



UNIVERSIDADE DE BRASÍLIA-UnB
FACULDADE DE CEILÂNDIA-FCE
CURSO DE FISIOTERAPIA

VITOR GOMES DA SILVA LIMA

CARACTERÍSTICAS BIOMECÂNICAS DO
TENDÃO CALCÂNEO DE RATOS, APÓS
LESÃO MUSCULAR INDUZIDA

BRASÍLIA
2018

VITOR GOMES DA SILVA LIMA

CARACTERÍSTICAS BIOMECÂNICAS DO
TENDÃO CALCÂNEO DE RATOS, APÓS
LESÃO MUSCULAR INDUZIDA

Trabalho de Conclusão de Curso apresentado à
Universidade de Brasília – UnB – Faculdade de
Ceilândia como requisito parcial para obtenção do
título de bacharel em Fisioterapia.

Orientador (a): Prof.^a Dr.^a Rita de Cássia Marqueti
Durigan

BRASÍLIA
2018

VITOR GOMES DA SILVA LIMA

CARACTERÍSTICAS BIOMECÂNICAS DO TENDÃO
CALCÂNEO DE RATOS, APÓS LESÃO
MUSCULAR INDUZIDA

Brasília, 05/12/2018

COMISSÃO EXAMINADORA

Prof.^a Dr.^a. Carla Tatiana Mota Anflor
Faculdade do Gama - Universidade de Brasília-UnB
Presidente

Prof.^a Dr.^a. Aline Araújo do Carmo
Faculdade de Ceilândia - Universidade de Brasília-UnB

Prof.^a Dr.^a. Gracielle Vieira Ramos
Universidade Paulista - UNIP - Campus Brasília

Dedicatória

Este trabalho é dedicado primeiramente a Deus, depois aos meus pais, meus familiares e amigos que de alguma forma me ajudaram a ao decorrer da minha vida.

AGRADECIMENTOS

Agradeço primeiramente a Deus, por ter me dado a vida, por ter me dado meus pais e irmão, meus amigos, que nas horas mais difíceis se mostraram verdadeiros e pela oportunidade de ingressar na Universidade de Brasília.

Aos meus pais, Edson e Marlei, e ao meu irmão Edinho, por sempre me amar e sempre me ajudar quando era necessário, não sei o que seria da minha vida sem meus pais e meu irmão.

Aos meus amigos que quando eu mais precisei, se tornaram mais que amigos e sim verdadeiros irmãos.

À minha orientadora professora Rita Marqueti por todo o apoio e ensinamentos, por ter acreditado que eu conseguiria realizar esse trabalho.

Ao Grupo de Pesquisa em Plasticidade Musculotendínea (GPlasT) pela oportunidade e pelos conhecimentos adquiridos.

À professora Carla Tatiana e ao seu grupo de pesquisa da Faculdade do Gama por terem me ajudado a concluir esse trabalho, se não fosse pelo apoio e dedicação de vocês esse trabalho seria muito mais difícil.

Ao doutorando Fabrício Barin que me deu a oportunidade de fazer parte do seu doutorado.

Às minha melhores amigas Tatiana Lima, Thais Fernanda e Geovanna Pereira que sempre me apoiaram, pelas risadas, pelos conselhos e pela alegria nos momentos mais difíceis.

Aos meus líderes e professores da igreja que sempre me ensinaram a obedecer e amar a Deus acima de todas as coisas.

Aos professores, colegas e supervisores de estágio que de alguma forma me ensinaram a entender qual o significado de ser um bom fisioterapeuta.

À Fundação de Apoio à Pesquisa do Distrito Federal (FAPDF) pelo apoio financeiro concedido no programa de iniciação científica (edital 2017-2018).

Epígrafe

“Mas, buscai primeiro o reino de Deus, e a sua justiça, e todas estas coisas vos serão acrescentadas. Portanto, não se preocupem com o amanhã, pois o amanhã se preocupará consigo mesmo. Basta a cada dia o seu próprio mal”.

Mateus 6:33 e 34 (NVI)

RESUMO

Lima, Vitor Gomes da Silva. Características biomecânicas do Tendão Calcâneo de ratos, após lesão muscular induzida. 2018. 35f. Monografia (Graduação) - Universidade de Brasília, Graduação em Fisioterapia, Faculdade de Ceilândia. Brasília, 2018.

Introdução: A principal função do tendão é a transmissão de forças entre músculos e ossos. Devido a sua composição celular e associada a especificidade da sua matriz extracelular, esse tecido é capaz de ser levemente deformável, sem que ocorra lesões. **Objetivo:** O presente trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos da lesão muscular nas propriedades biomecânicas do Tendão Calcâneo de ratos 3, 14 e 28 dias após a lesão. **Metodologia:** Foram utilizados 24 ratos *Wistar*, divididos aleatoriamente nos 4 grupos (n=6 por grupo). Os ratos foram mantidos no biotério central da Faculdade Católica de Brasília. A lesão muscular foi realizado por meio de criolesão no ventre lateral e medial do músculo gastrocnêmio (GA). Os ratos foram então eutanasiados e a pata traseira lesionada foi removida para realizar o teste biomecânico. Após os testes biomecânicos, os seguintes parâmetros foram analisados: força máxima (A), tensão (B), deformação (C), módulo de elasticidade (D), energia para a ruptura (E). **Resultados:** O grupo 28D obteve diferença significativa nos parâmetros A, B, D e E, em relação ao grupo controle, o grupo 14D nos parâmetros C e E, e o grupo 3D apenas no parâmetro C. **Conclusão:** Uma lesão no músculo gastrocnêmio é capaz de afetar as características biomecânicas do Tendão Calcâneo, sugerindo que o tendão será mais susceptível a lesões nas primeiras duas semanas de lesão muscular.

Palavras-chave: Lesão muscular, Biomecânica, Tendão Calcâneo.

ABSTRACT

Lima, Vitor Gomes da Silva. Biomechanical characteristics of the calcaneus tendon of rats after induced muscle injury. 2018. 35f. Monograph (Graduation) - University of Brasilia, undergraduate course of Physicaltherapy, Faculty of Ceilândia. Brasília, 2018.

Introduction: The main function of tendon is the transmission forces between muscles and bones. Because of its cellular composition and extracellular matrix characteristic, this tissue is capable of being slightly deformable, without injury. **Purpose:** This study aims to evaluate the effects of skeletal muscle injury on the biomechanical properties of the Calcaneus tendon in rats after 3, 14 and 28 days of muscle injury. **Methods:** Twenty-four Wistar rats were randomly divided into four groups, each group containing 6 rats. The rats were kept in the central of animals at Catholic University of Brasilia. The muscle injury was performed through cryolesion in in the medial e lateral belly of the gastrocnemius muscle. The rats were then euthanized and the injured back paw was removed for the biomechanical test. After the biomechanical tests, the following parameters were analyzed: maximum load (A), maximum strain (B), maximum stress (C), elastic modulus (D), energy to failure (E). **Results:** The 28D group had a significant difference in the parameters A, B, D and E, in relation to the control group, the 14D group in the parameters C and E, and the 3D group, only, in the parameter C. **Conclusion:** A lesion in the gastrocnemius muscle is capable of affecting the biomechanical characteristics of the Achilles tendon, suggesting that the tendon would be more susceptible of injured in the first two weeks of muscle injury.

