



# Estresse oxidativo e características ultrassonográficas do tendão anormal em jogadores de futebol de elite (um estudo piloto)

## *Oxidative Stress and Abnormal Tendon Sonographic Features in Elite Soccer Players (A Pilot Study)*

Michele Abate<sup>1</sup>  Luigi Di Carlo<sup>1</sup> Giulio Cocco<sup>2</sup> Antonino Cocco<sup>2</sup> Ernesto Sabatini<sup>1</sup> Vincenzo Salini<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Medical Facilities Delfino Pescara, Pescara, Itália

<sup>2</sup> Centro Analisi Biochimiche dello Sport, Via Renzetti, Lanciano (CH), Itália

Endereço para correspondência Michele Abate, MD, PhD, Serviços Médicos Delfino Pescara, 1936, Via Arrone 7, 65129, Pescara, Itália (e-mail: m.abate@unich.it).

Rev Bras Ortop 2021;56(4):432–437.

### Resumo

**Objetivo** Dados experimentais ultrassonográficos sugerem que o estresse oxidativo desempenha um papel importante na patogênese das tendinopatias. No entanto, essa hipótese permanece especulativa em humanos, dado que faltam dados clínicos para comprová-la. Recentemente, uma nova metodologia permitiu quantificar o estresse oxidativo *in vivo* medindo a concentração de hidroperóxidos de compostos orgânicos, que tem sido utilizada como um marcador relacionado ao estresse oxidativo em várias condições patológicas e fisiológicas. Dada a confiabilidade desse teste e a falta de informação em sujeitos com tendinopatias, o objetivo do presente estudo foi avaliar o status de estresse oxidativo em jogadores profissionais de elite com e sem características ultrassonográficas de dano tendinoso.

**Métodos** Em 73 jogadores de elite foram avaliados parâmetros metabólicos e o estresse oxidativo foi medido por meio de um teste específico (expresso como unidades U-Carr). Por isso, foi realizada uma avaliação ultrassonográfica dos tendões de Aquiles e patelar.

**Resultados** Não foram observadas relações significativas entre parâmetros metabólicos e biomarcadores de estresse oxidativo. Os tendões de Aquiles e patelar mostraram um padrão ecográfico normal em 58 atletas, e anormalidades ultrassonográficas em 15. Os atletas com alterações, em comparação com aqueles com quadro normal, apresentaram níveis significativamente mais elevados de U-Carr ( $p = 0,000$ ), índice de massa corporal (IMC) ( $p = 0,03$ ) e eram mais velhos ( $p = 0,005$ ). A diferença nos valores de U-Carr entre os sujeitos permaneceu significativa também após ajuste por idade e IMC.

**Conclusão** Os resultados deste estudo corroboram a hipótese de que as substâncias oxidativas, também aumentadas a nível sistêmico e não apenas a nível local, podem favorecer danos no tendão.

**Nível de Evidência** IV (estudo piloto).

### Palavras-chave

- ▶ tendão de Aquiles
- ▶ futebol
- ▶ estresse oxidativo
- ▶ tendão patelar
- ▶ ultrassonografia

### recebido

18 de Abril de 2020

### aceito

17 de Setembro de 2020

### Publicado on-line

Fevereiro 10, 2021

DOI <https://doi.org/10.1055/s-0040-1721364>.

ISSN 0102-3616.

© 2021. Sociedade Brasileira de Ortopedia e Traumatologia. All rights reserved.

This is an open access article published by Thieme under the terms of the Creative Commons Attribution-NonDerivative-NonCommercial-License, permitting copying and reproduction so long as the original work is given appropriate credit. Contents may not be used for commercial purposes, or adapted, remixed, transformed or built upon. (<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>)

Thieme Revinter Publicações Ltda., Rua do Matoso 170, Rio de Janeiro, RJ, CEP 20270-135, Brazil

**Abstract**

**Objective** Ultrasound experimental data suggest that oxidative stress plays an important role in the pathogenesis of tendinopathies. However, this hypothesis in humans remains speculative given that clinical data are lacking to confirm it. Recently, a new methodology has allowed to quantify the oxidative stress in vivo by measuring the concentration of hydroperoxides of organic compounds, which have been utilized as an oxidative stress-related marker in several pathologic and physiologic conditions. Given the reliability of this test and the lack of information in subjects with tendinopathies, the aim of the present study was to assess the oxidative stress status in elite professional soccer players with and without ultrasonographic features of tendon damage.

