

ESTABELECIMENTO DE PROTOCOLO DE COLETA E PREPARO DE LÂMINAS DE TENDÃO CALCÂNEO DE RATOS WISTAR – UMA AVALIAÇÃO HISTOLÓGICA

Recebido em: 21/08/2025

Aceito em: 11/03/2026

DOI: 10.25110/arqsaude.v30i2.2026-12315



Fransael Franklyn Araújo da Silva¹
Andressa Aparecida da Silva²
Amanda Bernardi³
Mykael Chrystian Dreveck⁴
Andressa Mott⁵
Carolina Fontana⁶
Aline De Marco Viott⁷
Erica Cristina Bueno do Prado Guirro⁸

RESUMO: O tendão calcâneo é o maior e mais forte tendão do organismo, sujeito a tendinopatias. O foco de estudos desse tipo de tecido fica restrito às lesões e aos possíveis tratamentos e, portanto, é fundamental que a coleta dos tendões e o preparo das lâminas sejam cautelosas a fim de não perder as amostras. Na literatura não há estudos que apresentem detalhadamente esses protocolos. Sendo assim, o objetivo desse trabalho foi o estabelecimento do melhor protocolo de coleta e preparo de lâminas do tendão calcâneo de ratos Wistar. Para tal, 80 ratos Wistar foram submetidos à eutanásia e imediata coleta do tendão. Os animais foram divididos em 16 grupos variando quanto à associação do tendão com pele, grupo muscular e articulação tíbio-társica, além do posicionamento do tecido no bloco de parafina (topo ou fundo do bloco). As amostras foram fixadas em formol a 10%, processadas por técnica histológica convencional e coradas por hematoxilina e eosina. A avaliação histológica foi realizada por meio de escores ordinais referentes à presença de fibroblastos, arranjo das fibras colágenas, disposição do estroma e organização celular. Os dados foram submetidos ao teste de Kruskal–Wallis, seguido do pós-teste de Dunn ($p < 0,05$). Os resultados indicaram variação descritiva na qualidade histológica entre os diferentes protocolos avaliados, especialmente relacionada à organização celular e ao arranjo do colágeno. O posicionamento do tendão com pele no

¹ Doutorando em ciência animal, Universidade Federal do Paraná. Docente da Universidade Paranaense.
E-mail: fransael20@gmail.com, ORCID: [0000-0002-0165-7085](https://orcid.org/0000-0002-0165-7085)

² Médica veterinária, Universidade Federal do Paraná.
E-mail: mvandressasilva@gmail.com, ORCID: [0009-0003-6035-4652](https://orcid.org/0009-0003-6035-4652)

³ Médica veterinária, Universidade Federal do Paraná.
E-mail: amandabmr00@gmail.com, ORCID: [0009-0003-2720-6244](https://orcid.org/0009-0003-2720-6244)

⁴ Médico veterinário, Universidade Federal do Paraná.
E-mail: mykacd@hotmail.com, ORCID: [0009-0006-4394-9306](https://orcid.org/0009-0006-4394-9306)

⁵ Mestra em biotecnologia, Universidade Federal do Paraná.
E-mail: mott.andressa97@gmail.com, ORCID: [0000-0002-4107-3930](https://orcid.org/0000-0002-4107-3930)

⁶ Mestra em ciência animal, Universidade Federal do Paraná.
E-mail: carolinavetfontana@gmail.com, ORCID: [0000-0001-8724-7177](https://orcid.org/0000-0001-8724-7177)

⁷ Docente da Universidade Federal do Paraná.
E-mail: alinedemarco@yahoo.com.br, ORCID: [0000-0003-1097-2359](https://orcid.org/0000-0003-1097-2359)

⁸ Docente da Universidade Federal do Paraná.
E-mail: prof.ERICA.guirro@gmail.com, ORCID: [0000-0002-3030-0042](https://orcid.org/0000-0002-3030-0042)

fundo do bloco apresentou melhor preservação estrutural de forma descritiva. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre as espessuras de corte de 2 μ m e 5 μ m. Conclui-se que a padronização do posicionamento do tecido no bloco e da orientação de corte é o principal fator determinante para a qualidade e reprodutibilidade da avaliação histopatológica do tendão calcâneo.

PALAVRAS-CHAVE: Histologia; Histopatologia; Protocolo; Tendão.

ESTABLISHMENT OF A PROTOCOL FOR COLLECTION AND PREPARATION OF WISTAR RATS CALCANEAL TENDON SLIDES – A HISTOLOGICAL EVALUATION

ABSTRACT: The calcaneal tendon is the largest and strongest tendon in the body and is commonly affected by tendinopathies. Studies involving this tissue are mainly focused on injuries and therapeutic approaches; therefore, careful tendon harvesting and histological processing are essential to avoid sample loss. However, the literature lacks detailed protocols describing these procedures. Thus, the aim of this study was to establish the most appropriate protocol for collection and histological slide preparation of the calcaneal tendon in Wistar rats. Eighty Wistar rats were euthanized, followed by immediate tendon collection. The animals were allocated into 16 groups, varying according to the association of the tendon with skin, muscle group, and the tibiotarsal joint, as well as tissue positioning within the paraffin block (top or bottom). Samples were fixed in 10% formalin, processed using conventional histological techniques, and stained with hematoxylin and eosin. Histological evaluation was performed using ordinal scoring systems for fibroblast presence, collagen fiber arrangement, stromal disposition, and cellular organization. Data were analyzed using the Kruskal–Wallis test followed by Dunn’s post hoc test ($p < 0.05$). The results demonstrated descriptive variation in histological quality among the evaluated protocols, particularly regarding cellular organization and collagen arrangement. Positioning the tendon with skin at the bottom of the paraffin block resulted in better structural preservation in a descriptive manner. No statistically significant differences were observed between the 2 μ m and 5 μ m section thicknesses. It is concluded that standardization of tissue positioning within the block and cutting orientation is the main determinant of quality and reproducibility in histopathological evaluation of the calcaneal tendon.

KEYWORDS: Histology; Histopathology; Protocol; Tendon.