Keywords: Muscle lesion, Biomechanical, Calcaneus tendon.

SUMÁRIO

1-INTRODUÇÃO.....	12
1.1 -ORGANIZAÇÃO MORFOFUNCIONAL DO TENDÃO.....	12
1.2 -ORGANIZAÇÃO MORFOFUNCIONAL DO MÚSCULO ESQUELÉTICO.	15
2- OBJETIVOS	17
3-MATERIAIS E MÉTODOS	18
3.1- AMOSTRA	18
3.2-LESÃO MUSCULAR	19
3.3- EUTANÁSIA E RETIRADA DOS TENDÕES	19
3.4- TESTES BIOMECÂNICOS	19
3.5- ANÁLISE ESTATÍSTICA	21
4-RESULTADOS.....	21
5-DISCUSSÃO	25
6- CONCLUSÃO	28
7-REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS	29
8-ANEXOS	33
ANEXO A – NORMAS DA REVISTA CIENTÍFICA.....	33
ANEXO B- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA.....	36

LISTA DE ABREVIATURAS

MEC – Matriz Extracelular

g - Gramas

UCB – Universidade Católica de Brasília

GC – Grupo Sem Lesão

3D – Grupo Lesão 3 Dias

14D – Grupo Lesão 14 Dias

28D – Grupo Lesão 28 Dias

GA – Músculos Gastrocnêmios

TC – Tendão Calcâneo

CSA – Área de Secção Transversa

mg – Miligrama

Kg- Quilograma

cm – Centímetro

mm – Milímetro

min- Minuto

N – Newton

KN - Quilonewton

MPa - Megapascal

LISTA DE TABELAS E FIGURAS

Figura 1 - Organização tendínea das fibrilas de colágeno até a formação do tendão (KANNUS 2000).

Figura 2 - Gráfico da curva Tensão x Deformação do tecido tendíneo (KELC 2013)

Gráfico 1 - Comparação da Área de Secção Transversa (CSA) dos grupos. a = diferença significativa ($p < 0,05$) entre a coluna do grupo em questão e o grupo controle. b = diferença significativa ($p < 0,05$) entre a coluna do grupo em questão e o grupo 3D. c = diferença significativa ($p < 0,05$) entre a coluna do grupo em questão e o grupo 14D.

Tabela 1 - Média e Desvio Padrão dos parâmetros analisados dos grupos. a = diferença significativa ($p < 0,05$) entre o valor do grupo em questão e o grupo controle. b = diferença significativa ($p < 0,05$) entre o valor do grupo em questão e o grupo 3D. c = diferença significativa ($p < 0,05$) entre o valor do grupo em questão e o grupo 14D.

Figura 3 - Modelo do teste biomecânico.

Gráfico 2 - Comparação da Força máxima (N) entre os grupos. Gráfico 3 - Comparação da Tensão Máxima (MPa) entre os grupos. Gráfico 4: Comparação da Deformação Máxima (mm/mm) entre os grupos. Gráfico 5 - Comparação do Módulo de Elasticidade (MPa) entre os grupos. Gráfico 6 – Comparação da Energia para Ruptura (N/mm) entre os grupos. a = diferença significativa ($p < 0,05$) entre a coluna do grupo em questão e o grupo controle. b = diferença significativa ($p < 0,05$) entre a coluna do grupo em questão e o grupo 3D. c = diferença significativa ($p < 0,05$) entre a coluna do grupo em questão e o grupo 14D.

1- INTRODUÇÃO

1.1- Organização morfofuncional do tendão:

O tendão é um tecido biológico, do tipo conjuntivo, composto principalmente de fibroblastos (95%), células responsáveis pela formação das fibras de colágeno (YOON e HALPER, 2005). A estrutura tendínea é responsável pela transmissão de forças entre o tecido ósseo e o tecido muscular, bem como a pela absorção de parte dessa força (BUTLER et al., 2004).

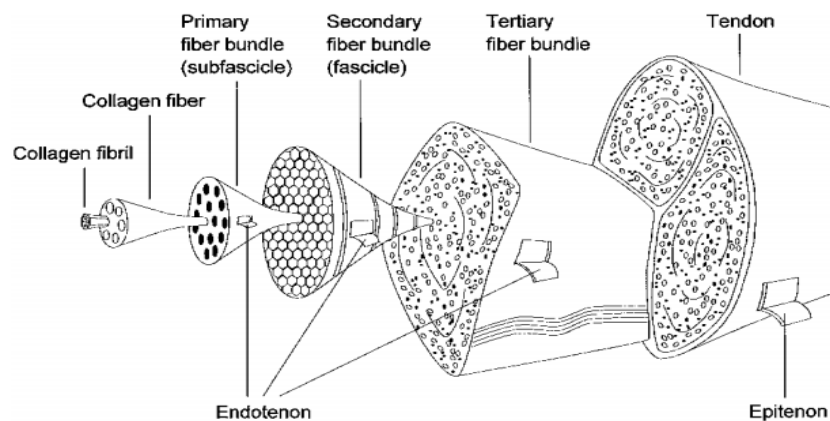


Fig. 1 – Organização tendínea das fibrilas de colágeno até a formação do tendão.

Fonte: Kannus (2000)

A matriz extracelular (MEC) tendínea é composta por elastina, proteínas não colagenosas, proteoglicanos e principalmente colágeno do tipo I (90% – 95%). A presença de elastina, em pouca quantidade, confere ao tendão uma leve flexibilidade, permitindo a ele uma resposta elástica ao estresse de estiramento. Devido a composição celular da MEC do tendão e do rearranjo de suas fibras de colágeno, ele se torna uma estrutura semirrígida (KJAER, 2004; YOON e HALPER, 2005; BI et al., 2007; DUDHIA et al., 2007).

As fibrilas colagenosas do tendão, são polipeptídios de colágeno arranjados de forma a serem tripla-hélices. Os polipeptídios são produzidos pelos tenócitos (fibroblastos presentes nos tendões) e após serem organizados, em tripla-hélices, por essas mesmas células, são secretados na MEC junto com um componente celular, responsável por realizar ligações do tipo *cross-link*, com outras fibrilas, tornando-se, portanto, uma fibra de colágeno. Essas ligações intermoleculares, garantem ao tendão, uma maior resistência às trações (JAMES et al., 2008; KANNUS, 2000).