**Methods** In 73 elite players, blood metabolic parameters were evaluated and oxidative stress was measured by means of a specific test (expressed as U-Carr units). Therefore, an ultrasonographic evaluation of the Achilles and patellar tendons was performed.

**Results** No significant relationships were observed between metabolic parameters and oxidative stress biomarkers. The Achilles and patellar tendons showed a normal echographic pattern in 58 athletes, and sonographic abnormalities in 15. The athletes with ultrasonographic alterations, compared to those with normal US picture, showed significantly higher levels of U-Carr ( $p = 0.000$ ), body mass index (BMI) values ( $p = 0.03$ ) and were older ( $p = 0.005$ ). The difference in U-Carr values among the subjects remained significant also after adjustment for age and BMI.

**Conclusion** The results of the present study support the hypothesis that oxidative substances, also increased at systemic and not only at local level, may favor tendon damage.

**Level of Evidence** IV (pilot study).

**Keywords**

- ▶ Achilles tendon
- ▶ soccer
- ▶ oxydative stress
- ▶ patellar tendon
- ▶ ultrasonography

**Introdução**

Vários experimentos realizados em culturas celulares e animais mostram que o estresse oxidativo (EO) desempenha um papel importante na patogênese das tendinopatias.<sup>1</sup> De fato, a sobrecarga mecânica estimula a produção de espécies reativas de oxigênio (ERO), que, em combinação com estilo de vida e fatores hereditários, influenciam a integridade do tendão e contribuem para a degeneração.<sup>2</sup>

No entanto, apesar das evidências experimentais, essa hipótese em humanos permanece especulativa, dado que faltam dados clínicos para comprová-la. Recentemente, uma metodologia simples foi introduzida para avaliar as ERO no sangue. O teste Diacron - metabólitos reativos de oxigênio (d-ROMs) pode quantificar o EO medindo a concentração de hidroperóxidos de compostos orgânicos (lipídios, proteínas, ácidos nucleicos), e foi estabelecido como um marcador relacionado ao EO na clínica.<sup>3</sup>

Por meio desse método, um aumento do EO foi demonstrado em várias condições patológicas: insuficiência cardíaca, infarto agudo do miocárdio, hipertensão arterial, doença arterial periférica, insuficiência renal, eclâmpsia, artrite reumatoide, osteoartrite do joelho, fibrose pulmonar, leucemia linfática crônica, hipotireoidismo, hipopituitarismo, diabetes, dislipidemia, hiperuricemia, síndrome metabólica, obesidade, bem como em situações fisiológicas (envelhecimento, ciclo menstrual, menopausa, exercício estéril).<sup>4-19</sup>

Dada a confiabilidade do teste d-ROMs e a falta de informação em sujeitos com tendinopatias, o objetivo do presente estudo foi avaliar o status do EO em jogadores profissionais de futebol de elite com e sem características ultrasonográficas de dano tendinoso.

**Métodos**

Este estudo piloto observacional foi realizado de acordo com as normas éticas estabelecidas na Declaração de Helsinque de 1964 e suas alterações posteriores; foi obtido consentimento por escrito para a participação de cada paciente. Pela natureza do estudo, a aprovação do comitê de ética institucional não foi necessária.<sup>20</sup>

Jogadores de elite de futebol profissional (segunda divisão italiana), inscritos durante duas temporadas agonísticas consecutivas (2017-2018 e 2018-2019), participaram do estudo.

Na linha de base, foram coletados dados demográficos e antropométricos. A altura e o peso de cada participante foram medidos e o índice de massa corporal (IMC) foi então calculado. Foram realizados exames sanguíneos padrão, incluindo glicemia, colesterol total, colesterol de lipoproteína de alta densidade (HDL), triglicerídeos, ácido úrico e albumina. Amostras de sangue foram coletadas pela manhã, após jejum noturno, pelo menos 2 dias após um período de evasão de treinos ou jogos oficiais.

O teste d-ROMs foi realizado pelo Sistema Analítico Radical Livre (Diacron, Grosseto, Itália), conforme relatado anteriormente.<sup>3</sup> Resumidamente, em uma pipeta, 25 µL da amostra de soro foi misturado com uma solução tamponada com ácido acético (pH 4,8), e substrato cromogênico foi adicionado à mistura. A mistura foi então centrifugada e incubada no bloco termostático do sistema. A absorvência foi registrada em 505 nm. A medição é expressa em U Carr, onde 1 U Carr corresponde a 0,08 mg/dl H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> (peróxido de hidrogênio).