ESTABLECIMIENTO DE UN PROTOCOLO PARA LA RECOLECCIÓN Y PREPARACIÓN DE LÁMINAS DEL TENDÓN CALCÁNEO DE RATAS WISTAR: UNA EVALUACIÓN HISTOLÓGICA

RESUMEN: El tendón calcáneo es el tendón más grande y resistente del organismo y está frecuentemente afectado por tendinopatías. Los estudios sobre este tejido se centran principalmente en las lesiones y sus tratamientos, por lo que la correcta recolección y el adecuado procesamiento histológico son fundamentales para evitar la pérdida de muestras. Sin embargo, la literatura carece de protocolos detallados que describan estos procedimientos. Por lo tanto, el objetivo de este estudio fue establecer el mejor protocolo de recolección y preparación de cortes histológicos del tendón calcáneo de ratas Wistar. Para ello, 80 ratas Wistar fueron sometidas a eutanasia y a la recolección inmediata del

tendón. Los animales se distribuyeron en 16 grupos, variando según la asociación del tendón con piel, grupo muscular y articulación tibio-tarsiana, así como el posicionamiento del tejido en el bloque de parafina (parte superior o inferior). Las muestras se fijaron en formol al 10%, se procesaron mediante técnica histológica convencional y se tiñeron con hematoxilina y eosina. La evaluación histológica se realizó mediante puntuaciones ordinales referentes a la presencia de fibroblastos, el arreglo de las fibras colágenas, la disposición del estroma y la organización celular. Los datos se analizaron mediante la prueba de Kruskal–Wallis, seguida del post hoc de Dunn ($p < 0,05$). Los resultados mostraron una variación descriptiva en la calidad histológica entre los protocolos evaluados, especialmente en relación con la organización celular y el arreglo del colágeno. El posicionamiento del tendón con piel en el fondo del bloque presentó una mejor preservación estructural de forma descriptiva. No se observaron diferencias estadísticamente significativas entre los espesores de corte de 2 μm y 5 μm . Se concluye que la estandarización del posicionamiento del tejido en el bloque y de la orientación del corte es el principal factor determinante para la calidad y la reproducibilidad de la evaluación histopatológica del tendón calcáneo.

PALABRAS CLAVE: Histología; Histopatología; Protocolo; Tendón.

1. INTRODUÇÃO

O tendão é definido como uma estrutura de tecido conjuntivo especializado, mecanicamente responsável por transmitir forças musculares ao osso e responder a forças mecânicas alterando seu metabolismo, bem como suas propriedades estruturais e mecânicas permitindo a locomoção e aumento da estabilidade articular (Wang, 2006; König e Liebich, 2021). Durante o movimento, a qualidade elástica dos tendões armazena energia, absorve choques e funciona como mecanismo de suporte. (König e Liebich, 2021).

O tendão calcâneo é o maior e mais forte tendão do organismo, diante disso está extremamente sujeito a situações de injúrias e consequente tendinopatia (O’Brien, 2005). A junção tendão-osso é chamada de entese, existem dois tipos de entese: a entese fibrosa e a entese fibrocartilaginosa. Na entese fibrosa, o tendão se liga ao periósteo durante a infância ou ao próprio osso na idade adulta, enquanto na entese fibrocartilaginosa está presente uma zona de transição de fibrocartilagem hialina, que distribui as cargas mecânicas (Ralphs; Waggett; Benjamin, 2002).

Os tendões são divididos anatomicamente em fascículos primários, secundários e terciários por meio da continuação das bainhas musculares como epitendão e paratendão, caracterizados como extensões de lâminas musculares que devido à sua forma plana e larga se conectam por meio de expansões planas e finas de tecido conectivo conhecidas como aponeuroses (König; Liebich, 2021). Fascículos de colágeno paralelos são separados pelo endotendão, um tecido conjuntivo frouxo que também contém

fibroblastos, bem como vasos sanguíneos e nervos. Após o endotendão o tendão é envolto, respectivamente, pelo epitendão e paratendão, sendo este composto de fibras de colágeno organizadas em uma direção perpendicular àsquelas do tendão (Gaut *et al.*, 2016).

O tendão possui uma estrutura hierárquica multiunitária constituída por moléculas de colágeno, fibrilas, feixes de fibras, fascículos e unidades tendíneas que correm paralelamente ao longo eixo do tendão. A fibrila é a menor unidade estrutural do tendão e consiste em grande parte de moléculas de colágeno alinhadas de ponta a ponta, em uma matriz um quarto escalonado, com diâmetro que variam de 10 a 500nm, dependendo da espécie, idade e localização da amostra, enquanto as fibras formam o próximo nível da estrutura do tendão (Wang, 2006).

Em comparação com o tecido muscular, os tendões exibem uma força tensora muito maior, devido ao seu alto conteúdo de colágeno e baixo conteúdo elástico. Os músculos femorais caudais se prolongam desde o ísquio até a tíbia, e seus componentes tendíneos prosseguem como parte do tendão calcâneo comum até o calcâneo (König; Liebich, 2021).

Os tendões são ricos em colágeno, sendo o componente tendinoso mais abundante o colágeno tipo I, que constitui cerca de 60% da massa seca do tendão e cerca de 95% do colágeno total, os 5% restantes são compostos por colágenos dos tipos III e V. A unidade estrutural básica do colágeno é o tropocolágeno, que é uma proteína longa e fina produzida dentro de uma célula (por exemplo, fibroblasto) e secretada na matriz extracelular como procolágeno (Wang, 2006) O colágeno tipo III é menos resistente às forças de tração e, portanto, o torna mais suscetível à ruptura (Thevendran *et al.*, 2013).

As moléculas de colágeno são sintetizadas por fibroblastos ou tenócitos do tendão, que apresentam uma forma alongada situada entre as fibras de colágeno. A composição celular e a organização do colágeno não são homogêneas ao longo do eixo do tendão e são diferentes em ambas as extremidades, próximo ao músculo (junção miotendínea) e nas interfaces ósseas (Gaut; Duprez, 2016).

Além do colágeno, os tendões também contêm proteoglicanos em pequenas quantidades, variáveis conforme o local do tendão e dependente das condições de carga mecânica do tendão (Wang, 2006). O termo tendinopatia deve ser utilizado para descrever lesões que afetam os tendões e que se caracteriza pela presença de inflamação e degeneração tecidual, estando normalmente associada à sobrecarga mecânica e a

movimentos repetitivos (Silva *et al.*, 2013). A tendinopatia acomete tanto indivíduos fisicamente ativos quanto sedentários e pode estar relacionada à diversos fatores intrínsecos e extrínsecos ao tendão (Wearing *et al.*, 2011).

No processo inflamatório crônico ocorre o remodelamento da bainha tendínea e do tecido sinovial, enchendo o espaço sinovial de células inflamatórias, conduzindo a um distúrbio maciço do tendão, reduzindo sua funcionalidade. Os tendões usam as extremidades ósseas e suas bordas como âncoras para aumentar a função, colocando essas estruturas em contato próximo com locais predispostos ao desenvolvimento de erosões ósseas, sendo que devido ao contato processos inflamatórios podem migrar para outros tecidos iniciando um quadro pré-artrítico. Essa característica talvez justifique porque os tendões são as estruturas mais afetadas pela inflamação crônica e como a tendinite pode influenciar no aparecimento e evolução de doenças inflamatórias nos ossos e cartilagens (Hayer *et al.*, 2007).

Diversos métodos de tratamento para lesões do tendão já foram testados, porém seus resultados e sua eficácia ficam distante das características do tendão original (Ueda *et al.*, 2008). Após uma lesão, o tendão apresenta alterações das propriedades mecânicas em comparação ao tecido normal. Entre as várias substâncias encontradas na matriz extracelular dos tendões, as fibras de colágeno são as principais responsáveis pela força. Os colágenos I e III são sintetizados para promover este reparo. As fibras de colágeno III são mais finas e extensíveis e possuem habilidade de dar forma rápida às ligações transversais das fibras de colágeno. Durante o processo de cicatrização do tendão, as fibras de colágeno tipo III aparecem de forma transitória, promovendo a estabilização do local da reparação. Porém, o aumento de colágeno tipo III pode reduzir a resistência à tração do tendão (Hou *et al.*, 2009).