O tipo de colágeno mais abundante no tendão é o tipo I, entretanto, ainda há a presença de fibras de colágeno do tipo III, V, IX, X, XI e XII. Cada tipo de colágeno exerce diferentes funções dentro do tecido tendíneo, como o colágeno do tipo V, que é o regulador das características das estruturas fibrilares, quando ligado ao colágeno do tipo I. O tipo III, atua principalmente no remodelamento tendíneo, uma vez que suas fibrilas são capazes de se ligarem umas às outras mais rapidamente, estabilizando assim, o local de reparo e o tipo XII, é responsável pela lubrificação entre as fibras de colágeno (JAMES et al., 2008; WANG et al., 2012).

Devido as diferentes moléculas constituintes do tendão, as fibras colagenosas são capazes de deslizar uma sobre a outra, sem que haja lesão. Essa capacidade de deslizamento das fibras de colágeno, garante ao tendão a competência de se deformar sem a ocorrência de uma lesão (JAMES et al., 2008; WANG et al., 2012).

Uma curva de tensão x deformação do tecido tendíneo com aspectos normais, possui três fases distintas. A primeira fase é caracterizada pelo

estiramento das ligações cross-link, sem causar nenhum tipo de dano ao tecido e essa deformação volta ao normal após o término do estresse mecânico (JAMES et al., 2008).

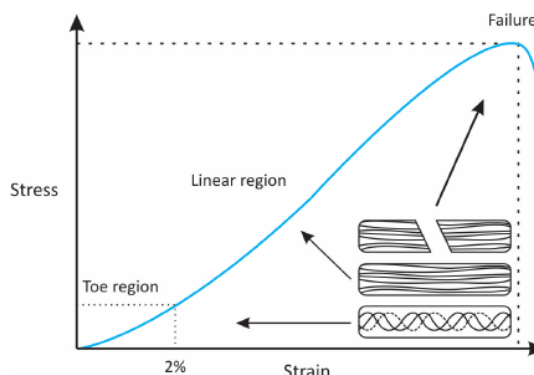


Fig. 2 – Gráfico da curva Tensão x Deformação do tecido tendíneo.

Fonte: Kelc (2013)

A segunda fase se inicia quando essas ligações estão totalmente alinhadas e começa a se desenvolver microlesões no tecido tendíneo. A última fase se dá a partir do momento em que as fibras de colágeno não conseguem mais aguentar o estresse mecânico e muitas fibras se rompem, gerando lesões mais graves (JAMES et al., 2008; KELC et al., 2013).

Após uma lesão, o tendão passa por um processo denominado regeneração tendínea, constituído de três etapas, a primeira, chamada fase inflamatória, é caracterizada pela migração de células do sistema imune, tais como os neutrófilos, para a retirada do tecido necrótico, além da liberação de fatores quimiotáticos e moléculas pró-inflamatórias (SHARMA et al., 2005; JAMES et al., 2008).

Ainda nesse fase, fatores favoráveis a angiogêneses são secretados na região da lesão e começa uma migração de tenócitos, afim de iniciar a síntese de colágeno do tipo III (SHARMA et al., 2005; JAMES et al., 2008).

Na segunda etapa do processo, fase proliferativa, há um pico da síntese e deposição de colágeno do tipo III. Além disso, há um aumento da deposição dos componentes da MEC tendínea (proteoglicanos, glicosaminoglicanos e água), porém de forma desordenada (SHARMA et al., 2005; JAMES et al., 2008; WANG et al., 2012).

A última fase, denominada fase de remodelamento, é caracterizada pela diminuição da síntese de colágeno do tipo III e componentes da MEC, essa fase pode ser dividido em 2 estágios, o primeiro denominado de estágio de consolidação, é marcado pelo alinhamento correto das fibras de colágeno do tipo I que começam a ser depositadas, esse estágio começa aproximadamente 6 semanas após a lesão e dura até a décima semana (SHARMA et al., 2005; JAMES et al., 2008; WANG et al., 2012).

O segundo estágio é conhecido como estágio da maturação, caracterizado pela mudança gradual de um tecido mais fibroso para um tecido tendíneo cicatrizado, podendo durar até um ano após a lesão (SHARMA et al., 2005; JAMES et al., 2008).

1.2- Organização morfofuncional do músculo esquelético:

O tecido muscular por sua vez, é composto por sarcômeros e os envoltórios de tecido conjuntivo em ordem hierárquica (endomísio, perimísio e epimísio). Os sarcômeros são formados por filamentos de actina, miosina, titina e nebulina, e cercados por esses envoltórios. O aumento dos sarcômeros em série, alonga o tamanho muscular, acelerando a velocidade da contração, enquanto um maior número de sarcômeros em paralelo, amplia a área de

secção transversa, produzindo maior pico de força (AQUINO et al., 2005; PIOVESAN et al., 2009).

Segundo Clebis e Natali (2001), as lesões musculares podem ser caracterizadas como qualquer alteração que promova um mau funcionamento do músculo, seja ela morfológica ou histoquímica, porém para Ferrari et al. (2005) a lesão muscular é caracterizada por rompimento dos miofilamentos, anormalidade mitocondrial e do retículo sarcoplasmático, descontinuidade do sarcolema, desequilíbrio hidro-eletrolítico e necrose celular.

As lesões musculares podem ser classificadas em 3 graus diferentes, a depender de do comprometimento das fibras musculares: nas lesões de grau 1, há uma ruptura mínima das fibras, as lesões de grau 2 se caracterizam pela laceração muscular com significante hemorragia e nas lesões de grau 3 há uma perda total de função e continuidade da maior parte ou de todo o músculo (CLEBIS e NATALI, 2001).

Após uma lesão muscular, o músculo lesionado passa por um processo de regeneração, esse processo pode ser dividido em três etapas, semelhante ao processo de regeneração tendínea. A primeira etapa pode ser chamada de fase inflamatória aguda ou de destruição. Essa fase é caracterizada pela invasão de neutrófilos que secretam citocinas para ativar e atrair outras células do sistema imune, como os macrófagos, para que realizem a fagocitose do tecido lesado. Essa fase dura até 7 dias após a lesão muscular. (FERRARI et al., 2005)

A segunda fase é chamada de fase proliferativa, nessa etapa do processo de regeneração muscular, há um aumento na proliferação de fibroblastos e

miofibroblastos, crescimento de novos capilares e principalmente a ativação e proliferação das células satélites, essas são capazes de se diferenciar em mioblastos, e são responsáveis pela produção e deposição das proteínas musculares específicas, essa fase dura de 7 a 21 dias após a lesão (FERRARI et al., 2005).

A terceira etapa, denominada fase de maturação e remodelamento, começa quando a etapa anterior termina e se caracteriza pela maturação das miofibras e a organização do colágeno tipo I, afim de se restaurar a capacidade funcional normal do músculo lesionado. Essa fase começa a partir do dia 21 após a lesão.

Há uma escassez de estudos que possam correlacionar o remodelamento tendíneo com os efeitos da lesão muscular ou artigos capazes de demonstrar o efeito de uma lesão muscular nas características biomecânicas do tendão.

