



FACULTAD DE MEDICINA

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

GRADO EN MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO

Utilización de Células Madre Mesenquimales en el tratamiento de tendinopatías. Revisión de los modelos animales experimentales publicados.

Use of Mesenchymal Stem Cells as a treatment for tendinopathies. Revision of published experimental animal models.

Autor: Rodrigo Infante Alonso

Directoras:

Prfa.Dra. Flor M^a. Pérez Campo

Dra. Ana Alfonso Fernández

Santander, Junio 2021

ÍNDICE

1- ABSTRACT	1
2- OBJETIVOS	2
3- METODOLOGÍA.....	2
4- INTRODUCCIÓN	3
4.1. Histología y estructura.....	3
4.2. Tipos celulares presentes en la estructura del tendón.	4
4.3. Tipos de tendones	5
4.4. Entesis.....	6
4.5. Tejidos que se sitúan alrededor de los tendones (vainas sinoviales, almohadillas grasas, líquido sinovial, bursas)	8
5- PATOLOGÍA TENDINOSA.....	10
5.1. Tipos de lesiones tendinosas	10
5.1.1. Agudas:	10
5.1.2. Crónicas:	10
5.2. Enfermedades sistémicas que pueden afectar a los tendones. Entesitis	11
5.3. El proceso de reparación tendinosa	12
5.3.1. Roturas agudas	12
5.3.2. Lesiones crónicas	13
5.3.3. Tendinopatía Aquilea:	14
5.3.4. Tendinopatía rotuliana:	15
5.3.5. Epicondilitis lateral:	15
5.3.6. Manguito rotador:	16
5.3.7. Calcificaciones	16
6- TERAPIAS REGENERADORAS PARA EL TRATAMIENTO DE LAS TENDINOPATÍAS	20

6.1.	Terapias libres de células regeneradoras.....	20
6.2.	Nuevas terapias para el tratamiento de las tendinopatías: Células Madre Mesenquimales. Biología y propiedades regenerativas.....	23
6.3.	Actualización de los tratamientos para las tendinopatías agudas y crónicas publicados.....	26
6.3.1.	Aspirados de médula ósea:	26
7-	PRINCIPIOS DE MODELOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN.....	26
8-	MODELOS DE EXPERIMENTACIÓN DESCRITOS PARA LA EVALUACIÓN DE CMM EN TENDINOPATÍAS CRÓNICAS.....	29
8.1.	Modelos de tendinopatías.....	29
8.1.1.	Roedores (ratas y ratones)	29
8.1.2.	Conejos	35
8.1.3.	Ovejas	37
8.2.	Modelos de tratamiento con CMM.....	39
8.2.1.	Ratones.....	39
8.2.2.	Conejos	42
8.2.3.	Ovejas	43
	CONCLUSIONES.....	45
	AGRADECIMIENTOS.....	46
	LISTADO DE ABREVIATURAS	47
	BIBLIOGRAFÍA	49

1- RESUMEN

Los tratamientos convencionales para las tendinopatías, tales como rehabilitación, antiinflamatorios no esteroideos, infiltraciones con corticoides, ácido hialurónico, o Plasma Rico en Plaquetas, no consiguen el alivio de los síntomas y la regeneración del tendón en todos los pacientes. Las tendinopatías tienen una prevalencia muy relevante en la población general y, además, generan gran morbilidad. La investigación es muy necesaria para avanzar en la puesta a punto de terapias que puedan conseguir una regeneración eficiente del tejido tendinoso. La aplicación de los conocimientos actuales sobre células madre mesenquimales al tratamiento de las tendinopatías es una de las líneas de investigación más prometedoras. Para la investigación en tendinopatías es necesario el uso de modelos animales que nos permitan recrear las condiciones de las tendinopatías humanas y evaluar los resultados de los tratamientos.

PALABRAS CLAVE: tendinopatía, células madre mesenquimales, animales de experimentación.

ABSTRACT

Conventional treatments for tendinopathy, such as physiotherapy, antiinflammatory drugs, injections with steroids, hyaluronic acid or Platelet Rich Plasma, do not achieve successful symptoms relief and/or tissue regeneration in all patients. Tendinopathies are a prevalent pathology which generates relevant morbidity in the general population. Application of Basic research to this particular field is of the utmost importance to progress toward techniques that could achieve effective tendon tissue regeneration. Applying the new knowledge in the Mesenchymal Stem Cells field on the treatment of tendinopathies is currently the most promising line of investigation. The use of experimental animal models is key in the search for new tendinopathy therapies since these models allow us to recapitulate human tendinopathy conditions and to evaluate the effectiveness of the treatments.

KEY WORDS: tendinopathy, mesenchymal stem cells, experimental animal models.

2- OBJETIVOS

El objetivo principal de este trabajo es realizar una revisión bibliográfica y actualización sobre los tratamientos disponibles para tratar las tendinopatías. Sobre todo, se ha focalizado la búsqueda sobre las aplicaciones de la medicina regenerativa en este campo: uso de factores de crecimiento, células madre mesenquimales y otros.

Además, se ha realizado una revisión de los métodos quirúrgicos y no quirúrgicos utilizados para desarrollar modelos experimentales de tendinopatías. La revisión se ha centrado sobre todo en los modelos que han demostrado ser más fácilmente extrapolables al estudio de tendinopatías humanas.

Por último, se ha realizado una revisión bibliográfica sistemática de los modelos experimentales animales en los que se han utilizado células madre mesenquimales en el tratamiento de las tendinopatías.

3- METODOLOGÍA

La revisión sistemática y actualización de la bibliografía en las tendinopatías se hace muy necesaria, ya que hay publicados multitud de artículos con escaso nivel de evidencia. Necesitamos conocer qué tratamientos han demostrado suficiente eficacia, para poder ofrecerlos con garantías a nuestros pacientes.

En el presente trabajo se ha procurado utilizar capítulos de libros y artículos publicados en los últimos 5 años. Los capítulos de libros se han obtenido a partir de la base de datos “*ClinicalKey*”, incluyendo la última edición del Tratado SECOT de Cirugía Ortopédica y Traumatología.

Los artículos se han obtenido de la base de datos de artículos “*PubMed*”. Para la búsqueda se utilizaron las palabras clave *tendinopathy*, *tendón*, *MSCs*, *animal model*, *treatment*, *therapy*. De los artículos obtenidos en la primera búsqueda se realizó una segunda selección tras leer el *abstract*. En todo momento y siempre que ha sido posible, se han intentado seleccionar publicaciones posteriores al 2015.

4- INTRODUCCIÓN

El tejido tendinoso:

Los tendones son bandas duras, inextensibles, pero flexibles, que conectan los músculos con estructuras esqueléticas. Son estructuras formadas por tejido conectivo denso que juegan un papel fundamental en la biomecánica musculoesquelética transfiriendo la fuerza del músculo al hueso para realizar el movimiento de la articulación(1).

La patología tendinosa, caracterizada por dolor y pérdida de función del tendón, es una entidad musculoesquelética muy prevalente en todas las edades, sobre todo en personas activas y deportistas(2). En los últimos años se ha investigado mucho acerca de estas patologías y se han desarrollado múltiples tratamientos que tratan de revertir estos daños, agudos o crónicos, obteniendo resultados, en algunos casos, muy prometedores.

4.1. Histología y estructura

El tendón está formado por una estructura de fibrillas, fibras y fascículos ordenados jerárquicamente y unidos entre sí por una matriz de proteoglicanos, entre los que destaca la decorina. Rodeando a los fascículos se encuentra el endotendón: tejido conectivo laxo que contiene elementos de sostén y que permite el movimiento de los fascículos. Cubriendo esta capa se encuentra el epitendón, una estructura más densa que rodea globalmente al tendón(3). Esta disposición de estructuras se ilustra en la *Figura 1*.

Los tendones están compuestos principalmente por agua, fibras de colágeno tipo I correctamente alineadas, y células fusiformes. La mayoría de estas células son tenocitos maduros. Además, existen unas poblaciones de células menos comunes, descubiertas recientemente, llamadas células progenitoras del tendón (**TSPCs** o *Tendon Stem/Progenitor Cells*), también conocidas como *Tendon stem cells (TSCs)* o *Tendon-derived stem cells (TDSCs)*, que se cree que juegan un papel crítico en la homeostasis, reparación y regeneración del tejido tendinoso(4).

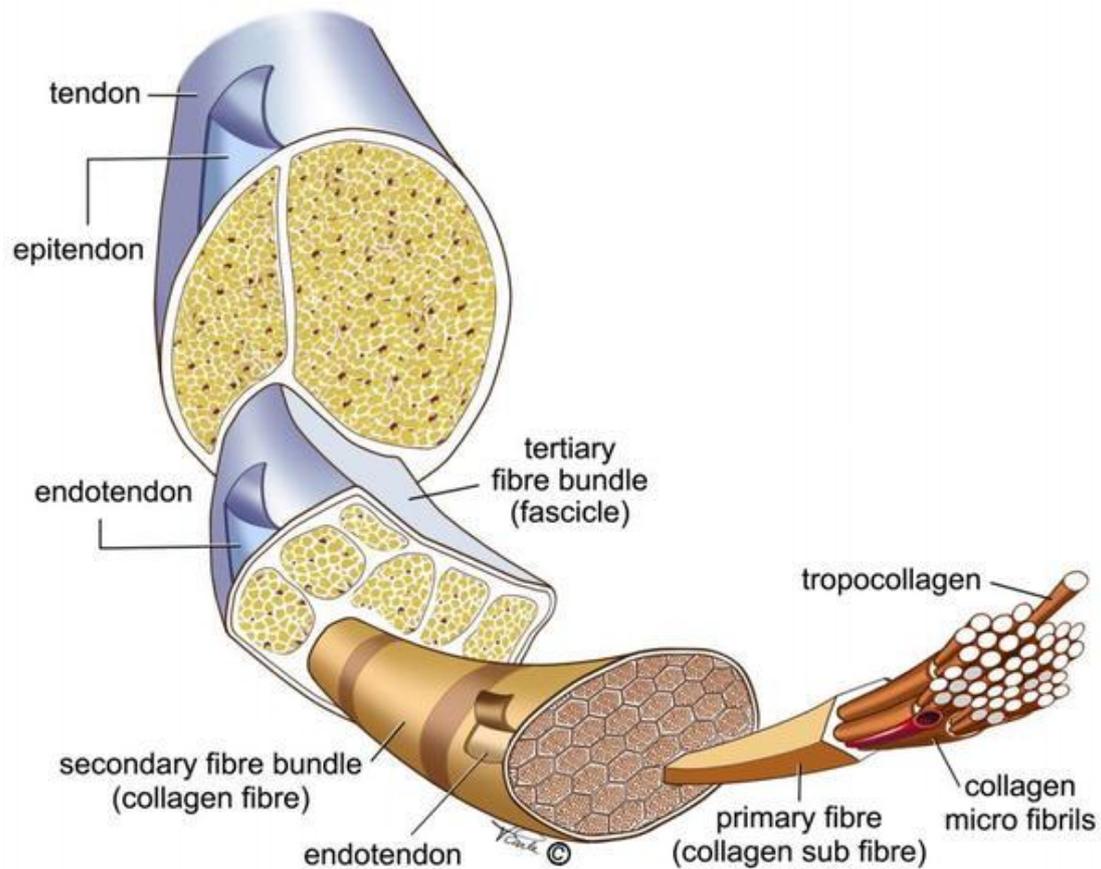


Figura 1. Estructura jerárquica del tendón |Rita de Cassia Marqueti, Ivo Vieira de Sousa Neto, Fabricio Reichert Barin. Exercise and Tendon Remodeling Mechanism. Intechopen. 2019, May, 31. DOI: 10.5772/intechopen.79729. Available from: <https://www.intechopen.com/books/tendons/exercise-and-tendon-remodeling-mechanism>

Los tendones tienen un metabolismo poco activo. Cuentan con una irrigación que proviene de los tejidos adyacentes, desde los cuales entran los vasos hacia el tendón, disponiéndose paralelamente a los fascículos. La vascularización que procede de su inserción es relativamente escasa(3).

Además, la vaina tendinosa influye de forma importante en la vascularización del tendón. Los tendones con vaina se vascularizan por difusión desde la sinovial y presentan ciertas zonas avasculares, donde no llega esta microvascularización. Los tendones sin vaina se vascularizan mediante vasos que penetran la superficie del tendón a través del paratendón o a la entesis(1).

4.2. Tipos celulares presentes en la estructura del tendón.

Las principales células que constituyen la estructura del tendón son los tenocitos (fibroblastos), responsables del mantenimiento de la integridad del tendón. Además, se han identificado poblaciones adicionales de células con características de células

madre, como ya hemos mencionado anteriormente: **TSPCs**, **TSCs** o **TDSCs**. Este tipo de células pertenecerían a la categoría de células madre de tejidos adultos. Aunque aún se necesita más evidencia *in vivo*, se cree que las TSPCs son responsables de mantener un adecuado número de tenocitos en el tejido, así como de reemplazarlos tras una lesión(4).

4.3. Tipos de tendones

Existen diferentes tipos de tendones que reflejan las distintas morfologías de los músculos y sus funciones específicas. El tejido tendinoso no consiste solo en la zona terminal del músculo, si no que engloba también cierto tejido muscular, de hecho, el propio tendón, cerca del músculo, presenta también fibras contráctiles(5). Además, el tendón puede adaptar su estructura celular bajo estímulos fisiológicos (entrenamiento) o patológicos (trauma) en función del contexto hormonal sistémico y de la edad(6).

El comportamiento biomecánico del tendón está en relación no solo con el grado de tensión que soporta, sino también con la forma del propio tendón. Los músculos cuya función son movimientos finos y delicados, como los flexores de los dedos, cuentan con tendones largos y delgados. Los músculos cuya función son movimientos gruesos, como el cuádriceps femoral, cuentan con tendones más cortos y robustos(7). Un tendón corto tiene mayor resistencia que un tendón largo, pues la carga necesaria para romper dos tendones del mismo diámetro, siendo uno corto y el otro largo, es mayor en el caso del corto. En su lugar, el tendón largo puede experimentar una deformidad mayor antes de romperse(6,8).

También existen diferencias entre hombre y mujeres. Tras un entrenamiento que somete al tendón a estrés mecánico el tendón del hombre presenta más resistencia mientras que el de la mujer presenta más elasticidad(6).

Una característica importante de los tendones es que se adaptan bien al contexto mecánico que los rodea y, en presencia de estrés mecánico, aumentan su diámetro gracias al aumento de la síntesis de colágeno(8). Esta adaptación va empeorando a medida que nos hacemos mayores. En los tendones de las personas mayores las fibras colágenas están peor organizadas, pueden aparecer calcificaciones, hay un recuento menor de fibroblastos y se produce una reducción en la cantidad de agua y proteoglicanos. Es decir, empeoran las propiedades viscoelásticas de los tendones. Con todas estas características inherentes al envejecimiento, los tendones se vuelven más débiles y son más susceptibles a la ruptura(6).

4.4. Entesis

Se denomina entesis al elemento de transición o zona de unión entre el tendón, ligamento o cápsula articular y el hueso. Esta zona está formada por colágeno de tipo II, IX y X. Las entesis juegan un papel crítico para la correcta transmisión de las fuerzas contráctiles del músculo al hueso. Su integridad depende de que los ángulos de inserción del tendón al hueso no sean muy acentuados así como de la interdigitación del tejido de transición con el hueso(3).

Aunque existen diferentes clasificaciones de las entesis, la más común se basa en la estructura del tejido presente en el sitio de inserción o de unión al hueso. En función de esto las entesis se clasifican en:

- *Entesis fibrosas:* Son aquellas que se unen directamente al hueso o periostio mediante un tejido conectivo fibroso denso similar al que forma los tendones. Este tipo de entesis son comunes en tendones que se adhieren a las diáfisis de los huesos largos (p.e. unión del deltoides al húmero). Las entesis fibrosas se subclasifican en función de si su inserción se realiza directamente al hueso o al periostio.

- *Entesis fibrocartilaginosa:* se adhiere al hueso a través de un fibrocartílago que actúa de transición entre el tejido fibroso del tendón y el hueso. Este tipo de entesis, además de ser más numerosas en la anatomía humana, se lesionan con más frecuencia que las fibrosas. La más conocida de este tipo de entesis es la del manguito rotador del hombro, que se lesiona habitualmente. Las diferencias entre estos dos tipos de entesis se pueden ver en la *Figura 2*. Una entesis fibrocartilaginosa típica tiene cuatro zonas distintas, como observamos en la *Figura 3*, creando un gradiente estructural continuo formado por tendón no calcificado, fibrocartílago no calcificado, fibrocartílago calcificado y, finalmente, hueso calcificado(9).

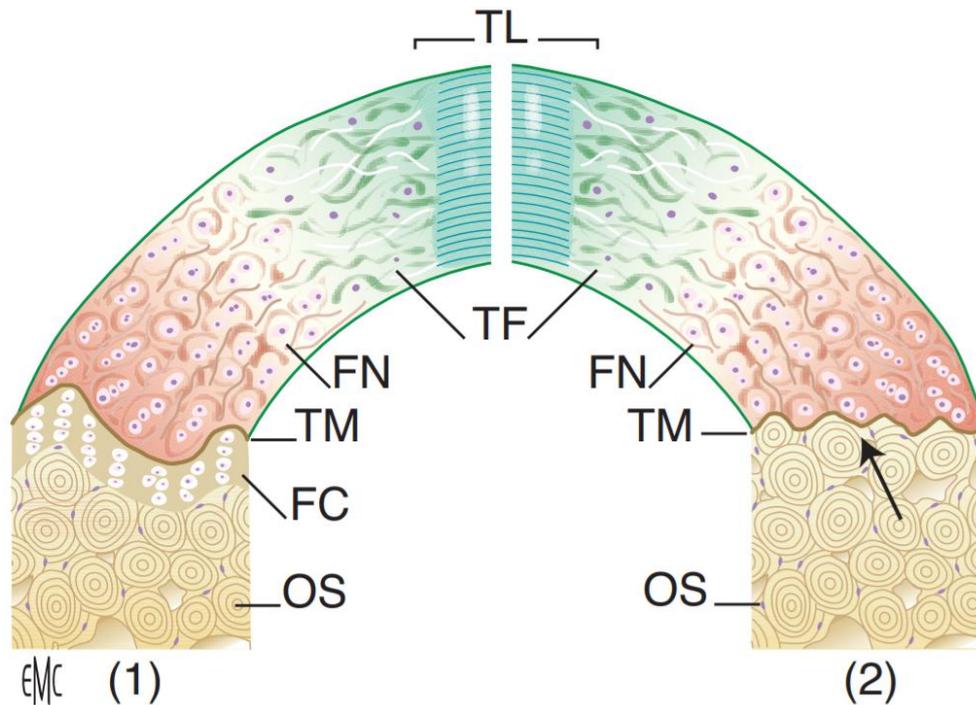


Figura 2: Esquema de los dos tipos de entesis: fibrocartilaginosa (1) y fibrosa (2). Una entesis fibrocartilaginosa típica (1) consta de 4 zonas de tejido a nivel de la interfase hueso-tendón o ligamento (TL), un fibrocartilago no calcificado (FN), un fibrocartilago calcificado (FC) y una zona de tejido óseo (OS). Las dos zonas de fibrocartilago están separadas por una línea nítida denominada tidemark (TM), que no está presente entre el fibrocartilago calcificado y el hueso. Una entesis fibrosa (2) sólo consta de TF entre TL y el OS. La zona de anclaje de las inserciones fibrosas óseas se presenta como una irregularidad (flecha). | F. Kemta Lekpa. P. Claudepierre. Entesis: conceptos fundamentales. Elsevier Masson SAS. 2016 Junio. Volume 49. E – 14-467

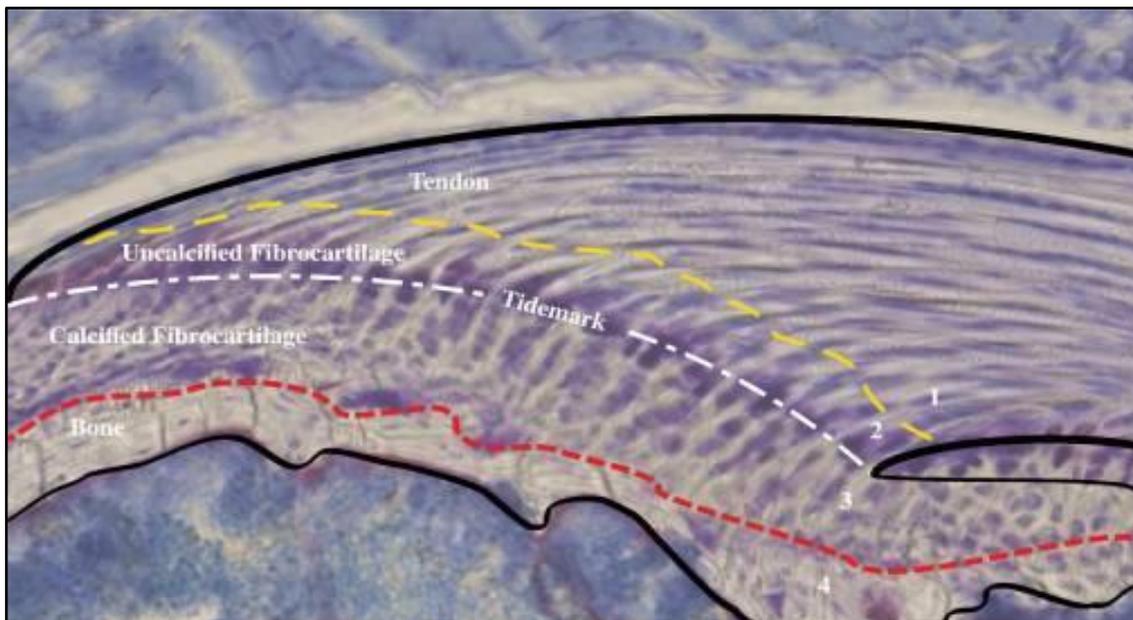


Figura 3. Ilustración de las cuatro zonas de la entesis fibrocartilaginosa del músculo supraespinoso 1. Tendón. 2. Fibrocartilago no calcificado. 3. Fibrocartilago calcificado. 4. Hueso | Apostolakis J, Durant TJ, Dwyer CR, Russell RP, Weinreb JH, Alaei F, et al. The enthesis: a review of the tendon-to-bone insertion. Muscles Ligaments Tendons J. 17 de noviembre de 2014;4(3):333-42.

