eman ta zabal zazu

Universidad del País Vasco
Euskal Herriko Unibertsitatea

Departamento de Cirugía y Radiología y Medicina Física
Facultad de Medicina y Enfermería

TESIS DOCTORAL

Fisiopatología, ecografía y terapias biológicas de las tendinopatías: tenotomía ecoguiada con Plasma Rico en Plaquetas en las epicondilopatías

José Ignacio Martín Gómez

Directores: Dra. Isabel Andía Ortiz
Prof. Dr. Pedro Bilbao Zulaica

2019

Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

NAZIOARTEKO BIKAINTASUN CAMPUSA
CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

AUTORIZACION DE LOS DIRECTORES DE TESIS PARA SU PRESENTACION

Dra. Isabel Andía Ortiz, con N.I.F 14937666V y Profesor Dr. Pedro Bilbao Zulaica con N.I.F. 72166980H, como Directores de la Tesis Doctoral: **FISIOPATOLOGIA, ECOGRAFIA Y TERAPIAS BIOLOGICAS DE LAS TENDINOPATIAS: TENOTOMIA ECOGUIADA CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN LAS EPICONDILOPATIAS**, realizada en el Programa de Doctorado en Medicina y Cirugía de la UPV-EHU, por el Doctorando Don José Ignacio Martín Gómez,

autorizamos la presentación de la citada Tesis Doctoral, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

En Bilbao, a 12 de marzo de 2019

LOS DIRECTORES DE LA TESIS

Fdo.: Dra. Isabel Andía Ortiz

Fdo.: Prof. Dr.Pedro Bilbao Zulaica

Universidad del País Vasco | Euskal Herriko Unibertsitatea

NAZIOARTEKO BIKAINTASUN CAMPUSA
CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

AUTORIZACION DEL TUTOR/A DE TESIS

PARA SU PRESENTACION

Profesor Dr. Pedro Bilbao Zulaica, como Tutor de la Tesis Doctoral: **FISIOPATOLOGIA, ECOGRAFIA Y TERAPIAS BIOLOGICAS DE LAS TENDINOPATIAS: TENOTOMIA ECOGUIADA CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN LAS EPICONDILOPATIAS** , realizada en el Programa de Doctorado en Medicina y Cirugía de la UPV-EHU, por el Doctorando Don José Ignacio Martín Gómez, y dirigida por Dra. Isabel Andía Ortiz y Prof. Dr. Pedro Bilbao Zulaica

autorizo la presentación de la citada Tesis Doctoral, dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

En Bilbao a 12 de marzo de 2019

EL TUTOR DE LA TESIS

Fdo.: Prof. Dr. Pedro Bilbao Zulaica

Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

NAZIOARTEKO BIKAINTASUN CAMPUSA
CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

AUTORIZACIÓN DE LA COMISIÓN ACADÉMICA DEL PROGRAMA DE DOCTORADO

La Comisión Académica del Programa de Doctorado en Medicina y Cirugía, en reunión celebrada el día 8 de mayo de 2019, ha acordado dar la conformidad a la presentación de la Tesis Doctoral titulada: **Fisiopatología, ecografía y terapias biológicas de las tendinopatías: tenotomía ecoguiada con plasma rico en plaquetas en las epicondilopatías** dirigida por el Prof. Pedro Bilbao Zulaica y la Dra. Isabel Andía Ortiz, y presentada por D. José Ignacio Martín Gómez, adscrita al Departamento de Cirugía y Radiología y Medicina Física.

En Leioa a 8 de mayo de 2019

EL RESPONSABLE DEL PROGRAMA DE DOCTORADO

Fdo.: Prof. Agustín Martínez Ibargüen

Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

AUTORIZACION DEL DEPARTAMENTO

El Consejo del Departamento de Cirugía y Radiología y Medicina Física, en reunión celebrada el día 9 de mayo de 2.019, ha acordado dar la conformidad a la admisión a trámite de presentación de la Tesis Doctoral titulada: "**Fisiopatología, ecografía y terapias biológicas de las tendinopatías: tenotomía ecoguiada con plasma rico en plaquetas en las epicondilopatías**" dirigida por el l **Prof. Pedro Bilbao Zulaica** y la **Dra. Isabel Andía Ortiz**, y presentada por D. **José Ignacio Martín Gómez** ante este Departamento.

En Leioa, a 10 de mayo de 2.019

V° B°
Director del Departamento

Firmado digitalmente por GARCIA ALONSO MONTOYA IGNACIO - 24405265B
Nombre de reconocimiento (DN): c=ES, serialNumber=IDCES-24405265B, givenName=IGNACIO, sn=GARCIA ALONSO MONTOYA, cn=GARCIA ALONSO MONTOYA IGNACIO - 24405265B
Fecha: 2019.05.27 11:17:40 +02'00'

Prof. Ignacio García-Alonso Montoya

Fdo.:
Secretario del Departamento

Prof. Teodoro Palomares Casado

Universidad del País Vasco Euskal Herriko Unibertsitatea

NAZIOARTEKO BIKAINTASUN CAMPUSA
CAMPUS DE EXCELENCIA INTERNACIONAL

ACTA DE GRADO DE DOCTOR
ACTA DE DEFENSA DE TESIS DOCTORAL

DOCTORANDO DON. JOSE IGNACIO MARTIN GOMEZ

TITULO DE LA TESIS: **FISIOPATOLOGIA, ECOGRAFIA Y TERAPIAS BIOLOGICAS DE LAS TENDINOPATIAS: TENOTOMIA ECOGUIADA CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS EN LAS EPICONDILOPATIAS** .

El Tribunal designado por la Comisión de Postgrado de la UPV/EHU para calificar la Tesis Doctoral arriba indicada y reunido en el día de la fecha, una vez efectuada la defensa por el doctorando y contestadas las objeciones y/o sugerencias que se le han formulado, ha otorgado por_____ la calificación de:

unanimidad ó mayoría

SOBRESALIENTE / NOTABLE / APROBADO / NO APTO

Idioma de defensa: Castellano

En _____a _____de _____de _____

EL PRESIDENTE, EL/LA SECRETARIO/A,

Fdo.: Fdo.:

Dr: _____ Dr/a: _____

VOCAL ,

Fdo.:

Dr/a: _____

EL DOCTORANDO,

D. José Ignacio Martín Gómez

Esta tesis ha sido financiada por ¨Instituto de Salud Carlos III¨, con una beca ISCIII (PI13/01707) cofinanciada por fondos FEDER, y por una ayuda a Proyectos de Investigación 2012 financiada por el Gobierno Vasco (Expediente 2012111084).

Esta tesis ha sido elaborada gracias a una beca de Intensificación Investigadora patrocinada por BioCruces.

La realización del ensayo clínico ha sido posible gracias a la colaboración del Hospital Universitario de Cruces.





A mis Padres y Hermanos por haber creido siempre en mí.
A Jon, Iree y Cris por ser el motor de mi vida.
A Arantza por iluminar mi existencia.

AGRADECIMIENTOS

Esta tesis es fruto del trabajo en equipo llevado a cabo por la Unidad de Traumatología presidida por Luis Areízaga y nuestra Unidad de Ecografía intervencionista, dentro del grupo de Terapias regenerativas, capitaneado magistralmente por Isabel Andía.

A Isabel Andía por su infatigable trabajo, dedicación y apoyo, por haberme ayudado a conocer el fascinante mundo de las Terapias Regenerativas, a introducir su utilización clínica en nuestro ámbito de trabajo, y a dejarlo plasmado en esta tesis.

A Pedro Bilbao por haber creido en mí y haberme estimulado en todo momento a crear esta tesis.

Mi más sincero agradecimiento a mis compañeros Josu Merino e Igor González por su dedicación en las labores clínicas del proyecto. A Leire Atilano y Gotzon Iglesias, mis grandes colaboradores de la Unidad, por las muchas horas dedicadas a la valoración ecográfica de los pacientes. A Gontzal Grandes y Paola Bully por su paciencia con las labores estadísticas y de elaboración del proyecto. A Nuria Zuazo, por su dedicación y apoyo en las labores de monitorización del ensayo.

A mis manos derecha e izquierda, Merche Moreno, Julio Del Bosque y Jose Luis Pérez Antón, sin cuya inestimable ayuda, las labores de campo de este trabajo, no hubieran sido posibles.

A mis jefes Luis M. Larrea y Olivia Rodríguez, por su apoyo incondicional. A todos mis compañeros de Servicio, por su colaboración y apoyo.

INDICE

1. INTRODUCCION 3

A. ENTENDIENDO LA EPIDEMIOLOGIA DE LAS LESIONES TENDINOSAS 3
B. NATURALEZA Y FUNCION DE LOS TENDONES: BIOLOGIA BASICA, FUNCION Y ANATOMIA 5
i. Estructura 6
ii. Biomecánica 8
iii. Vascularización 10
iv. Inervación 10
v. Anatomía radiológica del codo 12
C. PATOLOGIA TENDINOSA 16
i. Factores de vulnerabilidad 16
ii. Hipotesis clinicas de etiopatogenia 20
iii. Hipotesis biologicas 25
D. TENDINOPATIAS MAS COMUNES 33
i. Miembro superior 33
ii. Miembro inferior 40
E. TRATAMIENTOS CONSERVADORES 41
i. Fase agúda 42
ii. Fase degenerativa 44
F. PRP: 48
i. Historia 49
ii. Biología de los PRPs 50
iii. Obtención y formulación del plasma rico en plaquetas 56
iv. Interacción del PRP en las distintas fases de la reparación tisular 59
v. PRP y tendón: Investigación preclínica 64
vi. Evidencias clínicas de eficacia de la utilización de PRP en tendinopatías 67

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS 81

A. JUSTIFICACIÓN 81
B. HIPÓTESIS 83
C. OBJETIVOS 83
i. Objetivos principales: 83
ii. Objetivos secundarios 84

3. MATERIAL Y MÉTODO 87

A. DISEÑO (ARTÍCULOS I Y II) 87
B. PACIENTES 87
i. Reclutamiento: 87
ii. Diagnóstico clínico 89
iii. Tamaño de muestra 89
iv. Aleatorización y cegamiento 89
C. PROCEDIMIENTO DE TENOTOMÍA HÚMEDA ECOGUIAD 90
D. PRP VS LIDOCAINA ASOCIADA A LA TENOTOMÍA 91
i. Lidocaina 91
ii. Preparación del PRP 91
E. VARIABLES DE EVOLUCIÓN CLÍNICA 92
F. CARACTERIZACIÓN ECOGRÁFICA 92

G. VALORACIÓN CLÍNICA Y ECOGRÁFICA DURANTE UN PERIODO DE SEGUIMIENTO DE 20 MESES..... 94
H. VALORACIÓN DE SEGURIDAD..... 95
I. ANÁLISIS ESTADÍSTICO..... 96
i. Predictores de evolución clínica tras tenotomía en pacientes con epicondilopatía recalcitrante..... 97
ii. Análisis de resultados clínicos y variables ecográficas durante un periodo de seguimiento de 20 meses..... 98

4. RESULTADOS 101

A. PLASMA RICO EN PLAQUETAS VERSUS LIDOCAINA COMO ADYUVANTES DE LA TENOTOMÍA, EN PACIENTES CON EPICONDILOPATÍA: ENSAYO CONTROLADO Y ALEATORIZADO 101
i. Flujo de pacientes. 101
ii. Variables clínicas y demográficas..... 102
iii. Resultados clínicos..... 104
iv. Seguridad..... 109
B. PREDICTORES DE RESULTADOS DE LA TENOTOMÍA EN PACIENTES CON EPICONDILOPATÍA RECALCITRANTE. 110
i. Participantes 110
ii. Función y dolor a lo largo del tiempo 112
iii. Factores asociados con la variabilidad de resultados clínicos..... 113
iv. Interacciones entre los predictores potenciales de los resultados clínicos 117
C. RESULTADOS CLÍNICOS Y ECOGRÁFICOS DURANTE UN PERIODO DE SEGUIMIENTO DE 20 MESES... 122
i. Participantes y resultados clínicos a los 20 meses tras tratamiento. 122
ii. Cambios estructurales a lo largo del tiempo (0-20 meses) en la totalidad de los pacientes y diferencias entre los grupos de tratamiento: grosor, vascularización y ecotextura. 123
iii. Asociación entre los parámetros ecográficos y los resultados clínicos (correlaciones)..... 131

5. DISCUSION..... 135

6. CONCLUSIONES..... 147

7. PERPECTIVAS FUTURAS..... 151

8. BIBLIOGRAFIA..... 155

9. ANEXOS..... 155

A. AUTORIZACIÓN DEL CEIC
B. AUTORIZACIÓN DEL AEMPS
C. FINANCIACIÓN APROBADA POR EL GOBIERNO VASCO
D. AUTORIZACIÓN DEL SERVICIO DE RX DEL HUC
E. ARTÍCULOS ORIGINALES:
1. Artículo I: Martin JI, Merino J, Atilano L, Areizaga LM, Gomez-Fernandez MC, Burgos-Alonso N, Andia I. Platelet-rich plasma (PRP) in chronic epicondylitis: study protocol for a randomized controlled trial. Trials. 2013 Dec 1;14:410. doi: 10.1186/1745-6215-14-410. PubMed PMID: 24289799
2. Artículo II: Martín JI, Atilano L, Merino J, Gonzalez I, Iglesias G, Areizaga L, Bully P, Grandes G, Andia I. Platelet-rich plasma versus lidocaine as tenotomy adjuvants in people with elbow epicondylopathy:a randomized controlled trial. J Orthop Surg Res 2019 accepted.
3. Artículo III: Martín JI, Atilano L, Merino J, Gonzalez I, Iglesias G, Areizaga L, Bully P, Grandes G, Andia I. Predictors of outcome following tenotomy in patients with recalcitrant epicondilopathy. PM R. 2019 Jan 4. doi: 10.1002/pmrj.12064. PubMed PMID: 30609276

4. Artículo IV: Martin JI, Atilano L, Bully P, Iglesias G, Merino J, Grandes G, Andia I. Needle tenotomy with PRP versus lidocaine in epicondylopathy: clinical and ultrasonographic outcomes over twenty months. Skeletal Radiol. 2019 Mar 2. doi: 10.1007/s00256-019-03193-1. PubMed PMID: 30826853

F. OTRAS PUBLICACIONES:

1. Andia I, Martin JI, Maffulli N. Advances with platelet rich plasma therapies for tendon regeneration.Expert Opin Biol Ther. 2018 Apr;18(4):389-398. doi: 10.1080/14712598.2018.1424626. Epub 2018 Jan 7. Review. PMID: 29300106

2. Andia I, Martin JI, Maffulli N. Platelet-rich Plasma and Mesenchymal Stem Cells: Exciting, But … are we there Yet?. Sports Med Arthrosc Rev. 2018 Jun;26(2):59-63. doi: 10.1097/JSA.0000000000000191. Review. PubMed PMID: 29722764

G. CAPÍTULOS DE LIBRO

1. Andia I, Rubio-Azpeitia E, Martín JI, Abate M. Current Concepts and Translational Uses of Platelet Rich Plasma Biotechnology. Book Chapter. http://dx.doi.org/10.5772/59954. INTECH

LISTA DE FIGURAS

Figura 1. Esquema anatómico básico de las tres zonas específicas del tendón. 6

Figura 2. Anatomía microscópica de un tendón normal..... 7

Figura 3. Curva de estrés-deformación demostrativa de las propiedades físicas básicas del tendón. 9

Figura 4. Anatomía macroscópica del codo por RM. 14

Figura 5. Anatomía macroscópica de vertiente lateral de codo por ecografía..... 15

Figura 6. Anatomía macroscópica de vertiente medial de codo por ecografía. 15

Figura 7. Esquema que refleja hipótesis clínica del origen de las tendinopatías. 21

Figura 8. Esquema de la generación del dolor en las tendinopatías, según la teoría del iceberg 25

Figura 9. Fases fisiológicas de reparación tendinosa..... 28

Figura 10. Test clínicos para el diagnóstico de la epicondilitis. 1. Test de Maudsley, 2. Test de Bowden o de la fuerza de agarre, 3. Test de Thomson, 4. Test de la silla 35

Figura 11. Diagnóstico ecográfico de epicondilitis. 36

Figura 12. Diagnóstico RM de epicondilitis..... 37

Figura 13. Test clínicos para el diagnóstico de epitrocleitis. 1. Test de la epitrocleitis, 2. Maniobra de Cozen invertida..... 38

Figura 14. Diagnóstico ecográfico de epitrocleitis. 39

Figura 15. Diagnóstico RM de epitrocleitis. 39

Figura 16. Plan de posibles tratamientos no quirúrgicos según el modelo continuo de progresión de la tendinopatía. 42

Figura 17. Proceso de génesis de las plaquetas. 50

Figura 18. Plaquetas circulantes en sangre, vistas por microscopía de transmisión. 51

Figura 19. Componentes del PRP..... 52

Figura 20. Agregación plaquetar..... 54

Figura 21. Gel de fibrina por PRP. 59

Figura 22. Clasificación del grado de hipoecogenicidad del tendón..... 93

Figura 23. Características ecográficas de la tendinopatía 94

Figura 24. Patrones de vascularización..... 95

Figura 25. Diagrama de flujo de los pacientes. 102

Figura 26. Porcentaje de pacientes con una mejoría superior al 25% de reducción del DASH-E (A) y del VAS-P (B) durante un año de seguimiento, tras ajustar los datos a la vascularización basal. 106

Figura 27. Cambios del DASH-E y el VAS-P a lo largo del tiempo, tras ajustar los datos a los valores basales del estado vascular e hipercolesterolemia. 109

Figura 28. Muestra los hallazgos ecográficos característicos de la tendinopatía de los tendones extensor común y flexor común.. 117

Figura 29. Muestra los efectos longitudinales de la hipercolesterolemia sobre el cambio ajustado del nivel de dolor. 122

Figura 30.El gráfico de barras ilustra la distribución estimada de categorías de vascularización en ambos grupos a los diferentes tiempos de valoración. 128

Figura 31. Imágenes representativas de características ecográficas basales y 14 días tras tras primera tenotomía, donde se evidencia el incremento de vascularización inducido por la propia tenotomía, que fue similar, independientemente del adyuvante. 129

Figura 32. Imágenes representativas basal, a los 3 meses, 6 meses y 20 meses, tras 2 tenotomías percutáneas realizadas con un intervalo de 2 semanas con PRP como adyuvante 129

Figura 33. Imágenes representativas basal, a los 3 meses, 6 meses y 20 meses, tras 2 tenotomías percutáneas realizadas con un intervalo de 2 semanas con lidocaina como adyuvante..... 130

LISTA DE TABLAS

Tabla I. Etiología de la tendinopatía. Factores intrínsecos y extrínsecos relacionados con el desarrollo de las tendinopatías. 16

Tabla II. Enfermedades sistémicas que afectan a la estructura de la matriz extracelular del tendón, favoreciendo la tendinopatía. 18

Tabla III. Sistemas comerciales disponibles para la preparación de PRPs con distintas formulaciones..... 58

Tabla IV. Estudios del efecto del PRP en células de tendón humanas in vitro. 65

Tabla V. Estudios randomizados controlados en tendinopatía de codo. 72

Tabla VI. Criterios de inclusión/exclusión en el ensayo B-PRPtendón. 88

Tabla VII. Características sociodemográficas, clínicas y ecográficas en ambos grupos. 103

Tabla VIII. Asociación entre el DASH-E y el VAS-P por el tratamiento..... 104

Tabla IX. Tabla IX. Medidas de resultados y diferencias entre grupos 107

Tabla X. Características sociodemográficas y clínicas basales incluidas en el análisis. 111

Tabla XI. Características ecográficas basales incluidas en el análisis. 112

Tabla XII. DASH y VAS-P basal, y seguimiento a 12 meses. 113

Tabla XIII. Valores estimados de función y dolor durante 12 meses, basado en la vascularización. 114

Tabla XIV. Valores estimados de función y dolor durante 12 meses, en función de las características ecográficas. 115

Tabla XV. Predictores de resultados funcionales (grados de DASH) a cambios ajustados (95% CI) 120

Tabla XVI. Características ecográficas antes del tratamiento. 123

Tabla XVII. Medidas ecográficas seriadas y valoración clínica a lo largo del tiempo.. 125

Tabla XVIII. Distribución de los pacientes según el tendón lesionado (lateral o medial), toma de estatinas y diagnóstico de diabetes. 131

LISTA DE ABREVIATURAS

ACDA. Solución dextrosa-citrato
ACL. Ligamento cruzado anterior
ADAMTs. A disintegrin and metalloproteinase with thrombospondin motifs
ADL. Function in daily living
ADP. Adenosin difosfato
ATP. Adenosín trifosfato
AINEs. Antiinflamatorios no esteroideos
ANGPT. Angiopoyetina
ARE. Antioxidant response element
ASES. American Shoulder and Elbow Surgeons
BDGF. Brain-derived growth factor
BDNF. Factor neutrofílico derivado del cerebro
bGFF. Factor de crecimiento de los fibroblastos
BM. Bone marrow
BMC. Bone marrow concentrate
BMI. Body mass index
BMLs. Bone marrow lesions
BMP. Proteina morfogenética del hueso
BTI. Biotechnology Institute
Ca^{2+}. Calcio
$Ca\ Cl_2$. Calcium chloride
CB1. Cannabinoid receptor 1
CB2. Canabinoid receptor 2
CCL-5 (RANTES). Chemokine C-C motif ligand 5 (Regulated on activation normal T-cell expressed and secreted)
CDG3. Diguanilato ciclasa 3
CFU-F. Colony forming units
CI. coefficient interval
COL 1. Colágeno tipo I
COL2A1. Colágeno tipo II alfa1
COL 3. Colágeno tipo III
COL10A1. Colágeno tipo X alfa1
COX-2. Cyclooxygenase 2
COMP. Cartilage oligomeric matrix protein
CPCs. Chondroprogenitor cells
CTGF. Connective tissue growth factor
CXCL7. Quimiocina activadora de neutrófilos
CXCR4. CXC receptor 4
DAMPs. Damage-associated molecular patterns

DASH. Disabilities of the arm, shoulder and hand outcome measure
ECM. Extracellular matrix
ECR. Ensayo clínico controlado y randomizado
ECSW. Extracorporeal shockwage therapy
EDTA. Acido etilendiaminotetraacético
EGF. Factor de crecimiento epidérmico
ENA 78. Epitelial neutrophil-activating ptotein 78
F1. Fraction one
F2. Fraction two
Fg. Fibrinógeno
Fn. Fibronectina
FGF. Fibroblastic growth factor
GAGs. Glicosaminoglicanos
GFs. Growth factors
GP Ib/V/IX. Glicoproteina Ib/V/IX
GRO. Oncogén relacionado con el crecimiento
HA. Hyaluronic acid
Hb. Hemoglobina
H&E. Hematoxilina eosina
HGF. Hepatocyte growth factor
HIV. Human inmunodeficiency virus
HMGB1. High-mobility group protein B1
HUC. Hospital Universitario de Cruces
IA. Intraarticular
ICAM-1. Molécula de adhesion intracellular
IFN γ. Interferon gamma
IGF. Insulin-like growth factor
5-HT. Serotonina
IGF. Factor de crecimiento insulin-like
IL-1β. Interleukin-1β
IL-6. Interleukin 6
IL-8. Interleukin 8
IL-10. Interleukin 10
IL-13. Interleukin 13
IL-21. Interleukin 21
IO. Intraosseous
ITT. Intent-to-treat
KOA. Knee osteoarthritis
KOOS. Knee injury and osteoarthritis outcome score
LAP. Péptido asociado a la latencia
LAMP-1/2. Proteínas lisosomales asociadas a la membrana

LCR. Ligamento colateral radial.
Low MW HA. Heparina de bajo peso molecular
L-PRP. Leukocyte PRP
LPS. Lipopolisacárido
LWHA. Low molecular-weight hyaluronic acid
M. Mean
MCSF. Macrophage colony stimulating factor
MCP-1/3.proteina 1/3 quimiotáctica del monocito
M1. Proinflammatory macrophages
M2. Trophic macrophages
MEC. Matriz extracelular
MIP-1β. Proteinas inflamatorias de macrófagos
MMPs. Matrix metalloproteinases
MRI. Magnetic resonance imaging
MSCs. Mesenchymal stem cells
NAP-2. Péptido 2 activador de los neutrófilos
NF-kβ. Nuclear factor kβ
NGF. Nerve growth factor
NO. Nitric oxide
NR. No reportado
NrF2. NF-E2-related factor 2
NSAID. Nonsteroidal antiinflammatory drug
OMERAT-OARSI. Outcome measures for rheumatology committee and osteoarthritis research society International standing committee for clinical trials response criteria initiative
PAI. Activador del inhibidor del plasminógeno
PAR-1. Péptido activador
PDGF. Platelet-derived growth factor
PF4. Factor 4 plaquetar
PGE2. Prostaglandine E2
Plt. Plaqueta
PM. Periarticular muscles
PMNs. Polymorphonuclear neutrophils
PPP. Plasma pobre en plaquetas
PRGF. Plasma rich in growth factors
PRP. Platelet rich plasma
PRTEE. Patient related tennis elbow evaluation
QOL. Quality of life
RANKL. Receptor activator for Nuclear kB ligand
RCT. Randomized Control Trial
RF. Radiofrecuencia

ROS. Reactive oxygen species
SAMP8 Senescence-accelerated prone mouse
SB. Subchondral bone
SD. Standard deviation
SDF-1. Stromal derived growth factor
SF. Synovial fluid
SIRT-1. Sirtuin-1
SM. Synovial membrane
SNARE. Soluble NSF attachment protein receptor
SOX-9. SRY-type high-mobility-group box transcription factor-9
STIR. Short TI inversion recovery MR sequence
SVF. Stromal vascular fraction
TAFI. Inhibidor de la fibrinolysis activado por trombina
TC. Tomografía computerizada
TF. Factor tisular
TGFB. Transforming growth factor
TIMPs. Tissue inhibitors of metalloproteinases
TLRs. Toll-like receptors
TNFα. Tumor necrosis factor
TSP. Trombospondina
TXA2. Tromboxano A2
UMT. Unión miotendinosa
uPA/uPAR. Activador del plasminógeno tipo urokinasa y su receptor
US. Ultrasound
UTC. Ultrasound Tissular Characterization
VAS-P- Visual analog scale for pain VAS
VCAM-1. Molécula 1 de adhesion cellular vascular
VEGF. Vascular endothelial growth factor
Vn. Vitronectina
VWF. Von Willebrand Factor
WBC. White blood cells
WOMAC. Western Ontario and McMaster Universities osteoarthritis Index questionnaire

RESUMEN

Introducción: Las tendinopatías representan un conjunto de lesiones musculoesqueléticas con tendencia a la cronicidad, con alta prevalencia, tanto en el ámbito laboral, como deportivo, cuyo manejo constituye un problema médico aún no resuelto. En concreto, las lesiones de codo (epicondilopatías lateral y medial) se presentan habitualmente en la población trabajadora, y en nuestro contexto constituye un problema médico y laboral muy frecuente. La ausencia de un tratamiento de elección, junto con la diversidad de estados patológicos y formas de presentación de esta entidad, dificulta su manejo. El Plasma Rico en Plaquetas (PRP) incluye toda una serie de quimiocinas y factores de crecimiento, que combinados con la tenotomía, pueden revertir una situación crónica, con una reagudización intencionada, que ayude a regular y reactivar los mecanismos reparativos del tendón, para alcanzar su resolución. Aunque existe mucha literatura con resultados prometedores, aún no tenemos un conocimiento científico sólido que avale su indicación. En esta tesis aportamos los últimos hallazgos sobre las terapias con PRP, así como los avances más recientes en el conocimiento de la fisiopatología de la tendinopatía, y los potenciales vínculos entre ambas. En este sentido investigamos el potencial del PRP, como adyuvante a la tenotomía en el tratamiento de las epicondilopatías.

Métodos: Hemos realizado un ensayo clínico controlado y randomizado, a doble ciego, en el que hemos comparado la efectividad clínica de la tenotomía con PRP como adyuvante, frente a la tenotomía con lidocaina, en el tratamiento de las epicondilopatías recalcitrantes, lateral y medial. Hemos analizado el resultado clínico mediante la utilización de los test DASH-E, para medir el grado de función, y VAS-P, para medir el grado de dolor. Se han recogido los datos demográficos y hallazgos ecográficos basales, y se ha realizado un seguimiento clínico y ecográfico, durante un periodo de hasta 20 meses.

Resultados: En nuestro modelo evidenciamos un importante y mantenido beneficio clínico con la tenotomía a lo largo del tiempo, independientemente del adyuvante utilizado. Hemos observado como la interacción entre sexo, nivel de colesterol y características ecográficas, que incluyeron neovascularización, ecotextura y osteofitos, eran predictores significativos del patrón temporal de mejoría funcional. Por otro lado hemos observado una mejoría en los hallazgos ecográficos a lo largo del tiempo, que incluyen hipoecogenicidad, hipervascularización y engrosamiento, que sin embargo no se correlacionó significativamente con los resultados clínicos.

Conclusión: La tenotomía con PRP es un tratamiento efectivo en el manejo de muchos de los pacientes con epicondilopatías, aunque la combinación de características demográficas, genéticas y metabólicas, con las características ecográficas del tendón lesionado, podría ayudar a identificar los mejores candidatos a este tipo de terapias, lo que sin duda redundaría en una mejor eficacia de este tratamiento conservador.

INTRODUCCION

1. INTRODUCCION

A. ENTENDIENDO LA EPIDEMIOLOGIA DE LAS LESIONES TENDINOSAS

Las tendinopatías crónicas constituyen un problema médico en creciente progresión, que no tiene un tratamiento eficaz. Su incidencia se estima en un 30% de las consultas médicas relacionadas con dolor en el aparato locomotor [Bijlsma JW, 2011]. Podemos distinguir dos ámbitos en los que la prevalencia de la tendinopatía es especialmente elevada en relación con la población general: el ámbito laboral y el ámbito deportivo. En función de la edad, sexo y actividad física, tanto en el deporte, como en el trabajo, la prevalencia varía mucho, por lo que los planes de prevención deberán adaptarse a cada contexto específico, tanto laboral como deportivo. La causa de la lesión puede ser diferente en trabajadores o atletas. En los primeros los tendones son sometidos a movimientos repetitivos de baja intensidad, durante largos periodos de tiempo, mientras que en los atletas habitualmente son ejercicios de alta intensidad y en un periodo de tiempo relativamente corto.

Aunque inicialmente se vincularon las tendinopatías a los deportistas profesionales, la tendencia actual, al aumentar el tiempo libre de las personas, es a que cada vez veamos más individuos de todas las edades practicando todo tipo de deportes ya sea de forma competitiva o recreacional. Esto ha llevado a que el número absoluto de lesiones tendinosas se haya incrementado dramáticamente en las últimas décadas [Järvinem M, 1992]. Por ejemplo, la actividad de correr es una de las más populares en los últimos años, además de formar parte del calentamiento de cualquier deporte. Se estima que la incidencia anual de lesiones tendinosas asociadas a este deporte está entre el 24 y el 65%. Cada deporte implica más a unos u otros tendones, de manera que los jugadores de fútbol se lesionarán con mayor frecuencia el tendón patelar (incidencia del 21 %), los corredores el tendón aquíleo (53%); los tenistas los extensores de la muñeca y supinadores del antebrazo (epicondilitis) con una incidencia del 40 %, frente al 1-2% de la población general; los jugadores de golf los flexores de la muñeca y dedos, y del pronador redondo (epitrocleitis).

En el mundo laboral, este tipo de lesiones está, sobre todo, relacionado con actividades de fuerza, o bien que conlleven la repetición constante de un

determinado movimiento, y más aún si se realiza en una posición forzada, afectando principalmente a extremidades superiores. En este sentido, por ejemplo, las epicondilopatías suceden principalmente a trabajadores manuales con una prevalencia, que puede llegar hasta un 40% en mineros de carbón, un 20% en trabajadores relacionados con la manufactura de pequeños componentes eléctricos o de automoción, y un 10% en cirujanos plásticos. En el mundo laboral estas lesiones tendinosas, aunque pueden afectar a personas de todas las edades, son más frecuentes en personas entre los 40 y 60 años, comprometiendo su calidad de vida y su actividad física.

Ello implicará por un lado una elevada demanda de atención, sobre todo potenciada por el dolor con el que cursan la gran mayoría de ellas, al menos en sus fases iniciales. Por otro lado conllevan un estilo de vida más sedentario, lo que acarreará mayores posibilidades de padecer otro tipo de patologías como son diabetes, síndrome metabólico, hipertensión… Además son causa frecuente de absentismo laboral, con la consiguiente repercusión económica y social. Por ejemplo hasta un 5% de las epicondilitis demandan una baja laboral, con una duración media de 29 días/año. Este absentismo laboral secundario a epicondilitis, en la población comprendida entre los 25 y 64 años, en Reino Unido, supuso un coste estimado en 27 millones de libras en 2012 [Hopkins S, 2016]. Esto unido a la pérdida de productividad y a la alta prevalencia de las tendinopatías, sugiere que la carga económica derivada de estas lesiones, habitualmente está infravalorada.

En función del sexo, la mayoría de las lesiones tendinosas por sobreuso en el ámbito deportivo, acontecen en varones, aunque su incidencia en mujeres está aumentando no solo de lesiones agudas (futbol, judo, esquí…), sino también por sobreuso (maratón, aerobic, ciclismo…), sin duda por el creciente interés de ellas en el deporte y actividades físicas en general, e incluso la tendencia actual a participar en deportes de más alto riesgo. Sin embargo en el mundo laboral la prevalencia es un poco mayor en la mujer (en las epicondilitis de hasta un 4% en mujeres y 1,1% en varones).

La edad también es un factor importante a la hora de situar anatómicamente la sospecha del dolor. Así en los niños son más frecuentes las lesiones del platillo fisario de crecimiento en el hueso, que las lesiones tendinosas, por la mayor elasticidad de los tendones. En adolescente las lesiones tendinosas asientan sobre todo en las entesis, siendo la enfermedad de Osgood Schlatter la lesión tendinosa más frecuente en atletas jóvenes, junto con la enfermedad de Sever o apofisitis calcánea. Mientras que en atletas mayores es más frecuente la tendinopatía del manguito rotador y la tendinopatía aquílea no insercional [Maffulli N, 2003].

Los tratamientos actuales, tanto médicos como quirúrgicos, tienen como objetivos reducir el dolor, prevenir la recurrencia de la lesión y acelerar la vuelta a la actividad deportiva o laboral. Sin embargo, debido a su etiopatogenia multifactorial, siguen sin resolver satisfactoriamente muchas de las tendinopatías. En las últimas décadas se han introducido en su abordaje terapias biológicas, entre las que se encuentra el plasma rico en plaquetas (PRP), que por su mecanismo de acción biológica multifactorial, está siendo actualmente investigado.

B. NATURALEZA Y FUNCION DE LOS TENDONES: BIOLOGIA BASICA, FUNCION Y ANATOMIA

Los tendones son estructuras anatómicas fundamentales en el sistema musculo-esquelético, al ser los elementos que unen los músculos a los huesos, lo que permite la transmisión de fuerzas del músculo al hueso, y con ello el movimiento. Forman parte del sistema fascial que también incluye el tejido adiposo, adventicias, vainas neurovasculares, aponeurosis, fascias superficiales y profundas, la dermis, epineuro, cápsulas articulares, ligamentos, membranas, meninges, las expansiones miofasciales, el periostio, retináculos, septos, las fascias viscerales y todo el tejido conectivo inter e intramuscular (endomisio, perimisio y epimisio). Con todos estos componentes el sistema fascial construye un armazón tridimensional de tejido conectivo fibroso laxo y denso, con contenido de colágeno, que entreteje todo el cuerpo, permitiendo a todos los sistemas corporales funcionar de una manera integrada (Zügel M et al., 2018).

Su forma es muy variable, dependiendo de su localización anatómica: pueden ser como cordones redondos (tendón largo del bíceps), con forma de banda (tendón del supraespinoso) o con forma elipsoidal (inserción de los extensores en el epicóndilo) [Benjamín M, 1995]. Dicha geometría está relacionada con la función mecánica que desempeñan. Asimismo, su estructura fibrilar microscópica les da una elasticidad, que les permite soportar fuerzas tensionales muy elevadas.

i. Estructura

Macroscópicamente los tendones tienen un color blanco brillante, y tienen una textura fibroelástica. Los tendones poseen tres zonas específicas: la unión miotendinosa (UMT), la zona media o cuerpo del tendón, y la unión del tendón al hueso o entesis, que puede presentar una zona de transición de fibrocartílago (**Fig. 1**).

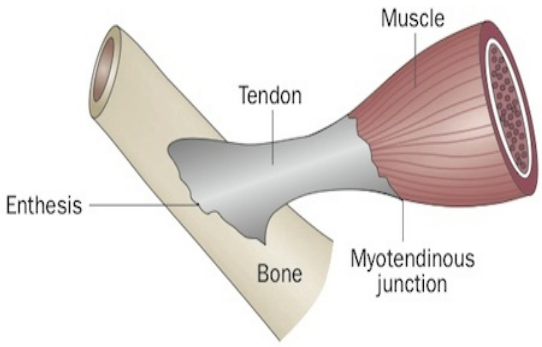


Figura 1. Esquema anatómico básico de las tres zonas específicas del tendón. (Nourissat G, 2015)

Los tendones son avasculares, presentando una baja celularidad (tenocitos) y por ende una baja actividad metabólica, lo que limita sus recursos endógenos para la reparación. La matriz extracelular (MEC) es abundante y está compuesta por fibras de colágeno bien alineadas y con una estructura jerarquizada (como detallamos a continuación). También contiene una pequeña fracción de moléculas que le confieren elasticidad, elastina y proteoglicanos. Las fibras de colágeno proporcionan la resistencia del tendón a la tensión, mientras que los proteoglicanos son responsables de sus propiedades viscoelásticas.

Estructura jerarquizada. La unidad estructural más pequeña, es la fibrilla de colágeno. Cada fibrilla se compone de moléculas solubles de procolágeno que forman uniones cruzadas entre ellas, para crear moléculas insolubles de tropocolágeno o microfibrillas, que se van agregando para formar fibrillas. Varias fibrillas de colágeno formarán las fibras de colágeno. Varias fibras de colágeno se juntarán para formar los haces primarios, que pueden ser medidos mecánicamente y verse con microscopía óptica. Los tenocitos y tenoblastos se sitúan entre las fibras de colágeno a lo largo del eje del tendón [Kirkendall DT, 1997]. Estos haces primarios se unen en fascículos o haces secundarios, que a su vez, se unen en haces terciarios, por capas finas de tejido conectivo llamadas endotenón, que llevan en su

interior los vasos sanguíneos, los nervios y los vasos linfáticos, permitiendo el deslizamiento de los haces de fibras ente ellos con mínima fricción. El conjunto de haces terciarios se rodea por el epitenón, que a su vez se rodea de otra fina capa de tejido conectivo, que es el paratenón (que es la vaina sinovial en algunas localizaciones anatómicas). El epitenón y paratenón forman el llamado peritendón, que reduce la fricción con los tejidos adyacentes, ayudado por una molécula lubricante llamada lubricina.