Portanto, a hipótese deste estudo é que uma lesão capaz de causar prejuízo à manutenção do trofismo muscular, também seja capaz de comprometer a integridade do tendão e ocasionar adaptações deletérias a ambos os tecidos.

2 – OBJETIVOS

Dessa forma, o presente trabalho tem por objetivo avaliar os efeitos da lesão muscular nas propriedades biomecânicas do tendão Aquiles de ratos após 3, 14 e 28 dias pós lesão.

3 – MATERIAIS E MÉTODOS

3.1- Amostra:

Foram utilizados 24 ratos Wistar com peso médio de 250g. Os animais foram mantidos no biotério central da Universidade Católica de Brasília (UCB), permanecendo agrupados em gaiolas plásticas, com livre acesso à água e ração peletizada, com controle dos ciclos claro e escuro, de doze horas, com temperatura controlada.

Os animais foram divididos aleatoriamente em 4 grupos: controle sem intervenção (GC) (6 ratos), grupo lesão muscular 3 dias (3D) (6 ratos), grupo lesão muscular 14 dias (14D) (6 ratos) e grupo lesão muscular 28 dias (28D) (6 ratos).

Os experimentos foram conduzidos conforme as recomendações éticas do *Guide for Care and Use of Laboratory Animals* (National Research Council, 2010) e contou com a aprovação do Comitê de Ética em Experimentação Animal da Universidade Católica de Brasília (protocolo no 028/15).

Todos os procedimentos experimentais foram realizados com os animais anestesiados (injeção intraperitoneal de solução de xylazina 12mg/Kg e ketamina 95mg/kg).

3.2- Lesão muscular:

A pele que recobre os músculos gastrocnêmios (GA) foi tricotomizada e limpa com álcool iodado. Em seguida foi realizada uma incisão transversal, de aproximadamente 1 cm, na região correspondente ao ventre do músculo. O

protocolo de criolesão consistiu na aplicação de um objeto metálico previamente congelado em nitrogênio líquido e a aplicação desse objeto no ventre muscular por 10 segundos conforme descrito previamente pela literatura (MIYABARA et al., 2006; OLIVEIRA et al., 2006; DURIGAN et al., 2008).

3.3- Eutanásia e Retirada dos Tendões:

Após a eutanásia dos animais, o tendão calcâneo (TC) era removido e imediatamente após ser retirado era colocado em soro fisiológico para evitar a secagem. Os testes biomecânicos foram realizados em até 72 horas posterior a retirada do tendão. Todo o procedimento para o ensaio biomecânico foi conduzido em temperatura ambiente (NAKAGAKI et al., 2007).

Afim de realizar a eutanásia dos animais era administrada uma hiperdosagem de xylazina e ketamina, através de uma injeção intraperitoneal, 24mg/kg de peso corporal e 190mg/kg de peso corporal, respectivamente.

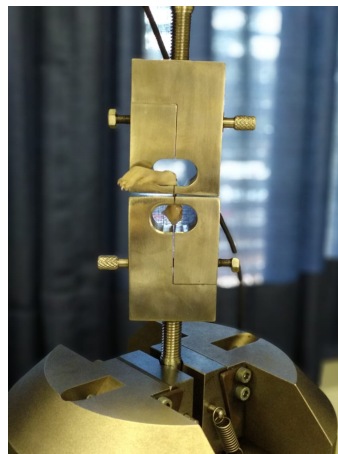
3.4- Testes biomecânicos:

Os testes biomecânicos foram realizados em parceria com a professora Dra. Carla Tatiana Mota Anflor (Professora da Engenharia Automotiva na Faculdade do Gama - UnB) e seu grupo de pesquisa, e realizados no laboratório específico da FGA-UnB (Faculdade do Gama – Universidade de Brasília).

A espessura do tendão foi determinada por meio do cálculo dos valores médios obtidos de dez diferentes partes da região de interesse do tendão, utilizando-se paquímetro manual, antes do teste, para a realização do cálculo afim de determinar a área de secção transversa do tendão (CSA). O comprimento do tendão era medido após a sua fixação no aparelho Instron, utilizando o paquímetro já mencionado.

Fig. 3 – Modelo do teste biomecânico.

Os tendões foram fixados a um suporte mecânico por meio dos



mordentes confeccionados especificamente para este trabalho, fixando as regiões proximal e distal do TC. Um filtro de papel foi envolvido nas regiões de contato do tendão com os mordentes para protegê-los de lesões macroscópicas e evitar deslizamento do mesmo durante os ensaios. Um aparelho Instron foi utilizado para a realização do teste (figura 3).

O tendão foi submetido a um aumento gradual de carga, a uma taxa de deslocamento constante de 3 mm/min utilizando uma célula de carga de 0,2 kN (TOHYAMA e YASUDA, 2000). Os dados coletados foram utilizados para a construção das curvas força - deslocamento, a partir do qual a curva tensão X

deformação foram derivadas.

Com base nestas curvas, os parâmetros seguintes foram calculados: (A) força máxima, (B) tensão, (C) deformação, (D) módulo de elasticidade, e (E) energia para a ruptura, de acordo com Nakagaki et al. (2007) e Marqueti et al. (2011).

3.5- Análise estatística:

A descrição da análise estatística foi por meio da média e do desvio padrão dos grupos nos parâmetros A, B, C, D e E. Após os cálculos de média e desvio padrão, foi aplicado o teste ANOVA *One Way*, para comparar se há diferença significativa entre os grupos.

4 – RESULTADOS

Foi utilizado o software PRISM 7, afim de realizar o teste ANOVA *One Way* e os demais cálculos da estatística descritiva. Ao todo foram realizados 24 ensaios biomecânicos e não houve deslizamento das amostras durante os testes.

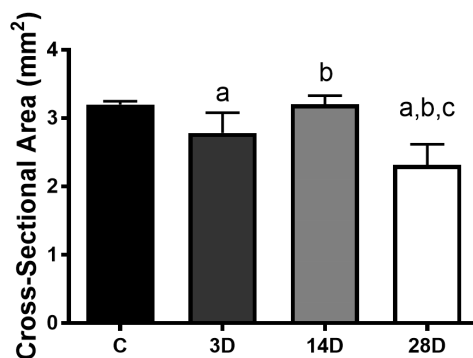


Gráfico 1 - Comparação da CST, dos grupos.

a= diferença significativa ($p<0,05$) entre o grupo em questão e o grupo controle.

b= diferença significativa ($p<0,05$) entre o grupo em questão e o grupo 3D.

c= diferença significativa ($p<0,05$) entre o grupo em questão e o grupo 14D.

O gráfico 1 demonstra a média da área de secção transversa (Cross-Sectional Area) utilizada para a realização do teste estatístico. Através desse teste foi possível observar que houve diferença significativa ($p<0,05$) na comparação dos grupos 3D e controle, 14D e 3D, e no grupo 28D com todos os outros grupos.

A tabela 1, mostra a média e desvio padrão dos parâmetros Força Máxima (N), Tensão Máxima (MPa), Deformação Máxima (mm/mm) e Módulo de Elasticidade (MPa) analisados no presente estudo.