4.5. Tejidos que se sitúan alrededor de los tendones (vainas sinoviales, almohadillas grasas, líquido sinovial, bursas)

Los tendones pueden estar rodeados por otras estructuras de tejido blando cuya función es servir de protección, disminuir el roce con otras estructuras adyacentes o mejorar la propiocepción o mecanosensación del tendón.

Las vainas sinoviales (*Figura 4*) están formadas por una capa parietal y otra visceral (pegada al tendón) que se encuentran en continuidad a través del mesotendón (si es continua) o la víncula (si es discontinua), que es por donde penetran los vasos sanguíneos al tendón. Las áreas menos vascularizadas se nutren mediante difusión desde el líquido sinovial (líquido que ocupa el espacio existente entre la capa parietal y la capa visceral de la vaina sinovial).

Por otro lado, las bolsas o bursas (*Figura 5*) pueden localizarse en dos sitios: en las inserciones tendinosas o en las zonas más superficiales, teniendo como función la reducción de la fricción entre la piel y el tendón al movilizar este último.

Los tendones, en algunas zonas de la anatomía humana, están en íntima relación con almohadillas grasas, como la grasa de Hoffa (infrarotuliana) o la grasa de Kager (preaquílea). Estas estructuras están muy innervadas y vascularizadas. Tienen una función mecanosensitiva y amortiguadora. Parece que pueden estar implicadas en la etiología de algunas tendinopatías(3).

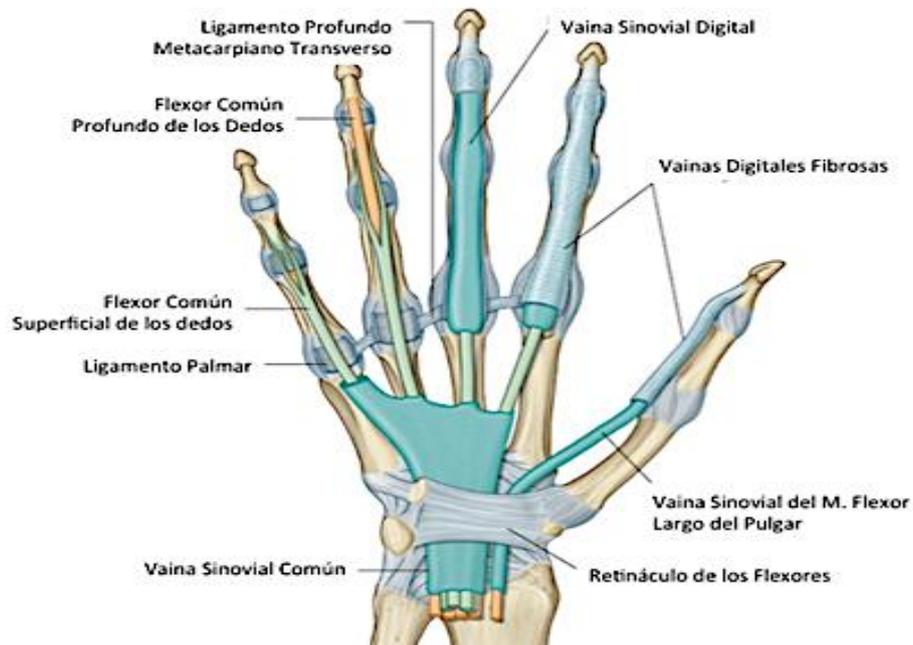


Figura 4. Vainas sinoviales de los tendones de la mano. | Rosella Vargas Sáenz | El aparato flexor de la mano: revisión de su anatomía y biomecánica [Internet]. Fisiocampus, Rosella Vargas Sáenz, Publicado: 11/2002, Revisado y modificado: 11/2020. Figura 2. Vainas sinoviales de los tendones de la mano. Disponible en: <https://www.fisiocampus.com/articulos/el-aparato-flexor-de-la-mano-revision-de-su-anatomia-y-biomecanica>

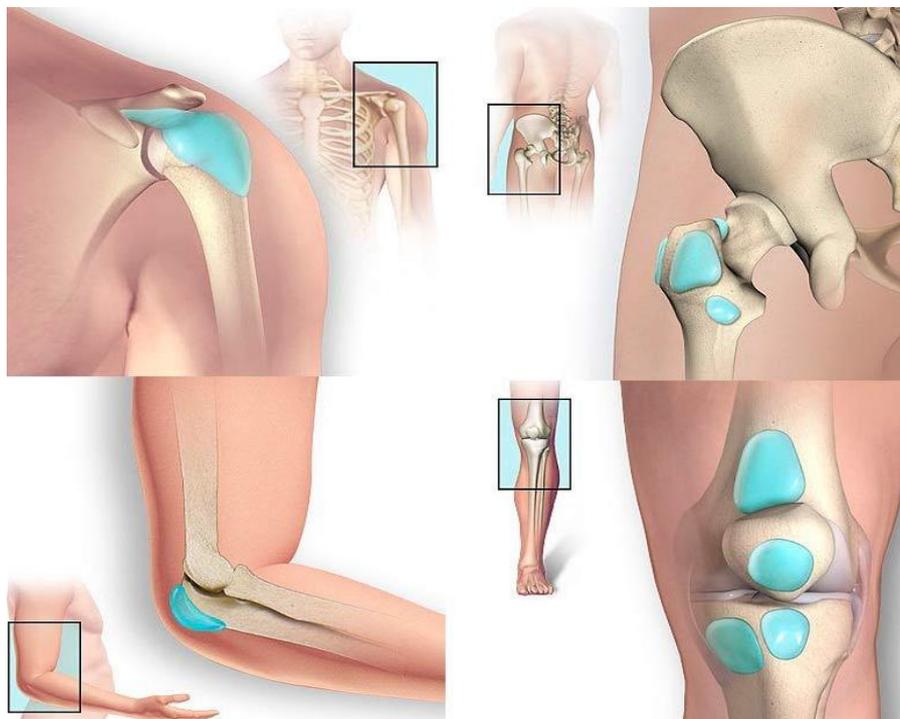


Figura 5. Bursas del hombro, cadera, codo y rodilla. Dr. Rogelio Santos, Andrea Esquivel. Bursitis- ¿Cómo identificarla? Traumatología y Ortopedia, Dr Rogelio Santos. Octubre 2015. Problemas de bursitis. Disponible en: <https://blog.santostraumatologiamty.com/bursitis>

5- PATOLOGÍA TENDINOSA

El término tendinopatía hace referencia al dolor, inflamación, pérdida de función y disminución del rendimiento del tendón. Histológicamente, los tendones tendinopáticos presentan una matriz desorganizada, células más redondeadas y aumento del número de células inflamatorias como macrófagos o mastocitos. Además, aumenta la vascularización regional(4).

La inflamación produce pérdida de tejido fascicular, que se sustituye por tejido cicatricial. Las células madre tendinosas son, según las investigaciones más recientes, las responsables de este cambio(3). Estas células experimentan una diferenciación aberrante en respuesta a la sobrecarga mecánica(8), formando tejido cicatricial o calcificaciones(3) en lugar de tejido tendinoso.

5.1. Tipos de lesiones tendinosas

5.1.1. Agudas:

Dentro de las lesiones agudas podemos distinguir tendinitis agudas, laceraciones, contusiones o rupturas(3). Pueden aparecer en ciertas actividades laborales, deportivas o traumatismos, en los que la capacidad de resistencia del tendón se ve superada por la fuerza a la que se ve sometido. Un ejemplo paradigmático es la rotura del tendón de Aquiles. Tiene una prevalencia de 18 roturas por 100.000 habitantes(4). Estas roturas tendinosas agudas suelen tener lugar en la unión miotendinosa y su causa principal son las contracciones musculares bruscas.

5.1.2. Crónicas:

Una tendinopatía se considera crónica si los síntomas se prolongan durante más de 6 meses(10). La afectación crónica tendinosa suele aparecer como consecuencia de sobrecargas leves, repetitivas, que debilitan el tendón poco a poco y que, con el tiempo, terminan produciendo roturas macroscópicas. Estas roturas suelen producirse en las zonas hipovascularizadas y de fricción(3).

Las tendinopatías crónicas son una de las patologías musculoesqueléticas más prevalentes. El riesgo de padecer tendinopatías crónicas aumenta con la edad, son frecuentes en pacientes mayores de 50 años. También pueden afectar hasta al 15% de los atletas de élite, si los entrenamientos no están correctamente supervisados.

5.2. Enfermedades sistémicas que pueden afectar a los tendones. Entesitis

Las enfermedades sistémicas que pueden afectar a los tendones son, sobre todo, patologías reumatológicas. De hecho, la tenosinovitis se asocia frecuentemente a la Artritis Reumatoide (AR). En este caso, la afectación tendinosa aparece sobre todo en articulaciones de pequeño tamaño como las metacarpofalángicas, muñecas y metatarsofalángicas.

En modelos animales se ha observado que la tenosinovitis es el primero de los múltiples signos de inflamación con los que cursa la AR. También es característica la presencia de un infiltrado de granulocitos y macrófagos con algún linfocito T en las capas del tendón. Éste es el primer evento patológico en la fase preclínica. Ya en la fase clínica se observa una hiperplasia del revestimiento sinovial articular.

A pesar de que la tenosinovitis sea la característica inicial de la AR en modelos animales, como ya se ha dicho, aún no se sabe con certeza si esto ocurre también en humanos. Lo que sí se sabe es que, a raíz de la inflamación, rigidez y dolor matutinos y disfunción articular propios de la AR, puede aparecer afectación tendinosa(11).

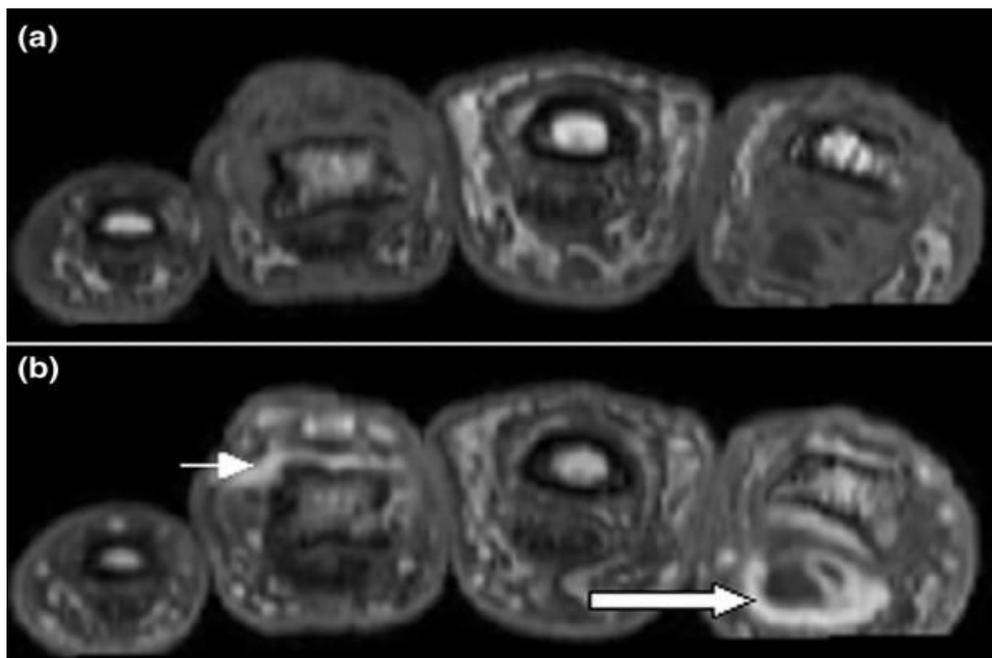


Figura 6: Corte axial de RMN de los dedos de un paciente con artritis psoriásica con (b) y sin contraste (a) en secuencia T1. Se observa tenosinovitis del tendón flexor del segundo dedo con engrosamiento de la vaina tendinosa (flecha larga) y sinovitis de la articulación interfalángica proximal del cuarto dedo (flecha pequeña). McQueen F, Lassere M, Østergaard M. Magnetic resonance imaging in psoriatic arthritis: a review of the literature. *Arthritis Res Ther.* 2006;8(2):207.

La psoriasis es otra patología autoinmune en la que puede aparecer afectación tendinosa(12). Se han realizado varios estudios(13) en los que, mediante Resonancia Magnética Nuclear (RMN), se puede ver de qué manera se afectan las entesitis y los

tendones en pacientes con artritis psoriásica. En la RMN se observa una inflamación y una señal distinta a la normal (baja y uniforme) en tendones y ligamentos, con distensión de la bursa adyacente e inflamación del tejido blando peritendinoso así como del hueso adyacente a la inserción. Concretamente, la dactilitis con la que cursa esta enfermedad es consecuencia de una tenosivitis de los tendones de los dedos, afectando más comúnmente a los flexores, como se ilustra en la *Figura 6*.

Además, puede haber afectación tendinosa en patologías como el Lupus Eritematoso Sistémico, síndromes esclerodermiformes, miositis y en los trastornos hereditarios del tejido conectivo como Síndrome de Marfan, Ehler-Danlos o enfermedades relacionadas con la elastina.

5.3. El proceso de reparación tendinosa

El proceso de reparación tendinosa es distinto en función del escenario en el que nos encontremos, es decir, cambia si estamos ante una lesión aguda o crónica, así como en función del tendón que se encuentre lesionado. A continuación se explica cada uno de estos escenarios.

5.3.1. Roturas agudas

Si la rotura afecta al fragmento del tendón ubicado dentro de una articulación sinovial, suele ser necesaria la reparación quirúrgica, ya que la retracción del tendón ocasionada por la contractura muscular y el líquido sinovial dificultan la acción de los tenocitos intrínsecos, fundamentales en la cicatrización del tendón(14). La reparación quirúrgica ha de ser meticulosa, para permitir el deslizamiento intrasinovial del tendón para evitar la formación de adherencias con los tejidos adyacentes(3).

Las lesiones de tendones que no están recubiertos por vaina sinovial, como el tendón de Aquiles, se pueden tratar de manera conservadora o quirúrgica. El tratamiento conservador consiste en la inmovilización de las articulaciones implicadas, de tal forma que los extremos del tendón están aproximados. Después, el paciente debe guardar reposo, sin utilizar dicho tendón durante al menos 1 mes o hasta que clínicamente se compruebe que el tendón ha cicatrizado. A partir de ahí comienza un periodo de rehabilitación.

En el caso del tratamiento conservador de la rotura del tendón de Aquiles, el protocolo que se suele utilizar consiste en inmovilización durante 6 a 8 semanas. Las primeras 4 se coloca el tobillo en flexión plantar. Las siguientes 2-4 semanas se coloca en posición neutra y se permite el apoyo del paciente. Posteriormente, es necesario realizar rehabilitación exhaustiva.

El problema del tratamiento conservador, en el caso del tendón de Aquiles, es que se asocia a una mayor tasa de re-ruptura en comparación con el tratamiento quirúrgico. Esta tasa de re-ruptura se podría reducir, teóricamente, si disminuye el tiempo de inmovilización y con rehabilitación funcional temprana(15,16).

En cuanto al tratamiento quirúrgico de este tipo de lesiones, hay muchas técnicas descritas en la bibliografía. Se clasifican en cirugías abiertas, mínimamente invasivas y percutáneas. El objetivo principal de la operación consiste en conservar la longitud inicial del tendón. Este tipo de tratamiento se asocia a una menor tasa de re-ruptura, pero se aumenta el riesgo de complicaciones como la infección de la herida quirúrgica(17).

En caso de roturas o desinserciones de tendones que soportan mucha carga mecánica, como el tendón rotuliano, hay que realizar una construcción muy resistente, ya que es necesario que soporte cargas mecánicas hasta que el tendón cicatrice. El tratamiento quirúrgico más utilizado consiste en la realización de túneles óseos pasando suturas a través de los mismos, con o sin cerclaje para su augmentación. Se recomienda la adición de técnicas de augmentación para fortalecer la reparación y realizar movilización precoz de la articulación(18).

Las técnicas de augmentación incluyen alambres trenzados, injertos de Dacron, cintas de Mersilene, suturas de polydioxanone (PDS), prótesis de ligamento de polyester o injertos de semitendinoso o recto interno. Estos métodos consiguen una disminución del tiempo de inmovilización postoperatoria, pero requieren de una exposición quirúrgica adicional, tunelización de la rótula, toma de injerto, y, si es necesario, una segunda intervención para retirar el implante(19).

La rehabilitación es una parte esencial en la recuperación de la funcionalidad tendinosa. La aplicación de protocolos de rehabilitación en el tratamiento de roturas tendinosas ha demostrado que la recuperación es más rápida y se logran mejores resultados clínicos. Además, se reduce la tasa de re-ruptura(20).

Todos estos beneficios aparecen gracias a que los estímulos mecánicos que proporciona la rehabilitación optimizan la reparación tendinosa. Se mejora la orientación de las fibras colágenas, la síntesis de colágeno, el número y tamaño de las fibrillas, aumenta la fortaleza tendinosa, vascularización, resistencia y se reducen las adhesiones y la formación de cicatrices(21–23). Además, se ha demostrado que cargar tendones en proceso de regeneración produce cambios esenciales en el proceso biológico de reparación(24,25). Incluso, el uso de ortesis que ayudan en la movilización pasiva, podría, en teoría, prevenir la atrofia muscular, adhesiones y eventos de trombosis venosa profunda(20,26–28).

5.3.2. Lesiones crónicas

Las lesiones tendinosas crónicas o por exceso de uso suelen aparecer en tejidos con vascularización reducida. Estas lesiones cursan con degeneración del colágeno en lugar de la reacción celular típica en respuesta a eventos inflamatorios. En la historia natural

de la tendinopatía crónica se pueden producir roturas intratendinosas, que son responsables del dolor y de la reducción de la funcionalidad tendinosa. Además, las lesiones tendinosas crónicas pueden cursar con calcificaciones.

El uso de Antiinflamatorios no esteroideos (AINEs) y esteroides inyectados está muy extendido en el tratamiento de las tendinopatías crónicas, pero no contamos con evidencia científica sólida de que estos tratamientos sean efectivos a largo plazo(29). Además, el uso de AINEs de manera prolongada conlleva ciertos riesgos como toxicidad gastrointestinal, daño renal, aumento de riesgo cardiovascular, etc.

El uso de esteroides inyectados, infiltraciones, consigue un alivio del dolor a corto plazo, pero, es frecuente que los síntomas vuelvan a aparecer a largo plazo, además, tampoco hay evidencia científica sólida sobre la eficacia a largo plazo de las infiltraciones con esteroides(30). Es más, parece que el uso de esteroides inyectados puede predisponer a roturas tendinosas, sobre todo en tendones de las manos o en aquellos sometidos a mucha carga, como el tendón de Aquiles o el rotuliano(31). La ventaja del tratamiento con esteroides inyectados es que nos pueden aportar una ventana libre de dolor que se puede aprovechar para llevar a cabo un tratamiento rehabilitador(32).

A continuación, se analizan con más detalle las tendinopatías crónicas más frecuentes:

5.3.3. Tendinopatía Aquilea:

La tendinopatía Aquilea se presenta clínicamente con dolor durante y/o después de una deambulación o carrera prolongada en la parte posterior del tobillo. Las tendinopatías del tendón de Aquiles se subclasifican en tendinopatías insercionales (entesitis) y no insercionales. Estas últimas afectan a la sustancia media del Aquiles. En la *Figura 7* se ilustra el área de dolor predominante en cada uno de los dos tipos.



Figura 7. Localización del dolor de la tendinopatía Aquilea insercional o de la sustancia media (rojo) y de la tendinopatía de la inserción del Aquiles (morado).| Marc A. Childress, Antohony Beutler. Management of Chronic Tendon Injuries. Am Fam Physician. 2013 Apr 1; 87(7): 486-490. Figure 1

El tratamiento de primera línea para las tendinopatías crónicas no insercionales del Aquiles es un programa de fortalecimiento extrínseco del complejo gastrocnemio/sóleo(33), como se explica en la *Figura 8*. Distintos ensayos aleatorizados demuestran que estos programas de fortalecimiento logran una mejoría clínica, dolor y función del tendón, entre el 60 y el 90% de los paciente(34).

Otras modalidades de tratamiento rehabilitador como ultrasonidos, estimulación eléctrica, iontoforesis, masaje y/o estiramientos no han demostrado mejoría clínica a largo plazo(35).



Figura 8. Ejercicios extrínsecos para tendinopatía no insercional Aquilea. (A) El paciente comienza con la pierna estirada y el tobillo en flexión plantar. (B) El tobillo del tendón lesionado realiza una flexión dorsal completa y vuelve a la posición original con la ayuda de la pierna sana. (C) Se repite el ejercicio con la rodilla flexionada unos 45°. | Marc A. Childress, Antohony Beutler. Management of Chronic Tendon Injuries. Am Fam Physician. 2013 Apr 1; 87(7): 486-490.

