

NÍVEIS DE ATIVIDADE FÍSICA ESPONTÂNEA DE RATOS SUBMETIDOS A TERAPIA COM CORTICOIDE DURANTE CICATRIZAÇÃO DE LESÃO DO TENDÃO CALCÂNEO

SPONTANEOUS PHYSICAL ACTIVITY OF RATS SUBMITTED TO CORTICOID THERAPY DURING CICATRIZATION OF CALCANEAL TENDON LESION

ELIAS, Giovanna Blazutti¹; DE CARA, Larissa Miranda¹; NINOMIYA, André Felipe²; REIS, Ivan Gustavo Masselli dos³; KOHN, Luciana Konecny⁴. ¹Graduando do Curso de Biomedicina – Universidade São Francisco; ²Mestre em Medicina pela Universidade São Francisco; ³Doutor em Educação Física pela Unicamp, professor do curso de Biomedicina – Universidade São Francisco; ⁴Doutora em Biologia Celular e Estrutural pela Unicamp, professora do curso de Biomedicina – Universidade São Francisco.

giovanna.blazutti@mail.usf.edu.br

RESUMO. O tendão calcâneo por ser uma estrutura altamente exigida no dia a dia e na prática de exercícios físicos está sujeito a rupturas, essas podem ocorrer em situações em que há uma interrupção abrupta da carga aplicada ao tendão, modificando sua funcionalidade e afetando a movimentação cotidiana dos animais. O processo de reparo da lesão é altamente importante, destacando-se a fase inflamatória, onde podem ser empregadas terapias, como o uso de hidrocortisona (HID), em busca de acelerar o processo de recuperação plena da movimentação pós lesão. Para monitorar esse período é possível estimar a atividade espontânea (AE) de animais mantidos em cativeiro, seus registros podem ser empregados para avaliar a eficácia de terapias durante a recuperação de lesões em tendões. A AE baseia-se nas ações envolvidas na sobrevivência de um animal, como exploração do ambiente, interação com outros animais, fuga de predadores e autolimpeza. Nesse contexto, desenvolveu-se a pesquisa onde ratos machos da linhagem Wistar foram submetidos a avaliação dos níveis de AE após modelo de indução cirúrgica de lesão no tendão calcâneo e tratamento com HID, por meio da técnica de gravimetria. Após a infiltração terapêutica com hidrocortisona, que tem poder anti-inflamatório, nota-se que a queda de AE dos animais foi atenuada, sugerindo que esta é diretamente relacionada ao bem-estar animal, a lesão afeta não apenas padrões morfológicos do tendão, mas também induz a neuropatia, assim a dor e fraqueza.

Palavras-chave: Atividade espontânea. Tendão calcâneo. Lesão. Hidrocortisona.

ABSTRACT. The Achilles tendon is a highly demanded structure in the practice of physical exercises, it is subject to ruptures, which can occur in situations where there is an abrupt interruption of the load applied to the tendon, modifying its functionality, and affecting the daily movement of the animals. The injury repair process is highly important, highlighting the inflammatory phase, where therapies such as the use of hydrocortisone (HYD) can be used to accelerate the process of full recovery of post-injury movement. To monitor this period, it is possible to estimate the spontaneous activity (SPA) of animals kept in captivity, their records can be used to evaluate the effectiveness of therapies during the recovery of tendon injuries. SPA is based on the actions involved in the survival of an animal, such as exploration of the

environment, interaction with other animals, escape from predators and self-cleaning. In this context, male Wistar rats were submitted to the assessment of SPA levels after a model of surgical induction of injury to the Achilles tendon and treatment with HYD, using the gravimetry technique. After therapeutic infiltration with hydrocortisone, which is anti-inflammatory, the fall in the SPA of the animals was attenuated, suggesting that this is directly related to the animal's well-being, the lesion affects not only morphological patterns of the tendon, but it also induces neuropathy, thus pain and weakness.

Keywords: Spontaneous activity. Achilles tendon. Lesion. Hydrocortisone.

INTRODUÇÃO

Tendão calcâneo e o processo de cura

Tendões possuem um arranjo de fibras hierárquico, iniciando pelas fibras de colágeno tipo I, que criam fibrilas, estas por sua vez constituem fibras, que formam fascículos e por último o tendão em si. As fibras de colágeno são consideradas uma unidade fundamental para transmissão de força por todo o tendão, são densamente arranjadas dentro da matriz extracelular (MEC) e orientadas de forma paralela ao eixo osso-músculo. Uma imensidade de moléculas da MEC, incluindo colágeno, elastina, proteoglicanos e glicoproteínas estão envolvidas com a fibrogênese do colágeno tipo I do tendão (NOURISSAT, BERENBAUM, DUPREZ, 2015 apud MIENALTOWSKI, BIRK, 2014, p. 802).