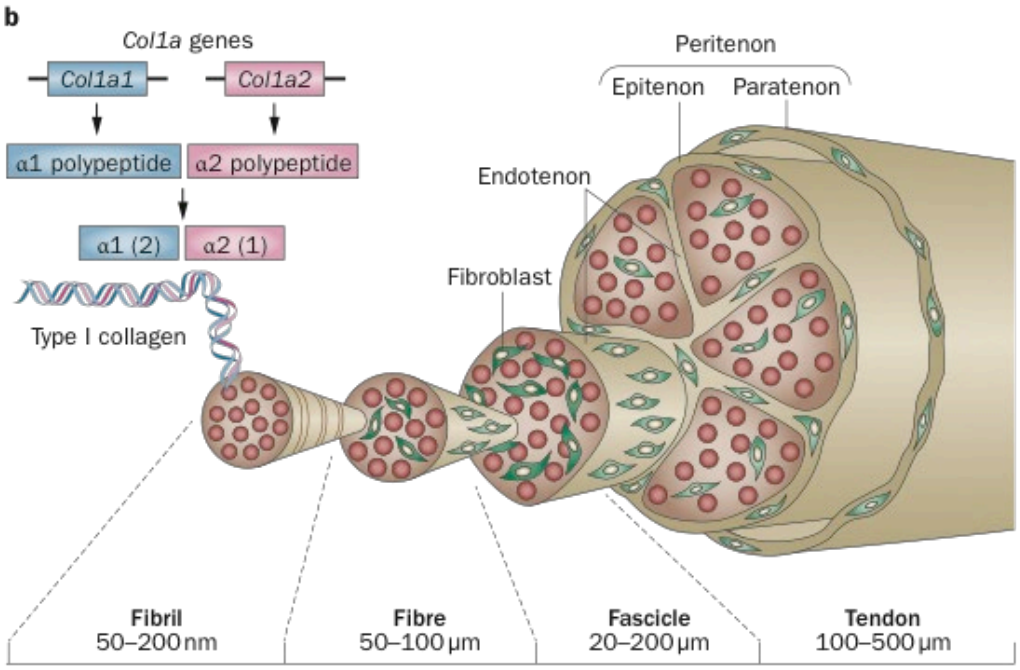


Figura 2. Anatomía microscópica de un tendón normal (Nourissat G, 2015)

El paratenón está compuesto por fibrillas de colágeno tipo I y tipo III, alguna fibrilla elástica y una capa interna de células sinoviales [Kvist M, 1987]. Las vainas sinoviales tendinosas se encuentran en localizaciones anatómicas sometidas a gran stress mecánico, como tendones de manos y pies, donde se requiere una eficiente lubricación.

Aunque principalmente se orientan longitudinalmente, dependiendo de la localización anatómica y función, también hay fibras orientadas transversalmente, formado espirales a modo de trenzas. Su estructura tridimensional en fibrillas, fibras y fascículos va dirigida a soportar cargas tensionales continuas.

En la unión miotendinosa las fibras de colágeno se insertan en recesos profundos, formados por proyecciones de miocitos, permitiendo que la tensión generada por las fibras musculares se transmita a las fibras de colágeno [Tidball JG, 1986]. Esta compleja estructura reduce el stress tensional del tendón durante la

contracción muscular [KvistM, 1991]. Aun así, la unión miotendinosa sigue siendo el punto más débil de la unidad musculo-tendinosa [Tidball JG, 1991]

La unión osteotendinosa está compuesta por cuatro zonas: una zona densa, fibrocartílago, fibrocartílago mineralizado y hueso. La estructura especializada de esta unión previene la deformidad, deshilachamiento, desgarro y avulsión del tendón [Benjamin M, 1995].

Desde el punto de vista celular, los tenoblastos y tenocitos constituyen del 90 al 95% de las células del tendón. Los tenoblastos son células inmaduras del tendón. Tienen forma de huso y poseen múltiples organelas citoplasmáticas, que reflejan su gran actividad metabólica. Conforme maduran, se van alargando, transformándose en tenocitos. Estos tienen una menor relación núcleo-citoplasma, lo que refleja su baja actividad metabólica [Kannus P, 2000]. Los tenocitos sintetizan colágeno y todos los componentes de la red de la matriz extracelular, y se ha observado un aumento de su actividad metabólica y de síntesis de colágeno en respuesta a estímulos mecánicos. [O`Brien M, 1997; Jozsa L, Baint JB, 1979; Kvist M, 1987]. El 5-10% de células restantes son condrocitos, en las zonas de inserción ósea (entesis), células sinoviales del paratenón o la vaina tendinosa, y células vasculares, que incluyen células endoteliales capilares y células de músculo liso de las arteriolas. El consumo de oxígeno de tendones y ligamentos es 7,5 veces menor que el de los músculos [Vailas AC, 1978]. Esta menor actividad metabólica y su capacidad de generar energía por vía anaeróbica, es esencial para cargar pesos y soportar largos periodos de tensión, reduciendo los riesgos de isquemia y necrosis. Sin embargo por otro lado reduce la capacidad de curación frente a una lesión [Williams JG, 1986].

ii. Biomecánica

Los tendones trasmiten la fuerza de los músculos a los huesos, y absorben las fuerzas externas para limitar el daño muscular [Best TM, 1994]. Presentan una elevada fuerza mecánica, gran flexibilidad y elasticidad.

El comportamiento mecánico del colágeno depende del número y tipo de enlaces intra e intermoleculares.

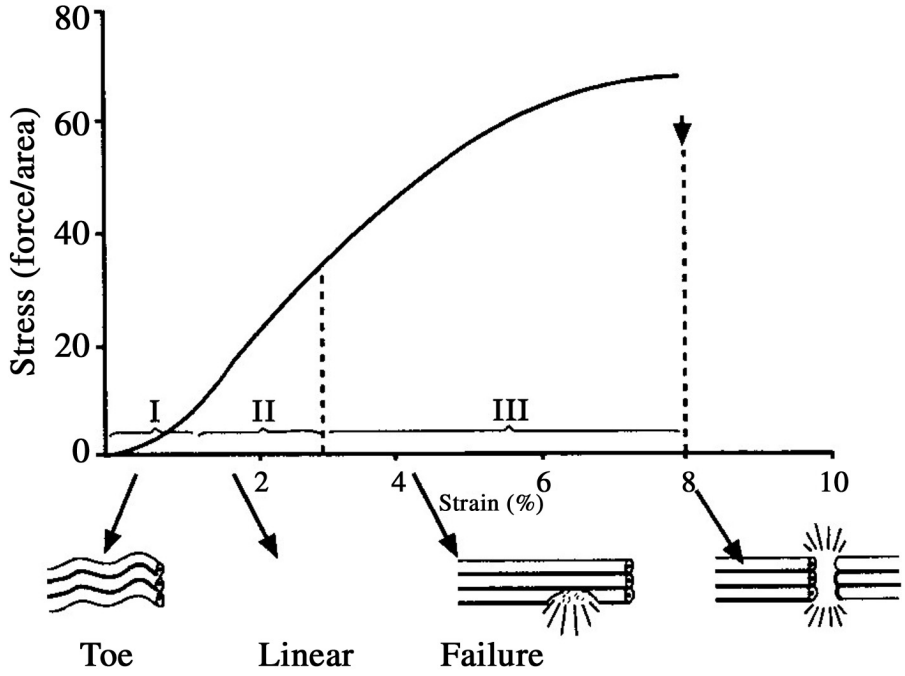


Figura 3. Módulo de Young o curva de estrés-deformación demostrativa de las propiedades físicas básicas del tendón (Wang JH, J Biomech. 2006).

En reposo, las fibras de colágeno muestran un aspecto rizado. La porción cóncava inicial (dedo de pie), donde el tendón se estira hasta un 2%, representa un alisamiento del patrón rizado. Más allá de ese punto el tendón se deforma de forma lineal, como resultado del deslizamiento intramolecular de las triples hélices del colágeno, de forma que las fibras se alinean en paralelo. Si el estiramiento prosigue hasta un 4%, el tendón actúa de manera elástica, volviendo a su posición inicial cuando cede. El daño microscópico sucede cuando la tensión excede el 4%. Entre un 8 -10 % de tensión, ocurre rotura macroscópica.

La fuerza tensional de un tendón se relaciona con su grosor y el contenido de colágeno. Por otro lado influye en la posibilidad de lesión tendinosa, la carga y frecuencia de carga, así como la distribución de la misma, siendo mayor en la contracción muscular excéntrica.

Los tendones responden a la aplicación de sobrecargas crónicas, incrementando su rigidez y al sedentarismo crónico reduciéndolo. Los mecanismos que subyacen a estas adaptaciones incluyen cambios en el grosor del tendón y cambios en el módulo de Young. Un hallazgo común en diferentes estudios es que estas adaptaciones ocurren rápidamente, en semanas [Reeves ND, 2003; Epro G, 2017]. Curiosamente, según algunos estudios esta adaptación viene por cambios en

el grosor, pero no en la materia del tendón [Couppé C, 2008], mientras que otros comentan cambios en el grosor y la materia del tendón [Stenroth L, 2016].

iii. Vascularización

Los tendones reciben su aporte vascular de tres fuentes principales: los sistemas intrínsecos de las uniones musculo-tendinosas y osteotendinosas, y del sistema extrínseco a partir del paratenón o de la vaina sinovial [Carr AJ, 1989; Kvist M, 1995]. Sin embargo los vasos de la unión miotendinosa no suelen llegar más allá del tercio proximal de los tendones, y los de la unión osteotendinosa se limitan a la zona de inserción. Por otro lado la vascularización extrínseca que llega por el paratenón penetra en los tendones a través del epi y endotenón [Reynolds NL, 1991]. La vascularización se ve comprometida en las zonas de unión, y en sitios de torsión, fricción o compresión. Además el flujo sanguíneo se reduce con la edad y la sobrecarga mecánica [Astrom M, 2000].

En el codo la vascularización arterial depende de la arteria braquial y sus ramas. La arteria braquial o humeral desciende en el brazo, por el borde medial del músculo bíceps, y entra en el espacio antecubital, medial al tendón del bíceps y lateral al nervio mediano. En nivel de la cabeza del radio emite sus ramas terminales, las arterias cubital y radial, que continúan en el antebrazo. La arteria radial emerge de la fosa antecubital entre el músculo braquiorradial y el músculo pronador redondo, y continúa en dirección distal en el antebrazo por debajo del músculo braquiorradial. La arteria cubital es la mayor de las dos ramas terminales de la arteria braquial. Atraviesa el músculo pronador redondo entre sus dos cabezas y continúa distal y medialmente por detrás del músculo flexor superficial de los dedos. Emerge medialmente para seguir en dirección distal por la cara medial del antebrazo, cubierta por el flexor cubital del carpo.

El retorno venoso corre a cargo de las venas profundas, que de forma pareada acompañan a arterias radial y cubital, y que en el codo convergen a la vena braquial o humeral. Y en menor cuantía por las venas superficiales, vena cefálica y basílica, alojadas en grasa subcutánea de vertiente antero lateral y anteromedial de codo, respectivamente.

iv. Inervación

La inervación del tendón se origina en los troncos nerviosos cutáneos, musculares y peritendinosos. En la unión miotendinosa las fibras nerviosas

atraviesan y entran en los septos del endotenón. Forman un rico plexo en el paratenón y sus ramas penetran en el epitenón. Muchas fibras realmente no entran en el cuerpo del tendón, sino que acaban como terminales nerviosas en su superficie.

Las terminales nerviosas mielinizadas funcionan como mecanoreceptores para detectar cambios en la presión o tensión. Se han descrito cuatro tipos de receptores aferentes en la superficie o en el propio tendón: 1) corpúsculos de Ruffini, o receptores de presión, 2) corpúsculos de Vater-Paccini o receptores de movimiento; 3) los mecanoreceptores, o órganos tendinosos de Golgi, muy numerosos en las zonas de unión miotendinosa [Lephart SM, 1997; Fitzgerald MJT, 1992]; y 4) las terminales nerviosas no mielinizadas que actúan como nociceptores, captando y transmitiendo dolor. Además, en el tendón hay tanto fibras simpáticas como parasimpáticas [Ackermann PW, 2001].

En el codo la inervación depende de varios nervios: 1) *Nervio musculocutáneo*, que se origina de las raíces nerviosas C5 a C8, y es la continuación del fascículo lateral. Inerva los principales músculos flexores del codo y los músculos bíceps y braquial, y continúa a través de la fascia braquial lateral hacia el tendón del bíceps, para acabar formando el nervio antebraquial cutáneo lateral. 2) *Nervio mediano* surge de las raíces nerviosas C5 a C8 y T1. Entra en la cara anterior del brazo cruzando por delante de la arteria braquial a su paso a través del tabique intermuscular. Sigue un trayecto recto en la cara medial de la fosa antecubital, medial al tendón del bíceps y a la arteria braquial. A continuación, pasa por debajo de la aponeurosis bicipital. No emite ningún ramo en el brazo. El primer ramo motor es para el músculo pronador redondo, al cual atraviesa. En la fosa antecubital desprende algunos pequeños ramos articulares antes de emitir los ramos motores para los músculos pronador redondo, flexor radial del carpo, palmar largo y flexor superficial de los dedos. 3) El *nervio radial* es continuación del fascículo posterior y se origina en las raíces nerviosas C6, C7 y C8, con contribuciones variables de las raíces C5 y T1, desciende anterior al epicóndilo lateral y por detrás del braquiorradial. Inerva el músculo braquiorradial mediante un único ramo. En el espacio antecubital se divide en los ramos superficial y profundo. El ramo superficial es la continuación del nervio radial y se extiende hasta el antebrazo para inervar la piel de la cara dorsal media del antebrazo. Los ramos motores del nervio radial para el músculo tríceps surgen por encima del surco del nervio radial (surco espiral o canal de torsión), con excepción del ramo para la cabeza medial del tríceps, que se origina a la entrada del surco. Este ramo continúa distalmente a través de la cabeza medial para finalizar como un ramo muscular para el ancóneo. En el espacio antecubital, el ramo profundo del nervio

radial rodea la cara posterolateral del radio, pasando a ser profundo a través del músculo supinador, al cual inerva. Durante su curso a través del músculo supinador, el nervio se localiza sobre un área desnuda, que es distal y opuesta a la tuberosidad del radio. Se considera que en esta zona el nervio puede lesionarse en las fracturas del radio proximal. Sale de este músculo como nervio interóseo posterior, e inerva los músculos extensor del dedo meñique, extensor cubital del carpo y, en ocasiones, el ancóneo. 4) El *nervio cubital* deriva del fascículo medial del plexo braquial, de las raíces C8 y T1. El nervio cubital puede comprimirse en su trayecto por detrás del epicóndilo medial, para emerger en el antebrazo a través del túnel cubital. El techo del túnel cubital está formado por una estructura denominada retináculo del túnel cubital. El primer ramo motor es el único nervio para el origen cubital del pronador. También emite otro ramo motor para la cabeza epicondílea del flexor cubital del carpo. Distalmente, el nervio envía un ramo motor a la mitad cubital del flexor profundo de los dedos.

v. Anatomía radiológica del codo

Nos centramos en la anatomía del codo por ser el objetivo de esta investigación. La patología del codo desde el punto de vista de diagnóstico por imagen, se aborda con diferentes técnicas, en función de la estructura anatómica que se sospeche esté lesionada. Así, la radiografía simple y el TC son las técnicas de imagen ideales cuando la sospecha sea de lesión ósea que involucre la cortical del hueso, ya sea traumática (fracturas), tumoral o infecciosa. Por otro lado, ante la sospecha de patología de partes blandas (músculos, tendones, ligamentos, fibrocartílagos, cartílago articular) o de médula ósea, la técnica ideal será la resonancia magnética (RM). Si la sospecha se centra en músculos, tendones o ligamentos la ecografía se convierte en la técnica ideal por su amplia disponibilidad, bajo coste y completa versatilidad, que nos permitirá estudiar en cualquier plano y de forma dinámica en tiempo real cualquier estructura anatómica, con la ventaja incluso de realizar la exploración a pie de cama, en pacientes con movilidad reducida. Además nos permitirá de manera sencilla realizar procedimientos diagnósticos y terapéuticos ecoguiados como la toma de biopsias, tenotomías, infiltraciones…

La vertiente lateral del codo se compone de estructuras óseas y ligamentosas, que estabilizan la articulación, y sirven de origen para la inserción musculotendinosa del dorso del antebrazo. El extensor común consta de 5 músculos: los extensores largo y corto radiales del carpo, el extensor común de los

dedos, el extensor mínimo de los dedos y el extensor cubital del carpo. Este complejo se origina principalmente en el epicóndilo lateral del húmero; sin embargo se ha de anotar que el extensor radial corto del carpo se inserta en múltiples puntos, incluidas estructuras profundas como el ligamento colateral lateral, el ligamento anular y el septo intermuscular. Distalmente el extensor corto radial del carpo se inserta en la base del tercer metacarpiano, por lo que se le distingue como el extensor central de la muñeca [Tosti R, 2013]. La estructura anatómica macroscópica del codo, queda reflejada perfectamente en los estudios de resonancia magnética (RM), donde en los diferentes cortes vemos la totalidad de la anatomía del codo, lo que facilita su completa valoración, mientras que por ecografía el campo de visión es mucho más reducido, lo que obliga a un conocimiento perfecto de la anatomía, para realizar una adecuada valoración. En las **figuras 4, 5 y 6** se puede apreciar la completa anatomía del epicóndilo, con la inserción tendinosa de los extensores, ligamento colateral radial, epicóndilo y cóndilo humeral e interlínea articular húmero-radial; y de la epitróclea, con la inserción tendinosa de los flexores, el ligamento colateral medial, la epitróclea y tróclea humeral, y la interlínea articular humero-cubital.

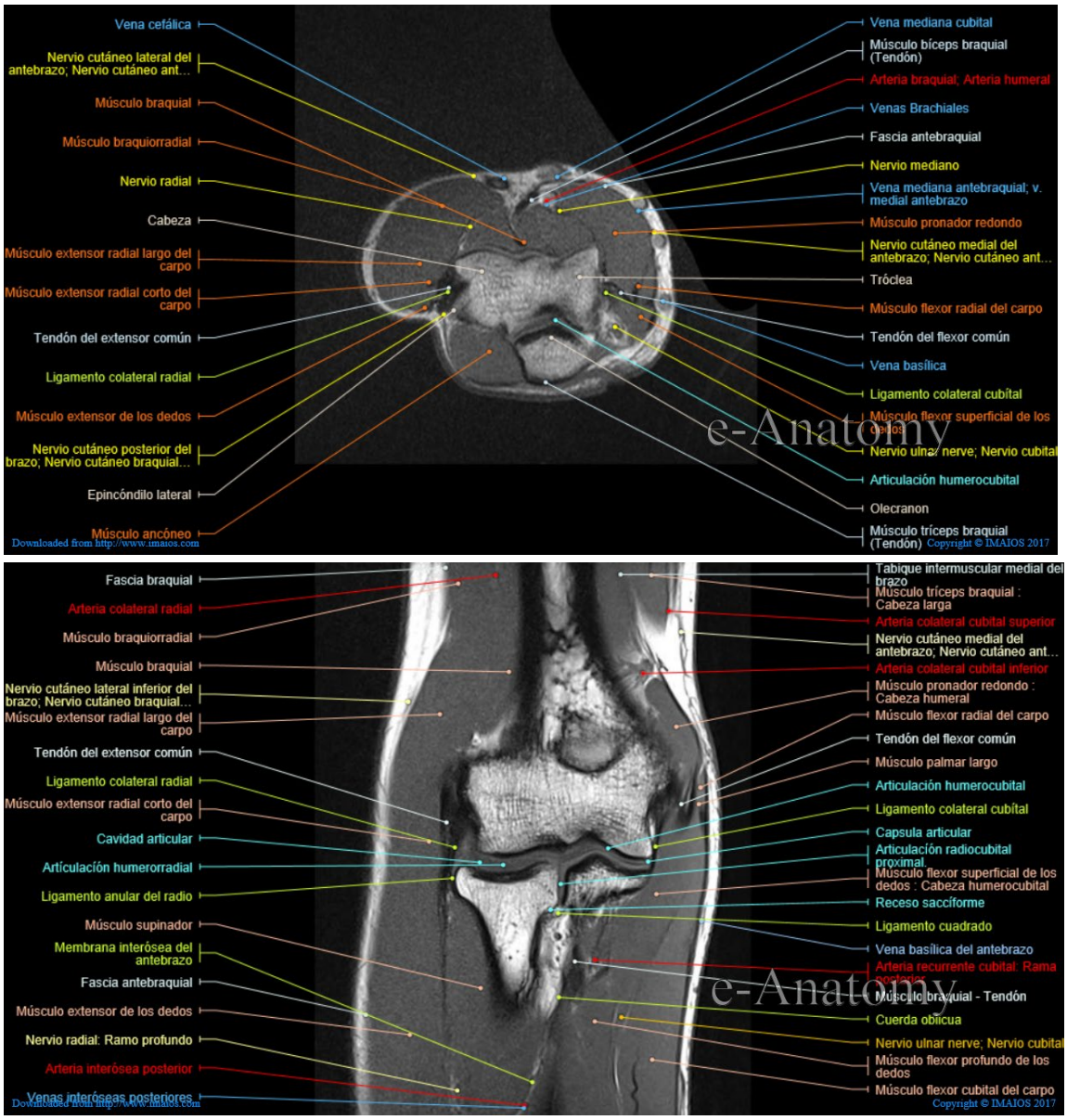


Figura 4. Anatomía macroscópica del codo por RM con imagen axial (A) y coronal (B), potenciadas en T1 (www.imaios.com).

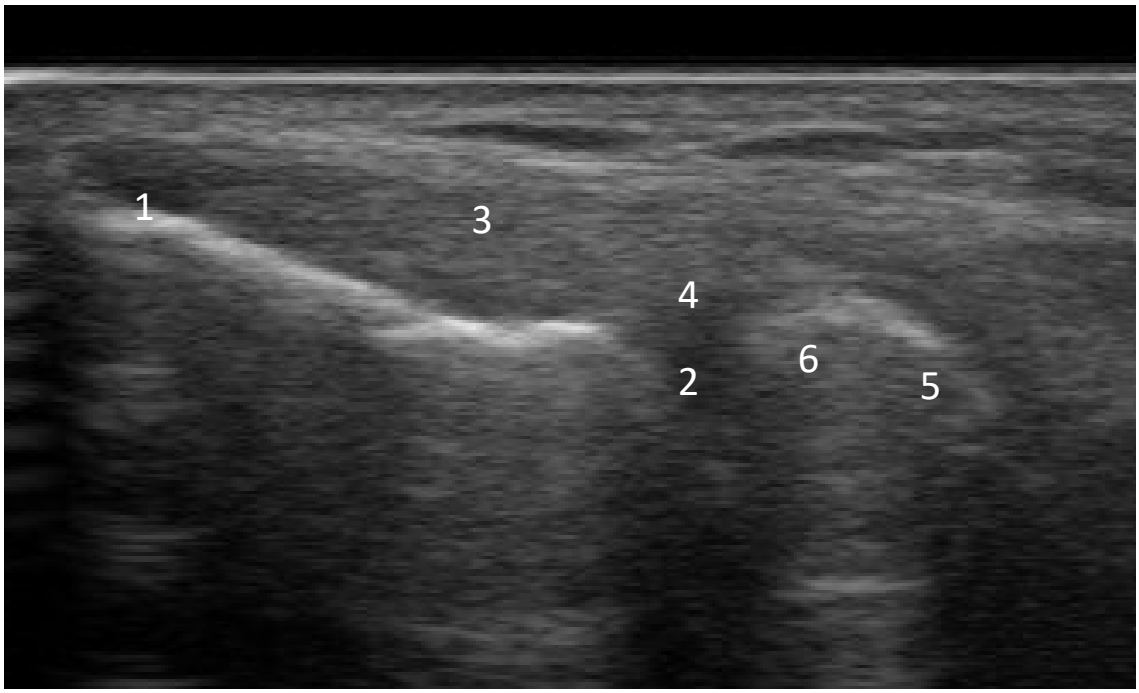


Figura 5. Anatomía macroscópica de vertiente lateral de codo por ecografía con imagen longitudinal coronal.1 epicóndilo, 2 cóndilo humeral, 3 inserción tendinosa de los extensores, 4 ligamento colateral radial (lcr), 5 cabeza radial, 6 interlinea articular humero-radial.

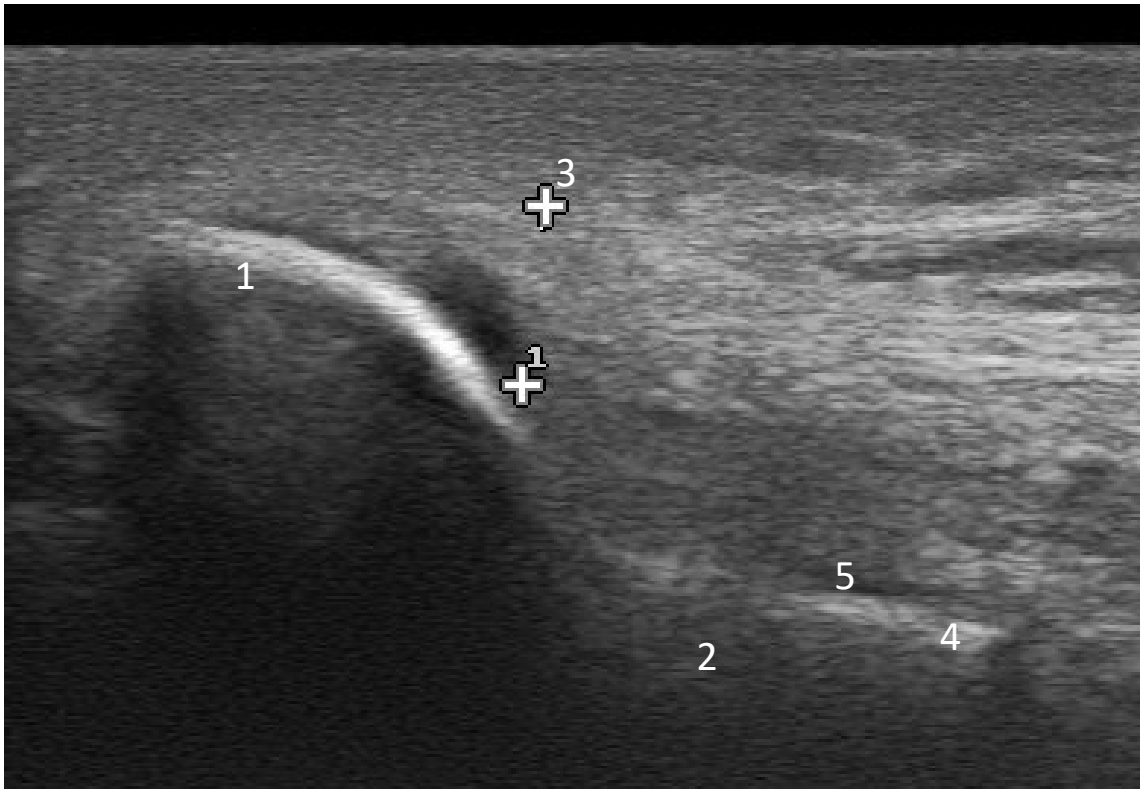


Figura 6. Anatomía macroscópica de vertiente medial de codo por ecografía con imagen longitudinal coronal. 1 epitróclea, 2 tróclea humeral, 3 inserción tendinosa de los flexores (entre cursores su grosor), 4 epífisis cubital y 5 interlinea articular humero-cubital.

C. PATOLOGIA TENDINOSA

Las lesiones tendinosas pueden ser agudas o crónicas, y pueden ser causadas por factores intrínsecos o extrínsecos, solos o en combinación. El término tendinopatía hace referencia a una patología crónica degenerativa que afecta al tendón, incluye cambios fibroblásticos y vasculares, con disrupción de las fibras de colágeno y modificación de la composición de la matriz extracelular, y cursa clínicamente con dolor, pérdida funcional y en ocasiones tumefacción (DÁddona A, 2017). Sustituye a otras nomenclaturas como tendinitis y tendinosis, obviando de esta manera la posible patogenia que subyace a esta condición. La tendinopatía es el hallazgo histológico más común en las rupturas espontáneas tendinosas. Realmente conlleva una reducción de la fuerza tensora, y con ello una predisposición a la rotura.

i. Factores de vulnerabilidad

Normalmente la lesiones tendinosas tienen un origen multifactorial, existiendo una interacción entre factores de vulnerabilidad intrínsecos y extrínsecos en las tendinopatías crónicas [Williams JG, 1986; Riley G, 2004] (**Tabla I**).

Tabla I. Etiología de la tendinopatía. Factores intrínsecos y extrínsecos relacionados con el desarrollo de las tendinopatías.

Factores intrínsecos	Factores extrínsecos
Edad Género Perfusión vascular Estatus nutricional	Trabajo Deporte Sobrecarga física Equipamiento y calzado Condiciones ambientales Superficie de entrenamiento Inmovilización

Variantes anatómicas	***Errores en el entrenamiento***
1. Alineación incorrecta (pronación excesiva, anteversión del cuello femoral, genu-valgo) 2.Desequilibrio y debilidad muscular 3.Discrepancia en la longitud de las extremidades 4.Laxitud de las articulaciones Índice de masa corporal	1.Fuerza excesiva 2.Distancia 3.Intensidad elevada 4.Carga repetitiva 5.Técnica inadecuada y fatiga
Enfermedades sistémicas	
1.Enfermedades endocrinas y metabólicas. 2.Enfermedades reumatológicas 3.Enfermedades genéticas hereditarias.	
Uso de fármacos	
Corticoides, anticonceptivos, fluoroquinolonas.	

Factores intrínsecos:

La edad afecta a la matriz extracelular, de manera que con el tiempo disminuye progresivamente la elasticidad y fuerza tensional, al aumentar la cantidad y estabilidad del colágeno I y disminuir la cantidad de proteoglicanos, y la vascularización y tasa metabólica de los fibroblastos del tendón. Además con el tiempo se suman las microrroturas debidas a las sobrecargas.

La mayor parte de las lesiones tendinosas acontecen en hombres. Aunque parte de las diferencias entre hombres y mujeres, pueda venir por la diferente actividad física [Maffulli N, 2010]; el diferente status hormonal entre ambos sexos, puede afectar a la estructura de la matriz extracelular y al metabolismo de los tenocitos [Huisman E, 2014]. En este sentido los estrógenos y la progesterona aumentan la expresión génica de los proteoglicanos en tenocitos, y su deficiencia disminuye la proliferación y aumenta la apoptosis [Oliva F, 2016]. Además los efectos de los estrógenos en la síntesis de colágeno son diferentes en reposo y con el ejercicio, de manera que el reemplazo de estrógenos en mujeres mayores, posmenopáusicas, perjudica la síntesis de colágeno en respuesta al ejercicio, pero tiene un efecto estimulante sobre esa síntesis de colágeno, en reposo [Hansen M, 2009]. Por otro lado el nivel de andrógenos también afecta al metabolismo y a la respuesta de los tendones a las cargas mecánicas. In vitro su administración

disminuye la expresión de MMPs, lo que puede afectar a los procesos de curación y remodelación de la matriz tras una lesión. Además aumenta la tasa de proliferación y desdiferenciación celular. In vivo, se ha observado que su administración reduce las propiedades elásticas, lo que conlleva a disfunción y fibrosis, lo que favorece las roturas espontáneas [Oliva F, 2016].

Se ha observado que una vascularización anómala puede contribuir a que un tendón sufra una tendinopatía degenerativa. El déficit en el aporte de oxígeno a los tejidos para contrarrestar las sobrecargas, provoca una disminución en la capacidad de las células para responder frente a una lesión, lo que favorece que la lesión progrese [Magnuson SP, 2007]. Muchas tendinopatías, una vez desarrolladas, cursan con un aumento de la vascularización y celularidad, corroborando la hipótesis de que las etapas de reparación tisular no se suceden ordenadamente, y el tejido se queda estancado en una de ellas.

Variantes anatómicas congénitas y la laxitud articular conducen a una mala distribución de la carga, lo que acaba ocasionando un desgaste en ciertas zonas del tendón, que puede degenerar en tendinopatía.

El sobrepeso, conlleva también una sobrecarga en los tendones, y con ello favorece la tendinopatía.

Diversas enfermedades sistémicas afectan a la síntesis, metabolismo y estructura de la matriz extracelular, que acaba comprometiendo las propiedades mecánicas de los tendones [Riley G, 2004]. Se resumen en la **Tabla II**:

Tabla II. Enfermedades sistémicas que afectan a la estructura de la matriz extracelular del tendón, favoreciendo la tendinopatía.

Enfermedad	Defecto estructural y efecto en el tendón
Enfermedades endocrinas y metabólicas	
Diabetes Mellitus	Aumento de la glicosilación y entrecruzamiento de colágeno
Desórdenes de las glándulas adrenales	Alteración del metabolismo del colágeno
Trastornos tiroideos	Calcificación y aumento de depósitos
Enfermedades renales	Aumento de elasticidad y destrucción de fibras
Obesidad e hipercolesterolemia	Aumento de mediadores proinflamatorios

Enfermedades reumatológicas	
Artritis reumatoide	Destrucción del colágeno
Espondiloartropatía	Inflamación de las entesis, fibrosis y calcificación
Artritis reactiva	Inflamación de la inserción
Gota	Depósito de cristales de urato e inflamación
Pseudogota	Depósitos de pirofosfato cálcico e inflamación
Desordenes genéticos hereditarios	
Hemocromatosis	Acumulación de hierro en la matriz
Ehlers-Danlos	Defectos en el procesamiento del colágeno
Mucopolisacaridosis	Fibrillas de colágeno anormales. Aumento de GAGs
Osteogénesis imperfecta	Defectos genéticos en el colágeno tipo I
Enfermedades por depósito de lípidos	Acúmulo de lípidos

En un estudio reciente [Taguchi T, 2016], se ha observado que la administración sistémica de glucocorticoides produce, a nivel histológico, una disminución del colágeno total y una modificación de la estructura de las fibras con menores diámetros, lo que produce una disminución de fuerza tensora. Así mismo se ha publicado la asociación de las tendinopatías con el uso de anticonceptivos orales y sustitutivos hormonales [Abate M, 2009; Abate M, 2013; Taguchi T, 2016], apoyando la teoría de que producen efectos a nivel sistémico y circulatorio. Por otro lado el uso de antibióticos tipo fluoroquinolonas ha demostrado in vitro un aumento de MMPs y marcadores apoptóticos en tenocitos, que en los pacientes conlleva un aumento de riesgo de sufrir tendinopatías, que varía en función del tipo de fluoroquinolona empleado [Abate M, 2009; Stephenson AL, 2013].

Factores extrínsecos

Una carga excesiva y repetitiva del tendón durante el entrenamiento físico, se considera el principal factor extrínseco para la degeneración [Oliva F, 2016], y este riesgo es mayor si ya existe alguno de los factores intrínsecos ya descritos. Se ha probado que el deporte favorece la síntesis y renovación de las fibras tendinosas, hasta un umbral, difícil de definir [Abate M, 2009], en el que deja de

ser favorecedor, para acabar produciendo microrroturas por sobrecarga, que pueden degenerar en tendinopatía.

Las tendinopatías hoy en día son consideradas como una patología multifactorial, que se origina en las interacciones entre las sobrecargas, los factores intrínsecos y las condiciones mecánicas ambientales desfavorables.

ii. Hipotesis clinicas de etiopatogenia

Cada vez más, se reconocen las características biológicas de las tendinopatías, como un fallo en la respuesta al microtrauma, en la que el tendón inicia el proceso de curación, pero no lo concluye (Andía I, 2018). Algunos autores consideran la patogénesis como un proceso de tres estadios consecutivos: La lesión, la curación fallida, y la presentación clínica [Fu SC, 2010]. El primer estadio puede pasar clínicamente inadvertido, y el tendón puede curarse por sus propios medios, de forma espontánea. En el segundo estadio, si no se lleva el reposo adecuado, ni se previenen las sobrecargas, la recuperación tendinosa no se ve satisfecha, por lo que las herramientas de curación se ven afectadas, probablemente por un ambiente mecánico inadecuado y por perturbaciones en las respuestas inflamatorias locales. En este estadio, ya se pueden evidenciar cambios histopatológicos, aunque clínicamente puede seguir siendo asintomático. En esta fase se producen un elevado número de factores proinflamatorios como citoquinas, VEGF y ROS, que producen la degradación del tendón. En el último estadio, cuando la neovascularización llega a un umbral, es cuando los tendones se hacen dolorosos y se manifiestan clínicamente. El origen del dolor, es motivo de debate, habiéndose propuesto un doble origen, por un lado por una proliferación de fibras nerviosas asociada a la neovascularización, y por otro lado por un aumento de la concentración de sustancias algógenas, como el neurotransmisor glutamato, que puede dañar a su vez al tendón [Abate M, 2009; Oliva F, 2016; Ackermann P, 2001; Scott A, 2006](ver **fig.7**).

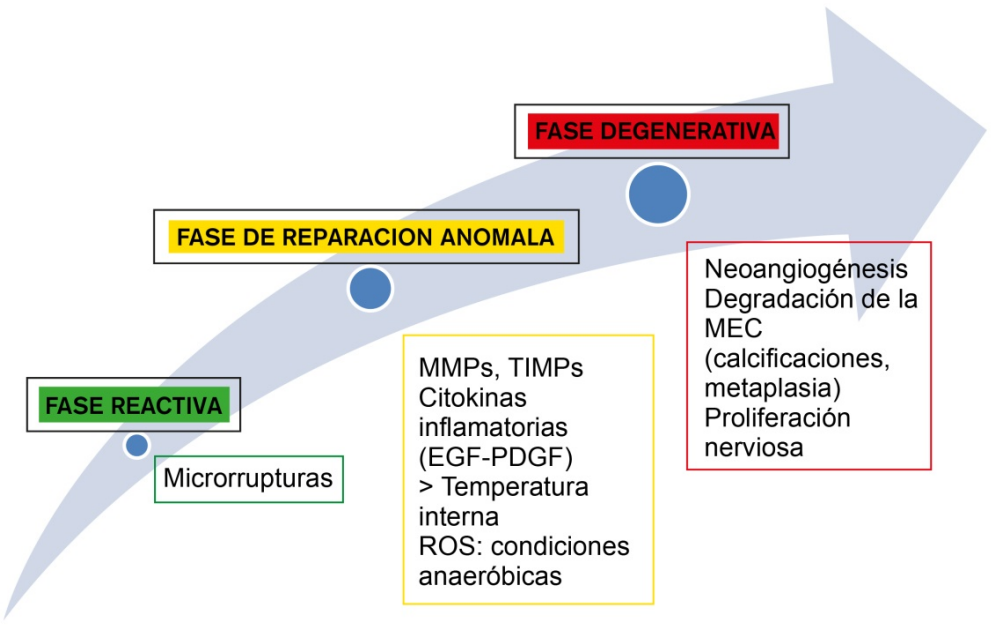


Figura 7. Esquema que refleja hipótesis clínica del origen de las tendinopatías (modificada de Abate et al., 2009).