5.3.4. Tendinopatía rotuliana:

La tendinopatía rotuliana, o rodilla de saltador, es una enfermedad muy resistente a todo tipo de tratamiento. Existen evidencias sobre el uso de ejercicios excéntricos como primera opción para lesiones crónicas del tendón rotuliano(36). Se han diseñado muchos protocolos distintos de ejercicios extrínsecos, logrando mejoría clínica a largo plazo(36). En casos recalcitrantes, se puede intentar un tratamiento quirúrgico, consistente en desbridamiento del tendón y exéresis del tejido fibroso circundante. Sin embargo, parece que sus resultados a largo plazo no son superiores a los de un protocolo adecuado de ejercicios de fortalecimiento extrínseco(37).

5.3.5. Epicondilitis lateral:

La epicondilitis lateral, o codo de tenista, se presenta clínicamente como dolor en la cara externa del codo. Típicamente, el dolor aumenta con la extensión y supinación de

la muñeca contra resistencia. La lesión tendinosa se ubica, generalmente, en la inserción del tendón extensor común en el epicóndilo lateral del húmero.

El tratamiento inicial del codo de tenista es conservador. Inicialmente se suele instaurar un programa de estiramientos y fortalecimiento de la musculatura extensora. Un programa de rehabilitación, bien aplicado, generalmente consigue un alivio mayor de los síntomas que el reposo, el uso de AINEs o la inyección local de esteroides(38). Esta terapia supone la pieza clave del tratamiento de la epicondilitis lateral debido a su simplicidad, efectividad y mínimos efectos secundarios(32). Recientemente se ha comprobado que la aplicación de parches de nitroglicerina en estos pacientes, asociado a un programa de rehabilitación, puede mejorar los resultados del tratamiento(39).

El uso de inyecciones de sangre autóloga y plasma rico en plaquetas pueden resultar de ayuda, según estudios publicados recientemente(40,41).

5.3.6. Tendinopatía del manguito rotador:

La tendinopatía del manguito rotador se caracteriza por dolor en la cara externa del hombro, región deltoidea, exacerbada con movimientos por encima de la cabeza. Un síntoma muy común es, además, disconfort nocturno. En la mayoría de los casos, la etiología está relacionada con movimientos repetitivos en los que el hombro se posiciona por encima de la cabeza como, lanzamientos, o levantamientos. Muy pocos casos de tendinopatía de manguito rotador se originan a consecuencia de traumatismos.

La terapia física conforma la primera línea de tratamiento. Esta se enfoca en conseguir una movilidad completa, fortalecimiento de los músculos del manguito rotador y de los músculos estabilizadores de la escápula(42).

El espacio subacromial es una de las localizaciones anatómicas donde más comúnmente se inyectan esteroides. Hasta ahora, no se ha demostrado efectividad a largo plazo en los estudios realizados(43). En cuanto a los tratamientos biológicos, es una localización en la que no se ha demostrado gran utilidad con la infiltración con PRP.

5.3.7. Calcificaciones

Las calcificaciones merecen una consideración a parte dentro de las tendinopatías crónicas. Las calcificaciones se pueden clasificar en dos grandes grupos: depósitos cálcicos propiamente dichas ó microcalcificaciones.

Para comentar las calcificaciones tendinosas nos centraremos en la calcificación del manguito rotador, pues es la más conocida y de la que se disponen más estudios. La tendinopatía calcificante del hombro se caracteriza por la presencia de uno o varios depósitos de hidroxapatita cálcica en tendones del manguito rotador.

Se considera un proceso activo mediado por células, aunque no se conoce claramente su fisiopatología. Una de las teorías más recientes, explica que se debe a una transformación metaplásica de los tenocitos, es decir, por una diferenciación de Células Madre Mesenquimales (CMMs) a condrocitos y osteoblastos en lugar de a tenocitos bajo la influencia de un aumento de la proteína morfogénica ósea 2 (BMP-2)(44,45).

No existe una clasificación general aceptada de la morfología de las calcificaciones(46). Farin *et al.* las clasifican en 3 tipos según los hallazgos ecográficos: núcleo hiperecogénico con sombra posterior bien definida; núcleo hiperecogénico con sombra posterior tenue; y núcleo hiperecogénico sin sombra posterior(47). Chiou *et al.* las clasifica en 4 tipos, también según los hallazgos ecográficos (*Figura 10*): forma arqueada (arco hiperecogénico con sombra posterior) forma fragmentada (al menos dos áreas ecogénicas separadas con o sin sombra posterior); forma nodular (nodo ecogénico sin sombra posterior); forma quística (gruesa pared ecogénica con un área anecoica o contenidos laminares)(48).

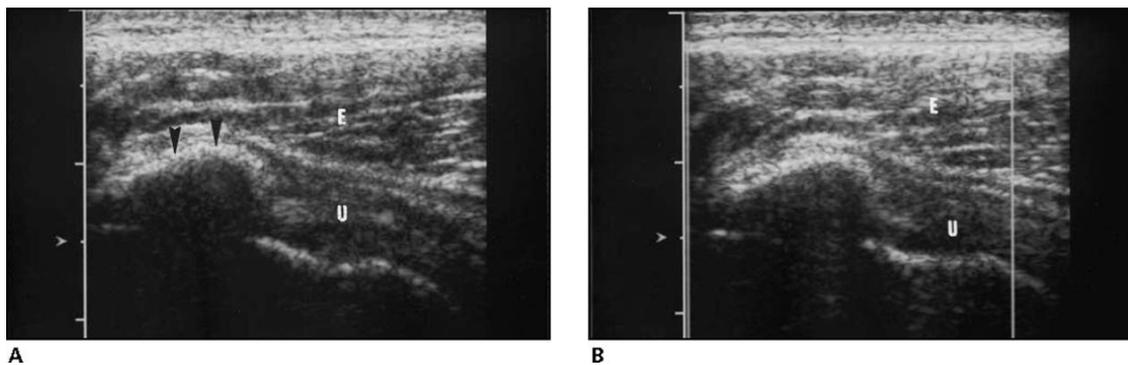


Figura 10. Imágenes de una mujer de 41 años con dolor crónico en el hombro derecho de más de 1 año. **A,** Corte longitudinal del tendón del músculo subescapular derecho en el que se aprecia una calcificación con forma arqueada (cabecitas de flecha) sobre el área de inserción del tendón. **B,** Ecografía Doppler en la que no se aprecia color sobre la placa calcificada. E: deltoides. U: tendón subescapular. | Hong-Jen Chiou, Yi-Hong Chou, Jinn-Jer Wu. Evaluation of Calcific Tendonitis of the Rotator Cuff. JUM. 2002, March, 01. Volume 21. (Issue 3), pages 289-295.

La ecografía Doppler en las formas nodular o quística nos permite apreciar el aumento de vascularización alrededor del depósito(46).

El manejo de las calcificaciones tendinosas incluye el uso de AINEs, fisioterapia, infiltraciones, lavados ecoguiados de la calcificación y algunas técnicas quirúrgicas. Los AINEs se utilizan para aliviar el intensísimo dolor que experimentan los pacientes en las fases agudas. Fisioterapia se prescribe sobre todo para prevenir la rigidez articular. También inyecciones locales de esteroides pueden ayudar a aliviar el dolor para ayudar con la rehabilitación. También está descrito el uso de técnicas como las ondas de choque extracorpóreas o la punción ecoguiada del depósito cálcico(49).

El lavado ecoguiado percutáneo está indicado en la fase aguda de calcificaciones blandas ó en calcificaciones duras ligeramente sintomáticas. Esta técnica se utiliza muy

comunmente para el lavado de los depósitos cálcicos presentes en el manguito rotador. En los últimos años, el perfeccionamiento de la técnica ha desplazado ligeramente al uso de la cirugía artroscópica(50).

Se han descrito diferentes técnicas(51,52), utilizando con una o dos agujas. El procedimiento consiste en inyectar una solución salina dentro de la calcificación aplicando una presión intermitente para disolver el núcleo. Posteriormente, el líquido resultante (solución salina con fragmentos de calcio) es retirado con la misma o con una segunda aguja hasta que en el ecógrafo se observe que la calcificación ha desaparecido por completo(50,51).

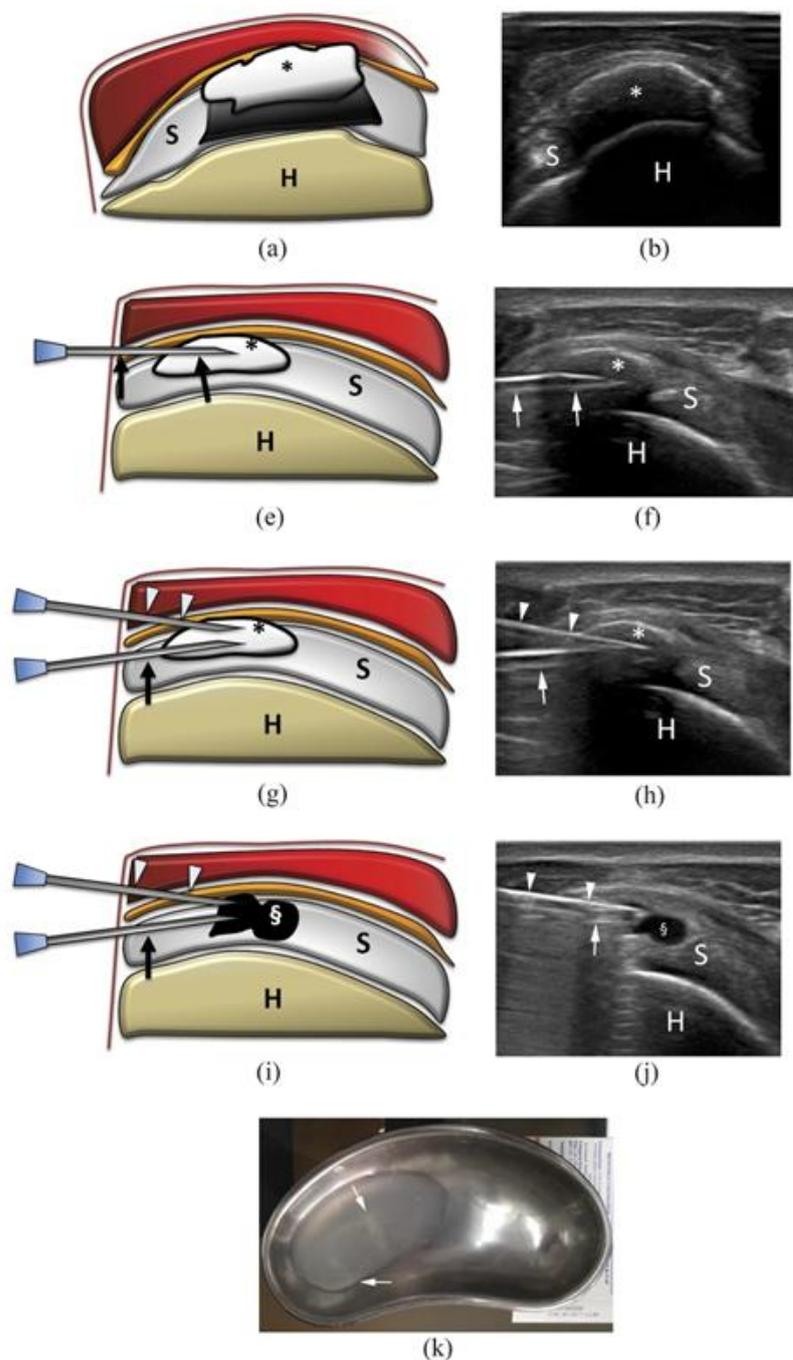


Figura 11. Tratamiento percutáneo de tendinaptía calcificante del supraespinoso utilizando una técnica con doble aguja. (a) Esquema e (b) imagen por ultrasonido de calcificación (asterisco) con sombra posterior. (e) Esquema e (f) imagen de ultrasonido de inserción de la primera aguja (flechas) en la calcificación (asterisco). (g) Esquema e (h) imagen de ultrasonido de inserción de la segunda aguja (cabezas de flecha) en la calcificación (asterisco) en el plano coronal de la primera aguja (flechas). (i) Esquema e (j) imagen de ultrasonido del final del procedimiento. La calcificación ha desaparecido (§). (k) Suero salino utilizado para lavar la calcificación. En él se aprecian restos blanquecinos de calcio (flecha). H: húmero; S: tendón supraespinoso. | Carmelo Messina, Giuseppe Banfi, Davide Orlandi. Ultrasound-guided interventional procedures around the shoulder. Br J Radiol. 2016, January;

El tratamiento quirúrgico de los depósitos de calcio en el manguito rotador se suele realizar si ha fracasado el tratamiento conservador. Consiste en realizar una artroscopia de hombro en la que se localiza el depósito cálcico, se vacía su contenido y, por último, se desbrida el tejido tendinoso circundante. Además, se suele asociar una burssectomía subacromial amplia(49).

6- TERAPIAS REGENERADORAS PARA EL TRATAMIENTO DE LAS TENDINOPATÍAS

Los tratamientos de primera elección para las tendinopatías (AINEs, rehabilitación, terapias físicas, infiltraciones con corticoides o cirugía) se han ido describiendo a lo largo del apartado anterior. El objetivo de estos tratamientos es aliviar la sintomatología (dolor y rigidez articular). A pesar de la gran experiencia que tenemos en su aplicación, a veces no resultan efectivos por lo que se han investigado otras opciones terapéuticas, con la esperanza de mejorar los resultados clínicos. La medicina regenerativa busca la mejoría clínica del paciente mediante la regeneración del tejido tendinoso afecto. Se trata de un nuevo paradigma, en el que no buscamos tratar el síntoma de la enfermedad, sino la etiología.

Las terapias regeneradoras se pueden dividir en dos grandes grupos, en función de si implican o no la inyección de células en el tejido a tratar. A continuación, se explican estas técnicas con más detalle.

6.1. Terapias libres de células regeneradoras.

La proloterapia, infiltraciones con sangre autóloga o plasma rico en plaquetas (PRP), son ejemplos de terapias regeneradoras libres de células.

La proloterapia es una forma de terapia no quirúrgica que inyecta soluciones irritantes en las entesis, articulaciones y ligamentos para promover el crecimiento normal de células y tejidos(53–55). El mecanismo de acción de la proloterapia no se conoce completamente. Existen teorías que proponen que las sustancias inyectadas simulan el proceso natural de cicatrización, iniciando una cascada inflamatoria local que facilita la liberación de factores de crecimiento y depósito de colágeno(53–56). Las citoquinas inducidas producen quimiomodulación, y ésta desencadena una proliferación y fortalecimiento de tejido conectivo nuevo, estabilidad articular y una reducción del dolor y la disfunción(53–56).

La dextrosa (d-glucosa) es un sustancia hidrosoluble, que forma parte de la química sanguínea normal y que, por lo tanto, puede ser inyectada en grandes cantidades en diferentes localizaciones de manera segura(53). Las inyecciones de dextrosa hipertónica deshidratan las células del lugar donde son inyectadas. Esto provoca cierto trauma local en los tejidos, lo que atrae células granulocíticas y macrófagos, fomentando la curación(53). Hauser *et al.* realizaron una revisión sistemática de la eficacia de la proloterapia con dextrosa en el tratamiento del dolor musculoesquelético crónico. Los resultados obtenidos apoyaron el uso de proloterapia con dextrosa para el tratamiento de tendinopatías, artrosis de rodilla y dedos y dolor espinal/pélvico provocado por disfunción ligamentosa. Sin embargo, no pudieron demostrar la eficacia en dolor agudo, usada como terapia de primera línea o en dolor miofascial(53).

Otro tipo de proloterapia consiste en la inyección de sangre autóloga. Esta sangre autóloga se obtiene de las venas periféricas. La sangre contiene mediadores hormonales y celulares que fomentan la diferenciación de tenocitos y la sustitución del tejido degenerado(57). Se han publicado resultados positivos en el tratamiento mediante infiltración con sangre autóloga para el tratamiento de tendinopatías crónicas resistentes a la rehabilitación convencional. Se logra fundamentalmente mejoría en cuanto a la disminución del dolor(58,59).

Las inyecciones de plasma rico en plaquetas (PRP) consisten en administrar un pool de factores de crecimiento orientados a mejorar la regeneración tisular. El plasma rico en plaquetas (PRP) se obtiene por centrifugación de sangre periférica. Al centrifugarse, la sangre se separa en dos porciones. En la parte superior se forma un coágulo amarillento rico en fibrina, plaquetas y leucocitos. Este coágulo tiene propiedades regenerativas. Se denomina fibrina rica en plaquetas(60).

Si antes de centrifugar la sangre añadimos un agente antiagregante, el centrifugado superior que se obtiene es líquido. Se puede extraer en una jeringuilla e infiltrar en articulaciones, tendones o ligamentos. Este concentrado es lo que comunmente se conoce como plasma rico en plaquetas o PRP(60,61). Este proceso se puede apreciar en la *Figura 9*. El PRP se utiliza en múltiples campos como la cirugía maxilofacial, traumatología deportiva, cirugía ortopédica o dermatología(62–64).

La función de las plaquetas consiste en prevenir la pérdida de sangre y reparar la pared vascular cuando ésta se daña. Además, las plaquetas tienen efectos antiinflamatorios(65) y analgésicos(66). Las plaquetas se activan al contactar con el colágeno que queda expuesto tras la lesión endotelial. Liberan mediadores intracelulares, gran cantidad de factores de crecimiento (PDGF, IGF-1, TGF- β , EGF, VEGF, etc)(67), citoquinas (IL-1, IL-4, IL-6, TNF- α)(60), fibrinógeno y moléculas con propiedades antimicrobianas(60,68). Los factores de crecimiento y las citoquinas activan la proliferación celular, angiogénesis y migración celular. Todos estos pasos son esenciales para el inicio y estimulación del mecanismo de reparación tisular y de síntesis de colágeno(67,68). Precisamente, éste es el objetivo que se busca en los tejidos tratados con esta terapia.

Los beneficios de la terapia con PRP en el tratamiento de las tendinopatías crónicas tienen cada vez más evidencia científica(67). Las inyecciones con PRP constituyen la aplicación más explorada de los Hemoderivados ricos en plaquetas (PRHds) en estudios *in vivo*(60,69,70). A nivel experimental, la inyección local de PRP en modelos de ratas con lesión del manguito rotador previno la respuesta inflamatoria aguda y la formación de tejido cicatricial. Se obtuvo una mejor regeneración tendinosa debido a la formación de tejido fibroso y de granulación y una mejor funcionalidad final(60,69,70).

Uno de los principales inconvenientes actuales del uso de PRP es que no existen protocolos estandarizados para su obtención y utilización(67). Este hecho limita de forma importante su uso en la clínica(71). Existen muchos preparados comerciales distribuidos con el nombre de PRP, todos ellos con diferentes formas de obtención y aplicación(72–74). Al tratarse de diferentes protocolos de producción, al final se

obtienen preparados con distintas concentraciones de plaquetas, fibrina y leucocitos. Por lo tanto, es difícil comparar los resultados clínicos y conocer realmente su utilidad (60,61). Por este motivo, es necesario estandarizar la obtención y preparación del PRP y adaptar la nomenclatura(75).

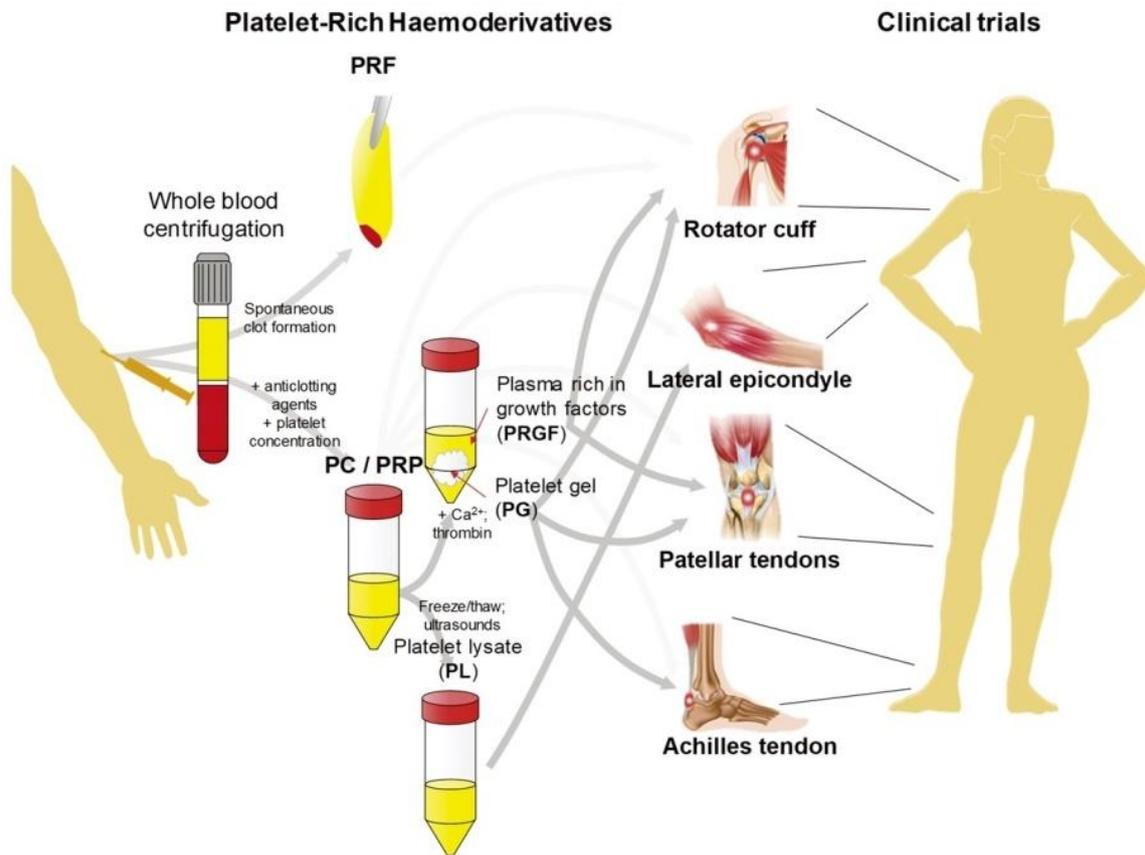


Figura 9. Representación esquemática del protocolo genérico de la producción de hemoderivados ricos en plaquetas y los objetivos de los ensayos clínicos realizados para el tratamiento de tendinopatías. PC: platelet concentrate, PRF: platelet-rich fibrin. [Costa-Almeida, Babo, Reis. Platelet-rich Blood Derivatives for Tendon Regeneration. JAAOS. 2020 March 1; 28(5): p e202-e205.