A estrutura do tendão é organizada para suportar até 200% de deformação antes da ruptura, isso graças a elastina, porém, o envelhecimento atrelado a incapacidade de prover boas condições de recuperação, pode modificar essa configuração, promovendo o acúmulo de mucina, fibrina e colágeno tipo III e VII. A força de tensão do tendão curado pode ser de um terço em relação a de um tendão intacto, sendo assim, a qualidade do tecido é altamente dependente do modo como o colágeno se organiza (DORAL et al, 2010; MANSUR et al, 2020).

As lesões teciduais que acompanham a morte celular e/ou destruição da matriz extracelular sofrem um processo de cura que se dá por regeneração ou cicatrização. Na regeneração, o tecido morto é substituído por outro morfofuncionalmente idêntico, entretanto, na cicatrização, um tecido neoformado originado do estroma (conjuntivo ou glia) substitui o tecido perdido (BOGLIOLO, 2016).

O processo inflamatório se divide em agudo e crônico, no caso, a lesão aguda é aquela que ocorre pela primeira vez em determinado músculo, com tempo de evolução inferior às três semanas necessárias para sua perfeita cicatrização. Já na lesão crônica, poderia ser decorrente de lesão aguda, leva à presença de fibrose cicatricial abundante, em consequência da gravidade da lesão, terapêutica inadequada ou mesmo não tratada. (CARAZZATO, 1994)

A inflamação ou a sua resolução, são consideradas necessárias para a cura ideal, sugerindo que uma inflamação prolongada teria efeitos negativos na cicatrização do tendão. Todavia, é necessário avaliar quanto ao uso adequado dos corticoides, pois, embora a inflamação auxilie na remoção das infecções e outros estímulos nocivos, a reação inflamatória e o processo subsequente de reparo podem, contudo, causar danos consideráveis. Portanto, há necessidade de tratamento eficaz e rápido, pois uma inflamação prolongada pode lesar o tecido saudável restante (ROBBINS, COTRAN, KUMAR, 2013).

Uso da gravimetria para mensurar a atividade espontânea

O modelo de experimentação animal, principalmente roedores, é amplamente utilizado na realização de procedimentos invasivos, e métodos que avaliam efeitos de uma terapia em animais sem alterar o ambiente e interferir no comportamento são úteis em estudos fisiológicos. Nesses casos, a avaliação de atividade espontânea (AE) se torna um parâmetro interessante.

A locomoção é característica da vida dos animais, sendo um elemento chave do dia a dia, e para ser caracterizada como AE, deve ser uma atividade necessária para a sobrevivência e homeostase fisiológica. Sendo assim, são pilares desse conceito as ações envolvidas na sobrevivência e gasto energético, estando essas associadas as atividades diárias relacionadas a exploração do ambiente, para busca de alimento e abrigo, interação com outros animais similares ou a fuga de predadores, além da autolimpeza (GARLAND et al, 2011).

Portanto, no contexto laboratorial é importante considerar que cada espécie possui um hábito característico, sendo os roedores animais de hábitos noturnos. O ambiente em que é conduzida a pesquisa deve ser similar ao natural e é essencial que o método a ser utilizado para mensurar a AE, restrinja-se ao mínimo contato humano, condições em que haja baixa quantidade de luz, e temperatura ambiente adequada. Pois alterações nos padrões que simulam o habitat natural dos animais podem estressar e alterar seu comportamento base.

Considerando essa problemática, Biesiaeki et al, (1999), idealizaram a técnica de gravimetria, onde é possível mensurar a AE causando interferências mínimas, o princípio do método é de que as atividades realizadas pelos animais induzem força na plataforma onde o cativeiro está localizado, está pode ser registrada (pelas células de carga) como uma mudança no peso. As células de carga, compõem o sistema sendo pequenos dispositivos que deformam se comprimidos ou tracionados, porém após a retirada da pressão voltam a seu estado original. Essa capacidade pode detectar diferenças na atividade de animais dormindo e caminhando e representa uma balança, onde a variação dos registros de peso captados (causados pela movimentação dos animais) possui uma razão diretamente proporcional onde a maior movimentação é relativa a uma maior variação no registro dos valores da célula de carga posicionada abaixo da gaiola. (REIS, 2021).