En una actualización posterior de esta teoría, la patología tendinosa se considera como un proceso continuo, en el que, se distinguen 3 fases entrelazadas, que son: la tendinopatía reactiva, la reparación tendinosa anómala (curación fallida) y la tendinopatía degenerativa. La suma o resta de carga, es el principal estímulo que lleva al tendón hacia delante o hacia atrás, en ese espectro continuo, sobre todo en las fases iniciales.

1) Tendinopatía reactiva:

Es una respuesta proliferativa no inflamatoria en las células y en la matriz, que ocurre en la sobrecarga de tensión o compresión aguda. Esto resulta en una adaptación a corto plazo a la sobrecarga, con un engrosamiento relativamente homogéneo de una porción del tendón, que aumenta la rigidez y reducirá el estrés (fuerza/unidad de área) incrementando el área seccional, o permitirá una adaptación a corto plazo, en el caso de la compresión aguda. Esto difiere de la adaptación que el tendón normal experimenta en las cargas tensionales agudas y crónicas, que estimulan la remodelación de colágeno, para soportarlas con su rigidez, con pocos cambios en su grosor [Magnusson SP, 2008, Kjaer M, 2009]. Desde el punto de vista histopatológico, las células tendinosas adoptan una morfología más condroide, con más organelas, que fabrican más proteínas, sobre todo grandes proteoglicanos, que resultan en cambios en la matriz, relacionados

con una mayor proporción de agua asociada a estos proteoglicanos. No asocia cambios en las estructuras neurovasculares [Scott A, 2007].

Estos cambios iniciales vistos en la tendinopatía reactiva, pueden ocurrir porque se precisa una rápida adaptación, mientras se configuran los cambios a largo plazo, tanto en la estructura como en las propiedades mecánicas, lo que constituirá la verdadera adaptación. El tendón tiene el potencial de volver a la normalidad si la sobrecarga no es excesiva o si hay suficiente tiempo de recuperación entre las sesiones de carga.

Estos cambios, se pueden evidenciar con técnicas de imagen como la ecografía o la resonancia magnética (RM). La ecografía revelará la existencia de un engrosamiento fusiforme y una hipoecogenicidad del tendón. La RM muestra un engrosamiento con incremento de señal en secuencias T2. Estas alteraciones en la ecotextura o señal del tendón se derivarán del incremento de agua descrito entre los proteoglicanos.

Desde el punto de vista clínico, la tendinopatía reactiva se ve con mayor frecuencia en personas jóvenes tras una sobrecarga aguda, como en atletas. Y también en personas crónicamente habituadas a un bajo nivel de carga, lo que las hace más vulnerables a este tipo de tendinopatía reactiva tras someterse a cargas moderadas. O bien tras traumatismo directo (Aquiles, patelar y tendones del codo).

2) Tendinopatía con reparación anómala:

Describe un intento de curación, similar a la tendinopatía reactiva, pero con mayor desorganización de la matriz. Hay un incremento generalizado en el número de células, principalmente condrocíticas y algún mioblasto, que resultan en un incremento marcado de la producción de proteínas (proteoglicanos y colágeno), lo que acaba produciendo una mayor desorganización de la matriz. Estos cambios pueden ser más focales. Hay un incremento en la vascularización y de la inervación asociada [Danielson P, 2006].

Desde el punto de vista de imagen los tendones los veremos inflamados. En ecografía podemos apreciar alguna pequeña discontinuidad en las fibras, como pequeños focos anecogénicos. Con modo Doppler Color, detectaremos vasos dentro de los tendones, habitualmente indetectables en tendón normal. La RM detectará cambios similares a los de la tendinopatía reactiva.

Desde el punto de vista clínico se ha descrito principalmente tras sobrecarga crónica en jóvenes. Puede ser difícil de detectar, jugando las pruebas de imagen un papel fundamental. Sigue siendo reversible con el adecuado manejo de las cargas y con ejercicio para estimular la estructura de la matriz [Ohberg L, 2004].

3) Tendinopatía degenerativa:

Existe una progresión tanto en la matriz como en los cambios celulares [Kraushaar B, 1999]. Aparecen áreas de células muertas, por apoptosis, trauma o tenocitos exhaustos [Lian O, 2007]. Así mismo aparecen grandes áreas de matriz desorganizada, llena de vasos, productos derivados de la degradación de esta matriz y poco colágeno. Se ha perdido la reversibilidad de los cambios. Se ha incrementado la heterogeneidad de la matriz de estos tendones con presencia de islotes patológicos entremezclados con otros normales o en los otros estadios.

Desde el punto de vista de imagen, en ecografía veremos áreas hipoecogénicas con pérdida de la estructura fibrilar, con numerosos vasos en modo Doppler Color. Y en RM veremos un engrosamiento con hiperintensidad en secuencias T2, de forma más focal que difusa. Clínicamente lo veremos principalmente en personas mayores, pero también en atletas o personas jóvenes con sobrecarga crónica. Habitualmente los pacientes experimentan episodios recurrentes de dolor, que se resuelven pero a menudo vuelven, al repetir las situaciones de sobrecarga. La tendinopatía degenerativa, si es suficientemente extensa, o si el tendón es sometido a una gran carga, puede romperse (hasta el 97% de los tendones que se rompen tienen cambios degenerativos [Nehrer S, 1997; Kannus P, 1991].

El examen histológico de las tendinopatías degenerativas, revela una curación desordenada, con ausencia de células inflamatorias; una pobre respuesta curativa, con una degeneración no inflamatoria del colágeno intratendinoso y una disminución en la cantidad total del mismo; adelgazamiento y desorientación de las fibras, que pierden su orientación paralela; hipercelularidad, hipervascularización dispersa y aumento de la sustancia mucosa del tendón, con mayores concentraciones de proteoglicanos [Jozsa LG, 1997; Khan KM, 1998; Movin T, 1997; Astrom M, 1995]. En las zonas con microrroturas encontraremos eritrocitos, fibrina y fibronectina.

También evidenciaremos un aumento del colágeno tipo III, en detrimento del tipo I, al que habitualmente asociamos con mecanismos de reparación. El metabolismo de los tenocitos se verá incrementado. Acorde a esto, se ha observado un aumento de la expresión de los genes de colágeno III, así como un aumento de la expresión de metaloproteinasas (MMPs) y ciertas citoquinas pro-inflamatorias, como respuesta del tejido a la lesión.

Ocasionalmente podremos observar calcificaciones, fibrocartílago o metaplasias óseas [Abate N, 2009; Xu Y, 2008].

En las roturas tendinosas espontáneas, se observan cambios histopatológicos similares, pero no se observa hipercelularidad, sino aumento de la

apoptosis y necrosis, y tampoco se incrementa la vascularización [Xu Y, 2008; Jafari L, 2015)].

El dolor

El dolor puede aparecer en cualquier punto de este modelo patológico continuo, lo que soporta la conocida disociación entre dolor y patología, en la tendinopatía. Incluso tendones aparentemente normales por imagen pueden ser dolorosos [Malliaras P, 2006], y por el contrario dos tercios de los tendones con suficientes cambios degenerativos como para romperse, se ha reportado que están libres de dolor antes de romperse [Kannus P, 1991]. La fuente del dolor se ha asociado con un crecimiento interno neurovascular [Alfredson H, 2005], que según este modelo patológico, acontece en las fase de reparación anómala tardía, y en la fase degenerativa (**Fig. 8**).

Sin embargo, la idea de que los tendones puedan doler o no, a lo largo de las 3 fases, sugiere la existencia de otro modelo o bien una causa suplementaria del dolor que hasta ahora desconocemos. También se ha descrito la presencia de sustancias bioquímicas estimuladas por la sobrecarga (compresión o tensión), y/o actuando sobre nervios sensitivo presentes en la matriz. La producción de sustancias por las células, como las catecolaminas, acetilcolina y glutamato, actuando sobre sus receptores, que permite una señalización autocrina y paracrina [Danielson P, 2006]. Esto puede explicar la presencia de dolor en las fases iniciales celularmente activas de este modelo: reactiva y de reparación anómala.

El dolor constituye la característica clínica, que por sí sola, el clínico más busca resolver, y la respuesta al dolor de los tratamientos es el indicador clave del éxito terapéutico. Si los niveles de dolor y respuesta a la carga son abordados en función del estadio de la patología, y los tratamientos se adaptan a estos cambios, los resultados mejorarán.

El dolor tendinopático está inducido por la carga y tiene 2 características clave: es dosis dependiente en relación a una carga o a la carga acumulada, y está bien localizado en el tendón o la entesis afecta. Incrementos en la carga del tendón normalmente ocasionan incrementos del dolor.

Durante la valoración del paciente, el tendón deberá ser provocado con cargas tensionales de función normal, para evaluar cuál es el umbral de dolor concreto de ese paciente. El dolor debe ser valorado en el contexto del estadio y localización de la patología: un tendón extensamente degenerado con poco dolor, puede tener insuficiente integridad como para aguantar elevadas cargas, con el consiguiente riesgo de rotura. Por el contrario, una tendinopatía proliferativa es más reactiva y por tanto más dolorosa, por lo que la valoración precisa ser más

conservadora en cuanto a la valoración de carga. En este sentido la ecografía nos ayudará a catalogar el diferente estadio que puede estar pasando un determinado tendón en un paciente concreto, independientemente del grado de dolor, y así ajustar las recomendaciones terapéuticas.

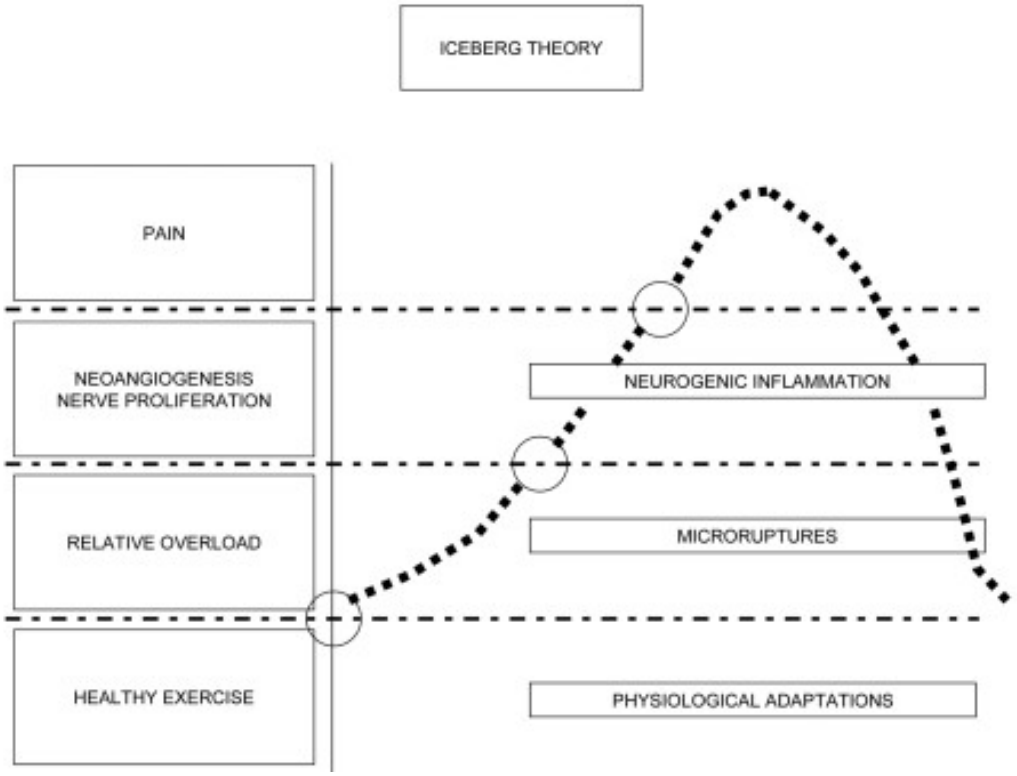


Figura 8. Esquema de la generación del dolor en las tendinopatías, según la teoría del iceberg (Abate M, 2009).

iii. Hipotesis biologicas

Se hipotetiza que las tendinopatías son consecuencia de la falta de recursos endógenos de los tendones para autorepararse.

Dado que las intervenciones biológicas como el PRP buscan suplir estas limitaciones, primero describiremos las fases fisiológicas de la reparación tisular (comunes a todos los tejidos) para describir más tarde, en las tendinopatías, qué fases quedan estancadas sin progresar hacia la siguiente fase

1) Fases biológicas de reparación tisular

1) una *fase inflamatoria aguda inicial*, que incluye toda una cascada, por un lado de moléculas proinflamatorias, y por otro lado de células, eritrocitos y células

inflamatorias, principalmente neutrófilos, y macrófagos. En las primeras 24 horas, monocitos y macrófagos predominan, y ocurre la fagocitosis del material necrótico. Dependiendo del microambiente tisular, es decir de las señales moleculares presentes en un determinado lugar, los macrófagos se polarizan hacia un fenotipo con funciones más inflamatorias y destructiva (M1), o hacia un fenotipo más "pro-regenerativo" (M2). En esta fase se encuentra más polarizado a fenotipo M1, con capacidad destructiva, biocida e inmunogénica [Schwartz YSh, 2012] y secreta moléculas proinflamatorias, vasoactivas y quimiotácticas, que incrementan la permeabilidad vascular, inician la angiogénesis, estimulan la proliferación de tenocitos y el reclutamiento de más células inflamatorias [Murphy PG, 1994]. Los tenocitos migran gradualmente a la zona dañada e inician la síntesis de colágeno tipo III [Oakes BW, 2003]. Esta inflamación inicial es determinante en el éxito de la curación, y su manipulación potencialmente puede mejorar las posibilidades de alcanzarla.

2) Esta *fase* es seguida por otra *proliferativa* o de reconstrucción que comienza a los 3-4 días de la lesión, y que consta de una migración celular extrínseca (fibroblastos de tejidos circundantes y células circulantes de los vasos), y de una proliferación celular intrínseca de los tenocitos. Todo este proceso requerirá una angiogénesis, que aumente el aporte de oxígeno y nutrientes a estas células hipermetabólicas, que producirán colágeno, proteoglicanos y otros componentes de la matriz extracelular, fundamentales, para que el tendón reparado mantenga sus propiedades mecánicas, y así le permitan su normal función. La síntesis de colágeno tipo III alcanza su pico y dura unas pocas semanas [Oakes BW, 2003]. Los macrófagos cambian a fenotipo M2, que secreta factores de crecimiento (VEGF, FGF, PDGF) y factores pro-fibróticos (TGF-β y CTGF) [Nourissat G, 2015]. La migración celular y la proliferación son dos procesos que se solapan durante la reparación tisular. La fase proliferativa comienza con la fabricación de una matriz de fibrina, fibronectina, glucosaminoglicanos y ácido hialurónico, que contiene el secretoma plaquetario, además de macrófagos, que segregan citoquinas como el PDGF, que estimulan la migración celular a la lesión. Esta matriz actúa como un "andamio" provisional a donde las células migran. Las células involucradas pueden tener un origen intrínseco, en el propio tejido, o extrínseco, provenientes de tejidos circundantes, aunque el papel de cada una de ellas no es bien conocido. Las células intrínsecas son los tenocitos, o fibroblastos del tendón, que se encuentran entre las fibras de colágeno y migran dentro de la matriz extracelular, conectando sus integrinas de membrana a secuencias de fibronectina, vitronectina y fibrina. Proliferan entre los 3-5 días de la producción de la lesión, en respuesta a citoquinas y factores de crecimiento. En la lesión producen colágeno, proteoglicanos y otros

componentes de la matriz extracelular. Las células extrínsecas proceden del tejido conectivo circundante de los fascículos tendinosos y de los vasos sanguíneos que irrigan al tendón. Incluyen fibroblastos de las capas externas del tendón, y células mesenquimales, bien circulantes del torrente sanguíneo, bien residentes en los nichos del propio tendón, que se activan en respuesta a las señales inflamatorias procedentes de la lesión. Se cree que estas células extrínsecas son las primeras en responder tras la lesión, produciendo citoquinas y factores de crecimiento que activan el resto de poblaciones celulares. Por el contrario, los fibroblastos intrínsecos parece que son los responsables de la producción de colágeno tipo I y otros componentes de la matriz extracelular [Nourissat G, 2015].

También han sido identificadas en el nicho tendinoso las células madre residentes (Tendon Stem Cells), descritas por primera vez por Bi et al. [Bi Y, 2007]. Estas células presentan potencial de diferenciación a distintos linajes celulares (adiposo, óseo, cartilaginoso), además de expresar genes propios del tendón. Actualmente, aunque han sido caracterizadas e identificadas tanto en los fascículos (peri-tendón) como en el propio tendón, se tiene poca información tanto sobre su función y participación en la curación, como sobre su relación con los fibroblastos del tendón [Dyment NA, 2015]. El conocimiento de todas estas células intrínsecas es fundamental, para desarrollar dianas terapéutica y de este modo potenciar los mecanismos de curación.

La angiogénesis es un proceso crucial para la regeneración del tendón, su puesta en marcha responde a un mecanismo multimolecular complejo, muy difícil de manipular con fines terapéuticos. La estimulación de VEGF en estadios iniciales del proceso reparativo podría ser una herramienta útil en la ayuda a la curación de la lesión, aunque no interesa una excesiva vascularización en la fase de remodelación de la matriz extracelular, por lo que debemos controlar tanto el inicio como el proceso de retracción de vasos.

3) La última *fase* de la curación es la *remodelación y* la *cicatrización*, de manera que el tejido reparado sea lo más parecido posible al original. Esta fase está controlada a nivel molecular por los tenocitos, que progresivamente van reduciendo su actividad. La acumulación de colágeno es máxima a las 2-3 semanas tras la lesión. En la transición a la remodelación, se va dando un equilibrio entre la síntesis, la deposición y la degradación de proteínas de la matriz, así como un descenso de la celularidad, en la actividad metabólica y el contenido de agua del tejido. Tanto este cambio en la celularidad como la organización del colágeno, confieren al tejido mayor fuerza y resistencia a la tensión. Esta fase puede dividirse en dos estadios: el de consolidación y el de maduración. En el primero, el tejido cambia de celular a fibrilar, con una elevada actividad de los tenocitos para

producir colágeno tipo I, y una alineación de las células y fibras, acorde a las fuerzas de tensión y tracción [Sharma P, 2006]. Desde las 10 semanas hasta el año de la lesión, dependiendo de la magnitud de la lesión, se produce la fase de maduración, en la que el tejido fibroso en sustituido por tejido tendinoso cicatrizado, en la que disminuye la actividad de los tenocitos y la vascularización. La cantidad de colágeno tipo 3 disminuye, para aumentar la de colágeno tipo 1, alcanzando la proporción normal en tejido sano de 4:1. Además las fibras de colágeno se entrecruzan por el efecto de la lisil oxidasa segregada por los fibroblastos, junto al efecto de las fuerzas mecánicas sobre la cicatriz.

Todos estos procesos se producen debido a un mecanismo bioquímico específico desarrollado por citoquinas y mediadores moleculares, y su duración va a depender de dichos factores. Los errores y fallos en cualquiera de estas fases, conllevarán a una inflamación crónica y a un tejido cicatrizado débil funcionalmente incompetente.

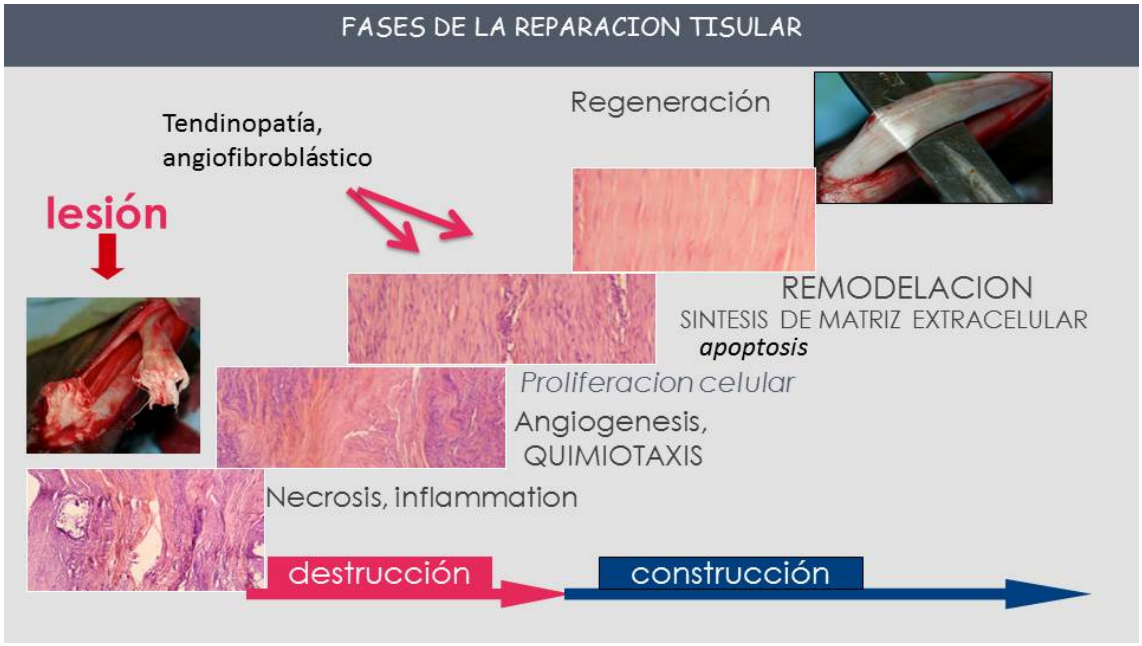


Figura 9. Fases fisiológicas de reparación tendinosa (Anitua E et al., Trends Biotechnol. 2006)

2) Reparación fallida

Los mecanismos de reparación ineficaces se atribuyen principalmente a

i. Fallo en la resolución de la inflamación
ii. Estatus vascular anómalo
iii. Alteraciones en la comunicación celular paracrina
iv. Disminución de la capacidad regenerativa de las células madre
v. Regulación anómala de la síntesis y remodelación de la MEC

Los factores que pueden contribuir a un fallo de la curación, pueden ser tanto locales como sistémicos. Los primeros incluyen una viabilidad celular reducida, el hematoma poslesional y su mala reabsorción, el aporte sanguíneo insuficiente, la atrofia del tejido, las infecciones y el stress mecánico repetitivo. Los segundos incluyen la edad, la salud general del paciente, toma de medicamentos.

Se han identificado al menos cinco mecanismos que ocasionan una curación defectuosa, íntimamente relacionados:

i. Fallo en la resolución de la inflamación:

Al igual que es imprescindible una fase inflamatoria inicial para alcanzar la curación, también lo es su correcta progresión y ulterior resolución, para que ese proceso no acabe en una enfermedad inflamatoria crónica [Dakin SG, 2015; Andía I, 2015; Millar NL, 2010; Zhou Z, 2010]. En los tejidos sanos existen múltiples proteínas y lípidos derivados de células mieloides y estromales que promueven la resolución de la inflamación. El mantenimiento de la inflamación en algunos tendones lesionados puede producir una enfermedad inflamatoria crónica [Millar NL, 2010]. Los tendones lesionados presentan células mieloides CD14+ y CD68+ [Behzad H, 2013]. En los estadios temprano o avanzados de la enfermedad existen diferentes patrones en la expresión de moléculas inflamatorias [Dakin SG, 2015]. La infiltración inicial de neutrófilos surge probablemente como consecuencia de la síntesis de IL-8 por células locales, y facilita el reclutamiento de monocitos/macrófagos. La infiltración de monocitos, también es estimulada por la síntesis local de MCP-1 y RANTES, en respuesta a la IL-1β, presente en el medio del tendón [Andía I, 2015]. Los macrófagos, se categorizan convencionalmente en M1 y M2, existiendo en un espectro de estados, que depende del ambiente, y juegan un papel importante en determinar si el tejido está en una fase proinflamatoria (Activación M1) o si por el contrario mediante la activación M2 camina hacia la resolución de la inflamación. La detención de la infiltración de leucocitos y la

activación de la polarización de los macrófagos a fenotipo M2, promueve la reducción de moléculas proinflamatorias y de este modo la homeostasis tisular. Algunas vías de señalización proinflamatoria como la del interferón γ (IFN γ), la del factor nuclear potenciador de las cadenas ligeras kappa de las células B activadas (NF-κB) o la de los receptores de glucocorticoides, que han sido relacionadas con la polarización de macrófagos a fenotipo M2, están siendo estudiadas como posibles dianas terapéuticas, para disminuir la inflamación crónica en la tendinopatía. Si se mantienen las condiciones inflamatorias, la arquitectura y composición del tendón puede verse severamente afectada, lo que disminuye su resistencia y su funcionamiento normal, aumentando la susceptibilidad a lesiones [Dakin SG, 2015]. La inflamación subclínica en la tendinopatía puede ser desencadenada por células muertas ocasionadas en la microlesión. Moléculas intracelulares liberadas al espacio extracelular origina alarma y estrés tisular, y se las denomina alarminas ó DAMPs (Danger Associated Molecular Patterns) e incluyen proteínas S100, fragmentos de ácido hialurónico, ácido úrico, ácidos nucleicos y componentes mitocondriales, y son objeto de estudio emergente [Millar NL, 2012; Poo IK, 2010] .

Los DAMPS desencadenan la migración y activación de células inmunes innatas. Monocitos/macrófagos tienen receptores de membrana, principalmente TLRs, a los que se unen los DAMPS. Esta unión es el paso preliminar para activar varias vías intracelulares, incluida la señalización NF-kB, y la consiguiente síntesis y liberación de citoquinas inflamatorias como el IL-1β [Krysko DV, 2006]. La subsecuente desregulación de moléculas clave proinflamatorias (IL-1β, TNF-a) puede prolongar la fase inflamatoria, y retrasar la curación. Además, este mecanismo repercute sobre la homeostasis de la MEC (otra característica de la no-reparación de los tejidos), porque las células activadas por NF-kB, pueden estar involucradas en el daño de la MEC, mediado por MMPs [Andía I, 2013]. Inflamación y remodelación ocurren rápidamente tras la sobrecarga tendinosa [Spiesz EM, 2015].

La complejidad de su carácter multimolecular y multicelular, hace difícil su abordaje terapéutico.

ii.Estatus vascular anómalo:

Uno de los signos típicos de tendinopatía en ecografía Doppler es el incremento del número de vasos sanguíneos [Andía I, 2015; Millar NL, 2010; Zhou Z, 2010]. En tejido sano, los vasos sanguíneos crecen por los estímulos angiogénicos provistos por las células presentes en la lesión, para proveerles de nutrientes y oxígeno para soportar su gran metabolismo y contribuir así a la resolución de la lesión. A continuación, cuando la cantidad celular y su actividad se reducen, se

produce una regresión de los vasos, promovida por un equilibrio entre los factores pro y antiangiogénicos. Se ha postulado que el aumento de la densidad de vasos nuevos en la tendinopatía va parejo a la inflamación mantenida. Además existen evidencias de que la angiogénesis va acompañada de neo-inervación, lo que provoca el dolor asociado a la tendinopatía. Se han propuesto citoquinas relacionadas con la angiogénesis, como marcadores sensibles de la degeneración tendinosa temprana. El paradigma más reciente que se propone, es que, a diferencia de otros tejidos, el tendón no puede seguir la clásica secuencia del mecanismo de curación tisular, debido a la carencia de inervación y vascularización, de modo que esta es sustituida por la capacidad secretora paracrina de los tenocitos locales, que sintetizan mediadores solubles involucrados en la migración de diferentes poblaciones de células, incluidas las células inmunes innatas y células involucradas en la angiogénesis [Andía I, Rubio-Azpeitia E, 2014; Andía I, Latorre PM, 2014]

iii.Alteraciones en la comunicación celular paracrina:

Normalmente los diferentes tejidos adyacentes, presentan una comunicación molecular entre ellos, lo que se denomina mecanismo de reciprocidad dinámica, de forma que cuando el microambiente de un tejido se ve modificado, las células de los tejidos adyacentes, localizadas a unos centímetros de la lesión, se ven afectadas por medio de una señalización celular paracrina. Esto sucede de forma combinada con la liberación de señales por células idénticas, situadas a escasos mm de la lesión (sistema autocrino). Conformando de esta manera un sistema de comunicación intercelular, mediado por una variedad de citoquinas y factores de crecimiento, cuya alteración afecta a la homeostasis del tejido. Esta es la base molecular de las acciones del PRP [Andía I, 2010]. De modo que cualquier lesión en el tejido peritendinoso o en la sinovial, afectará al tendón, y a su vez, cualquier lesión tendinosa afectará al tejido peritendinoso y la sinovial, y cualquier fallo en esta interrelación puede conllevar una mala curación. En este sentido, la tendinopatía puede ser abordada como una enfermedad de órgano entero, es decir que incluya los tejidos circundantes.

La señalización celular es compleja, y una misma señal puede ser necesaria pero no suficiente. Los factores señalizadores pueden tener acciones inhibitorias o estimulatorias sobre la división, crecimiento y diferenciación celular. Dentro de los tejidos y órganos, las señales moleculares pueden estar en la MEC. Sus efectos dependen del contexto molecular y celular. La naturaleza dinámica temporal y espacial de estos procesos, representa una oportunidad cuando tratamos de identificar los mecanismos críticos involucrados en la patología tendinosa.

iv.Disminución de la capacidad regenerativa de las células madre:

Las células madre progenitoras, tanto intrínsecas como extrínsecas, tienen un papel muy activo en la reparación tisular. Su activación, migración y proliferación puede verse afectada por muchos factores, y de esta manera ver su función comprometida. En este sentido la edad va produciendo cambios genéticos, epigenéticos, metabólicos y proliferativos, que afectan a su correcto funcionamiento. En realidad, la homeostasis del tendón está preservada por las células progenitoras del tendón, que tiene diferentes funciones [Bi Y, 2007]. Se diferencian a tenocitos, sustituyendo a las células dañadas y reconstruyen la MEC dañada. Para que se den estos procesos, las células progenitoras deben poder detectar alteraciones en la composición y organización macromolecular, y ser capaces de responder construyendo una nueva MEC.

La carga mecánica modula todas estas funciones celulares. Por ejemplo, en repuesta a un stress intenso, los tenocitos incrementan la producción de moléculas de MEC, mientras que reducen la apoptosis, proliferación y la presencia de genes relacionados con la señalización. Estos cambios conllevan una respuesta anabólica del tendón. Sin embargo los tenocitos también muestran numerosos cambios en respuesta a la sobrecarga, consistentes con una menor producción de matriz, y un incremento de la degradación por MMPs y ADAMTS [Del Buona A, 2013; Karousou E, 2010]. Es probable que la regulación anómala del recambio tisular, consecuencia de la alteración de las funciones celulares, esté involucrada en el desarrollo de la tendinopatía [Popov C, 2015].

La función de estas células en lesiones tendinosas es un mecanismo complejo, objeto de investigación, para utilizarlas de diana terapéutica para mejorar la capacidad intrínseca curativa del propio tendón o para atraer células madre de origen extrínseco que mejoren la calidad de la curación de la lesión.

v.Regulación anómala de la síntesis y remodelación de la matriz extracelular:

La fibrosis es el producto de un crecimiento desmesurado del tejido por una alteración en la composición de la MEC, lo que ocasiona un endurecimiento o la aparición de una cicatriz, por depósito excesivo de colágeno tipo I desestructurado. Se asocia con procesos inflamatorios crónicos, en los que se producen estimuladores moleculares de las células que acaban depositando una cantidad anómala de los componentes de la matriz y una alteración de su arquitectura. Su responsable es el miofibroblasto, elemento celular intermedio entre los fibroblastos y las células musculares lisas, proveniente de diferente orígenes (células endoteliales, células madre residentes y migratorias). Los miofibroblastos se activan con múltiples moléculas paracrinas, de modo que migran a la lesión

promoviendo su contracción y elaborando elementos de la MEC. El recambio y remodelación de colágeno y del resto de componentes de la MEC se regula por la activación de las MMPs y otras proteasas. Para una correcta curación, debe haber un equilibrio entre degradación y síntesis de dichos componentes. La fibrosis sucede cuando la cantidad de colágeno sintetizado excede la tasa de degradación, lo que se manifiesta como una cicatriz hipertrófica. Se han identificado gran cantidad de mediadores profibróticos, como las citoquinas (TGF-β, IL-13, IL-21, IL-6), quimiocinas (MCP-1, MIP-1β), factores de crecimiento (VEGF, PDGF) y muchos otros. Pero estas moléculas, dependiendo de su concentración, el momento en el que se encuentren y las sinergias entre ellas, tienen también efectos beneficiosos en la curación de la lesión, lo cual convierte su utilización terapéutica en un objetivo complejo.

D. TENDINOPATIAS MAS COMUNES

Los tendones más susceptibles de desarrollar tendinopatías son el tendón aquíleo y el rotuliano, en extremidad inferior, y los tendones extensores del codo (epicondilitis), flexores del codo (epitrocleitis) y del manguito rotador del hombro, en extremidad superior [Maffulli N, 2003].

i. Miembro superior

1) Epicondilopatías:

Son la epicondilitis (lateral) y la epitrocleitis o epicondilopatía medial.

i. Epicondilitis:

El dolor lateral del codo es una de las consultas médicas más frecuentes de las lesiones de codo no traumáticas. El diagnóstico más frecuente es la tendinopatía conocida como el codo de tenista o epicondilopatía lateral, descrito en 1883 por Morris [Major HP, 1883]. Sin embargo existen otras causas que pueden semejar dicha entidad como la radiculopatía cervical con dolor irradiado a codo y antebrazo, el síndrome del túnel radial o atrapamiento del nervio interóseo posterior, la plica intraarticular, la inflamación o edema del músculo ancóneo, la osteocondritis disecante, la artritis radio-humeral o la inestabilidad rotatoria posterolateral, principalmente. La epicondilitis, es muy frecuente en deportistas (afecta hasta un 50% de los tenistas), aunque estos no superan el 10% del total de

pacientes afectos, y sobre todo afecta a trabajadores manuales, principalmente entre 40-60 años, con un poco mayor frecuencia en mujeres, cuya actividad física implique movimientos repetitivos de extensión de la muñeca y supinación, sobre todo con posiciones forzadas, no neutras de la muñeca [Calfee RP, 2008]. Tiene una prevalencia en la población general de 1-1,3% en varones y 1,1-4% en mujeres, sin embargo algunas profesiones tienen una prevalencia claramente mayor, por ejemplo los cirujanos plásticos de hasta un 13,5%, los cocineros de guardería hasta 10,5% y los trabajadores de líneas de manufactura de pequeños componentes eléctricos, accesorios de coches hasta un 20%. Su incidencia aumenta con la edad, incrementándose hasta 2-3,5 veces en pacientes mayores de 40 años, tabaco, obesidad, con un historial de síndrome del túnel carpiano. Es más frecuente en codo derecho o dominante. Se ocasiona por microrroturas secundarias a sobrecarga de los tendones extensores que se insertan en el epicóndilo. De todos ellos, el más comúnmente implicado es el tendón del músculo extensor radial corto del carpo [Scott A, 2006], pero el supinador y otros extensores de la muñeca, también pueden estar involucrados. La mayoría de los pacientes aquejan dolor, justo anterior o en la superficie ósea de la mitad superior del epicóndilo lateral, habitualmente irradiando en línea con la masa muscular del extensor común. Puede ser un dolor intermitente y de bajo grado, o bien continuo y severo, que impide dormir. Típicamente se desencadena con la extensión de muñeca y dedos, y la contracción contra resistencia del músculo supinador. El dolor cede un poco si los extensores son provocados con el codo mantenido en flexión. A la exploración puede pasar desapercibido en estadios iniciales, pudiendo aparecer una prominencia sobre el epicóndilo lateral. Normalmente el rango de movilidad no está afectado, aunque en estadios avanzados se puede provocar una movilidad dolorosa con la extensión del codo con el antebrazo en pronación. Si la movilidad está limitada, se ha de descartar otras lesiones concomitantes [Orchad J, 2011]. Hay muchos test que se emplean para el examen físico de las epicondilitis: el test de Maudsley, la maniobra de Thomson [McCallum SDA, 2011], el test de disminución de la fuerza de agarre [Hsu SH, 2012] y el test de la silla [Gardner RC, 1970] (ver figura 10). Todos ellos para reproducir el dolor de la epicondilitis lateral. La mayor parte de las ocasiones el diagnóstico es clínico. Sin embargo a veces, si los síntomas clínicos no son muy bien definidos, se pueden utilizar técnicas de imagen.

