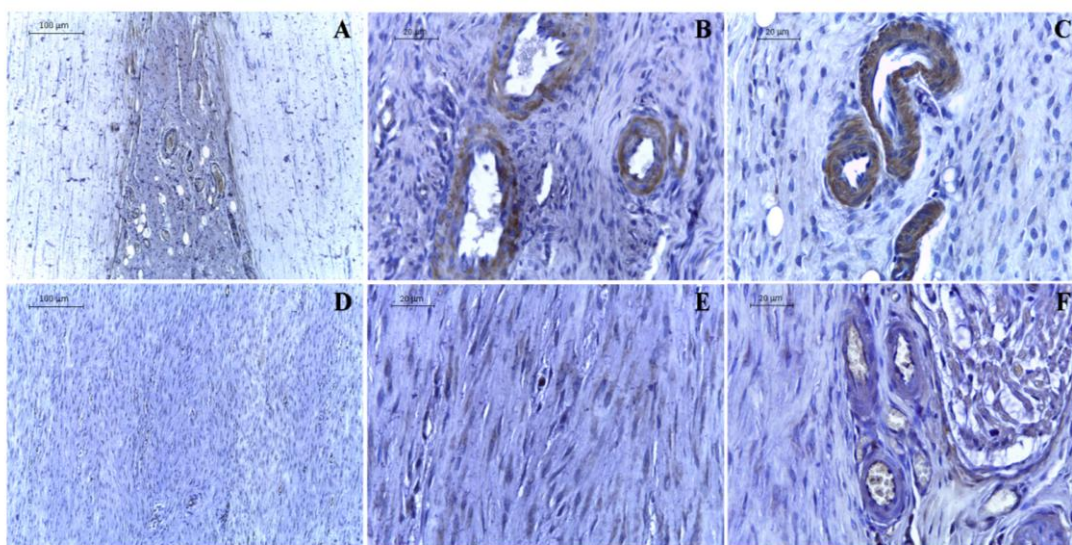
Parâmetros	GC n=05	GE1 n=06	GE2 n=06	*p GCxGE1	**p GCxGE2	^s p GE1xGE2
Fibroblastos	96,80 $\pm$ 51,52	866,83 $\pm$ 163,84*	802,58 $\pm$ 139,78**	0,000	0,000	0,682
Fibrócitos	512,70 $\pm$ 72,30	1000,33 $\pm$ 132,08*	766,50 $\pm$ 61,33**,§	0,000	0,002	0,002
Vasos sanguíneos	3,60 $\pm$ 1,95	10,33 $\pm$ 4,83*	7,33 $\pm$ 4,02	0,032	0,286	0,401

Teste Estatístico: ANOVA *one-way*/Tukey.

8.6 IMUNOHISTOQUÍMICA DO TENDÃO DO CALCÂNEO

A marcação específica para actina músculo liso aumentou em todas as amostras do grupo GE2 em relação aos outros grupos (Figura 14). Tomando-se o GC como marcação 0, o GE1 pode ser classificado como +1 e o GE2 como +2 (Figura 14A, 14B e 14C, respectivamente). Nos mesmos, a marcação ocorreu majoritariamente no componente muscular dos vasos, e em alguns casos em células do estroma.

Figura 14 - Painel de imunohistoquímica. A, B e C apresentando a marcação vascular de actina nos grupos GC, GE1 e GE2, respectivamente. As figuras D, E e F representam os respectivos controles negativos.



9 DISCUSSÃO

À medida que a população tem o interesse de melhorar a qualidade de vida buscando a realização de atividades físicas e desta forma aumentando a expectativa de vida, as lesões tendíneas se tornam cada vez mais frequentes. Como os tendões possuem uma capacidade de cicatrização reduzida, a intervenção cirúrgica geralmente é o tratamento de escolha, e dentre algumas desvantagens há o risco de re-rupturas. Com o intuito de reduzir essas intercorrências e acelerar a cicatrização/reabilitação tendínea, tem se buscado a utilização de enxertos ou suportes biológicos que possam reforçar a sutura. Na tentativa de investigar a influência do biopolímero da cana-de-açúcar como suporte na cicatrização de uma ruptura completa do tendão do calcâneo, foram analisados os parâmetros funcionais, mecânicos e morfológicos após trinta dias após a lesão.

O Índice Funcional de Aquiles (IFA) é um dado funcional utilizado para quantificar a função do tendão do calcâneo e apresenta vantagens como reprodutibilidade, objetividade, baixo custo e facilidade de execução (COSTA; MARQUES; ANDRÉ, 2008). Em seu cálculo, três variáveis (PFL, TSF e ITF) sensíveis e confiáveis refletem a funcionalidade tendínea: PFL indica o comprimento da pata e é mais curta em ratos saudáveis, devido à rapidez no padrão da marcha desses animais, apresentando a fase de apoio diminuída (HRUSKA; KENNEDY; SILBERGELD, 1979); as variáveis, TSF e ITF, indicam a habilidade do animal em espalhar seus dedos durante a marcha e, conseqüentemente, a capacidade de suportar peso. Neste estudo, observou-se que no período pré-operatório os valores deste índice foram próximos à zero, nos três grupos, representando uma adequada marcha dos ratos no início do experimento, corroborando com o protocolo adotado que considera que quanto mais próximo de -100 (menos cem) há alteração na marcha do animal, e quanto mais próximo de 0 (zero) mais funcional (MURRELL et al., 1991).

A negatividade deste índice chegou ao seu máximo no terceiro dia pós-operatório dos grupos experimentais. Esta abrupta queda no IFA se deve ao intenso processo inflamatório observado neste período, o que provavelmente ocasionou uma mudança no padrão da marcha do animal. Como a fase inflamatória do

processo de cicatrização ocorre em média de 24 a 48 horas pós-lesão, nesta fase houve uma lentificação da marcha com um aumento na fase de apoio, aumentando à variável PLF da pata lesionada (MURRELL et al., 1991; HOPE; SAXBY, 2007). Também pode ser observado neste período que os dedos perderam a capacidade de se espalharem, com redução nas variáveis TSF e ITF, dificultando o suporte de peso durante a marcha. Com o avançar do processo de cicatrização ocorreu melhora gradativa do padrão da marcha e o valor do índice foi se aproximando dos valores dos controles, este fato também foi observado em outros estudos (MURRELL et al., 1992; BEST et al., 1993; NG; NG; SEE, 2004). Contudo, o mesmo comportamento funcional foi observado entre os grupos experimentais, ou seja, o biopolímero não influenciou o padrão da marcha dos animais.

Sabe-se que uma vez lesionado, o tendão pós processo de cicatrização não retornará as suas características biomecânicas originais (YANG; ROTHRAUFF; TUAN, 2013). Portanto, o modelo de ruptura total tendínea utilizado nesse estudo foi capaz de promover alterações nas propriedades biomecânicas do tendão e o uso do biopolímero da cana-de-açúcar como suporte no processo de cicatrização não foi capaz de melhorar os parâmetros avaliados em relação ao grupo lesionado sem este suporte, semelhante ao que foi observado no Índice Funcional de Aquiles.

Dentre os parâmetros analisados, a Área de Secção Transversa (AST) é um parâmetro morfométrico, obtido manualmente, configurando-se como um dado extremamente relevante, pois subsidia o cálculo dos outros parâmetros biomecânicos e, neste estudo, a AST foi maior nos grupos experimentais em relação ao grupo controle. Quando um tendão é submetido a determinado processo lesional, como por exemplo, a tenotomia, as modificações estruturais e histológicas aumentam a sua área de secção transversa (ORYAN; MOSHIRI; MEIMANDIPARIZI, 2011). Valores elevados deste parâmetro estão associados à capacidade aumentada do tecido suportar cargas, entretanto, sem garantir sua qualidade estrutural (MAQUIRRIAIN, 2011).

O módulo elástico é um dado obtido através da relação entre a tensão aplicada ao material e o quanto este deformou até o momento de sua ruptura, referindo-se a rigidez intrínseca do material biológico (MAGANARIS; NARICI; MAFFULLI, 2008). Valores aumentados de módulo elástico têm sido relacionados a um menor risco de lesão tendínea e maior capacidade de suportar cargas por

unidade de área, tanto em humanos como em modelos animais (LACROIX et al., 2013). Não foi observado diferença entre os grupos experimentais, porém, em relação ao grupo controle, o módulo elástico destes tendões foi inferior. Estudo prévio que também utilizou um biomaterial observou aumento nesse parâmetro nos grupos experimentais e correlacionou esse achado com as características histológicas destes tendões: maior organização das fibras de colágeno e maior quantidade de fibroblastos maduros e fibrócitos. Além disso, a avaliação dos tendões cicatrizados foi realizada aos cento e vinte dias pós-cirúrgico, possibilitando um maior tempo para a maturação tecidual, o que talvez possa explicar os achados contrários em relação ao presente estudo (MOSHIRI; ORYAN; MEIMANDI-PARIZI, 2013).

Outro parâmetro avaliado foi a Tensão na Força Máxima que é o resultado do quociente entre a Força Máxima e a Área de Secção Transversa do material. É caracterizada por sua relação proporcional com o Módulo Elástico, ou seja, o tendão mais rígido é capaz de suportar quantidades menores de carga por unidade de área (LACROIX et al., 2013). Neste estudo, a Tensão foi menor nos grupos experimentais, o que a associa com a rigidez deste material. O aumento na Área de secção transversa pode ter reduzido a tensão dos tendões, pois apesar da Força Máxima ter sido superior nos grupos experimentais, o aumento parece não ter sido suficiente pra equilibrar a relação.

A Deformação na Força Máxima é um parâmetro que relaciona a variação de comprimento com o comprimento inicial da estrutura e está inversamente relacionada ao Módulo Elástico, pois um tendão mais rígido permite uma menor variação de comprimento (MAQUIRRIAIN, 2011). Altas taxas de deformação tendínea têm sido vinculadas a déficits funcionais e a uma maior vulnerabilidade à re-ruptura, além de reduzir a força dos músculos gastrocnêmios devido à uma pior relação comprimento-tensão (GELBERMAN et al., 1999; BOYER et al., 2001). A deformação aumentada nos grupo experimentais em relação ao grupo controle corroborou com os achados do Módulo elástico, pois um tendão menos rígido permite uma maior deformação. Porém, uma diminuição da deformação já foi observada em outros estudos, que também foi justificado pelo Módulo Elástico elevado (MOSHIRI; ORYAN, 2012; BRODIE et al., 2012).

A carga que é suportada pelo tendão até sua falha representa a Força Máxima e houve um aumento significativo deste parâmetro nos grupos experimentais em relação ao grupo controle, porém os grupos experimentais não apresentaram diferença entre si. Os valores elevados da AST destes tendões podem ter influenciado a Força Máxima destes tendões (MAQUIRRIAIN, 2011). Resultados semelhantes já foram descritos anteriormente: adesivos biológicos, fabricados de pericárdio bovino e de tecido dermal de porco, implantados na sutura de uma tenotomia em tendões de porcos, levaram ao aumento da força máxima dos tendões. Porém, o modelo utilizado não foi *in vivo*, não respeitando o período de cicatrização do tendão, ou seja, apenas a avaliou a sutura local e não as propriedades do tecido (BRODIE et al., 2012); um bioimplante baseado em colágeno também influenciou a cicatrização do tendão do calcâneo de coelhos *in vivo* e o aumento da Força Máxima nos grupos experimentais em relação ao grupo controle foi encontrado (MOSHIRI; ORYAN, 2012).

A Energia/Área informa o quanto de energia é acumulada no tendão por unidade de área e a eficiência biomecânica desta estrutura pode ser estabelecida com base no armazenamento de energia elástica por área do tendão (BEZERRA et al., 2013). Nesta pesquisa, os grupos experimentais apresentaram uma energia/área menor em relação ao grupo controle. Dados semelhantes foram relatados em outro estudo também do nosso laboratório, que observou diminuição desse parâmetro em tendões de ratos diabéticos submetidos ao treino de esteira (OLIVEIRA et al., 2011). Como o colágeno é um tecido conectivo que apresenta suas fibras organizadas para facilitar a transmissão de energia do músculo para o osso, uma maior desorganização dessas fibras pode levar a uma maior absorção de energia e desfavorecendo a biomecânica tendínea.

A celularidade é um fator determinante para a análise temporal do processo de cicatrização, logo, os resultados desse estudo, sugere que os tendões dos grupos GE1 e GE2 podem estar numa mesma fase do processo de cicatrização por demonstrarem comportamento semelhante no que diz respeito à quantidade celular e por esses valores se apresentarem superiores em relação ao grupo controle (ROSENBAUM et al., 2010). Pelo período que foi realizada a coleta do tecido tendíneo também supõe-se que o processo cicatricial encontra-se no final da fase

proliferativa podendo estar mesclada com o início da fase de remodelamento (YANG; ROTHRAUFF; TUAN, 2013).

Ao longo do processo cicatricial ocorre uma redução gradativa no número de fibroblastos, apesar destas células serem responsáveis pela produção de colágeno e elementos da matriz extracelular (PALMES et al., 2002; YEUNG; GUO; NG, 2006; MOSHIRI; ORYAN; MEIMANDI-PARIZI, 2013). Geralmente são encontradas em maior quantidade na fase proliferativa, exatamente como foi observado nos grupos experimentais deste estudo, confirmando um processo de cicatrização ativo nos tendões (WOO et al., 1999). Já os fibrócitos, células quiescentes indicativas de maturidade tecidual, tiveram valores semelhantes nos grupos GE2 e GC, enquanto que valores maiores foram do grupo GE1. A celularidade total durante o processo de cicatrização está normalmente aumentada, porém quando uma estrutura de suporte acelular é implantada a este processo o comportamento esperado é a redução de células e sugerindo que o tecido está atingindo a maturidade tecidual (CARPENTER; HANKENSON, 2004; ROSENBAUM et al., 2010)

Nas fases iniciais do processo de cicatrização há uma intensa atividade angiogênica, a fim de que haja um maior suporte sanguíneo local e também um maior aporte celular para a região lesionada (FOWBLE et al., 2006). A angiogênese é importante tanto na degeneração do tendão, em casos de déficit de suprimento sanguíneo, como na regeneração onde se necessita da melhor permeabilidade celular possível (FENWICK; HAZLEMAN; RILEY, 2002). O número de vasos sanguíneos reduz progressivamente durante o processo cicatricial, pois a angiogênese é mensurada pela liberação de fatores do crescimento endotelial presente apenas nas fases iniciais. Dessa forma, quanto mais avançado estiver o processo de cicatrização, menos vasos sanguíneos devem estar presentes no tecido (TONNESEN; FENG; CLARK, 2000; SAYGI et al., 2008). No nosso estudo, provavelmente o GE1 se encontra num processo mais ativo de cicatrização, pois apresentou maior número de vasos sanguíneos, enquanto o GE2 parece se encontrar numa fase mais avançada (ROSENBAUM et al., 2010). A presença do biopolímero pode ter acelerado o estágio da cicatrização, fato que poderá ser confirmado, de forma objetiva, com estudos que realizem um estadiamento do processo de cicatrização.

Estes vasos são compostos por células musculares lisas que em sua estrutura contem proteínas actinas envolvidas em diversas funções celulares incluindo contração muscular, motilidade, adesão e divisão celulares, bem como, manutenção da morfologia celular (CHAPONNIER; GABBIANI, 2004). Nos vertebrados existem seis isoformas de actina, porém quatro são relevantes na musculatura lisa: α -actina de músculo liso, β -actina não muscular, gamma actina músculo liso e gamma actina citoplasmática (YAMIN; MORGAN, 2012). A α -actina de músculo liso é um microfilamento (5-8 nm de diâmetro) que compõe o citoesqueleto das células musculares lisas, células mioepiteliais e particularmente abundante em células musculares lisas de paredes de vasos (DARBY et al., 1990; McHUGH et al., 1991), tendo uma importante função contrátil (CASELITZ et al., 1981; YAMIN; MORGAN, 2012). Em grandes artérias, α -actina de músculo liso representa 60% de sua estrutura (FATIGATI; MURPHY, 1984).

A expressão da α -actina músculo liso ocorre em diferentes proporções de acordo com o órgão e a situação fisiológica ou patológica. Em células musculares de artérias, ela está presente de forma predominante em condições normais, e está reduzida na camada íntima após lesão endotelial ou formação de ateroma. Sendo assim, a actina parece ser o marcador mais confiável em células do músculo liso, particularmente no vaso (DARBY; SKALLI; GABBIANI, 1990).

Foi observado neste estudo que houve uma marcação mais intensa da actina no componente estrutura dos vasos tendíneos como também em algumas células do estroma no grupo experimental tratado com o biopolímero. Acredita-se que a α -actina musculo liso é necessária para a geração de força pela células da musculatura lisa vascular (OWENS; THOMPSON, 1986). Esta proteína apresentou elevada imunoatividade na análise do tecido de granulação do ligamento cruzado anterior durante sua remodelação no período de 6 a 9 semanas, sugeriu-se então que essa proteína esteja envolvida na manutenção e homeostase destes tecidos (WEILER et al., 2002). Isso nos leva a crer que o biopolímero pode ter favorecido estruturalmente o tecido tendíneo durante o processo de cicatrização.

10 CONCLUSÃO

Com estes resultados conclui-se que o biopolímero de cana-de-açúcar pode ser utilizado como suporte para sutura de uma ruptura total do tendão do calcâneo e, também, auxiliar no processo de cicatrização tendínea, pois não prejudicou funcionalmente a marcha dos animais, nem prejudicou as características biomecânicas tendíneas ao final do experimento. Somado a isto, histologicamente, parece ter acelerado o processo de cicatrização, pois, ao final de trinta dias pós ruptura experimental, o tecido apresentou características que sugeriram um tecido mais organizado que o tendão lesionado sem o biomaterial.