Os gráficos de 2 a 6 representam a comparação da média de cada parâmetro entre cada grupo e sua diferença significativa, através do teste ANOVA One Way.

Tabela 1 – Média e Desvio Padrão dos Grupos nos Parâmetros: Força Máxima (N),

Tensão Máxima (MPa), Deformação Máxima (mm/mm), Módulo de Elasticidade (MPa) e Energia para Ruptura (N/mm).

	Grupo Controle (C)		Grupo Lesão 3 Dias (3D)		Grupo Lesão 14 Dias (14D)		Grupo Lesão 28 Dias (28D)	
	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão	Média	Desvio Padrão
Força Máxima (N)	14,97	±1,91	15,75	±4,24	18,80	±4,34	23,17 ^{a,b}	±5,14
Tensão Máxima (MPa)	4,76	±0,60	5,01	±1,35	5,98	±1,38	7,37 ^{a,b}	±1,63
Deformação Máxima (mm/mm)	0,13	±0,033	0,18 ^a	±0,042	0,29 ^{a,b}	±0,028	0,09 ^{b,c}	±0,007
Módulo de Elasticidade (MPa)	56,36	±15,67	29,21	±8,73	30,79	±8,37	92,86 ^{a,b,c}	±30,97
Energia para Ruptura (N/mm)	28,72	±8,25	38,73	±10,15	47,51 ^a	±11,37	45,76 ^a	±8,32

Tabela 1 - Resultados da Média e Desvio Padrão dos parâmetros analisados dos grupos.

a = diferença significativa ($p < 0,05$) entre o valor em questão e o grupo controle.

b = diferença significativa ($p < 0,05$) entre o valor em questão e o grupo 3D.

c = diferença significativa ($p < 0,05$) entre o valor em questão e o grupo 14D.

Nos quesitos Força Máxima e Tensão Máxima, apenas o grupo L28 demonstrou diferença significativa quando comparado aos outros grupos, sendo essa diferença entre o grupo controle ($p = 0,0056$ em ambos os parâmetros) e o grupo 3D ($p = 0,03$ em ambos os quesitos).

No parâmetro Deformação Máxima houve diferença significativa entre os grupos 3D e controle ($p = 0,04$), 14D e controle ($p < 0,0001$), 14D e 3D ($p < 0,0001$), 28D e 3D ($p = 0,0005$), e 28D e 14D com $p < 0,0001$. No quesito Módulo de Elasticidade, houve diferença significativa apenas quando comparou-se o grupo 28D com os demais grupos, $p = 0,0004$ (grupo controle)

e $p < 0,0001$, nos outros dois grupos.

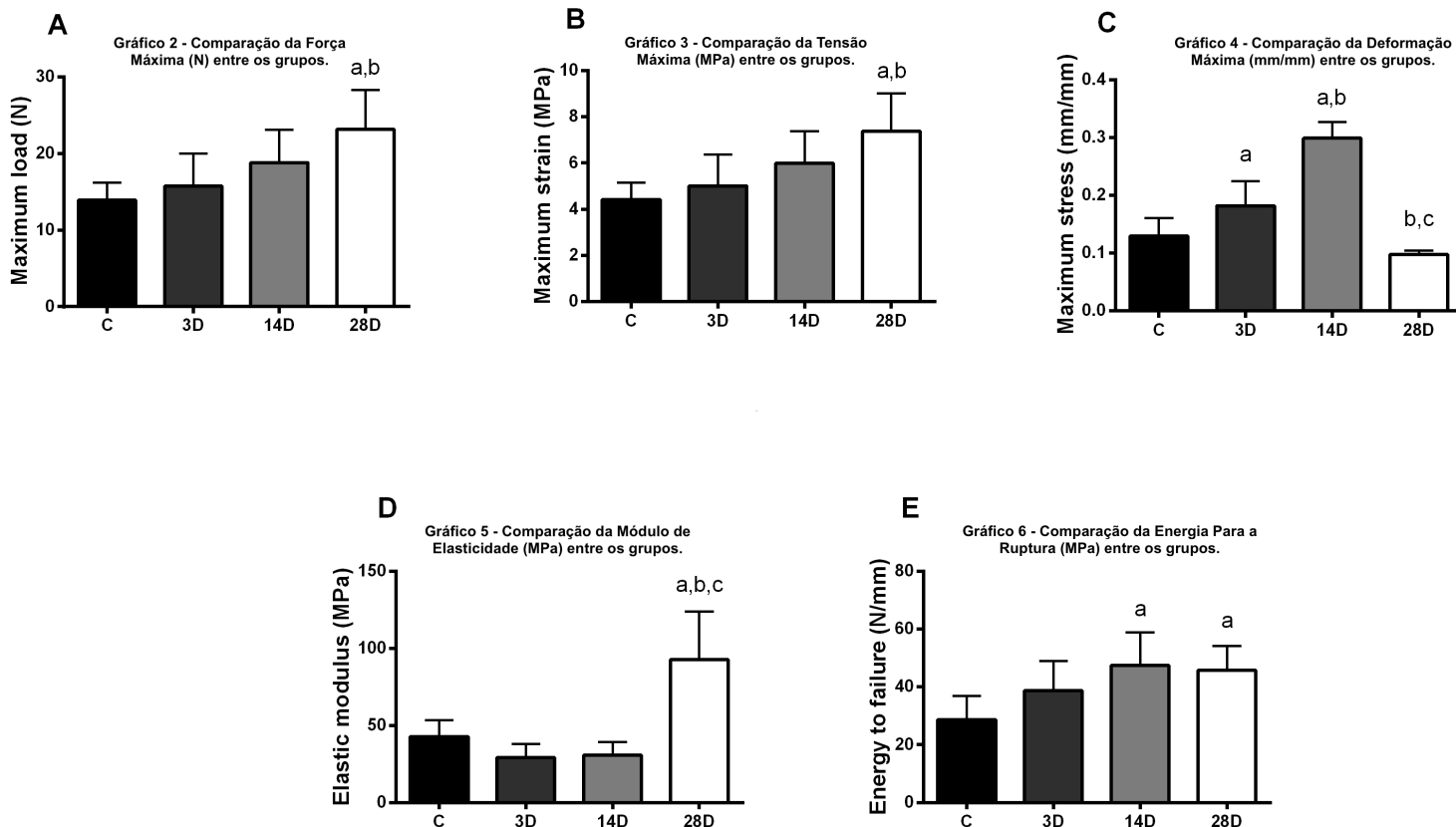


Gráfico 2 - Comparação da Força máxima (N) entre os grupos. **Gráfico 3** - Comparação da Tensão Máxima (MPa) entre os grupos. **Gráfico 4**: Comparação da Deformação Máxima (mm/mm) entre os grupos. **Gráfico 5** - Comparação do Módulo de Elasticidade (MPa) entre os grupos. **Gráfico 6** - Comparação da Energia para Ruptura (N/mm) entre os grupos. a = diferença significativa ($p < 0,05$) entre o grupo em questão e o grupo controle. b = diferença significativa ($p < 0,05$) entre o grupo em questão e o grupo 3D. c = diferença significativa ($p < 0,05$) entre o grupo em questão e o grupo 14D.