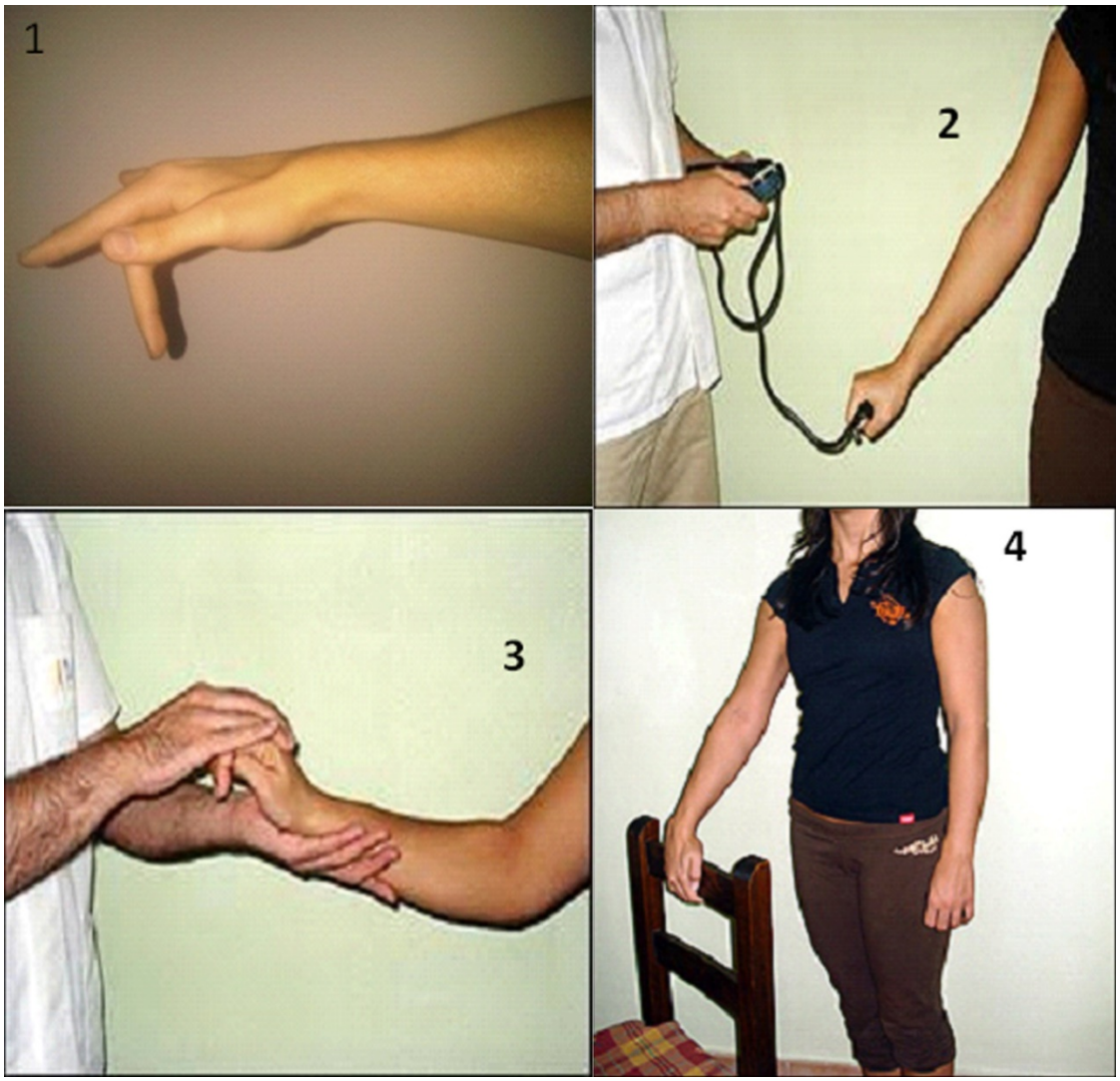


Figura 10. Test clínicos para el diagnóstico de la epicondilitis. 1. Test de Maudsley, 2. Test de Bowden o de la fuerza de agarre, 3. Test de Thomson, 4. Test de la silla (www.efisioterapia.net)

Diagnóstico ecográfico: La ecografía es la más utilizada, y con ella podremos detectar alteraciones estructurales en la inserción tendinosa de los extensores (engrosamiento o adelgazamiento, hipoecogenicidad, roturas tendinosas), integridad del ligamento colateral radial, irregularidades óseas, entesofito, calcificaciones. También la neovascularización poder ser explorada con modo Doppler Color. La ausencia de estos hallazgos nos puede ayudar a excluir la epicondilitis lateral, con una sensibilidad y especificidad del 72-88% y 36-48,5%, respectivamente [Levin D, 2005]. Estudios sobre el valor diagnóstico de la ecografía en la epicondilopatía lateral, han indicado que la hipoecogenicidad del origen del extensor común, tiene la mejor combinación de sensibilidad y especificidad (Dones VC, 2014), mientras que la neovascularización en la entesis y la irregularidad

cortical tienen la mayor especificidad. Además la evaluación del grosor puede ayudar a evaluar las adaptaciones estructurales (Teggeler M, 2015). Por otro lado la ecografía nos ayudará a detectar roturas parciales o completas de inserción tendinosa de los extensores, que inclinaría la balanza hacia tratamiento quirúrgico. La ecografía para la detección de roturas tendinosas tiene una sensibilidad de 64,52%, especificidad de 85,19% [Bachta A, 2017]. La MRI es una técnica más reproducible y con menor variabilidad interobservador, aportando más información en el resto de diagnóstico diferencial (patología ósea y articular), sobre todo en los casos en los que la ecografía descarta una epicondilitis o bien cuando la ecografía diagnostica una rotura tendinosa y se plantea tratamiento quirúrgico. Es más cara y no se correlaciona muy bien con la sintomatología clínica.

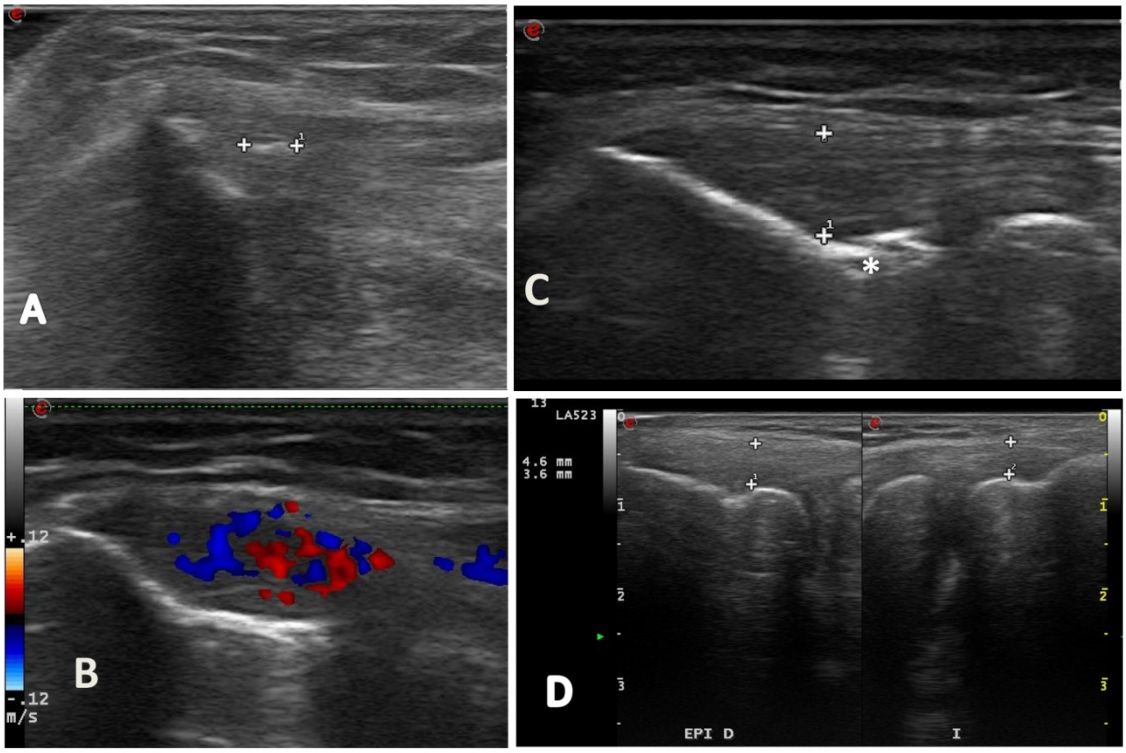


Figura 11. Diagnóstico ecográfico de epicondilitis: A. calcificación intratendinosa B. neoangiogénesis intratendinosa C. *Irregularidad cortical e hipoecogenicidad del tendón (entre cursores) D. engrosamiento respecto a contralateral.

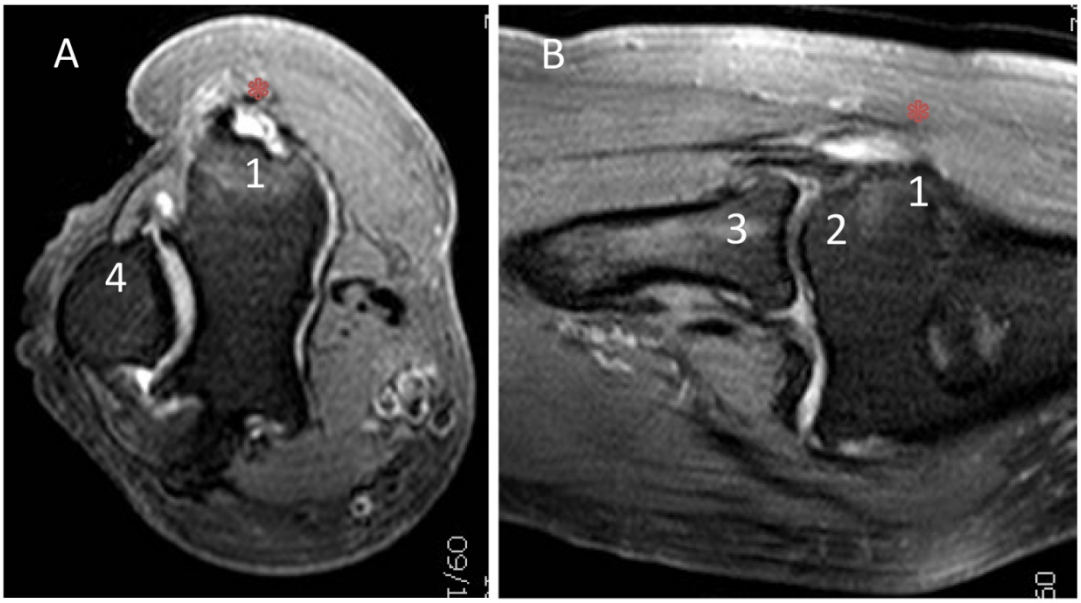


Figura 12. Diagnóstico RM de epicondilitis, consistente en extensa rotura parcial intrasustancia de los extensores (*), en secuencias SPIR axial (A) y coronal (B). 1 epicóndilo, 2 cóndilo humeral, 3 cabeza radial, 4 olécranon.

Recientemente han surgido nuevas técnicas de imagen que tratan de restar subjetividad en la interpretación de los hallazgos tanto ecográficos como de RM, como la valoración de la ecotextura del tendón, cantidad de agua ligada por RM, volumen de la microvasculatura por ecografía Doppler Color [Bashford GR, 2008; Grosse U, 2013; Pingel J, 2013]. Una de estas técnicas es la caracterización tisular por ultrasonidos (UTC), que utiliza la ecografía convencional para semicuantificar la estructura tendinosa [van Schie HT, 2010], de forma que permite establecer 4 categorías de ecotextura que se correlacionen con el grado de homogeneidad estructural, con la proporción relativa de cada tipo de ecotextura respecto al volumen del tendón.

Otras técnicas como la radiografía simple o la artro-TC, también están más indicadas cuando queremos descartar otras etiologías.

ii.Epitrocleitis:

También conocido como codo de golfista o epicondilopatía medial. Es menos común y se caracteriza por dolor en la vertiente interna del codo, donde se insertan los músculos flexores en la epitróclea o epicóndilo medial del húmero. Se presenta habitualmente en determinados deportistas (jugadores de béisbol, golfistas y lanzadores de jabalina) [Maffulli N, 2003] y en trabajadores manuales. Su prevalencia en la población general es del 0,3-0,6% en varones, y 0,3-1% en mujeres, con una incidencia del 0,1%. Frecuentemente se asocia a epicondilitis

lateral. Se suele deber a una sobrecarga de los músculos flexores de muñeca y dedos, y en particular el pronador redondo y el flexor radial del carpo. Hasta en un 50% coexiste con patología del nervio cubital [Gabel GT, 1995]. El examen clínico revelará típicamente un dolor selectivo en vertiente anterior y medial del epicóndilo medial, y se exacerbará con la contracción activa de los flexores de muñeca y dedos, y con la pronación del antebrazo, puesto de manifiesto con los test de la epitrocleitis, la maniobra de Cozen invertida, entre otros. (Ver figura 13).

En los casos en los que hay dudas en el diagnóstico se recurre a técnicas de imagen, la ideal, la ecografía.

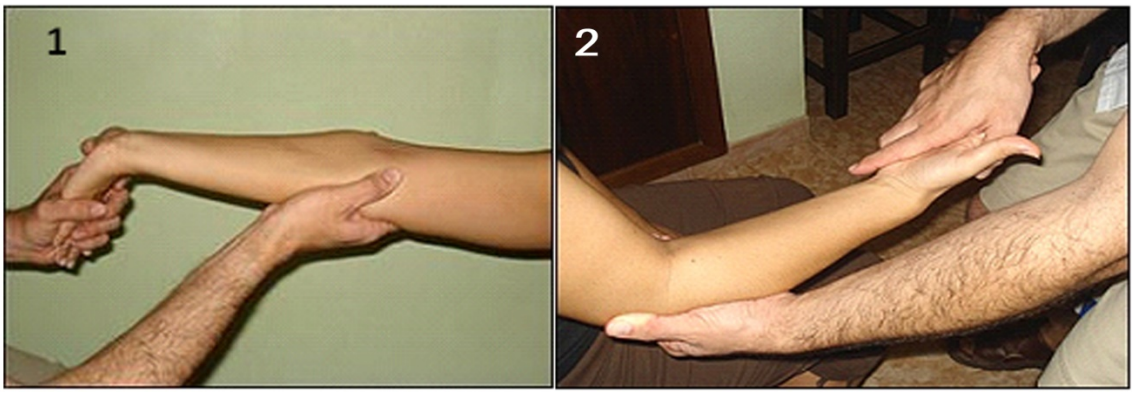


Figura 13. Test clínicos para el diagnóstico de epitrocleitis. 1. Test de la epitrocleitis, 2. Maniobra de Cozen invertida. (www.efisioterapia.net)

Diagnóstico ecográfico: Desde el punto de vista ecográfico en imágenes coronales podremos observar la inserción de los flexores en el epicóndilo medial, con forma de pico de loro, con un recorrido corto desde la unión musculo-tendinosa a la entesis, prestando atención a su grosor y ecotextura, respectivamente aumentado, e hipoecogénico de forma focal u homogénea en la epitrocleitis. Podremos encontrar calcificaciones intratendinosas, entesofito, y en modo Doppler color será típica la presencia de vasos intratendinosos, imperceptibles en el tendón normal. Recurriremos a la Resonancia Magnética cuando persistan dudas, sobre todo en lo referente a la afectación o no del nervio cubital, el cual en caso de neuritis compresiva, mostrará un incremento de señal en las secuencias T2 y STIR; así como para demostrar presencia o no de lesión ósea asociada, dado que el edema de médula ósea que a veces acompaña a las epitrocleitis, es detectado con mucha sensibilidad en las secuencias STIR de RM. Los hallazgos de tendinopatía de los flexores serán los típicos de engrosamiento e hiperseñal en esas mismas secuencias.

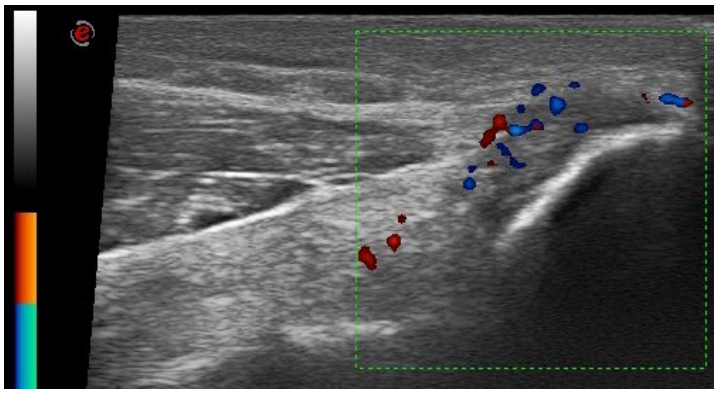


Figura 14. Diagnóstico ecográfico de epitrocleitis: imagen coronal de la inserción de los flexores en epitróclea, con engrosamiento e hipoecogenicidad de los mismos, junto a neovascularización profusa intratendinosa.

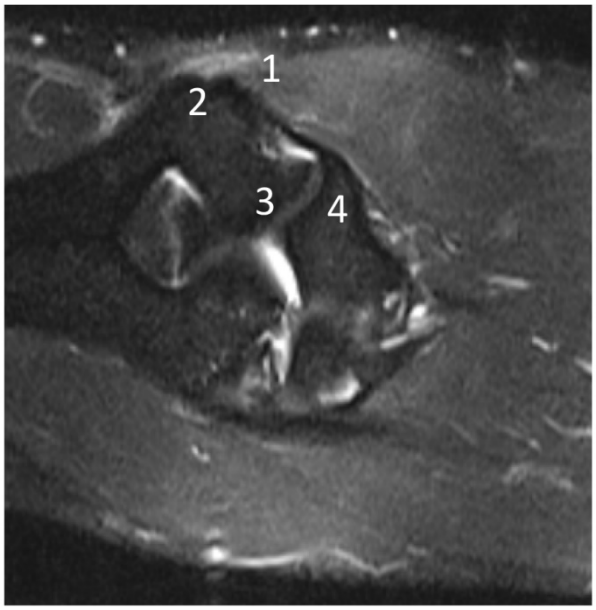


Figura 15. Diagnóstico RM de epitrocleitis. Imagen de RM, secuencia STIR coronal, diagnóstica de entesitis de los flexores. (1: inserción tendinosa de los flexores; 2: epitróclea humeral; 3: tróclea humeral; 4: epífisis cubital).

2) Tendinopatía del manguito rotador:

Describe la afectación de los diferentes tendones del manguito rotador, el más frecuente el del supraespinoso, seguido del infraespinoso y subescapular, y de manera mucho más infrecuente el redondo menor. El tendón del supraespinoso pasa por el arco coracoacromial, entre la cabeza humeral y el ligamento coracoacromial, el acromion y la articulación acromioclavicular. El estrechamiento de este arco, por picos proliferativos asociados a una artropatía degenerativa

acromioclavicular, ó la presencia de una acromion tipo III, ocasionan un atrapamiento con la consecuente fricción reiterativa del tendón, sobre todo en el "área crítica" o vertiente anterior del mismo, que ocasiona tendinopatía ó rotura del mismo a ese nivel. Los desgarros postraumáticos suelen ocurrir en la unión osteotendinosa del tendón del supraespinoso al troquíter, mientras que el microtraumatismo reiterado en deportistas puede ocasionar un síndrome de pinzamiento glenoideo postero-superior que ocasiona roturas de localización más posterior, en la zona de confluencia del supra e infraespinoso [Hodgson R, 2012; Kim HM, 2010]. Recientemente se han visto evidencias de que la mayoría de los desgarros tendinosos acontecen sobre tendones con cambios degenerativos intrínsecos [Vía AG, 2013]. Las roturas de espesor parcial son más frecuentes que las de grosor completo, y las roturas parciales asientan sobre todo en la superficie articular, más que en la bursal o intrasustancia.

ii. Miembro inferior

Las más frecuentes son la tendinopatía glútea, patelar y aquílea.

1) Tendinopatía glútea:

Involucra a los tendones del glúteo menor y medio, que se insertan en el trocánter mayor. Ambos tendones pueden estar implicados en el síndrome clínico de la trocanteritis, que puede semejar otras etiologías como la necrosis avascular y la fractura de estrés [Westacott DJ, 2011; Lequesne M, 2008]. Habitualmente se asocia a cambios edematósos o líquido en la bursa trocantérea y de forma más improbable en bursas subglútea menor y media.

2) Tendinopatía patelar:

También conocida como rodilla del saltador (*jumper knee*). Se presenta como dolor anterior de rodilla relacionado con la actividad, y afecta principalmente a individuos jóvenes activos. Es prevalente (30-45%) en deportes que requieren salto (vóley, baloncesto). Involucra al tendón rotuliano, pudiéndose ubicar en fibras profundas, mediales o centrales, habitualmente cerca de su inserción patelar. Se asocia a inestabilidad y sobreuso, principalmente a deportista saltadores (baloncesto y voleibol) [Lian OB, 2005]. Aunque la sospecha diagnóstica viene dada por la clínica y exploración, la ecografía y ocasionalmente la RM, confirman el diagnóstico. La terapia física con un programa de ejercicios excéntrico, es la base del tratamiento. La terapia con PRP ha demostrado resultados mixtos. En los casos

rebeldes al tratamiento conservador, la cirugía ha demostrado buenos resultados [Schwartz A, 2015].

3) Tendinopatía aquílea:

El tendón aquíleo se origina de la unión del músculo sóleo con los gemelos interno y externo. Es una de las lesiones por sobreuso, más frecuentes en tobillo y pie, viéndose sobre todo en corredores y saltadores. Hay dos tipos en función de la localización anatómica: tendinopatía insercional en la unión osteotendinosa a calcáneo, habitualmente de carácter postraumático, con una frecuencia del 20-25%, y tendinopatía no insercional situada de 2 a 6 cm proximal a la inserción calcánea, más frecuente en lesiones por sobreuso, con una frecuencia del 55-65% [Pearce JP, 2016]. Ocasionalmente se pueden ver formas mixtas [Hong-Yun L, 2016].

E. TRATAMIENTOS CONSERVADORES

A fecha de hoy, no existe un régimen de tratamiento eficaz universalmente reconocido. Existen muchas opciones terapéuticas, conservadoras, con procedimientos mínimamente invasivos, para tendinopatías en estadio 1 y 2. Para aquellos pacientes con rotura tendinosa extensa o que fallan al tratamiento conservador, queda reservada la cirugía, que en el caso de las epicondilopatías está basada principalmente en la liberación o el desbridamiento del tendón extensor corto radial del carpo. Aunque todos ellos tienen como objetivos eliminar el dolor, preservar la movilidad, mejorar la fuerza y resistencia de agarre, procurar la vuelta a una función normal y controlar que no se dé un mayor deterioro clínico [Ahmad Z, 2013]. En función del estadio en el que se encuentre la lesión tendinosa, aplicaremos diferentes tipos de tratamiento.

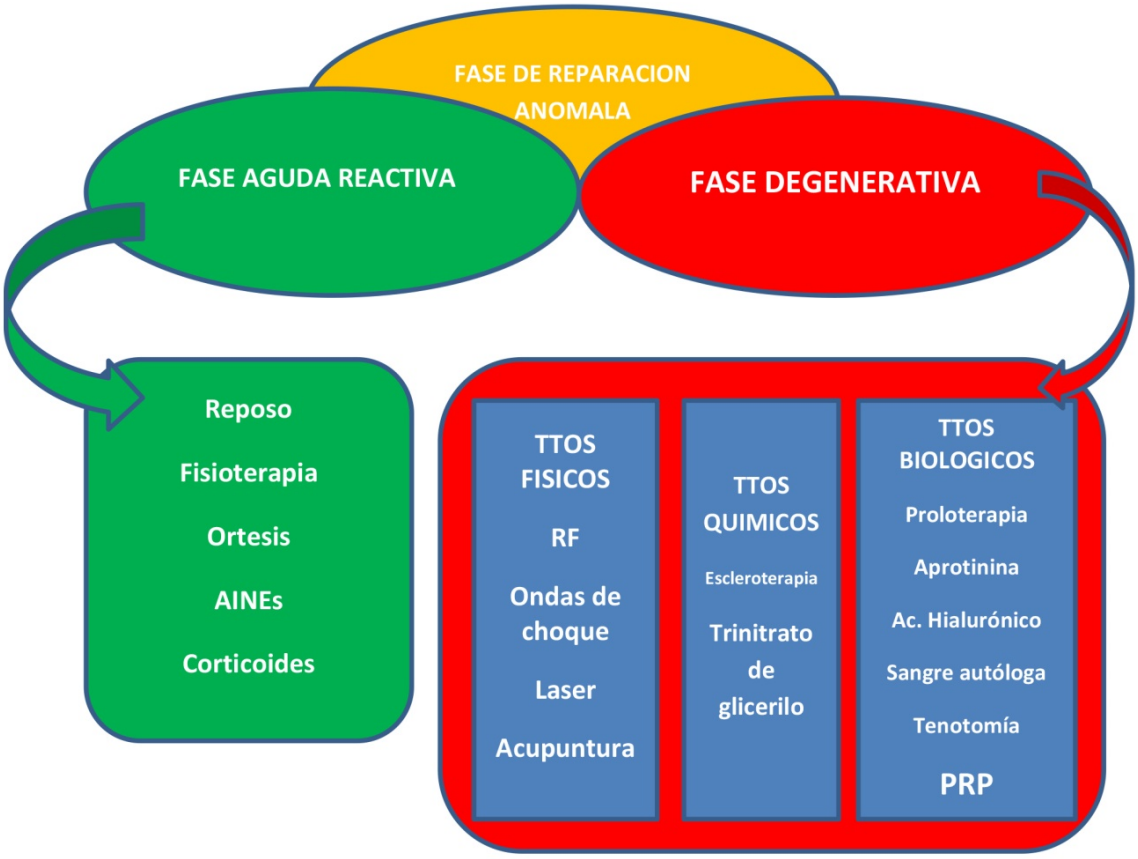


Figura 16. Plan de posibles tratamientos no quirúrgicos según el modelo continuo de progresión de la tendinopatía. En el que, como vemos, basicamente diferirán, dependiendo de si estamos en una etapa aguda ó crónica de la tendinopatía, teniendo en cuenta que en la fase de reparación anómala, los cambios, inicialmente reversibles, pueden pasar con el tiempo a ser irreversible.

i. Fase agúda

En esta fase predominan los fenómenos inflamatorios, por lo que se recurrirá a medidas conservadoras tendentes preferentemente a eliminar el dolor:

1) Reposo o actividad reducida:

Modificar o evitar las actividades que desencadenen el dolor.

2) Fisioterapia

Algunos estudios han reportado mejores resultados que con el reposo o actividad reducida [Hoogvliet P, 2013]. El principio fundamental es cargar el tendón tan próximo como se pueda a su límite, sin sobrepasarlo. Los ejercicios excéntricos y de carga parcial favorecen la curación, y son los pilares de todos los regímenes de

fisioterapia. Este efecto lo pueden conseguir mediante la activación de respuestas celulares encaminadas a la reposición de la matriz extracelular, contribuyendo con ello a mejorar la arquitectura fibrilar del tendón y a su curación.

3) Ortesis:

son muchos los dispositivos externos utilizados en ortopedia y rehabilitación para corregir posiciones anómalas o reducir la carga tensional de tendones dañados, y así mejorar la movilidad y reducir el dolor. Los refuerzos epicondilares de contrafuerza (abrazaderas), reducen la tensión en los extensores de la muñeca, calzas en el calzado en la tendinopatía aquílea, reducen la tensión del tendón aquíleo, el vendaje neuromuscular tipo kinesiotaping, muy en boga en los últimos tiempos, refuerza el tendón afecto, por lo que manteniendo parte de su actividad favorece una mejor curación.

4) AINEs

Una pauta de 10 -14 días de antinflamatorios no esteroideos (AINEs) pueden ser útiles a corto plazo para aliviar el dolor, y de esta manera reanudar lo antes posible la actividad, aunque sea limitada [Pattanittum P, 2013]. Sin embargo su uso es controvertido porque no está claro si evitar esa primera fase inflamatoria de la lesión tendinosa, va a entorpecer el resto del proceso reparativo [Rees JD, 2006]. Además su utilización podría tener un efecto no deseado sobre la degradación de las fibrillas y la pérdida de fuerza tensil a largo plazo. Un estudio multicéntrico, randomizado, a doble ciego, comparando diclofenaco frente a placebo en epicondilitis lateral, mostró una reducción significativa del dolor en tablas de dolor subjetivas, a las 4 semanas del tratamiento, pero sin diferencias en las escalas funcionales o de fuerza prensil. Además el dolor abdominal fue más frecuente en el grupo de tratamiento, por lo que el autor concluye que no hay motivos para la prescripción rutinaria de diclofenaco basada en su perfil riesgo/beneficio [Labelle H, 1997].

5) Corticoides:

La infiltración de corticoides mezclados o no con anestésicos locales, es muy común como tratamiento de las tendinopatías rebeldes al tratamiento médico habitual con AINEs. Su fundamento de basa principalmente en la presencia de esa fase inflamatoria inicial ya descrita en la patogénesis de la tendinopatía. Debido a sus efectos antinflamatorios e inmunosupresores, suprimen la expresión génica de genes mediadores de la respuesta inflamatoria, como citoquinas, factores proinflamatorios, receptores de membrana y moléculas de adhesión. Su uso es

controvertido, y a pesar de su popularidad, no se ha justificado mediante ensayos clínicos randomizados su utilización, sus indicaciones específicas y sus efectos a largo plazo. Aunque es común una mejoría inicial (4 semanas), por otro lado puede alterar el proceso normal de curación, al limitar esa fase inflamatoria inicial, necesaria como ya se ha descrito para alcanzar una curación efectiva. Es común la aparición de recidivas recurrentes a largo plazo (6 meses), por lo que la opción de "esperar y ver" o una terapia con AINEs puede tener los mismos resultados [Andre BM, 2008]. Actualmente no existe una preparación de corticoides que haya demostrado ser mejor que otras. Se han publicado como posibles efectos adversos de su administración percutánea, la depigmentación de la piel, la atrofia grasa, la reducción de producción de colágeno, y la elevación transitoria de la glucosa en sangre en pacientes diabéticos. Por otro lado la infiltración intratendinosa inadvertida, puede conllevar rotura iatrogénica del tendón, lo que se puede evitar con la infiltración ecoguiada [Paavola M, 2002; Andre BM, 2008].

ii. Fase degenerativa

Aquellos pacientes que no hayan mejorado con las terapias conservadoras ya descritas, muy probablemente tengan una tendinopatía cuyos mecanismos de reparación han fallado y por tanto no alcanza la curación. Por tanto las terapias que se apliquen en esta fase de la enfermedad tendrán como objetivo favorecer los mecanismos reparadores intrínsecos e incluso aportar células o moléculas extrínsecas que faciliten esa reparación.

1) Intervenciones fisicas:

Serán principalmente la radiofrecuencia (RF), las ondas de choque extracorpóreas, el láser, la acupuntura.

i.Tratamiento térmico percutáneo con RF. Se introduce un electrodo de forma percutánea ecoguiada que produce una lesión térmica, que induce una microtenotomía y remueve todo el tejido patológico. Se han publicado buenos resultados [Lin C-L, 2011].

ii.Terapia con ondas de choque extracorpóreas (ECSW): su mecanismo de acción no es del todo conocido. Se aplica sobre la piel suprayacente al tendón afecto, un generador de ondas de sonido de una determinada frecuencia, con la idea de estimular la curación mediante la activación de las células, el aumento de la vascularización y la inhibición de receptores de dolor [Maffulli N, 2010]. No se ha

podido demostrar un mayor beneficio que con otras terapias [Buchbinder R, 2006]. Sin embargo su combinación con otra terapias puede ser beneficiosa, como se ha demostrado para la tendinopatía aquílea, al combinarse con entrenamiento excéntrico [Rompe JD, 2009].

iii.Terapia con láser de bajo nivel: su uso se basa en su propiedad de estimular la producción de colágeno en los tejidos. Un reciente estudio ha demostrado algún beneficio a corto plazo usando una adecuada dosis y longitud de onda [Bjordal JM, 2008].

iv.Electrolisis galvánica guiada por ecografía: es una ablación electroquímica no térmica, con un flujo catódico dirigido a los focos de tendinopatía degenerativa. Este tratamiento produce una disociación del agua, sales y aminoácidos en la matriz extracelular, que crea nuevas moléculas a través de esta inestabilidad iónica, produciendo fibras de colágeno inmaduro que llegan a ser maduras por medio de ejercicios excéntricos (Abat et al., 2018).

v.Acupuntura: ha demostrado buenos resultados a corto plazo [Trinh KV, 2004], sin embargo los resultados a largo plazo son poco claros.

2) Intervenciones quimicas:

Incluyen principalmente el tratamiento esclerosante, el trinitrato de glicerilo y la toxina botulínica.

i.Tratamiento esclerosante: se realiza con la inyección de una sustancia química irritante, principalmente el polidocanol. Sus dianas serán la neovascularización y los nervios acompañantes, con lo que consigue una reducción del dolor [Alfredson H, 2005]. Aunque a corto plazo los efectos son positivos, a largo plazo no está claro que lo sean, y podría dificultar su curación definitiva.

ii.Tratamiento con parches de trinitrato de glicerilo: liberan óxido nítrico al tendón patológico, pudiendo jugar un papel en la curación del tendón lesionado, evidenciando in vitro una estimulación de la proliferación de fibroblastos y la síntesis de colágeno [Yuan J, 2003;]. Algunos estudios han demostrado su potencial curador [Paoloni JA, 2004; Paoloni JA, 2005; Paoloni JA, 2003]. Se han publicado efectos adversos como cefaleas agudas, que pueden llevar a abandonar el tratamiento.

iii.Inyección de toxina botulínica A: actúa disminuyendo el tono muscular, reduciendo la tensión sobre el tendón, lo cual puede contribuir a aliviar el dolor. Se

inyecta en el músculo, aproximadamente 5 cm distal al punto de máximo dolor. Se han publicado buenos resultados a corto plazo [Placzek R, 2007]. Sin embargo todavía no hay consenso sobre su uso, y los efectos pueden estar condicionados por la técnica, el operador y la dosis.

3) Intervenciones biologicas:

Sus efectos terapéuticos se manifiestan a medio-largo plazo. El objetivo es doble, por un lado estimular los propios mecanismos intrínsecos de reparación y por otro lado suplementar, con células o moléculas extrínsecas, dicha reparación. Dentro de este grupo de terapias tenemos principalmente la proloterapia, aprotinina, el ácido hialurónico, la sangre autóloga, la **tenotomía** y el **PRP**.

i.Proloterapia: inyectando dextrosa hiperosmolar y morruato sódico intratendinoso, para producir una respuesta inflamatoria local y un incremento en la resistencia del tendón. Los resultados clínicos indican que puede reducir el dolor en reposo y durante actividades de carga del tendón, en pacientes con tendinopatía aquílea crónica [Maxwell NJ, 2007; Ryan M, 2010]. Es más se evidenció una reducción en el tamaño y severidad de las regiones hipoecogénicas y las roturas intratendinosas, y mejoría en la neovascularización [Ryan M, 2010]. La inyección de dextrosa ó dextrosa con morruato sódico demostró ser más efectiva que esperar y ver, en el abordaje de la epicondilopatía crónica (Rabago, D, 2013).

ii. Infiltración de grandes volúmenes de suero salino: La inyección de grandes volúmenes de suero salino con anestésico local para evitar el dolor, combinado con corticoides o aprotinina, ha demostrado que puede reducir el dolor y mejorar la función en las tendinopatías aquíleas (Chan, 2008 ; Maffulli N, 2013). En un reciente ensayo clínico randomizado a doble ciego, el tratamiento de la tendinopatía aquílea crónica con inyección de grandes volúmenes de suero fisiológico o con inyección de PRP combinada con ejercicios excéntricos, demostró ser más eficaz que la fisioterapia con ejercicios excéntricos por si sola, siendo a corto plazo la inyección de grandes volúmenes, más eficaz (Boesen AP, 2017).

iii. Aprotinina: Es un potente inhibidor de amplio espectro de tripsina, plasmina, kalikreina y múltiples MMPs [Magra M, 2008]. En un estudio de nivel 1, en el que se comparó aprotinina, con corticoides y placebo, la aprotinina tuvo unos buenos-excelentes resultados en el 72%, comparado con el 59% del grupo de corticoides y 28% del grupo placebo [ ]. En 430 pacientes tratados con aprotinina hubo un riesgo elevado de efectos adversos, entre los que se incluían anafilaxia y encefalopatía espongiforme bovina [Orchard J, 2008]. Los efectos alérgicos se pueden reducir,

minimizando el número de inyecciones y recomendando un intervalo de al menos 6 semanas entre inyecciones.

iv. Infiltraciones de ácido hialurónico: el ácido hialurónico es un polisacárido con un alto peso molecular (entre 100 kDa y 10 MDa), principalmente encontrado en la matriz extracelular, donde juega diferentes papeles en diferentes lugares del organismo [Necas J, 2008]. En las tendinopatía existe una reducción en el deslizamiento del tendón. La aplicación de ácido hialurónico puede reducir esa resistencia [Sun YL, 2004; Taguchi M, 2009]. Este efecto parece conseguirlo inhibiendo la proliferación de fibroblastos y con ello reduciendo la concentración de colágeno tipo III, lo que redunda en una reducción de las adhesiones del tendón en la zona de curación [Al-Qattan M, 2006]. Por otro lado parece tener un efecto antinflamatorio, reduciendo la expresión de factores proinflamatorios. También reduce la fragmentación de ácido hialurónico endógeno y estimula su síntesis [Liang JI, 2014]. Además se ha demostrado que mejora la viabilidad y proliferación celular [Osti L, 2015].

v. Inyecciones de sangre autóloga: se postula que funciona mediante el estímulo de una respuesta inflamatoria que trae consigo los nutrientes necesarios para promover la curación. Se han publicado resultados a corto plazo buenos [Creaney L, 2011]. Sin embargo no se ha visto beneficio a largo plazo, por lo que su uso solo se recomienda para aquellos casos recalcitrantes en que otras modalidades de tratamiento han fracasado.

vi. Tenotomía: La tenotomía con aguja es considerada una terapia regenerativa, porque conlleva un microtrauma que induce una respuesta curativa a través de una patrón de expresión génica temprana (factores de teranscripción), similar al de la sobrecarga mecánica, y de esta manea mejorar la estructura y fuerza del tendón (Hammerman M, 1985). Consiste en la realización de una serie de punciones intratendinosas, ecoguiadas, con una aguja gruesa, con el objeto de crear microlesiones agudas en la zona dañada del tendón, que pongan de nuevo en marcha los mecanismos de reparación endógenos, y así romper el círculo vicioso de la curación fallida (Jacobson JA, 2016; Mattie R, 2017). La tenotomía puede realizarse sin infiltrar simultáneamente ningún producto (tenotomía seca), infiltrando anestésico local (tenotomía húmeda) o infiltrando PRP. El objeto es introducir por un lado un volumen de sustancia que modifique espacialmente el medio en el nicho de la lesión, el anestésico local que además alivie el dolor derivado del procedimiento, y el PRP para potenciar y modular los diferentes procesos implicados en la reparación, consiguiendo efectos sinérgicos (Andía I,

2017). Una reciente revisión sistemática (Mattie R, 2017), dirigida a evaluar la eficacia de la tenotomía percutánea en las tendinopatías del codo identificó solo 6 estudios (4 retrospectivos y 2 prospectivos). Se utilizaron inyecciones con corticoides con la tenotomía en 3 de los 6 estudios. Solo uno incluyó epicondilopatías lateral y medial. Aunque el grado de evidencia es bajo, los datos actuales avalan la tenotomía húmeda como alternativa a la liberación quirúrgica del tendón.

Lo ideal es realizarla de manera ecoguiada, para incidir en las áreas más dañadas, que aparecerán hipoecogénicas e hipervascularizadas en modo Doppler Color. Se practica con el paciente en decúbito supino, con el codo flexionado 120º y el antebrazo en pronación, en el caso de la epicondilopatía lateral, y en supinación en el caso de la epicondilopatía medial. Utilizamos guía ecográfica. Se sigue un procedimiento estéril, similar a cualquier otro procedimiento intervencionista musculoesquelético. Se infiltra el tejido graso subcutáneo suprayacente al epicóndilo, de manera tangencial al plano del epicóndilo, de distal a proximal, con 2 ml de lidocaina con una aguja hipodérmica de 20 gauges. A continuación, en los casos de tenotomía húmeda, sin retirar la aguja, se retira la jeringa de lidocaina y se conecta la del tratamiento (PRP o lidocaina), procediendo a insertar la aguja dentro del tendón, de forma paralela a su eje largo, de distal a proximal. El tendón es repetidamente fenestrado (de 15 a 25 veces), redirigiendo la aguja en diferentes direcciones, con especial énfasis en los focos hipoecogénicos más vascularizados, hasta percibir un reblandecimiento del tejido. Además de fenestrar el tendón, se actúa con la punta de la aguja sobre la entesis, erosionando el periostio. Simultáneamente, en los casos de tenotomía húmeda, se infiltra el inyectable en los focos hipoecogénicos y áreas adyacentes. Se puede repetir el procedimiento. Tras el tratamiento a los pacientes se les recomienda reposo las siguientes 48 h y evitar levantar pesos.

vii.PRP

F. PRP:

El fundamento de las terapias con plasma rico en plaquetas (PRP), se basa en la liberación de estimulantes de la regeneración tisular local [Andia I, 2010]. Entre los mecanismos de acción propuestos, destacan la activación de la respuesta inmune innata y la estimulación del anabolismo tisular. Sin embargo no se tiene la certeza de qué células o procesos biológicos estamos atacando en cada etapa del

proceso patológico. Realmente si examinamos los componentes del PRP, encontramos un auténtico puzle de componentes, con efectos biológicos paradójicos, que podrían explicar la ausencia de beneficio del PRP en algunas situaciones [Andía I, 2013]. En los últimos 2 años se han realizado numerosos ensayos clínicos relacionados con la utilización del PRP en el manejo de las tendinopatías.