REFERÊNCIAS

- ABRAHAMMS, M. Mechanical behaviour of tendon in vitro. A preliminary report. **Medical & Biological engineering**, v. 5, n. 5, p. 433–43, 1967.
- ACKERMANN, P. W. et al. Autonomic innervation of tendons, ligaments and joint capsules. A morphologic and quantitative study in the rat. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 19, n. 3, p. 372–378, 2001.
- AHMED, I. M. et al. Blood Supply of the Achilles Tendon. 1997.
- ALEXANDER, R. . Tendon elasticity and muscle function. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 133, n. 4, p. 1001–11, 2002.
- ANDERSSON, T.; ELIASSON, P.; ASPENBERG, P. Tissue memory in healing tendons: short loading episodes stimulate healing. **Journal of applied physiology**, v. 107, n. 2, p. 417–21, ago. 2009.
- ANSORGE, H. L. Mechanical, Compositional, and structural properties of the post-natal mouse achilles tendon. v. 39, n. 7, p. 1904–1913, 2012.
- APARECIDA DE ARO, A.; DE CAMPOS VIDAL, B.; PIMENTEL, E. R. Biochemical and anisotropical properties of tendons. **Micron**, v. 43, n. August 2015, p. 205–214, 2012.
- AQUINO, C. F.; VIANA, S. O.; FONSECA, S. T. Biomechanical behavior and biological tissue response to stress and immobilization. **Fisioterapia em Movimento**, v. 18, n. 2, p. 35–43, 2005.
- ARNER, O.; LINDHOLM, A.; ORELL, S. R. Histologic changes in subcutaneous rupture of the Achilles tendon; a study of 74 cases. **Acta Chirurgica Scandinavica**, v. 116, n. 5-6, p. 484–90, 1959.
- ASTRÖM, M.; WESTLIN, N. Blood flow in the human Achilles tendon assessed by laser Doppler flowmetry. **Journal Orthopaedic Research**, v. 12, n. 2, p. 246–52, 1994.
- AUGUSTO, R. et al. Effect of sugarcane biopolymer gel injected in rabbit vocal fold. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 80, n. 3, p. 220–225, 2014.
- BARONE, R. et al. Structural analysis of rat patellar tendon in response to resistance and endurance training. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 19, n. 6, p. 782–9, dez. 2009.

- BEBARTA, V.; LUYTEN, D.; HEARD, K. Emergency medicine animal research: Does use of randomization and blinding affect the results? **Academic Emergency Medicine**, v. 10, n. 12, p. 1410, 2003.
- BENJAMIN, M.; KAISER, E.; MILZ, S. Structure-function relationships in tendons: A review. **Journal of Anatomy**, v. 212, n. January, p. 211–228, 2008.
- BEREDJIKLIAN, P. et al. Regenerative versus reparative healing in tendon: a study of biomechanical and histological properties in fetal sheep. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 31, n. 10, p. 1143–52, 2003.
- BEST, T. M. et al. **Achilles Tendon Healing: A Correlation Between Functional and Mechanical Performance in the Rat** **Journal of Orthopaedic Research**, 1993.
- BEZERRA, M. A. et al. Biomechanical and structural parameters of tendons in rats subjected to swimming exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 34, n. di, p. 1070–1073, 2013.
- BIRK, D. E. et al. Collagen fibrillogenesis in vitro: interaction of types I and V collagen regulates fibril diameter. **Journal of cell science**, v. 95 (Pt 4), p. 649–657, 1990.
- BOKHARI, A. R.; MURRELL, G. A C. The role of nitric oxide in tendon healing. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 21, n. 2, p. 238–244, 2012.
- BOYER, M. I. et al. Intrasyovial flexor tendon repair. An experimental study comparing low and high levels of in vivo force during rehabilitation in canines. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 83-A, n. 6, p. 891–9, 2001.
- BRING, D. K. et al. Physical Activity Modulates Nerve Plasticity and Stimulates Repair after Achilles Tendon Rupture. n. February, p. 164–172, 2007.
- BRING, D. K. I. et al. Joint immobilization reduces the expression of sensory neuropeptide receptors and impairs healing after tendon rupture in a rat model. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 27, n. February, p. 274–280, 2009.
- BRODIE, M. et al. Biomechanical properties of Achilles tendon repair augmented with a bioadhesive-coated scaffold. v. 6, n. 1, p. 1–16, 2012.
- BUCHANAN, C. I.; MARSH, R. L. Effects of exercise on the biomechanical, biochemical and structural properties of tendons. **Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology**, v. 133, n. 4, p. 1101–7, dez. 2002.
- BUTLER, D. . et al. Biomechanics of ligaments and tendons. **Exercise and sport**

sciences reviews, v. 6, p. 125–181, 1978.

CARPENTER, J. E.; HANKENSON, K. D. Animal models of tendon and ligament injuries for tissue engineering applications. **Biomaterials**, v. 25, p. 1715–1722, 2004.

CASTRO, C. M. M. B. DE et al. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 49, n. 2, p. 119–123, 2004.

CAVAGNA, G. A.; HEGLUND, N. C.; TAYLOR, C. R. Mechanical work in terrestrial locomotion : two basic mechanisms for minimizing energy expenditure. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 233, p. R243–R261, 1977.

CHANSKY, H. A.; IANNOTTI, J. P. The vascularity of the rotator cuff. **Clinics in Sports Medicine**, v. 10, n. 4, p. 807–22, 1991.

CHAPONNIER, C.; GABBIANI, G. Pathological situations characterized by altered actin isoform expression. p. 386–395, 2004.

CHIODO, C. P. et al. Treatment of Achilles Tendon Rupture. **The Journal of bone and joint surgery.**, v. 92, p. 2466–2469, 2010.

CHUEN, F. S. et al. Immunohistochemical Characterization of Cells in Adult Human Patellar Tendons. **The Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 52, n. 9, p. 1151–1157, 2004.

COELHO, M. C. DE O. C. et al. BIOPOLÍMERO PRODUZIDO A PARTIR DA CANA-DE-AÇÚCAR PARA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA. **Acta Chirurgica Scandinavica**, v. 17, n. supp 1, p. 11–13, 2001.

COOPER, J. A et al. Biomimetic tissue-engineered anterior cruciate ligament replacement. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 9, p. 3049–3054, 2007.

CORDEIRO-BARBOSA, F. D. A. et al. Use of a gel biopolymer for the treatment of eviscerated eyes : experimental model in rabbits. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 75, n. 4, p. 267–272, 2012.

COSTA, J.; MARQUES, V.; ANDRÉ, E. S. Development of a low-cost method to analyse gait in rats. v. 21, n. 2, p. 115–123, 2008.

CRIBB, A. M. et al. Tendon response to tensile stress : an ultrastructural investigation of collagen : proteoglycan interactions in stressed tendon. p. 423–428, 1995.

DAHER, R. J. et al. Tendon repair augmented with a novel circulating stem cell

- population. v. 4, n. 3, p. 214–219, 2011.
- DAHLGREN, L. A. Pathobiology of Tendon and Ligament Injuries. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 6, p. 168–173, 2007.
- DARBY, I.; SKALLI, O.; GABBIANI, G. Alpha-smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. **Laboratory Investigation**, v. 63, n. 1, p. 21–29, 1990.
- DAVIS, J. R. **HANDBOOK OF MATERIALS FOR MEDICAL DEVICES**. [s.l: s.n.].
- DE VRIES, R. B. M. et al. A protocol format for the preparation, registration and publication of systematic reviews of animal intervention studies. **Evidence-based Preclinical Medicine**, v. 1, n. 1, p. 1–9, 2015.
- DIMMEN, S. et al. Negative effects of parecoxib and indomethacin on tendon healing: An experimental study in rats. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 17, n. 7, p. 835–839, 2009.
- DOCHEVA, D. et al. Biologics for tendon repair. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 84, p. 222–239, 2014.
- DOURTE, L. M.; KUNTZ, A. F.; SOSLOWSKY, L. J. Twenty-five years of tendon and ligament research. **Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 26, n. 10, p. 1297–305, out. 2008.
- DUANCE, V. C. et al. The location of three collagen types in skeletal muscle. **FEBS letters**, v. 79, n. 2, p. 248–252, 1977.
- ELIASSON, P.; ANDERSSON, T.; ASPENBERG, P. Rat Achilles tendon healing : mechanical loading and gene expression. **Journal of Applied Physiology**, v. 107, n. 14, p. 399–407, 2009.
- ENWEMEKA, C. S. Inflammation , Cellularity , and Fibrillogenesis in Regenerating Tendon : Implications for Tendon Rehabilitation. v. 69, n. 10, p. 19–21, 1989.
- ERIKSEN, H. A. et al. Increased content of type III collagen at the rupture site of human Achilles tendon. v. 20, p. 1352–1357, 2002.
- FATIGATI, V.; MURPHY, R. A. Actin and tropomyosin variants in smooth muscles. Dependence on tissue type. **Journal of Biological Chemistry**, v. 259, n. 23, p. 14383–14388, 1984.
- FELISBINO S.L; CARVALHO, H. F. Identification and distribution of type VI collagen in tendon fibrocartilages. **Journal of submicroscopic cytology and pathology**, v. 31, n. 2, p. 187–95, 1999.

- FENWICK, S. A.; HAZLEMAN, B. L.; RILEY, G. P. The vasculature and its role in the damaged and healing tendon. **Arthritis Research**, v. 4, n. 4, p. 252–260, 2002.
- FOWBLE, V. et al. Neovascularity in chronic posterior tibial tendon insufficiency. **Clinical orthopaedics and related research**, v. 450, p. 225–30, 2006.
- FREEMAN, M. A; WYKE, B. The innervation of the knee joint. An anatomical and histological study in the cat. **Journal of anatomy**, v. 101, n. 3, p. 505–532, 1967.
- FUNAKOSHI, T. et al. Rotator cuff regeneration using chitin fabric as an acellular. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 15, n. 1, p. 112–118, 2006.
- GELBERMAN, R. H. et al. The effect of gap formation at the repair site on the strength and excursion of intrasynovial flexor tendons. An experimental study on the early stages of tendon-healing in dogs. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 81, n. 7, p. 975–82, 1999.
- GLAZEBROOK, M. A et al. Histological analysis of achilles tendons in an overuse rat model. **Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 26, n. 6, p. 840–6, jun. 2008.
- GODBOUT, C.; ANG, O.; FRENETTE, J. Early voluntary exercise does not promote healing in a rat model of Achilles tendon injury. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 101, n. 6, p. 1720–6, dez. 2006.
- GRAF, J.; SCHNEIDER, U.; NIETHARD, F. U. The blood supply of the Achilles tendon. **International orthopaedics**, v. 16, p. 29–31, 1992.
- GROSS, G.; HOFFMANN, A. **Therapeutic strategies for tendon healing based on novel biomaterial factors and cells**. *Pathobiology*, 2013.
- HANNAFIN JA, ARNOCZKY SP, HOONJAN A, T. P. Effect of stress deprivation and cyclic tensile loading on the material and morphologic properties of canine flexor digitorum profundus tendon: an in vitro study. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 13, n. 6, p. 907–914, 1995.
- HEINEMEIER, K. M.; KJAER, M. In vivo investigation of tendon responses to mechanical loading. **Journal of musculoskeletal & neuronal interactions**, v. 11, n. 2, p. 115–23, jun. 2011.
- HOOIJMANS, C. R. et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC medical research methodology**, v. 14, p. 43, jan. 2014.
- HOPE, M.; SAXBY, T. S. Tendon healing. **Foot and ankle clinics**, v. 12, n. 4, p. 553–67, v, dez. 2007.

- HRUSKA, R. E.; KENNEDY, S.; SILBERGELD, E. K. Quantitative aspects of normal locomotion in rats. **Life Sciences**, v. 25, p. 171–180, 1979.
- HUTTUNEN, T. T. et al. Acute Achilles Tendon Ruptures: Incidence of Injury and Surgery in Sweden Between 2001 and 2012. **The American journal of sports medicine**, v. 42, n. 10, p. 2419–2423, 2014.
- JALLAGEAS, R. et al. Evaluation of surgical treatment for ruptured Achilles tendon in 31 athletes. **Orthopaedics & traumatology, surgery & research : OTSR**, v. 99, n. 5, p. 577–84, set. 2013.
- JAMES, R. et al. Tendon: Biology, Biomechanics, Repair, Growth Factors, and Evolving Treatment Options. **Journal of Hand Surgery**, v. 33A, p. 102–112, 2008a.
- JAMES, R. et al. Tendon: Biology, Biomechanics, Repair, Growth Factors, and Evolving Treatment Options. **Journal of Hand Surgery**, v. 33, p. 102–112, 2008b.
- JÄRVINEN, T. A. H. et al. Achilles tendon injuries. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 13, n. 2, p. 150–155, 2001.
- JEREMIAS JÚNIOR, S. L. et al. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates healing in rat calcaneus tendon injuries. **The Journal of orthopaedic and sports physical therapy**, v. 41, n. 7, p. 526–31, jul. 2011.
- JESUS, J. F. DE et al. Low-level laser therapy on tissue repair of partially injured achilles tendon in rats. **Photomedicine and laser surgery**, v. 32, n. 6, p. 345–50, 2014.
- JIALILI, A. et al. Differentially expressed proteins on postoperative 3 days healing in rabbit Achilles tendon rupture model after early kinesitherapy. **Chinese Journal of Traumatology English Edition**, v. 14, n. 2, p. 84–91, 2011.
- JIELILE, J. et al. Factors influencing the tensile strength of repaired Achilles tendon: a biomechanical experiment study. **Clinical biomechanics (Bristol, Avon)**, v. 25, n. 8, p. 789–95, out. 2010.
- JIN, H.-J. et al. Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats. **Biomaterials**, v. 25, n. 6, p. 1039–1047, 2004.
- JOENSEN, J. et al. An experimental study of low-level laser therapy in rat Achilles tendon injury. **Lasers in medical science**, v. 27, n. 1, p. 103–11, jan. 2012.
- JÓZSA, L. et al. The role of recreational sport activity in Achilles tendon rupture. A clinical, pathoanatomical, and sociological study of 292 cases. **The American journal of sports medicine**, v. 17, n. 3, p. 338–43, 1989a.

- JÓZSA, L. et al. The role of recreational sport activity in Achilles tendon rupture. A clinical, pathoanatomical, and sociological study of 292 cases. **The American journal of sports medicine**, v. 17, n. 3, p. 338–43, 1989b.
- JÓZSA, L.; KANNUS, P. Histopathological findings in spontaneous tendon ruptures. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 7, n. 9, p. 113–118, 1997.
- KANNUS, P. Structure of the tendon connective tissue. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 10, n. 3, p. 312–320, 2000.
- KASTELIC, J.; GALESKI, A.; BAER, E. The multicomposite structure of tendon. **Conective Tissue Research**, v. 6, n. 1, p. 11–23, 1978.
- KEARNEY, R. S.; COSTA, M. L. Current concepts in the rehabilitation of an acute rupture of the tendo Achillis. **The Journal of bone and joint surgery. British volume**, v. 94, n. 1, p. 28–31, jan. 2012.
- KHAN, R. J. K. et al. Treatment of acute achilles tendon ruptures. A meta-analysis of randomized, controlled trials. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 87, p. 2202–2210, 2005.
- KIRKENDALL, D. T.; GARRETT, W. E. Function and biomechanics of tendons. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 7, n. 2, p. 62–6, abr. 1997.
- KJÆR, M. Role of Extracellular Matrix in Adaptation of Tendon and Skeletal Muscle to Mechanical Loading. p. 649–698, 2004.
- KJAER, M. Matrix loaded and unloaded: can tendons grow when exercised? **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 102, n. 2, p. 515, fev. 2007.
- KONOW, N.; AZIZI, E.; ROBERTS, T. J. Muscle power attenuation by tendon during energy dissipation. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 279, p. 1108–1113, 2012.
- KOTNIS, R. et al. Dynamic ultrasound as a selection tool for reducing achilles tendon reruptures. **The American journal of sports medicine**, v. 4, n. 9, p. 1395–400, 2006.
- KRAPF, D.; KAIPEL, M.; MAJEWSKI, M. Structural and biomechanical characteristics after early mobilization in an Achilles tendon rupture model: operative versus nonoperative treatment. **Orthopedics**, v. 35, n. 9, p. e1383–8, set. 2012.
- KUWADA, G. T. A severe acute Achilles rupture and repair. **The Journal of foot and**

ankle surgery, v. 34, n. 3, p. 262–5, 1995.

LACROIX, A S. et al. Relationship between tendon stiffness and failure: a metaanalysis. **Journal of Applied Physiology**, v. 115, n. April 2013, p. 43–51, 2013.

LANDVATER, S. J.; RENSTRÖM, P. A. Complete Achilles tendon ruptures. **Clinics in Sports Medicine**, v. 11, n. 2, p. 741–58, 1992.

LANTTO, I. et al. Epidemiology of Achilles tendon ruptures: Increasing incidence over a 33-year period. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 25, n. 1, p. e133–8, 23 maio 2014.

LIMA, F. R. DE et al. Resposta inflamatória a membranas de biopolímero de cana-de-açúcar e telas de polipropileno ® implantadas no peritônio parietal de ratos. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 50, n. 1, p. 37–40, 2005.

LIN, T. W. T. W.; CARDENAS, L.; SOSLOWSKY, L. J. L. J. Biomechanics of tendon injury and repair. **Journal of biomechanics**, v. 37, n. 6, p. 865–77, jun. 2004.

LIU, C.-F. et al. What we should know before using tissue engineering techniques to repair injured tendons: a developmental biology perspective. **Tissue engineering. Part B, Reviews**, v. 17, n. 3, p. 165–176, 2011.

LOMAS, A. J. et al. The past, present and future in scaffold-based tendon treatments. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 84, p. 257–277, 2014.

LONGO, U. G. et al. Acute achilles tendon rupture in athletes. **Foot and ankle clinics**, v. 18, n. 2, p. 319–38, jun. 2013.

LYNCH, R. M. Achilles tendon rupture: surgical versus non-surgical treatment. **Accident and emergency nursing**, v. 12, n. 3, p. 149–58, jul. 2004.

MACLEOD, M. R. et al. Systematic review and metaanalysis of the efficacy of FK506 in experimental stroke. **Journal of cerebral blood flow and metabolism**, v. 25, n. 6, p. 713–721, 2005.

MAFFULLI, N.; WONG, J.; ALMEKINDERS, L. C. Types and epidemiology of tendinopathy. **Clinics in Sports Medicine**, v. 22, n. 4, p. 675–692, out. 2003.