El ácido hialurónico (AH) es un glicosaminoglicano de la matriz extracelular(76,77). En condiciones fisiológicas, el AH se sintetiza en varios tipos de células y constituye un agente antifibrótico y antiinflamatorio que reduce la formación de tejido cicatricial(78,79). Se une con el agua y lubrica partes móviles del cuerpo como los músculos(77). Los preparados con AH para infiltraciones utilizan AH de bajo peso molecular (LMW HA). Una vez en el tejido ejerce actividades proinflamatorias y antioxidantes(76,77,80).

La inyección intrarticular de HA en el hombro de pacientes con tendinosis del supraespinoso parece prevenir la degeneración cartilaginosa(81). Rezasoltani *et al.* llevaron a cabo un ensayo clínico comparativo aleatorizado entre el tratamiento con LMW HA y el tratamiento con fisioterapia en la tendinopatía del supraespinoso. Los resultados obtenidos demostraban que, aunque ambos tratamientos resultan beneficiosos, la terapia con LMW HA es clínicamente más efectiva. Además, el tratamiento con LMW HA resultó más eficaz a la hora de aliviar el dolor y conseguía un

mayor rango de movilidad del hombro del paciente. Los pacientes refirieron que se había mejorado su calidad de vida(77).

6.2. Nuevas terapias para el tratamiento de las tendinopatías: Células Madre Mesenquimales. Biología y propiedades regenerativas.

La necesidad de mejorar los resultados de los tratamientos ligados a las terapias tradicionales para el tratamiento de las tendinopatías, ya comentado a lo largo del texto, hace que actualmente se esté investigando de cara a desarrollar mejores tratamientos, basados en los principios de la medicina regenerativa

Las células madre mesenquimales (CMMs) son una de las líneas fundamentales de investigación debido a su gran capacidad regeneradora. Otra línea de investigación muy prometedora es el uso de biomateriales como tendones decelularizados o submucosa intestinal para utilizarlos como biosoporte para el crecimiento y diferenciación de las CMMs. Antes de entrar de lleno en la descripción de estas técnicas vamos a describir lo que son las CMMs y sus principales propiedades.

Las CMMs son células indiferenciadas con potencial de diferenciación hacia otros tipos de células bajo determinadas circunstancias. Esto les permite regenerar partes del organismo dañadas previamente. Hay diferentes tipos en función de su origen y su potencial de diferenciación. Las más utilizadas en la práctica clínica son las células madre de tejidos adultos, concretamente, las células multipotentes de origen mesenquimal(82) (CMMs).

La mayor parte de los tejidos del cuerpo humano está en constante renovación. Esta renovación se lleva a cabo gracias a las células madre de tejidos adultos que tienen la capacidad de dividirse y diferenciarse para dar lugar a tipos celulares específicos. De esta manera pueden reemplazar a las células que van muriendo en tejido de manera natural(83). Mientras que las células que ya han sufrido la diferenciación celular y forman parte de un tejido (somáticas) mueren tras dividirse un número muy limitado de veces, las células madre pueden dividirse múltiples veces, asegurando el recambio de las células que han muerto.

Las CMMs son capaces de diferenciarse en linajes mesodérmicos formando osteocitos, condrocitos y adipocitos(84). Normalmente, se cultivan a partir de células obtenidas del propio paciente (células autólogas), ya sea de la médula ósea o del el tejido adiposo(82).

El término CMMs se acuña en 1988 cuando se consigue aislar este tipo de células de la médula ósea. Aunque las CMMs de la médula ósea son las más estudiadas, se ha visto que en el tejido adiposo hay del orden de 300 a 500 veces más CMMs por ml. Esto supone una gran ventaja ya que la mayoría de las técnicas de medicina regenerativa necesitan de un número muy elevado de CMMs para poder llevarse a cabo. Dada la escasa presencia de CMMs en los tejidos adultos, para obtener ese elevado número de células hay que llevar a cabo un periodo de expansión in vitro. Esta expansión puede dar lugar a la acumulación de mutaciones que producirán efectos no deseados cuando

las células se implantan en el tejido receptor. Una ventaja del uso del tejido adiposo como tejido donante de CMMs frente al uso de la médula ósea es que a partir de este tejido adiposo se puede obtener un mayor número de CMMs sin necesidad de largos periodos de expansión *in vitro*(85).

Inicialmente se hipotetizó que las CMMs podrían ser células progenitoras del estroma medular óseo (tejido muy diferenciado del cual depende la hematopoyesis)(86). En estudios posteriores realizados por Arnold I. Caplan y Steven Haynesworth en la Universidad de Cleveland(87), además de investigaciones de B. Peault(88) y I. Bianco(89) se llegó a la conclusión de que las CMMs son similares a las células perivasculares, también conocidas como pericitos. De hecho, se hipotetizó que las CMMs derivaban de los pericitos(87).

Además de en los tejidos óseos y adiposo, como ya se ha comentado, las CMMs se pueden aislar a partir de músculo, piel, periostio y tendones, entre otros tejidos. Todos estos tejidos tienen vasos sanguíneos que contienen células perivasculares. La ubicación de estos pericitos está controlada principalmente por el receptor del factor de crecimiento derivado de las plaquetas (rPDGF)(90), además de por otros factores. Caplan y Haynesworth sugerían que, en lugares de inflamación y daño vascular, los pericitos se liberan de su ubicación para funcionar, aparentemente, como CMMs activadas(83).

El primer ensayo clínico en el que se utilizaron CMMs humanas fue a mano de hematólogos y oncólogos. Estos intentaron suplementar los trasplantes de médula ósea con CMMs para pacientes con cáncer y, eventualmente, en pacientes con defectos genéticos(91–93). Con los resultados obtenidos en estos ensayos se llegó a la conclusión de que las CMMs eran inmunomoduladoras y que el sistema inmune del huésped no trata de reconocer las CMMs alogénicas como propias o extrañas de manera inmediata(93–95). Esto permite que se administren en el torrente sanguíneo para que actúen en zonas de inflamación o daño vascular, favoreciendo el tratamiento.

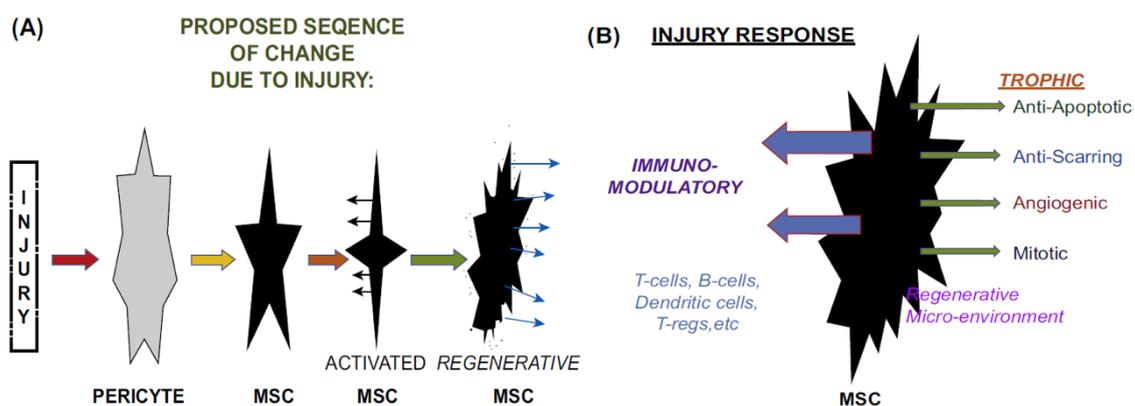


Figura 12. Las MSCs son inmunomoduladoras y tienen efecto trófico. (A) Activación secuencial en respuesta a una lesión. Los pericitos se activan y se liberan para convertirse en MSCs funcionales. Estas MSCs se inmunoactivan y secretan una serie de factores que organizan un microambiente regenerativo. (B) Las moléculas bioactivas secretadas por las MSCs son inmunomoduladoras y afectan a una variedad de células inmunes. Otras moléculas secretadas forman un microambiente de regeneración estableciendo un fuerte ambiente trófico. Arnold I. Caplan. Principles of Regenerative Medicine, 3rd edition. Wake Forest University School of Medicine. Academic Press. 21st September 2018.

Caplan y Haynesworth, basándose en los efectos clínicos de las CMMs activadas, sugirieron que el potencial terapéutico de las CMMs les otorga funcionalidad biológica en tejidos lesionados o inflamados(83). Este potencial terapéutico hace referencia a la modulación de las células del sistema inmune para inhibir la vigilancia que llevan a cabo en los tejidos lesionados. Esto permitía evitar la iniciación de actividad autoinmune(96). Además, las CMMs activadas tienen efectos tróficos al secretar moléculas bioactivas que inhiben la apoptosis (sobre todo en áreas de isquemia), previenen la formación de cicatriz y estimulan la angiogénesis. Esto último lo consiguen secretando factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), formando nuevos vasos y secretando mitógenos que tienen su efecto directamente en progenitores intrínsecos del tejido(83).

El mecanismo de acción de las CMMs es complejo y todavía es objeto de investigación(82). La hipótesis inicial que sostiene que las CMMs no diferenciadas pueden migrar al área lesionada y empezar allí el proceso de diferenciación es demasiado simple como para explicar la complejidad de la comunicación celular con su ambiente y el papel de las distintas biomoléculas que toman parte en este proceso(97).

Las CMMs liberan citoquinas, factores de crecimiento y vesículas facilitando la comunicación con otras células mediante sistemas de señalización. Además, activan las CMMs locales facilitando su renovación y diferenciación. Las CMMs tienen actividad inmunomoduladora y antiinflamatoria. Neutralizan mediadores catabólicos (IL-1, TNF- α , óxido nítrico) y transforman la macroglobulina M1, proinflamatoria, en magroglobulina M2, inmunosupresora, gracias a la acción de la PGE2. Además, facilitan la angiogénesis y previenen la apoptosis y fibrosis(82).

En los últimos años se están acumulando evidencias que apuntan a que los beneficios derivados del uso de CMMs que se han descrito en diferentes ensayos clínicos están directamente relacionados con su actividad paracrina y no con la capacidad de diferenciación de las células implantadas, ya que el número de CMMs que consiguen implantarse de forma exitosa en el tejido receptor tras un trasplante es muy bajo.

Los nuevos protocolos terapéuticos que utilizan CMMs obtenidas mediante cultivos o mediante aislamiento de CMMs frescas no cultivadas nos abre la puerta a nuevas terapias. Los nuevos objetivos son conseguir orquestar la señalización de las CMMs introducidas sistémicamente para que sean capaces de realizar su función y obtener resultados terapéuticos más eficientes(83). En los últimos años, además, se está prestando mucha atención a la actividad paracrina de las proteínas y vesículas secretadas por estas células, el denominado secretoma, cuyo uso abriría la posibilidad de emplear terapias libres de células y por lo tanto más seguras a nivel biológico y libres de los problemas asociados a las terapias celulares

El uso de terapias como la aplicación de CMMs cambia el paradigma de los tratamientos actuales al ofertar una regeneración del tejido dañado en lugar de limitarse a aliviar los síntomas(82). Las terapias con CMMs en tendinopatías se explican con más detalle en apartados posteriores.

6.3. Actualización de los tratamientos para las tendinopatías agudas y crónicas publicados

6.3.1. Aspirados de médula ósea:

Las CMMs de la médula ósea (BM-CMMs) y los aspirados de médula ósea (BMACs) constituyen una buena opción terapéutica para el tratamiento de lesiones musculoesqueléticas(98,99). Estas CMMs pueden usarse en combinación con estructuras de soporte adecuadas para su correcto funcionamiento(99,100), o, adicionalmente, complementando algunos de los tratamientos que ya hemos mencionado anteriormente. Entre otras opciones, se ha utilizado PRP como soporte de BM-CMMs y de BMACs ya que el PRP añade además su papel regenerador al tratamiento.

Para la extracción de BMAC se coloca al paciente en decúbito prono. Tras localizar la cresta iliaca mediante palpación, se esteriliza el área y se aplica un anestésico local, como lidocaína. Generalmente se utiliza la cresta iliaca posterior para hacer la punción, debido a que el paciente está en una postura más cómoda y segura(101). Se penetra en el hueso iliaco con una aguja de aspiración de médula ósea y se va progresando hasta la médula ósea. Cuando se ha aspirado la muestra se somete a centrifugación para poder aislar el concentrado de BMACs. Este producto se mezcla con PRP en una jeringuilla con una proporción BMAC:PRP de 2:1. Por último, se inyecta en el área a tratar. Idealmente mediante una infiltración guiada por ecografía(99).

Kim SJ *et al*, publicaron un estudio muy interesante en 2018(99). Su hipótesis principal era que el complejo BMAC-PRP podría favorecer la regeneración de los tendones del manguito rotador y mejorar la sintomatología clínica. Compararon el curso clínico de un desgarró parcial del tendón del manguito rotador tratado con ejercicios de fisioterapia o con inyección de BMAC-PRP. La inyección de BMAC-PRP se realizó en el lugar del desgarró guiado mediante ecografía. Los resultados obtenidos demostraban que el tratamiento con BMAC-PRP mejoró el dolor y la funcionalidad del hombro en los pacientes tratados con este preparado. Además, el tamaño del desgarró disminuyó tras la aplicación de BMAC-PRP. Este último hallazgo no demostró diferencias significativas tras comparar ambos grupos (99).

7- PRINCIPIOS DE MODELOS ANIMALES DE EXPERIMENTACIÓN

La utilización de animales en ámbitos científicos es algo común desde tiempos de la antigua Grecia. Aristóteles fue el primero que realizó publicaciones en este ámbito. Ya en el siglo XIX, los estudios en los que se utilizan modelos de experimentación animal eran los protagonistas de la mayoría de los logros científicos en medicina(102). En esta época se pensaba que los procesos biológicos de humanos y el resto de los mamíferos

eran similares. Esto servía de premisa para extrapolar todos los resultados obtenidos en experimentos realizados en mamíferos a los seres humanos.

Fue el fisiólogo danés, August Krogh, con el “principio de la racionalización del uso de animales de experimentación”, quien puso en duda la idea tan arraigada de la similitud absoluta entre humanos y el resto de mamíferos. Lo que Krogh proponía era que “*para un gran número de problemas habrá muchos o pocos animales que se puedan elegir, en los que se podrá realizar el experimento de forma más adecuada*”, es decir, que había que buscar un animal adecuado para cada experimento(103).

En la práctica, el principio de August Krogh no es fácil de aplicar, incluso hoy en día. Es difícil saber qué animal es mejor para cada experimento. Como guía general, para el uso de animales de alimentación se debe considerar:

- Que el animal sea análogo al ser humano (homología entre procesos fisiológicos y estructuras morfológicas).
- Que sea capaz de transmitir la información.
- Que los animales utilizados sean genéticamente uniformes.
- Conocimiento exhaustivo de sus propiedades biológicas.
- Coste adecuado al presupuesto y disponibilidad.
- Que se obtengan resultados generalizables.
- Pocas consecuencias de carácter ecológico.
- Edad, sexo y esperanza de vida adecuadas para el experimento.
- Animales adaptables a la manipulación experimental.
- Disponibilidad de alojamiento para los animales.

Los problemas asociados a la experimentación animal son sobre todo éticos y económicos. Esto ha hecho necesario desarrollar nuevas técnicas para evitar, en lo posible, el uso de animales de experimentación. Una de estas nuevas técnicas consiste en modelos de experimentación informáticos, en los que se realiza una simulación informática del experimento en un animal. Otra opción podría ser realizar ensayos *in vitro*. Sin embargo, estas técnicas no consiguen unos resultados experimentales tan precisos y completos como los obtenidos en modelos animales(104).

Una buena alternativa son los ensayos “escalonados”. Éstos consisten en testar la hipótesis nula en modelos “*in vitro*”. Si se obtienen resultados estadísticamente significativos se da el salto a testar con roedores. Si, de nuevo, obtenemos resultados

significativos pasamos a testar en animales “superiores” como simios. Estos últimos tests están ya muy perfeccionados, por lo que se utiliza un número mínimo de animales.

Clasificación de los modelos de experimentación

- **Modelos animales inducidos:** aquellos en los que se induce una enfermedad de manera deliberada que presentará los mismos síntomas que la misma enfermedad en la especie diana(105).
- **Modelos generados por manipulación genética:** se ha conseguido introducir genes humanos en animales, lo que se conoce como animales *knock-in*. De esta forma se consigue una reproducción muy veraz de la patología humana. También se ha conseguido realizar depleciones de genes, lo que se conoce como *knock-out*. Estos animales pueden reproducirse, y su descendencia presentará los cambios genéticos introducidos en los progenitores(105,106).
- **Modelos animales espontáneos:** en estos animales no se realiza una manipulación genética directa, si no que se realizan cruces consanguíneos que terminan por producir mutaciones genéticas de forma “natural”. Estas mutaciones genéticas también pueden aparecer sin necesidad de llevar a cabo cruces consanguíneos. Estos modelos están en desuso actualmente(105,106).
- **Modelos animales negativos:** animales que no desarrollan una enfermedad o no reaccionan a un estímulo concreto, por ejemplo, la resistencia de los conejos a la infección por gonococo(106).
- **Modelos animales huérfanos:** modelos animales que presentan enfermedades que no se desarrollan en los seres humanos, como la encefalopatía espongiiforme bovina(106).

Realizar estudios experimentales con animales aporta ventajas sobre los estudios en pacientes. En los modelos animales se pueden controlar más variables que en humanos. Por ejemplo, en el caso de las roturas tendinosas se puede reproducir quirúrgicamente el mismo patrón de rotura, reduciendo al mínimo las variabilidades entre un individuo y otro. Además, es más fácil acceder a un número importante de animales con la misma enfermedad que a pacientes, acortando los tiempos del estudio(106).

Se utilizan muchos tipos de animales de experimentación, aunque, sobre todo, predominan los roedores. En estudios de experimentación de medicina regenerativa aplicada a patología tendinosa, se han encontrado publicaciones en las que se ha usado ratas, cobayas, conejos, perros, ranas, ovejas(105).

8- MODELOS DE EXPERIMENTACIÓN DESCRITOS PARA LA EVALUACIÓN DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES EN TENDINOPATÍAS CRÓNICAS

8.1. Modelos animales experimentales de tendinopatías

Se han publicado numerosos modelos experimentales animales en los que los autores han tratado de simular las tendinopatías humanas. Las dificultades que entraña la simulación de la patología tendinosa humana son varias. La primera, es que no hay animales de experimentación bípedos y las fuerzas a las que se ven sometidos los tendones en articulaciones en las que se carga parte del peso del cuerpo son diferentes que a las articulaciones en las que solo se trata de movilizar un miembro en el espacio, como las extremidades superiores en humanos.

También hay que considerar el tamaño de los tendones, especialmente en roedores. Si el tamaño es reducido se dificulta mucho cualquier intervención a realizar y el análisis posterior de los resultados. El tendón de Aquiles de los conejos es una de las mejores opciones. Los conejos son animales pequeños y tienen una vida media más larga que la de las ratas y ratones. Su tendón de Aquiles es largo y muy accesible, ya que es prácticamente subcutáneo. Además, es un tendón sometido a grandes cargas, con lo cual guarda grandes similitudes con tendones humanos.

Otro punto a tener en cuenta es que la esperanza de vida de los animales de experimentación es bastante más corta que la de los pacientes. Por eso, simular tendinopatías crónicas es complejo. Por motivos económicos y de duración de los experimentos, no es viable mantener a los animales vivos durante el tiempo necesario hasta que aparezcan tendinopatías crónicas de forma espontánea. Por eso, hace falta diseñar sistemas que aceleren la degeneración del tejido tendinoso. Se han publicado diferentes modalidades, métodos mecánicos, quirúrgicos o farmacológicos. Éste y otros aspectos se analizan en los siguientes apartados con más detalle.

8.1.1. Roedores (ratas y ratones)

Los roedores son el modelo experimental más utilizado en la investigación de las tendinopatías y sus tratamientos. Aunque no son animales que simulen de forma fidedigna las tendinopatías humanas, son animales muy accesibles, fáciles de adquirir, se reproducen con mucha facilidad, no requieren de cuidados especiales y tienen unos gastos de estabulación asumibles.

A continuación, se explican con más detalle los modelos experimentales publicados más significativos de tendinopatías en roedores.

- Carrera en cinta

La carrera en una cinta angulada en descenso ha demostrado inducir tendinopatías en el tendón supraespinoso en ratas(107,108). Sin embargo, curiosamente, el mismo ejercicio no afecta al tendón de Aquiles en este animal.

Gabriel Yin-Fat Ng *et al.*, para desarrollar un modelo de rata con tendinopatía Aquilea, utilizaron 14 ratas Sprague-Dawley, dividiéndolas en un grupo control y uno experimental, con 7 animales cada uno(107). El experimento consistía en someter al grupo experimental a carrera en cinta únicamente sobre los miembros inferiores, suspendiendo el tren superior, durante una hora diaria a lo largo de 8 semanas. De esta manera conseguían fatigar el tendón de Aquiles, que no se fatigaba cuando la rata caminaba sobre sus cuatro miembros. La cinta estaba dispuesta con una inclinación de 20º y a una velocidad de 17 m/min. A las 8 semanas, los tendones Aquileos se recolectaron y analizaron histológica y biomecánicamente. Histológicamente, se observó una proliferación de tenocitos, cambios en su apariencia y desintegración de los haces de colágeno. Biomecánicamente, se observó una disminución de la rigidez y un aumento de la elasticidad. Tanto los hallazgos histológicos como biomecánicos sugieren cambios tendinosos en el grupo experimental similares a los cambios patológicos producidos en las tendinopatías humanas(107).