De acuerdo con la hipótesis de la curación fallida, el tratamiento ideal de la tendinopatía debe modificar la respuesta proinflamatoria y promover la resolución activamente, procurando una sólida y eficaz reparación de la matriz. El PRP puede modular la inflamación y curación a través de diferentes modelos de acción. Primero, las plaquetas activadas pueden establecer interacciones directas con las células inmunes, leucocitos y macrófagos. Segundo, sobre la activación de la cascada de la coagulación, el PRP libera una larga lista de ligandos extracelulares (secretoma), que regulan múltiples funciones celulares, incluida inflamación, proliferación, diferenciación, apoptosis y anabolismo de la matriz. Por último, indirectamente, el PRP puede modificar el estado biológico del tejido patológico ocupando el espacio físico, y de esta manera alterar el perfil de citoquinas y modificar señales de inflamación o del catabolismo de la MEC.

De acuerdo a estos tres mecanismos de acción, es importante donde se dé la liberación espacial de estos productos, y su consiguiente interrelación con los diferentes tipos celulares, según esté en el propio tendón avascular, en la entesis o en las estructuras vascularizadas peritendinosas, que incluyen el endotenón, paratenón, la vaina tendinosa o la bursa. En este sentido es primordial su infiltración ecoguiada.

i. Historia

Los primeros preparados de plasma rico en plaquetas (PRP) se hicieron los años 60 en banco de sangre, donde se obtuvieron los primeros concentrados de plaquetas mediante centrifugación de la sangre, y se hicieron rutinarios en los 70. En los 80 comienza el desarrollo de la medicina regenerativa, con el objetivo de la rápida traslación de resultados de investigación, a la práctica clínica, y se comenzó a plantear la utilización de los recursos autólogos del propio paciente, y concretamente, las plaquetas, como vehículo del pool de factores moleculares que presentan en su interior. Inicialmente se evidenció, que las plaquetas al degranularse liberaban un compendio de factores que estimulaban la cicatrización e iniciaban el proceso de curación del tejido en las úlceras cutáneas. En los 90 se

introdujo su uso en Cirugía Maxilofacial, aprovechando las propiedades adhesivas de la fibrina autóloga durante la cirugía ósea. Se constató la potenciación de la formación de hueso y sus efectos antinflamatorios [Whitman DH, 1997; Marx RE, Carlson ER, 1998; Anitua E, 1999].

En los años 2000, el PRP se utilizó para tratar lesiones de rodilla en cirugía artroscópica [Sanchez M, 2003], y posteriormente se amplió al tratamiento de los tendones [Sanchez M, 2007], artrosis de rodilla [Sanchez M, 2008], caderas [Sanchez M, 2012] y condropatías [Kon E, 2010]. En los últimos años se ha extendido su estudio a aplicaciones en dermatología estética, a problemas relacionados con el cabello, tratamiento de cicatrices e incluso como tratamiento rejuvenecedor [Leo MS, 2015]. También se está estudiando su aplicación en la reparación de nervio periférico, con resultados prometedores in vivo [Yu W, 2011, Andía I, 2015].

ii. Biología de los PRPs

Las plaquetas son células sin núcleo, presentes en el torrente sanguíneo, de tamaño variable y con una densidad menor que el resto de células sanguíneas. Presenta un diámetro de aproximadamente 2 μm (menor que un leucocito, que es de 20 μm). Sus precursores en la médula ósea, son los megacariocitos, los cuales poseen unos pseudópodos, cuya fragmentación origina lo que se conoce como pro-plaquetas, que más tarde se fragmentarán en plaquetas individuales, liberándose al torrente sanguíneo [Hunt P, 1995] (**Figura 17**).

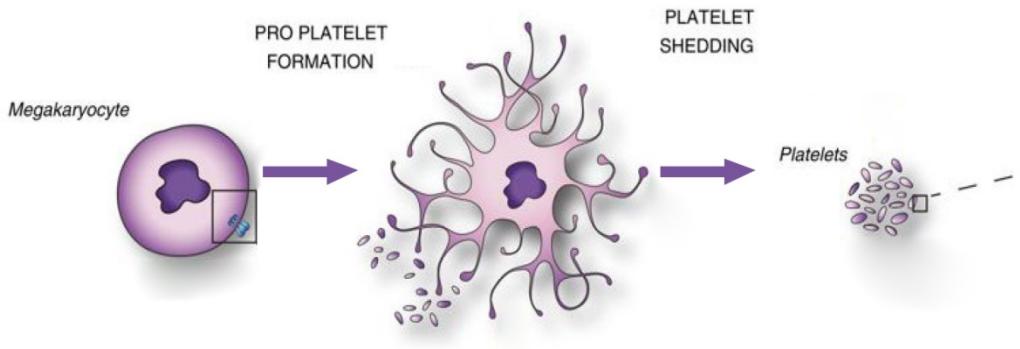


Figura 17. Proceso de génesis de las plaquetas. (Josefsson EC, et al. 2014)

Su vida media en la circulación es de 7-10 días, siendo eliminadas del torrente sanguíneo, y remplazadas por plaquetas más jóvenes, con mejores capacidades funcionales.

1) Secretoma plaquetario

Hasta el momento se han identificado más de 300 moléculas en lo que se ha dado en llamar secretoma plaquetario. Estas moléculas pueden ser clasificadas acorde a su fuente granular y a su función propuesta. Las plaquetas están llenas de gránulos de secreción. Existen tres tipos de gránulos: gránulos α, los más abundantes, gránulos densos y los lisosomas [Heijnen H, 2015] (**Figura 18**).

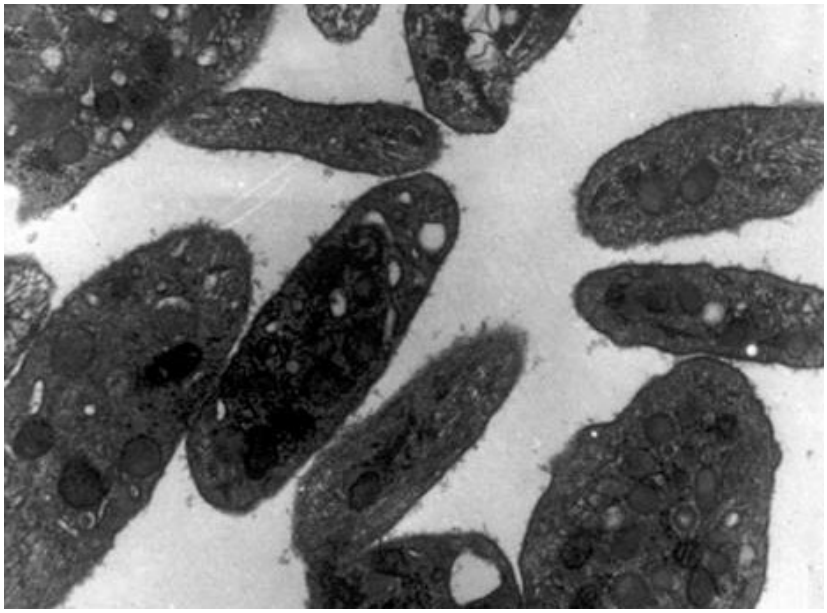


Figura 18. Plaquetas circulantes en sangre, vistas por microscopía de transmisión.

Los gránulos densos contienen principalmente moléculas pequeñas e iones, como el ADP, ATP, pirofosfatos y polifosfatos, serotonina, histamina, adrenalina, Ca^{2+} y tromboxano A2, y presentan moléculas de membrana como CD63, y LAMP-1/2. Todos ellos, críticos para la activación plaquetaria, jugando un papel fundamental en la hemostasia tisular. Hay de tres a ocho por plaqueta.

Los lisosomas liberan un buen número de arilsulfatasas, acido proteasas, glicosidasas y fosfatasas, y también presenta moléculas de superficie. Cumplirán labores de limpieza de los restos fagocíticos y citosólicos. En el espacio extracelular pueden apoyar la escisión de receptores, la fibrinólisis y la remodelación de la vascularización.

Los gránulos α contienen proteínas con un amplio abanico de funciones, y que pueden ser subdivididas en varias categorías funcionales [Anitua E, 2004]. Son los orgánulos secretores más abundantes en la plaqueta (50-80 por plaqueta). Contienen múltiples proteínas adhesivas, muy importantes en la homeostasis tisular primaria, para la formación de un coágulo estable, como el factor de Von

Willebrand (VWF), fibrinógeno, la fibronectina, la vitronectina y la trombospondina [Heijnen H, 2015].También contienen un buen número de mediadores solubles con funciones en la coagulación, reparación tisular, en la inflamación y en la angiogénesis. Incluyen el factor plaquetario 4 (PF4), interleucina-8 (IL-8), factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF), factor de crecimiento transformante β (TGF-β) y factor de crecimiento endotelial (VEGF) [Maynard DM, 2007]. Las quimiocinas más abundantes son el factor plaquetario 4 (PF-4) y el RANTES (CCL5), que inducen la quimiotaxis de diversos tipos celulares. El PF-4, la CXCL7 y la IL-8 modulan la inflamación mediante el reclutamiento de neutrófilos.

La secreción de estas proteínas está regulada por un complejo mecanismo, que incluye el complejo SNARE (soluble NSF attachment protein receptor) y sus reguladores, que median la translocación de los gránulos y los eventos de membrana requeridos para la secreción. El contenido plaquetario está determinado durante la síntesis de los megacariocitos en la médula ósea y por endocitosis mediada por receptores de membrana, desde el microambiente plasmático, y aún no puede manipularse ex vivo.

Para que se produzca la liberación del contenido de los distintos gránulos plaquetarios, se debe producir la activación plaquetaria, en la que las plaquetas se rompen y vierten su contenido al espacio extracelular.

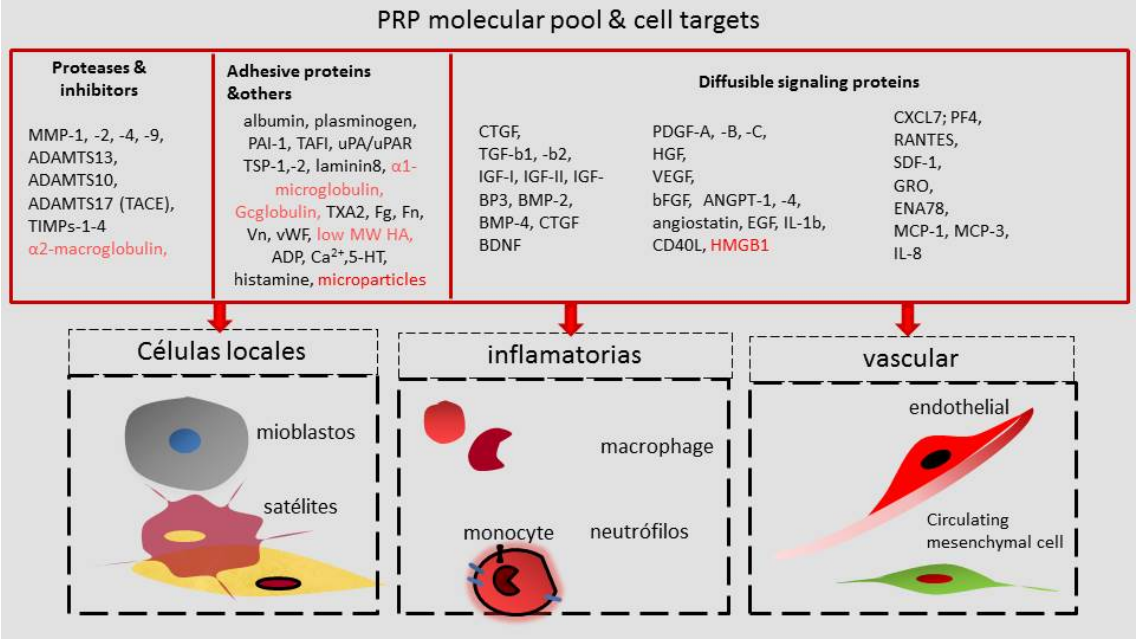


Figura 19. Componentes del PRP

Proteínas señalizadoras (que incluyen factores de crecimiento, quimiocinas y otras citoquinas), proteínas adhesivas y proteasas, junto con pequeñas moléculas e iones, que son segregados por las plaquetas.Abreviaturas: PRP, plasma rico en plaquetas; MMPs, metaloproteinasas; ADAMTS, metaloproteinasa desintegrin-like con trazas de trombospondina; TIMPs, inhibidor tisular de la metaloproteinasa; PAI, activador del inhibidor del plasminógeno; TAFI, inhibidor de la fibrinólisis activado por trombina, uPA/uPAR, activador del plasminógeno tipo urokinasa, y su receptor; TSP, trombospondinas; TXA2, tromboxano A2; Fg, fibrinógeno; Fn, fibronectina; Vn, vitronectina; vWF, factor de von Willebrand; low MW HA, heparina de bajo peso molecular; ADP, adenosín difosfato; Ca2+, calcio; 5-HT, serotonina; CTGF, factor de crecimiento del tejido conectivo; TGF-β, factor β de crecimiento transformante; IGF, factor de crecimiento insulin-like; BMP, proteína morfogenética del hueso, BDNF, factor neutrofílico derivado del cerebro, PDGF, factor de crecimiento derivado de las plaquetas; HGF, factor de crecimiento hepatocitario; VEGF, factor de crecimiento del endotelio vascular; bFGF, factor de crecimiento de los fibroblastos; ANGPT, angiopoyetina; EGF, factor de crecimiento epidérmico; IL-1/8, interleucina 1/8; HMGB, (del inglés, high mobility group box 1), proteína conocida como señal de daño liberada como consecuencia de la muerte celular y crucial en la respuesta inflamatoria al daño tisular; CXCL7, quimiocina activadora de neutrófilos NAP-2; PF4, factor plaquetario 4; RANTES, regulated on activation normal T-cell expressed and secreted; SDF-1, factor 1 derivado de células estromales; GRO, Oncogén Relacionado a Crecimiento; ENA 78, epitelial neutrophil-activating protein78; MCP-1/3, proteína 1/3 quimiotáctica del monocito (Andia I, 2018).

2) Función plaquetaria: activación de la coagulación y la hemostasia

Además de la hemostasia y formación de coágulos, las plaquetas participan en otras muchas funciones, como la inflamación, la respuesta inmune, la angiogénesis y el anabolismo, mediante la liberación de moléculas mediadoras que producen efectos en distintos tipos celulares [Jennings LK, 2009; Gawaz M, 2005].

i. Hemostasia: Cuando se produce un sangrado, por lesión vascular, las plaquetas se activan, liberan su contenido y forman un coagulo que bloquea la salida de sangre. Esto se produce por distintos mecanismos. La liberación de estas moléculas sigue un ritmo temporal, de modo que unas serán de liberación rápida, como las moléculas de adhesión, que permiten la formación del coágulo, al facilitar la unión de las plaquetas entre ellas y a la matriz de fibrina y colágeno. Y otras de liberación lenta, como las moléculas implicadas en el reclutamiento de células inflamatorias o en la angiogénesis [Heijnen H, 2015].

La activación de las plaquetas conlleva una alteración en su morfología, aumentan su adhesión al tejido, favoreciendo con ello la agregación de muchas plaquetas para formar un coágulo. El primer paso en la hemostasia primaria es la adhesión de las plaquetas a la matriz extracelular, para formar una capa de plaquetas activadas. La adhesión está mediada por la interacción entre el complejo receptor de la glicoproteína (GP) Ib/V/IX, que se encuentra en la superficie plaquetaria, y el VWF, además de la interacción entre GPIV y GPIa, y el colágeno expuesto en los lugares de lesión vascular. En condiciones normales el VWF soluble no interacciona con el GP Ib/V/IX, pero cuando se inmoviliza en el colágeno expuesto, se convierte en un adhesivo muy potente.

En condiciones fisiológicas, la activación plaquetaria depende de factores pro-trombóticos tisulares locales y de los mediadores plaquetarios segregados, a través de diferentes vías moleculares, siendo su acción acumulativa, produciendo un feedback, por el que los propios mecanismos de activación producen más mediadores, que de esta manera amplifican esta activación. Los mediadores más importantes de esta activación son el colágeno, el ADP, el tromboxano A2, la epinefrina, la serotonina, el calcio y, el más potente, la trombina, que activa las plaquetas cuando está presente en muy bajas concentraciones. La acción de estos mediadores hace que las plaquetas, cambien de forma, que expresen moléculas pro-inflamatorias como la p-selectina y el ligando soluble CD40L, que incrementen su actividad pro-coagulante y la conversión de GPIIb/IIIa en su forma activa, lo que permite la agregación plaquetaria (Figura 20).

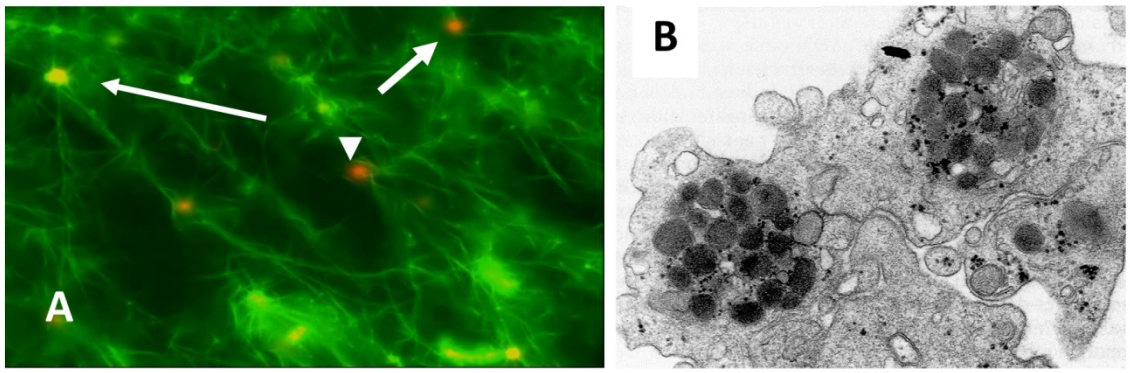


Figura 20. Agregación plaquetar. A. Microscopía óptica. B. Microscopía electrónica de transmisión.

La acumulación local de estos agonistas, produce el reclutamiento de plaquetas circulantes que se acumulan en un coágulo sanguíneo oclusivo, en que encontramos plaquetas, linfocitos, eritrocitos y una red de fibrina. Esta red de fibrina se genera a partir del fibrinógeno sanguíneo mediante la trombina, generada a su vez del factor tisular (TF). El receptor plaquetario principal responsable de la agregación plaquetaria es el GPIIb/IIIa. Cuando se activa, promueve la adhesión, la agregación y la difusión plaquetaria en la matriz extracelular del vaso sanguíneo, que se encuentra expuesta, además de la formación y la estabilización del coágulo [Jennings LK, 2009]. La activación plaquetaria y el reclutamiento también pueden estar mediados por mecanismos de naturaleza física, como la agitación, la alta temperatura y el flujo elevado en capilares.

Las plaquetas interaccionan con el endotelio dañado, lo que las activa, y ocasiona la adhesión plaquetaria. Este es un proceso que tiene varios pasos y es similar al proceso de adhesión de las plaquetas a la matriz. Las plaquetas activadas presentan el mencionado CD40L y liberan IL-1β, que promueven la inflamación del endotelio mediante la inducción a las células endoteliales a la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS), de moléculas de adhesión, de quimiocinas y de factor tisular (TF). Además la interacción del receptor CD40 de las células endoteliales y el CD40L plaquetario produce liberación de IL-8 y MCP-1, que participan en el reclutamiento de neutrófilos y monocitos (quimiotaxis). Esta interacción CD40-CD40L también provoca el aumento de la expresión de distintas moléculas de adhesión (E-selectina, molécula 1 de adhesión a célula vascular (VCAM-1) y molécula de adhesión intracelular (ICAM-1)), que median la adhesión de monocitos, linfocitos y neutrófilos al endotelio. Además las plaquetas liberan TF a las células endoteliales en un mecanismo CD-40 dependiente, promoviendo la formación del coágulo o trombosis. Esa interacción CD40-CD40L también produce una liberación de matriz metaloproteinasas (MMP-2 y MMP-9) que promueven la degradación de la matriz extracelular y la posterior remodelación del tejido inflamado. A su vez, esa interacción también produce la maduración de las células dendríticas, el cambio de isotipo de las células B y el aumento de la activación de las células T CD8+.

ii.Moduladores de la respuesta inmune: las plaquetas secretan mediadores solubles que incluyen factores de crecimiento, quimiocinas, citoquinas y factores de coagulación. Las quimiocinas atraen a células del sistema inmune, como el ligando de quimiocinas 7 (CXCL7), RANTES (CCL5), IL-1β, MCP-1 e IL-8. Además secretan factores de crecimiento que median la respuesta inmune como HGF y TGF-β1. La secreción de

RANTES y PF-4, que forman heterodímeros, aumenta el arresto de monocitos e induce la expresión de citoquinas y quimiocinas en leucocitos. El PF-4 tiene un efecto angiostático e inhibe la proliferación de células endoteliales. Además la secreción de IL-1β provoca la secreción de MCP-1 por parte de células endoteliales e induce la expresión de moléculas de adhesión *ICAM1* y $\alpha_v\beta_3$. Todos estos eventos producen la infiltración de células inflamatorias en el lugar de la lesión.

iii.Angiogénesis: Las plaquetas también liberan factores pro y anti-angiogénicos presentes en los gránulos intracelulares. Dichos factores incluyen al VEGF, TGF-β1, bFGF, PDGF, EGF, IL-8, angiopoyetina, CXCL-12, MMP-1,2 y 9, endostatinas, fibronectina PF4, TSP-1 y α2-macroglobulina. El balance y la concentración de dichas moléculas determinarán si se produce la activación o inhibición de la angiogénesis.

iv.Anabolismo: Las plaquetas secretan factores que promueven la curación y el anabolismo de tejidos como el PDGF, el BDNF, TGF-β1 y el IGF.

En resumen, la función de las plaquetas no se limita a la hemostasia, sino que como hemos visto también se involucra en otras funciones, que pueden estar en íntima relación con la curación de los tejidos, y es esto lo que llevó a desarrollar los plasmas ricos en plaquetas (PRPs), cuyos factores biológicamente activos potenciarán la curación.

iii. Obtención y formulación del plasma rico en plaquetas

Las terapias con PRP, persiguen por un lado reducir la presencia de glóbulos rojos (95% en volumen) y por otro aumentar la concentración de plaquetas en el propio nicho de la lesión, de manera que concentraciones suprafisiológicas de proteínas plasmáticas y de plaquetas, acelerarán los procesos de reparación tisular mediante mecanismos directos, liberando proteínas, desde la matriz de fibrina, de forma controlada a lo largo del tiempo, en función de las necesidades del tejido en fase de reparación; y mediante mecanismos indirectos, por ejemplo atrayendo a células inmunes mediante quimiotaxis, o induciendo la síntesis de más proteínas por parte de las células locales. El conocimiento tanto de las terapias con PRP, como de los mecanismos de reparación tisular, es fundamental para poder trasladarlo a la práctica clínica y mejorar con ello las terapias biológicas.

La aplicación clínica del PRP ha precedido a la investigación básica, debido a su facilidad de obtención, bioseguridad por su origen autólogo y al ventajoso balance beneficio/riesgo, de manera que se han utilizado sin tener claro los

mecanismos biológicos que se podían estar influenciando. En este sentido se están realizando números ensayos clínicos en diversos campos para probar la eficacia en diversas patologías, sin todavía conocer su efecto preciso en los mecanismos involucrados en ellas.

Método de obtención: La principal fuente para la preparación de PRPs es la sangre periférica, que tiene una media de 200.000 plaq/μL. En condiciones de asepsia, se extrae sangre de una vena periférica del paciente, con o sin anticoagulantes, y el plasma se prepara mediante centrifugación o filtración. El volumen de sangre extraída varía según las necesidades clínicas, entre 10 y 100 mL. Básicamente el método de preparación determinará la composición del PRP y concentración de eritrocitos, leucocitos y plaquetas en un determinado volumen de plasma. Las terapias de PRP requieren una manipulación mínima, por lo que, en general, las condiciones reguladoras son fáciles de cumplir, lo que explica su amplio uso clínico y el éxito de los kits comerciales. Hay tres métodos principales de preparación de PRP: 1) doble centrifugado utilizando máquinas automáticas y kits comerciales, 2) el método de centrifugación simple con centrífugas convencionales de laboratorio seguidas de una preparación manual del PRP, y 3) filtración selectiva de la sangre utilizando tecnología disponible para este fin.

La centrifugación simple, habitualmente utilizada en los laboratorios de investigación, produce un PRP con una concentración 1-3 veces el número de plaquetas en sangre periférica, y el doble centrifugado produce un PRP con una concentración de plaquetas 4-8 veces superior a la sangre periférica. Este último, frecuentemente concentra leucocitos además de plaquetas. En el 2009, Dohan [DohanEhrenfest DM, 2014] planteó la nomenclatura actualmente utilizada y propuso una clasificación para los PRPs: PRP puro y plasma rico en plaquetas y leucocitos (L-PRP). Si se consideran la arquitectura de la fibrina y el número de plaquetas se diferencian más subtipos de PRP.

Los sistemas comerciales producen PRPs con distintas concentraciones de plaquetas y leucocitos. En la siguiente tabla se resumen los principales sistemas disponibles y sus características.

Tabla III. Sistemas comerciales disponibles para la preparación de PRPs con distintas formulaciones

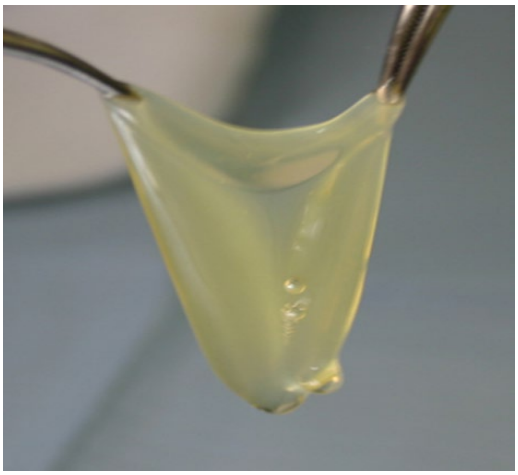
Nombre	Tecnología empleada	Tiempo total de procesamiento	Enriquecimiento de plaquetas	Recuperación % plaquetas
Biomet GPS™	Floating Buoy	27 min	3.2x	70%
Cell Saber Based systems	Standard Centrifugation	20 min	4-6x	75%
Sorin Angel	Computer Aided System	25 min	4.3x	76%
AutoloGel System	Standard Centrifugation	1-2 min	1x	78%
GenesisCS	Direct Siphonig	16 min	10+/-3(4mL)	68+/-17.1*
Harvest® SmartPrep2 BMAC™	Floating Shelf	16 min	4.0x	72.0+/-10
Depuy Symphony II	Floating Shelf	16 min	4.0x	72.0+/-10
Arteriocyte Medical MagellanTM	Computer Aided System	17 min	5.1x	70%
Secquire	Direct Aspiration	20 min	1.6x	31+/-15

Frente a estos sistemas comerciales automáticos, resulta más económico su preparación en bancos de sangre a partir de un volumen de sangre mayor, utilizando procedimientos estandarizados. Se mide su calidad y se congela en alícuotas para ser utilizado en procedimientos posteriores.

Durante la extracción de sangre, la mayoría de los protocolos utilizan anticoagulantes para evitar la coagulación de la sangre. La mayoría de los kits usan solución dextrosa-citrato (ACDA) o citrato sódico para quelar los iones calcio y así evitar la transformación de protrombina en trombina y su acción sobre el fibrinógeno plasmático. Dado que el ACDA y el citrato modifican el pH de la sangre volviéndola un poco ácida, algunos protocolos comerciales (GPS) estabilizan el pH mediante la adición de un buffer. Anticoagulantes como heparina y EDTA se suelen evitar, pues modifican la membrana plaquetaria. Como alternativa hay sistemas que extraen la sangre sin anticoagulante, obteniendo un PRP con un pH fisiológico, aunque con la desventaja de que la fibrina se forma durante el centrifugado, por lo que no es inyectable.

En las terapias con PRP, puede ser interesante inducir la activación plaquetar, para provocar la secreción de los gránulos α, que ocasionará la rotura de fibrinógeno para generar monómeros de fibrina. La activación se puede inducir de varias formas: mediante la adición de Ca^{2+} (normalmente cloruro cálcico) o

Ca^{2+}/trombina. Como alternativa, la coagulación se puede inducir de forma fisiológica cuando el PRP es inyectado y entra en contacto con los factores tisulares.



Con todo ello, se genera un "scaffold" (andamio) tridimensional y biocompatible, que libera progresivamente múltiples citoquinas, factores de crecimiento y otras proteínas al lugar donde se aplica, lo que acelera la curación y la reparación tisular [Anitua E, 2006](**Figura 21**).

Figura 21. Gel de fibrina por PRP.

iv. Interacción del PRP en las distintas fases de la reparación tisular

El PRP proporciona una oportunidad única para influir sobre el curso de la tendinopatía. Puede modular la inflamación y angiogénesis, y activar la quimiotaxis y proliferación de las células progenitoras. Además, las moléculas anabólicas presentes en el PRP incrementan la síntesis de colágeno y otras proteínas implicadas en la construcción de la MEC. Basándonos en la definición de PRP como término MeSH (introducido en Pubmed en 2007), los responsables de las funciones beneficiosas de las terapias con PRP son los factores de crecimiento, como el PDGF, TGF, FGF, el factores de crecimiento endotelial (EGF), el factor de crecimiento hepatocitario (HGF), el factor de crecimiento del tejido conectivo, y el VEGF, entre otros. Sin embargo, recientes análisis proteómicos han identificado más de 300 proteínas en los gránulos α [Maynard DM, 2010]. Además, el papel crucial de proteínas plasmáticas específicas en la inflamación, como la α2-macroglobulina, no se conoce. Por eso, debemos reconsiderar las terapias con PRP y analizar el papel de otras moléculas diferentes de los factores de crecimiento.

En las lesiones tendinosas, las moléculas de PRP actúan no solo sobre los tenocitos localizados dentro de la rígida MEC fibrilar, sino también sobre los fibroblastos tendinosos, que abundan en el endotenón. Estas células pueden ser más proclives a migrar y cumplir actividades reparadoras, porque les rodea una MEC más ligera. Actualmente no poseemos marcadores celulares específicos para las diferentes células tendinosas.

Como ejemplos ilustrativos de moléculas de PRP diferentes de los factores de crecimiento, pero involucradas en mecanismos biológicos cruciales modulados

por PRP, citaremos moléculas raramente mencionadas en estudios de PRP, como la quimiocina (C-X-C motif) ligando (CXCL)-7 y el factor 4 plaquetario (PF-4 o CXCL-4) en la respuesta inmune innata [Flad HD, 2010], la trombospondina-1(TSP-1) en la angiogénesis, y el activador del plasminógeno de la urokinasa (uPA) en la migración celular [Andía I, 2012]. Describiremos como interactúa el PRP, en las diferentes fases del proceso reparativo.

1) Inflamación

Inflamación es un término general que engloba las consecuencias funcionales de las respuestas inmunes innatas. Puede originarse a partir de las microlesiones tendinosas, y el sistema inmune innato regula el proceso. Las plaquetas modulan ampliamente la inflamación, por su habilidad para secretar altos niveles de quimiocinas (subgrupo de pequeñas citoquinas circulantes), que se necesitan para controlar la extravasación de células inmunes innatas y su infiltración en el tejido dañado. Soporta esta hipótesis, la demostración de que la inhibición de la activación plaquetaria mediante glicoproteína antiplaquetaria Ib, reduce la entrada de leucocitos polimorfonucleares alrededor de un 50%. Las plaquetas son consideradas la mayor fuente de β-tromboglobulina (CXCL-7) o péptido-2activador de neutrófilos (NAP-2), que son quimiotácticas y una fuerte activadora de la migración de los neutrófilos. En realidad, las plaquetas liberan 2 precursores de CXCL-7(es decir proteína básica plaquetaria) y péptido III activador del tejido conectivo, pero el proceso proteolítico de los neutrófilos es esencial para hacer el CXCL-7 quimiotácticamente activo. Además el L-PRP fibrina, atrae a más neutrófilos del torrente sanguíneo, que el PRP fibrina solo. Este hecho, aunque precisa confirmación experimental, puede ser relevante clínicamente para decidir utilizar PRP puro o concentrados de plaquetas y leucocitos (L-PRP). A priori, excluimos los neutrófilos, porque pueden exacerbar el daño tisular a través de diferentes mecanismos: como la secreción de citoquinas proinflamatorias, como el factor de necrosis tumoral, interferón g (IFN-g), y con interleuquinas (IL-6 o IL-1b) que causan destrucción de la matriz a través de la producción de metaloproteasa-1 (MMP-1), -3 y -13. Además la interacción de los neutrófilos con las plaquetas puede inducir una respuesta migratoria hiperactiva de neutrófilos circulantes hacia el lugar de la lesión. De esta manera, una gran entrada de estas células al lugar de la lesión, y la subsiguiente activación de los procesos enzimáticos y oxidativos, puede intensificar el daño tisular.

Otro evento crucial en la inflamación es la retirada de las células muertas, que depende del linaje monocito-macrófago. Las plaquetas son la mayor fuente de PF-4, que previene la apoptosis de los monocitos y promueve la diferenciación de

los macrófagos. El PF-4, a menudo ignorado al describir la composición de los gránulos α, es la proteína más abundante de estos gránulos α. Experimentos recientes han mostrado que el PF-4 consigue un estado de polarización único de los macrófagos que muestra diversas similitudes moleculares con los patrones de activación pro y antinflamatorios [Gleissner CA, 2010]. En las tendinopatías, la manipulación biológica de la polarización de los macrófagos con PRP, puede desplazar el estado inflamatorio a un medio antinflamatorio de curación. Esto puede ser un punto crítico para avanzar en la ciencia básica del tendón y refinar las terapias de PRP. El PRP puede finalizar la inflamación, polarizando los macrófagos a fenotipo no inflamatorio tipo II; pero no solo los macrófagos, también las células locales, tienen plasticidad y pueden ser devueltas a fenotipos no inflamatorios. Este efecto puede ser mediado por varios GFs, que incluyen HGF, VEGF y TGF-b. Por ejemplo, el tratamiento con HGF induce un perfil de citoquina antinflamatoria en las células endoteliales, específicamente mediante la supresión de E-selectina. En un modelo de activación inflamatoria (estimulación de macrófagos con LPS), la presencia de HGF, induce una reducción en la citoquina proinflamatoria IL-6 y un incremento de la citoquina antinflamatoria IL-10, en parte por interferir la señalización de NF-kB [Bendinelli P, 2010]. El HGF se encuentra principalmente en el plasma y muy poco en plaquetas. Por tanto, es importante considerar que los efectos terapéuticos del PRP resultan de sinergias entre las plaquetas y las proteínas plasmáticas.

2) Angiogénesis

El papel de las plaquetas en la angiogénesis mal regulada, que ocurre en la tendinopatías, es controvertido. Las plaquetas contienen tanto estimuladores como inhibidores de la angiogénesis, de modo que cuando es inyectado en la entesopatía, caracterizada por un incremento de la angiogénesis, la modulación de la angiogénesis es el beneficio terapéutico esperado. Sin embargo, escasean los informes clínicos en los que se indique alguna modificación en el status angiogénico del tendón. En nuestra experiencia [Martín JI, 2013], valorado con ecografía Doppler, el PRP no modifica significativamente la angiogénesis en la entesopatía de la epicondilitis, ni exacerba el estatus angiogénico.

Los gránulo α contienen una variedad de proteínas angiogénicas, incluida el VEGF [Peterson JE, 2010], que representa una proteína altamente importante en el proceso angiogénico mediante su unión al receptor VEGFR-2 de las células endoteliales. La concentración de VEGF depende de la composición celular del PRP, correlacionándose positivamente, no solo con el número de plaquetas, sino también con la concentración de leucocitos. Sin embargo, el efecto angiogénico del

PRP no solo es atribuido a factores proangiogénicos como el VEGF, sino que el PRP contiene también estimulantes moleculares que incrementan la producción de moléculas angiogénicas [Andía I, 2014].

Los gránulos α, también contienen inhibidores de la angiogénesis, como el TSP-1, una proteína adhesiva que modula el comportamiento de las células vasculares, alterando la adhesión, proliferación, motilidad y supervivencia de células endoteliales y de músculo liso. La concentración de TSP-1 es proporcional al número de plaquetas [Zaslavsky A, 2010]. TSP-1 interfiere con la unión del VEGF y bFGF, suprimiendo sus efectos mitogénicos. Otras proteínas antiangiogénicas en PRP son las angiostatinas, endostatinas, y fibronectina, y las inhibidoras tisulares de las metaloproteinasas (TIMPs-1 a -4). Las proteínas pro- y antiangiogénicas, pueden perfectamente estar almacenadas y ser liberadas por separado, porque su secreción puede ser agonista-específica. Por ejemplo, el péptido activador PAR-1, ADP y la glicoproteína VI señalizadora del péptido relacionado con colágeno, inducen una liberación masiva de VEGF, pero una discreta liberación de PF-4 o endostatina. Por el contrario, PAR4-AP desencadena la liberación de PF-4 y endostatina. Esto sugiere que, dependiendo del medio molecular, se pueden conseguir diferentes patrones de secreción de factores pro- o antiangiogénicos [Chaterjee M, 2011]. Sobre esta base, las terapias con PRP tienen el potencial de producir selectivamente un ambiente pro- o antiangiogénico, dependiendo de las condiciones del tejido huésped.

Además, no debemos olvidar, que existen un pool de pequeñas moléculas como la histamina, noradrenalina, dopamina y serotonina (almacenadas en los gránulos densos) que pueden incrementar la permeabilidad vascular, y así permitir la extravasación de proteínas plasmáticas dentro de la lesión.