MAGANARIS, C. N.; NARICI, M. V; MAFFULLI, N. Biomechanics of the Achilles tendon. **Disability and rehabilitation**, v. 30, p. 1542–1547, 2008.

MAGNAN, B. et al. Foot and Ankle Surgery The pathogenesis of Achilles tendinopathy : A systematic review. **Foot and Ankle Surgery**, v. 20, n. 3, p. 154–159, 2014.

- MAGNUSSON, S. P.; HANSEN, P.; KJAER, M. Tendon properties in relation to muscular activity and physical training. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 13, n. 4, p. 211–23, ago. 2003.
- MAQUIRRIAIN, J. Achilles tendon rupture : Avoiding tendon Lengthening during Surgical repair and Rehabilitation. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 84, p. 289–300, 2011.
- MARQUES, S. R. DE B. et al. Um novo substituto vascular : arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar – avaliação hemodinâmica e histopatológica. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 6, n. 4, p. 309–315, 2007.
- MARSOLAIS, D.; CÔTÉ, C.; FRENETTE, J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug reduces neutrophil and macrophage accumulation but does not improve tendon regeneration. **Laboratory Investigation**, v. 83, n. 7, p. 991–9, 2003.
- MARSOLAIS, D.; CÔTE, C. H.; FRENETTE, J. Neutrophils and macrophages accumulate sequentially following Achilles tendon injury. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 19, p. 1203–1209, 2001.
- MARTI, R.; WEBER, B. G. Rupture of the achilles tendon - functional after care. **Helvetica Chirurgica Acta**, v. 41, n. 1-2, p. 293–6, 1974.
- MASSONE, F. **Anestesiologia Veterinária - Farmacologia E Técnica**. Sexta Edição. Rio de Janeiro: [s.n.].
- MATSON, A. et al. Tendon material properties vary and are interdependent among turkey hindlimb muscles. 2012.
- MAYER, D. L. M. et al. Sugarcane biopolymer membrane: experimental evaluation in the middle ear. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 77, n. 1, p. 44–50, 2011.
- MCNEILLY, C. M. et al. Tendon cells in vivo form a three dimensional network of cell processes linked by gap junctions. **Journal of anatomy**, v. 189 (Pt 3, p. 593–600, 1996.
- MOHITE, B. V.; PATIL, S. V. A novel biomaterial : bacterial cellulose and its new era applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 61, n. 2, p. 101–110, 2014.
- MOLLOY, T. J. et al. Microarray Analysis of Healing Rat Achilles Tendon : Evidence for Glutamate Signaling Mechanisms and Embryonic Gene Expression in Healing

- Tendon Tissue. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 24, p. 842–855, 2006.
- MONTEIRO, V. L. C. et al. Cana-de-açúcar no tratamento de feridas cutâneas por segunda ou terceira intenção. **Medicina Veterinária**, v. 1, n. 1, p. 1–8, 2007.
- MONTGOMERY, R. D. Healing of muscle, ligaments, and tendons. **Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal)**, v. 4, n. 4, p. 304–11, 1989.
- MOORE, M. J.; DE BEAUX, A. A quantitative ultrastructural study of rat tendon from birth to maturity. **Journal of anatomy**, v. 153, p. 163–169, 1987.
- MOSHIRI, A; ORYAN, A. Role of tissue engineering in tendon reconstructive surgery and regenerative medicine: Current concepts, approaches and concerns. **Hard Tissue**, v. 1, n. 2, p. 1–11, 2012.
- MOSHIRI, A.; ORYAN, A.; MEIMANDI-PARIZI, A. Role of tissue-engineered artificial tendon in healing of a large Achilles tendon defect model in rabbits. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 217, n. 3, p. 421–441.e8, set. 2013.
- MURRAY, M. M. et al. Enhanced Histologic Repair in a Central Wound in the Anterior Cruciate Ligament with a Collagen–Platelet-Rich Plasma Scaffold. **Journal of orthopaedic research**, v. 25, p. 1007–1017, 2007.
- MURRELL, G. A et al. **Effects of exercise on Achilles tendon healing in a rat model** *Foot Ankle Int*, 1998. Disponível em:
<<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9763165>>
- MURRELL, G. A C. Using nitric oxide to treat tendinopathy. **British journal of sports medicine**, v. 41, p. 227–231, 2007.
- MURRELL, G. A. C. et al. The Achilles Functional Index. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 10, p. 398–404, 1991.
- MURRELL, G. A. C. et al. The Achilles Functional Index. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 10, n. 3, p. 398–404, 1992.
- MURRELL, G. A. C. **Effect of exercise on achilles tendon healing in a rat model**.pdf *Foot & Ankle international*, 1998.
- MUSCHLER, G. F.; NAKAMOTO, C.; GRIFFITH, L. G. Engineering Principles of Clinical Cell-Based Tissue Engineering. **The Journal of bone and joint surgery.**, v. 86, n. 7, p. 1541–1558, 2004.
- NG, G. Y. F.; FUNG, D. T. C. The combined treatment effects of therapeutic laser and exercise on tendon repair. **Photomedicine and laser surgery**, v. 26, n. 2, p. 137–41, abr. 2008.

- NG, G. Y. F.; NG, C. O. Y.; SEE, E. K. N. Comparison of therapeutic ultrasound and exercises for augmenting tendon healing in rats. **Ultrasound in medicine & biology**, v. 30, n. 11, p. 1539–43, nov. 2004.
- O'BRIEN, M. Structure and metabolism of tendons. **Scandinavian Journal of medicine & science in sports**, v. 7, n. 2, p. 55–61, 1997.
- OLIVEIRA, RO. RI. DE et al. Mechanical Properties of Achilles Tendon in Rats Induced to Experimental Diabetes. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 39, n. 5, p. 1528–1534, 2011.
- ORYAN, A.; MOSHIRI, A.; MEIMANDIPARIZI, A.-H. Effects of sodium-hyaluronate and glucosamine-chondroitin sulfate on remodeling stage of tenotomized superficial digital flexor tendon in rabbits: a clinical, histopathological, ultrastructural, and biomechanical study. **Connective tissue research**, v. 52, n. 4, p. 329–39, 2011.
- OWENS, G. K.; THOMPSON, M. M. Developmental Changes in Isoactin Expression in Rat Aortic Smooth Muscle Cells in Vivo. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 261, n. 28, p. 13373–13380, 1986.
- OZTURAN, K.; GUVEN, A.; CAM, K. The effect of extracorporeal shock waves on a rat model of injury to tendo Achillis A HISTOLOGICAL AND BIOMECHANICAL STUDY. p. 613–618, 2004.
- PALMES, D. et al. Achilles tendon healing: Long-term biomechanical effects of postoperative mobilization and immobilization in a new mouse model. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 20, p. 939–946, 2002.
- PATERSON-BEEDLE, M. et al. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zoogloea* sp . v. 42, p. 375–383, 2000a.
- PATERSON-BEEDLE, M. et al. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zoogloea* sp . **Carbohydrate Polymers**, v. 42, p. 375–383, 2000b.
- PETERSEN, N.; GATENHOLM, P. Bacterial cellulose-based materials and medical devices : current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, p. 1277–1286, 2011.
- PINS, G. D. et al. Self-assembly of collagen fibers. Influence of fibrillar alignment and decorin on mechanical properties. **Biophysical journal**, v. 73, n. October, p. 2164–2172, 1997.
- PINTO, F. C. M. et al. Acute toxicity, cytotoxicity, genotoxicity and antigenotoxic

effects of a cellulosic exopolysaccharide obtained from sugarcane molasses.

Carbohydrate Polymers, v. 137, p. 556–560, 2016.

POYNTON, A.; O'ROURKE, K. An analysis of skin perfusion over the achilles tendon in varying degrees of plantarflexion. **Foot & Ankle**, v. 22, n. 7, p. 572–4, 2001.

RAJWADE, J. M.; PAKNIKAR, K. M.; KUMBHAR, J. V. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 6, p. 2491–2511, 2015.

REES, J. D.; WILSON, A. M.; WOLMAN, R. L. Current concepts in the management of tendon disorders. **Rheumatology**, v. 45, p. 508–521, 2006.

RICARD-BLUM, S. The Collagen Family. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, p. 1–19, 2011.

ROBERTS, T. J. et al. Muscular Force in Running Turkeys : The Economy of Minimizing Work Muscular Force in Running Turkeys : The Economy of Minimizing Work. **Science**, v. 275, p. 1113–1115, 1997.

ROBERTS, T. J. The integrated function of muscles and tendons during locomotion. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 133, n. 4, p. 1087–1099, 2002.

ROSENBAUM, A. J. et al. Histologic stages of healing correlate with restoration of tensile strength in a model of experimental tendon repair. **HSS journal : the musculoskeletal journal of Hospital for Special Surgery**, v. 6, n. 2, p. 164–70, set. 2010.

SANDY, J. et al. Recent Scientific Advances Towards the Development of Tendon Healing Strategies Strategies. **Current Tissue Engineering**, v. 4, p. 128–143, 2015.

SAYGI, B. et al. The effect of dehydration and irrigation on the healing of Achilles tendon : an experimental study. **Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery**, v. 14, n. 2, p. 103–109, 2008.

SCOTT, A.; GREWAL, N.; GUY, P. The seasonal variation of Achilles tendon ruptures in Vancouver, Canada: a retrospective study. **BMJ open**, v. 4, n. 2, p. e004320, jan. 2014.

SCOTT, J. E.; HAIGH, M. Identification of specific binding sites for keratan sulphate proteoglycans and chondroitin-dermatan sulphate proteoglycans on collagen fibrils in cornea by the use of Cupromeronic Blue in ' critical-electrolyte-concentration ' techniques. **Biochemical of Journal**, v. 253, p. 607–610, 1988.

- SEE, E. K. N. et al. Running exercises improve the strength of a partially ruptured Achilles tendon. **British journal of sports medicine**, v. 38, n. 5, p. 597–600, out. 2004.
- SHAH, N. et al. Overview of bacterial cellulose composites : A multipurpose advanced material. **Cancer Research**, v. 98, p. 1585–1598, 2013.
- SHARMA, P.; MAFFULLI, N. Basic biology of tendon injury and healing. **The Surgeon**, v. 3, n. 5, p. 309–316, out. 2005.
- SHARMA, P.; MAFFULLI, N. Biology of tendon injury : healing , modeling and remodeling. **The Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, v. 6, n. 2, p. 181–190, 2006.
- SHEARN, J. T. et al. Tendon Tissue Engineering: Progress, Challenges, and Translation to the Clinic. **Journal of musculoskeletal & neuronal interactions**, v. 11, n. 513, p. 163–173, 2013.
- SILVEIRA, A. et al. BIOPOLYMER MEMBRANE OF SUGARCANE: A REALITY AS AN OPTION FOR THE CORRECTION OF URINARY INCONTINENCE. **Millenium**, v. 46, p. 81–95, 2014.
- SILVEIRA, A. C. M.; NERY, C. A. S. Macroscopic and morphometric study of the posterior tibial tendon. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 34, n. 8, p. 475–480, 1999.
- SILVER, F. H.; FREEMAN, J. W.; SEEHRA, G. P. Collagen self-assembly and the development of tendon mechanical properties. **Journal of Biomechanics**, v. 36, p. 1529–1553, 2003.
- SIMONSEN, E. B.; KLITGAARD, H.; BOJSEN-MOLLER, F. The influence of strength training, swim training and ageing on the Achilles tendon and m. soleus of the rat. **Journal of Sports Sciences**, v. 13, n. 4, p. 291–295, 1995.
- SOROCEANU, A. et al. Surgical versus nonsurgical treatment of acute Achilles tendon rupture: a meta-analysis of randomized trials. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 94, p. 2136–43, 2012.
- STILWELL, D. L. The innervation of tendons and aponeuroses. **The American journal of anatomy**, v. 100, p. 289–317, 1957.
- STROCCHI, R. et al. Human Achilles tendon: morphological and morphometric variations as a function of age. **Foot & Ankle**, v. 12, n. 2, p. 100–4, 1991.
- SUCKOW, M. A et al. Repair of experimental Achilles tenotomy with porcine renal

- capsule material in a rat model. **Journal of materials science. Materials in medicine**, v. 18, n. 6, p. 1105–10, jun. 2007.
- TAN, G.; SABB, B.; KADAKIA, A. R. Non-surgical management of Achilles ruptures. **Foot and ankle clinics**, v. 14, n. 4, p. 675–84, dez. 2009.
- TAVARES, L. H. M. et al. Biopolymer Sponge for High Grade Renal Trauma : An Experimental Study in Rabbits. **Journal of Urology**, v. 4, p. 1–6, 2014.
- TEMPFER, H.; TRAWEGER, A. Tendon vasculature in health and disease. **Frontiers in Physiology**, v. 6, p. 1–7, 2015.
- THAKKAR, D. et al. Distribution and expression of type VI collagen and elastic fibers in human rotator cuff tendon tears. **Connective Tissue Research**, v. 55, n. 5-6, p. 397–402, 2014.
- THOMOPOULOS, S. et al. Variation of biomechanical, structural, and compositional properties along the tendon to bone insertion site. **Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 21, n. 3, p. 413–9, maio 2003.
- THORPE, C. T. et al. The role of the non-collagenous matrix in tendon function. **International Journal of Experimental Pathology**, v. 94, p. 248–259, 2013.
- THORPE, C. T. et al. Anatomical heterogeneity of tendon : Fascicular and interfascicular tendon compartments have distinct proteomic composition. **Nature Publishing Group**, n. October 2015, p. 1–12, 2016.
- TIPTON, C. M. et al. **The influence of physical activity on ligaments and tendons** *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1975. Disponível em: <<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00005768-197500730-00014>>
- TOMIOSSO, T. C. et al. Organization of collagen bundles during tendon healing in rats treated with L-NAME. **Cell and tissue research**, v. 337, n. 2, p. 235–42, ago. 2009.
- TONNESEN, M. G.; FENG, X.; CLARK, R. A. F. Angiogenesis in Wound Healing. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 5, n. 1, p. 40–46, 2000.
- TROUP, J. P. The physiology and biomechanics of competitive swimming. **Clinics in Sports Medicine**, v. 18, n. 2, p. 267–85, 1999.
- TSAI, W.-C.; TANG, S.-T.; LIANG, F.-C. Effect of therapeutic ultrasound on tendons.

American journal of physical medicine & rehabilitation, v. 90, n. 12, p. 1068–73, dez. 2011.

WAJCHEMBERG, M. et al. Reabilitação precoce de atletas utilizando hidroterapia após o tratamento cirúrgico de hérnia discal lombar: relato preliminar de 3 casos.

Acta Ortopédica Brasileira, v. 10, n. 2, p. 48–57, 2002.

WANG, J. H. C. Mechanobiology of tendon. **Journal of Biomechanics**, v. 39, n. 9, p. 1563–1582, 2006a.

WANG, J. H.-C. Mechanobiology of tendon. **Journal of biomechanics**, v. 39, n. 9, p. 1563–82, jan. 2006b.

WEILER, A. et al. α -Smooth muscle actin is expressed by fibroblastic cells of the ovine anterior cruciate ligament and its free tendon graft during remodeling. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 20, p. 310–317, 2002.

WERTZ, J.; GALLI, M.; BORCHERS, J. R. Achilles tendon rupture: risk assessment for aerial and ground athletes. **Sports health**, v. 5, n. 5, p. 407–9, set. 2013.

WOLFER, D. P. et al. Laboratory animal welfare: cage enrichment and mouse behaviour. **Nature**, v. 432, n. 7019, p. 821–822, 2004.

WOOD, V. T. et al. Collagen Changes and Realignment induced by Low-Level Laser Therapy and Low-Intensity Ultrasound in the Calcaneal Tendon. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 42, n. 6, p. 559–65, ago. 2010.

XIA, W. et al. Nitric oxide enhances collagen synthesis in cultured human tendon cells. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 24, n. 3, p. 159–172, 2006.

XIE, P. et al. Systemic administration of hemoglobin improves ischemic wound healing. **Journal of Surgical Research**, v. 194, n. 2, p. 696–705, 2015.

YAMAMOTO, E.; HAYASHI, K.; YAMAMOTO, N. Mechanical properties of collagen fascicles from stress-shielded patellar tendons in the rabbit. **Clinical Biomechanics**, v. 14, n. 6, p. 418–25, 1999.

YAMIN, R.; MORGAN, K. G. Deciphering actin cytoskeletal function in the contractile vascular smooth muscle cell. **The Journal of physiology**, v. 17, p. 4145–4154, 2012.

YANG, G.; ROTHRAUFF, B. B.; TUAN, R. S. Tendon and Ligament Regeneration and Repair: Clinical Relevance and Developmental Paradigm. **Birth Defects Research Part C - Embryo Today**, v. 99, n. 3, p. 203–222, 2013.

YEUNG, C. K.; GUO, X.; NG, Y. F. Pulsed ultrasound treatment accelerates the repair of Achilles tendon rupture in rats. **Journal of orthopaedic research**, v. 24, n. 2, p. 193–201, fev. 2006.

APÊNDICE A – Artigo de Revisão Sistemática

Physical Therapy in Sport <ees.yptsp.0.3ab281.67885024@eesmail.elsevier.com>

Para

anacfe83@gmail.com titina_falcao@yahoo.com.br

Jul 17 em 6:51 PM

Physical Therapy in Sport

Title: THE EFFECT OF AEROBIC EXERCISE ON HEALING OF RUPTURES OF THE ACHILLES TENDON IN ANIMALS: A SYSTEMATIC REVIEW.

Authors: Ana Esteves, Ms; Ana Esteves, Ms; Cybelle Nery, Ms; Andrea Lemos, Dra; Silvia Moraes, Dra

Article Type: Review Article

Dear Ana,

Your submission entitled "THE EFFECT OF AEROBIC EXERCISE ON HEALING OF RUPTURES OF THE ACHILLES TENDON IN ANIMALS: A SYSTEMATIC REVIEW." under article type Review Article has been received by Physical Therapy in Sport.

You may check on the progress of your paper by logging on to the Elsevier Editorial System as an author. The URL is <http://ees.elsevier.com/yptsp/>.