- Sobrecarga mecánica

Nelly Andarawia-Puri y Evan L. Flawton realizaron un estudio cuyo objetivo era determinar el papel de la matriz extracelular en la patogénesis de las tendinopatías y la cicatrización problemática de tendones lesionados. En el estudio se centraron en tres áreas: la patogénesis de la degeneración tendinosa, promoción del remodelado de lesiones por fatiga y el papel de la matriz extracelular en la regeneración tendinosa sin cicatriz. Para ello utilizaron el modelo de ratón MRL/MpJ(109). Esta cepa de ratón fue cruzada endogámicamente hasta conseguir un modelo con alteraciones genéticas de carácter autoinmune(110). Se observó que estos ratones regeneraban de manera completa lesiones cartilaginosas creadas por los científicos sin desarrollar tejido cicatricial(110,111). En estudios posteriores, se ha descubierto que, además, esta cepa tiene la capacidad de regenerar tejido cardíaco, presenta resistencia a la distrofia muscular y a la hiperglucemia tras una dieta hiperlipídica(112,113).

El primer paso consistió en desarrollar un modelo de rata(114) con subrupturas tendinosas por acumulación de fatiga en el que se pudiera investigar la patogenia temprana de la tendinopatía. Se utilizaron ratas hembras Sprague-dawley (SD) de 9 meses de edad. Estas ratas fueron anestesiadas con iso-flurano y se expuso su tendón rotuliano izquierdo para fatigarlo(114). Se clampó la tibia para fijar la rodilla en flexión de 30º. La rótula se sujetó y se conectó a una carga de 50 lb en varios ciclos (*Figura 13*). Tras cargar el tendón se retiraron las sujeciones y se suturaron las incisiones cutáneas(109).

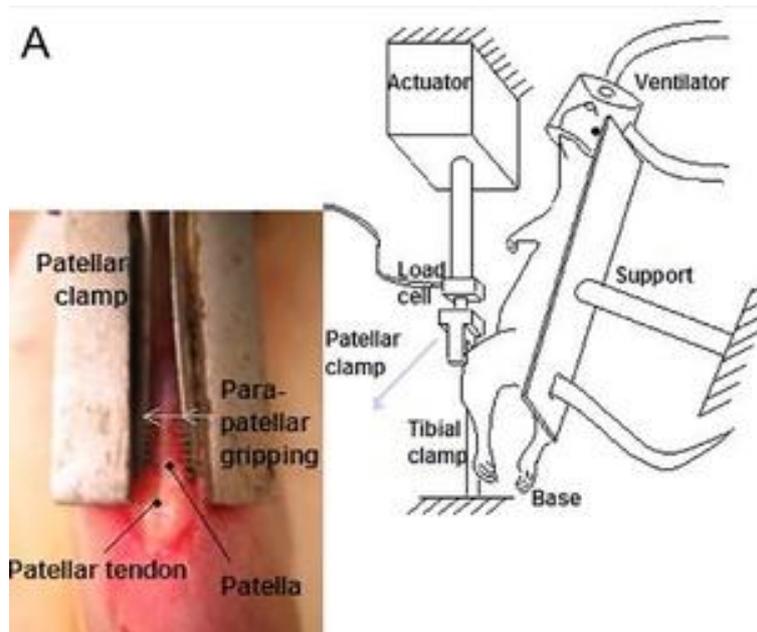


Figura 13 . Representación esquemática del experimento (A). A, La tibia, expuesta quirúrgicamente, se clampa a una base para fijar el miembro inferior. La rótula se clampa también y se conecta a una carga permitiendo la sobrecarga del tendón sin necesidad de utilizar instrumentalización directa sobre el tendón. | Nelly Andarawis-Puri, Evan L. Flatow. Promoting Effective Tendon Healing and Remodeling. J Orthop Res. 2018 Dec; 36 (12): 3115-3124.

Con este experimento demostraron que la acumulación de fatiga en ciclos desencadena en el tendón daños estructurales no recuperables y una pérdida de funcionalidad(109,115,116). Además, la sobrecarga en ciclos produce cambios moleculares, mecánicos y estructurales diferentes a los observados en las laceraciones tendinosas(109,117).

- Diferenciación condrogénica con Kartogenina

El problema de la inducción de tendinopatías mediante métodos mecánicos es que crear modelos con estas características consume tiempo y recursos económicos. Además, las lesiones inducidas con esta metodología pueden variar de un animal a otro y de una región tendinosa a otra en un mismo animal. Es necesario crear un modelo animal más conveniente, eficiente y reproducible(118).

Ting Yuan *et al.* llevaron a cabo un estudio cuyo objetivo era crear un modelo animal tendinopático implantando gotas de un bio-compuesto llamado kartogenina (KGN) directamente en el tendón de roedores(118). KGN es un pequeño compuesto heterocíclico con capacidad para estimular células progenitoras endógenas como CMMS, y diferenciarlas en condrocitos en aquellos ratones en los que se implanta(119). En pacientes diagnosticados de tendinopatías crónicas se han encontrado células *condrocyte-like* en las regiones degeneradas en las que había aumento de glicosaminoglicanos y aumento de la expresión de proteoglicanos(120,121). Es por ello que intentaron crear un modelo de roedor con tendinopatía implantando gotas de KGN en sus tendones(118).

Para determinar el potencial condrogénico de KGN se implantaron gotas de KGN en modelos de ratas Sprague Dawley hembras. Se utilizaron 12 ratas que se dividieron en 2 grupos de manera aleatoria, administrando a un grupo gotas de KGN y al otro gotas de dimetil sulfóxido (DMSO) lo suficientemente pequeñas para no causar efectos citotóxicos. Se ha demostrado que pequeñas concentraciones de DMSO no causa efectos citotóxicos en enterocitos *in vitro*(122). Tanto la gota de KGN como la de DMSO se implantaron en la cadena lateral del tendón de Aquiles, 5mm proximalmente a su inserción en el hueso calcáneo. A las ratas se les permitió realizar actividad sin restricciones y fueron sacrificadas 5 semanas después de la implantación. Se recogieron los tendones de Aquiles para su inspección a simple vista y análisis(118).

A las 5 semanas tras la implantación de KGN se había producido un engrosamiento de los tejidos del paratendón en comparación con los tendones a los que se les implantó DMSO. Además, se apreciaron características tendinopáticas típicas como hiper celularidad y desorganización colágena y células redondeadas en los tendones implantados con KGN. Los tendones a los que se les implantó DMSO tenían la misma apariencia que un tendón en condiciones normales(118). Se explica con más detalle en la *Figura 14*.

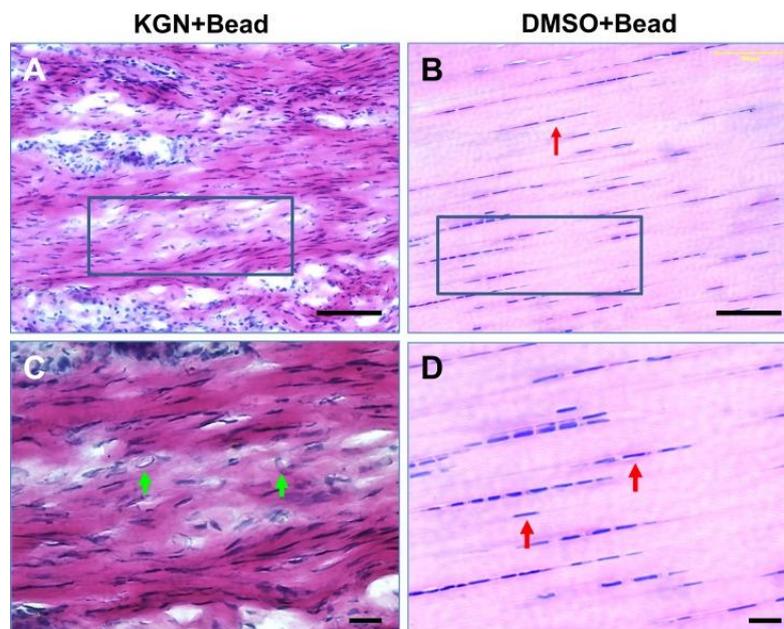


Figura 14. Tinción H&E de tendones implantados con KGN. 5 semanas tras el implante con gotas de KGN (A), células redondeadas condrocito-like (cuadros) se observaron solo en tendones en los que se implantó KGN. El cuadro en A está aumentado en C. Las flechas verdes señalan las células redondeadas condrocito-like. En los tendones en los que se implantó DMSO no hubo alteración en la estructura (B). El área recuadrada en B está aumentada en D. Las flechas rojas señalan células tendinosas normales. |Ting Yuan, Jianying Zhang, Guangyi Zhao. Creating an Animal Model of Tendinopathy by Inducing Chondrogenic Differentiation with Kartogenin. PLoS One. 2016; 11(2): e0148557.

Además, mediante distintas técnicas de tinción, se detectó la presencia de gran cantidad de proteoglicanos sólo en los tendones en los que se implantó KGN. Concretamente, en las zonas donde se había implantado y no en los tejidos de alrededor. En los tendones implantados con KGN hubo un resultado positivo en las técnicas de tinción inmunohistoquímica del marcador condrocítico, Col. II. Todos estos hallazgos indican que KGN es capaz de inducir condrogénesis localizada y neovascularización en el tendón de Aquiles de estas ratas(118).

Con este estudio Ting Yuan *et al.* demostraron que, con la implantación de gotas de KGN, es viable crear modelos animales con tendinopatías similares a las que aparecen en ratas tras una larga exposición a carrera en cinta(123). En comparación con modelos anteriores este nuevo modelo tiene las siguientes ventajas. Resulta coste-efectivo y eficiente (menos animales y menos tiempos necesarios). Es muy reproducible y puede crear lesiones tendinosas localizadas en cualquier lugar del tendón, algo difícil de conseguir con la carrera en cinta(118,124).

- Nuevas técnicas quirúrgicas

Rebecca Bell *et al.* buscaban mejorar el tratamiento quirúrgico de las roturas del tendón supraespinoso. Sobre todo para disminuir la tasa de recidiva. Para ello, en 2015, diseñaron un modelo experimental en ratón. El manguito rotador del ratón es similar al del humano anatómicamente y estructuralmente, incluyendo la presencia del arco coracoacromial y su inserción fibrocartilaginosa. El modelo consistía en la desinserción del tendón del supraespinoso para repararlo quirúrgicamente más tarde(125).

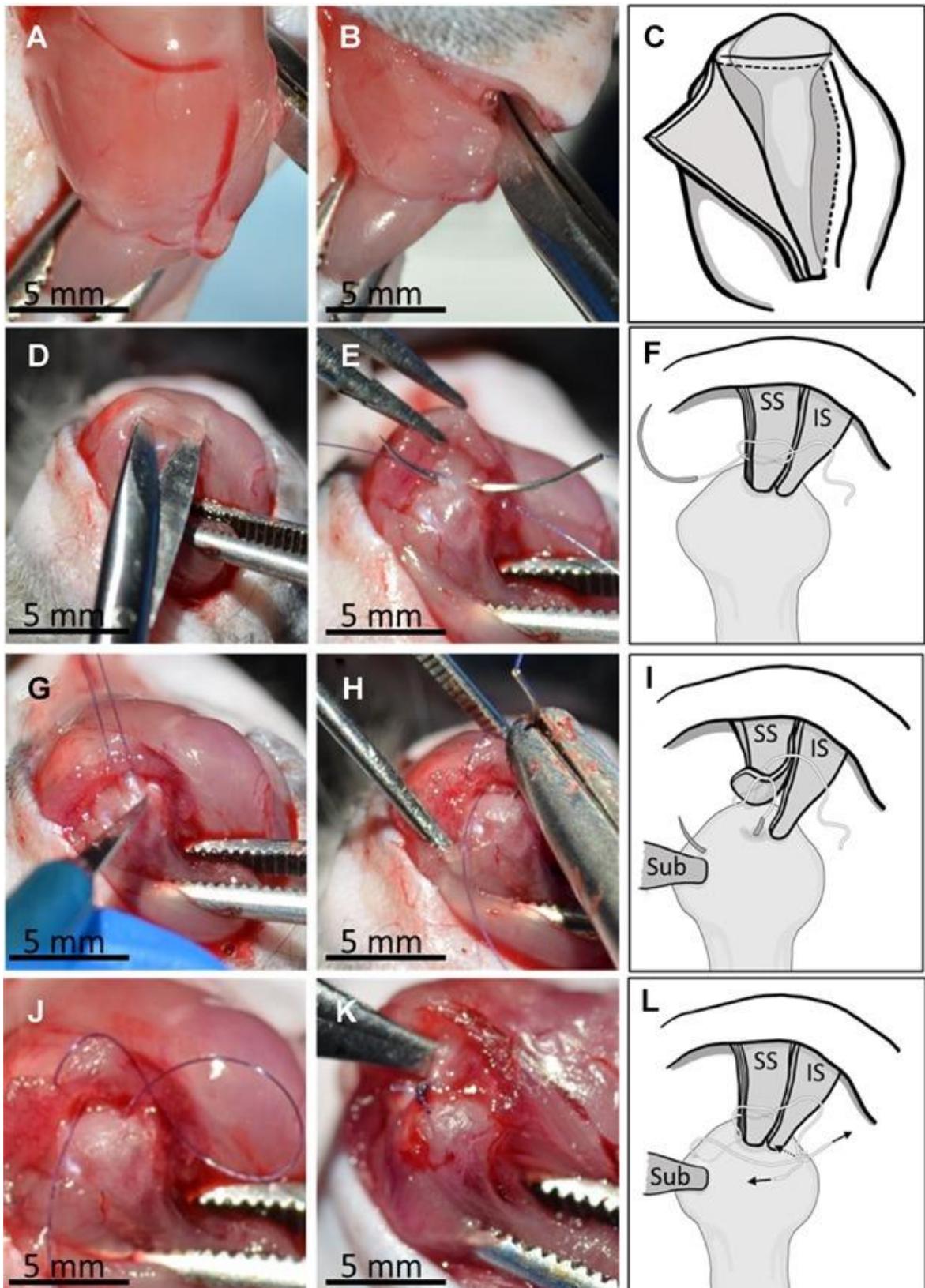


Figura 15. Marcas vasculares (A) para identificar el deltoides lateral proximal para guiar su liberación (B y C). Exposición del tendón del supraespinoso (SS) (entre las hojas de las tijeras (D)). Paso de la sutura a través de la parte distal del tendón del supraespinoso (E y F), sin dañar el tendón subescapular (Sub). Reinserción del tendón del supraespinoso al húmero (J, K y L).| Rebecca Bell, Peter Taub, Paul Cagle. Development of a mouse model of supraespinatus tendón insertion site healing. J Orthop Res. 2015 Jan; 33(1):25-32. Figura 4.

Los ratones se colocaron en decúbito lateral y se realizó una incisión desde el codo del miembro superior hasta la oreja. Se apartó el tejido subcutáneo hasta descubrirse el músculo deltoides (*Figura 15A*). Éste se liberó mediante incisiones en el borde posterior y en la zona distal del vaso (*Figura 15B*). Posteriormente se sujetó el húmero en la parte distal de la cabeza para aportar estabilidad y se realizó una adducción y rotación externa para descubrir el arco coracoacromial. Se retiraron las fascias para descubrir el manguito rotador (*Figura 15D*) y se realizó una sutura con aguja BV-1 en forma de ocho a través del tendón del supraespinoso (*Figura 15E y F*). Este tendón fue desanclado con un microescalpelo (*Figura 15G*) y se confirmó su movilidad completa, realizando un desbridamiento del lugar de inserción. Con el húmero estabilizado, se utilizó la sutura de aguja BV-1 para crear un túnel a través de la cabeza humeral en sentido posteroanterior (*Figura 15H*). La entrada del túnel estaba ubicada en la zona de inserción del supraespinoso evitando el tendón del infrespinoso y la salida trataba de evitar el tendón del subescapular (*Figura 15I*). Se ligó la sutura devolviendo el tendón a su área de inserción original (*Figura 15J, K y L*). Se reubicó el deltoides sobre el húmero y la incisión cutánea fue suturada.

Tanto inmediatamente después del procedimiento como a los 14 días, se evaluaron los resultados obtenidos en los 40 ratones que se sometieron a la cirugía. En el postoperatorio se consideró el procedimiento como exitoso si el tendón se había devuelto a su ubicación original sin complicaciones (entendimiento por estas fracturas óseas o desgarros tendinosos). A los 14 días se consideraron exitosos aquellos casos en los que el tendón permanecía anclado a la cabeza humeral de manera segura. El resultado fue una tasa de éxito del 97%(125).

8.1.2. Conejos

Los conejos son animales de experimentación muy utilizados en tendinopatías. El tendón más utilizado es el tendón de Aquiles, aunque se han utilizado otros. A continuación, se repasan las diferentes técnicas utilizadas para crear tendinopatías en conejos.

- Fibrosis del tendón rotuliano

La etiología de la tendinopatía del tendón rotuliano sigue sin estar completamente aclarada. Se sigue investigando en este aspecto y en posibles tratamientos. Hasta el año 2020 no se habían publicado modelos animales adecuados en los que estudiar convenientemente esta patología.

Haitao Liu *et al.* desarrollaron en 2020 un modelo de conejo con fibrosis del tendón rotuliano secundaria a la inducción de saltos mediante estimulación eléctrica(126). Para el estudio se utilizaron 32 conejos blancos de Nueva Zelanda, a los que se dividió aleatoriamente en un grupo de saltadores y otro grupo control. Sobre el grupo control no se realizó ninguna intervención. A los conejos del grupo experimental se les hizo saltar, mediante estimulación eléctrica, 150 veces al día durante 5 días a la semana. A las 2, 4, 6 y 8 semanas se extirpaban los tendones rotulianos de 4 conejos de cada grupo y se teñían con tinción H&E, inmunohistoquímica y reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real.

Los cambios histológicos en el tendón rotuliano del grupo experimental eran más evidentes a las 4 semanas. Al compararlos con los tendones del grupo control encontraron un aumento significativo del mRNA y de la expresión de TGF- β 1, CTGF, COL-I y COL-II en los tendones rotulianos del grupo experimental tras 4 semanas de entrenamiento. La comparación dentro del grupo experimental demostró que los niveles más altos de mRNA y de expresión de TGF- β 1, COL-I y COL-II aparecían a las 4 semanas.

En este estudio se demostró que la fibrosis se produce por exceso de uso y que los cambios histológicos eran más acusados a las 4 semanas del entrenamiento. La acumulación de saltos aumenta la secreción de TGF- β 1 en el tendón rotuliano, con aumento de la regulación de CTGF y aumento de la síntesis de COL-I y COL-II, que fueron considerados la patogénesis de la fibrosis(126).

- Inyecciones con colagenasa en tendón de Aquiles

La tendinopatía Aquilea crónica es una de las tendinopatías por exceso de uso más habituales(127). Su etiología es multifactorial, por eso es importante utilizar modelos animales, para poder controlar y estudiar todas las posibles causas implicadas de forma independiente(128). Es de gran importancia el uso de animales para ayudarnos a entender esta patología. Nos permiten estudiar cada etapa de la patología en un ambiente controlado y reproducible(129,130).

El uso de colagenasas ha demostrado resultados prometedores en la inducción de tendinopatía Aquilea(131–134). Se trata de un procedimiento objetivo, fácilmente reproducible y que requiere pocos recursos. Según los estudios, las colagenasas inducen destrucción y desorganización de las fibras colágenas, así como alteraciones celulares, moleculares y biomecánicas. Los resultados histológicos tras su aplicación son similares a los humanos(129,130,135). Su desventaja radica en que una sola inyección produce alteraciones intensas en el tendón. Esto no se corresponde con la naturaleza larvada y progresiva de las tendinopatías crónicas en humanos(129).

Para intentar solucionar este problema Cesar de Cesar Netto *et al.* publicaron un estudio con un nuevo protocolo: aplicar dosis más bajas de colagenasas de manera periódica, en comparación con una única dosis elevada, consigue una alteración tendinosa progresiva y persistente. Esta alteración se asemejaría de mejor forma al desarrollo crónico y larvado de la tendinopatía humana(129).

Para ello, utilizaron 45 conejos hembra de Nueva Zelanda, que fueron asignados de manera aleatoria en tres grupos distintos. Todos recibieron inyecciones bilaterales en el tendón de Aquiles. Al grupo LD (*Low Dose*), de 18 conejos, se le administró tres dosis bajas de colagenasa (0.1mg) separadas por dos semanas cada una. Al grupo HD (*High Dose*), también de 18 conejos, se le administró una sola dosis elevada (0.3mg). El grupo restante era el grupo control, con 9 conejos. Se sacrificaron 6 conejos de cada grupo experimental (LD y HD) a las 10, 12 y 16 semanas. Los conejos del grupo control se sacrificaron a las 16 semanas. Posteriormente se comparó la histología y biomecánica de los tres grupos(129).

Los hallazgos histológicos y biomecánicos de este estudio demostraron que la aplicación de menores dosis de colagenasas en el tendón de Aquiles de conejos produce un cambio tendinopático progresivo en comparación a la aplicación de una sola dosis elevada y a los controles. Según Cesar de Cesar Netto *et al.* este cambio representa una opción más fiable para el estudio de la tendinopatía crónica Aquilea, con hallazgos que se asemejan más a la naturaleza progresiva y larvada de la tendinopatía crónica Aquilea en humanos(129).