Portanto, os jogadores foram submetidos a uma avaliação de ultrassonografia (US) e color Doppler (CD) de tendões de Aquiles e patelares, utilizando um transdutor linear de alta resolução, multifrequência (6–15 MHz) (MyLab 30 Gold, Esaote, Genova, Itália). Seguindo o protocolo padrão, foram realizadas<sup>21</sup> varreduras longitudinais e transversais de ambos os tendões. A presença de espessamento hipo- ou hiperecoico não homogêneo, difuso ou focal, do tendão, associado à perda do padrão fibrilar normal e/ou irregularidade das margens tendinosas, foi considerada como sinal de degeneração.

De acordo com uma classificação arbitrária, mas adequada para fins clínicos, com base nas anormalidades estruturais, os tendões foram então estratificados pela gravidade como “leve” (uma área de ecotextura desorganizada, ou seja, área não homogênea focal com perda de padrão fibrilar), “moderada” (algumas áreas de ecotextura desorganizada, ou seja, danos hipo ou hiperecoicos não homogêneos com padrão fibrilar alterado) e “grave” (ecotextura difusa e áreas hipo ou hiperecoicas com irregularidade de margens tendinosas e/ou calcificações).<sup>21</sup>

A presença de neovascularização foi investigada por meio de CD e classificada como (0), (1+), (2+), (3+) segundo estimativa semi-quantitativa do número de vasos. Quando nenhum vaso era visível, a estimativa era 0. Quando havia um ou dois pequenos vasos, principalmente na parte anterior do tendão, a estimativa era (+1). Quando havia vários vasos irregulares em todo o tendão, a estimativa era (+2) para (+3).<sup>21</sup> Para evitar artefatos, a sensibilidade foi otimizada para baixo fluxo e o ganho foi definido logo abaixo do nível de ruído.

### Análise Estatística

Utilizando-se o coeficiente de correlação de Pearson, foi avaliada a relação entre as unidades U Carr e as variáveis antropométricas e bioquímicas. Portanto, os sujeitos foram divididos em dois grupos (com e sem lesões em USs) e comparados. Os dados são relatados como média ± desvio padrão. O teste t de Student de duas amostras foi utilizado para comparar variáveis contínuas, quando a distribuição dos dados foi normal; o teste de soma da classificação de Wilcoxon foi usado de outra forma. O nível de significância foi determinado em  $p < 0,05$ .

### Resultados

Setenta e três jogadores foram incluídos no estudo. Dados antropométricos e laboratoriais são mostrados na ► **Tabela 1**. Não foi observada relação significativa entre esses parâmetros e os biomarcadores do EO. A avaliação das USs dos tendões de Aquiles e patelares mostrou um padrão ecográ-

**Tabela 1** Características demográficas, antropométricas e metabólicas dos participantes

	Média ± DP	Correlação com U-Carr (valor de r)
Idade (anos)	25,3 ± 5,1	0,1171
Altura (cm)	182,1 ± 5,7	0,0451
Peso (kg)	75,1 ± 5,2	0,0317
IMC	22,6 ± 1,2	0,1004
Glicemia (mg/dL)	76,6 ± 9,5	0,0291
Ácido úrico (mg/dL)	5,5 ± 0,7	0,0738
Total de colesterol (mg/dL)	173,1 ± 26,8	0,1178
Colesterol HDL (mg/dL)	55,7 ± 11,1	0,1295
Triglicerídeos (mg/dL)	83,7 ± 46,5	0,0819
Albumina (g/dL)	4,5 ± 2,3	0,0886
Estresse oxidativo (U-Carr)	320,1 ± 67	

Abreviaturas: DP, desvio padrão; HDL, *high-density lipoprotein*; IMC, índice de massa corporal.

fico normal em 58 atletas, e anormalidades ultrassonográficas em 15 (10 Aquiles e 5 patelares [9 leves e 6 moderados]).

Neovasos foram encontrados em 4 atletas (grau 1 em 3 jogadores, grau 2 em 1). Desses 15 indivíduos, 4 sofreram de tendinopatia anteriormente, mas foram completamente curados após tratamentos conservadores.