Your manuscript will be given a reference number once an Editor has been assigned.

Thank you for submitting your work to this journal. Please do not hesitate to contact me if you have any queries.

Kind regards,

Physical Therapy in Sport

For further assistance, please visit our customer support site at <http://help.elsevier.com/app/answers/list/p/7923> Here you can search for solutions on a range of topics, find answers to frequently asked questions and learn more about EES via interactive tutorials. You will also find our 24/7 support contact details should you need any further assistance from one of our customer support representatives.

THE EFFECT OF AEROBIC EXERCISE ON HEALING OF RUPTURES OF THE ACHILLES TENDON IN ANIMALS: A SYSTEMATIC REVIEW.

Ana Cristina Falcão Esteves

Laboratório de Plasticidade Neuromuscular (LAPLAN), Departamento de Anatomia,
Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade
Universitária, Recife – PE, Brasil.

Email: anacfe83@gmail.com

Cybelle da Silva Nery

Laboratório de Plasticidade Neuromuscular (LAPLAN), Departamento de Anatomia,
Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade
Universitária, Recife – PE, Brasil.

Email: cybellenary@gmail.com

Andrea Lemos

Laboratório de Fisioterapia na Saúde da Mulher e Assoalho Pélvico (LAFISMA),
Universidade Federal de Pernambuco, Departamento de Fisioterapia, Av. Prof.
Moraes Rego, 1235 – Cidade Universitária, Recife – PE, Brasil.

Email: andrealemos4@gmail.com

Silvia Regina Arruda de Moraes

Laboratório de Plasticidade Neuromuscular (LAPLAN), Departamento de Anatomia,
Universidade Federal de Pernambuco, Av. Prof. Moraes Rego, 1235 – Cidade
Universitária, Recife – PE, Brasil.

Email: sramoraes@gmail.com

Corresponding Author: Ana Cristina Falcão Esteves

ABSTRACT

Aim: To examine the effect of aerobic exercise on the healing process of ruptured calcaneal tendons in animal models.

Methods: Published (MEDLINE/PUBMED, SCIELO, LILACS, CINAHL and Web of Science) were searched without year or language restrictions. Two reviewers independently identified all eligible papers; the risk of bias was conducted according to the SYstematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE) risk of bias tool. The primary outcomes were: histomorphometry; ultimate tensile strength and elastic modulus of the healed tendon; and secondary outcome was Achilles Functional Index.

Results: Only three articles were included in this review. Demonstrated a high risk of bias due to a lack of clarity of such information. There was an increase in the ultimate tensile strength of the ruptured calcaneal tendon in animals that performed running (DM= 12.10; IC95%= 2.30, 21.90), (DM= 6.10; IC95%= 0.47, 11.73) and swimming (DM= 3.00; IC95%= 0.11, 5.89), but there was no difference in the elastic modulus. As for the Achilles Functional Index, the results were inconclusive and no description was included of the histomorphometric analysis.

Conclusions: The papers showed high risk of bias and heterogeneous protocols. Future studies should consider all internationally recommended points for the methodological control of experimental studies.

KEYWORDS: aerobic exercise, achilles tendon, tendon injuries, tendon healing

HIGHLIGHTS

- Improvement in the UTS of the tendons in animals that performed aerobic exercise.
- No influence on the EM of the tendons in animals that performed aerobic exercise.
- Animals Studies included showed high risk of bias and heterogeneous protocols.
- Necessity of improving the methodological quality of animal studies.

INTRODUCTION

The incidence of ruptures of the Achilles tendon is increasing in the adult population (JÄRVINEN et al., 2001). Etiological factors involve abrupt interruption of high-energy movements, degenerative changes and mechanical imbalance (KANNUS, 2000). Injurious situations occur more often in high-performance athletes, but may also be present in non-athletes during exercise, especially when there is lack of conditioning of the myotendinous complex (Tomiosso, Nakagaki, Gomes, Hyslop, & Pimentel, 2009; Jielile et al., 2010; Kearney & Costa, 2012; Wertz, Galli, & Borchers, 2013)

Some strategies have been tested for the treatment of tendon injuries, such as anti-inflammatory drugs, innovations in tissue engineering, joint mobilization, and therapy with ultrasound or electrical stimulation (Palmes et al., 2002; Marsolais, Côté, & Frenette, 2003; Jeremias Júnior et al., 2011; Moshiri, Oryan, & Meimandi-Parizi, 2013). Due to the responsiveness of tendons to the imposition of mechanical forces, by means of changing the structure, composition and biomechanical properties, movement may be essential in the healing process and should be considered during treatment (Simonsen, Klitgaard, & Bojsen-Moller, 1995; Wang, 2006).

In this sense, the use of exercise in the treatment of tendon rupture in experimental models has been described since the 1970s (MARTI; WEBER, 1974). Different types of exercise have been proposed, but studies with strength exercises are scarce, and results with aerobic exercise have shown divergent findings (Simonsen et al., 1995; Godbout, Ang, & Frenette, 2006; Barone, Bellafiore, Leonardi, & Zummo, 2009; Bezerra et al., 2013). This fact is probably due to the diversity of protocols used and the restriction parameters evaluated (Tipton, Matthes,

Maynard, & Carey, 1975; Buchanan & Marsh, 2002 Magnusson, Hansen, & Kjaer, 2003; Godbout et al., 2006).

Thus, this review aims to examine the effect of aerobic exercise on the healing process of ruptured calcaneal tendons in animal models.

MATERIAL AND METHODS

For this systematic review a search was conducted in MEDLINE/PUBMED (1966-2016), SCIELO (1998-2016), LILACS (1982-2016), CINAHL (1981-2016) and Web of Science (1975-2016) without year or language restrictions. Through the Medical Subject Headings (MeSH) and Descritores em Ciências da Saúde (DeCS), the following descriptors were used for the selection of articles: "Exercise" or "Exercise Therapy" or "Running" or "Swimming" AND "Tendons" or "Achilles tendon" or "Tendon Injuries" and a limit was established to include only studies with experimental animals. In the database CINAHL, through CINAHL Headings, the following descriptors were used: "Exercise" or "Therapeutic Exercise" or "Running" or "Swimming" AND "Tendons" or "Achilles tendon" or "Tendon Injuries" or "Achilles Tendon Rupture". At the Web of Science, the same descriptors were used as for the PUBMED database with the addition of the descriptor "Rats".

The search was conducted in the electronic databases by two independent researchers (ACFE and CSN) through a pre-defined protocol (available from the authors). A third reviewer (SRAM) was consulted when necessary as an arbitrator to define the inclusion or not of discordant articles between the researchers.

The following inclusion criteria were established for the selection of items for review: 1) intervention studies in animals that had undergone full or partial, surgically-induced rupture of the calcaneus tendon; 2) studies comparing trained and control or

untrained groups; 3) morphometric studies and/or studies of the biomechanical properties of the calcaneal tendon. Articles were excluded from the review according to the following criteria: 1) studies using diets or substances that influence the structure of the tendons evaluated; 2) studies using limb immobilization protocols after the injury procedure; 3) studies with aerobic exercise protocols associated with additional loads; 4) studies that combined other types of treatment (ultrasound, laser, stem cells, etc.) associated with aerobic exercise protocols; 5) studies which started the exercise protocol before injury.

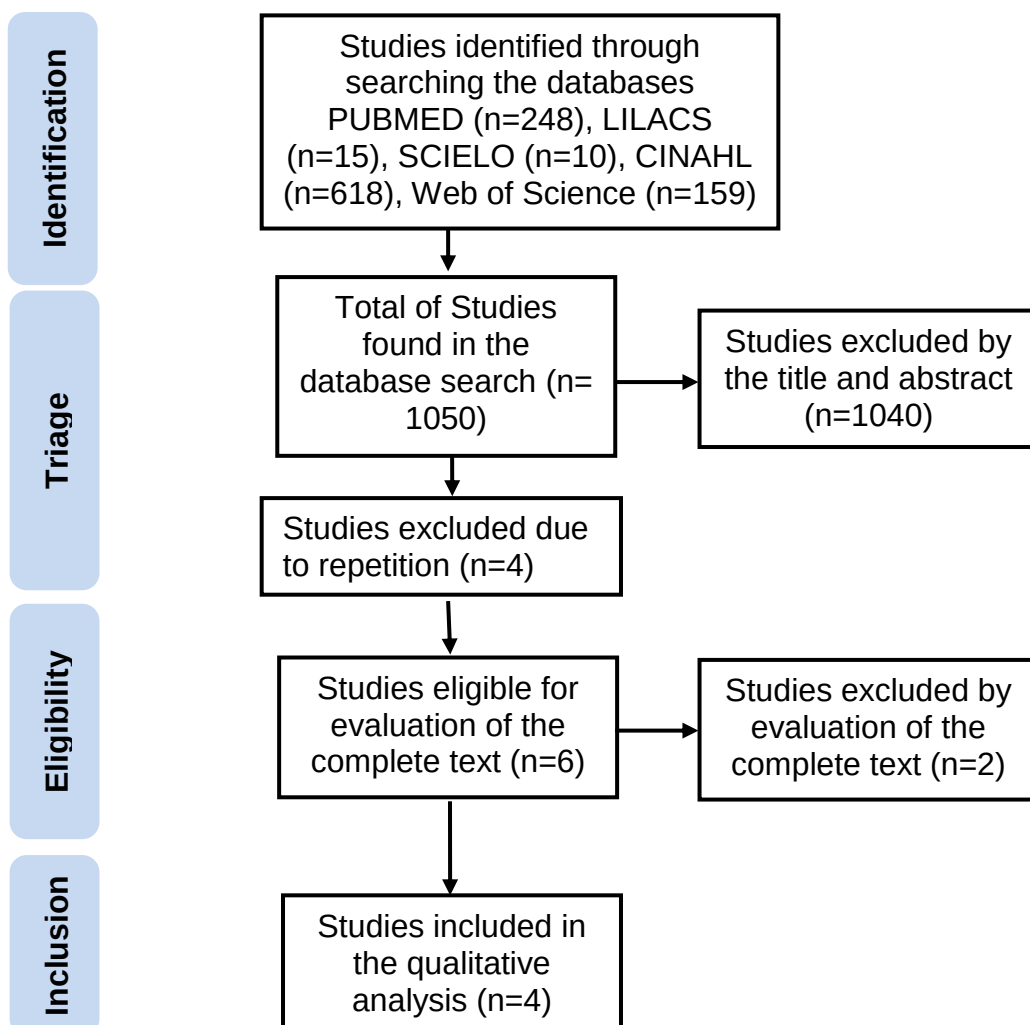
The assessment of the risk of bias of the studies was conducted according to the SYstematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE) risk of bias tool (HOOIJMANS et al., 2014), through individual components of the specific points that interfere with the internal validity of the experimental studies. Studies were presented chronologically and the following items were analyzed: Selection Bias, through the sequence generation domains; Baseline Characteristics; Allocation Concealment; Performance Bias, through the random housing and blinding domains; Detection Bias, through the random outcome assessment and blinding domains; Attrition Bias, through the incomplete outcome data domain; and Reporting Bias, through the selective outcome data domain. For each domain, the term "low" was used to indicate low risk of bias, "high" to indicate high risk of bias and "undefined", when there was no clarity in the item identified in the article.

The following primary outcomes were considered: histomorphometry of the tendon tissue; evaluation of ultimate tensile strength (UTS) and elastic modulus (EM) of the healed tendon; and as a secondary outcome, the Achilles Functional Index (AFI)

RESULTS

The result of the initial search through the combination of descriptors found 1050 items. Of these, six articles were potentially eligible and selected for a more detailed analysis of the full text. After this analysis, two articles were excluded: the first (BRING et al., 2007) because it made use of hypertensive rats, the second (NG; NG; SEE, 2004), which presented the sample size, methodology and identical results to another previously selected article (SEE et al., 2004). Thus, only three articles and a thesis were included in this review (Figure 1).

Fig. 1. Search and selection of studies for the Systematic Review according to PRISMA (Preferred Reporting of Systematic Review and Meta-analyses).



In terms of the analysis of the risk of bias, the articles demonstrated a high risk of bias in most of the analyzed items, due to a lack of information or lack of clarity of such information. Only in two areas was there a low risk of bias in all selected studies: the first, Baseline Characteristics, as similar characteristics of the animals were described across the experimental groups, demonstrating the homogeneity among the groups; and second, Incomplete Outcome Data, as the loss of animals was reported and did not influence the results (Table 1).

Table 1: SYStematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE) risk of bias tool

		Murrell et al., 1998		See et al., 2004		Gabriel Y F Ng & Fung, 2008		Biancardine, K.B.G. 2011	
TYPES OF BIAS	DOMAIN	Risk of Bias	Justification	Risk of Bias	Justification	Risk of Bias	Justification	Risk of Bias	Justification
Selection Bias	Sequence Generation	high	x	Unclear	There was randomization, but the method not described	unclear	There was randomization, but the method not described	indefinite	There was randomization, but the method not described
	Baseline Characteristics	low	*	Low	*	low	*	low	*
	Allocation Concealment	high	x	High	X	high	x	high	X
Performance Bias	Random Housing	high	x	High	X	high	x	high	X
	Blinding	high	x	High	X	high	x	high	x
Detection bias	Random Outcome Assessment	high	x	High	X	high	x	high	X
	Blinding	high	x	High	X	high	x	high	X
Attrition bias	Incomplete Outcome Data	low	*	Low	*	low	*	high	There was a loss of animals, but "n" not reported
Reporting bias	Selective Outcome reporting	high	UTS: results were not expressed as mean±SD AFI: results only graphs	High	IFA: results only graphs	high	UTS: showed only the "p" between the groups and not values		

*Descrição Adequada; x Not reported

UTS (Ultimate Tensile Strength); AFI (Achilles Functional Index); SD (Standard Deviation)

Regarding the characteristics of the included studies, it can be observed that two performed complete rupture of the calcaneal tendon (Murrell, G.A., Jang, D., Deng, X.H., Hannafin, J. A., Warren, 1998; Biancardine, K. B. G., 2011). With respect to the use of sutures, two articles did not report this procedure (Murrell et al., 1998; See et al., 2004). Another parameter analyzed during surgery was the removal of the

Plantar muscle tendon and only one article reported the removal of this tendon (Murrell et al., 1998). Regarding the type of aerobic exercises used in the studies, only two distinct exercises were used: treadmill running and swimming. Two articles began the exercise on the fifth day after surgery (See et al., 2004; Gabriel Y F Ng & Fung, 2008). Regarding the protocol of the exercises conducted, there was heterogeneity among the studies (Table 2).

Table 2: Characteristics of the included studies

Included Studies	Samples Characteristics			Surgical Procedures Characteristics			Aerobic Exercises Characteristics	
Author/Year	Experimental Groups	Sexy/Species	Age/Weight	Injury	Suture	Plantaris Tendon Removed	Starting Exercise	Starting Exercise
Murrell et al., 1998	Nonexercise group (n=10) Exercise group (n=10)	♂ <i>Sprague-Dawley</i> Rats	8-10weeks/ 280-320g	Complete Rupture	*	yes	*	Swimming Frequency: 15 min/day Duration: 15 days
See et al., 2004	Controle group (n=09) Running group (n=11) Swimming group (n=10)	* <i>Sprague-Dawley</i> Rats	90 days/ 375-575g	Partial Rupture	*	no	Day 5 post-injury	Frequency: 6x/week Duration: 25 days 15 min (1 ^o week) 17 min (2 ^o week) 19 min (at the end) Swimming Treadmill Running 4m/min during first 2 days, gradually increased to 12m/min.
Gabriel Y F Ng & Fung, 2008	No running group (n=04) Running 15min group (n=04) Running 30 min group (n=04)	♂ <i>Sprague-Dawley</i> rats	12weeks/ 285-352 g	Partial Rupture	Unrelized	*	Day 5 post-injury	Treadmill Running Duration: 16 days 4m/min during first 2 days, gradually increased to 12m/min. Both Running groups running 15 and 30 min, respectively.
Biancardine, K.B.G. 2011	Controle group 1 week (n=06) 3 weeks (n=06) 7 weeks (n=06) Exercise group 1 week (n=06) 3 weeks (n=06) 7 weeks (n=06)	♂ <i>Wistar</i> rats	3month/ 300 g	Complete Rupture	Unrelized	no	Day 8 post-injury	Treadmill Running Duration: 1, 3 ou 7 weeks Frequency: 5x/week Speed and times gradually increased to 14m/min for 30 min.

*Not reported

The outcomes analyzed are reported in Table 3. Histomorphometry was not analyzed in any of the studies. The Elastic Modulus was only analyzed in one study (Murrell et al., 1998) while all the studies evaluated the Ultimate tensile strength of the tendon (Murrell et al., 1998; See et al., 2004; Biancardine, K. B. G., 2011). As for the AFI, the studies that evaluated it (Murrell et al, 1998; See et al., 2004) presented data only in graphics and did not show any differences among the groups (Table 3).