Quanto ao parâmetro Energia para a Ruptura, houve diferença apenas na comparação entre o grupo controle e os grupos 14D e 28D, $p = 0,01$ e $p = 0,03$, respectivamente.

5 – DISCUSSÃO

No presente estudo, o grupo 28D mostrou diferença significativa nos

questos A, B, D e E, em relação ao grupo controle e no parâmetro C quando comparado aos grupos 3D e 14D.

Já o grupo 14D apresentou diferença significativa nos parâmetros E e C em comparação ao grupo controle e no parâmetro C também houve diferença estatística ($p < 0,05$) quando comparado ao grupo 3D. Enquanto o grupo 3D mostrou diferença significativa apenas no parâmetro C em comparação ao grupo controle.

Quanto a CSA, o grupo 3D mostrou diferença estatística em comparação ao grupo controle, o grupo 14D obteve $p < 0,05$ em relação ao segundo grupo estudado (3D), e o grupo 28D mostrou diferença significativa quando comparado a todos os demais grupos.

No grupo controle a média de força para que ocorresse ruptura dos tendões foi de $14.97N \pm 1.91$, diferentemente do estudo de Tsitsilonis et al. (2013), em que a média encontrada foi de $41.7N \pm 7.1$, com ambos os ratos em condições parecidas.

Nesse mesmo estudo, Tsitsilonis et al. (2013), encontrou uma tensão máxima para a ruptura de $15.7MPa \pm 2.6$, tendo divergências com o presente estudo, em que a média foi de apenas $4.76 MPa \pm 0.6$.

Quanto ao módulo de elasticidade, também são encontradas diferenças na literatura, onde em um artigo de biomecânica, a média foi de $136.0MPa \pm 10.2$ (MARQUETI et al., 2011), nos achados de biomecânica do presente artigo a média foi de $56.36MPa \pm 15.67$.

Os resultados obtidos no quesito Energia para a Ruptura, no presente estudo, diverge dos achados no estudo de Sommer (1987), em seu grupo

controle a média encontrada foi de 53.3N/mm \pm 10.7 e no atual estudo foi de 28.72N/mm \pm 8.25.

Todos esses achados controversos, demostram que não há uma padronização, quanto aos valores encontrados nos quesitos estudados, comprimento inicial tendíneo, área de secção transversa, força máxima para a ruptura, tensão máxima, deformação máxima e módulo de elasticidade, e a falta de artigos de biomecânica sobre tendão calcâneo.

Foi perceptível como a lesão muscular afetou as características biomecânicas do tecido tendíneo desses ratos, permitindo ao tendão se tornar mais maleável, mais elástico ou mais resistente, a depender do tempo da lesão.

A lesão muscular causada nesses ratos, demonstrou que em um período de regeneração muscular, o tendão também passou por um processo de regeneração, devido a isso, na fase inflamatória (3D), o tendão se torna mais susceptível a deformação, sendo necessária uma força maior, como também uma tensão maior para a ruptura tendínea, portanto o tendão se torna mais deformável, quando comparado a um tendão sem a lesão muscular (grupo controle).

No período proliferativo (14D), o tendão tem características semelhantes ao período agudo, se tornando mais deformável, comparado ao grupo controle, porém mantendo as mesmas condições elásticas.

Já no período de remodelamento (28D), o tendão se torna menos elástico e menos deformável do que o tendão do grupo C, porém mais resistente, visto que foi necessária uma força maior para romper o tendão após os 28 dias de

lesão e o mesmo aguentou uma tensão maior para ocorrerem as micro-rupturas de suas fibras.

Esses achados corroboram com o descrito anteriormente na literatura, durante a fase inflamatória e proliferativa, há uma diminuição do colágeno do tipo I e uma maior presença de neutrófilos, tenócitos e colágeno do tipo III, este não sendo tão resistente quanto o colágeno do tipo I. Possibilitando ao tendão ser mais deformável e não tão resistente (SHARMA et al., 2005; JAMES et al., 2008; WANG et al., 2012).

Diferentemente das fases anteriores, na fase de remodelamento, devido à presença de uma maior quantidade de colágeno do tipo I e uma diminuição do colágeno do tipo III e das células abundantes anteriormente, o tendão se torna mais resistente, porém menos deformável, podendo ser explicado pelo começo da organização das fibras de colágeno do tipo I (SHARMA et al., 2005; JAMES et al., 2008; WANG et al., 2012).

Esses achados confirmam a hipótese do estudo, uma vez que a lesão muscular na fase inflamatória e proliferativa, deixam o tendão mais vulnerável biomecanicamente, uma vez que o tendão tem um aumento em sua capacidade elástica, deixando de ser uma estrutura semirrígida, podendo afetar negativamente a transmissão de força entre o músculo e o osso, principal função tendínea.

O grupo 28D, mostrou-se menos elástico, portanto, o tendão deixou de ser uma estrutura semirrígida como era para ser, se transformando em uma estrutura mais rígida não sendo, podendo romper-se de forma abrupta.

6 - CONCLUSÃO

A partir deste estudo é possível concluir que em ratos do tipo Wistar, uma lesão no músculo gastrocnêmio é capaz de afetar as características biomecânicas do tendão calcâneo de diferentes formas, a depender do tempo de lesão muscular.

7 – REFERÊNCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Aquino C, Viana S, Fonseca S. Comportamento biomecânico e resposta dos tecidos biológicos ao estresse e à imobilização. *Fisioterapia em Movimento*. 2005;18(2).
2. Bi Y, Ehirchiou D, Kilts T, Inkson C, Embree M, Sonoyama W et al.

- Identification of tendon stem/progenitor cells and the role of the extracellular matrix in their niche. *Nature Medicine*. 2007;13(10):1219-1227.
3. Butler D, Juncosa N, Dressler M. Functional Efficacy of Tendon Repair Processes. *Annual Review of Biomedical Engineering*. 2004;6(1):303-329.
 4. Clebis N, Natali M. Lesões musculares provocadas por exercícios excêntricos. *Revista Brasileira de Ciência e Movimento*. 2008;9(4):47-54.
 5. Dudhia J, Scott C, Draper E, Heinegård D, Pitsillides A, Smith R. Aging enhances a mechanically-induced reduction in tendon strength by an active process involving matrix metalloproteinase activity. *Aging Cell*. 2007;6(4):547-556.
 6. Durigan J, Peviani S, Russo T, Delfino G, Ribeiro J, Cominetti M et al. Effects of alternagin-C from *Bothrops alternatus* on gene expression and activity of metalloproteinases in regenerating skeletal muscle. *Toxicon*. 2008;52(6):687-694.
 7. Ferrari R, Picchi L, Botelho A, Minamoto V. Processo de regeneração na lesão muscular: uma revisão. *Fisioterapia em Movimento*. 2005;18(2):63-71.
 8. James R, Kesturu G, Balian G, Chhabra A. Tendon: Biology, Biomechanics, Repair, Growth Factors, and Evolving Treatment Options. *The Journal of Hand Surgery*. 2008;33(1):102-112.
 9. Jozsa L, Kannus P, Thoring J, Reffy A, Jarvinen M, Kvist M. The effect of tenotomy and immobilisation on intramuscular connective tissue. A