O foco de trabalhos que utilizam modelos tendinopáticos geralmente envolve a caracterização de lesões seguindo critérios pré-estabelecidos (Chen *et al.*, 2014). Para se identificar a morfologia tecidual em nível celular é necessário realizar avaliação histopatológica (Souza *et al.*, 2010). A coleta e preparo desse material para análise geralmente segue um protocolo sistematizado de processamento histológico, onde reagentes como formol, xilol e parafina são utilizados para os procedimentos de fixação, desidratação e diafanização dos fragmentos (Metgud *et al.*, 2013). O sucesso na leitura das lâminas se inicia na coleta e inclui a preparação das amostras, a fim de se evitar artefatos que prejudiquem a avaliação histopatológica (Nunes; Cinsa, 2016).

A coloração mais utilizada para avaliação histopatológica de tendões é a combinação de hematoxilina e eosina (HE), sendo que a hematoxilina cora em azul ou violeta o núcleo das células e outras estruturas ácidas, enquanto a eosina cora o citoplasma e o colágeno em cor-de-rosa. O procedimento inteiro, desde a fixação até a observação de um tecido em um microscópio de luz pode demorar de 12 a 48 horas, dependendo do tamanho do tecido, do fixador e do meio de inclusão utilizados (Junqueira e Carneiro, 2004).

Os modelos animais utilizados experimentalmente para subsidiar a compreensão da tendinopatia nos humanos devem permitir a reprodução de lesões que podem ser observadas, diagnosticadas e tratadas por um período determinado (Lake; Ansorge; Soslowsky, 2008). Para ser considerado como um modelo experimental para tendinopatia, o animal necessita reproduzir características clínicas, funcionais e histopatológicas da afecção em seres humanos (Lui *et al.*, 2011).

Devido à alta homogeneidade da amostra, os ratos são considerados modelos experimentais válidos quando se realiza uma pesquisa científica, sendo assim o estudo de protocolos com esses animais são extremamente relevantes (Ferreira *et al.*, 2005). Existem vários métodos de indução de tendinopatia em ratos, sendo o procedimento cirúrgico por tenotomia ou tenectomia e a administração de collagenase os mais utilizados (Silva *et al.*, 2013). Dessa forma, o objetivo desse estudo foi avaliar diferentes protocolos de coleta e preparo de lâminas do tendão calcâneo de ratos, com objetivo de estabelecer o melhor padrão de amostra e a melhor forma de preparo histológico.

2. MATERIAL E MÉTODOS

Este estudo foi aprovado pelo Departamento de Ciências Veterinárias (DCV), pelo Comitê Setorial de Pesquisa (CSP) e pela Comissão de Ética no Uso de Animais do Campus Palotina (CEUA – Palotina, n. 17/2020). O experimento foi realizado no Laboratório de Bem-estar de Vertebrados (LABEV) do Hospital Veterinário do Setor Palotina da Universidade Federal do Paraná. Foram utilizados 80 ratos da espécie *Rattus norvegicus albinus*, variedade Wistar, de 8 semanas de vida, que receberam ração peletizada apropriada para roedores de laboratório e água *ad libitum* e foram mantidos em caixas de polipropileno forradas com maravalha em ambiente mantido em temperatura de $22 \pm 2,0^{\circ}\text{C}$, no ciclo claro/escuro de 12 horas.

Os animais foram submetidos à eutanásia com overdose de isoflurano em uma cuba hermeticamente fechada. Após confirmação da morte, imediatamente procedeu-se a coleta das amostras tendíneas (Figura 1).



Figura 1: Coleta do tendão calcâneo para avaliação histopatológica em rato Wistar. Seta azul indicando tendão calcâneo de rato wistar

Fonte: Arquivo pessoal.

Para este estudo, foram utilizados ambos os tendões calcâneos (direito e esquerdo) de cada animal, totalizando 160 amostras. A inclusão bilateral foi adotada devido à comprovada simetria morfológica e histológica dos tendões pareados em ratos saudáveis, amplamente relatada na literatura, o que reduz substancialmente a influência do “efeito animal” sobre as variáveis analisadas.

O padrão de amostra para cada tendão foi selecionado de forma aleatória e os grupos divididos de acordo com o tipo de amostra coletada, presença ou não da pele e padrão de emblocamento em parafina. Portanto, foram estabelecidos 16 grupos experimentais:

- G1 (n=10): tendão calcâneo sem pele e o tendão no topo do bloco;
- G2 (n=10): tendão calcâneo sem pele e o tendão no fundo do bloco (invertido);
- G3 (n=10): tendão calcâneo com pele e o tendão no topo do bloco;
- G4 (n=10): tendão calcâneo com pele e o tendão no fundo do bloco (invertido);

- G5 (n=10): tendão calcâneo associado ao grupo muscular sem pele e o tendão no topo do bloco;
- G6 (n=10): tendão calcâneo associado ao grupo muscular sem pele e o tendão no fundo do bloco (invertido);
- G7 (n=10): tendão calcâneo associado ao grupo muscular com pele e o tendão no topo do bloco;
- G8 (n=10): tendão calcâneo associado ao grupo muscular com pele e o tendão no fundo do bloco (invertido);
- G9 (n=10): tendão calcâneo associado à articulação tíbio-társica sem pele e o tendão no topo do bloco;
- G10 (n=10): tendão calcâneo associado à articulação tíbio-társica sem pele e o tendão no fundo do bloco (invertido);
- G11 (n=10): tendão calcâneo associado à articulação tíbio-társica com pele e o tendão no topo do bloco;
- G12 (n=10): tendão calcâneo associado à articulação tíbio-társica com pele e o tendão no fundo do bloco (invertido);
- G13 (n=10): tendão calcâneo associado ao grupo muscular e à articulação tíbio-társica sem pele e o tendão no topo do bloco;
- G14 (n=10): tendão calcâneo associado ao grupo muscular e à articulação tíbio-társica sem pele e o tendão no fundo do bloco (invertido);
- G15 (n=10): tendão calcâneo associado ao grupo muscular e à articulação tíbio-társica com pele e o tendão no topo do bloco;
- G16 (n=10): tendão calcâneo associado ao grupo muscular e à articulação tíbio-társica com pele e o tendão no fundo do bloco (invertido).

O material coletado foi armazenado em solução de formol 10% e acondicionado em cassetes histológicos devidamente identificados na proporção mínima de 1:20 (tecido:volume de fixador), garantindo adequada penetração e preservação morfológica, para posterior processamento no Laboratório de Patologia Animal do Setor Palotina da UFPR. As amostras permaneceram em fixação na solução de formol 10% por 24 horas em temperatura ambiente e, posteriormente, foram submetidas ao processamento histológico convencional.

A desidratação foi conduzida em série crescente de etanol (70%, 80%, 90% e álcool absoluto I e II), seguida pela diafanização em xilol I e II, visando à completa remoção de lipídios e obtenção de adequada translucidez dos tecidos. Após essas etapas, os tendões foram submetidos à infiltração em parafina aquecida a 58–60 °C e, por fim, incluídos em blocos para posterior microtomia e coloração.