Table 3: Outcomes Analysis

Included Studies	Histomorphological Analysis*	Biomechanics Analysis: UTS and EM			Achilles Functional Index
(MURRELL et al., 1998)	X	UTS (N; Mean $\pm$ SD) Nonexercise Group: 78 ± 4 Exercise Group: 81 ± 2 MD= 3.00 [95%CI= 0.11, 5.89) EM (MPa; Mean $\pm$ SD) Nonexercise Group: 39 ± 6 Exercise Group: 44 ± 8 MD= 5.00 [95%CI= -1.32, 11.32)			Results not reported, only graphic representation. There were no differences between the exercise and nonexercise group during the 15 day experimental period. "p" value not reported.
(SEE et al., 2004)	X	UTS (N; Mean $\pm$ SD) Control Group: $61,7 \pm 12,6$ Running Group: $73,8 \pm 9,0$ MD=12.10 [95%CI= 2.30, 21.90)	UTS (N; Mean $\pm$ SD) Control Group: $61,7 \pm 12,6$ Swimming Group: $67,6 \pm 9,7$ MD=5.90 [95%CI= -4.29, 16.09)		Results not reported, only graphic representation. There were no differences between groups.
(NG; FUNG, 2008)	x	UTS (N; Mean $\pm$ SD) Results notreported, only "p" values. No Running Group x Running 30min Group (p=0,04) No Running Group x Running 15min Group (p=0,04)			x
Biancardine, K.B.G. 2011	X	EM (MPa) x			
		UTS (N; Mean $\pm$ SD) Control Group: $29,3 \pm 7,28$ Exercise Group (1week): $24,8 \pm 4,1$ MD= -4.5 [95% CI= -11.13, 2.13]	UTS (N; Mean $\pm$ SD) Control Group: $28 \pm 5,8$ Exercise Group (3weeks): $28,6 \pm 7,3$ MD= -0.6 [95% CI= -8.06, 6.86]	UTS (N; Mean $\pm$ SD) Control Group: 23 ± 5 Exercise Group (7weeks): $29,6 \pm 3,5$ MD= 6.10 [95% CI= 0.47, 11.73]	x
		EM (MPa) x	EM (MPa) x	EM (MPa) x	

*Quantification of cells and collagens fibers; " x" Not reported

UTS (Ultimate Tensile Strength); EM (Elastic Modulus); MD (Mean Difference); CI(Confidence Intercals)

DISCUSSION

The results of this review showed that there was an increase in the UTS of the ruptured calcaneal tendon in animals that performed exercise, but there was no difference in the EM among groups. As for the Achilles Functional Index, the results were inconclusive and no description was included of the histomorphometric analysis in the studies.

Systematic Reviews are common practices in clinical research, but scarce in animal experiments. As of 2010, just over 250 systematic reviews of preclinical studies have been published, while the Cochrane Library, an international reference of systematic review publications in clinical studies, there are nearly 6,000 publications (DE VRIES et al., 2015). Thus, we see a discrepancy in this type of publication between the preclinical and clinical areas. International initiatives have been developed to raise awareness, enhance, standardize and improve the quality of systematic reviews in animals. In 2012, a group entitled the SYstematic Review Centre for Laboratory Animal Experimentation (SYRCLE) was created at Radboud University in the Netherlands, which provides a means for assessing the risk of bias of these studies based on the Cochrane Collaboration RoB Tool (HOOIJMANS et al., 2014). The purpose of this tool is to standardize and avoid discrepancies in the assessment of risk of bias in experimental animal studies. However, it is still challenging to use it due to the paucity of information in experimental studies, as can be seen in this review.

In this review, the articles included demonstrated a high risk of bias index in all domains assessed by SYCLE's Risk of Bias Tool, except for the description of the characteristics of animals. Studies in animal experiments lack methodological details and this description is often underestimated even though there is evidence of its

importance (Bebarta, Luyten, & Heard, 2003; Wolfer et al., 2004). There is need to improve the design, implementation and description of these studies (MACLEOD et al., 2005).

Histomorphometry was not evaluated by any of the studies. The importance of this analysis is due to the fact that healing is a complex process involving various cellular and vascular events, as well as factors of the extracellular matrix (ENWEMEKA, 1989). Histological changes such as an increased number of fibroblasts, changes in the organization and amount of collagen and an increased number of capillaries are observed during the healing process (OZTURAN; GUVEN; CAM, 2004). The closer that the healed tendon appears structurally similar to a normal tendon, the greater the efficiency of the process (KRAPF; KAIPEL; MAJEWSKI, 2012).

Among the biomechanical parameters, the ultimate tensile strength of the tendon was evaluated in four studies selected and there was an increase in this parameter in the exercised groups, regardless of the type of exercise, in three studies. In animal studies, it is more appropriate to focus on the direction of the effect rather than on its size due to the inevitable heterogeneity among studies (HOOIJMANS et al., 2014). Thus at ultimate tensile strength, it is seen that there is a direction to the effect, favoring the groups that performed exercises.

On closer analysis of these results, it appears that there was interference from the presence of the plantar muscle and from the type of damage done. Thus, the swimming exercise only showed an effect when the plantar muscle was removed associated with total rupture. Given this result, it could be conjectured that the removal or not of the plantar muscle tendon would be an important factor in the assessment of biomechanical parameters of the calcaneal tendon. In four-legged

animals the plantar is a functionally active muscle, strong and with a substantial role in the animal's gait, which may be masking the biomechanical response of the calcaneal tendon (Best et al., 1993; Murrell et al., 1992; Eliasson et al., 2009; Dimmen, Engebretsen, Nordsletten, & Madsen, 2009)

The type of experimental lesion, either partial or complete, of the calcaneal tendon mimics its severity and this rupture model should be taken into consideration (DAHER et al., 2011). In cases of complete rupture, in which suturing was not performed, there is a tendency to retraction of the stumps, which makes healing more difficult (See et al., 2004). It would be expected that total ruptures would have a late improvement in the ultimate tensile strength of the tendon, while a partial rupture would not; however, our results show the opposite. So again the presence of the plantar muscle tendon has to be considered. Its absence along with exercise may have stimulated the healing process of the tendon.

Another important factor that seems to demonstrate an influence on the results of ultimate tensile strength found was the duration of training. In the single study (Biancardine, K. B. G., 2011) where only running exercise was used, there was a difference in the group that exercised for seven weeks when compared to groups that trained for one or three weeks. Seven weeks is the period that predominantly occurs during the remodeling phase of the healing process. At this stage, there is a progressive alignment of collagen fibrils in bundles, restoring the stiffness and tensile strength of the tendon (DOCHEVA et al., 2014). Perhaps this reason justifies the improvement of ultimate tensile strength found, reflecting a more histologically structured tendon.

The elastic modulus outcome showed no difference among groups. It is important to note that the exercise used was swimming; the aquatic environment

creates resistance due to the movement of water and the thrust generated, the load of body mass is reduced and the load exerted on the calcaneal tendon is small due to weightlessness and the small movement of the ankle (Troup, 1999; Wajchenberg et al., 2002; G. Y F Ng, Ng, & See, 2004). Therefore, it is suggested that the type of exercise may not have been effective.

Due to the selective description of the outcome of the two studies that evaluated the Achilles Functional Index, the results are inconclusive. The evaluation of functional outcomes is important in experimental models of tendon injury, as they clinically reflect the results of the healing process (BEST et al., 1993). Many studies with laboratory animals are designed to improve human health (and health care), it seems reasonable that research with animals be similarly revised and adheres to high quality standards similar to clinical research.

CONCLUSION

The studies included in this review showed a shift to an improvement in the ultimate tensile strength of the ruptured calcaneal tendon in animals that performed exercise, but no influence on the elastic modulus of the tendons was seen. In addition, the results were inconclusive as to the Achilles Functional Index and there was no data on histomorphometry.

It is important to consider that these results come from studies with high risk of bias and heterogeneous protocols. Future studies should consider all internationally recommended points for the methodological control of experimental studies. Additionally, important outcomes such as histomorphometric evaluation must be conducted so that the process of tendon healing is better delineated.

CONFLICT OF INTEREST

None declared.

ETHICAL APPROVAL

None declared.

FUNDING

None declared.

REFERENCES

- ABRAHAMMS, M. Mechanical behaviour of tendon in vitro. A preliminary report. **Medical & Biological engineering**, v. 5, n. 5, p. 433–43, 1967.
- ACKERMANN, P. W. et al. Autonomic innervation of tendons, ligaments and joint capsules. A morphologic and quantitative study in the rat. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 19, n. 3, p. 372–378, 2001.
- AHMED, I. M. et al. Blood Supply of the Achilles Tendon. 1997.
- ALEXANDER, R. . Tendon elasticity and muscle function. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology**, v. 133, n. 4, p. 1001–11, 2002.
- ANDERSSON, T.; ELIASSON, P.; ASPENBERG, P. Tissue memory in healing tendons: short loading episodes stimulate healing. **Journal of applied physiology**, v. 107, n. 2, p. 417–21, ago. 2009.
- ANSORGE, H. L. Mechanical, Compositional, and structural properties of the post-natal mouse achilles tendon. v. 39, n. 7, p. 1904–1913, 2012.
- APARECIDA DE ARO, A.; DE CAMPOS VIDAL, B.; PIMENTEL, E. R. Biochemical and anisotropical properties of tendons. **Micron**, v. 43, n. August 2015, p. 205–214, 2012.
- AQUINO, C. F.; VIANA, S. O.; FONSECA, S. T. Biomechanical behavior and biological tissue response to stress and immobilization. **Fisioterapia em Movimento**, v. 18, n. 2, p. 35–43, 2005.
- ARNER, O.; LINDHOLM, A.; ORELL, S. R. Histologic changes in subcutaneous rupture of the Achilles tendon; a study of 74 cases. **Acta Chirurgica Scandinavica**, v. 116, n. 5-6, p. 484–90, 1959.
- ASTRÖM, M.; WESTLIN, N. Blood flow in the human Achilles tendon assessed by laser Doppler flowmetry. **Journal Orthopaedic Research**, v. 12, n. 2, p. 246–52, 1994.
- AUGUSTO, R. et al. Effect of sugarcane biopolymer gel injected in rabbit vocal fold. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 80, n. 3, p. 220–225, 2014.
- Barbato, K. B. G. (2011). Efeitos do uso de antiinflamatório e do exercício aeróbico sobre a regeneração tecidual e perfil biodinâmico do tendão calcâneo de ratos após ruptura completa. **Tese de Doutorado**, Universidade Federal do Rio de Janeiro, Rio de Janeiro, RJ, Brasil.
- BARONE, R. et al. Structural analysis of rat patellar tendon in response to resistance and endurance training. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 19, n. 6, p. 782–9, dez. 2009.
- BEBARTA, V.; LUYTEN, D.; HEARD, K. Emergency medicine animal research: Does use of randomization and blinding affect the results? **Academic Emergency Medicine**, v. 10, n. 12, p. 1410, 2003.

- BENJAMIN, M.; KAISER, E.; MILZ, S. Structure-function relationships in tendons: A review. **Journal of Anatomy**, v. 212, n. January, p. 211–228, 2008.
- BEREDJIKLIAN, P. et al. Regenerative versus reparative healing in tendon: a study of biomechanical and histological properties in fetal sheep. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 31, n. 10, p. 1143–52, 2003.
- BEST, T. M. et al. **Achilles Tendon Healing: A Correlation Between Functional and Mechanical Performance in the Rat** **Journal of Orthopaedic Research**, 1993.
- BEZERRA, M. A. et al. Biomechanical and structural parameters of tendons in rats subjected to swimming exercise. **International Journal of Sports Medicine**, v. 34, n. di, p. 1070–1073, 2013.
- BIRK, D. E. et al. Collagen fibrillogenesis in vitro: interaction of types I and V collagen regulates fibril diameter. **Journal of cell science**, v. 95 (Pt 4), p. 649–657, 1990.
- BOKHARI, A. R.; MURRELL, G. A C. The role of nitric oxide in tendon healing. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 21, n. 2, p. 238–244, 2012.
- BOYER, M. I. et al. Intrasynovial flexor tendon repair. An experimental study comparing low and high levels of in vivo force during rehabilitation in canines. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 83-A, n. 6, p. 891–9, 2001.
- BRING, D. K. et al. Physical Activity Modulates Nerve Plasticity and Stimulates Repair after Achilles Tendon Rupture. n. February, p. 164–172, 2007.
- BRING, D. K. I. et al. Joint immobilization reduces the expression of sensory neuropeptide receptors and impairs healing after tendon rupture in a rat model. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 27, n. February, p. 274–280, 2009.
- BRODIE, M. et al. Biomechanical properties of Achilles tendon repair augmented with a bioadhesive-coated scaffold. v. 6, n. 1, p. 1–16, 2012.
- BUCHANAN, C. I.; MARSH, R. L. Effects of exercise on the biomechanical, biochemical and structural properties of tendons. **Comparative biochemistry and physiology. Part A, Molecular & integrative physiology**, v. 133, n. 4, p. 1101–7, dez. 2002.
- BUTLER, D. . et al. Biomechanics of ligaments and tendons. **Exercise and sport sciences reviews**, v. 6, p. 125–181, 1978.
- CARPENTER, J. E.; HANKENSON, K. D. Animal models of tendon and ligament injuries for tissue engineering applications. **Biomaterials**, v. 25, p. 1715–1722, 2004.
- CASTRO, C. M. M. B. DE et al. Citotoxicidade de biopolímero de cana-de-açúcar. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 49, n. 2, p. 119–123, 2004.
- CAVAGNA, G. A.; HEGLUND, N. C.; TAYLOR, C. R. Mechanical work in terrestrial locomotion : two basic mechanisms for minimizing energy expenditure. **American Journal of Physiology - Regulatory, Integrative and Comparative Physiology**, v. 233, p. R243–R261, 1977.
- CHANSKY, H. A.; IANNOTTI, J. P. The vascularity of the rotator cuff. **Clinics in Sports Medicine**, v. 10, n. 4, p. 807–22, 1991.
- CHAPONNIER, C.; GABBIANI, G. Pathological situations characterized by altered actin isoform expression. p. 386–395, 2004.
- CHIODO, C. P. et al. Treatment of Achilles Tendon Rupture. **The Journal of bone and joint surgery.**, v. 92, p. 2466–2469, 2010.
- CHUEN, F. S. et al. Immunohistochemical Characterization of Cells in Adult Human Patellar Tendons. **The Journal of Histochemistry & Cytochemistry**, v. 52, n. 9, p. 1151–1157, 2004.
- COELHO, M. C. DE O. C. et al. BIOPOLÍMERO PRODUZIDO A PARTIR DA CANA-DE-AÇÚCAR PARA CICATRIZAÇÃO CUTÂNEA. **Acta Chirurgica Scandinavica**, v. 17, n. supp 1, p. 11–13, 2001.

- COOPER, J. A et al. Biomimetic tissue-engineered anterior cruciate ligament replacement. **Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America**, v. 104, n. 9, p. 3049–3054, 2007.
- CORDEIRO-BARBOSA, F. D. A. et al. Use of a gel biopolymer for the treatment of eviscerated eyes : experimental model in rabbits. **Arquivo Brasileiro de Oftalmologia**, v. 75, n. 4, p. 267–272, 2012.
- COSTA, J.; MARQUES, V.; ANDRÉ, E. S. Development of a low-cost method to analyse gait in rats. v. 21, n. 2, p. 115–123, 2008.
- CRIBB, A. M. et al. Tendon response to tensile stress : an ultrastructural investigation of collagen : proteoglycan interactions in stressed tendon. p. 423–428, 1995.
- DAHER, R. J. et al. Tendon repair augmented with a novel circulating stem cell population. v. 4, n. 3, p. 214–219, 2011.
- DAHLGREN, L. A. Pathobiology of Tendon and Ligament Injuries. **Clinical Techniques in Equine Practice**, v. 6, p. 168–173, 2007.
- DARBY, I.; SKALLI, O.; GABBIANI, G. Alpha-smooth muscle actin is transiently expressed by myofibroblasts during experimental wound healing. **Laboratory Investigation**, v. 63, n. 1, p. 21–29, 1990.
- DAVIS, J. R. **HANDBOOK OF MATERIALS FOR MEDICAL DEVICES**. [s.l: s.n.].
- DE VRIES, R. B. M. et al. A protocol format for the preparation, registration and publication of systematic reviews of animal intervention studies. **Evidence-based Preclinical Medicine**, v. 1, n. 1, p. 1–9, 2015.
- DIMMEN, S. et al. Negative effects of parecoxib and indomethacin on tendon healing: An experimental study in rats. **Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy**, v. 17, n. 7, p. 835–839, 2009.
- DOCHEVA, D. et al. Biologics for tendon repair. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 84, p. 222–239, 2014.
- DOURTE, L. M.; KUNTZ, A. F.; SOSLOWSKY, L. J. Twenty-five years of tendon and ligament research. **Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 26, n. 10, p. 1297–305, out. 2008.
- DUANCE, V. C. et al. The location of three collagen types in skeletal muscle. **FEBS letters**, v. 79, n. 2, p. 248–252, 1977.
- ELIASSON, P.; ANDERSSON, T.; ASPENBERG, P. Rat Achilles tendon healing : mechanical loading and gene expression. **Journal of Applied Physiology**, v. 107, n. 14, p. 399–407, 2009.
- ENWEMEKA, C. S. Inflammation , Cellularity , and Fibrillogenesis in Regenerating Tendon : Implications for Tendon Rehabilitation. v. 69, n. 10, p. 19–21, 1989.
- ERIKSEN, H. A. et al. Increased content of type III collagen at the rupture site of human Achilles tendon. v. 20, p. 1352–1357, 2002.
- FATIGATI, V.; MURPHY, R. A. Actin and tropomyosin variants in smooth muscles. Dependence on tissue type. **Journal of Biological Chemistry**, v. 259, n. 23, p. 14383–14388, 1984.
- FELISBINO S.L; CARVALHO, H. F. Identification and distribution of type VI collagen in tendon fibrocartilages. **Journal of submicroscopic cytology and pathology**, v. 31, n. 2, p. 187–95, 1999.
- FENWICK, S. A.; HAZLEMAN, B. L.; RILEY, G. P. The vasculature and its role in the damaged and healing tendon. **Arthritis Research**, v. 4, n. 4, p. 252–260, 2002.
- FOWBLE, V. et al. Neovascularity in chronic posterior tibial tendon insufficiency. **Clinical orthopaedics and related research**, v. 450, p. 225–30, 2006.
- FREEMAN, M. A; WYKE, B. The innervation of the knee joint. An anatomical and histological study in the cat. **Journal of anatomy**, v. 101, n. 3, p. 505–532, 1967.