8.1.3. Ovejas

El principal inconveniente de la utilización de las ovejas es el elevado coste de su estabulación. Sin embargo, son animales con gran utilidad para el estudio de tendinopatías. Los tendones tienen un tamaño muy adecuado para el estudio. Además, los tendones de la cadera guardan una gran similitud con los tendones humanos, lo que las convierte en los animales experimentales ideales para realizar experimentos para mejorar el tratamiento del síndrome de dolor peritrocantéreo.

▪ Tendinopatía intrasinovial

En la revista "*Journal of Orthopaedic Research*" Mohammad R. Khan *et al.* publicaron una evaluación sobre los efectos de células sinoviales multipotentes en la reparación del tendón flexor digital profundo (DDFT) en un modelo animal grande de tendinopatía intrasinovial(136). Para este estudio se utilizaron 26 ovejas mula (cruce entre un carnero Leicester de cara azul y una oveja de pura raza) adultas sanas. Cuatro de los animales se utilizaron para evaluar la distribución de las células marcadas con nanopartículas de hierro en las semanas 1 y 2 post-implantación. Los otros 22 animales se utilizaron para evaluar los efectos de células no marcadas en la reparación tendinosa tras 4, 12 y 24 semanas post-implantación.

Los pasos del estudio consistían en:

1. Realización de una lesión mediante cirugía en el tendón flexor digital profundo.
2. Implantación intrasinovial de células 2 semanas post-cirugía.
3. Eutanasia de los animales y evaluación y examen histológico a las 4, 12 y 24 semanas postimplantación, utilizando a las 4 semanas 6 modelos animales y 8 modelos a las 12 y 24 semanas. En las 4 semanas se utilizaron menos modelos ya que no se esperaba observar grandes cambios tan temprano. Para los experimentos de seguimiento celular, se evaluaron los miembros anteriores mediante RM, a simple vista y mediante examen histológico a la semana 1 y 2 post-implante.

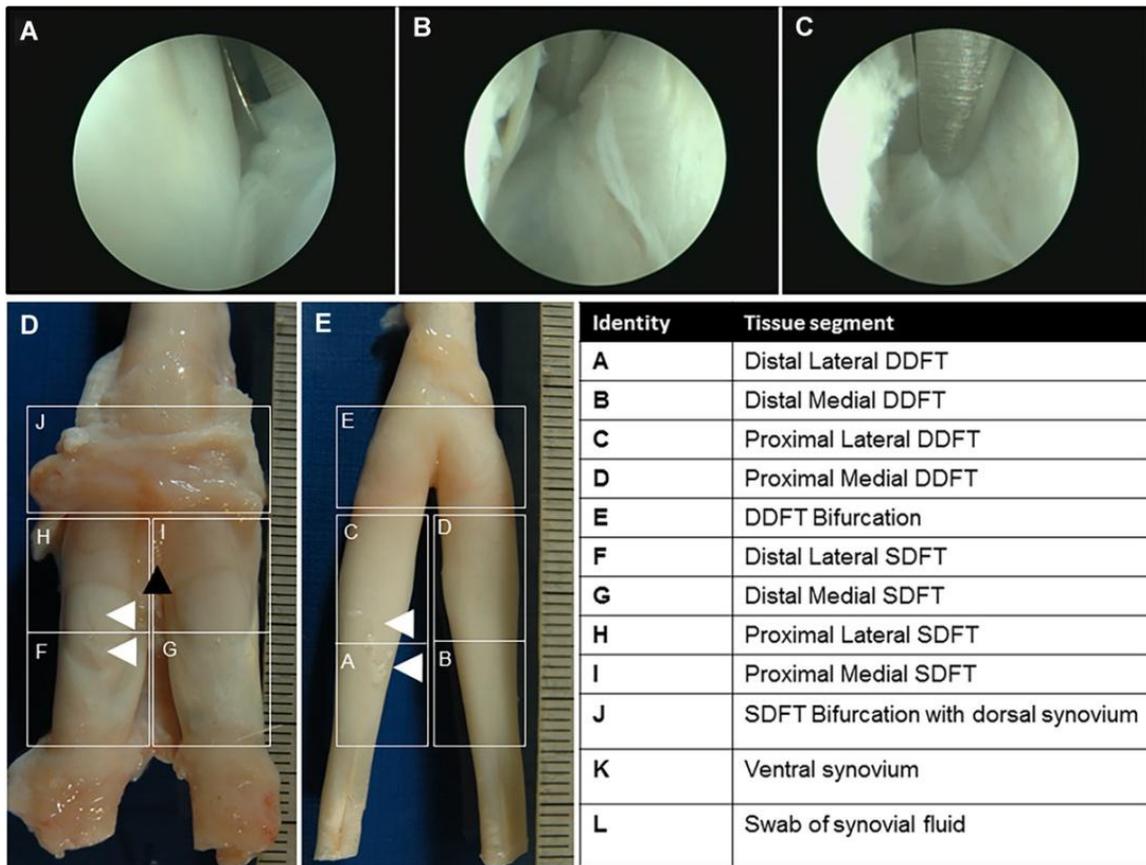


Figura 16: Tendones flexores digitales intrasinoviales ovinos. (A) Imagen artroscópica de la extracción de biopsia sinovial de la vaina del tendón flexor digital. (B) Vista dorsal del complejo del tendón flexor digital tras una disección del miembro anterior en la que se ve el tendón flexor digital (DDFT) con el tendón flexor digital superficial (SDFT) superpuesto. La flecha señala la zona de extracción de la biopsia. Las cabezas de flecha indican la lesión en el tendón flexor digital profundo lateral. (C) Vista dorsal del tendón flexor digital profundo con cabezas de flecha blancas señalando la lesión. | Mohammad R. Khan, Roger k. Smith, Frederic David. Evaluation of the Effects of Synovial Multipotent Cells on Deep Digital Flexor Tendon Repair in a Large Animal Model of Intra-Synovial Tendinopathy. J Orthop Res. 2020 Jan. 128-138.

Las conclusiones obtenidas de este estudio fueron que la sinovial sana de las vainas tendinosas es una fuente viable de células progenitoras multipotentes. Su abundancia es variable; sin embargo, SMCs muestran un injerto y persistencia similar en la sinovial a pesar de su naturaleza heterogénea. Esto no ocurre en tendón intacto o lesionado. Aunque las poblaciones de SMCs no aumentaron la reparación tendinosa, como se evaluó en este estudio, los hallazgos en cuanto a los mecanismos de injertos podrían conducir a terapias para una reparación tendinosa intrasinovial más exitosas(136).

- Desgarro del tendón glúteo medio

Unas de las causas del dolor peritrocantéreo, una de las tendinopatías crónicas más frecuentes, son los desgarros del tendón del glúteo medio. Su tratamiento es complejo, se suele utilizar sobre todo medidas conservadoras. Pero, recientemente, aumenta la tendencia a intentar la reparación quirúrgica. Hasta ahora, no se habían descrito modelos animales en los que se pueda recrear una reparación tardía de un

tendón del glúteo medio tendinopático. Mark Zhu *et al.* realizaron un estudio cuyo objetivo era desarrollar un modelo de tendinopatía crónica y desgarro del glúteo medio y compararlo con un desgarro agudo del glúteo medio y su reparación(137).

Para ello diseccionaron y examinaron seis glúteos medios de ovejas maduras para confirmar su similitud con la anatomía humana. Se sometió a diez ovejas adultas aparte a un desanclaje del tendón seguido de revisión y toma de muestras histológicas a las 6 y 16 semanas para evaluar el grado de degeneración tendinosa. Se realizó la reparación tendinosa a las 6 semanas en seis ovejas. Estas ovejas se compararon con otras cuatro ovejas adultas en las que se había realizado un desanclaje agudo del tendón y reparación inmediata.

Los resultados obtenidos reflejaban que el desanclaje del tendón durante 6 semanas es suficiente para producir cambios histológicos similares a los que toman parte en la tendinopatía crónica. Además, en la reparación de este tendón degenerado se consiguieron peores resultados que los obtenidos en la reparación del modelo de desanclaje agudo(137).

8.2. Modelos de tratamiento con CMMs

En este apartado se analizan con detalle los modelos animales en los que se ha estudiado el uso de CMMs en el tratamiento de tendinopatías en animales de experimentación.

8.2.1. Ratones

- Uso de vesículas extracelulares de CMMs para el tratamiento de tendinopatías

Como ya se ha comentado anteriormente, la capacidad regeneradora de las CMMs está, en su mayoría, mediada por su actividad paracrina(138). Las vesículas extracelulares producidas por las CMMs parecen ser las responsables de esta actividad. Basándose en esto, Gissi *et al.* realizaron un estudio en 2020 en el que se evaluó la respuesta de los tendones de Aquiles lesionados de ratas a la inyección de vesículas extracelulares de BM-CMMs (rBM-CMMs-EVs). Las rBM-CMMs-EVs expresan pro-colágeno 1A2 y la proteína MMP14(139). Estos factores son importantes para el remodelado de la matriz extracelular del tendón. En este trabajo se describe como las rBM-CMMs-EVs son capaces de inducir la regeneración de células aisladas del tendón de Aquiles *in vitro*.

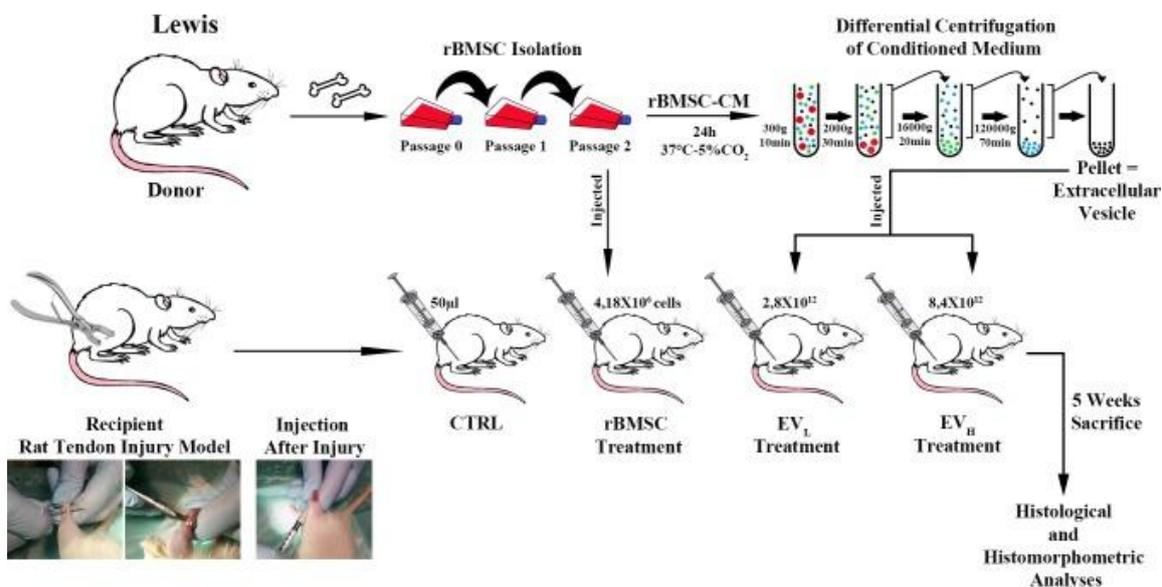


Figura 17: Diseño experimental. Aislamiento de rBMSC, enriquecimiento de EV mediante ultracentrifugación. Proceso quirúrgico de lesión tendinosa en modelo de rata. Tratamiento local micro-inyectado. Clarissa Gissi, Annalisa Radeghieri, Cristina Antonetti Lamorgese Passeri. Extracellular vesicles from rat-bone-marrow mesenchymal stromal/stem cells improve tendón repair in rat Achilles tendón injury model in dose-dependent manner: A pilot study. PLoS One. 2020; 15(3): e0229914.

En el modelo anterior, a los 30 días de la inyección de rBM-CMMs-EVs se observó una aceleración del remodelado tendinoso de una manera dosis-dependiente. Altas dosis de rBM-CMMs-EVs logran mejorar la restauración de la arquitectura del tendón, con un alineamiento de las fibras tendinosas óptimo y menor vascularización. Con concentraciones altas de vesículas extracelulares se mejoró la expresión de colágeno tipo I y disminuyó la expresión de colágeno tipo III. La utilización de BM-CMMs-EVs supone una gran novedad en el tratamiento de tendinopatías, ya que se trata de tratamientos sin necesidad de utilizar células(139).

- Terapias con CMM humanas en modelos animales

Sang Yoon Lee *et al.* realizaron un estudio en el que trataban de demostrar que, usando trasplantes xenogénicos de CMMs, se podría conseguir que estas se diferenciaban en células de línea tenogénica que secretasen sus propias proteínas. La hipótesis consistía en que CMMs humanas se podrían diferenciar en la línea tenogénica humana. Estas células serían capaces de secretar proteínas específicas humanas en un modelo de rata con lesión tendinosa(140).

Para esto se utilizaron los tendones de Aquiles de 57 ratas Sprague Dawley. A estos tendones se les indujeron defectos en todo su espesor. Los tendones defectuosos se repartieron en 3 grupos: en el primer grupo (grupo celular) se implantaron CMMs derivadas de tejido adiposo humano (hASCs) con pegamento de fibrina; en el segundo grupo (grupo fibrina) se implantó el pegamento de fibrina con el mismo volumen de medio celular; en el tercer grupo (grupo control) se realizó el mismo procedimiento

quirúrgico pero sin ningún tratamiento. Se realizaron análisis biomecánicos, histopatológicos, inmunohistoquímicos y a simple vista a las 2 y 4 semanas(140).

A las 4 semanas, los tendones tratados con hASCs demostraron una mejor recuperación morfológica y biomecánica que los tendones del grupo control y grupo fibrina. Los tendones del primer grupo, además, presentaban un aumento de colágeno tipo I específico humano y tenascina-C (glicoproteína). Este trabajo demuestra, por lo tanto, que el trasplante de hASCs facilitaba la recuperación biomecánica del tendón de Aquiles de la rata. Los implantes con estas células sobrevivían al menos 4 semanas en las ratas y secretaban colágeno tipo I específico humano y tenascina-C. Estos hallazgos sugieren que las CMMs trasplantadas podrían ser capaces de diferenciarse en la línea tenogénica y contribuir con sus propias proteínas a la recuperación tendinosa(140).

- Regeneración de defectos en el manguito rotador con CMMs derivadas del cordón umbilical

Aunque la lesión del manguito rotador es una causa muy frecuente de omalgia, aun no existen métodos terapéuticos que puedan revertir su progresión(141). Yea J-H *et al.* realizaron un estudio en 2020 para investigar la eficacia de inyecciones de CMMs derivadas del cordón umbilical (UC-CMMs) como tratamiento de regeneración en el defecto de todo el espesor del manguito rotador en un modelo de rata(142). Para ello se utilizaron 84 ratas Sprague-Dawley macho adultas. Se dividió estas ratas en tres grupos: El grupo control (N=24), grupo de suero salino (N=24) y el grupo de UC-CMMs (N=36). Se sacrificaron las ratas de cada grupo a las 2 y 4 semanas tras la cirugía. Se recolectaron los tendones supraespinosos y se examinaron macroscópica, histológica y biomecánicamente a las 2 y 4 semanas. El tratamiento con UC-CMMs mejoró el aspecto macroscópico en cuanto a engrosamiento tendinoso a las 2 semanas y en cuanto a inflamación, tamaño del defecto, edema, enrojecimiento y tejido conectivo adyacente a las 4 semanas, en comparación con el grupo en el que se utilizó suero salino. Histologicamente, las UC CMMs indujeron la formación de matriz tendinosa recuperando la organización de colágeno y el ángulo de orientación de fibroblastos en comparación al grupo en el que se utilizó suero salino. Biomecánicamente se mejoró la resistencia tendinosa en aquellos tendones tratados con UC CMMs.

Este estudio demostró que el tratamiento con UC CMMs regenera el defecto de todo el espesor del manguito rotador otorgando al tendón unas propiedades en su tejido similares a los tendones normales en términos macroscópicos, histológicos y biomecánicos(142).

- Efecto regenerador del medio condicionado de CMMs sobre defectos tendinosos.

Chen *et al.* llevaron a cabo un estudio en 2018 para investigar el impacto de los factores secretados por CMMS de la médula ósea (BM-CMMS) de ratas para la proliferación y migración de tenocitos(143). Con este estudio buscaban demostrar la eficacia de esta técnica como método terapéutico en lesiones tendinosas.

Para ello obtuvieron tenocitos de los tendones de Aquiles de ratas Sprague-Dawley. Cortaron el tendón en pequeños fragmentos y los distribuyeron en matraces de cultivo celular. Una vez en cultivo, los tenocitos migraban desde los fragmentos tendinosos adhiriéndose al frasco de cultivo donde proliferaban.

Por otro lado, las CMMs de la médula ósea se obtuvieron mediante centrifugación de una muestra de la tibia y fémur de ratas Sprague-Dawley macho. El medio donde se cultivan estas CMMs se denomina medio condicionado (MC) y contendría los factores solubles y vesículas extracelulares secretados por las BM-CMMs. Los resultados obtenidos demostraron que el MC de BM-CMMs de ratas favorecía la proliferación de tenocitos en 24 horas y disminuían la proporción de tenocitos en fase G1. Además, este medio acondicionado con CMMs favorecía la migración de tenocitos a las 6 horas, aumentando la formación de filamentos de actina y mejorando la rigidez celular y nuclear de los tenocitos(143).

8.2.2. Conejos

- Efectos regeneradores de las CMMs en desgarro crónico de manguito rotador.

Dong Rak Kwon *et al.* investigaron en 2019 los efectos terapéuticos y dosis óptima de las inyecciones ecoguiadas de CMMs obtenidas de sangre del cordón umbilical (UCB-CMMs) de conejos para tratar un desgarro crónico de espesor completo del manguito rotador(144).

Este grupo utilizó 30 conejos a los que dividieron en 3 grupos. A cada grupo se le suministraba una preparación diferente: UCB-CMMs G1- salino, UCB-CMMs G2-*Low dose*, UCB-CMMs G3-*High dose*. En cada grupo se aplicó una dosis distinta de UCB-CMMs. Las inyecciones se realizaban en el desgarro crónico de espesor completo del manguito rotador 6 semanas después de crear el desgarro. Posteriormente, se realizaron evaluaciones histológicas, visuales y un análisis motriz antes de la inyección y a las 4 semanas después de la inyección.

Los resultados obtenidos no demostraron diferencias significativas entre el grupo G2-*Low* y el grupo G3-*High* en el tamaño del desgarro y el análisis de motricidad a las 4 semanas de la inyección(144).

- Efecto regenerador de las CMMs cultivadas en condiciones de hipoxia sobre modelos de conejos con tendinopatía rotuliana.

Chen *et al.* diseñaron un estudio en 2020 para testar los efectos de la hipoxia en la diferenciación tenogénica de diferentes CMMs, la capacidad de diferenciación de estas células en situaciones de hipoxia *in vitro* y la capacidad de inducción de tenogénesis *in vivo* de la hipoxia(145).

Para este fin, se aislaron CMMs desde el tejido adiposo (A-CMMs) y médula ósea (BM-CMMs). Para confirmar el establecimiento de condiciones de hipoxia se buscaba la expresión del factor 1-alfa inducido por hipoxia (Hif-1 α). Para evaluar la expresión de

marcadores tendinoasociados Col-1a1, Col-3a1 en A-CMMs y BM-CMMs en condiciones de hipoxia se utilizaron qRT-PCR, western blot e inmunofluorescencia. Se cultivaron BM-CMMs en condiciones de normoxia e hipoxia y se implantaron mediante inyecciones en lesiones provocadas en el tendón rotuliano.

Se realizaron análisis histológicos, biomecánicos y de microscopía electrónica para evaluar el mejor efecto regenerador del tendón con BM-CMMs en condiciones de hipoxia. Los resultados *in vitro* demostraron que la hipoxia aumentaba notablemente la expresión de Hif-1 α , además de producir un aumento de los marcadores tendinoasociados en A-CMMs y BM-CMMs en comparación con el grupo de normoxia. Las BM-CMMs en hipoxia exhibían un mayor potencial de diferenciación tenogénica en comparación con las A-CMMs. Además, las BM-CMMs en condiciones de hipoxia dan lugar a un tejido tendinoso con mejores propiedades histológicas y biomecánicas que las BM-CMMs en condiciones de normoxia.

Estos hallazgos sugerían que la hipoxia podría constituir una estrategia práctica y fiable para inducir la diferenciación tenogénica de BM-CMMs con un fin tendinoreparador. Además podría aumentar la efectividad de la terapia con CMMs en las lesiones tendinosas(145).

8.2.3. Ovejas

- Estudio de la supervivencia de CMMs en modelos ovinos de tendinitis inducida mediante colagenasas.

Lacitignola *et al.* realizaron un estudio para evaluar la supervivencia y eficacia de las BM-CMMs alogénicas marcadas con una proteína roja fluorescente (RFP). Para ello utilizaron modelos ovinos con tendinopatías inducidas mediante colagenasas(146).

Las BM-CMMs, se marcaron con RFP y se inyectaron junto con un pegamento de fibrina en los tendones izquierdos de los animales donde se había inducido previamente la tendinopatía. Como control, en el tendón contralateral de cada oveja sólo se inyectó pegamento de fibrina. Tras tres, cuatro y seis semanas se recolectaron los tendones y se evaluó su morfología, depósitos de colágeno tipo I y presencia de células BM-CMMs etiquetadas mediante fluorescencia. Estos autores demostraron que la inyección de BM-CMMs en las lesiones tendinosas tenían un efecto positivo en estos tendones. La supervivencia de las células marcadas con RFP se prolongaba hasta las tres, cuatro y seis semanas tras el tratamiento.

Con este estudio concluyeron que los aloinjertos con CMMs tienen un efecto positivo en la regeneración tendinosa(146).