Na sequência, as amostras foram submetidas à inclusão em parafina, passando pelas soluções de parafina I e parafina II. Para finalizar o material foi para a emblocamento na central de inclusão e a placa resfriadora. Depois de pronto o material foi desemblocado e foi para a microtomia, onde foi cortado em espécimes de dois e cinco µm (mícrons). O material foi cortado, colocado em banho maria, posicionado na lâmina para microscopia e foi imediatamente identificado. Em seguida as lâminas voltaram para a estufa para que a parafina do corte derretesse.

Para garantir a orientação adequada do plano de corte, cada tendão foi identificado previamente com uma marcação superficial, indicando o eixo longitudinal do espécime. Durante a inclusão, essa marcação foi posicionada de modo padronizado em relação ao molde de parafina, o que assegurou que os cortes obtidos fossem reprodutíveis entre os grupos experimentais. Para os cortes longitudinais, o tendão foi orientado com o seu maior eixo paralelo à base do molde; para os cortes transversais, foi posicionado perpendicularmente a essa base. A escolha por posicionar o tendão no fundo do bloco seguiu recomendações técnicas para tecidos densamente colagenosos, uma vez que essa configuração favorece maior estabilidade durante a microtomia, reduzindo artefatos como ondulações, compressões e separação de fibras. Dessa forma, a padronização da orientação no momento da inclusão garantiu consistência morfológica e comparabilidade entre as lâminas produzidas.

As lâminas prontas foram coradas hematoxilina e eosina (Figura 2). A coloração de hematoxilina e eosina consiste na sequência: xilol puro I (desparafinização) por 15 minutos, xilol puro II (desparafinização) por 15 minutos, álcool absoluto (hidratação) por 5 minutos, álcool 90% (hidratação) por 5 minutos, álcool 70% (hidratação) por 5 minutos, lavagem em água corrente por 3 vezes, hematoxilina (coloração) por 50 minutos, água corrente (lavagem), eosina (coloração) por 30 segundos, água corrente (lavagem), álcool absoluto I (desidratação), álcool absoluto II (desidratação), álcool absoluto III (desidratação), álcool absoluto IV (desidratação), xilol I, xilol II, xilol III e xilol IV. Então

foi feita a montagem da lâmina com a lamínula com bálsamo e aguardou-se a secagem para posterior leitura.

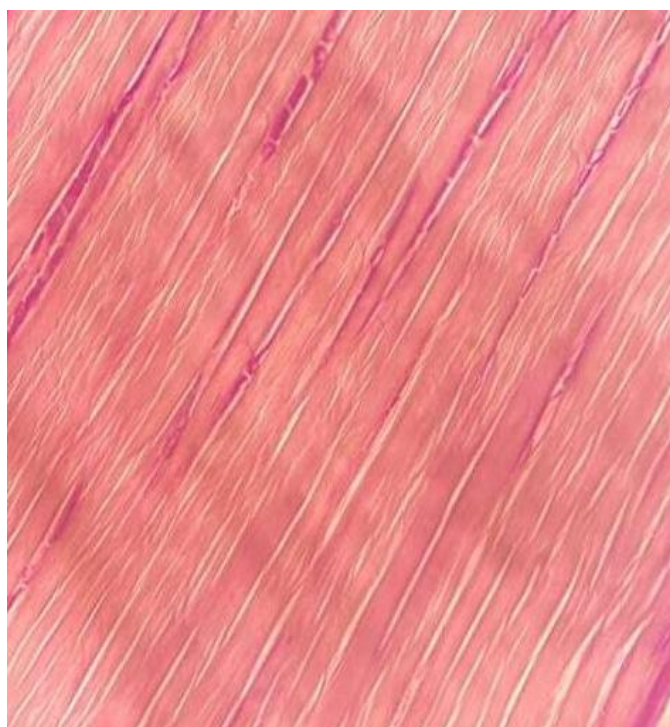


Figura 2: Avaliação histopatológica de tendão calcâneo de ratos Wistar em lâmina corada com hematoxilina e eosina na objetiva de 40X, ilustrando os diferentes escores utilizados na avaliação histológica. A imagem exemplifica: (A) presença de fibroblastos (escore 0 a 3), (B) arranjo das fibras de colágeno (escore 0 a 3), (C) disposição do estroma (escore 0 a 3) e (D) organização celular (escore 0 a 3). As regiões analisadas correspondem ao corpo do tendão (endotendão), avaliadas em campos histológicos selecionados aleatoriamente e livres de artefatos.

Fonte: Arquivo pessoal.

A avaliação histológica foi conduzida por dois patologistas veterinários experientes, atuando de forma independente e cega quanto aos grupos experimentais e às condições de preparo das amostras. Para cada lâmina, foram selecionados aleatoriamente três campos histológicos, desde que apresentassem adequada preservação da arquitetura tecidual e ausência de artefatos que pudessem comprometer a análise (como dobras, retrações, fissuras ou áreas de descolamento). Os escores atribuídos a cada variável foram derivados da observação sistemática desses campos por ambos os avaliadores, considerando-se as características predominantes em cada região analisada. Esse procedimento visou garantir maior reprodutibilidade, padronização das leituras e redução do risco de viés, fortalecendo a consistência dos resultados obtidos.

Para assegurar padronização entre as amostras, todas as variáveis foram avaliadas sempre na mesma região anatômica do tendão calcâneo, selecionada na porção média do corpo tendíneo. Os campos analisados foram escolhidos de forma equivalente entre os grupos, garantindo as variáveis fossem avaliadas em áreas comparáveis e tecnicamente reprodutíveis.

A randomização das amostras foi realizada por randomização simples, utilizando sequência numérica aleatória previamente gerada. Cada lâmina recebeu um código alfanumérico não identificável, de modo que sua origem e grupo experimental permanecessem ocultos aos avaliadores. Após a leitura microscópica, os escores atribuídos eram registrados em uma planilha eletrônica padronizada, que posteriormente era vinculada aos respectivos grupos apenas pelo pesquisador responsável pela alocação, garantindo a ocultação da sequência, a independência entre leitura e identificação da amostra e a redução de vieses durante todo o processo.

Foi realizada a leitura das lâminas em microscopia óptica (microscópio Olympus® CX41RF) em objetiva de 40X seguindo protocolo adaptado de Chen *et al.* (2014) para avaliar os escores de:

- Presença de fibroblasto, classificada em escores, sendo 0: ausente; 1: até 30%; 2: até 60%; 3: acima de 60%.
- Arranjo das fibras de colágeno, classificado em escores, sendo 0: ausente; 1: moderadamente soltas, onduladas e cruzadas umas sobre as outras; 2: ligeiramente soltas e onduladas; 3: compactadas e paralelas.
- Disposição do estroma, classificado em escores, sendo 0: ausente; 1: pouca quantidade; 2: moderada quantidade; 3: severa quantidade.
- Organização celular, classificada em escores, sendo 0: ausente; 1: ligeiramente organizado; 2: moderadamente organizado; 3: severamente organizado.