Hidro cortisona

A hidro cortisona se caracteriza por ser um hormônio sintético proveniente da família dos glicocorticoides, possuindo estrutura similar à do hormônio cortisol. O mecanismo de ação dos glicocorticoides é múltiplo, altamente complexo e não completamente entendido. Uma via importante envolve a ativação dos receptores específicos para glicocorticoides, que implica na alteração de transcrição de genes e promove a expressão de genes anti-inflamatórios, além de atuarem na inibição do processo de marginação e consequente apoptose de neutrófilos (DEAN et al., 2014; CZOCK et al, 2005).

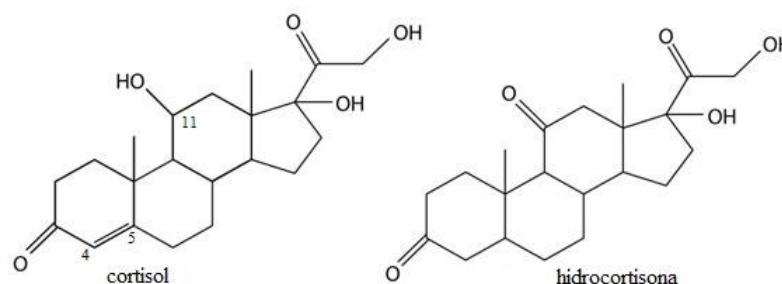


Figura 1 – Comparação entre a estrutura do cortisol e hidrocortisona. Há similaridade estrutural entre o hormônio cortisol e hidrocortisona, a hidrocortisona se distingue pela troca do grupo hidroxila presente no carbono 11 por ligação dupla com oxigênio e a perda da ligação dupla entre o carbono 4 e 5. (Fonte: próprio autor).

O perfil lipofílico dos glicocorticoides contribui para sua facilidade em atravessar a membrana celular, onde no caso da hidrocortisona, ao se ligar a receptores específicos gera bloqueio do seu sítio e recrutamento de fatores de transcrição promotores de genes que inibem a síntese de citocinas e codificam produtos anti-inflamatórios (CÂMARA et al, 2021). Essa ligação também inibe as enzimas que induzem o processo de inflamação e recrutam células inflamatórias. Devido a este fator, a hidrocortisona tem seu processo de ação classificada como curta, pois suprimem o ACTH (hormônio adrenocorticotrófica) em até 12 horas (NASCIMENTO; FERREIRA, 2022).

No contexto da lesão tendinosa, os anti-inflamatórios podem ter efeitos diferentes dependendo de quando são administrados. A inibição da inflamação com anti-inflamatórios não esteroidais durante a fase inflamatória inicial têm um efeito prejudicial no reparo da lesão (HAMMERMAN et al., 2015; VIRCHENKO; SKOGLUND; ASPENBERG, 2004). Cada fase inflamatória está associada aos estágios de recuperação após rotura cirúrgica do tendão calcâneo de ratos, onde há predominância da fase inflamatória a partir no 3º dia, da fase proliferativa entre o 8º e 14º dia e da fase de remodelação no 21º dia. Após esse período, a formação óssea endocondral pode ocorrer durante os estágios tardios de remodelação. O calo do tendão tende diminuir a partir do 14º dia, sugerindo que alguns dos genes regulados positivamente podem estar envolvidos na melhoria da flexibilidade do tecido, em vez de tornar a matriz mais forte e rígida (ELIASSON et al, 2009).

O uso de corticosteroides em lesão de tendão é bastante relatado na literatura, porém existe uma controvérsia sobre sua efetividade na cicatrização da lesão. Onde há efeito deletério no tendão através da injeção de corticoide local, devido a supressão da síntese de colágeno e a proliferação de fibroblastos (FRANZ, 2007; GUO; DIPIETRO, 2010) e retardo da cicatrização da lesão, causando degeneração e prejudicando as propriedades biomecânicas (MUTLU et al., 2015; ABE et al., 2012).

Nesse contexto, buscamos elucidar dúvidas relacionadas a contradição entre os estudos sobre a cicatrização do tendão e terapias empregadas no tratamento. Propondo a avaliação de atividade física espontânea de ratos machos da linhagem Wistar submetidos a terapia com HID durante a recuperação da lesão induzida do tendão calcâneo. Utilizando esse método para mensurar a AE, é possível traçar o padrão de comportamento do animal em condições saudáveis, assim alterações nesse padrão provenientes da lesão, como também a interferência no processo de inflamação causada pela infiltração terapêutica torna possível esclarecer se o uso de hidrocortisona torna o processo de reparo tecidual um estágio com menos consequências a qualidade de vida do paciente.