- Mejoría de la regeneración tendinosa intrasynovial mediante tratamiento con CMMs

Las lesiones tendinosas intrasinoviales tienen unas características específicas, que hace que se dificulte la cicatrización espontánea del tendón. Mohammad R Khan *et al.* realizaron una serie de experimentos en 2018 para intentar avanzar en el uso de CMM en la cicatrización de tendones intrasinoviales. En aquel momento no se conocía con precisión los efectos que tenía el ambiente intrasinovial en la distribución, implantación y funcionalidad de los implantes de CMMs(147).

Para este estudio utilizaron un modelo nuevo de oveja que simula de manera más precisa el ambiente mecánico e intrasinovial del manguito rotador humano.

Realizó una lesión en el borde lateral de la rama lateral del tendón flexor digital profundo de ovejas en el interior de la vaina digital. Dos semanas después se inyectaron BM-CMMs de manera ecoguiada en la misma localización. Los tendones se recolectaron al día siguiente y a las 2, 4, 12 y 24 semanas tras la inyección de CMMs.

Las CMMs de los grupos de 1 día, 1 semana y 2 semanas se etiquetaron con nanopartículas magnéticas de óxido de hierro (MIONs) y se rastrearon mediante MRI, histología y citometría de flujo. A los grupos de 4, 12 y 24 semanas se les implantó células no etiquetadas y se compararon con controles inyectados con suero salino. Los miembros tratados demostraron una distribución celular a lo largo de la vaina sinovial tendinosa, pero no en los tejidos intrasinoviales, sin presentar CMMs en los tendones o en la lesión quirúrgica. La evaluación de las lesiones control y las lesiones tratadas no demostraron evidencia de mejoría a simple vista ni histológicamente a las 4, 12 o 24 semanas.

En este estudio demostraron clínicamente el fracaso del tratamiento de las lesiones tendinosas intrasinoviales. Las células implantadas sobrevivían en nichos sinoviales durante al menos 14 días(147).

CONCLUSIONES

- Las tendinopatías, agudas y crónicas, son una patología muy prevalente. Afectan tanto a atletas como a la población general. Producen, además, una gran morbilidad en los pacientes que las padecen.
- Los tratamientos tradicionales, empleados hasta ahora, son, fundamentalmente, sintomáticos. La medicina regenerativa ha abierto una nueva línea, muy prometedora, en la búsqueda de un tratamiento etiológico para las tendinopatías, centrado en la regeneración del tejido dañado.
- El uso de CMMs es la línea de investigación más prometedora de los últimos años, aunque su aplicación en el tratamiento de las tendinopatías es compleja.
- Los últimos avances sobre el uso de las propiedades paracrinas de estas células han supuesto un cambio de paradigma. Se ha abierto la puerta al diseño de tratamientos en los que se puede estimular la regeneración del tendón sin el uso de células.
- El uso de animales de experimentación permite crear condiciones experimentales controladas, reproducibles, en un número suficiente de ejemplares y en poco tiempo.
- El problema de la trasladabilidad de los resultados obtenidos en animales a los pacientes ha de ser considerado a la hora de diseñar un modelo experimental adecuado para el estudio de las tendinopatías.
- La localización anatómica del tendón, tamaño, accesibilidad quirúrgica y las cargas a las que se ve sometido en condiciones fisiológicas son factores a tener en cuenta para el diseño de un modelo experimental animal de tendinopatías.
- En los estudios con CMM, todavía no se sabe si los resultados obtenidos utilizando CMM humanas en animales son completamente extrapolables.
- Siempre que se trabaja con animales de experimentación hay que intentar utilizar el menor número posible de animales, realizar los tratamientos provocando el menor daño posible, cumplir toda la normativa vigente y contar con el permiso del Comité de Ética pertinente.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar quería agradecer a la Dra Ana Alfonso Fernández y la Dra Flor M^a Pérez Campo por la dedicación con la que han abordado la tutoría de este Trabajo de Fin de Grado. Desde el principio se mostraron disponibles para solventar cualquier tipo de duda, orientarme en los momentos de confusión, aconsejarme, con su experiencia, la mejor manera de enfocar ciertas cosas y darme todas las pautas necesarias para que este trabajo saliese adelante. Me gustaría agradecerles también la paciencia que han tenido con cada corrección y lo apoyado que me han hecho sentir siempre durante estos meses.

En segundo lugar me gustaría agradecer a mis padres por brindarme la posibilidad de estudiar esta carrera sin tener más preocupaciones, esforzándose siempre para que yo pueda gozar de una situación cómoda en la que solo me tenga que preocupar el sacar el curso académico que me corresponde. A mi padre por comprender, como médico, a lo que me enfrento en esta carrera y a lo que me tendré que enfrentar en el futuro y darme, en consecuencia, las herramientas necesarias para poder hacerlo de la manera más simple posible. Y a mi madre, que, desde la distancia, ha conseguido hacerme sentir siempre cerca de casa, por su apoyo incondicional, plena confianza y darme el empujón justo en el momento necesario.

Por último, agradecer a todos aquellos que me he encontrado por el camino y han hecho de estos 6 años un gran aprendizaje tanto en lo académico como en lo humano, contribuyendo en mayor o menor medida a convertirme en lo que soy hoy. En concreto a toda la gente de *“el hood”*, que han hecho de este largo y duro camino un paseo lleno de diversión, bonitos recuerdos y que han sido la muleta perfecta para seguir siempre adelante. A las personas con las que me he ido cruzando durante estos años, también protagonistas de recuerdos especiales y que sacaron la mejor versión de mi mismo. Por último, a Loro, que por casualidades de la vida, o no, ha estado conmigo hombro con hombro y pared con pared desde el principio hasta el final, siendo la persona con la que más tiempo y risas he compartido estos años, pero, también, el que más dolores de cabeza me ha dado. Una relación de amor-odio que espero dure muchos años.

LISTADO DE ABREVIATURAS

- **TSPCs:** Tendon Stem/Progenitor Cells
- **TSCs:** Tendon stem cells
- **TDSCs:** Tendon-derived stem cells
- **BMP-12:** Bone morphogenetic protein
- **hMSC:** human mesenchymal stem cell
- **MSC/SMC:** Mesenchymal stem cell
- **PDGF:** Platelet Derived Growth Factor
- **rPDGF:** Platelet Derived Growth Factor receptor
- **SVF:** Stromal Vascular Fraction
- **TGF- β :** Transforming Growth Factor β
- **DDFT:** Deep Digital Flexor Tendon
- **RM/RMN:** Resonancia Magnética/Resonancia Magnética Nuclear
- **AINEs:** Antiinflamatorios no esteroideos
- **PRP:** Plasma Rico en Plaquetas
- **PRHds:** Hemoderivados ricos en plaquetas
- **IGF-1:** Insuline-Like, Growth Factor
- **EGF:** Epidermal Growth Factor
- **VEGF:** Vascular Endothelial Growth Factor
- **HA:** Ácido hialurónico
- **LMW HA:** Ácido hialurónico de bajo peso molecular
- **BMMSCs/ BM-MSCs:** Bone Marrow Mesenchymal Stem Cells
- **BMACs:** Bone Marrow Aspirate Concentrates
- **PGE2:** Prostaglandina E2
- **KGN:** Kartogenina
- **DMSO:** Dimetil sulfóxido

- **H&E:** Hematoxilina Eosina
- **CTGF:** Conective Tissue Growth Factor
- **COL – I:** Colágeno tipo 1
- **COL – II:** Colágeno tipo 2
- **rBMSCs-EVs:** rat-bone-marrow-MSD-derived EVs.
- **EVs:** Extracelular vesicles
- **hASCs:** MSCs derivadas de tejido adiposo humano
- **H&E:** Hematoxilina – eosina
- **mRNA:** Ácido ribonucleico mensajero.
- **UC MSCs:** Umbilical Cord-derived mesenchymal stem cells
- **UCB-MSD:** Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchyma Stem Cell
- **AMSCs:** Adipose tissue-derives MSCs.
- **BMSCs:** Bone marrow-derived MSCs.
- **Hif-1 α :** Hypoxia-induced factor-1 alpha
- **BM-MSCRFP:** BM-MSD marked with red fluorescent protein
- **MIONs:** Fluorescent-conjugates magnetic iron-oxide nanoparticles.

BIBLIOGRAFÍA

1. D T | Biología de los tendones ligamentos y enteséis [Internet]. [citado 27 de diciembre de 2020]. Disponible en: <http://www.docenciatraumatologia.uc.cl/biologia-de-los-tendones-ligamentos-y-entesis/>
2. Cardoso TB, Pizzari T, Kinsella R, Hope D, Cook JL. Current trends in tendinopathy management. *Best Pract Res Clin Rheumatol*. febrero de 2019;33(1):122-40.
3. Barrena EG, Ampuero JC. *Traumatología Y Ortopedia: Generalidades*. Elsevier Health Sciences; 2019. 583 p.
4. Leong DJ, Sun HB. Mesenchymal stem cells in tendon repair and regeneration: basic understanding and translational challenges. *Ann N Y Acad Sci*. noviembre de 2016;1383(1):88-96.
5. Light N, Champion AE. Characterization of muscle epimysium, perimysium and endomysium collagens. *Biochem J*. 1 de mayo de 1984;219(3):1017-26.
6. Bordoni B, Varacallo M. Anatomy, Tendons. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citado 28 de diciembre de 2020]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK513237/>
7. NETTER FH. *ATLAS DE ANATOMIA HUMANA (4ª ED.)*. BARCELONA: MASSON; 2007. 640 p.
8. Wang JH-C, Guo Q, Li B. Tendon biomechanics and mechanobiology--a minireview of basic concepts and recent advancements. *J Hand Ther Off J Am Soc Hand Ther*. junio de 2012;25(2):133-40; quiz 141.
9. Apostolakos J, Durant TJ, Dwyer CR, Russell RP, Weinreb JH, Alaei F, et al. The enthesis: a review of the tendon-to-bone insertion. *Muscles Ligaments Tendons J*. 17 de noviembre de 2014;4(3):333-42.
10. Touzell A. The Achilles tendon: Management of acute and chronic conditions. *Aust J Gen Pract*. noviembre de 2020;49(11):715-9.
11. Rogier C, Hayer S, van der Helm-van Mil A. Not only synovitis but also tenosynovitis needs to be considered: why it is time to update textbook images of rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. abril de 2020;79(4):546-7.
12. Ray G, Sandean DP, Tall MA. Tenosynovitis. En: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2020 [citado 31 de diciembre de 2020]. Disponible en: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK544324/>
13. McQueen F, Lassere M, Østergaard M. Magnetic resonance imaging in psoriatic arthritis: a review of the literature. *Arthritis Res Ther*. 2006;8(2):207.

14. Garvican ER, Salavati M, Smith RKW, Dudhia J. Exposure of a tendon extracellular matrix to synovial fluid triggers endogenous and engrafted cell death: A mechanism for failed healing of intrathecal tendon injuries. *Connect Tissue Res.* 3 de septiembre de 2017;58(5):438-46.
15. Willits K, Amendola A, Bryant D, Mohtadi NG, Giffin JR, Fowler P, et al. Operative versus nonoperative treatment of acute Achilles tendon ruptures: a multicenter randomized trial using accelerated functional rehabilitation. *J Bone Joint Surg Am.* 1 de diciembre de 2010;92(17):2767-75.
16. Nilsson-Helander K, Silbernagel KG, Thomeé R, Faxén E, Olsson N, Eriksson BI, et al. Acute achilles tendon rupture: a randomized, controlled study comparing surgical and nonsurgical treatments using validated outcome measures. *Am J Sports Med.* noviembre de 2010;38(11):2186-93.
17. Park S-H, Lee HS, Young KW, Seo SG. Treatment of Acute Achilles Tendon Rupture. *Clin Orthop Surg.* marzo de 2020;12(1):1-8.
18. West JL, Keene JS, Kaplan LD. Early motion after quadriceps and patellar tendon repairs: outcomes with single-suture augmentation. *Am J Sports Med.* febrero de 2008;36(2):316-23.
19. Etcheto HR, Collazo C, Palanconi M, Raimondi N, Codesido M, Piazza D, et al. Ruptura del tendón rotuliano en deportistas: tratamiento con anclajes óseos. *Artrosc B Aires.* 2009;16(2):135-42.
20. Tarantino D, Palermi S, Sirico F, Corrado B. Achilles Tendon Rupture: Mechanisms of Injury, Principles of Rehabilitation and Return to Play. *J Funct Morphol Kinesiol.* 17 de diciembre de 2020;5(4).
21. Novacheck TF. Running injuries: a biomechanical approach. *Instr Course Lect.* 1998;47:397-406.
22. Saleh M, Marshall PD, Senior R, MacFarlane A. The Sheffield splint for controlled early mobilisation after rupture of the calcaneal tendon. A prospective, randomised comparison with plaster treatment. *J Bone Joint Surg Br.* marzo de 1992;74(2):206-9.
23. Mortensen HM, Skov O, Jensen PE. Early motion of the ankle after operative treatment of a rupture of the Achilles tendon. A prospective, randomized clinical and radiographic study. *J Bone Joint Surg Am.* julio de 1999;81(7):983-90.
24. Palmes D, Spiegel HU, Schneider TO, Langer M, Stratmann U, Budny T, et al. Achilles tendon healing: long-term biomechanical effects of postoperative mobilization and immobilization in a new mouse model. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc.* septiembre de 2002;20(5):939-46.
25. Valkering KP, Aufwerber S, Ranuccio F, Lunini E, Edman G, Ackermann PW. Functional weight-bearing mobilization after Achilles tendon rupture enhances

- early healing response: a single-blinded randomized controlled trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2017;25(6):1807-16.
26. Andersson T, Eliasson P, Aspenberg P. Tissue memory in healing tendons: short loading episodes stimulate healing. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. agosto de 2009;107(2):417-21.
 27. Krapf D, Kaipel M, Majewski M. Structural and biomechanical characteristics after early mobilization in an Achilles tendon rupture model: operative versus nonoperative treatment. *Orthopedics.* septiembre de 2012;35(9):e1383-1388.
 28. Enwemeka CS, Spielholz NI, Nelson AJ. The effect of early functional activities on experimentally tenotomized Achilles tendons in rats. *Am J Phys Med Rehabil.* diciembre de 1988;67(6):264-9.
 29. Mehallo CJ, Drezner JA, Bytowski JR. Practical management: nonsteroidal antiinflammatory drug (NSAID) use in athletic injuries. *Clin J Sport Med Off J Can Acad Sport Med.* marzo de 2006;16(2):170-4.
 30. Gaujoux-Viala C, Dougados M, Gossec L. Efficacy and safety of steroid injections for shoulder and elbow tendonitis: a meta-analysis of randomised controlled trials. *Ann Rheum Dis.* diciembre de 2009;68(12):1843-9.
 31. Brinks A, Koes BW, Volkers ACW, Verhaar JAN, Bierma-Zeinstra SMA. Adverse effects of extra-articular corticosteroid injections: a systematic review. *BMC Musculoskelet Disord.* 13 de septiembre de 2010;11:206.
 32. Childress M, Beutler A. Management of Chronic Tendon Injuries. *Am Fam Physician.* 1 de abril de 2013;87(7):486-90.
 33. Roos EM, Engström M, Lagerquist A, Söderberg B. Clinical improvement after 6 weeks of eccentric exercise in patients with mid-portion Achilles tendinopathy -- a randomized trial with 1-year follow-up. *Scand J Med Sci Sports.* octubre de 2004;14(5):286-95.
 34. Kingma JJ, de Knikker R, Wittink HM, Takken T. Eccentric overload training in patients with chronic Achilles tendinopathy: a systematic review. *Br J Sports Med.* junio de 2007;41(6):e1-5.
 35. Andres BM, Murrell GAC. Treatment of Tendinopathy: What Works, What Does Not, and What is on the Horizon. *Clin Orthop.* julio de 2008;466(7):1539-54.
 36. Visnes H, Bahr R. The evolution of eccentric training as treatment for patellar tendinopathy (jumper's knee): a critical review of exercise programmes. *Br J Sports Med.* abril de 2007;41(4):217-23.
 37. Bahr R, Fossan B, Løken S, Engebretsen L. Surgical treatment compared with eccentric training for patellar tendinopathy (Jumper's Knee). A randomized, controlled trial. *J Bone Joint Surg Am.* agosto de 2006;88(8):1689-98.

38. Coombes BK, Bisset L, Vicenzino B. Efficacy and safety of corticosteroid injections and other injections for management of tendinopathy: a systematic review of randomised controlled trials. *Lancet Lond Engl*. 20 de noviembre de 2010;376(9754):1751-67.
39. Paoloni JA, Murrell G a. C, Burch RM, Ang RY. Randomised, double-blind, placebo-controlled clinical trial of a new topical glyceryl trinitrate patch for chronic lateral epicondylitis. *Br J Sports Med*. abril de 2009;43(4):299-302.
40. Peerbooms JC, Sluimer J, Bruijn DJ, Gosens T. Positive effect of an autologous platelet concentrate in lateral epicondylitis in a double-blind randomized controlled trial: platelet-rich plasma versus corticosteroid injection with a 1-year follow-up. *Am J Sports Med*. febrero de 2010;38(2):255-62.
41. Creaney L, Wallace A, Curtis M, Connell D. Growth factor-based therapies provide additional benefit beyond physical therapy in resistant elbow tendinopathy: a prospective, single-blind, randomised trial of autologous blood injections versus platelet-rich plasma injections. *Br J Sports Med*. septiembre de 2011;45(12):966-71.
42. Kuhn JE. Exercise in the treatment of rotator cuff impingement: a systematic review and a synthesized evidence-based rehabilitation protocol. *J Shoulder Elbow Surg*. febrero de 2009;18(1):138-60.
43. Crawshaw DP, Helliwell PS, Hensor EMA, Hay EM, Aldous SJ, Conaghan PG. Exercise therapy after corticosteroid injection for moderate to severe shoulder pain: large pragmatic randomised trial. *BMJ*. 28 de junio de 2010;340:c3037.
44. Rui YF, Lui PPY, Ni M, Chan LS, Lee YW, Chan KM. Mechanical loading increased BMP-2 expression which promoted osteogenic differentiation of tendon-derived stem cells. *J Orthop Res*. 2011;29(3):390-6.
45. Rui Y, Lui PP, Chan L, Chan K, Fu S, Li G. Does erroneous differentiation of tendon-derived stem cells contribute to the pathogenesis of calcifying tendinopathy? *Chin Med J (Engl)*. febrero de 2011;124(4):606-10.
46. Cesarec G, Martinec S, Čičak N. CALCIFIC TENDINOPATHY: CALCIUM DEPOSIT MORPHOLOGY DIRECTLY AFFECTS PAIN AND FUNCTION OF THE SHOULDER. *Acta Clin Croat*. junio de 2020;59(2):270-6.
47. Farin PU, Jaroma H, Soimakallio S. Rotator cuff calcifications: treatment with US-guided technique. *Radiology*. 1 de junio de 1995;195(3):841-3.
48. Chiou H-J, Chou Y-H, Wu J-J, Hsu C-C, Huang D-Y, Chang C-Y. Evaluation of Calcific Tendonitis of the Rotator Cuff. *J Ultrasound Med*. 2002;21(3):289-95.
49. Sansone V, Maiorano E, Galluzzo A, Pascale V. Calcific tendinopathy of the shoulder: clinical perspectives into the mechanisms, pathogenesis, and treatment. *Orthop Res Rev*. 3 de octubre de 2018;10:63-72.

50. Messina C, Banfi G, Orlandi D, Lacelli F, Serafini G, Mauri G, et al. Ultrasound-guided interventional procedures around the shoulder. *Br J Radiol* [Internet]. enero de 2016 [citado 5 de abril de 2021];89(1057). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4985952/>
51. Sconfienza LM, Bandirali M, Serafini G, Lacelli F, Aliprandi A, Di Leo G, et al. Rotator cuff calcific tendinitis: does warm saline solution improve the short-term outcome of double-needle US-guided treatment? *Radiology*. febrero de 2012;262(2):560-6.
52. Cacchio A, Rompe JD, Serafini G, Sconfienza LM, Sardanelli F. US-guided percutaneous treatment of shoulder calcific tendonitis: some clarifications are needed. *Radiology*. marzo de 2010;254(3):990; author reply 990-991.
53. Hauser RA, Lackner JB, Steilen-Matias D, Harris DK. A Systematic Review of Dextrose Prolotherapy for Chronic Musculoskeletal Pain. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord*. 7 de julio de 2016;9:139-59.
54. Linetsky FS, Manchikanti L. Regenerative injection therapy for axial pain. *Tech Reg Anesth Pain Manag*. enero de 2005;9(1):40-9.
55. Goswami A. Prolotherapy. *J Pain Palliat Care Pharmacother*. diciembre de 2012;26(4):376-8.
56. Coria-Serranía L, Herrera-Flores R, Villaseñor-Moreno JC, Escobar-Reyes VH, Sánchez-Ortiz ÁO. Prolotherapy: proliferative agents in the management of chronic musculoskeletal pain. *Rev Mex Med Física Rehabil*. 15 de febrero de 2016;27(2):49-58.
57. Anitua E, Andía I, Sanchez M, Azofra J, Mar Zaldueño M del, la Fuente M de, et al. Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture. *J Orthop Res*. 1 de marzo de 2005;23(2):281-6.
58. de Vos RJ, van Veldhoven PLJ, Moen MH, Weir A, Tol JL, Maffulli N. Autologous growth factor injections in chronic tendinopathy: a systematic review. *Br Med Bull*. 1 de septiembre de 2010;95(1):63-77.
59. Chou L-C, Liou T-H, Kuan Y-C, Huang Y-H, Chen H-C. Autologous blood injection for treatment of lateral epicondylitis: A meta-analysis of randomized controlled trials. *Phys Ther Sport*. 1 de marzo de 2016;18:68-73.
60. Costa-Almeida R, Babo PS, Reis RL, Gomes ME. Platelet-rich Blood Derivatives for Tendon Regeneration. *J Am Acad Orthop Surg*. 1 de marzo de 2020;28(5):e202-5.
61. Dhurat R, Sukesh M. Principles and Methods of Preparation of Platelet-Rich Plasma: A Review and Author's Perspective. *J Cutan Aesthetic Surg*. diciembre de 2014;7(4):189-97.