Para a análise estatística dos escores ordinais, aplicou-se o teste de Kruskal–Wallis, seguido do pós-teste de Dunn com $p < 0,05$ para comparações múltiplas. A correção para múltiplas comparações seguiu o procedimento padrão do software utilizado. A unidade experimental considerada foi o tendão avaliado individualmente.

3. RESULTADOS E DISCUSSÃO

Os dados foram analisados por métodos não paramétricos, utilizando-se o teste de Kruskal–Wallis, seguido do pós-teste de Dunn, adotando-se nível de significância de $p <$

0,05. Os valores de p obtidos nas comparações entre grupos e entre espessuras de corte foram apresentados diretamente nas tabelas, permitindo a identificação objetiva das diferenças estatisticamente significativas. Essa abordagem possibilita interpretação clara dos resultados sem a necessidade de marcações adicionais nas células, mantendo a consistência entre análise estatística e apresentação dos dados.

Segundo Chen *et al.* (2014) em tendinopatias, a avaliação histopatológica de lâminas coradas com eosina-hematoxilina é comumente utilizada para analisar a estrutura e arranjo das fibras de colágeno, o arredondamento do núcleo dos fibroblastos, inflamação, vascularização e densidade celular das células tendíneas, se fazendo necessário a obtenção de amostras de qualidade. No presente estudo a realização dessa coloração foi essencial para a avaliação precisa das amostras.

O tamanho amostral adotado neste estudo ($n = 10$ tendões por grupo) foi definido com base em trabalhos como o de Park *et al.* (2022) que utilizaram modelos experimentais semelhantes de avaliação histológica do tendão calcâneo em roedores, nos quais amostras variando entre 6 e 12 tendões por grupo demonstraram ser suficientes para detectar diferenças significativas em escores morfológicos ordinais.

Considerando que este estudo aplicou variáveis estruturais bem estabelecidas e avaliadas por observadores cegos, optou-se por $n = 10$ como valor capaz de fornecer poder estatístico adequado, sem ampliar desnecessariamente o número de animais utilizados, em conformidade com o princípio dos 3Rs proposto por Franco *et al.* (2023). Dessa maneira, embora um cálculo formal de poder não tenha sido conduzido previamente, o número adotado é consistente com a literatura e foi suficiente para identificar diferenças estatisticamente relevantes entre os grupos.

Na avaliação da presença de fibroblastos (Tabela 1), observou-se variação nos escores entre os diferentes grupos experimentais, independentemente da espessura do corte histológico. De forma descritiva, os grupos G3 e G4 apresentaram os maiores valores médios de escore tanto nos cortes de 5 μm quanto nos de 2 μm , indicando maior presença de fibroblastos nesses arranjos experimentais. Por outro lado, grupos como G8, G13 e G14 apresentaram escores numericamente mais baixos, sugerindo menor densidade fibroblástica. Embora a análise estatística não tenha identificado diferenças significativas entre as espessuras de corte dentro de cada grupo ($p > 0,05$), a análise global indicou diferença significativa entre os grupos experimentais, refletindo a influência do padrão de coleta e processamento sobre a distribuição dos fibroblastos.

Tabela 1: Escore de presença de fibroblastos na avaliação histológica nos cortes de 2 μm e 5 μm do tendão calcâneo de ratos Wistar.

GRUPOS	C5 (5 μm)	C2 (2 μm)	p
G1 (n=10)	1,4 $\pm$ 1,3	1,6 $\pm$ 1,4	0,7179
G2 (n=10)	1,6 $\pm$ 1,2	1,3 $\pm$ 0,87	0,6646
G3 (n=10)	2,8 $\pm$ 0,5	2,5 $\pm$ 0,58	0,537
G4 (n=10)	2,1 $\pm$ 0,9	1,7 $\pm$ 1,3	0,4765
G5 (n=10)	2,2 $\pm$ 0,67	1,7 $\pm$ 0,71	0,1056
G6 (n=10)	1,1 $\pm$ 0,9	1 $\pm$ 1,2	0,8006
G7 (n=10)	1,5 $\pm$ 0,84	1,7 $\pm$ 0,82	0,7342
G8 (n=10)	0,67 $\pm$ 1	0,44 $\pm$ 0,73	0,5971
G9 (n=10)	1,2 $\pm$ 0,92	1,1 $\pm$ 0,57	0,773
G10 (n=10)	1,3 $\pm$ 1,2	1,2 $\pm$ 1	0,8409
G11 (n=10)	1,5 $\pm$ 0,97	1,2 $\pm$ 0,79	0,4583
G12 (n=10)	1,3 $\pm$ 0,87	1,3 $\pm$ 0,5	1
G13 (n=10)	0,8 $\pm$ 0,63	1,1 $\pm$ 0,74	0,3419
G14 (n=10)	0,7 $\pm$ 0,67	0,7 $\pm$ 0,67	1
G15 (n=10)	1,4 $\pm$ 0,97	1,1 $\pm$ 0,88	0,4762
G16 (n=10)	2,1 $\pm$ 0,74	1,7 $\pm$ 0,82	0,2675
p	0,0016	0,0165	

Os grupos experimentais foram definidos a partir da combinação entre: presença de pele (com pele = C; sem pele = S), tipo de inserção tecidual (tendão isolado = T; tendão associado ao grupo muscular = TM; tendão associado à articulação tíbio-társica = TA; ou tendão associado simultaneamente ao grupo muscular e à articulação tíbio-társica = TMA) e posição do tendão no bloco (u = topo; d = fundo). Assim, os grupos foram: G1 – TSu; G2 – TSd; G3 – TCu; G4 – TCd; G5 – TMSu; G6 – TMSd; G7 – TMCu; G8 – TMCd; G9 – TASu; G10 – TASd; G11 – TACu; G12 – TACd; G13 – TMASu; G14 – TMASd; G15 – TMACu; G16 – TMACd.

Essas variações devem ser interpretadas como tendências descritivas, não permitindo inferências causais específicas entre os grupos avaliados. Para Talbott *et al.* (2022), a principal célula envolvida na cicatrização é o fibroblasto, os fibroblastos e fibrócitos são as células mais comuns do tecido conjuntivo. Representam, respectivamente, o estado ativo e o inativo do mesmo tipo celular. Quando estimulados adequadamente, como durante a cicatrização, os fibrócitos revertem-se para o estado de fibroblastos, e sua capacidade de síntese é reativada. Avaliar sua presença no presente estudo foi essencial para o diagnóstico de possíveis lesões associadas ao tecido conjuntivo.

Na análise do arranjo das fibras colágenas (Tabela 2), verificou-se variação nos escores entre os diferentes grupos experimentais, tanto nos cortes histológicos de 5 μm quanto nos de 2 μm . De maneira descritiva, os grupos G4 e G6 apresentaram os maiores valores médios de escore, sugerindo um arranjo mais desorganizado das fibras colágenas nesses padrões de coleta e processamento.

Tabela 2: Escore de arranjo das fibras de colágeno na avaliação histológica nos cortes de 2 e 5 microns de tendão calcâneo de rato Wistar.