Conforme mostrado na ► **Tabela 2**, os atletas com lesões em USs, em comparação com aqueles com quadro normal na US, eram mais velhos ( $p = 0,005$ ) e apresentaram níveis significativamente mais elevados de U Carr ( $p = 0,000$ ) e valores de IMC ( $p = 0,03$ ). A diferença na U Carr permaneceu significativa também após ajuste por idade e IMC.

### Discussão

Tendinopatias reconhecem vários fatores etiopatogenéticos. Em particular, a sobrecarga mecânica, por meio do metabolismo aumentado, hipertermia e isquemia repetitiva/reperfusão, pode expor os tendões ao EO. Outra possibilidade é a de que os tendões sejam indiretamente influenciados por mudanças no metabolismo ERO em outros tecidos próximos, como no exercício dos músculos. De fato, os músculos em repouso geram superóxido intracelular e extracelular, com a produção de ambos sendo aprimorada durante a contração.<sup>1,22</sup> Por sua vez, o EO, em combinação com estilo de vida e fatores hereditários, pode orquestrar a degeneração do tendão.<sup>2</sup>

Vários experimentos realizados em animais e culturas celulares apoiam a hipótese do EO. Ratos submetidos a lesão da janela patelar nas semanas pós-operatórias 3 a 5 receberam três injeções subcutâneas semanais de H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> no tendão. Na semana 6, espécimes foram colhidos para histologia. Em comparação com os controles que receberam soro fisiológico, os ratos

**Tabela 2** Características demográficas, antropométricas e metabólicas de jogadores com e sem alterações nos US

	Alteração na US	Sem alterações na US	P
Quantidade	15	58	
Idade (anos)	28,6 ± 5,9	24,5 ± 4,5	0,005
Altura (cm)	180,2 ± 5,3	182,6 ± 5,8	0,1
Peso (kg)	74,7 ± 4,8	75,2 ± 5,4	0,7
IMC	23,2 ± 1	22,5 ± 1,2	0,03
Glicemia (mg/dL)	80,6 ± 8,1	75,6 ± 9,6	0,06
Ácido úrico (mg/dL)	5,8 ± 6	5,5 ± 7,6	0,1
Colesterol total (mg/dL)	183,9 ± 17,9	170 ± 28,2	0,08
HDL Colesterol (mg/dL)	56,5 ± 13,5	55,5 ± 10,5	0,7
Triglicerídeos (mg/dL)	95,2 ± 85,8	80,8 ± 29,7	0,2
Albumina (g/dL)	4,5 ± 2,1	4,5 ± 0,2	0,6
Estresse oxidativo (U-Carr)	393 ± 65,5	301,3 ± 53,5	0,000*

Abreviaturas: HDL, high-density lipoprotein; IMC, índice de massa corporal; US, ultrassonografia.

\*p = idade e IMC ajustados.

tratados com H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> apresentaram cicatrização do tendão prejudicada e desenvolveram alterações tendinopáticas.<sup>23</sup>

Guaraldo et al.<sup>24</sup> submetem ratos jovens e velhos ao exercício de natação, e encontraram uma atividade de EO aumentada, e ainda mais acentuada em animais velhos. Yuan et al.,<sup>25</sup> expondo fibroblastos do tendão do manguito rotador humano cultivados a H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> para criar uma situação *in vitro* de EO, observaram apoptose pronunciada, através de várias vias, incluindo a liberação de citocromo-c de mitocôndrias a citosol e a ativação de caspase-3.

Nos experimentos de Lee,<sup>26</sup> as células-tronco derivadas do tendão foram expostas a danos oxidativos. O H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> promoveu apoptose, reprimiu a viabilidade e migração das células suprimidas, e inibiu a clonogenicidade; a pro-antocianina teve efeito protetor, mediado por uma expressão aumentada de subunidade regulatória de ligase glutamate-cisteia, hemoxigenase-1, e NADPH: quinona oxidoreductase através da via de sinalização Nrf-2.<sup>27</sup>

Um estudo elegante de Chen et al.<sup>28</sup> mostrou que o tratamento H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> de células-tronco do tendão humano resultou no acúmulo e perda de capacidade de autorrenovação das ERO, tronco celular e capacidade de diferenciação. A fome e o inibidor mTOR aumentaram a atividade autofágica, reduziram a geração de ERO e mantiveram a capacidade de autoconexão, hasteamento celular e a capacidade de diferenciação. Além disso, esses efeitos protetores da fome e da rapamicina foram

reduzidos pela inibição da autofagia. Esses resultados indicam que a autofagia protegeu as células-tronco do tendão humano contra danos induzidos pelo sistema através da supressão do acúmulo de ERO.