62. Rozman P, Bolta Z. Use of platelet growth factors in treating wounds and soft-tissue injuries. *Acta Dermatovenerol Alp Pannonica Adriat.* diciembre de 2007;16(4):156-65.
63. Marx RE, Carlson ER, Eichstaedt RM, Schimmele SR, Strauss JE, Georgeff KR. Platelet-rich plasma: Growth factor enhancement for bone grafts. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* junio de 1998;85(6):638-46.
64. Foster TE, Puskas BL, Mandelbaum BR, Gerhardt MB, Rodeo SA. Platelet-rich plasma: from basic science to clinical applications. *Am J Sports Med.* noviembre de 2009;37(11):2259-72.
65. El-Sharkawy H, Kantarci A, Deady J, Hasturk H, Liu H, Alshahat M, et al. Platelet-rich plasma: growth factors and pro- and anti-inflammatory properties. *J Periodontol.* abril de 2007;78(4):661-9.
66. Randelli P, Arrigoni P, Ragone V, Aliprandi A, Cabitza P. Platelet rich plasma in arthroscopic rotator cuff repair: a prospective RCT study, 2-year follow-up. *J Shoulder Elbow Surg.* junio de 2011;20(4):518-28.
67. Kaux J-F, Emonds-Alt T. The use of platelet-rich plasma to treat chronic tendinopathies: A technical analysis. *Platelets.* mayo de 2018;29(3):213-27.
68. Amable PR, Carias RBV, Teixeira MVT, da Cruz Pacheco Í, Corrêa do Amaral RJF, Granjeiro JM, et al. Platelet-rich plasma preparation for regenerative medicine: optimization and quantification of cytokines and growth factors. *Stem Cell Res Ther.* 7 de junio de 2013;4(3):67.
69. Dolkart O, Chechik O, Zarfati Y, Brosh T, Alhajajra F, Maman E. A single dose of platelet-rich plasma improves the organization and strength of a surgically repaired rotator cuff tendon in rats. *Arch Orthop Trauma Surg.* septiembre de 2014;134(9):1271-7.
70. Ersen A, Demirhan M, Atalar AC, Kapicioğlu M, Baysal G. Platelet-rich plasma for enhancing surgical rotator cuff repair: evaluation and comparison of two application methods in a rat model. *Arch Orthop Trauma Surg.* marzo de 2014;134(3):405-11.
71. Masson E. Applications cliniques du plasma riche en plaquettes (PRP) dans les lésions tendineuses : revue de la littérature [Internet]. *EM-Consulte.* [citado 3 de abril de 2021]. Disponible en: <https://www.em-consulte.com/article/730921/applications-cliniques-du-plasma-riche-en-plaquett>
72. Kaux J-F, Le Goff C, Renouf J, Peters P, Lutteri L, Gothot A, et al. Comparison of the platelet concentrations obtained in platelet-rich plasma (PRP) between the GPSTM II and GPSTM III systems. *Pathol Biol (Paris).* octubre de 2011;59(5):275-7.

73. Kaux J-F, Le Goff C, Seidel L, Péters P, Gothot A, Albert A, et al. [Comparative study of five techniques of preparation of platelet-rich plasma]. *Pathol Biol (Paris)*. junio de 2011;59(3):157-60.
74. Marques LF, Stessuk T, Camargo ICC, Sabeh Junior N, dos Santos L, Ribeiro-Paes JT. Platelet-rich plasma (PRP): methodological aspects and clinical applications. *Platelets*. 2015;26(2):101-13.
75. Dohan Ehrenfest DM, Bielecki T, Mishra A, Borzini P, Inchingolo F, Sammartino G, et al. In search of a consensus terminology in the field of platelet concentrates for surgical use: platelet-rich plasma (PRP), platelet-rich fibrin (PRF), fibrin gel polymerization and leukocytes. *Curr Pharm Biotechnol*. junio de 2012;13(7):1131-7.
76. Rayahin JE, Buhrman JS, Zhang Y, Koh TJ, Gemeinhart RA. High and low molecular weight hyaluronic acid differentially influence macrophage activation. *ACS Biomater Sci Eng*. 13 de julio de 2015;1(7):481-93.
77. Rezasoltani Z, Esmaily H, Dadarkhah A, Rousta M, Mohebbi R, Vashaei F. Low Molecular-weight Hyaluronic Acid Versus Physiotherapy for the Treatment of Supraspinatus Tendinopathy: A Randomized Comparative Clinical Trial. *J Am Acad Orthop Surg* [Internet]. 15 de febrero de 2021 [citado 5 de abril de 2021]; Publish Ahead of Print. Disponible en: <https://journals.lww.com/10.5435/JAAOS-D-20-01014>
78. Hsiao M-Y, Lin A-C, Liao W-H, Wang T-G, Hsu C-H, Chen W-S, et al. Drug-loaded hyaluronic acid hydrogel as a sustained-release regimen with dual effects in early intervention of tendinopathy. *Sci Rep*. 18 de marzo de 2019;9(1):4784.
79. Radrezza S, Baron G, Nukala SB, Depta G, Aldini G, Carini M, et al. Advanced quantitative proteomics to evaluate molecular effects of low-molecular-weight hyaluronic acid in human dermal fibroblasts. *J Pharm Biomed Anal*. 5 de junio de 2020;185:113199.
80. Ke C, Sun L, Qiao D, Wang D, Zeng X. Antioxidant activity of low molecular weight hyaluronic acid. *Food Chem Toxicol Int J Publ Br Ind Biol Res Assoc*. octubre de 2011;49(10):2670-5.
81. Meloni F, Milia F, Cavazzuti M, Doria C, Lisai P, Profili S, et al. Clinical evaluation of sodium hyaluronate in the treatment of patients with supraspinatus tendinosis under echographic guide: experimental study of periarticular injections. *Eur J Radiol*. octubre de 2008;68(1):170-3.
82. Trebinjac S, Gharairi M. Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Tendon and Ligament Injuries-clinical Evidence. *Med Arch*. octubre de 2020;74(5):387-90.
83. Caplan AI. Mesenchymal Stem Cells in Regenerative Medicine. En: *Principles of Regenerative Medicine* [Internet]. Elsevier; 2019 [citado 3 de marzo de 2021]. p.

219-27. Disponible en:

<https://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/B9780128098806000151>

84. Ullah I, Subbarao RB, Rho GJ. Human mesenchymal stem cells - current trends and future prospective. *Biosci Rep.* 28 de abril de 2015;35(2).
85. Gimble JM, Katz AJ, Bunnell BA. Adipose-derived stem cells for regenerative medicine. *Circ Res.* 11 de mayo de 2007;100(9):1249-60.
86. Reese JS, Koç ON, Gerson SL. Human mesenchymal stem cells provide stromal support for efficient CD34+ transduction. *J Hematother Stem Cell Res.* octubre de 1999;8(5):515-23.
87. Caplan AI. All MSCs Are Pericytes? *Cell Stem Cell.* 11 de septiembre de 2008;3(3):229-30.
88. Crisan M, Yap S, Casteilla L, Chen C-W, Corselli M, Park TS, et al. A perivascular origin for mesenchymal stem cells in multiple human organs. *Cell Stem Cell.* 11 de septiembre de 2008;3(3):301-13.
89. Sacchetti B, Funari A, Michienzi S, Di Cesare S, Piersanti S, Saggio I, et al. Self-renewing osteoprogenitors in bone marrow sinusoids can organize a hematopoietic microenvironment. *Cell.* 19 de octubre de 2007;131(2):324-36.
90. Gerhardt H, Semb H. Pericytes: gatekeepers in tumour cell metastasis? *J Mol Med Berl Ger.* febrero de 2008;86(2):135-44.
91. Koç ON, Peters C, Aubourg P, Raghavan S, Dyhouse S, DeGasperis R, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells remain host-derived despite successful hematopoietic engraftment after allogeneic transplantation in patients with lysosomal and peroxisomal storage diseases. *Exp Hematol.* noviembre de 1999;27(11):1675-81.
92. Lazarus HM, Haynesworth SE, Gerson SL, Rosenthal NS, Caplan AI. Ex vivo expansion and subsequent infusion of human bone marrow-derived stromal progenitor cells (mesenchymal progenitor cells): implications for therapeutic use. *Bone Marrow Transplant.* octubre de 1995;16(4):557-64.
93. Maitra B, Szekely E, Gjini K, Laughlin MJ, Dennis J, Haynesworth SE, et al. Human mesenchymal stem cells support unrelated donor hematopoietic stem cells and suppress T-cell activation. *Bone Marrow Transplant.* marzo de 2004;33(6):597-604.
94. Sundin M, Ringdén O, Sundberg B, Nava S, Götherström C, Le Blanc K. No alloantibodies against mesenchymal stromal cells, but presence of anti-fetal calf serum antibodies, after transplantation in allogeneic hematopoietic stem cell recipients. *Haematologica.* septiembre de 2007;92(9):1208-15.
95. Le Blanc K, Tammik L, Sundberg B, Haynesworth SE, Ringdén O. Mesenchymal stem cells inhibit and stimulate mixed lymphocyte cultures and mitogenic responses

- independently of the major histocompatibility complex. *Scand J Immunol.* enero de 2003;57(1):11-20.
96. Meirelles L da S, Caplan AI, Nardi NB. In Search of the In Vivo Identity of Mesenchymal Stem Cells. *STEM CELLS.* 2008;26(9):2287-99.
 97. Spees JL, Lee RH, Gregory CA. Mechanisms of mesenchymal stem/stromal cell function. *Stem Cell Res Ther.* 31 de agosto de 2016;7(1):125.
 98. Gulotta LV, Kovacevic D, Packer JD, Deng XH, Rodeo SA. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells transduced with scleraxis improve rotator cuff healing in a rat model. *Am J Sports Med.* junio de 2011;39(6):1282-9.
 99. Kim SJ, Kim EK, Kim SJ, Song DH. Effects of bone marrow aspirate concentrate and platelet-rich plasma on patients with partial tear of the rotator cuff tendon. *J Orthop Surg.* 3 de enero de 2018;13(1):1.
 100. Kim Y-S, Lee H-J, Ok J-H, Park J-S, Kim D-W. Survivorship of implanted bone marrow-derived mesenchymal stem cells in acute rotator cuff tear. *J Shoulder Elbow Surg.* agosto de 2013;22(8):1037-45.
 101. Bain BJ. Bone marrow aspiration. *J Clin Pathol.* septiembre de 2001;54(9):657-63.
 102. Auer J, Goodship A, Arnoczky S, Pearce S, Price J, Claes L, et al. Refining animal models in fracture research: Seeking consensus in optimising both animal welfare and scientific validity for appropriate biomedical use. *BMC Musculoskelet Disord.* 1 de agosto de 2007;8:72.
 103. Lindstedt S. Krogh 1929 or «The Krogh Principle». *J Exp Biol.* 15 de mayo de 2014;217(10):1640-1.
 104. Aerssens J, Boonen S, Lowet G, Dequeker J. Interspecies differences in bone composition, density, and quality: potential implications for in vivo bone research. *Endocrinology.* febrero de 1998;139(2):663-70.
 105. Flores F, Morales C. Experimentación animal: ¿El fin justifica el medio? :43.
 106. Fernández AA. Modelo experimental de pseudoartrosis. Evaluación del tratamiento con hormona. de la. 2014;281.
 107. Ng GY-F, Chung PY-M, Wang JS, Cheung RT-H. Enforced bipedal downhill running induces Achilles tendinosis in rats. *Connect Tissue Res.* 2011;52(6):466-71.
 108. Rooney SI, Torino DJ, Baskin R, Vafa RP, Kuntz AF, Soslowsky LJ. Rat supraspinatus tendon responds acutely and chronically to exercise. *J Appl Physiol Bethesda Md* 1985. 1 de octubre de 2017;123(4):757-63.

109. Andarawis-Puri N, Flatow EL. Promoting effective tendon healing and remodeling. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc.* diciembre de 2018;36(12):3115-24.
110. Clark LD, Clark RK, Heber-Katz E. A new murine model for mammalian wound repair and regeneration. *Clin Immunol Immunopathol.* julio de 1998;88(1):35-45.
111. Heber-Katz E, Leferovich JM, Bedelbaeva K, Gourevitch D. Spallanzani's mouse: a model of restoration and regeneration. *Curr Top Microbiol Immunol.* 2004;280:165-89.
112. Heydemann A, Swaggart KA, Kim GH, Holley-Cuthrell J, Hadhazy M, McNally EM. The superhealing MRL background improves muscular dystrophy. *Skelet Muscle.* 5 de diciembre de 2012;2(1):26.
113. Mull AJ, Berhanu TK, Roberts NW, Heydemann A. The Murphy Roths Large (MRL) mouse strain is naturally resistant to high fat diet-induced hyperglycemia. *Metabolism.* diciembre de 2014;63(12):1577-86.
114. Andarawis-Puri N, Sereysky JB, Sun HB, Jepsen KJ, Flatow EL. Molecular response of the patellar tendon to fatigue loading explained in the context of the initial induced damage and number of fatigue loading cycles. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc.* agosto de 2012;30(8):1327-34.
115. Neviasser A, Andarawis-Puri N, Flatow E. Basic mechanisms of tendon fatigue damage. *J Shoulder Elbow Surg.* febrero de 2012;21(2):158-63.
116. Andarawis-Puri N, Flatow EL. Tendon fatigue in response to mechanical loading. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* junio de 2011;11(2):106-14.
117. Fung DT, Wang VM, Andarawis-Puri N, Basta-Pljakic J, Li Y, Laudier DM, et al. Early response to tendon fatigue damage accumulation in a novel in vivo model. *J Biomech.* 19 de enero de 2010;43(2):274-9.
118. Yuan T, Zhang J, Zhao G, Zhou Y, Zhang C-Q, Wang JH-C. Creating an Animal Model of Tendinopathy by Inducing Chondrogenic Differentiation with Kartogenin. *PloS One.* 2016;11(2):e0148557.
119. Johnson K, Zhu S, Tremblay MS, Payette JN, Wang J, Bouchez LC, et al. A stem cell-based approach to cartilage repair. *Science.* 11 de mayo de 2012;336(6082):717-21.
120. Fu S-C, Chan K-M, Rolf CG. Increased deposition of sulfated glycosaminoglycans in human patellar tendinopathy. *Clin J Sport Med Off J Can Acad Sport Med.* marzo de 2007;17(2):129-34.
121. Parkinson J, Samiric T, Ilic MZ, Cook J, Feller JA, Handley CJ. Change in proteoglycan metabolism is a characteristic of human patellar tendinopathy. *Arthritis Rheum.* octubre de 2010;62(10):3028-35.

122. Da Violante G, Zerrouk N, Richard I, Provot G, Chaumeil JC, Arnaud P. Evaluation of the Cytotoxicity Effect of Dimethyl Sulfoxide (DMSO) on Caco2/TC7 Colon Tumor Cell Cultures. *Biol Pharm Bull.* 2002;25(12):1600-3.
123. Scott A, Cook JL, Hart DA, Walker DC, Duronio V, Khan KM. Tenocyte responses to mechanical loading in vivo: a role for local insulin-like growth factor 1 signaling in early tendinosis in rats. *Arthritis Rheum.* marzo de 2007;56(3):871-81.
124. Kearney R, Costa ML. Insertional achilles tendinopathy management: a systematic review. *Foot Ankle Int.* agosto de 2010;31(8):689-94.
125. Bell R, Taub P, Cagle P, Flatow EL, Andarawis-Puri N. Development of a mouse model of supraspinatus tendon insertion site healing. *J Orthop Res Off Publ Orthop Res Soc.* enero de 2015;33(1):25-32.
126. Liu H, Gao F, Liang X, Chen X, Qu Y, Wang L. Pathogenesis and Development of Patellar Tendon Fibrosis in a Rabbit Overuse Model. *Am J Sports Med.* abril de 2020;48(5):1141-50.
127. Sobhani S, Dekker R, Postema K, Dijkstra PU. Epidemiology of ankle and foot overuse injuries in sports: A systematic review. *Scand J Med Sci Sports.* diciembre de 2013;23(6):669-86.
128. Riley G. The pathogenesis of tendinopathy. A molecular perspective. *Rheumatol Oxf Engl.* febrero de 2004;43(2):131-42.
129. de Cesar Netto C, Godoy-Santos AL, Augusto Pontin P, Natalino RJM, Pereira CAM, Lima FD de O, et al. Novel animal model for Achilles tendinopathy: Controlled experimental study of serial injections of collagenase in rabbits. *PloS One.* 2018;13(2):e0192769.
130. Dirks RC, Warden SJ. Models for the study of tendinopathy. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* junio de 2011;11(2):141-9.
131. Casalechi HL, Leal-Junior ECP, Xavier M, Silva JA, de Carvalho P de TC, Aimbire F, et al. Low-level laser therapy in experimental model of collagenase-induced tendinitis in rats: effects in acute and chronic inflammatory phases. *Lasers Med Sci.* mayo de 2013;28(3):989-95.
132. Machova Urdzikova L, Sedlacek R, Suchy T, Amemori T, Ruzicka J, Lesny P, et al. Human multipotent mesenchymal stem cells improve healing after collagenase tendon injury in the rat. *Biomed Eng Online.* 9 de abril de 2014;13:42.
133. Perucca Orfei C, Lovati AB, Viganò M, Stanco D, Bottagisio M, Di Giancamillo A, et al. Dose-Related and Time-Dependent Development of Collagenase-Induced Tendinopathy in Rats. *PloS One.* 2016;11(8):e0161590.
134. Tsai Y-P, Chang C-W, Lee J-S, Liang J-I, Hsieh T-H, Yeh M-L, et al. Direct radiofrequency application improves pain and gait in collagenase-induced acute

- achilles tendon injury. Evid-Based Complement Altern Med ECAM. 2013;2013:402692.
135. Hast MW, Zuskov A, Soslowsky LJ. The role of animal models in tendon research. *Bone Jt Res.* junio de 2014;3(6):193-202.
 136. Khan MR, Smith RK, David F, Lam R, Hughes G, De Godoy R, et al. Evaluation of the Effects of Synovial Multipotent Cells on Deep Digital Flexor Tendon Repair in a Large Animal Model of Intra-Synovial Tendinopathy. *J Orthop Res.* enero de 2020;38(1):128-38.
 137. Zhu M, Musson D, Oliver M, Firth E, Cornish J, Munro J. Modelling gluteus medius tendon degeneration and repair in a large animal model. *Arch Orthop Trauma Surg.* 19 de agosto de 2020;
 138. Rani S, Ryan AE, Griffin MD, Ritter T. Mesenchymal Stem Cell-derived Extracellular Vesicles: Toward Cell-free Therapeutic Applications. *Mol Ther J Am Soc Gene Ther.* mayo de 2015;23(5):812-23.
 139. Gissi C, Radeghieri A, Antonetti Lamorgese Passeri C, Gallorini M, Calciano L, Oliva F, et al. Extracellular vesicles from rat-bone-marrow mesenchymal stromal/stem cells improve tendon repair in rat Achilles tendon injury model in dose-dependent manner: A pilot study. *PloS One.* 2020;15(3):e0229914.
 140. Lee SY, Kwon B, Lee K, Son YH, Chung SG. Therapeutic Mechanisms of Human Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells in a Rat Tendon Injury Model. *Am J Sports Med.* mayo de 2017;45(6):1429-39.
 141. Merolla G, Paladini P, Saporito M, Porcellini G. Conservative management of rotator cuff tears: literature review and proposal for a prognostic. Prediction Score. *Muscles Ligaments Tendons J.* enero de 2011;1(1):12-9.
 142. Yea J-H, Kim I, Sym G, Park J-K, Lee A-Y, Cho BC, et al. Regeneration of a full-thickness defect in rotator cuff tendon with umbilical cord-derived mesenchymal stem cells in a rat model. *PLoS ONE* [Internet]. 9 de noviembre de 2020 [citado 19 de abril de 2021];15(11). Disponible en: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC7652329/>
 143. Chen Q, Liang Q, Zhuang W, Zhou J, Zhang B, Xu P, et al. Tenocyte proliferation and migration promoted by rat bone marrow mesenchymal stem cell-derived conditioned medium. *Biotechnol Lett.* enero de 2018;40(1):215-24.
 144. Kwon DR, Park G-Y, Lee SC. Regenerative effects of mesenchymal stem cells by dosage in a chronic rotator cuff tendon tear in a rabbit model. *Regen Med.* noviembre de 2019;14(11):1001-12.
 145. Chen G, Zhang W, Zhang K, Wang S, Gao Y, Gu J, et al. Hypoxia-Induced Mesenchymal Stem Cells Exhibit Stronger Tenogenic Differentiation Capacities and Promote Patellar Tendon Repair in Rabbits. *Stem Cells Int.* 2020;2020:8822609.

146. Lacitignola L, Staffieri F, Rossi G, Francioso E, Crovace A. Survival of bone marrow mesenchymal stem cells labelled with red fluorescent protein in an ovine model of collagenase-induced tendinitis. *Vet Comp Orthop Traumatol VCOT*. 2014;27(3):204-9.
147. Khan MR, Dudhia J, David FH, De Godoy R, Mehra V, Hughes G, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells do not enhance intra-synovial tendon healing despite engraftment and homing to niches within the synovium. *Stem Cell Res Ther*. 19 de junio de 2018;9(1):169.