GRUPOS	C5 (5 µm)	C2 (2 µm)	p
G1 (n=10)	1,4±1,3	1,3±1	0,8348
G2 (n=10)	2,2±1,1	2±1,1	0,6755
G3 (n=10)	1,3±1,3	1,5±1,3	0,7908
G4 (n=10)	2,6±0,53	2,6±0,79	1
G5 (n=10)	1,8±0,83	2,1±0,78	0,3944
G6 (n=10)	2,3±1,1	2,6±0,79	0,5893
G7 (n=10)	1,2±0,41	1,3±0,52	0,549
G8 (n=10)	1,4±0,53	1,8±0,67	0,2565
G9 (n=10)	1,6±0,7	1,2±0,79	0,2457
G10 (n=10)	1,2±0,92	1,1±0,99	0,818
G11 (n=10)	1,7±0,82	1,9±0,88	0,6051
G12 (n=10)	1,3±0,5	1,6±0,73	0,4607
G13 (n=10)	1,5±0,71	1,9±0,88	0,2758
G14 (n=10)	1,9±0,74	1,5±1,1	0,3464
G15 (n=10)	1,6±0,97	1,5±0,85	0,8086
G16 (n=10)	1,9±0,74	1,6±0,84	0,4083
p	0,0244	0,0262	

Os grupos experimentais foram definidos a partir da combinação entre: presença de pele (com pele = C; sem pele = S), tipo de inserção tecidual (tendão isolado = T; tendão associado ao grupo muscular = TM; tendão associado à articulação tíbio-társica = TA; ou tendão associado simultaneamente ao grupo muscular e à articulação tíbio-társica = TMA) e posição do tendão no bloco (u = topo; d = fundo). Assim, os grupos foram: G1 – TSu; G2 – TSd; G3 – TCu; G4 – TCd; G5 – TMSu; G6 – TMSd; G7 – TMCu; G8 – TMCd; G9 – TASu; G10 – TASd; G11 – TACu; G12 – TACd; G13 – TMA Su; G14 – TMA Sd; G15 – TMA Cu; G16 – TMA Cd.

Em contraste, grupos como G1, G8 e G13 apresentaram escores numericamente mais baixos, indicando melhor organização fibrilar. A comparação entre as espessuras de corte dentro de cada grupo não evidenciou diferenças estatisticamente significativas ($p > 0,05$). No entanto, a análise global apontou diferença significativa entre os grupos experimentais, indicando que o padrão de obtenção da amostra pode influenciar a avaliação do arranjo das fibras colágenas. Tais resultados devem ser interpretados de forma descritiva, uma vez que não foi identificada diferença estatística específica entre pares de grupos.

Para Shenoy *et al.* (2022) o colágeno é a proteína mais abundante do corpo, e está amplamente distribuído em todas as variedades de tecido conjuntivo, constituindo uma família de moléculas da qual mais de 28 tipos já são conhecidos. Dessa forma, as fibras de colágeno organizam-se paralelamente umas às outras, formando feixes de colágeno, sendo as fibras estruturas longas com percurso sinuoso; por causa disso, suas características morfológicas plenas são difíceis de serem estudadas em cortes histológicos.

Esses achados estão em consonância com o proposto por Fearon *et al.* (2014), que revisitaram o escore de Bonar como ferramenta padronizada para avaliação histológica de tendões e demonstraram que a região e a orientação das fibras colágenas influenciam diretamente a organização estrutural observada nos cortes histológicos. Dessa forma, a

padronização do plano de corte e da área avaliada é fundamental para garantir a reprodutibilidade e a adequada interpretação morfológica. No presente estudo, observou-se que os grupos G4 e G6 apresentaram, de forma descritiva, escores mais favoráveis de organização celular e arranjo do colágeno. Esse achado pode ser relacionado ao procedimento padronizado de posicionamento do tendão no bloco de parafina, previamente marcado e orientado para obtenção de cortes longitudinais reprodutíveis durante a microtomia, conforme descrito na metodologia. Em contraste, grupos como G1, G8 e G13 apresentaram escores numericamente mais elevados, possivelmente associados a variações residuais na orientação do tecido no momento do corte, favorecendo a ocorrência de artefatos histotécnicos e dificultando a avaliação morfológica. Essas observações reforçam a importância do controle da orientação fibrilar durante o preparo das amostras, sem, contudo, permitir inferências causais diretas entre os grupos avaliados.

A avaliação da disposição do estroma (Tabela 3) evidenciou variação nos escores entre os grupos experimentais, somente nos cortes de 2 μ m. De forma descritiva, os grupos G6 e G12 apresentaram os maiores valores médios de escore, sugerindo uma disposição estromal mais irregular nesses padrões de coleta e processamento. Por outro lado, grupos como G1, G8 e G13 demonstraram escores numericamente mais baixos, indicando melhor organização do estroma.

Tabela 3: Escore de disposição do estroma na avaliação histológica nos cortes de 2 μ m e 5 μ m do tendão calcâneo de ratos Wistar

GRUPOS	C5 (5 μ m)	C2 (2 μ m)	p
G1 (n=10)	1 $\pm$ 0,93	1,1 $\pm$ 1,1	0,8119
G2 (n=10)	1,3 $\pm$ 0,87	1,3 $\pm$ 0,71	1
G3 (n=10)	1,8 $\pm$ 0,96	2 $\pm$ 0,82	0,7049
G4 (n=10)	2,3 $\pm$ 0,95	2,4 $\pm$ 0,79	0,7647
G5 (n=10)	2,2 $\pm$ 0,67	1,6 $\pm$ 0,73	0,3256
G6 (n=10)	1,3 $\pm$ 0,76	2,6 $\pm$ 0,53	0,4301
G7 (n=10)	2,2 $\pm$ 0,41	1,8 $\pm$ 0,75	0,3628
G8 (n=10)	1,4 $\pm$ 1,1	1,7 $\pm$ 0,87	0,646
G9 (n=10)	1,6 $\pm$ 0,52	2 $\pm$ 0,47	0,0872
G10 (n=10)	1 $\pm$ 0,67	1,1 $\pm$ 1,1	0,8086
G11 (n=10)	1,8 $\pm$ 0,79	1,5 $\pm$ 0,71	0,3823
G12 (n=10)	1,7 $\pm$ 0,71	1,8 $\pm$ 0,67	0,7361
G13 (n=10)	1,3 $\pm$ 0,95	1,9 $\pm$ 0,99	0,1843
G14 (n=10)	1,7 $\pm$ 0,95	1,4 $\pm$ 1,1	0,5165
G15 (n=10)	1,6 $\pm$ 0,97	1,3 $\pm$ 0,82	0,4645
G16 (n=10)	1,9 $\pm$ 0,74	1,7 $\pm$ 0,82	0,5743
p	0,0648	0,0285	

Os grupos experimentais foram definidos a partir da combinação entre: presença de pele (com pele = C; sem pele = S), tipo de inserção tecidual (tendão isolado = T; tendão associado ao grupo muscular = TM; tendão associado à articulação tíbio-társica = TA; ou tendão associado simultaneamente ao grupo muscular e à articulação tíbio-társica = TMA) e posição do tendão no bloco (u = topo; d = fundo). Assim, os grupos foram: G1 – TSu; G2 – TSd; G3 – TCu; G4 – TCd; G5 – TMSu; G6 – TMSd; G7 – TMCu; G8 – TMCd; G9 – TASu; G10 – TASd; G11 – TACu; G12 – TACd; G13 – TMASu; G14 – TMASd; G15 – TMACu; G16 – TMACd.