METODOLOGIA

Todos os procedimentos previstos foram previamente submetidos e aprovado pelo Comitê de Ética na Utilização de Animais da Universidade São Francisco, protocolo nº V2 005.05.2021 os procedimentos relacionados a separação de grupos, indução da lesão, tratamento e eutanásia dos animais utilizados na pesquisa.

Os animais foram divididos em grupos de acordo com a intervenção a ser analisada, em cada viveiro havia 4 roedores, sendo a separação realizada da seguinte forma:

Tabela 1 – Divisão dos grupos experimentais.

Grupos	Procedimento empregado
Grupo Controle (CTL)	Não sofreram intervenção
Grupo Lesão (LES)	Sofreram apenas intervenção cirúrgica de rotura do tendão
Grupo Hidrocortisona (HID)	Receberam apenas a infiltração de hidrocortisona
Grupo Lesão + Hidrocortisona (LES + HID)	Sofreram intervenção cirúrgica e infiltração de hidrocortisona

Fonte: próprio autor.

Os roedores chegaram ao biotério com 28 dias de idade e permaneceram em adaptação por 30 dias, nesse período a AE já era mensurada. A partir de 60 dias de vida foram iniciadas as intervenções. Durante todo o período os animais tinham acesso a alimentação e água em livre demanda.

Procedimento cirúrgico

Para a anestesia, os ratos foram anestesiados antes das cirurgias. Foi utilizada uma mistura de Cetamina (30,25 mg/kg), Xilazina (6,25 mg/kg) e Acepromazina (1,25 mg/kg), que foi administrada por via intraperitoneal, (WELBERG et al., 2006) possibilitando uma anestesia com duração de 30 a 40 minutos. Após as anestésias, cada perna a ser operada foi limpa com uma lâmina e solução higienizante. Os procedimentos cirúrgicos só foram iniciados após a total perda de consciência de cada animal, que foi testada encostando-se a lâmina do bisturi na pele glabra (reflexos). Se não houve resposta motora do animal, entendeu-se que o mesmo está preparado para ser operado.

Após o preparo, a ruptura do tendão calcâneo seguiu o modelo proposto por Akamatsu et al (2014). O tendão calcâneo foi seccionado transversalmente a uma distância de 4 a 5 mm proximais à inserção do tendão calcâneo, e 5 mm lateralmente ao tendão, com a utilização de uma lâmina cirúrgica nº 11. Após o para-tendão e o tendão serem expostos e seccionados, foi realizada uma sutura com ponto simples utilizando fio nylon 4.0 (não absorvível), finalizando com aplicação de antibiótico (Vancomicina).

Tratamento e eutanásia

Para o tratamento da lesão, as patas traseiras esquerdas dos ratos foram esterilizadas por antisepsia com uma solução de clorexidina alcoólico (Riohex 0,5% Digliconato de Clorexidina 0,5%). A dose de corticoide foi determinada em 0,4 mg/kg (1 mg de prednisona, 4 mg de hidrocortisona) (AOYAGI et al., 2019). A injeção percutânea localizava-se a cerca de 4 a 5 centímetros de distância da inserção do tendão calcâneo (grupos Hid e LES + Hid), no décimo segundo dia após as cirurgias. A dose foi determinada em 0,1 mL (0,7 mg) (AKAMATSU et al., 2014; ARSLAN et al., 2020).

Os animais foram eutanasiados conforme o proposto por Laferriere e Pang (2020), por meio de uma injeção intraperitoneal de pentobarbital a uma concentração de 10%, em dose única de 10 mL para cada rato.

Análise da atividade espontânea

Foram 4 grupos analisados (controle; rotura do tendão calcâneo; tratados com hidrocortisona e lesão mais rotura do tendão calcâneo), a avaliação da eficácia do tratamento foi conduzida durante duas fases da pesquisa, na primeira fase os animais que foram submetidos a cirurgia passaram 12 dias consecutivos em recuperação onde a AE foi monitorada, a infiltração com hidrocortisona ocorreu após esse período no 12º dia.