Esses estudos apoiam a hipótese de que o EO é deletério para recrutamento celular e cura de tendões, o que explica por que a suplementação antioxidante em estágios iniciais é benéfica.<sup>27</sup>

Apesar das evidências experimentais, aplicar a hipótese do EO às tendinopatias clínicas permanece especulativo, uma vez que faltam dados em humanos. O teste d-ROMs permite quantificar o EO *in vivo* e tem sido usado com sucesso em uma ampla gama de condições patológicas e fisiológicas: insuficiência cardíaca, infarto agudo do miocárdio, hipertensão arterial, doença arterial periférica, insuficiência renal, eclâmpsia, artrite reumatoide, osteoartrite do joelho, fibrose pulmonar, leucemia linfática crônica, diabetes, dislipidemia, hiperuricemia, obesidade, síndrome metabólica, hipotireoidismo, hipopituitarismo, envelhecimento, ciclo menstrual e menopausa.<sup>4-19</sup> Em relação à presente pesquisa, é importante observar que o aumento do EO foi encontrado durante o exercício extenuante.<sup>13,16</sup>

Nosso estudo é o primeiro, de nosso conhecimento, que aborda a relação entre os transtornos dos sistemas operacional e tendinoso em humanos. Em atletas pertencentes a uma equipe profissional de futebol, descobrimos que o EO não estava relacionado à idade nem à glicemia, colesterol total e HDL, triglicerídeos, ácido úrico e albumina. Embora a literatura reporte aumento do EO em pessoas idosas<sup>17,22</sup> e em indivíduos com níveis sanguíneos aumentados de parâmetros metabólicos,<sup>12,13,16</sup> essa relação não pode ser aplicada aos nossos atletas, cujos parâmetros bioquímicos, de acordo com Tamae et al.,<sup>29</sup> caíram em uma pequena gama de valores juvenis.

O principal achado do presente estudo foi a observação de níveis mais elevados de EO em jogadores com anormalidades ultrassonográficas no tendão. Este resultado sustenta a hipótese de que as substâncias oxidativas, também aumentadas a nível sistêmico e não apenas a nível local, podem favorecer danos no tendão. A origem dos níveis de ERO sanguíneos aumentados permanece evasiva. Supomos que o uso excessivo atlético contribuiu para a produção de ERO, uma vez que os atletas com anormalidades ultrassonográficas eram mais velhos em comparação com aqueles com um padrão normal na US e, portanto, tinham submetido seus músculos e tendões a exercícios extenuantes por mais anos. Neste quadro, poderiam ser incluídos os maiores valores do IMC, devido ao aumento da carga nos tendões inferiores dos membros.<sup>2</sup> Alternativamente, pode-se supor que o EO possa estar relacionado a um déficit de enzimas antioxidantes, como dismutase de superóxido, glutatona peroxidase e catalase.<sup>29</sup> De fato, as ERO normalmente são produzidas por músculos e tendões e desempenham um papel fisiológico (ou seja, sinalização celular), mas quando ocorre um desequilíbrio entre os sistemas, seu nível aumenta e elas funcionam como agressores.

Considerando-se tudo, deve-se ressaltar que a observação das anormalidades dos US não significa *em si* uma patologia clínica. De fato, essas lesões não implicam um certo risco para

futuras tendinopatias sintomáticas, podem permanecer estáveis e, às vezes, podem regredir à normalidade.<sup>30</sup>

Dada a presença de várias limitações, a especulação acima deve ser vista com crítica e cautela, e os resultados devem ser considerados preliminares. O tamanho da amostra era pequeno e o desenho era transversal; como apenas os homens foram incluídos, os resultados não podem necessariamente ser extrapolados para as mulheres.