3) Migración y proliferación celular

Las plaquetas contienen quimiocinas como SDF-1a (CXCL12), un ligando para CXCR4, involucrado en la migración celular dirigida. Sin embargo, el potente efecto quimiotáctico del PRP es dependiente de las acciones sinérgicas entre diferentes moléculas. Es necesaria la regulación del ambiente pericelular para la migración celular y la remodelación de la matriz. Las plaquetas contribuyen a este aspecto, liberando factores fibrinolíticos (y sus inhibidores). Entre otras proteinasas e inhibidores de proteinasas liberados por las plaquetas, uPA, el inhibidor tipo 1 del activador del plasminógeno (PAI-1) y las MMPs han sido vinculadas con la degradación proteolítica y la remodelación de la membrana basal subendotelial y la MEC circundante, para crear un camino para las células migratorias [Chabot V, 2015; Kozlova N, 2015]. Claramente, la unión del PAI-1 con sus diferentes dianas,

incluidas la vitronectina, uPA y uPA/uPAR, tiene el potencial de afectar el programa de motilidad a múltiples niveles, ofreciendo una oportunidad para manipular terapéuticamente esta vía en términos fisiopatológicos [Czekay R-P, 2011]. Para dar mayor complejidad al coctel molecular del PRP, también se encuentran inhibidores tisulares endógenos de las proteasas (TIMPs) que controlan su actividad. Una vez más, el balance entre las distintas moléculas y las condiciones tisulares determinarán el resultado de la administración de PRP en la zona lesionada.

4) Anabolismo/catabolismo y remodelación de la matriz

Entre las citoquinas anabólicas liberadas en el PRP, se incluyen el factor de crecimiento del tejido conectivo (CTGF), TGF-β1 y –β2, e IGF I. Estas citoquinas tienen diferentes efectos que son dependientes del contexto tisular. Por ejemplo, El TGF-β1 es una proteína pleiotrópica que puede influenciar la diferenciación celular. En otras condiciones, el TGF-β incrementa la deposición de colágeno y ha sido asociada con la curación fibrótica. Los cambios moleculares que ocurren con la edad pueden llevar, de una forma importante, a una disfunción de los factores de crecimiento. Realmente la funcionalidad tanto del TGF-β1 como del IGF-I declina como resultado de los cambios que conlleva la edad, en las interacciones de los factores de crecimiento con los receptores. Asumiendo la existencia de un trastorno en el anabolismo inducido por los factores de crecimiento con la edad, las acciones del PRP pueden ser diferentes, cuando se administra a pacientes añosos. Si esto fuera así, la administración de PRP alogénico obtenido de adultos jóvenes puede ser más efectivo para pacientes añosos.

La paradoja biológica es que, sin embargo, las plaquetas también pueden estar implicadas en la destrucción de la matriz, con propósitos de remodelación. En realidad, las MMPs son también segregadas por las plaquetas, en una forma inactiva, y su actividad es regulada por el microambiente molecular. Clásicamente, las MMPs son vistas en su conjunto como capaces de degradar todos los componentes de la MEC y la membrana basal, restringiendo sus funciones a la remodelación y mantenimiento de los tejidos. Sin embargo, la degradación de la matriz libera factores de crecimiento y citoquinas unidas de forma no covalente, y de esta manera incrementa su biovariabilidad. Por ejemplo la liberación de VEGF y TGF-β1: el VEGF se une de forma no covalente a los proteoglicanos heparán-sulfato en la liberación secundaria a la proteólisis de la MEC. El TGF-β se mantiene en un estado latente mediante su unión al péptido asociado a la latencia (LAP). El LAP, a su vez está unido de forma covalente a la proteína de unión fibrilin proteína latente (TGF-β). La degradación de la MEC, libera los complejos latentes, y la disociación de los complejos TGF-β-LAP, incrementando la disponibilidad de TGF-β. Es más, LAP es

un sustrato de MMP-2, -9, -13 y -14, y la proteína de unión latente TGF-b puede ser adherida por MMP-7.

Aprovechando los efectos de diferentes moléculas presentes en las preparaciones de PRP, podemos desentrañar la multitud de mecanismos celulares potenciales, actuando simultáneamente en la reparación tisular o su fallo. En este sentido, la biotecnología del PRP, puede ser utilizada para mucho más que incrementar la curación tisular. En manos apropiadas, el PRP puede ser una herramienta esencial para descubrir moléculas decisivas en distintas vías específicas de la curación.

v. PRP y tendón: Investigación preclínica

1) Investigación preclínica in vitro

La aplicación clínica del PRP en las tendinopatías, ha conseguido unos resultados, cuyos mecanismos moleculares de acción desconocemos. Diferentes investigaciones tanto en humano como en animales, tratan de arrojar luz, aunque todavía estamos lejos de comprender los efectos. Anitua et al., el 2006 demostró que el PRP sobre células de tendón humano, aumentaba significativamente la proliferación celular, la síntesis de colágeno tipo I y factores como PDGF, VEGF, TGF-β y HGF, que promueven la angiogénesis y la síntesis de MEC. Mos M, en 2008, comparó el efecto de PRP y PPP (plasma pobre en plaquetas), sobre células derivadas de tendón de la rodilla, evidenciando que ambos estimulaban la proliferación celular y la producción total de colágeno. El lisado de PRP, y no el de PPP, incrementaba ligeramente la expresión de MMPs y factores de crecimiento como VEGF-A y TGF-β1, lo que ratificó Anitua en 2009, que también evidenció un aumento de la proliferación y de la producción de VEGF [Anitua E, 2009]. Otros autores también han comprobado un incremento de la proliferación en células derivadas del tendón de la rodilla y el manguito rotador [Zhai W, 2012; Jo CH, 2012], estos últimos con un efecto dosis-dependiente y un aumento de síntesis de los elementos de la MEC. Carofino B, demostró, como ya se había observado previamente [Zargar N, 2012], que los anestésicos y los glucocorticoides disminuían los efectos pro-proliferativos del PRP [Carofino B, 2012]. En resumen, parece claro un aumento de la capacidad proliferativa de células del tendón y de su actividad anabólica, promoviendo la síntesis de MEC, lo que puede mejorar la calidad mecánica del tendón, una vez finalizado el proceso de reparación [Xu Y, 2008]. Además si lo comparamos con tratamientos convencionales con anestésicos y

corticoides, puede tener un efecto protector frente al carácter tóxico de los mismos, sobre las células tendinosas. La comparación de los estudios, a menudo es complicada, y la variabilidad encontrada puede atribuirse, tanto a diferencias en los procesos de preparación del PRP, como a las diferencias en el tejido receptor o a las pautas de administración (activación y la concentración utilizada), lo que hace necesaria una estandarización de los mismos (**tabla IV**).

Tabla IV. Estudios del efecto del PRP en células de tendón humanas in vitro.

Autor	Formulación del PRP	Métodos	Medidas	Resultados
Anitua 2009	Doble centrifugación. 2x y 4x PRP. Activación con $CaCl_2$	Fibroblastos de tendón tratados 3 d con suero liberado de gel de PRP	Proliferación, morfología, VEGF, HGF, procolágeno tipo I, HA	PRP aumenta la proliferación y la expresión de HA y VEGF
Anitua 2005	Centrifugación simple. 2x PRP. Activación con $CaCl_2$	Células de tendón (ACL) tratadas 6 días con suero liberado de gel de PRP.	Proliferación. IGF, TGF, PDGF, VEGF, HGF y EGF a distintos tiempos	PRP aumenta la proliferación y la concentración de PDGF, TGF, VEGF y HGF.EGF disminuye.
Carofino 2012	Centrifugación simple da un 2.6x PRP y doble centrifugación da un 3.3x PRP. Usan ACP de Athrex (Arthrex Naples, FL)	Células de tendón derivadas de bíceps, tratados con 2.6xPRP ó 3.3 PRP y/o anestésicos.	Proliferación y viabilidad celular	PRP aumenta la proliferación. El tto con anestésicos locales y PRP disminuye la proliferación y la viabilidad celular.
De Mos 2008	Triple centrifugación. 2.55x PRP. Activación con $CaCl_2$	Células de tendón de la rodilla, tratadas 14 d con suero liberado de gel de PRP ó PPP	Medidas a distintos tiempos de proliferación de colágeno total, expresión de COL1, COL3, MMP1, MMP3, MMP13, TGF y VEGF.	PRP aumenta la proliferación y la expresión de VEGF y TGF, colágeno total aumenta al día 14. Expresión de COL1 y COL3 disminuye pero el ratio COL1:COL3 se mantiene.
De Mos 2009	Triple centrifugación. 2.8x PRP. Activación con $CaCl_2$	Células de tendón de Aquiles sanos y tendinopáticos diferenciadas con medio condrogénico y tratadas 7 d con PRP.	Expresión de genes de linaje condrogénico Sox9, COL2A1, COL10A1. Tinción de GAGs y H&E.	Mayor expresión de marcadores de cartílago en células de tejido tendinopático. El PRP disminuye la expresión de dichos marcadores.
Jo 2012	Geles de 5x PRP activados con gluconato de calcio con ó sin trombina.	Células del manguito rotador tendinopático tratadas 7 y 14 d con PRP.	Proliferación, expresión de genes de MEC, colágeno y GAGs totales.	PRP aumenta la proliferación, la expresión de síntesis de COL1 y COL3, y el contenido de GAGs.

BaboldaShti 2011	Centrifugación simple 1.4x-3.35x. Activación con trombina bovina.	Células derivadas de tendón de la rodilla cultivadas con PRP, ciprofloxacino o dexametasona con o sin PRP.	Viabilidad celular y senescencia.	PRP aumenta la viabilidad celular, incluyendo la de las células tratadas con los fármacos. La senescencia disminuye en la dexametasona+PRP.
Zhai 2012	Doble centrifugación 3x-10x PRP.	Células derivadas del tendón de la rodilla cultivadas con ó sin PRP y con ó sin osteoblastos.	Proliferación celular, COL1, Vimentina, COL3, VCAM-1	PRP aumenta las tasas de crecimiento celular y disminuye la inhibición de la proliferación inducida por citoquinas.

Modificada de Baksh et al [Baksh N, 2012]. PRP: plasma rico en plaquetas, PPP: plasma pobre en plaquetas, VEGF :factor de crecimiento vascular endotelial, HGF: factor de crecimiento hepático, IGF: factor de crecimiento insulínico, TGF: factor de crecimiento tisular, PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas, EGF: factor de crecimiento epidérmico, HA ácido hialurónico, ACL: ligamento cruzado anterior, CaCl2: cloruro de calcio, COL1: colágeno tipo I, COL3: colágeno tipo III, MMP1: matriz metaloproteasa I, MMP3 matriz metaloproteasa tipo III, MMP13 matriz metaloproteasa tipo 13, Sox9: región determinante del sexo SR Y del cromosoma Y, COL2A1:colágeno II alfa1, COL10A1: colágeno 10 alfa1, GAGs. Glucosaminoglicanos, H&E: hematoxilina eosina, VCAM-1: molécula de adhesión celular vascular 1, MEC: matriz extracelular.

2) Investigación preclínica in vivo

La deposición y la síntesis de colágeno ha sido estudiada en los distintos modelos de tendinopatía [Kajikawa Y, 2008; Bosch G, Rene 2011; Bosch G, 2010; Lyras DN, Kazakos K…ArchOrthop Trauma Surg 2009], así como la fuerza mecánica de los tendones tratados con PRP [Kajikawa Y, 2008; Lyras DN, Kazakos K…ArchOrthop Trauma Surg 2009; Spang JT, 2011; Virchenko O, 2006], encontrándose un aumento en la síntesis y deposición de colágeno; y un aumento de la fuerza mecánica del tendón en el 75% de los estudios, respectivamente.

Tres estudios [Lyras D, Kazakos K… IntOrthop 2010; Lyras D, 2010; Lyras D, 2011], que examinaron el efecto del PRP en la cantidad de factores de crecimiento presentes en el tendón rotuliano de conejos que había sido seccionado tras tratamiento con PRP, reportaron un aumento significativo en el nivel de factores de crecimiento TGF-b1 e IGF.

Además, varios estudios *in vivo*, reportaron una aceleración de la curación y una mejor organización de las fibras y los haces de colágeno. Además, se observó unas regresión del tejido de granulación más rápida en los grupos tratados con PRP, comparando con los controles, lo que indica una tasa de reparación mayor [Lyras DN, IntOrthop 2010; Lyras DN, FootAnkleSurg 2011; Anitua E, 2006; Lyras DN, ArchOrthop Trauma Surg 2009; Lyras DN, FootAnkleSurg 2010].

También se examinó la vascularización [Bosch G, Moleman, 2011] en tendón de Aquiles [Lyras DN, 2009] y rotuliano de conejos [Lyras D, Kazakos K… IntOrthop 2010], además de en tendones digitales flexores de caballos y en tendón de Aquiles de ovejas [Anitua E, 2006], tras el tratamiento con PRP de las distintas lesiones inducidas, y los tres estudios reportaron un aumento de la vascularización y/o del flujo sanguíneo en el lugar de la lesión, lo que puede indicar que el PRP facilita el proceso de reparación, incrementando la angiogénesis en el lugar de la lesión [Baksh N, 2013].

Todos estos hallazgos pueden indicar que el PRP, en los distintos modelos animales de tendinopatía y en comparación con los controles habitualmente tratados con suero salino, produjo una aceleración de la reparación de la lesión así como una mejor organización de la MEC y un aumento de fuerza tensora del tejido. Esto podría traducirse, en el tratamiento con PRP de las tendinopatías en humano, en la posibilidad de realizar rehabilitación más pronto, disminuyendo las complicaciones asociadas a la inmovilización, un regreso más rápido a la actividad y una mayor satisfacción del paciente [Baksh N, 2013]. Aun así, la traslación de estos resultados en animales, debe hacerse con cautela hasta que la investigación sea realizada de manera rigurosa en ensayos clínicos controlados. Como hemos visto se han realizado múltiples estudios de investigación *in vivo* del efecto del PRP en tendinopatías inducidas en animales, pero una vez más, comparar los estudios resulta complicado por varias razones: la cantidad de plaquetas y el enriquecimiento del PRP no es el mismo en todos los estudios, incluso en alguno de ellos no se indica; se utilizan distintos tipos de animales (ratas, conejos, caballos), que son de distintos tamaños, difícilmente comparables. Además, el tendón utilizado (aquíleo, rotuliano, flexor digitalis) y la pauta de administración del PRP varía.

vi. Evidencias clínicas de eficacia de la utilización de PRP en tendinopatías

Son muchos los estudios realizados para demostrar la eficacia del PRP en el tratamiento de las tendinopatías tanto de miembro superior como de miembro inferior.

1) Miembro inferior

Los tendones más comúnmente tratados en miembro inferior, son el aquíleo, el patelar y la fascia plantar.

i. **Tendinopatía patelar:** Las ortosis, pueden aliviar el dolor durante la actividad, pero cuando los métodos conservadores fallan, el PRP puede ser utilizado antes de recurrir a la artroscopia o a la cirugía abierta, para conseguir una recuperación más temprana. Un reciente metaanálisis [Andía I, 2016] examinó un total de 12 estudios clínicos, 4 controlados y 8 series de casos, que involucraba una población recreacional, profesional y deportistas semiprofesionales. Un estudio que comparó el L-PRP a la tenotomía seca, evidenció mejores resultados a las 12 semanas, pero no a las 26 [Dragoo JL, 2014]. Vetrano et al, encontraron mejoría con 2 inyecciones de PRP, mayor a los 6 y 12 meses [Vetrano M, 2013]. Zayni et al., publicó mejores resultados con 2 inyecciones de p-PRP que con 1 [Zayni R, 2015]. Kaux et al., con la inyección de 6 mL de PRP en 1 ó dos inyecciones, no encontraron cambios en los hallazgos de MRI o ecografía, la reducción de dolor se mantuvo 1 año, el 70% retornó al deporte, y de estos el 64% no sintió dolor y el 50% recuperó el mismo nivel deportivo [Kaux JF, 2015].

ii **Tendinopatía aquílea:** en este mismo metaanálisis, se examinaron un total de 9 estudios, 3 controlados, y 5 realizando la inyección con guía ecográfica. De Vos et al realizó un ensayo randomizado comparando L-PRP a suero salino, sin evidenciar diferencias en el Victorian Institute of Sports Assessment Aquilles, ni en la estructura valorada con ecografía [De Vos RJ, 2010]. Otro ensayo piloto randomizado y controlado comparando L-PRP con terapia física excéntrica no vio diferencias significativas en un seguimiento de 6 meses [Keraney RS, 2013]. De un total de 32 pacientes con tendinopatía no insercional tratados con PRP, 25 se recuperaron, volviendo a la actividad física, evitando más intervenciones. Otro grupo de pacientes que recibió 3 inyecciones para tratar una tendinopatía no insercional, mejoraron significativamente a los 2-6 meses y esa mejoría se mantuvo durante 4,5 años [Deans VM, 2012]. En un estudio retrospectivo, comparando la inyección de PRP en 2 tandas en 73 pacientes, con otros 72 pacientes tratados con rehabilitación acelerada, no hubo diferencias entre los dos grupos a 1 y 2 años de seguimiento [Kaniki N, 2014]. Guelfi et al, publicaron los resultados de la infiltración intra y peritendinosa de 6 mL de L-PRP, junto con un programa de rehabilitación basado en ejercicio excéntrico, con un seguimiento de 50 meses, con resultados satisfactorios a los 6 meses [Guelfi M, 2015].

Aunque el PRP muestra beneficios potenciales, las actuales evidencias son alentadoras, pero limitadas, siendo preciso más estudios comparativos con los más adecuados controles en cada condición concreta.

2) Miembro superior

i. Epicondilopatías: Se han identificado 15 ensayos clínicos randomizados en tendinopatía del epicóndilo (epicondilitis). 2 estudios contenían 3 brazos, comparando PRP o corticoides con salino [Krogh TP, 2013] y un estudio reciente comparaba PRP con anestésicos o corticoides [Palacio EP, 2016]. El diseño estándar de 2 brazos en paralelo, se utilizó en el resto de estudios.

En general, el diagnóstico se estableció en base al examen clínico, raramente corroborado por cambios ecográficos. Muchos estudios incluyeron pacientes en los que otros tratamientos habían fallado (segunda línea de tratamiento), pero Montalvan et al [Montalvan B, Rheumatology 2016] y Palacio et al [Palacio EP, 2016], examinaron la eficacia potencial del PRP como primera línea de tratamiento en pacientes que no recibieron otros tratamientos. Normalmente se inyectan anestésicos locales en grasa subcutánea, suprayacente al tendón, excepto en un estudio donde se mezclaba anestésico local y PRP [Peerbooms JC, 2010; Gosens T, 2011]. Tenotomía asociada con tratamiento se realizó en 9 estudios. La mayoría de los estudios se realizó guiado por ecografía, excepto en los estudios de Lebiedzinsky et al [Lebiedzinsky R, 2015] y Palacio et al [Palacio EP, 2016].

El PRP ha sido comparado con corticoides en 8 ensayos, incluyendo un total de 255 pacientes tratados con PRP y 246 pacientes con corticoides [Gautam VK, 2015¸Khaliq A, 2015; Lebiedzinsky R, 2015; Omar AS, 2012; Peerbooms JC, 2010; Gosens T, 2011; Yadav R, 2015; Creaney L, 2011:Raeissadat SA, 2014; Thanasas C, 2011; Behera P, 2015; Mishra AK, 2014; Stenhouse G, 2013; Montalvan B, Le Goux P…Rheumatology 2016; Krogh TP, 2013]. El seguimiento va de 3 semanas [Khaliq A, 2015] a 24 meses [Gosens T, 2011]. El número de pacientes por estudio fue de 15 [Omar AS, 2012], que no encontró diferencias después de 6 semanas, hasta 53 [Lebiedzinsky R, 2015], que reportó la superioridad del PRP, pero solo a largo plazo (1 año vs. 6 semanas o 6 meses). Otro estudio que reclutó 50 pacientes por brazo, mostró que el PRP era superior a los corticoides a los 6 meses [Peerbooms JC, 2010], y a los 12 y 24 meses [Gosens T, 2011].

El PRP ha sido comparado con inyecciones de sangre periférica completa en 3 ensayos randomizados controlados (RCTs) [Creaney L, 2011; Raeissadat SA, 2014; Thanasas C, 2011].Thanasas et al.[Thanasas C, 2011], examinó 28 pacientes y mostró una gran reducción del dolor en el grupo del PRP a las 6 semanas, pero no a los 3 y 6 meses. Creaney et al., [Creaney L, 2011] examinaron 150 pacientes y no evidenciaron diferencias entre el grupo de PRP y el de sangre autóloga a los 3 y 6 meses. En total el 70% de los pacientes mejoraron con la inyección de tratamiento.

Raeissadat et al. [Raeissadat SA, 2014], no encontraron diferencias entre los dos grupos, tras varias medidas de resultados a 1,3, 6 y 12 meses.

Behera et al. [Behera P, 2015] and Mishra et al. [Mishra AK, 2014], randomizó pacientes para recibir inyección de PRP o anestésico. Ambos estudios mostraron una superioridad del PRP, usando una técnica de punción consistente en 5-6 fenestraciones del tendón con una sola entrada en piel.

El PRP fue comparado con tenotomía seca en 1 estudio, que reveló una tendencia a mejores resultados, en el grupo del PRP, sin embargo el estudio estaba poco balanceado, al incluir solo un total de 28 pacientes, 15 tratados con PRP y 13 controles. Palacio et al. [Palacio EP, 2016], desarrollo un RCT comparando 3 diferentes inyecciones: PRP, 0,5% neocaina, y dexametasona. El PRP se obtuvo con un protocolo no comercial que incluía 2 ciclos de centrifugación (a 400 y 800 g durante 10 minutos), pero las características del producto no fueron descritas. Todos los pacientes recibieron una inyección única de 3 mL, sin guía ecográfica, y los resultados a 3 y 6 meses no arrojaron diferencias entre los tratamientos, medidos por tablas DASH y PRTEE.

Dos estudios más fallaron para mostrar superioridad del PRP sobre la inyección de suero salino [Montalvan B, Rheumatology 2016; Krogh TP, 2013]. Montalvan et al. [Montalvan B, 2016], desarrolló un estudio en pacientes que habían sufrido tendinopatía durante menos de 3 meses y no habían recibido ningún tratamiento. Inyectaron PRP, con tenotomía, 2 veces, separadas 4 semanas. Los resultados fueron similares en ambos grupos, de manera que el efecto positivo sobre la reducción de dolor fue atribuido al efecto de las tenotomías.

Las terapias físicas utilizadas en la epicondilopatía, y que se han comparado con el PRP, incluyen la terapia con ondas de choque extracorpóreas [Othman AMA, 2014] y las terapias con laser [Tetschke E, 2015; Tonk G, 2014]. Dos estudios [Othman AMA, 2014; Tetschke E, 2015] reportaron diferencias significativas a favor del PRP y 1 estudio reportó eficacias similares [Tonk G, 2014] 1 año después del tratamiento. En este caso, el tratamiento con láser incluyó 12 sesiones, por lo que el autor enfatiza la necesidad de pacientes colaboradores y la inversión de excesivo tiempo, para conseguir similares resultados.

También hay estudios comparando las terapias con PRP a la cirugía, que ayudan a clarificar el valor desde el punto de vista económico. Dos estudio, retrospectivamente, comparan la inyección con PRP con la liberación quirúrgica del origen del extensor. Ford et al. [Ford RD, 2015] compararon los resultados clínicos de 28 pacientes que recibieron una inyección blindada de 3 a 5 mL de PRP, seguido de protocolos de estiramiento durante 2 semanas. Ambos grupos reportaron similares tasas de reducción el dolor, y el 82% de pacientes de ambos grupos se

incorporó a su trabajo. En este sentido, el PRP reduce el riesgo potencial asociado a una intervención quirúrgica.

Más recientemente Karaduman et al [Karaduman M, 2016] comparó 55 codos tratados quirúrgicamente (44 pacientes) con 60 codos (36 pacientes) tratados con inyecciones ecoguiadas de 5-6 mL de L-PRP. Se realizó rehabilitación posprocedimiento en todos los pacientes. A 2 y 6 meses postratamiento, el grupo del PRP registró mejores resultados en el VAS y las tablas Mayo de codo, que el grupo quirúrgico y esa mejoría continuó al año, ganando fuerza de prensión (ver tabla V).

Tabla V. Estudios randomizados controlados en tendinopatía de codo.

Referencias	Diseño del estudio/población	Formulación del PRP/Procedimiento	Comparador	Resultados
PRP vs. Corticoides				
Gautam et al	RCT/pacientes con epicondilopatía recalcitrante (>6m) que no responde a medicación oral y tto conservador	2 mL de PRP, centrifugación única, composición no descrita. Técnica peppering. N=15	Corticoides N=15	VAS, DASH, Tabla Oxford de codo, tabla de Mayo modificada, fuerza prensora de la mano, morfología y vascularización; 2 s, 6s, 3 y 6m. Recurrencia de los síntomas en el grupo de corticoides a los 6 m. El PRP da efectos más duraderos. En el grupo de corticoides, el número de pacientes con erosión cortical y grosor reducido se incrementó a los 6 m. El número de pacientes con hallazgos ecográficos positivos para epicondilitis, se edujo en el grupo del PRP.
Khaliq et al	RCT/ pacientes consecutivos, excluidos aquellos con cirugía de mano	3 mL PRP, formulación de PRP no descrita. Técnica peppering, N=51	2mL de prednisolona acetato +1mL2% xylocaina-Inyección de corticoide alrededor del tendón. N=51	VAS a las 3 s, el PRP mejora la reducción del dolor.
Lebiedzinsky et al	RCT/tendinopatía crónica/>6 s	PRP puro (ACP) 3 mL, no ecoguiado, inyecciones subcutáneas, N=53.	Betametasona 1 mL+ 2 mL 1% lignocaina, N=46	6s, 6m 1 a; DASH mejor en grupo de corticoide a las 6 s y 6 m; DASH mejor en grupo de PRP al año, pero no antes.
Omar et al	RCT/pacientes con dolor e impotencia	L-PRP (plt>2x), N=15	Corticoides N=15	6 s; no diferencias significativas entre los 2 grupos en VAS y DASH.
Peerbooms et al	RCT/pacientes crónicos	L-PRP 3 mL (plt: 4-8x, WBC: 6x)	Corticoides N=49	VAS, DASH; 6,12 y 24 m; el PRP reduce dolor y mejora función, superando el efecto de la inyección de corticoide.

Gosens et al		Tenotomía, 5 fenestraciones.Hidrocloruro de bupivacaina 0,5% con epinefrina. N=51		2s, 1 y 3 m dolor (VAS), DSAH-rápido, fuerza prensora VAS: CC superior a PRP a las 2 s y 1 m. PRP mejor a los 3 m. DASH: mejor en grupo de CC a las 2 s y 1 m, superioridad del PRP a los 3m.
Yadav et al	RCT Duración de los síntomas de 1-6 m, 2 s sin medicación antiinflamatoria	1 mL PRP, contaje de plaquetas >10^6 Plt/μL (sistema no comercial) N=30	1 mL (40 mg), metilprednisolona, N=30	6 m: mejoría en ambos grupos pero no diferencias entre grupos en PRTEE: alta proporción de fallos (eliminados de cirugía) en ABI 12/17 vs. 7/24 en PRP. Tasa de éxito (50% mejoría) a los 6 m: 66% de PRP vs.72% ABI.
PRP vs. sangre periférica				
Creaney et al	RCT/tendinopatía recalcitrante	1,5 mL de PRP. Moderada concentración de plt (Plt:2,8 x) y leucocitos (centrífuga única). Inyectado en los focos de hipoecogenicidad, no tenotomía. 2 inyecciones con 1 m de intervalo; N=80	Sangre. N=70	4 y 8 s, 6 y 12 m. Ambos ttos son efectivos, el PRP no es superior a la sangre autóloga, valorado por el VAS, el índice modificado Mayo de función, PTT/
Raeissadat et al	RCT/pacientes con epicondilitis crónica lateral con duración de síntomas superior a 3 m y severidad del dolor > 5/10	2mL de L-PRP (Plt: 4-6x), 2 mL 1% lidocaina, inyección en el punto del codo de máximo dolor. Peppering técnica distribuida en el sentido de las agujas del reloj. N= 31	2 mL de sangre, 2 ml de 1% lidocaina. N=30	6 s, 3 y 6 m; mejoría significativa en VAS, solo a las 6 s(PRP: 3,8 vs ABI: 2,5, P<0,05); no diferencia en función. Tabla Liverpool de codo.
Thanasas et al	RCT/no inyecciones previas, síntomas desde 3 m	3 mL de L-PRP (Plt: 5,5x, WBC: 6x) Buffered + fisioterapia/peppering, N=14	Sangre, N=14, Técnica peppering	VAS, MMCPIE, y tabla Nirschl; 1, 3 y 6 m, y 1 a; VAS, MMCPIE, y tabla Nirschl mejor en PRP a 6 m y 1 a.

PRP vs anestésicos				
Behera et al	RCT/tendinopatía epicondílea lateral dolorosa y recalcitrante	PRP pobre en leucocitos 3mL + 0,5 mL $CaCl_2$. Moderada concentración de plaquetas 600-800x10^3 Plt/μL. Deplección de leucocitos por filtración. Técnica peppering, 5-6 fenestraciones, N=15	Bupivacaina, N=10 3mL + 0,5 mL salino	4,8,12 y 24 s; mejoría significativa del VAS a las 24 s en el grupo de PRP, y un menor número de pacientes reportando molestias con PRP a las 12 y 24 s. Tasa de porcentaje de éxito a las 24 s (reducción >25% en VAS) significativamente mayor en PRP, PRTEE
Mishra et al	RCT/pacientes con síntomas de >3m. Fallo de la terapia convencional	L-PRP 3-3 mL (Plt: 4-8x, WBC: 6x) Bufered, pepering técnica de 5 fenestraciones, N=116	Bupivacaina 2-3 mL, N=114	2 y 6 m; no diferencias significativas entre los dos grupos de tto valorado por VAS y tabla Nirschl
PRP vs tenotomía seca				
Stenhouse et al	RCT/pacientes con fallo de tto conservador, síntomas> 6m. Diagnóstico ecográfico: cambios en la neovascularización y ecogenicidad	2 mL de PRP puro/tenotomía. N=15 2 procedimientos 0-1 m	Tenotomía seca, 50-60 pases (23 G), 2 veces, con 1 m de intervalo. N=13 2 procedimientos 0-1 m	1, 3, 6 y 12 m; VAS, tabla Roles-Maudsley, desencadenamiento de dolor con la contracción isométrica; no diferencias entre grupos.
PRP vs. Salino				
Montalvan et al	RCT/<3m epicondilitis nunca tratada previamente	2mL PRP puro, SC 2 mL 1% lidocaína N=25 2 inyecciones con 4 s de intervalo	2 inyecciones ecoguiadas de salino, N=25	3m; no diferencias valoradas por PRTEE VAS (dolor y duración del dolor causada por el tto)
Estudios de triple brazo				
Krogh et al	RCT/pacientes con síntomas de > 3 m	3-4 mL de L-PRP (Plt: 4-8x, WBC: 6x) Buffered, pepering técnica para PRP y salino, (5-7 fenestraciones), no para corticoides, N= 20	Salino: 3mL, N=20 Glucocorticoide (1 mL de triancinolona+2mL de lidocaína), N=20	Eco y actividad Dppler color A 3 m los corticoides redujeron la actividad Dpp y el engrosamiento tendinoso A 3 m, resultados positivos con PRP y corticoides, pero sin diferencias estadísticamente significativas entre los 3 grupos

Palacio et al	RCT/pacientes sin tto previo	3mL de <PRP, formulación NR, intervención ciega, N=20	Neocaina, N=20 Dexametasona, N=20	No diferencias a 3 y 6 m en DASH y PRTEE
PRP vs.terapias físicas				
Othman et al	Caso-control nivel III Síntomas de al menos 6 m. Dolor > 5	PRP (NR), N=17	ESWT, N=20	Seguimiento entre 7 y 40 m, ambos grupos mejoraron, sin diferencias en VAS, mejores resultados en el DASH en el grupo de PRP
Tetschke et al	< 3 m de síntomas. Tto conservador ineficaz	3-5 mL PRP puro, 3 inyecciones con 1s de intervalo N=26 No ecoguiado	12 aplicaciones de laser 2 ses/sem N=26 Ambos grupos recibieron fisioterapia estándar	VAS y DASH 2, 6 m, y 1 a; mejoría significativa pero sin diferencias entre los ttos. 73,1% de pacientes tratados con éxito con PRP y 53,8% en el grupo de laser
Tonk et al	Sin respuesta a codera, NSAIDs, y terapia con frío; pacientes subagudos y crónicos	3 mL de PRP puro, concentración de plt 5x, N=39	Laser de baja intensidad durante 10 d, N=42	Escala Nirschl de dolor a los días 7, 15 y 21, y a los 3, 5, 6 y 12 m. El dolor se reduce continuamente en ambos grupos y desde los 3 m la puntuación de dolor es significativamente menor en el grupo del PRP
Inyecciones de PRP vs. Cirugía				
Ford et al	Estudio de cohortes retrospectivo nivel III	3-5 mL de PRP puro, técnica peppering. Moderada concentración de plt., N=28	Liberación quirúrgica y decorticación N=50	10-12 m, similares resultados en la reducción del dolor, fuerza prensil, y retorno al trabajo
Karaduman et al	Estudio de cohortes retrospectivo nivel III	Buffered L-PRP, técnica peppering , N=36	Cirugía, técnica de liberación lateral (Nirschl), N=44	1, 2, 6 y 12 m; tras 2 y 6 m, el PRP mejor en VAS y tabla Mayo de codo, e incrementa la fuerza prensil. No diferencias a los 12 m

ASES: American Shoulder and Elbow Surgeons; ESWT: terapia de ndas de choque extracorpóreas; DASH: Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand; L-PRP: plasma rico en plaquetas y leucocitos; NR: no reportado; Plt: plaquetas; PRTEE: Patient Related Tennis Elbow Evaluation; RCT: Randomized Control Trial; VAS: Visual Analogic Scale; WBC: glóbulos blanco.

El número de estudios clínicos (controlados y no controlados) de PRP publicados en la literatura médica de ha triplicado en los últimos 2 años y el número de RCTs se ha duplicado [Andía I, 2016; Filardo G, 2016; Miller LE, 2017; Saltychev M, 2018]. Aunque claramente demuestran que el PRP es seguro, aún quedan muchas cuestiones sin resolver sobre la formulación e intervención ideal con PRP para tratar lesiones tendinosas específicas, y sobre que tendón o en qué estadio de su lesión pueden estar indicadas las terapias con PRP. Los corticoides locales han sido ampliamente utilizados para reducir el dolor, y aunque a corto plazo son eficaces, incrementan el riesgo de recurrencia de la epicondilopatía [Coombes BK, 2013]. A largo plazo el PRP es superior a los corticoides. Del mismo modo el PRP liberado con tenotomía es superior a los anestésicos, pues se ha demostrado en experimentos *in vitro* que los anestésicos perjudican las células tendinosas [Carofino B, 2012]. Aunque la sangre periférica puede mejorar el dolor y la funcionalidad como el PRP, tiene mayor riesgo de ocasionar reacciones adversas [Arirachakaran A, 2016].

Varios factores pueden explicar porque no existe una evidencia concluyente de la efectividad del PRP en el codo. Primero, los sistemas de medición de las lesiones de codo son diversas, y esta heterogeneidad hace difícil la homogenización de los resultados de los diferentes ensayos [Andía I, 2014]. Segundo, aunque la medida del dolor y la función son recogidas secuencialmente para evaluar los resultados, los cambios del dolor pueden estar predispuestos por todo una serie de factores psicosociales, características personales (distres, ansiedad) incluso por una hipersensibilidad del sistema nervioso central [Woolf CJ, 2011]. Tercero, la evolución de los signos patológicos, incluidos la vascularización de la entesis, la hipoecogenicidad, roturas, calcificaciones o irregularidades corticales, no son apreciables a corto-medio plazo, y los intentos por evidenciar estos cambios tras el tratamiento, en el seguimiento a largo plazo, son escasos. Por último, las discrepancia en los resultados clínicos pueden ser atribuidas a diferencias en las poblaciones de pacientes y en las formulaciones de PRP [Dohan Ehrenfest LV, 2014]. El PRP la mayor parte de las veces se usa como intervención de segunda línea. Realmente, la epicondilitis se resuelve espontáneamente en un buen número de pacientes, y nuestra insuficiente comprensión del curso de la lesión, impide que diseñemos su estudio correctamente, dado que no podemos establecer en que tiempos de la lesión realizamos la intervención, para que los resultados sean comparables.

Sigue siendo motivo de controversia saber cuál es la formulación de PRP mejor. Aunque un reciente metaanálisis [Fitzpatrick J, 2017] concluye que el L-PRP es superior al PRP puro, investigaciones en células de tendón humano indican que

el PRP puro (empobrecido en leucocitos) tiene mayores propiedades anabólicas en términos de síntesis de colágeno [Boswell SG, 2014; Cross JA, 2015; Rubio-Azpeitia E, 2016¸Zhou Y, 2015] y el L-PRP es más pro-catabólico, valorado por la expresión de MMP [Boswell SG, 2014; Rubio-Azpeitia E, 2016¸Zhou Y, 2015]. Esencialmente la reducción de leucocitos es más importante que el incremento de plaquetas, en términos de reducción de la inflamación y de incrementar el anabolismo de la matriz [Boswell SG, 2014]. Respecto al estatus inflamatorio molecular, el L-PRP es más proinflamatorio [Rubio-Azpeitia E, 2016; Mc Carrel TM, 2012]. Es más, el L-PRP tiene efectos negativos sobre las células madre del tendón comparado con el PRP puro, al estar asociado con una mayor apoptosis, menor proliferación y síntesis reducida de colágeno tipo I [Zhang L, 2016]. Además, el L-PRP favorece que las células madre del tendón se diferencien a células no-tenocitos, que producen más factores inflamatorios [Zhang L, 2016]. De acuerdo con todos estos datos experimentales, el PRP libre de leucocitos con concentración moderada de plaquetas parece ser el más apropiado.

También es importante que los efectos del PRP son diferentes dependiendo del grado de severidad de la lesión tisular [Cross JA, 2015].

HIPOTESIS Y OBJETIVOS

2. HIPOTESIS Y OBJETIVOS

A. JUSTIFICACIÓN

La justificación de este trabajo, viene dada por la elevada prevalencia que tienen las tendinopatías, sus notables repercusiones, tanto personales como económicas y sociales, lo que unido a la falta de tratamiento ideal para su abordaje, lo convierte en un tema de interés para la investigación biomédica.

La tendinopatía es un problema crónico degenerativo que cursa con dolor e incapacidad funcional. Con el desarrollo de las terapias biológicas existen nuevas oportunidades para mejorar el tratamiento de las tendinopatías y la calidad de vida de los pacientes afectados.

El término tendinopatía se utiliza para describir un síndrome caracterizado por una combinación de dolor durante la actividad, inflamación (difusa o localizada) e incapacidad funcional. Es una enfermedad crónica muy prevalente en la población, asociada al sobreuso y a algunas enfermedades metabólicas comunes como hipercolesterolemia o diabetes entre otras [Abate M, 2012]. Las tendinopatías no amenazan la supervivencia, pero disminuyen mucho la funcionalidad y la calidad de vida, originando largas bajas laborales con clara repercusión económica y social. Diversos factores pueden aumentar la vulnerabilidad como son las actividades deportivas muy intensas, los trabajos físicos repetitivos, las condiciones ambientales adversas o errores de entrenamiento deportivo. Además, factores intrínsecos como la edad, patologías osteoarticulares o enfermedades sistémicas metabólicas, pueden modificar el metabolismo del colágeno y la microcirculación [Abate M, 2012].