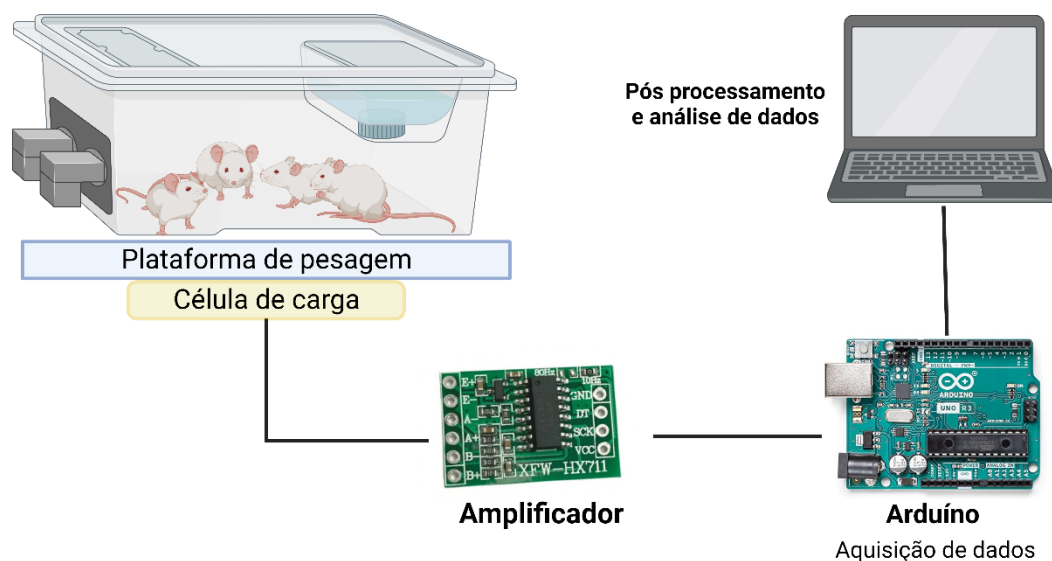


Figura 2 – Esquema do sistema de gravimetria. Ilustração do sistema de pesagem utilizado para determinação da atividade espontânea dos roedores em cativeiro. (Fonte: Próprio autor)

Uma plataforma de suporte estava posicionada sob a gaiola dos animais, uma célula de carga posicionada abaixo da plataforma registrou os dados em uma frequência de 20 Hz, os dados eram amplificados e enviados ao Arduíno, previamente a análise dos dados, os sinais foram refinados, para remover ruídos. A AE dos animais foi determinada pelo pós-processamento dos sinais de gravimetria utilizando uma aplicação desenvolvida especificamente em ambiente Jupyter Notebook utilizando linguagem Python 3. Os sinais brutos foram avaliados para obtenção da diferença entre valores sequenciais e esses foram

processados por uma função modular para conversão de valores negativos em positivos. O sinal processado resultante foi utilizado no domínio do tempo na determinação da AE por meio do cálculo do valor médio. Ainda, os valores foram relativizados pela massa total dos animais presentes na respectiva gaiola.

A estatística dos dados foi gerada pelo método Análise de Variância (ANOVA) *two-way*, e teste post-hoc de Newman-Keuls ($p < 0,05$) para verificar as diferenças intragrupos, sendo as variantes empregadas a presença de lesão induzida nos animais e a terapia com hidrocortisona.

RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os valores de atividade espontânea foram obtidos no período noturno, sendo considerado o horário das 18pm até 6am, esse é o período adequado a análise por serem animais de hábito noturno, sendo assim, esse é momento de maior atividade dos roedores.