A avaliação das USs foi realizada por um único pesquisador e isso pode ser um fator limitante porque há um componente de subjetividade inerente à metodologia das USs. No entanto, todos os exames norte-americanos foram realizados por um médico com 15 anos de experiência em metodologia ultrasonográfica musculoesquelética. Assim, foi demonstrado que a confiabilidade dos inter-observadores para a detecção de achados patológicos tendinosos é excelente.<sup>22</sup>

Finalmente, e mais importante, não foi realizada a medição dos níveis sanguíneos de antioxidantes, e de marcadores de EO que não d-ROMs.

Por essas razões, o presente estudo deve ser considerado piloto, o que, no entanto, abre caminho para uma pesquisa mais aprofundada. Na verdade, ele precisa de confirmação de um teste prospectivo em uma população maior, medindo marcadores adicionais, principalmente aqueles que exploram o status antioxidante individual. Caso nossos resultados sejam confirmados, será possível atingir um subconjunto de indivíduos nos quais o EO desempenha um papel patogênico na degeneração do tendão. Além disso, seria interessante avaliar se esses indivíduos poderiam se beneficiar de uma suplementação antioxidante, cuja eficácia foi claramente demonstrada em diferentes condições e em exercícios extenuantes.<sup>31</sup>

## Conclusão

Os resultados do presente estudo corroboram a hipótese de que as substâncias oxidativas, também aumentadas a nível sistêmico e não apenas a nível local, podem favorecer danos no tendão.

### Nota

O presente trabalho foi desenvolvido no Delfino Training Center (Città Sant'Angelo [Pescara]) e Centro Analisi Biochimiche dello Sport, (Lanciano [Chieti]), Itália.

### Suporte Financeiro

Não houve suporte financeiro de fontes públicas, comerciais, ou sem fins lucrativos.

### Conflito de Interesses

Os autores não têm conflito de interesses para declarar.

## Referências

- Bestwick CS, Maffulli N. Reactive oxygen species and tendinopathy: do they matter? *Br J Sports Med* 2004;38(06):672–674
- Abate M, Silbernagel KG, Siljeholm C, et al. Pathogenesis of tendinopathies: inflammation or degeneration? *Arthritis Res Ther* 2009;11(03):235
- Kilk K, Meitern R, Härmson O, Soomets U, Hörak P. Assessment of oxidative stress in serum by d-ROMs test. *Free Radic Res* 2014;48(08):883–889
- Hitsumoto T. Efficacy of the Reactive Oxygen Metabolite Test as a Predictor of Initial Heart Failure Hospitalization in Elderly Patients With Chronic Heart Failure. *Cardiol Res* 2018;9(03):153–160
- Hirata Y, Yamamoto E, Tokitsu T, et al. The Pivotal Role of a Novel Biomarker of Reactive Oxygen Species in Chronic Kidney Disease. *Medicine (Baltimore)* 2015;94(25):e1040
- Nakajima A, Aoki Y, Shibata Y, et al. Identification of clinical parameters associated with serum oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 2014;24(06):926–930
- Kotani K, Sakane N, Kamimoto M, Taniguchi N. Levels of reactive oxygen metabolites in patients with knee osteoarthritis. *Australas J Ageing* 2011;30(04):231–233
- Matsuzawa Y, Kawashima T, Kuwabara R, et al. Change in serum marker of oxidative stress in the progression of idiopathic pulmonary fibrosis. *Pulm Pharmacol Ther* 2015;32:1–6
- D'Arena G, Seneca E, Migliaccio I, et al. Oxidative stress in chronic lymphocytic leukemia: still a matter of debate. *Leuk Lymphoma* 2019;60(04):867–875
- Cornelli U, Belcaro G, Cesarone MR, Finco A. Analysis of oxidative stress during the menstrual cycle. *Reprod Biol Endocrinol* 2013; 11:74
- Suzuki K, Yanagi K, Shimizu M, et al. Effect of growth hormone replacement therapy on plasma diacron-reactive oxygen metabolites and endothelial function in Japanese patients: The GREAT clinical study. *Endocr J* 2018;65(01):101–111
- Kotani K, Tsuzaki K, Taniguchi N, Sakane N. Correlation between reactive oxygen metabolites & atherosclerotic risk factors in patients with type 2 diabetes mellitus. *Indian J Med Res* 2013; 137(04):742–748
- Kotani K, Tsuzaki K, Sakane N, Taniguchi N. The Correlation Between Small Dense LDL and Reactive Oxygen Metabolites in a Physical Activity Intervention in Hyperlipidemic Subjects. *J Clin Med Res* 2012;4(03):161–166
- Chida R, Hisauchi I, Toyoda S, et al. Impact of irbesartan, an angiotensin receptor blocker, on uric acid level and oxidative stress in high-risk hypertension patients. *Hypertens Res* 2015;38(11):765–769
- Kotani K, Yamada T. Oxidative stress and metabolic syndrome in a Japanese female population. *Australas J Ageing* 2012;31(02): 124–127
- Bianchi VE, Ribisl PM. Reactive Oxygen Species Response to Exercise Training and Weight Loss in Sedentary Overweight and Obese Female Adults. *J Cardiopulm Rehabil Prev* 2015;35(04): 263–267
- Schöttker B, Brenner H, Jansen EH, et al. Evidence for the free radical/oxidative stress theory of ageing from the CHANCES consortium: a meta-analysis of individual participant data. *BMC Med* 2015;13:300
- Cornelli U, Belcaro G, Ledda A, Feragalli B. Oxidative stress following administration of levothyroxine in subjects suffering from primary hypothyroidism. *Panminerva Med* 2011;53(03, Suppl 1):95–98
- Chen JT, Kotani K. Serum  $\gamma$ -glutamyltranspeptidase and oxidative stress in subjectively healthy women: an association with menopausal stages. *Aging Clin Exp Res* 2016;28(04):619–624
- Kıraç FS. Is Ethics Approval Necessary for all Trials? A Clear But Not Certain Process. *Mol Imaging Radionucl Ther* 2013;22(03): 73–75
- Sunding K, Fahlström M, Werner S, Forssblad M, Willberg L. Evaluation of Achilles and patellar tendinopathy with greyscale ultrasound and colour Doppler: using a four-grade scale. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2016;24(06):1988–1996
- Buonocore D, Rucci S, Vandoni M, Negro M, Marzatico F. Oxidative system in aged skeletal muscle. *Muscles Ligaments Tendons J* 2012;1(03):85–90