- FUNAKOSHI, T. et al. Rotator cuff regeneration using chitin fabric as an acellular. **Journal of Shoulder and Elbow Surgery**, v. 15, n. 1, p. 112–118, 2006.
- GELBERMAN, R. H. et al. The effect of gap formation at the repair site on the strength and excursion of intrasynovial flexor tendons. An experimental study on the early stages of tendon-healing in dogs. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 81, n. 7, p. 975–82, 1999.
- GLAZEBROOK, M. A et al. Histological analysis of achilles tendons in an overuse rat model. **Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 26, n. 6, p. 840–6, jun. 2008.
- GODBOUT, C.; ANG, O.; FRENETTE, J. Early voluntary exercise does not promote healing in a rat model of Achilles tendon injury. **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 101, n. 6, p. 1720–6, dez. 2006.
- GRAF, J.; SCHNEIDER, U.; NIETHARD, F. U. The blood supply of the Achilles tendon. **International orthopaedics**, v. 16, p. 29–31, 1992.
- GROSS, G.; HOFFMANN, A. **Therapeutic strategies for tendon healing based on novel biomaterial factors and cells. Pathobiology**, 2013.
- HANNAFIN JA, ARNOCZKY SP, HOONJAN A, T. P. Effect of stress deprivation and cyclic tensile loading on the material and morphologic properties of canine flexor digitorum profundus tendon: an in vitro study. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 13, n. 6, p. 907–914, 1995.
- HEINEMEIER, K. M.; KJAER, M. In vivo investigation of tendon responses to mechanical loading. **Journal of musculoskeletal & neuronal interactions**, v. 11, n. 2, p. 115–23, jun. 2011.
- HOOIJMANS, C. R. et al. SYRCLE's risk of bias tool for animal studies. **BMC medical research methodology**, v. 14, p. 43, jan. 2014.
- HOPE, M.; SAXBY, T. S. Tendon healing. **Foot and ankle clinics**, v. 12, n. 4, p. 553–67, v. dez. 2007.
- HRUSKA, R. E.; KENNEDY, S.; SILBERGELD, E. K. Quantitative aspects of normal locomotion in rats. **Life Sciences**, v. 25, p. 171–180, 1979.
- HUTTUNEN, T. T. et al. Acute Achilles Tendon Ruptures: Incidence of Injury and Surgery in Sweden Between 2001 and 2012. **The American journal of sports medicine**, v. 42, n. 10, p. 2419–2423, 2014.
- JALLAGEAS, R. et al. Evaluation of surgical treatment for ruptured Achilles tendon in 31 athletes. **Orthopaedics & traumatology, surgery & research : OTSR**, v. 99, n. 5, p. 577–84, set. 2013.
- JAMES, R. et al. Tendon: Biology, Biomechanics, Repair, Growth Factors, and Evolving Treatment Options. **Journal of Hand Surgery**, v. 33A, p. 102–112, 2008a.
- JAMES, R. et al. Tendon: Biology, Biomechanics, Repair, Growth Factors, and Evolving Treatment Options. **Journal of Hand Surgery**, v. 33, p. 102–112, 2008b.
- JÄRVINEN, T. A. H. et al. Achilles tendon injuries. **Current Opinion in Rheumatology**, v. 13, n. 2, p. 150–155, 2001.
- JEREMIAS JÚNIOR, S. L. et al. Low-intensity pulsed ultrasound accelerates healing in rat calcaneus tendon injuries. **The Journal of orthopaedic and sports physical therapy**, v. 41, n. 7, p. 526–31, jul. 2011.
- JESUS, J. F. DE et al. Low-level laser therapy on tissue repair of partially injured achilles tendon in rats. **Photomedicine and laser surgery**, v. 32, n. 6, p. 345–50, 2014.
- JIALILI, A. et al. Differentially expressed proteins on postoperative 3 days healing in rabbit Achilles tendon rupture model after early kinesiotherapy. **Chinese Journal of Traumatology English Edition**, v. 14, n. 2, p. 84–91, 2011.
- JIELILE, J. et al. Factors influencing the tensile strength of repaired Achilles tendon: a

- biomechanical experiment study. **Clinical biomechanics (Bristol, Avon)**, v. 25, n. 8, p. 789–95, out. 2010.
- JIN, H.-J. et al. Human bone marrow stromal cell responses on electrospun silk fibroin mats. **Biomaterials**, v. 25, n. 6, p. 1039–1047, 2004.
- JOENSEN, J. et al. An experimental study of low-level laser therapy in rat Achilles tendon injury. **Lasers in medical science**, v. 27, n. 1, p. 103–11, jan. 2012.
- JÓZSA, L. et al. The role of recreational sport activity in Achilles tendon rupture. A clinical, pathoanatomical, and sociological study of 292 cases. **The American journal of sports medicine**, v. 17, n. 3, p. 338–43, 1989a.
- JÓZSA, L. et al. The role of recreational sport activity in Achilles tendon rupture. A clinical, pathoanatomical, and sociological study of 292 cases. **The American journal of sports medicine**, v. 17, n. 3, p. 338–43, 1989b.
- JÓZSA, L.; KANNUS, P. Histopathological findings in spontaneous tendon ruptures. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 7, n. 9, p. 113–118, 1997.
- KANNUS, P. Structure of the tendon connective tissue. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 10, n. 3, p. 312–320, 2000.
- KASTELIC, J.; GALESKI, A.; BAER, E. The multicomposite structure of tendon. **Connective Tissue Research**, v. 6, n. 1, p. 11–23, 1978.
- KEARNEY, R. S.; COSTA, M. L. Current concepts in the rehabilitation of an acute rupture of the tendo Achillis. **The Journal of bone and joint surgery. British volume**, v. 94, n. 1, p. 28–31, jan. 2012.
- KHAN, R. J. K. et al. Treatment of acute achilles tendon ruptures. A meta-analysis of randomized, controlled trials. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 87, p. 2202–2210, 2005.
- KIRKENDALL, D. T.; GARRETT, W. E. Function and biomechanics of tendons. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 7, n. 2, p. 62–6, abr. 1997.
- KJÆR, M. Role of Extracellular Matrix in Adaptation of Tendon and Skeletal Muscle to Mechanical Loading. p. 649–698, 2004.
- KJÆR, M. Matrix loaded and unloaded: can tendons grow when exercised? **Journal of applied physiology (Bethesda, Md. : 1985)**, v. 102, n. 2, p. 515, fev. 2007.
- KONOW, N.; AZIZI, E.; ROBERTS, T. J. Muscle power attenuation by tendon during energy dissipation. **Proceedings of the Royal Society B**, v. 279, p. 1108–1113, 2012.
- KOTNIS, R. et al. Dynamic ultrasound as a selection tool for reducing achilles tendon reruptures. **The American journal of sports medicine**, v. 4, n. 9, p. 1395–400, 2006.
- KRAPF, D.; KAIPEL, M.; MAJEWSKI, M. Structural and biomechanical characteristics after early mobilization in an Achilles tendon rupture model: operative versus nonoperative treatment. **Orthopedics**, v. 35, n. 9, p. e1383–8, set. 2012.
- KUWADA, G. T. A severe acute Achilles rupture and repair. **The Journal of foot and ankle surgery**, v. 34, n. 3, p. 262–5, 1995.
- LACROIX, A. S. et al. Relationship between tendon stiffness and failure: a metaanalysis. **Journal of Applied Physiology**, v. 115, n. April 2013, p. 43–51, 2013.
- LANDVATER, S. J.; RENSTRÖM, P. A. Complete Achilles tendon ruptures. **Clinics in Sports Medicine**, v. 11, n. 2, p. 741–58, 1992.
- LANTTO, I. et al. Epidemiology of Achilles tendon ruptures: Increasing incidence over a 33-year period. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 25, n. 1, p. e133–8, 23 maio 2014.
- LIMA, F. R. DE et al. Resposta inflamatória a membranas de biopolímero de cana-de-açúcar e telas de polipropileno ® implantadas no peritônio parietal de ratos. **Anais da Faculdade de Medicina da Universidade Federal de Pernambuco**, v. 50, n. 1, p. 37–40, 2005.
- LIN, T. W. T. W.; CARDENAS, L.; SOSLOWSKY, L. J. L. J. Biomechanics of tendon

- injury and repair. **Journal of biomechanics**, v. 37, n. 6, p. 865–77, jun. 2004.
- LIU, C.-F. et al. What we should know before using tissue engineering techniques to repair injured tendons: a developmental biology perspective. **Tissue engineering. Part B, Reviews**, v. 17, n. 3, p. 165–176, 2011.
- LOMAS, A. J. et al. The past, present and future in scaffold-based tendon treatments. **Advanced Drug Delivery Reviews**, v. 84, p. 257–277, 2014.
- LONGO, U. G. et al. Acute achilles tendon rupture in athletes. **Foot and ankle clinics**, v. 18, n. 2, p. 319–38, jun. 2013.
- LYNCH, R. M. Achilles tendon rupture: surgical versus non-surgical treatment. **Accident and emergency nursing**, v. 12, n. 3, p. 149–58, jul. 2004.
- MACLEOD, M. R. et al. Systematic review and metaanalysis of the efficacy of FK506 in experimental stroke. **Journal of cerebral blood flow and metabolism**, v. 25, n. 6, p. 713–721, 2005.
- MAFFULLI, N.; WONG, J.; ALMEKINDERS, L. C. Types and epidemiology of tendinopathy. **Clinics in Sports Medicine**, v. 22, n. 4, p. 675–692, out. 2003.
- MAGANARIS, C. N.; NARICI, M. V.; MAFFULLI, N. Biomechanics of the Achilles tendon. **Disability and rehabilitation**, v. 30, p. 1542–1547, 2008.
- MAGNAN, B. et al. Foot and Ankle Surgery The pathogenesis of Achilles tendinopathy : A systematic review. **Foot and Ankle Surgery**, v. 20, n. 3, p. 154–159, 2014.
- MAGNUSSON, S. P.; HANSEN, P.; KJAER, M. Tendon properties in relation to muscular activity and physical training. **Scandinavian journal of medicine & science in sports**, v. 13, n. 4, p. 211–23, ago. 2003.
- MAQUIRRIAIN, J. Achilles tendon rupture : Avoiding tendon Lengthening during Surgical repair and Rehabilitation. **Yale Journal of Biology and Medicine**, v. 84, p. 289–300, 2011.
- MARQUES, S. R. DE B. et al. Um novo substituto vascular : arterioplastia femoral em cães com remendo de membrana de biopolímero de cana-de-açúcar – avaliação hemodinâmica e histopatológica. **Jornal Vascular Brasileiro**, v. 6, n. 4, p. 309–315, 2007.
- MARSOLAIS, D.; CÔTÉ, C.; FRENETTE, J. Nonsteroidal anti-inflammatory drug reduces neutrophil and macrophage accumulation but does not improve tendon regeneration. **Laboratory Investigation**, v. 83, n. 7, p. 991–9, 2003.
- MARSOLAIS, D.; CÔTÉ, C. H.; FRENETTE, J. Neutrophils and macrophages accumulate sequentially following Achilles tendon injury. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 19, p. 1203–1209, 2001.
- MARTI, R.; WEBER, B. G. Rupture of the achilles tendon - functional after care. **Helvetica Chirurgica Acta**, v. 41, n. 1-2, p. 293–6, 1974.
- MASSONE, F. **Anestesiologia Veterinária - Farmacologia E Técnica**. Sexta Edição. Rio de Janeiro: [s.n.].
- MATSON, A. et al. Tendon material properties vary and are interdependent among turkey hindlimb muscles. 2012.
- MAYER, D. L. M. et al. Sugarcane biopolymer membrane: experimental evaluation in the middle ear. **Brazilian Journal of Otorhinolaryngology**, v. 77, n. 1, p. 44–50, 2011.
- MCNEILLY, C. M. et al. Tendon cells in vivo form a three dimensional network of cell processes linked by gap junctions. **Journal of anatomy**, v. 189 (Pt 3, p. 593–600, 1996.
- MOHITE, B. V.; PATIL, S. V. A novel biomaterial : bacterial cellulose and its new era applications. **Biotechnology and Applied Biochemistry**, v. 61, n. 2, p. 101–110, 2014.
- MOLLOY, T. J. et al. Microarray Analysis of Healing Rat Achilles Tendon : Evidence for Glutamate Signaling Mechanisms and Embryonic Gene Expression in Healing Tendon Tissue. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 24, p. 842–855, 2006.
- MONTEIRO, V. L. C. et al. Cana-de-açúcar no tratamento de feridas cutâneas por segunda ou terceira intenção. **Medicina Veterinária**, v. 1, n. 1, p. 1–8, 2007.

- MONTGOMERY, R. D. Healing of muscle, ligaments, and tendons. **Seminars in veterinary medicine and surgery (small animal)**, v. 4, n. 4, p. 304–11, 1989.
- MOORE, M. J.; DE BEAUX, A. A quantitative ultrastructural study of rat tendon from birth to maturity. **Journal of anatomy**, v. 153, p. 163–169, 1987.
- MOSHIRI, A.; ORYAN, A. Role of tissue engineering in tendon reconstructive surgery and regenerative medicine: Current concepts, approaches and concerns. **Hard Tissue**, v. 1, n. 2, p. 1–11, 2012.
- MOSHIRI, A.; ORYAN, A.; MEIMANDI-PARIZI, A. Role of tissue-engineered artificial tendon in healing of a large Achilles tendon defect model in rabbits. **Journal of the American College of Surgeons**, v. 217, n. 3, p. 421–441.e8, set. 2013.
- MURRAY, M. M. et al. Enhanced Histologic Repair in a Central Wound in the Anterior Cruciate Ligament with a Collagen–Platelet-Rich Plasma Scaffold. **Journal of orthopaedic research**, v. 25, p. 1007–1017, 2007.
- MURRELL, G. A et al. **Effects of exercise on Achilles tendon healing in a rat model** **Foot & Ankle Int**, 1998. Disponível em: <<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9763165>>
- MURRELL, G. A C. Using nitric oxide to treat tendinopathy. **British journal of sports medicine**, v. 41, p. 227–231, 2007.
- MURRELL, G. A. C. et al. The Achilles Functional Index. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 10, p. 398–404, 1991.
- MURRELL, G. A. C. et al. The Achilles Functional Index. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 10, n. 3, p. 398–404, 1992.
- MURRELL, G. A. C. **Effect of exercise on achilles tendon healling in a rat model.pdf** **Foot & Ankle international**, 1998.
- MUSCHLER, G. F.; NAKAMOTO, C.; GRIFFITH, L. G. Engineering Principles of Clinical Cell-Based Tissue Engineering. **The Journal of bone and joint surgery.**, v. 86, n. 7, p. 1541–1558, 2004.
- NG, G. Y. F.; FUNG, D. T. C. The combined treatment effects of therapeutic laser and exercise on tendon repair. **Photomedicine and laser surgery**, v. 26, n. 2, p. 137–41, abr. 2008.
- NG, G. Y. F.; NG, C. O. Y.; SEE, E. K. N. Comparison of therapeutic ultrasound and exercises for augmenting tendon healing in rats. **Ultrasound in medicine & biology**, v. 30, n. 11, p. 1539–43, nov. 2004.
- O'BRIEN, M. Structure and metabolism of tendons. **Scandinavian Journal of medicine & science in sports**, v. 7, n. 2, p. 55–61, 1997.
- OLIVEIRA, RO. RI. DE et al. Mechanical Properties of Achilles Tendon in Rats Induced to Experimental Diabetes. **Annals of Biomedical Engineering**, v. 39, n. 5, p. 1528–1534, 2011.
- ORYAN, A.; MOSHIRI, A.; MEIMANDIPARIZI, A.-H. Effects of sodium-hyaluronate and glucosamine-chondroitin sulfate on remodeling stage of tenotomized superficial digital flexor tendon in rabbits: a clinical, histopathological, ultrastructural, and biomechanical study. **Connective tissue research**, v. 52, n. 4, p. 329–39, 2011.
- OWENS, G. K.; THOMPSON, M. M. Developmental Changes in Isoactin Expression in Rat Aortic Smooth Muscle Cells in Vivo. **The Journal of Biological Chemistry**, v. 261, n. 28, p. 13373–13380, 1986.
- OZTURAN, K.; GUVEN, A.; CAM, K. The effect of extracorporeal shock waves on a rat model of injury to tendo Achillis A HISTOLOGICAL AND BIOMECHANICAL STUDY. p. 613–618, 2004.
- PALMES, D. et al. Achilles tendon healing: Long-term biomechanical effects of postoperative mobilization and immobilization in a new mouse model. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 20, p. 939–946, 2002.
- PATERSON-BEEDLE, M. et al. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane

- molasses by a *Zoogloea* sp . v. 42, p. 375–383, 2000a.
- PATERSON-BEEDLE, M. et al. A cellulosic exopolysaccharide produced from sugarcane molasses by a *Zoogloea* sp . **Carbohydrate Polymers**, v. 42, p. 375–383, 2000b.
- PETERSEN, N.; GATENHOLM, P. Bacterial cellulose-based materials and medical devices : current state and perspectives. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 91, p. 1277–1286, 2011.
- PINS, G. D. et al. Self-assembly of collagen fibers. Influence of fibrillar alignment and decorin on mechanical properties. **Biophysical journal**, v. 73, n. October, p. 2164–2172, 1997.
- PINTO, F. C. M. et al. Acute toxicity, cytotoxicity, genotoxicity and antigenotoxic effects of a cellulosic exopolysaccharide obtained from sugarcane molasses. **Carbohydrate Polymers**, v. 137, p. 556–560, 2016.
- POYNTON, A.; O'ROURKE, K. An analysis of skin perfusion over the achilles tendon in varying degrees of plantarflexion. **Foot & Ankle**, v. 22, n. 7, p. 572–4, 2001.
- RAJWADE, J. M.; PAKNIKAR, K. M.; KUMBHAR, J. V. Applications of bacterial cellulose and its composites in biomedicine. **Applied Microbiology and Biotechnology**, v. 99, n. 6, p. 2491–2511, 2015.
- REES, J. D.; WILSON, A. M.; WOLMAN, R. L. Current concepts in the management of tendon disorders. **Rheumatology**, v. 45, p. 508–521, 2006.
- RICARD-BLUM, S. The Collagen Family. **Cold Spring Harbor Perspectives in Biology**, p. 1–19, 2011.
- ROBERTS, T. J. et al. Muscular Force in Running Turkeys : The Economy of Minimizing Work Muscular Force in Running Turkeys : The Economy of Minimizing Work. **Science**, v. 275, p. 1113–1115, 1997.
- ROBERTS, T. J. The integrated function of muscles and tendons during locomotion. **Comparative Biochemistry and Physiology Part A**, v. 133, n. 4, p. 1087–1099, 2002.
- ROSENBAUM, A. J. et al. Histologic stages of healing correlate with restoration of tensile strength in a model of experimental tendon repair. **HSS journal : the musculoskeletal journal of Hospital for Special Surgery**, v. 6, n. 2, p. 164–70, set. 2010.
- SANDY, J. et al. Recent Scientific Advances Towards the Development of Tendon Healing Strategies Strategies. **Current Tissue Engineering**, v. 4, p. 128–143, 2015.
- SAYGI, B. et al. The effect of dehydration and irrigation on the healing of Achilles tendon : an experimental study. **Turkish Journal of Trauma & Emergency Surgery**, v. 14, n. 2, p. 103–109, 2008.
- SCOTT, A.; GREWAL, N.; GUY, P. The seasonal variation of Achilles tendon ruptures in Vancouver, Canada: a retrospective study. **BMJ open**, v. 4, n. 2, p. e004320, jan. 2014.
- SCOTT, J. E.; HAIGH, M. Identification of specific binding sites for keratan sulphate proteoglycans and chondroitin-dermatan sulphate proteoglycans on collagen fibrils in cornea by the use of Cupromeronic Blue in ' critical-electrolyte-concentration ' techniques. **Biochemical of Journal**, v. 253, p. 607–610, 1988.
- SEE, E. K. N. et al. Running exercises improve the strength of a partially ruptured Achilles tendon. **British journal of sports medicine**, v. 38, n. 5, p. 597–600, out. 2004.
- SHAH, N. et al. Overview of bacterial cellulose composites : A multipurpose advanced material. **Cancer Research**, v. 98, p. 1585–1598, 2013.
- SHARMA, P.; MAFFULLI, N. Basic biology of tendon injury and healing. **The Surgeon**, v. 3, n. 5, p. 309–316, out. 2005.
- SHARMA, P.; MAFFULLI, N. Biology of tendon injury : healing , modeling and remodeling. **The Journal of Musculoskeletal and Neuronal Interactions**, v. 6, n. 2, p. 181–190, 2006.
- SHEARN, J. T. et al. Tendon Tissue Engineering: Progress, Challenges, and Translation to the Clinic. **Journal of musculoskeletal & neuronal interactions**, v. 11, n. 513, p. 163–173,

2013.