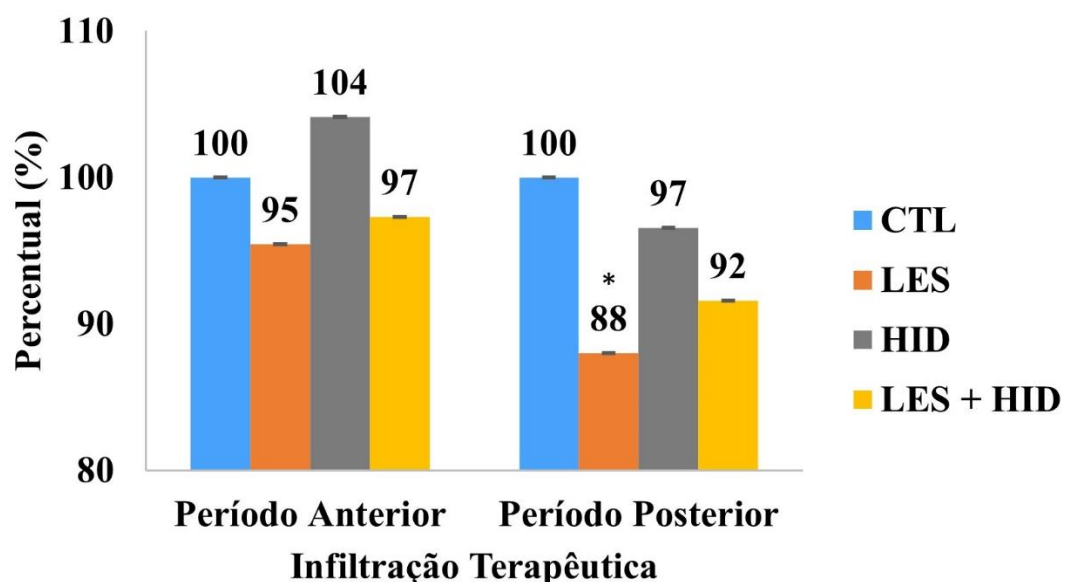


Figura 3 – Atividade espontânea noturna (18pm – 6am). Valores de atividade espontânea dos grupos de estudo, apresentados em valor percentual do grupo CTL. Período de análise da terapia empregada dividido em duas fases, previa a infiltração e posterior. **CTL**: grupos controle; **LES**: grupo lesão; **HID**: grupo unicamente tratado com hidrocortisona; **LES + HID**: grupo lesão induzida mais tratamento. * Diferente do grupo controle. (Fonte: Próprio autor).

No período anterior à infiltração terapêutica não há diferença estatística entre os grupos. A segunda fase foi realizada após a aplicação da terapia com hidrocortisona, onde por meio dos valores de AE nota-se que a hidrocortisona foi capaz de atenuar os efeitos deletérios a movimentação dos roedores, causada pela lesão.

É possível que a menor AE observada no grupo LES em comparação com o grupo CTL seja causada pela perda da configuração original do tendão, e consequentemente diminuição do volume muscular com infiltração celular e gordurosa, acúmulo de tecido fibrótico, declínio das células-tronco musculares e desorganização das fibras colágenas que podem acompanhar a perda da massa muscular (GIL-MELGOSA et al, 2022).

Ou seja, sugere-se que AE está ligada diretamente às condições de saúde dos animais, a lesão afeta não apenas padrões morfológicos do tendão, mas também induz a neuropatia, assim a dor e fraqueza causadas podem ser atenuadas pelo uso de fármacos que inibem a inflamação, diminuindo a vasodilatação/permeabilidade dos vasos e transcrição de genes promotores de citocinas pró-inflamatórias, como algumas Interleucinas (IL-1, IL-2, IL-6, IL-8), fator de necrose tumoral e fator estimulador de colônias de granulócitos e macrófagos, sendo esses efeitos causados pela ação da hidrocortisona (CÂMARA et al, 2021).

As possíveis alterações histológicas e moleculares na tendinopatia são, sem dúvida, consistentes com falha mecânica do tendão e uma resposta de cicatrização falha persistente. Portanto a terapia se apresenta sendo importante no alívio da dor a curto prazo, esses resultados fornecem motivos plausíveis pelos quais utilizar a hidrocortisona visando trazer qualidade de vida no processo de cura, porém é importante considerar o uso de terapias conjuntas, as quais trabalhem também a recuperação histológica e não apenas o tratamento da tendinopatia.

CONCLUSÃO

O rompimento unilateral do tendão reduziu a AE no grupo LES, perfil não evidenciado no grupo LES + HID. Portanto a infiltração com hidrocortisona pode ter sido responsável por atenuar a queda da atividade espontânea dos animais, devido à sua ação anti-inflamatória, que inibe genes presentes no processo envolvido na cascata inflamatória. Com inflamação reduzida, sinais como dor e perda de função no tendão afetado são reduzidos, tornando possível a retomada das atividades diárias.