- morphometric and microscopic study in rat calf muscles. *The Journal of Bone and Joint Surgery British volume*. 1990;72-B(2):293-297.
10. Kannus P. Structure of the tendon connective tissue. *Scandinavian Journal of Medicine and Science in Sports*. 2000;10(6):312-320.
 11. KJÆR M. Role of Extracellular Matrix in Adaptation of Tendon and Skeletal Muscle to Mechanical Loading. *Physiological Reviews*. 2004;84(2):649-698.
 12. Marqueti R, Prestes J, Wang C, Ramos O, Perez S, Nakagaki W et al. Biomechanical responses of different rat tendons to nandrolone decanoate and load exercise. *Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports*. 2011;21(6):e91-e99.
 13. Miyabara E, Martin J, Griffin T, Moriscot A, Mestril R. Overexpression of inducible 70-kDa heat shock protein in mouse attenuates skeletal muscle damage induced by cryolesioning. *American Journal of Physiology-Cell Physiology*. 2006;290(4):C1128-C1138.
 14. Nakagaki W, Biancalana A, Benevides G, Gomes L. Biomechanical and Biochemical Properties of Chicken Calcaneal Tendon Under Effect of Age and Nonforced Active Exercise. *Connective Tissue Research*. 2007;48(5):219-228.
 15. National Research Council. Guide for the care and use of laboratory animals. **National Academies Press**, 2010.
 16. Oliveira N, Rainero E, Salvini T. Three Intermittent Sessions of Cryotherapy Reduce the Secondary Muscle Injury in Skeletal Muscle of Rat. *Journal of Sports Science & Medicine*. 2006;5(2):228-234.

17. Piovesana R, Martins M, Fernandes K, Bussadori S, Selistre-de-Araújo H, Mesquita-Ferrari R. UMA REVISÃO SOBRE A PLASTICIDADE DO MÚSCULO ESQUELÉTICO: expressão de isoformas de cadeia pesada de miosina e correlação funcional [Internet]. *Periodicos.pucpr.br*. 2009 [cited 21 November 2018]. Available from: <https://periodicos.pucpr.br/index.php/fisio/article/view/19411/18755>
18. Robi K, Jakob N, Matevz K, Matjaz V. The Physiology of Sports Injuries and Repair Processes. *Current Issues in Sports and Exercise Medicine*. 2013;:43-86.
19. SHARMA P, MAFFULLI N. TENDON INJURY AND TENDINOPATHY. *The Journal of Bone and Joint Surgery-American Volume*. 2005;87(1):187-202.
20. Sommer H. The biomechanical and metabolic effects of a running regime on the Achilles tendon in the rat. *International Orthopaedics*. 1987;11(1):71-75.
21. Tohyama H, Yasuda K. Extrinsic Cell Infiltration and Revascularization Accelerate Mechanical Deterioration of the Patellar Tendon After Fibroblast Necrosis. *Journal of Biomechanical Engineering*. 2000;122(6):594.
22. Tsitsilonis S, Panayiotis C, Athanasios M, Stavros K, Ioannis V, George A et al. Anabolic androgenic steroids reverse the beneficial effect of exercise on tendon biomechanics: An experimental study. *Foot and Ankle Surgery*. 2014;20(2):94-99.
23. Wang J, Guo Q, Li B. Tendon Biomechanics and Mechanobiology—A Minireview of Basic Concepts and Recent Advancements. *Journal of Hand Therapy*. 2012;25(2):133-141.
24. Yoon J, Halper J. Tendon proteoglycans: biochemistry and function. - PubMed - NCBI [Internet]. *Ncbi.nlm.nih.gov*. 2005 [cited 21 November 2018]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15788868>

8 - ANEXOS

ANEXO A – NORMAS DA REVISTA CIENTÍFICA

Brazilian Journal of Biomechanics = Revista Brasileira de Biomecânica

CAPA SOBRE ACESSO CADASTRO PESQUISA ATUAL
 EDIÇÕES ANTERIORES NOTÍCIAS COMO SE CADASTRAR? COMO
 SUBMETER ARTIGO? S.E.E.R. BIBLIOTECA

Capa > Sobre a Revista > **Submissões**

Submissões

- » [Submissões Online](#)
- » [Diretrizes para Autores](#)
- » [Política de Privacidade](#)

Submissões Online

Já possui um Login/Senha para a revista Brazilian Journal of Biomechanics = Revista Brasileira de Biomecânica?
[ACESSO](#)

Não tem Login/Senha?
[CADASTRO DE USUÁRIOS](#)

O cadastro no sistema e posterior acesso ou login são obrigatórios para submissão como também para verificar o estágio das submissões.

Diretrizes para Autores

Artigos oriundos de investigações originais, Artigos de revisão e ensaios, Artigos tematicamente orientados e à convite do conselho editorial e Notas técnico-metodológicas.

1. Os artigos podem ser redigidos em português ou inglês. Recomenda-se que os artigos redigidos em inglês contenham um resumo em português e quando redigidos em português obrigatoriamente deve conter resumo e abstract, bem como, Palavras-Chave e Key-Words.
2. Para os artigos originais os resumos devem ser apresentados no formato estruturado, com até 250 palavras, destacando o principal objetivo e os métodos básicos adotados, informando sinteticamente local, população e amostragem da pesquisa; apresentando os resultados mais relevantes, quantificando-os e destacando sua importância estatística; apontando as conclusões mais importantes, apoiadas nas evidências relatadas, recomendando estudos adicionais quando for o caso. As palavras-chaves devem ser de 3 a 6.
3. As seções, sempre que se aplicar, devem abranger os seguintes aspectos: Resumo, Palavras-Chave, Abstract, Key-Words, Introdução (Justificativa e Objetivos), Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão, Referências.
4. Cada arquivo original, preferencialmente em Microsoft para Windows, deve ser precedido de uma folha de rosto, contendo título, identificação dos autores e vinculação institucional, endereço do autor para correspondência, emails de

[SISTEMA
ELETRÔNICO DE
EDITORIAÇÃO DE
REVISTAS](#)

[Ajuda do sistema](#)

USUÁRIO

Login

Senha

Lembrar usuário

IDIOMA

CONTEÚDO DA
REVISTA

Pesquisa

Procurar

- [Por Edição](#)
- [Por Autor](#)
- [Por Título](#)

TAMANHO DE
FONTE

INFORMAÇÕES

- [Para Leitores](#)
- [Para Autores](#)
- [Para Bibliotecários](#)

TODOS os autores, título resumido para impressão no cabeçalho de cada página (Running Title) e texto opcional de agradecimentos. O título do artigo deve reaparecer na página seguinte, juntamente com o resumo sem identificação de autores. O artigo deve ter sua extensão programada de modo a não exceder 20 páginas no formato final, utilizar letras times new roman ou arial de tamanho 12, o texto deve ser paginado em espaçamento duplo em papel A4 com margens de 2 cm.