SILVEIRA, A. et al. BIOPOLYMER MEMBRANE OF SUGARCANE: A REALITY AS AN OPTION FOR THE CORRECTION OF URINARY INCONTINENCE. **Millenium**, v. 46, p. 81–95, 2014.

SILVEIRA, A. C. M.; NERY, C. A. S. Macroscopic and morphometric study of the posterior tibial tendon. **Revista Brasileira de Ortopedia**, v. 34, n. 8, p. 475–480, 1999.

SILVER, F. H.; FREEMAN, J. W.; SEEHRA, G. P. Collagen self-assembly and the development of tendon mechanical properties. **Journal of Biomechanics**, v. 36, p. 1529–1553, 2003.

SIMONSEN, E. B.; KLITGAARD, H.; BOJSEN-MOLLER, F. The influence of strength training, swim training and ageing on the Achilles tendon and m. soleus of the rat. **Journal of Sports Sciences**, v. 13, n. 4, p. 291–295, 1995.

SOROCEANU, A. et al. Surgical versus nonsurgical treatment of acute Achilles tendon rupture: a meta-analysis of randomized trials. **The Journal of bone and joint surgery. American volume**, v. 94, p. 2136–43, 2012.

STILWELL, D. L. The innervation of tendons and aponeuroses. **The American journal of anatomy**, v. 100, p. 289–317, 1957.

STROCCHI, R. et al. Human Achilles tendon: morphological and morphometric variations as a function of age. **Foot & Ankle**, v. 12, n. 2, p. 100–4, 1991.

SUCKOW, M. A et al. Repair of experimental Achilles tenotomy with porcine renal capsule material in a rat model. **Journal of materials science. Materials in medicine**, v. 18, n. 6, p. 1105–10, jun. 2007.

TAN, G.; SABB, B.; KADAKIA, A. R. Non-surgical management of Achilles ruptures. **Foot and ankle clinics**, v. 14, n. 4, p. 675–84, dez. 2009.

TAVARES, L. H. M. et al. Biopolymer Sponge for High Grade Renal Trauma : An Experimental Study in Rabbits. **Journal of Urology**, v. 4, p. 1–6, 2014.

TEMPFER, H.; TRAWEGER, A. Tendon vasculature in health and disease. **Frontiers in Physiology**, v. 6, p. 1–7, 2015.

THAKKAR, D. et al. Distribution and expression of type VI collagen and elastic fibers in human rotator cuff tendon tears. **Connective Tissue Research**, v. 55, n. 5-6, p. 397–402, 2014.

THOMOPOULOS, S. et al. Variation of biomechanical, structural, and compositional properties along the tendon to bone insertion site. **Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society**, v. 21, n. 3, p. 413–9, maio 2003.

THORPE, C. T. et al. The role of the non-collagenous matrix in tendon function.

International Journal of Experimental Pathology, v. 94, p. 248–259, 2013.

THORPE, C. T. et al. Anatomical heterogeneity of tendon : Fascicular and interfascicular tendon compartments have distinct proteomic composition. **Nature Publishing Group**, n. October 2015, p. 1–12, 2016.

TIPTON, C. M. et al. **The influence of physical activity on ligaments and tendons** *Medicine and Science in Sports and Exercise*, 1975. Disponível em:

<<http://content.wkhealth.com/linkback/openurl?sid=WKPTLP:landingpage&an=00005768-197500730-00014>>

TOMIOSSO, T. C. et al. Organization of collagen bundles during tendon healing in rats treated with L-NAME. **Cell and tissue research**, v. 337, n. 2, p. 235–42, ago. 2009.

TONNESEN, M. G.; FENG, X.; CLARK, R. A. F. Angiogenesis in Wound Healing. **Journal of Investigative Dermatology Symposium Proceedings**, v. 5, n. 1, p. 40–46, 2000.

TROUP, J. P. The physiology and biomechanics of competitive swimming. **Clinics in Sports Medicine**, v. 18, n. 2, p. 267–85, 1999.

TSAI, W.-C.; TANG, S.-T.; LIANG, F.-C. Effect of therapeutic ultrasound on tendons.

American journal of physical medicine & rehabilitation, v. 90, n. 12, p. 1068–73, dez. 2011.

WAJCHEMBERG, M. et al. Reabilitação precoce de atletas utilizando hidroterapia após o tratamento cirúrgico de hérnia discal lombar: relato preliminar de 3 casos. **Acta Ortopédica Brasileira**, v. 10, n. 2, p. 48–57, 2002.

WANG, J. H. C. Mechanobiology of tendon. **Journal of Biomechanics**, v. 39, n. 9, p. 1563–1582, 2006a.

WANG, J. H.-C. Mechanobiology of tendon. **Journal of biomechanics**, v. 39, n. 9, p. 1563–82, jan. 2006b.

WEILER, A. et al. a-Smooth muscle actin is expressed by fibroblastic cells of the ovine anterior cruciate ligament and its free tendon graft during remodeling. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 20, p. 310–317, 2002.

WERTZ, J.; GALLI, M.; BORCHERS, J. R. Achilles tendon rupture: risk assessment for aerial and ground athletes. **Sports health**, v. 5, n. 5, p. 407–9, set. 2013.

WOLFER, D. P. et al. Laboratory animal welfare: cage enrichment and mouse behaviour. **Nature**, v. 432, n. 7019, p. 821–822, 2004.

WOOD, V. T. et al. Collagen Changes and Realignment induced by Low-Level Laser Therapy and Low-Intensity Ultrasound in the Calcaneal Tendon. **Lasers in Surgery and Medicine**, v. 42, n. 6, p. 559–65, ago. 2010.

XIA, W. et al. Nitric oxide enhances collagen synthesis in cultured human tendon cells. **Journal of Orthopaedic Research**, v. 24, n. 3, p. 159–172, 2006.

XIE, P. et al. Systemic administration of hemoglobin improves ischemic wound healing. **Journal of Surgical Research**, v. 194, n. 2, p. 696–705, 2015.

YAMAMOTO, E.; HAYASHI, K.; YAMAMOTO, N. Mechanical properties of collagen fascicles from stress-shielded patellar tendons in the rabbit. **Clinical Biomechanics**, v. 14, n. 6, p. 418–25, 1999.

YAMIN, R.; MORGAN, K. G. Deciphering actin cytoskeletal function in the contractile vascular smooth muscle cell. **The Journal of physiology**, v. 17, p. 4145–4154, 2012.

YANG, G.; ROTHRAUFF, B. B.; TUAN, R. S. Tendon and Ligament Regeneration and Repair: Clinical Relevance and Developmental Paradigm. **Birth Defects Research Part C - Embryo Today**, v. 99, n. 3, p. 203–222, 2013.

YEUNG, C. K.; GUO, X.; NG, Y. F. Pulsed ultrasound treatment accelerates the repair of Achilles tendon rupture in rats. **Journal of orthopaedic research**, v. 24, n. 2, p. 193–201, fev. 2006.

APÊNDICE B – Depósito de Patente

< Uso exclusivo do INPI >



Espaço reservado para o protocolo

Espaço reservado para a etiqueta

Espaço reservado para o código QR



INPI INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Sistema de Gestão da Qualidade
Diretoria de Patentes

DIRPA

Tipo de Documento:

Formulário

DIRPA

Página:

1/3

Título do Documento:

Depósito de Pedido de Patente

Código:
FQ001

Versão:
2

Procedimento:

DIRPA-PQ006

Ao Instituto Nacional da Propriedade Industrial:

O requerente solicita a concessão de um privilégio na natureza e nas condições abaixo indicadas:

1. Depositante (71):

- 1.1 Nome: UNIVERSIDADE FEDERAL DE PERNAMBUCO – UFPE
1.2 Qualificação: IFES - INSTITUIÇÃO FEDERAL DE ENSINO SUPERIOR – AUTARQUIA FEDERAL
1.3 CNPJ/CPF: 24134488/0001-08
1.4 Endereço Completo: AV. PROF. MORAES REGO, 1235 – CIDADE UNIVERSITÁRIA – RECIFE – PE
1.5 CEP: 50670-901
1.6 Telefone: 81-2126-8958 1.7 Fax: 81-2126-8959
1.8 E-mail: patentes_dine.propesq@ufpe.br

☐ continua em folha anexa

2. Natureza:



Invenção



Modelo de Utilidade



Certificado de Adição

3. Título da Invenção ou Modelo de Utilidade (54):

GARRA PARA O ENSAIO MECÂNICO DE MATERIAL BIOLÓGICO DE ANIMAIS DE PEQUENO PORTE

☐ continua em folha anexa

4. Pedido de Divisão: do pedido Nº XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX **Data de Depósito:** XXXXXXXXXXXXXXXXXXXX

5. Prioridade:



Interna (66)



Unionista (30)

O depositante reivindica a(s) seguinte(s):

Pais ou Organização do depósito	Número do depósito (se disponível)	Data de depósito
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXX
XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX	XXXXXXXXXXXX

☐ continua em folha anexa



INPI INSTITUTO
NACIONAL
DA PROPRIEDADE
INDUSTRIAL

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Sistema de Gestão da Qualidade
Diretoria de Patentes

DIRPA	Tipo de Documento: Formulário	DIRPA	Página: 2/3
Título do Documento: Depósito de Pedido de Patente		Código: FQ001	Versão: 2
		Procedimento: DIRPA-PQ006	

6. Inventor (72):

☐ Assinale aqui se o(s) mesmo(s) requer(em) a não divulgação de seus nome(s), neste caso não preencher os campos abaixo.

6.1 Nome: ANA CRISTINA FALCÃO ESTEVES

6.2 Qualificação: MESTRE EM PATOLOGIA

6.3 CPF: 045.376.874-10

6.4 Endereço Completo: RUA JOSÉ HIPÓLITO CARDOSO, Nº 90, APT. 103, SETÚBAL – RECIFE – PE

6.5 CEP: 51.030-060

6.6 Telefone: 81-99245-4089 / 99667-3432

6.7 FAX: 2126-8959

6.8 E-mail: anacfe83@gmail.com

☒ continua em folha anexa

7. Declaração de divulgação anterior não prejudicial.

Artigo 12 da LPI – período de graça.

Informe no item 11.13 os documentos anexados, se houver.

☐

8. Declaração na forma do item 3.2 da Instrução Normativa PR nº 17/2013:

☐ Declaro que os dados fornecidos no presente formulário são idênticos ao da certidão de depósito ou documento equivalente do pedido cuja prioridade está sendo reivindicada.

9. Procurador (74):

9.1 Nome: XX

9.2 CNPJ/CPF: XXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXXX 9.3 API/OAB: XXXXXXXXXXXXXXXX

9.4 Endereço Completo: XX

9.5 CEP: XXXXXXXXXXXXXXXX

9.6 Telefone: XXXXXXXXXXXXXXXX

9.7 FAX: XXXXXXXXXXXXXXXX

9.8 E-mail: XX

☐ continua em folha anexa

10. Listagem de sequências biológicas.

Informe nos itens 11.9 ao 11.12 os documentos anexados, se houver.

☐



INPI INSTITUTO
NACIONAL
DA PROPRIEDADE
INDUSTRIAL

INSTITUTO NACIONAL DA PROPRIEDADE INDUSTRIAL
Sistema de Gestão da Qualidade
Diretoria de Patentes

DIRPA	Tipo de Documento: Formulário	DIRPA	Página: 3/3
Título do Documento: Depósito de Pedido de Patente		Código: FQ001	Versão: 2
		Procedimento: DIRPA-PQ006	

11. Documentos Anexados:

(Assinale e indique também o número de folhas);

(Deverá ser indicado o número total de somente uma das vias de cada documento).

	Documentos Anexados		folhas
X	11.1	Guia de Recolhimento da União (GRU).	01
	11.2	Procuração.	
	11.3	Documentos de Prioridade.	
	11.4	Documento de contrato de trabalho.	
X	11.5	Relatório descritivo.	04
X	11.6	Reivindicações.	01
X	11.7	Desenho(s) (se houver). Sugestão de figura a ser publicada com o resumo: nº, _____ por melhor representar a invenção (sujeito à avaliação do INPI).	04
X	11.8	Resumo.	01
	11.9	Listagem de sequências em arquivo eletrônico: _____ nº de CDs ou DVDs (original e cópia).	
	11.10	Código de controle alfanumérico no formato de código de barras referente às listagem de sequências.	
	11.11	Listagem de sequências em formato impresso.	
	11.12	Declaração relativa à Listagem de sequências.	
X	11.13	Outros (especificar) ANEXO 01 (COINVENTORES); DELEGAÇÃO DE PODERES	02

12. Total de folhas anexadas: 13 fls.

13. Declaro, sob as penas da Lei que todas as informações acima prestadas são completas e verdadeiras.

Recife, 29 de fevereiro de 2016.

Local e Data


Assinatura e Carimbo
Sérgio Ribeiro de Aguiar
Diretor Adjunto de Inovação - UFPE
SIAPE: 2568983

1 / 1

ANEXO 1

INVENTORES: Continuação do quadro 6. Inventor(72) do Formulário Código FQ001.

(2) Nome: Dário Pessoa de Ferraz

Qualificação: Matemático

RG: 7.934.496

Órgão/UF: SDS

CPF: 070.420.274-34

Endereço: Rua Tenente Fortuna, nº 335

Bairro/Cidade/UF: Campo Grande – Recife – PE.

CEP: 52.040-260

Telefone: (81) 99954-9954

(3) Nome: Silvia Regina Arruda de Moraes

Qualificação: Doutora em Ciências

RG: 2.268.198

Órgão/UF: SDS

CPF: 431.798.004-53

Endereço: Rua Capitão Rui Lucena, nº 160, apt. 501

Bairro/Cidade/UF: Boa Vista – Recife - PE.

CEP: 50.070-080

Telefone: (81) 99904-8714 / 2126-8554

1/4

**GARRA PARA O ENSAIO MECÂNICO DE MATERIAL BIOLÓGICO
DE ANIMAIS DE PEQUENO PORTE**

01. A presente invenção refere-se a uma peça com duas hastes em acrílico que se unem em sua parte média e uma estrutura central, semelhante a um peão. Estas partes são ultrapassadas transversalmente e longitudinalmente por duas hastes de ferro formando um ângulo de 90° entre si.
02. Um dos principais desafios na realização do ensaio mecânico de tecidos biológicos é o método de pressão utilizado para segurar as amostras nas peças disponíveis, pois a derrapagem é comum. Peças confeccionadas de diferentes formas já foram testadas em pesquisas com garras pneumáticas ou hidráulicas, garras serrilhadas, lixas a prova d'água, entre outras. Uma característica comum dessas garras é a utilização de superfícies rugosas. Entretanto, quando o deslizamento é prevenido, a concentração de estresse pode romper a região pressionada e ocorrer uma ruptura precoce da amostra.
03. Métodos de sustentação são sugeridos para evitar o problema de concentração de estresse: incluindo a sutura, a incorporação, colagem, e métodos de rolamento. Entretanto, nenhum desses métodos é ideal para segurar as amostras.
04. As propriedades mecânicas dos tecidos biológicos são influenciadas por vários fatores, porém muitas dificuldades estão relacionadas a forma de aquisição destas propriedades. Além das características estruturais destes tecidos, outra característica importante da amostra que influencia durante o ensaio mecânico é a área de secção transversa da estrutura.
05. Os tecidos biológicos em sua maioria podem ser suaves, aquosos e de pequenas dimensões, características que dificultam a realização do

2/4

ensaio mecânico. Sendo assim, um dos principais problemas encontrados é a fixação desses materiais para que não haja o deslizamento.