REFERÊNCIAS

- ABATE, M., PULCINI D., DI IORIO A., SCHIAVONE C. **Viscosupplementation with intra-articular hyaluronic acid for treatment of osteoarthritis in the elderly**. Current pharmaceutical design, v. 16, n. 6, 631–640 p., 2010.
- ABE, H., ITOI, E., YAMAMOTO, N., MINAGAWA, H., TOMIOKA, T., KIJIMA, H., SHIMADA, Y. **Healing processes of the glenoid labral lesion in a rabbit model of shoulder dislocation**. Tohoku Journal of Experimental Medicine, 228, 103–108 p., 2012.
- AKAMATSU, F. E., SALEH, S. O., TEODORO, W. R., DA SILVA, A. Q., MARTINEZ, C. A. R., DUARTE, R. J., DE ANDRADE, M. F. C., JACOMO, A. L. **Experimental model of Achilles tendon injury in rats**. Acta Cirúrgica Brasileira, v. 29, n. 7, 417–422 p., 2014.
- AOYAGI, T., SATO, Y., TOYAMA, M., OSHIMA, K., KAWAKAMI, K., KAKU, M. **Etoposide and Corticosteroid Combination Therapy Improves Acute Respiratory Distress Syndrome in Mice**. Shock, v. 52, n. 1, 83–91 p., 2019.
- ARSLAN, İ., YÜCEL, I., ÖZTÜRK, T. B., KARAHAN, N., ORAK, M. M., MIDI, A. **The effects of corticosteroid injection in the healthy and damaged achilles tendon model: Histopathological and biomechanical experimental study in rats**. Turk Patoloji Dergisi, 36, 39–47 p., 2020.

BIESIADECKI, B. J., BRAND, P. H., KOCH, L. G., BRITTON, S. L. **A gravimetric method for the measurement of total spontaneous activity in rats.** Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 65-69 p., 1999.

BOGLIOLO G. B. **Patologia Geral.** 9ª ed. Rio de Janeiro: Guanabara-Koogan, 2016. 250p.

CARAZZATO, J. G. **Lesões musculotendíneas e seu tratamento.** Revista Brasileira de Ortopedia, v.29, n.10, 1994.

CÂMARA, F. A., MELO, H. H. M. A., MOURA, J. T. S., SANTOS, M. C., RAMO, T. M., SANTOS, A. C. **Correlation of the use of glucocorticoids with neuropsychic and metabolic side effects.** Brazilian Journal of Health Review, Curitiba, v.4, n.1, 1811-1828 p. 2021.

CZOCK D, KELLER F, RASCHE F.M., HAUSSLER U: **Pharmacokinetics and pharmacodynamics of systemically administered glucocorticoids.** Clin Pharmacokinet. 61-98 p. 2005.

DEAN, B. J. F., LOSTIS, E., OAKLEY, T., ROMBACH, I., MORREY, M. E., & CARR, A. J. **The risks and benefits of glucocorticoid treatment for tendinopathy: A systematic review of the effects of local glucocorticoid on tendon.** In Seminars in Arthritis and Rheumatism. Vol. 43, Issue 4, 570–576 p., 2014.

DE MIGUEL, G. C., ABRANTES, A. M., LARANJO, M., GRIZOTTO, A. Y. K., CAMPOREZE, B., PEREIRA, J. A., BRITES, G., SERRA, A., PINEIRO, M., ROCHA-GONSALVES, A., BOTELHO, M. F., PRIOLLI, D. G. **A new therapeutic proposal for inoperable osteosarcoma: Photodynamic therapy.** Photodiagnosis and Photodynamic Therapy, v. 21, 79–85 p., 2018.

DORAL, M. N., ALAM, M., BOZKURT, M., TURHAN, E., ATAY, O. A., DÖNMEZ, G., MAFFULLI, N. **Functional anatomy of the Achilles tendon.** Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 638-643 p., 2010.

ELIASSON, P., ANDERSSON, T., ASPENBERG, P. **Rat Achilles tendon healing: mechanical loading and gene expression.** J Appl Physiol, 107, 399–407 p., 2009.

FRANZ, M. G. **Optimizing healing of the acute wound by minimizing complications.** Curr Prob Surg, v. 44, 679–766 p., 2007.

GARLAND JR, T., SCHUTZ, H., CHAPPELL, M. A., KEENEY, B. K., MEEK, T. H., COPES, L. E., ACOSTA, W., DRENOWATZ, C., MACIEL, R. C., VAN DIJK, G., KOTZ, C. M., EISENMANN, J. C. **The biological control of voluntary exercise, spontaneous physical activity and daily energy expenditure in relation to obesity: human and rodent perspectives.** J. Exp. Biol. 214:206–229 p., 2011.

GIL-MELGOSA, L., GRASA, J., URBIOLA, A., LLOMBART, R., RUIZ, M. S., MONTIEL, V., EDERRA, C., CALVO, B., ARIZ, M., RIPALDA-CEMBORAIN, P., PROSPER, F., ORTIZ-DE-SOLÓRZANO, C., PONS-VILLANUEVA, J., & RUIZ, A. P. **Muscular and**

tendon degeneration after achilles rupture: New insights into future repair strategies. Biomedicines, 10 p., 2022.