A comparação entre as espessuras de corte não revelou diferenças estatisticamente significativas dentro dos grupos avaliados ($p>0,05$). No entanto, a análise global indicou diferença significativa entre os grupos experimentais, sugerindo que o modo de obtenção e preparo da amostra pode interferir na avaliação da disposição estromal. Essas diferenças devem ser interpretadas de maneira descritiva, sem atribuição de causalidade específica entre os grupos.

Para Jaworski *et al.* (2022) o estroma é composto por tecido conjuntivo frouxo, rico em matriz extracelular, vasos, nervos e células e fornece suporte estrutural essencial ao parênquima sendo fundamental para a integridade funcional do tendão. Esse fator corrobora o relatado por Tempfer e Traweger (2015), onde tendões saudáveis, a vascularização é escassa, sobretudo nos segmentos internos, sendo estruturalmente limitada ao peritendão e endotendão que mantém a arquitetura estável e reduz a chance de artefatos histológicos como inchaço ou edema. No presente estudo, observou-se de forma descritiva que os grupos G6 e G12, ao apresentarem estroma mais compacto e menos espaçado, provavelmente refletiram preservação da arquitetura normal e ausência de alterações inflamatórias. Já os piores escores em G1, G8 e G13 podem indicar orientações de corte ou desidratação inadequadas que favoreceram artefatos de tecido conectivo mais frouxo ou distorcido, prejudicando a visualização precisa da arquitetura histológica.

A análise da organização celular (Tabela 4) não demonstrou diferenças estatisticamente significativas entre os grupos experimentais, tanto nos cortes histológicos de 5 μm quanto nos de 2 μm ($p>0,05$). Da mesma forma, a comparação entre as espessuras de corte dentro de cada grupo não evidenciou diferenças significativas. Apesar da variação numérica observada nos escores médios entre os grupos, esses achados não permitem inferências comparativas, indicando que, para essa variável, os diferentes padrões de coleta e processamento não exerceram influência mensurável sobre a organização celular avaliada.

A organização celular do tendão reflete a disposição alinhada dos tenócitos e a manutenção paralela das fibras colágenas, elementos essenciais para a integridade funcional do tecido. Wang (2006) aponta que, em estudos histológicos de tendões, a predominância de colágeno tipo I, organizado em feixes compactos e paralelos, é crucial para garantir resistência à tração, enquanto a presença de colágeno tipo III e fibras elásticas contribui para a elasticidade e a resposta adaptativa do tendão. No presente

estudo, embora não tenham sido observadas diferenças estatisticamente significativas entre os grupos, a variação nos escores de organização celular pode refletir diferenças no processamento histológico, como a preservação da arquitetura fibrilar e celular. Grupos que apresentaram escores numéricos extremamente baixos, como G1 e G10, podem estar relacionados a artefatos gerados por orientações inadequadas durante o corte ou por preparação incorreta, o que prejudicou a visualização da organização celular e comprometeu a análise histológica do tendão.

Tabela 4: Escore de organização celular na avaliação histológica nos cortes de 2 μ m e 5 μ m do tendão calcâneo de ratos Wistar.

GRUPOS	C5 (5 μ m)	C2 (2 μ m)	p
G1 (n=10)	1 $\pm$ 0,93	0,75 $\pm$ 0,89	0,5899
G2 (n=10)	1,9 $\pm$ 1,2	1,7 $\pm$ 1,1	0,6854
G3 (n=10)	0,75 $\pm$ 0,96	1,8 $\pm$ 0,96	0,1901
G4 (n=10)	1,7 $\pm$ 0,49	1,7 $\pm$ 1,1	1
G5 (n=10)	1,6 $\pm$ 0,53	1,9 $\pm$ 0,78	0,3046
G6 (n=10)	2,1 $\pm$ 1,1	2,1 $\pm$ 0,69	1
G7 (n=10)	1,2 $\pm$ 0,41	1 $\pm$ 0,89	0,6867
G8 (n=10)	1 $\pm$ 0,87	1,3 $\pm$ 0,87	0,4262
G9 (n=10)	1,4 $\pm$ 0,84	1,4 $\pm$ 0,7	1
G10 (n=10)	0,9 $\pm$ 0,74	0,9 $\pm$ 0,88	1
G11 (n=10)	1,7 $\pm$ 0,95	1,6 $\pm$ 0,84	0,8061
G12 (n=10)	1,2 $\pm$ 0,83	1,6 $\pm$ 0,88	0,422
G13 (n=10)	0,9 $\pm$ 0,74	1,2 $\pm$ 0,79	0,3913
G14 (n=10)	1,3 $\pm$ 0,82	1 $\pm$ 0,82	0,424
G15 (n=10)	1,3 $\pm$ 0,67	1 $\pm$ 0,67	0,3306
G16 (n=10)	1,5 $\pm$ 0,85	1,3 $\pm$ 0,67	0,5673
p	0,0868	0,1031	

Os grupos experimentais foram definidos a partir da combinação entre: presença de pele (com pele = C; sem pele = S), tipo de inserção tecidual (tendão isolado = T; tendão associado ao grupo muscular = TM; tendão associado à articulação tíbio-társica = TA; ou tendão associado simultaneamente ao grupo muscular e à articulação tíbio-társica = TMA) e posição do tendão no bloco (u = topo; d = fundo). Assim, os grupos foram: G1 – TSu; G2 – TSd; G3 – TCu; G4 – TCd; G5 – TMSu; G6 – TMSd; G7 – TMCu; G8 – TMCd; G9 – TASu; G10 – TASd; G11 – TACu; G12 – TACd; G13 – TMA Su; G14 – TMA Sd; G15 – TMA Cu; G16 – TMA Cd.

Em um estudo recente reforça a relevância de modelos experimentais em ratos para a investigação de alterações estruturais e celulares em tendões. Vidal *et al.* (2024) demonstraram que modelos induzidos de tendinopatia em ratos são capazes de reproduzir, de forma consistente, características histopatológicas observadas em tendões humanos, como desorganização tecidual, alterações na celularidade e modificações na matriz extracelular. Esses achados evidenciam a importância do uso de modelos animais bem controlados e metodologicamente padronizados para a avaliação histológica do tecido tendíneo.