06. No Ensaio Mecânico de tração de estruturas pertencentes ao aparelho locomotor como músculos, tendões, ligamentos, a posição destes no momento do ensaio é importante. A posição de referência para estas estruturas é a posição anatômica. A colocação das amostras nesta posição evitaria o enrolamento das fibras, seja musculares, tendíneas ou ligamentares, que poderiam alterar os resultados obtidos.
07. A invenção possui a função básica de permitir a realização do ensaio mecânico de tecidos biológicos sem ocorrer o deslizamento nem a ruptura precoce da amostra.
08. Esta invenção possui hastes de acrílico ajustáveis que permitem a avaliação de diferentes tecidos biológicos independente das suas dimensões. Além disso, na superfície destas hastes, onde há o contato com a amostra, foi realizado reentrâncias para aumentar o atrito entre eles, evitando o deslizamento.
09. Há um sistema que promove o mecanismo de pinçamento através das hastes de acrílico, de maneira que a amostra fique em posição anatômica, em casos que assim necessitem.
10. Para a confecção da invenção houve preocupação em escolher aqueles com durabilidade, versatilidade e adequado custo/benefício. Nas duas hastes principais para pinçamento o acrílico foi utilizado por ser um material termoplástico rígido, transparente, que não apresenta nenhuma mudança em seu estado, mesmo quando exposto a intempéries e mesmo assim apresenta com alta leveza. A estrutura central é feita de

3/4

alumínio, um material leve e barato, que pode suportar intenso estresse e adversidades climáticas. As outras partes desta invenção foram feitas de aço inoxidável que apresenta resistência à corrosão e à altas temperaturas, além de apresentar ótimo custo/benefício.

11. A seguir, a invenção será descrita em maiores detalhes com o auxílio de exemplos na forma de apresentação em Figuras.
12. Mostra-se:
13. Na figura 1, vista anterior ou posterior da peça que podem ser vizualizados todos os seus componente.
14. Na figura 2, uma vista superior da peça, para enfatizar o mecanismo de rotação da sua peça central.
15. Na figura 3, uma vista inferior da peça, observa-se as superfícies de pinçamento.
16. Na figura 4, funcionamento da peça.
17. As hastes de acrílico A e B estão unidas por uma haste horizontal 1 que as prendem e as estabilizam através de dois parafusos presentes na haste 1. O componente central C em forma de um sino invertido é ultrapassado transversalmente pela haste 2 em seu maior diâmetro. Além disso, a peça C também é ultrapassada longitudinalmente pela haste 3. Esta será enroscada na parte superior da máquina de ensaio mecânico e, por sua vez, faz a união entre o componente central C e a haste horizontal 1. Duas porcas 4.1 (superior) e 4.2 (inferior) enroscadas

4/4

na haste 3, ajudam no posicionamento das hastes de acrílico A e B durante o ensaio.

18. Para que o pinçamento aconteça pelas hastes de acrílico, tem que ocorrer o deslocamento inferior do componente central C pela haste 3. Girando a haste 2 no sentido horário, a peça C é deslocada inferiormente ocasionando uma abertura nas extremidades superiores das hastes A e B, consequentemente aproximação das extremidades inferiores, resultando pinçamento.
19. Na vista inferior da peça, pode-se observar que as extremidades inferiores das hastes A e B possuem superfícies que se unem e estão no mesmo sentido. Estas superfícies estão serrilhadas.
20. No exemplo da figura 3, observa-se uma amostra (tendão do calcâneo) sendo pinçada no momento do ensaio mecânico de tração. Observa-se a posição inferior da peça C, estando esta bem próxima a haste 1, possibilitando a aproximação das hastes A e B.

1/1

REIVINDICAÇÕES

GARRA PARA O ENSAIO MECÂNICO DE MATERIAL BIOLÓGICO DE ANIMAIS DE PEQUENO PORTE

1. Peça para a realização do ensaio mecânico de tração de materiais biológico de animais de pequeno porte, caracterizada por duas hastes de acrílico (A e B) e uma componente central C. Este componente central C gira no sentido horário ou anti-horário na haste 3, a fim de aproximar as extremidades das hastes A e B no momento da apreensão.
2. De acordo com a reivindicação 1, caracterizada por hastes de acrílico onde ocorre o pinçamento da amostra a ser realizada o ensaio mecânico. Nas superfícies destinadas ao pinçamento, reentrâncias foram realizadas a fim de aumentar a superfície de contato com a amostra
3. De acordo com a reivindicação 1, caracterizada por uma peça central C que é deslocada no sentido superior e inferior pela haste 3. E esse deslocamento é responsável pela pressão de pinçamento da estrutura.
4. De acordo com a reivindicação 1, caracterizada pela haste 3 apresenta duas porcas móveis (4.1 e 4.2) que podem direcionar o sentido de posicionamento das hastes de acrílico A e B. Isso se faz pois a porca 4.1 pode limitar a rotação da haste 3.

1/4
FIGURAS

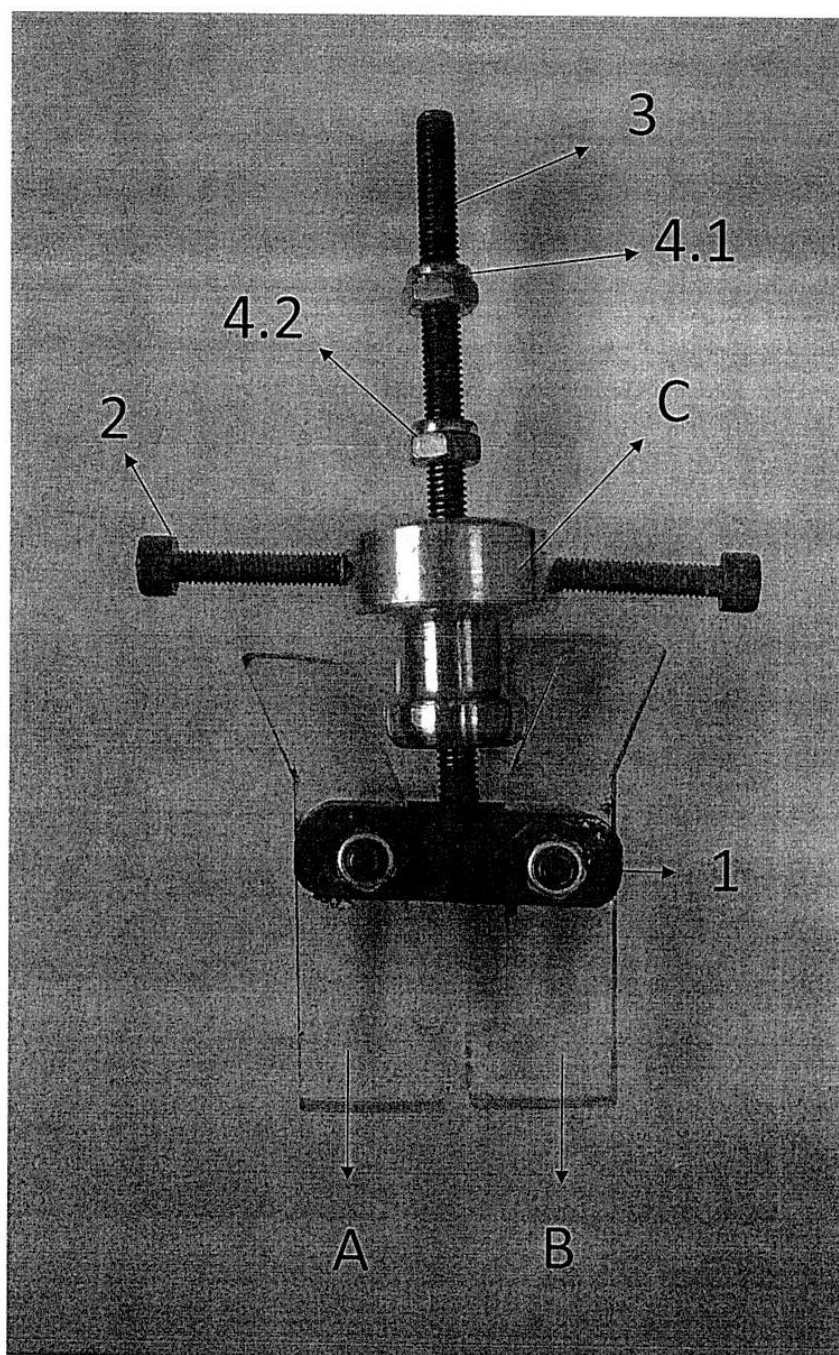


Fig.1

2/4

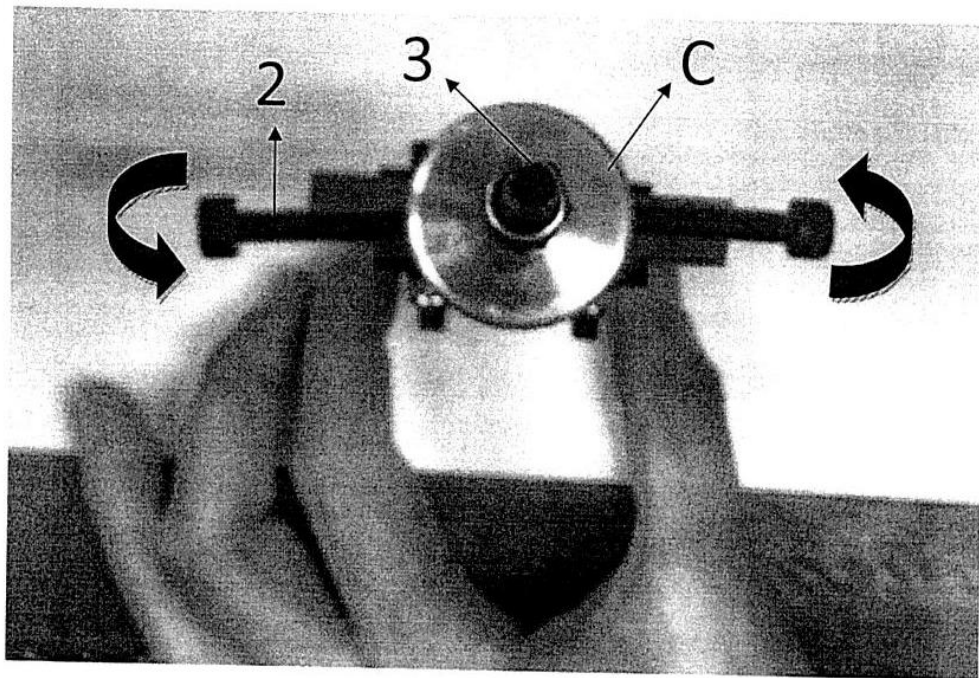


Fig.2

3/4

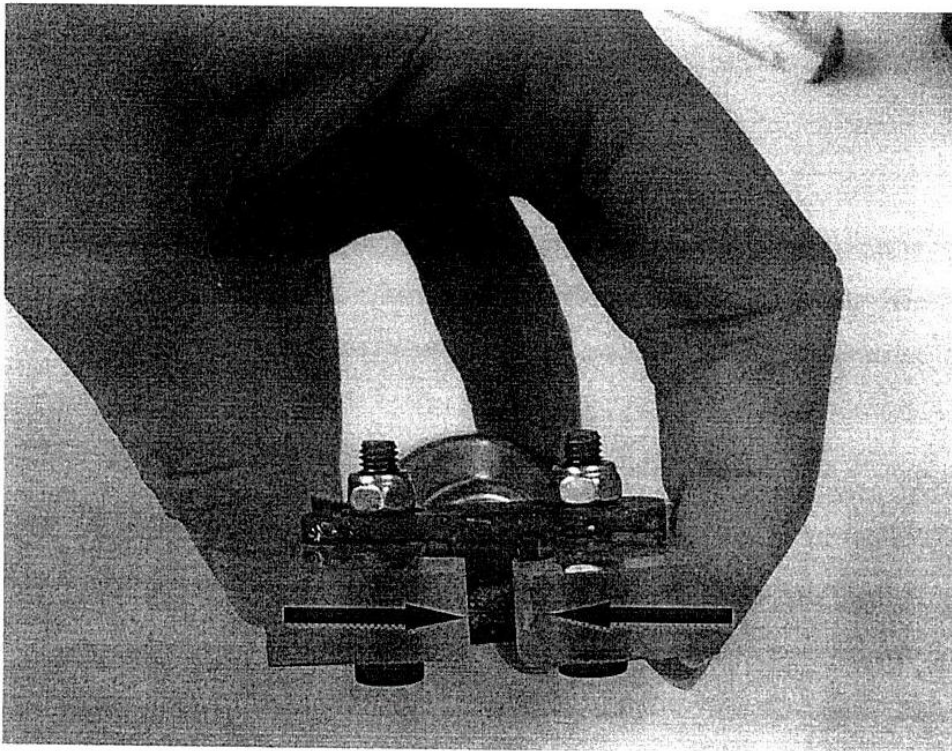


Fig.3

4/4

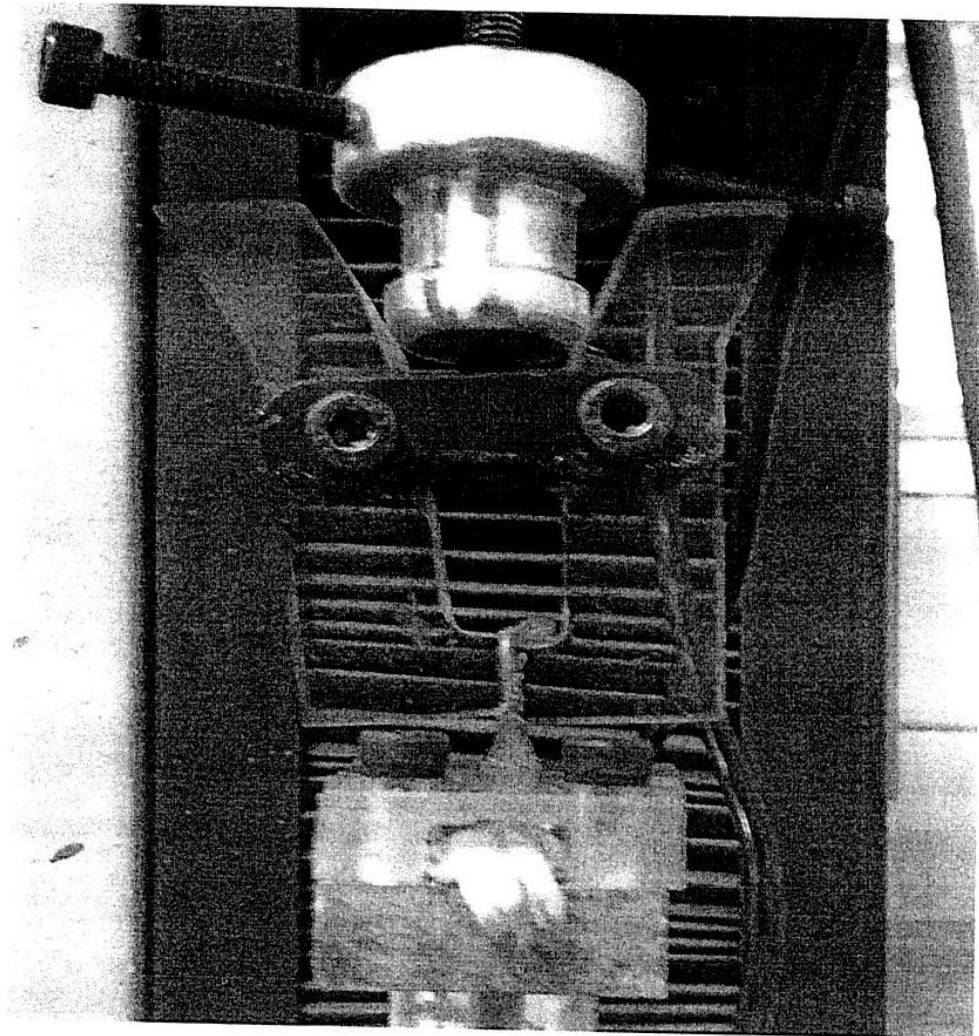


Fig.4

1/1

RESUMO**GARRA PARA O ENSAIO MECÂNICO DE MATERIAL BIOLÓGICO
DE ANIMAIS DE PEQUENO PORTE**

Peça confeccionada com materiais como alumínio, aço carbono e acrílico, projetada para ser um acessório para uma máquina de Ensaio Mecânico de Tração de materiais biológicos de animais de pequeno porte. É composto por duas hastes em acrílico, sendo estas, serrilhadas a fim de aumentar o atrito entre a superfície e a amostra a ser tracionada; além de uma estrutura central, ultrapassada transversalmente e longitudinalmente por duas hastes de ferro formando um ângulo de 90° entre si.

ANEXO A – Comitê de Ética

Universidade Federal de Pernambuco
Centro de Ciências Biológicas

Av. Prof. Nelson Chaves, s/n
50670-420 / Recife - PE - Brasil
fones: (55 81) 2126 8840 | 2126 8351
fax: (55 81) 2126 8350
www.ccb.ufpe.br



Recife, 20 de fevereiro de 2013.

Ofício nº 545/13

Da Comissão de Ética no Uso de Animais (CEUA) da UFPE
Para: **Profª. Silvia Regina Arruda de Moraes**
Departamento de Anatomia
Universidade Federal de Pernambuco
Processo nº 23076.038181/2012-19

Os membros da Comissão de Ética no Uso de Animais do Centro de Ciências Biológicas da Universidade Federal de Pernambuco (CEUA-UFPE) avaliaram seu projeto de pesquisa intitulado, “ **Utilização do biopolímero extraído da cana de açúcar na cicatrização do tendão do calcâneo de ratos associado a exercício de natação com carga,** ”.

Concluimos que os procedimentos descritos para a utilização experimental dos animais encontram-se de acordo com as normas sugeridas pelo Colégio Brasileiro para Experimentação Animal e com as normas internacionais estabelecidas pelo National Institute of Health Guide for Care and Use of Laboratory Animals as quais são adotadas como critérios de avaliação e julgamento pela CEUA-UFPE.

Encontra-se de acordo com as normas vigentes no Brasil, especialmente a Lei 11.794 de 08 de outubro de 2008, que trata da questão do uso de animais para fins científicos e didáticos.

Diante do exposto, emitimos **parecer favorável** aos protocolos experimentais a serem realizados.

Origem dos animais: Biotério do Departamento de Nutrição
Frigorífico; Animais: ratos wistar; Peso: 250g; sexo: machos;
idade: 60 dias; nº total de animas 100 ratos.

Atenciosamente,

 Profª. Maria Teresa Jansen
Presidente do CEEA

CCB: Integrar para desenvolver