Los problemas en tendones, en distintas localizaciones anatómicas, son prevalentes en la población general. Los hallazgos histopatológicos muestran degeneración intratendinosa, y a menudo no aparecen los signos clásicos de inflamación, es por ello que el termino tendinitis resulta inapropiado. Se utiliza con más precisión el término tendinopatía (Sharma&Maffulli, 2006). La tendinopatía ocurre cuando el tejido no se repara con la suficiente eficacia o cuando el equilibrio entre anabolismo y catabolismo, responsable de la homeostasia del tendón, está desplazado en favor del último. Por tanto, las hipótesis fisiopatológicas actuales se centran en la apoptosis celular y la angiogénesis alterada, a menudo acompañada de inervación y dolor. Estas hipótesis son todas útiles y no son mutuamente

excluyentes, ya que estos procesos pueden ocurrir simultáneamente o se pueden corresponder con distintas etapas temporales [Andia, I, 2010].

El fundamento teórico para aplicar plasma en las tendinopatías es proporcionar factores cicatrizantes al tendón, que por su naturaleza avascular no tiene recursos naturales para autorepararse. Indudablemente, suministrando factores biológicos vamos a modificar las condiciones en el entorno pericelular y la activación celular. De esta forma podremos cambiar una situación patológica crónica en una situación aguda con potencial de reparación [Andia A, 2012].

Es conocido que el éxito de la reparación tisular depende de un conjunto de mecanismos biológicos que están influenciados y coordinados por un conjunto de factores de crecimiento y citoquinas procedentes del plasma y de las plaquetas [Andia, I, 2010]. Así por ejemplo, en estos últimos años los plasmas ricos en plaquetas (PRPs) han captado la atención tanto de científicos como clínicos por su capacidad para almacenar factores de crecimiento y otras moléculas cicatrizantes [Anitua E, 2004].

Terapias biológicas, como el PRP, precisan ser investigadas, dado que, aunque cuentan con la creencia popular y profesional de su eficacia, al menos en el alivio del dolor, aún hoy no se ha podido establecer científicamente su eficacia clínica [Andía I, 2016; Filardo G, 2016; Miller LE, 2017; Saltychev M, 2018], por lo que su indicación no está incluida entre los tratamientos ofertados por la Sanidad Pública y no cuenta con la cobertura de las aseguradoras.

Los resultados actuales de la utilización de PRP en patología tendinosa indican que el conocimiento actual debe ser mejorado y se deben examinar diversos aspectos relacionados con el tratamiento. Además, se necesitan estudios adicionales para determinar con precisión cuál es la mejor indicación, en qué fase de la enfermedad debe ser administrado el tratamiento, cuantas dosis, y la mejor técnica de administración.

Se necesitan estudios con monitorización en tiempo real que permitan establecer correlaciones entre la respuesta clínica al tratamiento, y los cambios que se observan en las imágenes ecográficas.

Por último este trabajo constituye una oportunidad para demostrar como las técnicas clínicas de imagen, es este caso la ecografía, juegan un papel fundamental, no solo para el diagnóstico y control evolutivo, en este caso de la tendinopatía, sino también para el perfecto abordaje y ubicación de los focos más alterados del tendón para dirigir la tenotomía e infiltración asociada, fundamental para conseguir los resultados más óptimos.

B. HIPÓTESIS

La amplia utilización de las Terapias derivadas de la sangre autóloga, como el plasma rico en plaquetas (PRP) y su impacto en distintas áreas de la medicina, especialmente en Traumatología y Medicina del Deporte, ha llevado a plantear las hipótesis de esta Tesis:

- La tenotomía con aguja ecoguiada originaría un trauma adicional en la epicondilopatía crónica recalcitrante y esta intervención asociada con PRP podría mejorar la sintomatología clínica (dolor y función), respecto a la tenotomía húmeda con lidocaína.
- Por otra parte, los factores demográficos, clínicos y las características ecográficas basales del tendón podrían modificar el efecto clínico de la tenotomía y su descripción podría indicar en que subtipos (perfil) de pacientes estaría mejor indicado el tratamiento (intervención).
- Además, en base al amplio conjunto de citoquinas cicatrizantes contenidas en el PRP, éste podría tener un efecto sinérgico con la tenotomía y podría regenerar el tendón (recuperación de la estructura) manteniendo el efecto terapéutico a largo plazo.

C. OBJETIVOS

i. Objetivos principales:

1) Valorar si la tenotomía con PRP mejora el efecto terapéutico de la tenotomía húmeda con lidocaína, en cuanto a mejoría de la función y dolor a 6 semanas, 3, 6 y 12 meses, medido mediante la escala DASH-E y VAS-P, en los pacientes con epicondilopatía crónica recalcitrante (medial o lateral). *(Artículos I y II)*

2) Investigar si las característica demográficas, factores clínicos y hallazgos ecográficos o sus interacciones, están relacionados con la probabilidad de responder positivamente a la tenotomía con aguja durante un periodo de seguimiento de un año. *(Artículo III)*

3) Investigar si la tenotomía con aguja ecoguiada, induce algún cambio en las características ecográficas del tendón afecto a lo largo de un periodo de seguimiento de 20 meses. *(Artículo IV)*

ii. Objetivos secundarios

1) Valorar la eficacia clínica y la seguridad del PRP en la epicondilopatía crónica. *(Articulo II)*

2) Valorar si los tiempos de seguimiento son apropiados. *(Articulos II y IV)*

3) Valorar si existe alguna relación entre los hallazgos ecográficos y los resultados clínicos. *(Articulo IV)*

4) Determinar si existe algún cambio ecográfico diferencial en los pacientes tratados con tenotomía y PRP comparando con lidocaína. *(Artículo IV)*

MATERIAL Y MÉTODO

3. MATERIAL Y MÉTODO

A. DISEÑO (ARTÍCULOS I Y II)

B-PRPtendon fue un ensayo prospectivo controlado randomizado, ciego tanto para el paciente como para el evaluador; este estudio se llevó a cabo en el Hospital Universitario de Cruces (HUC) desde abril de 2014 hasta mayo de 2017. El protocolo de estudio fue aprobado por el Comité de Etica del HUC, autorizado por la Agencia Española de Medicamentos (EudraCT 2013-000478-32) y registrado en el clinicaltrials.gov (NCT01945528). Se estimó reclutar un total de 80 pacientes, para ser aleatoriamente distribuidos en 2 grupos. Los dos grupos fueron: tenotomía percutánea ecoguiada combinada con PRP en 2 intervenciones recibidas en semanas alternas; y tenotomía percutánea ecoguiada combinada con lidocaína en 2 intervenciones recibidas en semanas alternas.

B. PACIENTES

i. Reclutamiento:

Los pacientes fueron identificados, y reclutados en el HUC y Centros de Atención Primaria de Bizkaia. Los médicos de Atención Primaria y enfermeras involucradas, comentaban el ensayo al paciente y le enviaban al traumatólogo investigador para el screening y potencial reclutamiento.

Únicamente se incluyeron en el estudio aquellos pacientes que cumplieron todos los criterios de inclusión/exclusión que se muestran en la tabla VI.

Tabla VI. Criterios de inclusión/exclusión en el ensayo B-PRPtendón.

CRITERIOS DE INCLUSION	CRITERIOS DE EXCLUSION
▪ Tendinopatía, tanto medial como lateral; ▪ Falta de respuesta al tratamiento conservador, que consistía en 4-6 semanas de medicación analgésica y antiinflamatoria (AINEs), terapia física asociada con ortosis y al menos una infiltración de corticoides en el área de dolor ▪ Dolor basal del codo superior a 3/10 durante la extensión o flexión de la muñeca con resistencia (epicóndilo lateral o medial respectivamente) ▪ Historia de al menos 2 episodios de dolor de codo de más de 10 días ▪ Duración de síntomas de al menos 3 meses ▪ Índice de masa corporal (BMI) entre 20 y 35 ▪ Conformidad a cumplir todos los procedimientos del estudio ▪ Dar el consentimiento informado por escrito	▪ Rotura completa del tendón ▪ BMI >35 ▪ Enfermedades reumatológicas sistémicas autoinmunes (enfermedades de tejido conectivo y vasculitis necrotizantes sistémica) ▪ Diabetes mellitus no controlada (Hb glicosilada por encima del 9%) ▪ Desórdenes hematológicos (trombopatía, trombocitopenia ▪ Anemia con Hb<9) ▪ Tratamiento con inmunosupresores ▪ Infiltración de corticoides locales dentro de los 3 meses de la aleatorización ▪ Antinflamatorios no esteroideos, opioides o corticoides orales dentro de los 15 días anteriores a la inclusión en el estudio ▪ Enfermedad cardiaca severa ▪ Incapacidad de cumplir las visitas de seguimiento, por trabajo o por estar largos periodos fuera de su residencia habitual ▪ Cáncer activo o cáncer diagnosticado en los últimos 5 años ▪ Diagnóstico analítico de hepatitis B, C o infección por HIV ▪ Embarazo o lactancia ▪ Personas que estuvieran tomando una droga en investigación clínica ▪ Sospecha de neuropatía cubital.

Los pacientes fueron tratados y seguidos en el HUC a las 6 semanas, 3, 6 y 12 meses postratamiento, y se les citó para realizar una valoración ecográfica a los 3, 6, 12 y 20 meses.

ii. Diagnóstico clínico

Se realizó por parte de los mismos traumatólogos que valoraron la inclusión de los pacientes.

Epicondilopatía lateral: se basó en la presencia de dolor y máxima molestia a la presión sobre el origen del extensor común en el epicóndilo lateral, dolor a la supinación del antebrazo contra resistencia, extensión activa dolorosa de la muñeca y flexión pasiva dolorosa de la muñeca.

Epicondilopatía medial: se manifestaba por la presencia de dolor distal a la inserción del flexor común e incremento del dolor con la flexión contra resistencia de la muñeca, y dolor con la combinación de extensión contra resistencia del codo con pronación del antebrazo.

iii. Tamaño de muestra

Asumimos que la mejoría relativa con la intervención con PRP fue de 1.43, suponiendo que las diferencias entre PRP y lidocaina fueron similares a las diferencias publicadas con corticoides (Peerbooms JC et al., 2010), y una pérdida de pacientes de aproximadamente un 20%. Un tamaño muestral de 80 pacientes se esperaba que proporcionara una potencia del 80% para detectar cualquier diferencia significativa entre las tasas de éxito de ambos grupos (P1= 0.93 y P2=0.65) con un nivel de significancia del 5% con cada brazo, formado por 40 pacientes.

iv. Aleatorización y cegamiento

Un investigador independiente en la Unidad de Investigación de Atención Primaria de Bizkaia (UIAPB), que no interfiere con el estudio, realizó la aleatorización en bloques de 4, utilizando EPIDA T3.1 y creó envoltorios ciegos con papel de aluminio con los números de asignación de tratamientos. Los envoltorios numerados fueron abiertos el día del tratamiento por el investigador encargado de la preparación del PRP. Todos los médicos (incluidos el traumatólogo encargado de la valoración de los resultados clínicos, el radiólogo encargado de la valoración ecográfica y el estadístico que analizaba los datos), excepto el radiólogo que realizó los procedimientos, desconocían la asignación del tratamiento. Todos los pacientes eran ciegos al tratamiento. La sangre periférica era recogida a todos los pacientes,

y en cada intervención, la jeringa que contenía el tratamiento era envuelta con papel para ocultar la visualización de su contenido.

C. PROCEDIMIENTO DE TENOTOMÍA HÚMEDA ECOGUIADA *(ARTÍCULOS I Y II)*

Practicamos el procedimiento con el paciente en decúbito supino, con el codo flexionado 110º y el antebrazo en pronación, en el caso de la epicondilopatía lateral, y en supinación en el caso de la epicondilopatía medial. Utilizamos guía ecográfica con un ecógrafo Esaote MyLab 70 XVG (Esaote S.p.A Genoa, Italy), utilizando una sonda multifrecuencia de 4-13 MHz. Todas las tenotomías fueron realizadas por un único radiólogo con más de 20 años de experiencia en ecografía intervencionista musculoesquelética. Se siguió un procedimiento estéril, similar a cualquier otro procedimiento intervencionista musculoesquelético. Se infiltró el tejido graso subcutáneo suprayacente al epicóndilo, de manera tangencial al plano del epicóndilo, de distal a proximal, con 2 ml de lidocaina con una aguja hipodérmica de 20 gauges. A continuación y sin retirar la aguja retiramos la jeringa de lidocaina y conectamos la del tratamiento (PRP o lidocaina), procediendo a insertar la aguja dentro del tendón, de forma paralela a su eje largo, de distal a proximal. El tendón fue repetidamente fenestrado (de 15 a 25 veces), redirigiendo la aguja en diferentes direcciones, con especial énfasis en los focos hipoecogénicos más vascularizados, hasta percibir un reblandecimiento del tejido. Además de fenestrar el tendón, se actuó con la punta de la aguja sobre la entesis, erosionando el periostio. Simultáneamente se infiltró el inyectable en los focos hipoecogénicos y áreas adyacentes. Los volúmenes inyectados fueron 4,23 +/- 1,09 mL (rango de 1-5) de lidocaina y 4,47 +/- 1,11 mL (rango de 1-5) de PRP. Al de 2 semanas se realizó una segunda intervención, con menos fenestraciones (10) y sin erosionar el periostio. Los volúmenes infiltrados en esta segunda intervención fueron de 4,18+/- 1,14 mL (rango de 1-5) de lidocaina y 4,53 +/- 0,88 mL (rango de 2-5) de PRP. No hubo diferencias entre los volúmenes inyectados. Tras el procedimiento a los pacientes se les recomendó reposo las siguientes 48 h y evitar levantar pesos. Los pacientes no siguieron ningún programa de ejercicios posprocedimiento, pero modificaron sus ocupaciones y redujeron actividad física a demanda.

D. PRP VS LIDOCAINA ASOCIADA A LA TENOTOMÍA *(ARTÍCULOS I Y II)*

Los grupos experimental y control recibieron dos tenotomías percutáneas ecoguiadas combinadas respectivamente con PRP o lidocaina, en dos sesiones separadas por 2 semanas.

i. Lidocaina

Se empleó lidocaina al 1%, 2 cc para fines anestésicos en la infiltración peritendón, y 1-5 cc en la infiltración intratendinosa combinada con la tenotomía. Se empleó un volumen de 4,23 +/- 1,09 mL (1-5) en la primera sesión, y 4,18 +/- 1,14 mL (1-5) en la segunda sesión.

ii. Preparación del PRP

24 ml de sangre periférica (distribuidos en 3 tubos de 9 ml conteniendo 0,9 ml de citrato sódico, Vacuette, Greiner BioiOne, Switzerland) fueron recogidos a todos los pacientes en cada intervención. El PRP puro (libre de leucocitos) fue preparado mediante una única centrifugación a 570G durante 6 minutos, y la capa de plasma fue retirada, bajo flujo laminar, evitando la aspiración de la capa leucocitaria, siguiendo nuestros procedimientos estandar habituales. El plasma se mantuvo a temperatura ambiente hasta la intervención; el retraso entre la extracción sanguínea y la administración del plasma no fue superior a 4 horas. Para evitar lípidos sanguíneos en el PRP, los pacientes estuvieron en ayunas o siguieron una dieta pobre en grasas durante las 6 hora previas a la extracción. Hecho eso, obtuvimos aproximadamente 6-8 ml de PRP puro (sin leucocitos) sin leucocitos detectables, y un moderado enriquecimiento de plaquetas (2.30+/-0.68 veces la cantidad basal en sangre periférica). En la sala de radiología intervencionista, el PRP era activado con $ClCa_2$ (concentración final de 22,5 mM) antes de cargar 5 ml en una jeringa tipo luer-lock de 10 ml. Se empleó un volumen de 4,47 +/- 1,11 mL (1-5) en la primera sesión, y 4,53 +/- 0,88 mL (2-5) en la segunda sesión.

No hubo diferencias significativas en los volúmenes empleados de PRP y lidocaina.

E. VARIABLES DE EVOLUCIÓN CLÍNICA

Las mediciones del estudio incluían la versión española [Hervás, 2006] de la escala de resultados comunicados por el paciente Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand (DASH-E, versión española del DASH, institute for Work&Health 2006), los resultados de dolor se obtienen con la escala visual analógica (VAS).

El DASH es un cuestionario rellenado por el paciente, basado en la valoración subjetiva por el paciente, de los síntomas y habilidades para desarrollar actividades del día a día en la última semana. El rango de puntuaciones posible es de 0 (mejor) a 100 (peor). El cuestionario fue suministrado a los pacientes en el estudio basal y durante las visitas de seguimiento a las 6 semanas, 3, 6, 12 y 20 meses.

La puntuación del DASH se calculó así: DASH puntuación= ((suma de n respuestas/n)-1)x25, donde n es igual al número de respuestas completas.

Se consideró que consiguieron una mejoría clínica relevante, como al menos una reducción en el cuestionario del DASH-E, de al menos un 25% respecto al basal (Franchignoni F et al., 2014), a 6 semanas, y 3, 6, 12 y 20 meses. Examinamos si las tasas de éxito terapéutico (porcentaje de pacientes respondedores) para el PRP eran estadísticamente diferentes a las de la lidocaina.

Se determinó el número (porcentaje) de pacientes que alcanzó una mejoría clínica relevante del dolor (mayor del 25%), según la escala Likert de 0-10 (VAS-P), a las 6 semanas, y a los 3, 6, 12 y 20 meses.

F. CARACTERIZACIÓN ECOGRÁFICA

Todas las exploraciones ecográficas se realizaron con el paciente en decúbito supino, con el codo flexionado 110º, y el antebrazo en pronación (epicondilopatía lateral) o supinación (epicondilopatía medial), con un ecógrafo Esaote MyLab 70 XVG (Esaote S.p.A Genoa, Italy), utilizando una sonda lineal multifrecuencia de 4 a 13 MHz. Los tendones fueron examinados en los planos coronal y axial. La ecotextura fue clasificada como: normal (0), hipoecogenicidad discreta (1) (<1/3 de la sección del tendón), moderada (2) (entre 1/3 y 2/3) o severa (3) (> de 2/3), y rotura parcial (4). La rotura parcial se medía en los 2 planos. Esta clasificación fue adaptada de Finnoff JT et al., 2011. (Fig. 22).

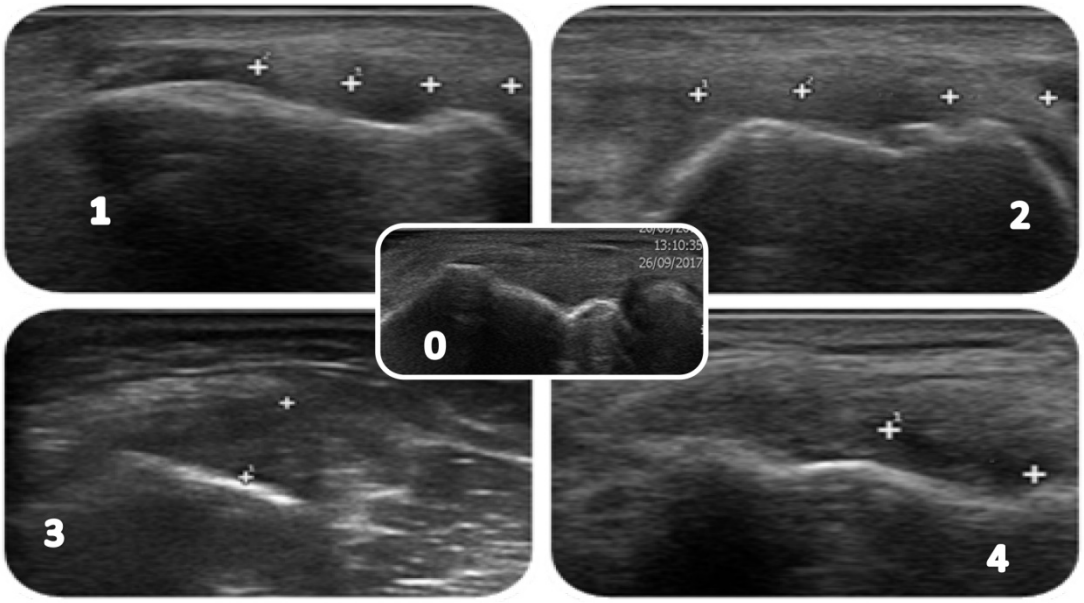


Figura 22. Clasificación del grado de hipoecogenicidad del tendón Normal (0), hipoecogenicidad discreta (1) (<1/3 de la sección del tendón), moderada (2) (entre 1/3 y 2/3) o severa (3) (> de 2/3), y rotura parcial (4) (adaptada de Finnoff JT et al., 2011).

También valoramos la vascularización utilizando Power Doppler con una frecuencia de repetición de pulso (PRF) en el rango de 370 a 750 Hz. La neovascularización se clasificó en 3 categorías: ausencia de vasos (0), uno o dos neovasos en superficie tendinosa (1), neovasos intratendinosos (2).

Además se analizó el grosor del tendón de manera comparativa con el contralateral, obteniendo una imagen coronal especular de ambos tendones, en una misma foto, midiendo con marcadores electrónicos el máximo diámetro en mm en la base del epicóndilo lateral o medial, donde la cortical del hueso pierde la oblicuidad antero-posterior, y hace meseta con el transductor alineado con el eje largo del tendón lesionado y contralateral. Un marcador en la interfase osteo-tendinosa previa a la entesis, donde el tendón mantiene todo su grosor, aproximadamente a 5 mm de la interlinea articular radio-humeral, en el caso del epicóndilo y cubito-humeral, en el caso de la epitróclea. Y otro marcador en la superficie tendinosa, donde se evidencia el máximo grosor (Clarke AW, 2010). Para minimizar la variabilidad entre diferentes individuos, y en el mismo individuo derivada de la dominancia, se utilizó para los análisis la relación entre ambas medidas (**Fig. 23D**)

También se recogió la presencia de irregularidad cortical, calcificaciones intratendinosas y presencia de entesofitos. (**Figura 23**)

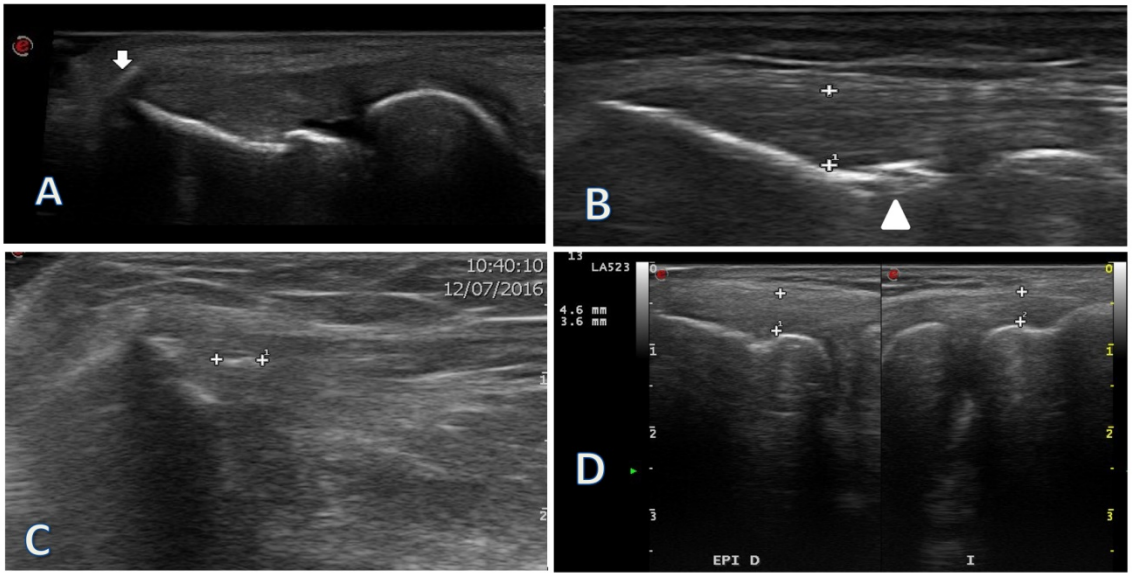


Figura 23. Características ecográficas de la tendinopatía A entesofito (flecha), B irregularidad cortical (marcador), C calcificación intratendinosa (entre cursores) y D diámetro aumentado frente a contralateral.

Se grabaron imágenes representativas basales (antes de las tenotomías), y se repitieron las valoraciones a los 3, 6, 12 meses tras el tratamiento. Se almacenaron en un sistema de almacenamiento y comunicación de imágenes (PACS) del Servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Universitario de Cruces.

G. VALORACIÓN CLÍNICA Y ECOGRÁFICA DURANTE UN PERIODO DE SEGUIMIENTO DE 20 MESES. *(ARTÍCULO IV)*

Se realizó un subestudio prospectivo dentro del ensayo clínico descrito, para aquellos pacientes que mantenían el ciego para el tipo de adyuvante asignado. La valoración ecográfica de la ecotextura se realizó según lo descrito en el apartado D. Cuando existía una rotura parcial, se medía en los dos planos, coronal y axial. La vascularización se analizó con Power Doppler con frecuencia pulsada de repetición (PRF) ajustada a 500 HZ, y para detectar mejor las posibles diferencias, se establecieron 5 grados: ausencia de vasos (0), uno o dos vasos en la superficie tendinosa (1), pocos, de uno a cuatro vasos intratendinosos (2), de cinco a ocho vasos intratendinosos (3) y ovillo vascular (4) (**Figura 24**)

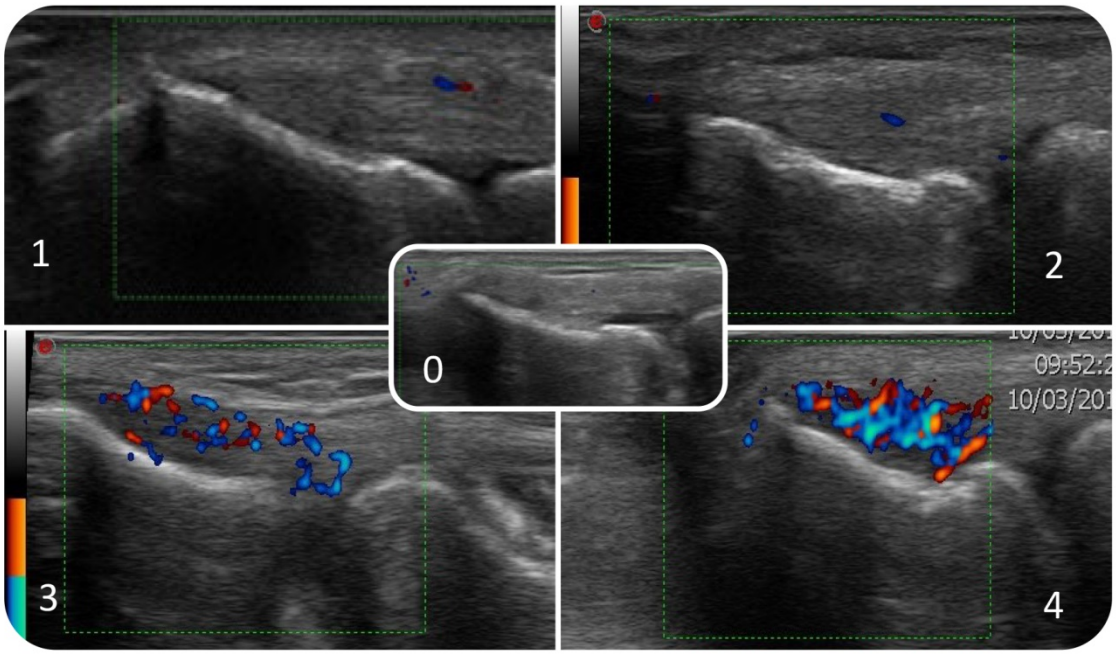


Figura 24. Patrones de vascularización: ausencia de vasos (0), uno o dos vasos en la superficie tendinosa (1), pocos, de uno a cuatro vasos intratendinosos (2), de cinco a ocho vasos intratendinosos (3) y ovillo vascular (4)

Se obtuvieron imágenes representativas basales (previo a las tenotomías) y se repitieron las medidas a los 3, 6, 12 y 20 meses (20,57 + 2,68) y se almacenaron utilizando un sistema de almacenamiento y comunicación de imágenes (PACS) del Servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Universitario de Cruces, para su evaluación.

Los resultados ecográficos fueron evaluados por 2 radiólogos experimentados (ciegos a la asignación del tratamiento), utilizando el mismo ecógrafo y algoritmo de estudio. Otro radiólogo senior analizó de forma independiente las imágenes ecográficas almacenadas. Las discordancias interobservador entre los análisis fueron revisados y acordadas. Se midió la M-kappa para conocer la concordancia interobservador.

Los resultados clínicos en este subestudio se hicieron mediante mediciones seriadas de los cuestionarios DASH-E y VAS-P, a los 3, 6, 12 y 20 meses.

H. VALORACIÓN DE SEGURIDAD

Los pacientes fueron instruidos para anotar cualquier reacción adversa y medicación consumida, esté o no relacionada con la intervención, en un diario del

paciente, que se recogía en cada visita hospitalaria, suministrándole uno nuevo tras las mismas. El investigador evaluó y recogió la frecuencia, severidad, intensidad, expectativa, relación causal y duración de los eventos adversos, y la tasa de eventos adversos, y los comparó en los dos grupos.

Paracetamol fue la única droga permitida para aliviar el dolor.

I. ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los datos se resumen como media y desviación estándar para las variables con distribución normal, y como medianas y rangos inter-cuartiles para las variables de distribución no paramétrica. Para las variables categóricas utilizamos frecuencias y porcentajes.

Para evaluar los efectos globales del tratamiento, [tenotomía + PRP] y [tenotomía + lidocaina], se utiliza un análisis del tipo intención de tratar (intention-to-treat), comparando los cambios en los niveles de función y dolor entre los 2 grupos durante los 12 meses de evolución. No se utiliza ningún método de imputación para manejar los datos perdidos. Para confirmar la comparabilidad de ambos grupos antes de recibir tratamiento, se utiliza el Test T de Student para las variables continuas, (dado que la distribución de datos es paramétrica en ambos grupos), y el test χ^2 para las variables categóricas. El test de Spearman se utiliza para valorar la asociación entre las variables de resultados.

Para evaluar las diferencias entre los grupos de PRP y lidocaína, utilizamos los modelos lineales mixtos generalizados, con o sin ajuste, considerando las 4 medidas repetidas de seguimiento para cada paciente. Se incluyeron el tratamiento, el tiempo de medida y la interacción del tratamiento con el tiempo como efecto fijo en los modelos. Los pacientes se incluyen como efectos aleatorios en la intercepción de las diferentes medidas repetidas. El tiempo de evolución se consideró como una variable categórica sin autocorrelación con un individuo. Se eligen estas opciones, porque se ajustan mejor a nuestros datos. El efecto global del tratamiento se evalúa midiendo la interacción entre el tratamiento y el tiempo de medida. Adicionalmente, estos modelos también se ajustan a los valores basales de las variables de resultados, factores socio-demográficos y de riesgo, potencialmente determinantes de dolor y función. Igualmente, para simplificar la estructura de los efectos fijos, se usa los test de proporción de máxima probabilidad siguiendo estrategias de tanteo (hacia atrás, hacia delante y paso a paso). Se calcula la relación de probabilidades (odds ratio) ajustados y desajustados

con un intervalo de confianza (IC) del 95% y las diferencias medias con un IC del 95% para las variables de resultados categóricas y continuas, respectivamente.

Se utilizan los contrastes planeados para determinar si los cambios en el grupo del PRP, entre los datos basales y cada uno de los seguimientos, fueron diferentes de los observados en el grupo de lidocaina. Para todos los contrastes, $p<0.05$ fue considerado el criterio de significación.

Se realizó un cálculo de potencia *post hoc*, basado en los modelos de efectos mixtos longitudinales ajustados al tamaño final de la muestra, variabilidad y agrupación actual de los datos, para detectar diferencias con pequeños (desviación estándar de 0.2), medio (desviación estándar de 0.5) y grandes (desviación estándar de 0.8) tamaños del efecto entre los dos grupos a comparar. Todos los análisis fueron realizados con la *versión 9.4 del paquete estadístico SAS.*

i. Predictores de evolución clínica tras tenotomía en pacientes con epicondilopatía recalcitrante *(Artículo III).*

El análisis de los resultados fue hecho mediante un análisis tipo intención de tratar (intent-to-treat). Los datos cuantitativos con una distribución normal fueron descritos como la media +/- desviación estándar y el intervalo del 95% de confianza para las medias, la normalidad de la distribución fue evaluada por el test de Kolmogorov-Smirnov. Las frecuencias absolutas y relativas se utilizaron para describir las variables cualitativas. Los test de Cramer y Pearson se utilizaron para valorar la asociación entre las variables nominales y continuas. Desarrollamos un análisis lineal mixto de efectos, de la relación entre características ecográficas pre-tratamiento y los cambios en el dolor y función durante un año de seguimiento, considerando las medidas repetidas para cada paciente. No hubo diferencias clínicas entre los dos inyectables (adyuvantes) utilizados durante la tenotomía; el valor p en el modelo multivariable para inyectable tiempo-inyectable para el DASH fue p=0,466 y p=0,702, respectivamente, y p=0,272 y p=0,487 para el VAS-P.

Los grupos tenían similares características basales socio-demográficas, clínicas y ecográficas, por eso, para el propósito de este sub-estudio, todos los pacientes se englobaron en un solo grupo. Como efectos fijos, introdujimos el tipo de inyectable, las características ecográficas y el tiempo de seguimiento (en términos de interacción). Los pacientes fueron incluidos como efectos aleatorios en el estudio longitudinal de medidas repetidas. Se ha hecho considerando que cada medida es una categoría y sin auto-correlación con el individuo. Estas opciones fueron elegidas, dado que proporcionaban un mejor encaje a nuestros datos. Los

determinantes de dolor y funcionalidad incluyeron factores socio-demográficos y clínicos basales. Del mismo modo, para simplificarla estructura de los efectos fijos, los test de tasa de probabilidad fueron utilizados siguiendo estrategias de hacia delante, hacia atrás y paso a paso (criterio de significación $p<0,05$). Los coeficientes β y los intervalos de confianza del 95% fueron desarrollados para estimar la fuerza de las asociaciones. No se utiliza ningún método de imputación para manejar los datos perdidos. Todos los análisis se realizan utilizando el paquete estadístico SAS.

ii. Análisis de resultados clínicos y variables ecográficas durante un periodo de seguimiento de 20 meses. *(Artículo IV)*

Los datos se muestran como las medias con las desviaciones estándar y frecuencias. El test de Levene se utilizó para valorar la homogeneidad de la varianza. Las diferencias iniciales entre grupos se valoran con un test t de doble muestra. Las comparaciones de los datos categóricos se realizan con el test χ^2 de Pearson. Se utilizan modelos lineales mixtos generalizados para estimar los cambios en los resultados ecográficos y clínicos, y evaluar las diferencias entre los grupos de tratamiento [tenotomía + PRP] y la [tenotomía + lidocaina] durante 20 meses. El tratamiento, el tiempo de medida y la interacción del tratamiento-tiempo, se incluyen como efectos fijos en los modelos. Los pacientes se incluyen como efectos aleatorios en la intersección de las diferentes medidas repetidas. Este proceso se realiza asumiendo que cada medida es una categoría, sin correlacionarlo con un individuo. El efecto global del tratamiento se valora analizando la interacción entre el tratamiento y el tiempo de medida. Adicionalmente, estos modelos se ajustan a los valores basales de las variables de resultados, factores socio-demográficos y de riesgo. Del mismo modo, para simplificar la estructura de los efectos fijos, se utilizan las pruebas de tasa de máxima probabilidad siguiendo estrategias de tanteo (*adelante, atrás y paso a paso)*. Los test de Spearman se utilizan para valorar la asociación entre las variables ecográficas y clínicas. No se utiliza ningún método de imputación para manejar los datos perdidos. Todos los análisis fueron realizados utilizando las aplicaciones PROC MIXED y GLIMMIX del paquete estadístico SAS 9.4.

RESULTADOS

4. RESULTADOS

A. PLASMA RICO EN PLAQUETAS VERSUS LIDOCAINA COMO ADYUVANTES DE LA TENOTOMÍA, EN PACIENTES CON EPICONDILOPATÍA: ENSAYO CONTROLADO Y ALEATORIZADO (ARTÍCULOS I Y II).

i. Flujo de pacientes.

La figura 25 representa el flujo de pacientes a lo largo del ensayo. Se reclutaron 80 pacientes entre 2014 y 2017, que reuniendo todos los criterios de inclusión, fueron aleatoriamente distribuidos en 2 grupos: [tenotomía + PRP] y [tenotomía + lidocaina]. 4 pacientes en el grupo del PRP y 1 en el de lidocaina salieron del estudio antes del tratamiento por las siguientes razones: accidente de caballo (1), preferencia por la opción quirúrgica (1), programado para cirugía de cadera (1), ausencia de dolor el día de la primera intervención, y rechazo de la intervención sin motivo (1). Un paciente en el grupo el PRP y 3 en el de lidocaina recibieron solo la primera intervención y rechazaron recibir la segunda porque encontraron el procedimiento muy doloroso. Un total de 71 pacientes fueron tratados. Durante el estudio, se perdió un paciente tratado con PRP tras la primera visita de seguimiento a las 6 semanas, y 4 (3 del grupo de lidocaina y 1 del de PRP) se perdieron tras la valoración de los 6 meses. También tuvimos pérdida de datos adicionales por 2 razones principales: la primera que muchos pacientes no rellenaron el DASH-E correctamente (es decir menos de 25 contestaciones sobre 30 preguntas, haciendo el DASH-E inválido para su análisis). La segunda, que muchos pacientes atendidos primeramente en el Servicio de Radiodiagnóstico para el seguimiento, fallaron al completar la visita en la consulta de traumatología, que era donde se recogían los datos clínicos (DASH-E).