- 23 Fu SC, Yeung MY, Rolf CG, Yung PS, Chan KM, Hung LK. Hydrogen peroxide induced tendinopathic changes in a rat model of patellar tendon injury. *J Orthop Res* 2018;36(12):3268–3274
- 24 Guaraldo SA, Serra AJ, Amadio EM, et al. The effect of low-level laser therapy on oxidative stress and functional fitness in aged rats subjected to swimming: an aerobic exercise. *Lasers Med Sci* 2016;31(05):833–840
- 25 Yuan J, Murrell GA, Trickett A, Wang MX. Involvement of cytochrome c release and caspase-3 activation in the oxidative stress-induced apoptosis in human tendon fibroblasts. *Biochim Biophys Acta* 2003;1641(01):35–41
- 26 Lee YW, Fu SC, Yeung MY, Lau CML, Chan KM, Hung LK. Effects of Redox Modulation on Cell Proliferation, Viability, and Migration in Cultured Rat and Human Tendon Progenitor Cells. *Oxid Med Cell Longev* 2017;2017:8785042
- 27 Sun W, Meng J, Wang Z, et al. Proanthocyanidins Attenuation of H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-Induced Oxidative Damage in Tendon-Derived Stem Cells via Upregulating Nrf-2 Signaling Pathway. *BioMed Res Int* 2017;2017:7529104
- 28 Chen H, Ge HA, Wu GB, Cheng B, Lu Y, Jiang C. Autophagy Prevents Oxidative Stress-Induced Loss of Self-Renewal Capacity and Stemness in Human Tendon Stem Cells by Reducing ROS Accumulation. *Cell Physiol Biochem* 2016;39(06):2227–2238
- 29 Tamae K, Eto T, Aoki K, et al. Analyses of associations between reactive oxygen metabolites and antioxidant capacity and related factors among healthy adolescents. *Curr Aging Sci* 2013;6(03):258–265
- 30 McAuliffe S, McCreesh K, Culloty F, Purtill H, O'Sullivan K. Can ultrasound imaging predict the development of Achilles and patellar tendinopathy? A systematic review and meta-analysis. *Br J Sports Med* 2016;50(24):1516–1523
- 31 Stepanyan V, Crowe M, Haleagrahara N, Bowden B. Effects of vitamin E supplementation on exercise-induced oxidative stress: a meta-analysis. *Appl Physiol Nutr Metab* 2014;39(09):1029–1037