De modo geral, os resultados obtidos neste estudo evidenciam que variações aparentemente sutis nas etapas de coleta, posicionamento e processamento histológico do

tendão calcâneo podem influenciar de forma relevante a qualidade morfológica das lâminas e a interpretação dos escores histológicos. Embora nem todas as comparações tenham apresentado significância estatística, observou-se um padrão consistente de variação nos escores entre os diferentes protocolos avaliados, reforçando a importância do controle rigoroso das condições pré-analíticas e técnicas. A padronização dessas etapas mostra-se fundamental para minimizar a ocorrência de artefatos histotécnicos, garantir maior uniformidade na leitura microscópica e aumentar a confiabilidade dos dados obtidos, especialmente em estudos que utilizam modelos experimentais em roedores. Nesse contexto, a definição de protocolos claros e reproduzíveis contribui não apenas para a qualidade das análises histológicas, mas também para a comparabilidade entre estudos e para o fortalecimento do uso de modelos animais como ferramentas válidas na investigação de processos patológicos e no desenvolvimento de abordagens terapêuticas.

4. CONCLUSÃO

Conclui-se que o posicionamento do tendão calcâneo com pele no fundo do bloco apresentou, de forma descritiva, melhor preservação histológica. Não foram observadas diferenças estatisticamente significativas entre os cortes de 2 μ m e 5 μ m, indicando que a padronização do posicionamento do tecido e da orientação de corte constitui o principal fator determinante para a qualidade da avaliação histopatológica do tendão calcâneo.

REFERÊNCIAS

CHEN, L. *et al.* Tendon derived stem cells promote platelet-rich plasma healing in collagenase- induced rat achilles tendinopathy. **Cellular Physiology and Biochemistry**, v. 34, n. 6, p. 2153-2168, 2014.

FEARON, A. *et al.* The Bonar score revisited: region of evaluation significantly influences the standardized assessment of tendon degeneration. **Journal of Science and Medicine in Sport**, v. 17, n. 4, p. 346-350, 2014.

FERREIRA, L. M.; HOCHMAN, B.; BARBOSA, M. V. J. Modelos experimentais em pesquisa. **Acta Cirurgica Brasileira**, v. 20, p. 28-34, 2005.

FRANCO, N. H.; KERTON, A.; LEWIS, D. I. Education in laboratory animal science and the 3Rs. **Laboratory Animals**, v. 57, n. 2, p. 109-111, 2023.

GAUT, L. *et al.* Mechanical and molecular parameters that influence the tendon differentiation potential of C3H10T1/2 cells in 2D- and 3D-culture systems. **Biology Open**, 2020.

GAUT, L.; DUPREZ, D. Tendon development and diseases. **Wiley Interdisciplinary Reviews: Developmental Biology**, v. 5, n. 1, p. 5-23, 2016.

HAYER, S. *et al.* Tenosynovitis and osteoclast formation as the initial preclinical changes in a murine model of inflammatory arthritis. **Arthritis Rheumatology**, v. 56, n. 1, p. 79-88, 2007.

HOU, Y. *et al.* Effects of transforming growth factor- β 1 and vascular endothelial growth factor 165 gene transfer on Achilles tendon healing. **Matrix Biology**, v. 28, n. 6, p. 324-335, 2009.

JAWORSKI, Ł. *et al.* Advances in microscopic studies of tendinopathy: literature review and current trends, with special reference to neovascularization process. **Journal of Clinical Medicine**, v. 11, n. 6, p. 1572, 2022.

JUNQUEIRA, L. C.; CARNEIRO, J. **Histologia básica**. 7. ed. Rio de Janeiro: Guanabara Koogan, 2004.

KÖNIG, H. E.; LIEBICH, H. G. **Anatomia dos Animais Domésticos: Texto e Atlas Colorido**. Porto Alegre: Artmed, 2021.

LAKE, S. P.; ANSORGE, H. L.; SOSLOWSKY, L. J. Animal models of tendinopathy. **Disability and Rehabilitation**, v. 30, n. 20-22, p. 1530-1541, 2008. LUI, P. P. *et al.* What are the validated animal models for tendinopathy?. **Scandinavian Journal of Medicine & Science in Sports**, v. 21, n. 1, p. 3-17, 2011.

METGUD, R. *et al.* Conventional xylene and xylene-free methods for routine histopathological preparation of tissue sections. **Biotech Histochemistry**, v. 88, n. 5, p. 235-241, 2013.

NUNES, C. S.; CINSÁ, L. A. Princípios do processamento histológico de rotina. **Revista Interdisciplinar de Estudos Experimentais-Animais e Humanos**, v. 8, n. 1, 2016.

O'BRIEN, M. The anatomy of the Achilles tendon. **Foot and Ankle Clinics**, v. 10, n. 2, p. 225-238, 2005.

PARK, J. H. *et al.* Quantitative analysis of tendon histopathology using digital pathology in rat models with Achilles tendon injury. **Connective Tissue Research**, v. 63, n. 5, p. 463-474, 2022.

RALPHS, J. R.; WAGGETT, A. D.; BENJAMIN, M. Actin stress fibres and cell–cell adhesion molecules in tendons: organisation in vivo and response to mechanical loading of tendon cells in vitro. **Matrix Biology**, v. 21, p. 67-74, 2002.

SHENOY, M. *et al.* Collagen structure, synthesis, and its applications: A systematic review. **Cureus**, v. 14, n. 5, 2022.

SILVA, M. D. *et al.* Indução de tendinopatia aguda em ratos Wistar: modelo experimental. **Semantic Scholar**, 2013.

SOUZA, D. S. *et al.* Tendon vasculature in health and disease. **Frontiers in Physiology**, v. 6, p. 330, 2015.

TALBOTT, H. E. *et al.* Wound healing, fibroblast heterogeneity, and fibrosis. **Cell stem cell**, v. 29, n. 8, p. 1161-1180, 2022.

THEVENDRAN, G. *et al.* The ruptured Achilles tendon: a current overview from biology of rupture to treatment. **Musculoskeletal Surgery**, 2013.

UEDA, H. *et al.* Effect of collagen oligopeptide injection on rabbit tenositis. **Journal of Veterinary Medical Science**, v. 70, n. 12, p. 1295-1300, 2008.

VIDAL, L. *et al.* A novel tendon injury model, induced by collagenase administration combined with a thermo-responsive hydrogel in rats, reproduces the pathogenesis of human degenerative tendinopathy. **International journal of molecular sciences**, v. 25, n. 3, p. 1868, 2024.

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

WEARING, S. C. *et al.* The acute response of tendon to loading: implications for rehabilitation. **Journal of Foot and Ankle Research**, v. 4, suppl. 1, p. 13, 2011.

CONTRIBUIÇÃO DE AUTORIA

Fransael Franklyn Araújo da Silva: Concepção e delineamento do estudo, análise dos dados, redação do manuscrito e revisão crítica.

Andressa Aparecida da Silva: Coleta de amostras e preparo das lâminas e redação científica.

Amanda Bernardi: Coleta de amostras e preparo das lâminas e redação científica.

Mykael Chrystian Dreveck: Coleta de amostras e preparo das lâminas e redação científica.

Andressa Mott: Coleta de amostras e preparo das lâminas.

Carolina Fontana: Processamento de lâminas e interpretação dos resultados.

Aline De Marco Viott: Interpretação dos resultados e direcionamento científico.

Erica Cristina Bueno do Prado Guirro: Tabulação dos dados, interpretação dos resultados e direcionamento científico e redatório.