GUO, S.; DIPIETRO, L. A. **Factors Affecting Wound Healing:** Journal of Dental Research, v. 89, n. 3, 219–229 p., 2010.

HAMMERMAN, M., BLOMGRAN, P., RAMSTEDT, S., ASPENBERG, P. **COX-2 inhibition impairs mechanical stimulation of early tendon healing in rats by reducing the response to microdamage.** Journal of applied physiology, v. 119, n. 5, 534–540 P., 2015.

LAFERRIERE, C. A.; PANG, D. S. **Review of Intraperitoneal Injection of Sodium Pentobarbital as a Method of Euthanasia in Laboratory Rodents.** Journal of the American Association for Laboratory Animal Science: JAALAS, v. 59, n. 3, 254–263 p., 2020.

MAFFULLI N., BARRASS. V, EWEN S.W.B. **Light microscopic histology of achilles tendon ruptures. A comparison with unruptured tendons.** Am J Sports Med, 857-863 p, 2000.

MANSUR, N.S.B., FONSECA, L. F., MATSUNAGA, F. T., BAUMFELD, D. S., NERY, C. A. D. S., TAMAOKI, M. J. S. **Achilles Tendon Lesions – Part 1: Tendinopathies.** Revista Brasileira de Ortopedia, v. 55, n. 6, 2020.

MIENALTOWSKI, M. J., BIRK, D. E. **Structure, Physiology, and Biochemistry of Collagens.** Progress in Heritable Soft Connective Tissue Diseases, Advances in Experimental Medicine and Biology. Springer. 5–29 p., 2014.

MUTLU, E. K., CELIK, D., KILIÇOĞLU, Ö., OZDINCER, A. R., NILSSON-HELANDER, K. **The Turkish version of the Achilles tendon Total Rupture Score: cross-cultural adaptation, reliability and validity.** Knee Surgery, Sports Traumatology, Arthroscopy, 23, 2427–2432 p., 2015.

NASCIMENTO, S. S. A., FERREIRA, T. V. **Corticoids and their influence on change in blood pressure.** Revista Saúde dos Vales. 2022.

NOURISSAT, G., BERENBAUM, F., DUPREZ, D. **Tendon injury: From biology to tendon repair.** In Nature Reviews Rheumatology. Nature Publishing Group. Vol. 11, Issue 4, 223–233 p., 2015.

REIS, Ivan Gustavo Masselli dos; **Dispositivo para monitoramento da atividade espontânea de roedores em cativeiro.** São Paulo: Campinas, 2021.

ROBBINS, S. L.; COTRAN R. S.; KUMAR, V. **Robbins patologia básica.** 9ª ed. Rio de Janeiro: Elsevier, 29-32 p., 2013.

SCARIOT, P. P. M., MANCHADO-GOBATTO, F. B., TORSONI, A. S., REIS, I. G. M., BECK, W. R., & GOBATTO, C. A. **Continuous aerobic training in individualized intensity**



<http://ensaios.usf.edu.br>

avoids spontaneous physical activity decline and improves MCT1 expression in oxidative muscle of swimming rats. *Frontiers in Physiology*. 2016.

SCARIOT, P. P. M., MANCHADO-GOBATTO, F. B., PROLLA, T. A., REIS, I. G. M., & GOBATTO, C. A. **Housing conditions modulate spontaneous physical activity, feeding behavior, aerobic running capacity and adiposity in C57BL/6J mice.** *Hormones and Behavior*. 115 p., 2019.

VIRCHENKO, O.; SKOGLUND, B.; ASPENBERG, P. **Parecoxib impairs early tendon repair but improves later remodeling.** *The American journal of sports medicine*, v. 32, n. 7, 1743–1747 p., 2004.

WELBERG L.A., KINKEAD B., THRIVIKRAMAN K., HUERKAMP M.J., NEMEROFF C.B., PLOTSKY P.M. **Ketamine-xylazine-acepromazine anesthesia and postoperative recovery in rats.** *Journal of the American Association for Laboratory Animal Science*. v. 45, n. 2, 13-20 p., 2006.

WREN T.A., YERBY S.A., BEAUPRÉ G.S., CARTER D.R. **Mechanical properties of the human achilles tendon.** *Clin Biomech*. Bristol, Avon. 245-51 p., 2001.