5. Todas folhas devem conter o "Running Title".

6. Na redação do artigo, após a folha de rosto despersonalizada, a Introdução, Material e Métodos, Resultados, Discussão, Conclusão e Referências bem como outras que se aplicar devem constituir outra seção com coluna dupla.

7. São aceitas figuras, tabelas, arquivos de áudio e vídeo desde que estes estejam inseridos no local exato onde os autores pretendem que apareçam no texto final acompanhadas de suas respectivas legendas numeradas em algarismos arábicos e na ordem de aparição no texto.

8. Os elementos gráficos (figuras, tabelas, arquivos de áudio e vídeo) devem possuir resolução mínima de 600 dpi em formato gif, jpeg, wav, mp3, mpeg ou avi, e podem ser coloridos ou preto e branco.

9. A Revista Brasileira de Biomecânica requer que todos os procedimentos apropriados para obtenção do consentimento dos sujeitos para participação no estudo tenham sido adotados. Não há necessidade de especificar os procedimentos, mas deve ser indicado no texto que o consentimento foi obtido. Estudos que envolvem experimentos com animais devem conter uma declaração na seção Método, que os experimentos foram realizados em conformidade com a regulamentação sobre o assunto adotada no país.

10. O sistema de medidas básico a ser utilizado na Revista deverá ser o "Système International d'Unités". Uma lista completa das unidades SI pode ser acessada online em <http://physics.nist.gov/>. Como regra geral, só deverão ser utilizadas abreviaturas e símbolos padronizados. Se abreviações não padronizadas forem utilizadas, recomenda-se a definição das mesmas no momento da primeira aparição no texto.

11. As referências devem ser ordenadas alfabeticamente, numeradas e normalizadas de acordo com o estilo Vancouver. Os títulos de periódicos devem ser referidos de forma abreviada, de acordo com o Index Medicus, e grifados. Publicações com 2 autores até o limite de 6 citam-se todos; acima de 6 autores, cita-se o primeiro seguido da expressão latina et al.

Exemplos:

Garcia MAC, Souza MN. Análise do Sinal Mioelétrico a partir de um parâmetro temporal (Brasil), 2002. Rev. Bras Biomecânica 2002; 5: 5-12.

Forattini OP. Ecologia, epidemiologia e sociedade. São Paulo; EDUSP; 1992.

Laurenti R. A medida das doenças. In: Forattini, OP. Epidemiologia geral. São Paulo: Artes Médicas; 1996. p. 64-85.

Vaz MA, Freitas CR, Brentano MA. Comparative Study of Mechanomyographic and Force Signals During Isometric Contractions. Rev Bras Biomecânica [periódico on line] 2006; 12(7). Disponível em URL:<http://citrus.uspnet.usp.br/biomecan/ojs/index.php/rbb> [2007 jun 23].

Para outros exemplos recomendamos consultar o documento "Uniform Requirements for Manuscripts Submitted to Biomedical Journals: Writing and Editing for Medical Publication" (<http://www.icmje.org>). Conforme link no cabeçalho desta página.

12. Citações de referências no texto deverão ser feitas por extenso. Se forem dois autores, citam-se ambos ligados pela conjunção "e"; se forem mais de três, cita-se o primeiro autor seguida da expressão "et al".

13. Os arquivos originais deverão ser encaminhados preferencialmente através do sistema SEER. Caso o autor encontre problemas poderá enviar para o endereço eletrônico do contato com a RBB - rbbbjb@gmail.com.

Itens de Verificação para Submissão

Como parte do processo de submissão, os autores são obrigados a verificar a conformidade da submissão em relação a todos os itens listados a seguir. As submissões que não estiverem de acordo com as normas serão devolvidas aos autores.

1. A contribuição é original e inédita, e não está sendo avaliada para publicação por outra revista; caso contrário, justificar em "Comentários ao Editor".
 2. Os arquivos para submissão estão em formato Microsoft Word, OpenOffice ou RTF (desde que não ultrapasse os 2MB)
 3. Todos os endereços de páginas na Internet (URLs), incluídas no texto (Ex.: <http://www.ibict.br>) estão ativos e prontos para clicar.
 4. O texto está em espaço simples; usa uma fonte de 12-pontos; emprega itálico ao invés de sublinhar (exceto em endereços URL); com figuras e tabelas inseridas no texto, e não em seu final.
 5. O texto segue os padrões de estilo e requisitos bibliográficos descritos em [Diretrizes para Autores](#), na seção Sobre a Revista.
 6. A identificação de autoria deste trabalho foi removida do arquivo e da opção Propriedades no Word, garantindo desta forma o critério de sigilo da revista, caso submetido para avaliação por pares (ex.: artigos), conforme instruções disponíveis em [Asegurando a Avaliação por Pares Cega](#).
-

Política de Privacidade

Os nomes e endereços informados nesta revista serão usados exclusivamente para os serviços prestados por esta publicação, não sendo disponibilizados para outras finalidades ou à terceiros.

ANEXO B- PARECER DO COMITÊ DE ÉTICA EM PESQUISA



CERTIFICADO

Certificamos que o projeto intitulado “Lesões músculo-tendíneas e sua relação com a regeneração tecidual e remodelamento da matriz extracelular”, protocolo nº 028/15 sob a responsabilidade de Rita de Cássia Marqueti Durigan - que envolve a produção, manutenção e/ou utilização de animais do filo Chordata, subfilo Vertebrata (exceto o homem), para fins de pesquisa científica (ou ensino) – encontra-se de acordo com os preceitos da Lei nº 11.794, de 8 de outubro de 2008, do Decreto nº 6.899, de 15 de julho de 2009, e com as normas editadas pelo Conselho Nacional de Controle da Experimentação Animal (CONCEA), e foi aprovado pela COMISSÃO DE ÉTICA NO USO DE ANIMAIS (CEUA/UCB) DA Universidade Católica de Brasília, em reunião de 18 / 11 / 2015.

Vigência do projeto	30 de julho de 2019.
Espécie / linhagem	<i>Rattus norvegicus</i> / Wistar
Nº de Animais	140
Peso / Idade	200g / 2 Meses
Sexo	Masculino
Origem	Biotério do Laboratório de Processos Básicos (UCB)

Secretaria da Comissão de Ética
Em Uso de Animais (CEUA/UCB)
Universidade Católica de Brasília
(61) 3036-9492

Tereza Maria B. Klyne

Brasília, 18 de Novembro de 2015.