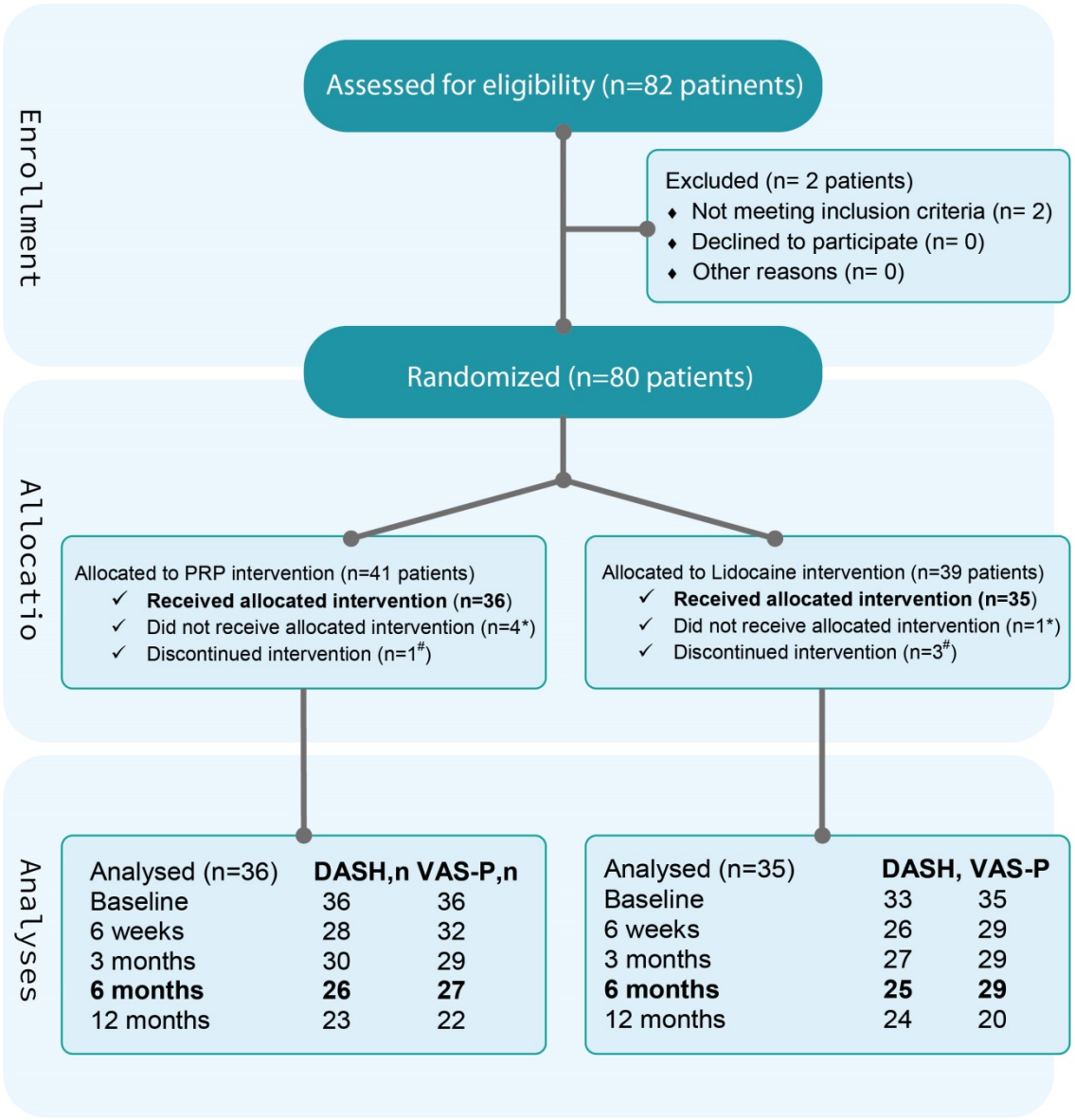


Figura 25. Diagrama de flujo de los pacientes. * No recibieron la intervención asignada porque: accidente de caballo (1), preferencia por la opción quirúrgica (1), programado para cirugía de cadera (1), ausencia de dolor el día de la primera intervención, y rechazo de la intervención sin motivo (1) # No prosiguieron el tratamiento por dolor postenotomía.

ii. Variables clínicas y demográficas

Las características clínicas y sociodemográficas basales estaban bien balanceadas (se muestran en la **tabla VII**).

La asociación entre el dolor y la función se incrementó a lo largo del seguimiento de un modo similar en ambos grupos (ver **tabla VIII**).

Tabla VII. Características sociodemográficas, clínicas y ecográficas en ambos grupos.

Variable	Lidocaine (N=35)		PRP (N=36)	
Age, n M±SD	35	48.26±7.64	36	50.80±6.73
Gender, no. (%)				
Male	19	(54.3)	14	(38.9)
Female	16	(45.7)	22	(61.1)
Manual worker, no. (%)				
No	10	(29.4)	11	(28.2)
Yes	24	(70.6)	25	(71.8)
Throwing sports, no. (%)				
No	29	(87.9)	33	(94.3)
Yes	4	(12.1)	2	(5.7)
Other sports, no. (%)				
No	20	(60.6)	22	(62.9)
Yes	13	(39.4)	13	(37.1)
BMI, n M±SD	34	26.05±3.15	36	25.58±4.19
Hypercholesterolemia, no. (%)				
No	29	(82.9)	34	(94.4)
Yes	6	(17.1)	2	(5.6)
Hypercholesterolemia treatment,				
No	31	(88.6)	35	(97.2)
Yes	4	(11.4)	1	(2.8)
Diabetes, no. (%)				
No	34	(97.1)	36	(100.0)
Yes	1	(2.9)	0	(0.0)
Diabetes treatment,				
No	34	(97.1)	36	(100.0)
Yes	1	(2.6)	0	(0.0)
Hyperuricemia, no. (%)				
No	35	(100.0)	36	(100.0)
Tendon involvement, no. (%)				
Lateral	31	(88.6)	29	(80.6)
Medial	4	(11.4)	7	(19.4)
Location, no. (%)				
Left	9	(25.7)	15	41.7
Right	26	(74.3)	21	58.3
Neovascularization, no. (%)				
No neovascularization	7	(20.0)	6	(16.7)
Neovessels on the tendon surface	2	(5.7)	3	(8.3)
Intratendinous neovessels	26	(74.3)	27	(75.0)
Echotexture grading scale, no. (%)				
Normal	3	(8.6)	1	(2.8)
Hypoechogenicity <1/3 of the tendon	2	(5.7)	4	(11.1)
Hypoechogenicity >1/3 and <2/3	10	(28.6)	11	(30.6)
Hypoechogenicity >2/3	15	(42.9)	17	(47.2)
Partial-thickness tear	5	(14.3)	3	(8.3)
Calcifications, no. (%)				
No	28	(80.0)	32	(91.4)
Yes	7	(20.0)	3	(8.6)
Tendon thickness, n M±SD	35	1.16±0.21	36	1.17±0.21
DASH-E, n M±SD	33	44.06±14.05	36	44.74±17.09
VAS-P, n M±SD	35	5.87±1.52	35	5.91±1.78

Tabla VIII. Asociación entre el DASH-E y el VAS-P por el tratamiento. Sin itálicas lidocaina, con itálicas PRP * p<0.05.

DASH-E						
		Basal	6wk	3m	6m	12m
VAS-P	Basal, r (n)	0.28* (33) *0.52* (35)*	0.59* (25) *0.26 (28)*	0.42* (26) *0.28 (27)*	0.46* (25) *0.24 (25)*	0.16 (25) *0.25 (24)*
	6wk, r (n)	0.26 (28) *0.34 (32)*	0.70* (24) *0.83* (28)*	0.63* (24) *0.67* (25)*	0.48*(22) *0.47* (23)*	0.37 (24) *0.45* (22)*
	3m, r (n)	0.23 (27) *0.21 (29)*	0.53* (23) *0.60* (24)*	0.74* (25) *0.79* (27)*	0.63* (23) *0.77* (23)*	0.51*(23) *0.76* (20)*
	6m, r (n)	0.34* (27) *0.20 (27)*	0.56* (22) *0.63* (22)*	0.67* (23) *0.84* (25)*	0.94* (24) *0.88* (23)*	0.73* (23) *0.79* (21)*
	12m, r (n)	0.11 (24) *0.07 (23)*	0.32 (21) *0.42*(18)*	0.34 (22) *0.50*(21)*	0.64* (21) *0.63* (20)*	0.91* (24) *0.77* (20)*

iii. Resultados clínicos

Se definió el tratamiento como satisfactorio, como una reducción de más del 25% en el DASH-E o VAS-P tras un año. La **tabla IX** muestra la tasa de pacientes que cumplió estos criterios para cada medida. Una alta tasa de pacientes mostró un incremento de función y una reducción de dolor tras los 12 meses de seguimiento.

Se obtuvieron datos de mejoría de función en 25 (71.43 %) y 24 (68.5%) pacientes del grupo de lidocaina y 26 (72.22%) y 25 (69.44%) pacientes del grupo del PRP, a los 6 y 12 meses, respectivamente. No hubo diferencias significativas entre ambas terapias en términos de tasa de pacientes que alcanzaron la diferencia mínima clínicamente importante en la recuperación funcional a los 6 y 12 meses tras el tratamiento (**Tabla IX**). Las diferencias en el porcentaje de éxito entre [tenotomía + lidocaina] y [tenotomía + PRP] fue -1.94 % (95% CI, -30.46 a 26.59) a los 6 meses y -6.03% (95% CI, -35.98 a 23.90) a los 12 meses.

En el caso del dolor, las frecuencias de reducción del mismo fueron 29 (82.85%) y 25 (71.43%) en el grupo de la lidocaina y 26 (72.22% y 22 (61.11%) en el grupo del PRP. Del mismo modo, no hubo diferencias significativas entre los adyuvantes de la tenotomía (lidocaina vs. PRP) en la tasa de pacientes que alcanzaron una reducción de dolor clínicamente importante, ni en el porcentaje de éxitos a los 6 meses, -10.56%;(95% CI, -33.01 a 11.89) y a los 12 meses, -11.51%; (95%CI, -32.29 a 9.27).

Las diferencias entre los dos grupos a corto plazo, tampoco fueron estadísticamente significativas. Las diferencias en el porcentaje de pacientes con mejor funcionalidad a las 6 semanas fue 7.53% (95% CI, -27.62 a 42.67) y a los 3 meses fue 26.62% (95% CI, -0.82 a 54.06). La diferencia en el porcentaje de pacientes con reducción del dolor superior al 25% a las 6 semanas fue del 21.70% (95%CI, -8.63 a 52.02) y 20.81% (95% CI, -6.84 a 48.47) a los 3 meses.

Básicamente, el curso a lo largo del tiempo fue diferente entre tratamientos. En el grupo del PRP, el incremento en la tasa de pacientes que alcanzó mejoría funcional y reducción del dolor, fue más estable que el del grupo de lidocaina, que alcanzó meseta a los 3 meses. Es más, no hubo una evidencia significativa de que los factores controlados de los pacientes modificaran los efectos del tratamiento. Cuando los datos se ajustaron por factores de confusión, ambos grupos mostraron un incremento de función y una reducción del dolor a los 12 meses de seguimiento, sin diferencias significativas entre el PRP y la lidocaina (ver **Fig. 26** y **Tabla IX**). No hubo diferencias entre la lidocaina y el PRP en los valores del DASH-E y VAS-P a lo largo del tiempo (**Fig. 27 A-B**).

La potencia calculada estimada con nuestros actuales datos, para pequeñas, moderadas y grandes diferencias para el DASH-E fue de 0.12, 0.26 y 0.93, respectivamente. Del mismo modo, las potencias estimadas para el VAS-P fueron de 0.18, 0.81 y 0.99, respectivamente.

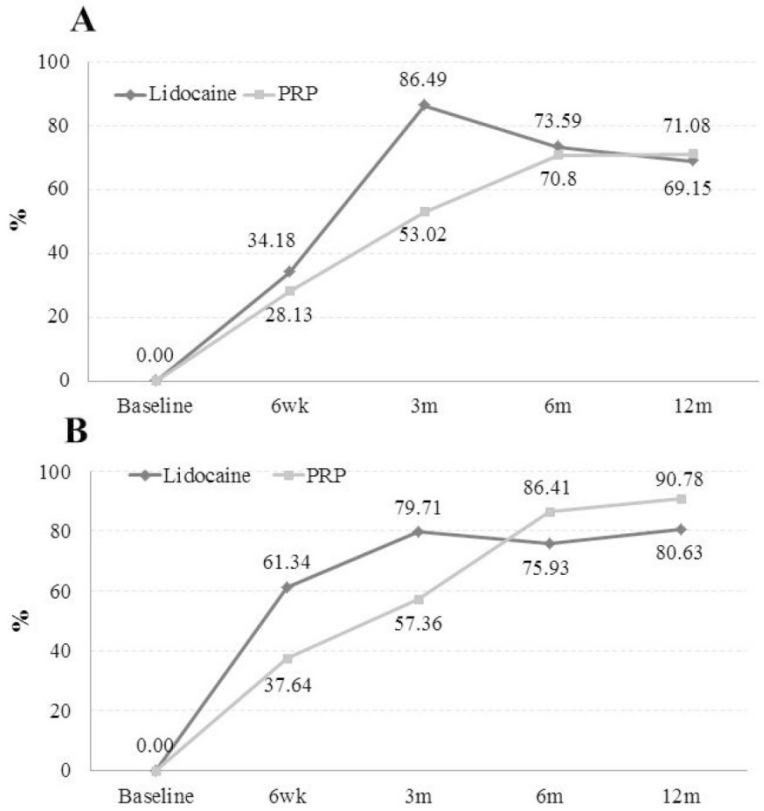


Figura 26. Porcentaje de pacientes con una mejoría superior al 25% de reducción del DASH-E (A) y del VAS-P (B) durante un año de seguimiento, tras ajustar los datos a la vascularización basal. DASH-E, versión española del cuestionario de incapacidad de brazo, hombro y mano; VAS-P, escala visual analógica de dolor; m, mes.

Tabla IX. Tabla IX. Medidas de resultados y diferencias entre grupos

	Unadjusted change			Odds Ratio (95% CI)	
Outcome	Lidocaine	PRP	Treatment -time Measurement interaction (p-value)	Unadjusted	Adjusted [a]
% meeting DASH-E improvement- no. /total no. (%)			.307		
6-7 weeks	11/24 (45.83)	10/28 (35.71)		1.37 (0.31 to 6.04)	1.33 (0.31 to 5.71)
3 months	20/24 (83.33)	17/29 (58.62)		4.73 (0.86 to 26.08)	5.67 (0.98 to 32.74)
6 months	18/25 (72.00)	19/26 (73.08)		0.90 (0.17 to 4.60)	1.15 (0.22 to 5.95)
12 months	17/24 (70.83)	19/25 (76.00)		0.71 (0.13 to 3.84)	0.91 (0.17 to 4.88)
% meeting VAS-P improvement- no. /total no. (%)			.105		
6-7 weeks	19/30 (63.33)	13/31 (41.94)		2.42 (0.67 to 8.76)	2.67 (0.74 to 9.68)
3 months	22/29 (75.86)	16/28 (57.14)		2.78 (0.68 to 11.38)	2.92 (0.71 to 12.04)
6 months	21/29 (72.41)	22/26 (84.62)		0.48 (0.10 to 2.37)	0.50 (0.10 to 2.48)

12 months	19/25 (76.00)	20/22 (90.91)		0.35 80.06 to 2.51)	0.42 (0.06 to 3.03)
Median DASH-E scores (IQR)			.429		
6-7 weeks	30.17 (30.0)	40.59 (34.86)		NA	NA
3 months	16.49 (29.04)	31.73 (34.94)		NA	NA
6 months	12.93 (28.44)	14.25 (26.66)		NA	NA
12 months	7.50 (31.15)	9.17 (24.17)		NA	NA
Median VAS-P scores (IQR)			.441		
6-7 weeks	4.00 (3.00)	4.25 (4.75)		NA	NA
3 months	2.00 (2.50)	4.00 (5.00)		NA	NA
6 months	2.00 (4.40)	2.00 (3.50)		NA	NA
12 months	2.00 (3.50)	2.00 (4.00)		NA	NA

[a] **% meeting DASH-E and VAS-P improvement were adjusted for the degree of vascularization before treatment. NA not applicable.**

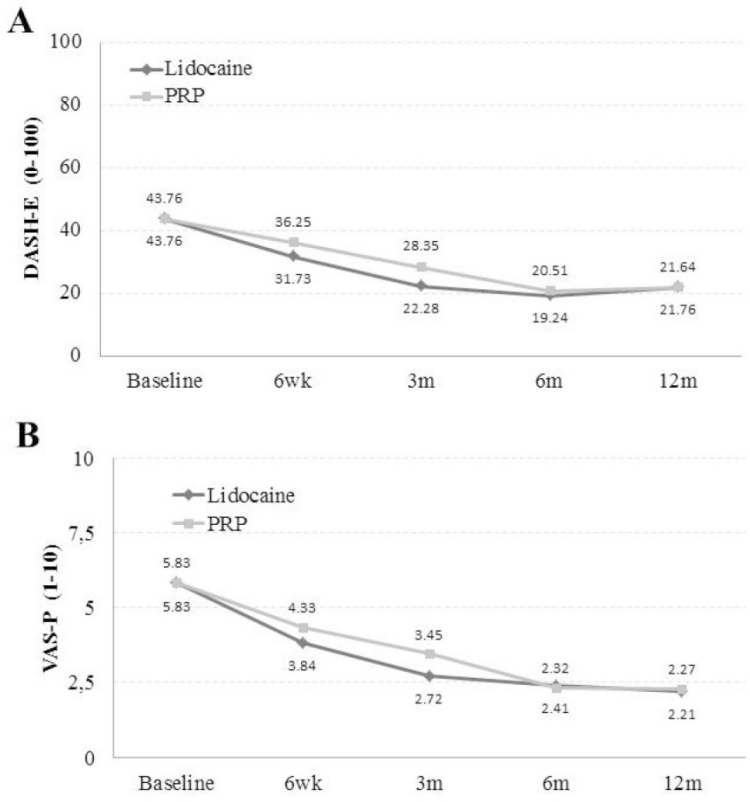


Figura 27. Cambios del DASH-E y el VAS-P a lo largo del tiempo, tras ajustar los datos a los valores basales del estado vascular e hipercolesterolemia.

DASH-E, versión española del cuestionario de incapacidad de brazo, hombro y mano; PRP, plasma rico en plaquetas; VAS-P, escala visual analógica de dolor; m, mes.

iv. Seguridad

23 efectos adversos en 12 pacientes (6 pacientes de cada grupo de tratamiento) fueron comunicados como seguro (n=22) o probablemente (n=1) relacionados con el tratamiento. El dolor u la inflamación fueron los más frecuentemente comentados a las 6 semanas de la tenotomía. Además, a lo largo de los 12 meses de seguimiento, un total de 593 eventos fueron reportados como improbablemente o no relacionados con el tratamiento. Incluyeron cefalea, migrañas, lumbalgia, dolor de hombro, molestias gastrointestinales, y alergias, siendo el resfriado y la gripe los más frecuentes entre otros. No hubo diferencias entre los efectos adversos entre los dos grupos.

B. PREDICTORES DE RESULTADOS DE LA TENOTOMÍA EN PACIENTES CON EPICONDILOPATÍA RECALCITRANTE. *(ARTÍCULO III)*

i. Participantes

Se incluyeron en este análisis un total de 71 pacientes y 74 codos. Se muestran en la **tabla X** las características sociodemográficas y clínicas basales. 3 hombres fueron tratados bilateralmente: 2 tenían una epicondilopatía lateral en ambos codos y uno tenía una epicondilopatía medial en ambos codos. En todos los pacientes el tendón contralateral se trató tras completar 1 año de seguimiento del otro tendón.

La edad media fue de 49.48 (7.16) años y el 53.52% fueron mujeres. 60 pacientes (84.5%) tenían una tendinopatía del epicóndilo lateral (62 codos de tenista) y 11 pacientes (15.5%) tuvieron una tendinopatía del epicóndilo medial (12 codos de golfista).

El trabajo más frecuente fue labores de hogar (15.22%) y limpiador industrial (9.12%). Además el 70.83% de los individuos fue catalogado como trabajador manual.

Respecto a los factores metabólicos, el índice corporal medio (ICM) fue de 25.89 (3.69). El 10.81% de los pacientes estaba diagnosticado de hipercolesterolemia, el 1.35% de hipotiroidismo y el 1.35% de diabetes. El diagnóstico previo más frecuente fue el de hipertensión (12.16%) y alergias (4.05%). 4 pacientes con hipertensión, estaban tomando atorvastatina. Dada la potencial influencia de todos los factores demográficos y clínicos (es decir patologías concomitantes y toma de medicación), estas variables fueron consideradas como posibles factores de confusión en un análisis multivariable

Tabla X. Características sociodemográficas y clínicas basales incluidas en el análisis.

Variable		
Age, n M±SD	71	49.48±7.16
Gender, no. (%)		
Male	33	(46.5%)
Female	38	(53.5%)
Manual worker, no. (%)		
No	20	(28.2%)
Yes	51	(71.8%)
Throwing sports, no. (%)		
No	63	(91.4%)
Yes	6	(8.6%)
Other sports, no. (%)		
No	41	(60%)
Yes	28	(40%)
BMI, n M±SD	25	89±3.69
Hipercholesterolemia, no. (%)		
No	63	88.7%
Yes	8	11.3%
Hypercholesterolemia treatment,		
No	66	93%
Yes	5	7%
Hypothyroid disease, no. (%)		
No	70	98.6%
Yes	1	1 .4%
Hypothyroidism treatment		
No	70	98.6%
Yes	1	1.4%
Diabetes, no. (%)		
No	70	98.6%
Yes	1	1.4%
Diabetes treatment,		
No	70	98.6%
Yes	1	1.4%
Hyperuricemia, no. (%)		
No	71	100%
Yes	0	

Las características ecográficas basales se muestran en la **tabla XI y figura 28**. Se han observado asociaciones significativas entre la ecotextura y la vascularización ($\chi^2(8)=16.71$;(p=0.033; Cramer`s V=0.43).

No se han apreciado asociaciones significativas entre la vascularización y el dolor basal (F=1.56, p=0.216) o el DASH basal (F=0.21; p=0.809).

Antes del tratamiento, se observó una diferencia significativa en la neovascularización entre el extensor radial breve del carpo (ERBC) y los tendones flexo-pronadores; los últimos mostraron una vascularización más reducida (p<0.001).

Tabla XI. Características ecográficas basales incluidas en el análisis.

Tendon involvement, no. (%)		
Lateral	62	83.8%
Medial	12	16.2%
Location, no. (%)		
Left	25	33.8%
Right	49	66.2%
Neovascularization, no. (%)		
No neovascularization	13	17.6%
Neovessels on the tendon surface	6	8.1%
Intratendinous neovessels	55	74.3%
Echotexture grading scale, no. (%)		
Normal	4	5.4%
Hypoechogenicity <1/3 of the tendon	7	9.5%
Hypoechogenicity >1/3 and <2/3	22	29.7%
Hypoechogenicity >2/3	33	44.6%
Partial-thickness tear	8	10.8%
Intratendinous calcifications, no. (%)		
No	63	86.3%
Yes	10	13.7%
Enthesophytes, no. (%)		
No	28	37.8%
Yes	46	62.2%
Cortical irregularities, no. (%)		
No	36	49.3%
Yes	37	50.7%
Tendon thickness ratio, n M±SD	74	1.16±0.21

ii. Función y dolor a lo largo del tiempo

Los valores de DASH y VAS-P se reducen a lo largo del tiempo (ver **tabla XII**). Respecto al DASH, se observó una mejoría progresiva estadísticamente significativa hasta los 6 meses, sin conseguir mejorar más entre los 6 y los 12 meses

(T(218)= -0.48, p=0631). Resultados similares se vieron para el VAS-P: una reducción progresiva de la intensidad de dolor hasta los 6 meses sin ver mayores modificaciones entre los 6 y 12 meses (T(226)=0.74, p=0462).

La asociación entre DASH y VAS-P fue estadísticamente significativa basalmente (r(71)= 0.45; p<0.001), a las 6 semanas (r(56)=0.77;p<0.001) 3 meses (r(54)=0.77;p<0.001), 6 meses (r(49)=0.89;p=0.001) y 12 meses (r(33)=0.92; p<0.001).

Tabla XII. DASH y VAS-P basal, y seguimiento a 12 meses.

	Baseline	6-7 weeks	3 months	6 months	12 months
DASH (0-100)					
n	71	55	56	51	43
M	43.23	33.72	24.27	20.05	18.62
SD	15.69	19.75	20.74	19.19	22.45
VAS-P (0-10)					
n	74	63	58	56 3	7
M	5.84	4.19	3.21	2.47	2.28
SD	1.66	2.35	2.31	2.29	2.50

iii. Factores asociados con la variabilidad de resultados clínicos

Hubo diferencias significativas en el DASH y VAS-P, dependiendo del estado vascular del tendón antes del tratamiento. La **tabla XIII** muestra los valores estimados de función (DASH) y dolor (VAS-P) durante un año de seguimiento basado en la vascularización. No hubo diferencias de resultados de función (DASH) o dolor (VAS-P) en pacientes con diferentes grados de hipoecogenicidad (p=0.634 y p=0.606, respectivamente), presencia o no de entesofito (p=0.77 y p=0.687), irregularidad cortical (p=0.461 y p=0.107) o calcificación intratendinosa (p=0.664 y p=0.687)(**Tabla XIV**). No hubo diferencias significativas en los resultados de función y dolor entre los pacientes con epicondilopatía lateral o medial, p=0.054 para el DASH y p=0.226 para el VAS.

Tabla XIII. Valores estimados de función y dolor durante 12 meses, basado en la vascularización.

	6-7 weeks Mean (95% CI)	3 months Mean (95% CI)	6 months Mean (95% CI)	12 months Mean (95% CI)	p-value
DASH SCORE (0-100)[a]					
Neovascularization					.019
No neovascularization	39.93 (30.23 to 49.63)	37.25 (27.58 to 46.92)	29.03 (19.65 to 38.40)	28.64 (17.55 to 39.73)	
Neovessels on the tendon surface	39.81 (24.67 to 54.95)	13.09 (-2.12 to 28.32)	14.07 (-1.16 to 29.30)	4.97 (-11.92 to 21.87)	
More than 2 intratendinous neovessels	31.16 (26.44 to 35.89)	22.15 (17.44 to 26.85)	17.03 (12.09 to 21.97)	19.65 (14.50 to 24.81)	
Difference No neovascularization - Neovessels on the tendon surface	*0.12 (-17.80 to 18.50)*	*24.16 (6.20 to 42.11)**	*14.95 (-2.92 o 32.83)*	*23.67 (3.39 to 43.94)**	
Difference No neovascularization – more than 2 intratendinous neovessels	*8.77 (-2.06 to 19.60)*	*15.10 (4.32 to 25.88)**	*11.99 (1.33 to 22.65)**	*8.98 (-3.25 to 21.22)**	
Difference Neovessels on the tendon surface – more than 2 intratendinous neovessels	*8.65 (-7.23 to 24.53)*	*-9.05 (-25.04 to 6.93)*	*-2.96 (-19.06 to 13.14)*	*-14.68 (-32.40 to 3.03)*	
VAS SCORE (1-10)[b]					
Neovascularization					.011
No neovascularization	5.22 (4.11 to 6.33)	4.21 (3.07 to 5.39)	4.18 (2.97 to 5.39)	3.25 (1.70 to 4.80)	
Neovessels on the tendon surface	3.52 (1.47 to 5.56)	1.65 (-.99 to 4.31)	0.63 (-2.02 to 3.27)	0.13 (-2.47 to 2.74)	
More than 2 intratendinous neovessels	3.99 (3.42 to 4.56)	2.96 (2.37 to 3.55)	2.19 (1.60 to 2.77)	2.09 (1.43 to 2.76)	
Difference No neovascularization - Neovessels on the tendon surface	*1.70 (-0.63 to 4.03)*	*2.56 (-0.32 to 5.44)*	*3.56 (0.63 to 6.48)**	*3.11 (0.07 to 6.15)**	
Difference No neovascularization – more than 2 intratendinous neovessels	*1.23 (-0.02 to 2.47)*	*1.25 (-0.03 to 2.53)*	*1.99 (0.65 to 3.33)**	*1.15 (-0.53 to 2.84)*	
Difference Neovessels on the tendon surface – more than 2 intratendinous neovessels	*-0.47 (-2.60 to 1.65)*	*-1.30 (-4.04 to 1.42)*	*-1.56 (-4.28 to 1.16)*	*-1.96 (-4.66 to 0.74)*	

[a] puntuaciones ajustadas al DASH basal, tratamiento y cholesterol. [b] puntuaciones ajustadas al VAS basal, tratamiento y cholesterol; *p<0.05. p = test global para la comparación entre grupos de los resultados clínicos en 12 meses de evolución.

Tabla XIV. Valores estimados de función y dolor durante 12 meses, en función de las características ecográficas. a valores ajustados al DASH basal, tratamiento y colesterol. b valores ajustados al VAS basal, tratamiento y colesterol; *p<.05

	6-7 weeks Mean (95% CI)	3 months Mean (95% CI)	6 months Mean (95% CI)	12 months Mean (95% CI)	p-value
DASH SCORE (0-100)[a]					
Echotexture					.634
Normal	35.03 (14.61 to 44.55)	30.37 (13.66 to 47.07)	30.29 (13.53 to 47.05)	34.91 (18.10 to 51.71)	
Hypoechogenicity in less than one-third of the tendon	34.07 (20.93 to 47.21)	18.67 (4.71 to 32.63)	14.05 (0.92 to 27.18)	14.30 (-5.47 to 34.09)	
Hypoechogenicity in between one-third and two-thirds of the tendon	33.61 (25.96 to 41.26)	27.79 (19.42 to 36.15)	20.77 (12.29 to 29.26)	15.75 (7.45 to 24.04)	
Hypoechogenicity in more than two-thirds of the tendon	34.64 (28.25 to 41.02)	24.67 (18.52 to 30.82)	19.40 (13.00 to 25.81)	24.95 (17.99 to 31.90)	
Partial thickness tear	23.94 (10.88 to 37.00)	17.49 (4.28 to 30.71)	14.51 (0.52 to 28.29)	12.58 (-1.32 to 26.48)	
Enthesophytes					.771
No	36.27 (29.06 to 43.47)	25.43 (18.32 to 32.55)	18.61 (11.43 to 25.81)	21.23 (12.84 to 29.61)	
Yes	31.38 (26.01 to 36.76)	23.47 (18.10 to 28.85)	19.55 (14.00 to 25.10)	19.87 (14.07 to 25.67)	
Intratendinous calcifications					.664
No	33.97 (29.27 to 38.68)	24.30 (19.64 to 28.96)	18.42 (13.65 to 23.20)	19.06 (13.97 to 24.14)	
Yes	28.97 (17.40 to 40.55)	23.55 (11.99 to 35.12)	19.88 (8.24 to 31.52)	24.99 (11.10 to 38.88)	
Cortical irregularities					.461
No	30.93 (24.65 to 37.21)	26.07 (20.03 to 32.10)	18.38 (12.16 to 24.61)	2.88 (14.15 to 27.60)	
Yes	36.05 (30.34 to 41.77)	23.54 (17.73 to 29.33)	20.15 (14.22 to 26.09)	19.46 (13.19 to 25.72)	
Tendon thickness, n M±SD					.071
	26.72 (20.76 to 32.78)	18.07 (12.11 to 24.03)	13.31 (7.30 to 19.32)	14.69 (8.46 to 20.91)	

VAS SCORE (1-10)[b]					
Echotexture grading scale					.606
Normal	4.71 (2.52 to 6.92)	3.57 (1.54 to 5.60)	3.80 (1.59 to 6.02)	3.58 (1.29 to 5.87)	
Hypoechogenicity in less than one-third of the tendon	3.99 (2.46 to 5.52)	2.20 (0.59 to 3.81)	1.87 (0.34 to 3.40)	1.48 (-1.00 to 3.98)	
Hypoechogenicity in between one-third and two-thirds of the tendon	4.20 (3.27 to 5.13)	3.32 (2.32 to 4.31)	2.02 (1.01 to 3.02)	1.73 (0.71 to 275)	
Hypoechogenicity in more than two-thirds of the tendon	4.57 (3.82 to 5.32)	3.46 (2.70 to 4.23)	2.81 (2.03 to 3.58)	2.73 (1.76 to 3.71)	
Partial-thickness tear	2.52 (1.02 to 4.00)	2.19 (0.69 to 3.70)	2.30 (0.72 to 3.87)	1.56 (-0.11 to 3.23)	
Intratendinous calcifications					
No	3.98 (3.41 to 4.55)	3.04 (2.47 to 3.62)	2.45 (1.86 to 3.04)	2.02 (1.36 to 2.67)	
Yes	5.05 (3.71 to 6.38)	3.60 (2.17 to 5.03)	2.38 (1.04 to 3.71)	3.32 (1.52 to 5.12)	
Enthesophytes					.687
No	4.42 (3.56 to 5.28)	3.10 (2.21 to 3.98)	2.16 (1.26 to 3.06)	2.10 (1.07 to 3.13)	
Yes	4.06 (3.40 to 4.72)	3.16 (2.48 to 3.84)	2.65 (1.97 to 3.34)	2.25 (1.48 to 3.02)	
Cortical irregularities					.107
No	3.70 (3.00 to 4.41)	3.00 (2.28 to 3.73)	2.37 (1.65 to 3.08)	2.49 (1.65 to 3.34)	
Yes	4.59 (3.90 to 5.29)	3.20 (2.48 to 3.93)	2.54 (1.79 to 3.29)	1.74 (0.89 to 2.59)	
Tendon thickness, n M±SD					.237
	4.19 (3.68 to 4.71)	3.20 (2.67 to 3.73)	2.52 (1.99 to 3.06)	2.27 (1.66 to 2.88)	

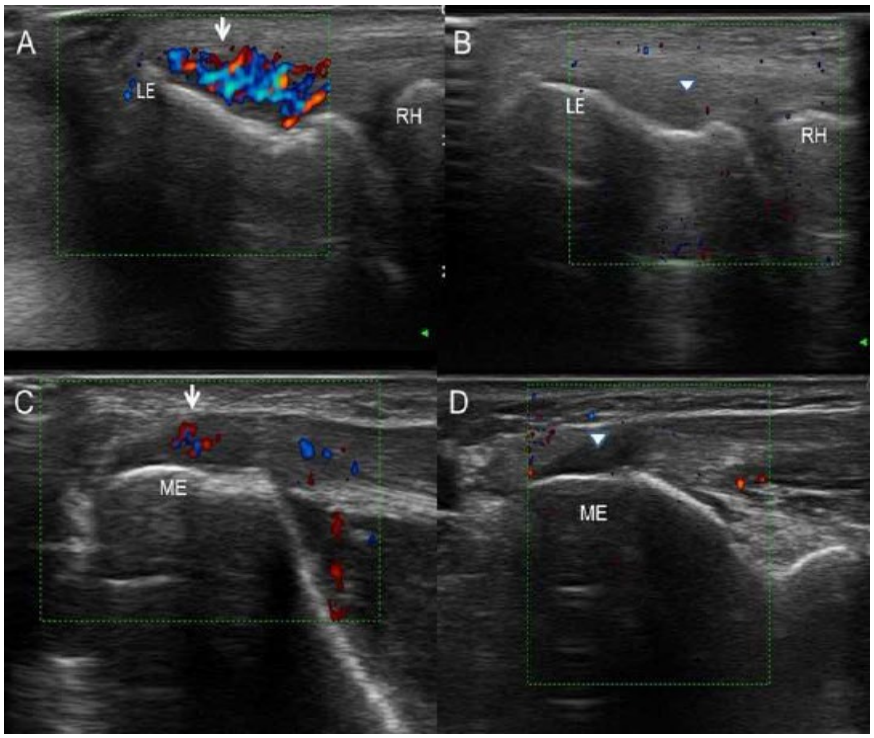


Figura 28. Muestra los hallazgos ecográficos característicos de la tendinopatía de los tendones extensor común y flexor común. A) Imagen Power Doppler que muestra un ovillo vascular intratendinoso en el tendón extensor común, que es tabulado como 2 "más de 2 vasos intratendinosos". Además, la hipoecogenicidad fue tabulada como 1B "entre 1 y 2 tercios del tendón" (PRF: 750 Hz, frecuencia, F: 6,3 MHz). B) Imagen longitudinal Power Doppler del tendón extensor común mostrando "ausencia de neovascularización" (0), e hipoecogenicidad tabulada como 1B, "entre 1 y 2 tercios del tendón", (PRF: 370 Hz, F: 6.3MHz). C) Imagen longitudinal Power Doppler del tendón flexor común mostrando neovasos intratendinosos, tabulado como 2, "más de 2 vasos intratendinosos", e hipoecogenicidad tabulada como 1C, "en más de 2 tercios del tendón", (PRF: 750 Hz, F: 6.3MHz). D) Imagen longitudinal Power Doppler del tendón flexor común mostrando "ausencia de neovascularización" (0), e hipoecogenicidad tabulada como 1C, "en más de 2 tercios del tendón", (PRF: 750 Hz, F: 6.3MHz). Izquierda es proximal y derecha es distal. LE: epicóndilo lateral del húmero; RH: cabeza radial; ME: epicóndilo medial del húmero; PRF: frecuencia de repetición de pulso; F: frecuencia.

iv. Interacciones entre los predictores potenciales de los resultados clínicos

En cuanto a la **recuperación funcional**, la **tabla XV** muestra las características demográficas, clínicas e ecográficas basales, que fueron identificadas como factores pronósticos del cambio longitudinal en el DASH, considerando las interacciones entre todas las características. El sexo varón se asoció con un incremento de la recuperación funcional (p= 0.020). Llamativamente,

se observó una mejoría progresiva funcional en pacientes con hipercolesterolemia que fue significativo en todos los tiempos (p<0.001). Estas asociaciones no se modificaron con el tiempo y permanecieron constantes en cada uno de los momentos de seguimiento. Sin embargo la toma de estatinas, tanto en los pacientes con hipercolesterolemia como pacientes hipertensos, no mostró una asociación estadísticamente significativa en los resultados clínicos, p= 0.365 para el DASH y p= 0.079 para el VAS-P.

La vascularización tendinosa fue un predictor de los resultados funcionales. Los tendones agrupados de acuerdo a su estado vascular basal, mostraron diferentes patrones temporales de resultados (p=0.039). Una elevada neovascularización involucró una mejoría progresiva de la función, que alcanzó "meseta" a los 6 meses (**Δ**M_{6wk-3m}= 9.27, 95% CI=4.47 a 14.06, p<0.001; **Δ**M_{3m-6m}= 5.70, 95% CI=0.99 a 10.41, p=0.018; **Δ**$M_{6-7wk-12m}$= 12.53, 95% CI=7.23 a 17.84, p<0.001; **Δ**M_{6m-12m}= -2.44, 95% CI=-7.64 a 2.77, p=0.356).

En contra, en tendones avasculares, la función no mejoró en los primeros 3 meses (**Δ**$M_{6-7\ sem-3m}$=-0.07, 95%CI=-10.98 a 10.84, p=0.990), pero mejoró progresivamente entre los 3 y los 12 meses, **Δ**M $_{3m-6m}$=14.27, 95%CI=3.05 a 25.49, p=0.013; **Δ**M $_{3m-12m}$=23.00, 95%CI=9.31a 36.69, p<0.001. Sin embargo, la mejoría entre los 6 y 12 meses fue menos pronunciada (**Δ**M $_{6m-12m}$=8.73, 95%CI=-4.63a 22.08, p=0.198). Por último, pero no menos importante, la mejoría a los 12 meses estuvo por encima de la mínima importante diferencia clínicamente significativa (MDCS), (**Δ**M $_{6-7\ sem-12m}$=22.93, 95%CI=9.02a 36.84, p=0.001).

En resumen, los pacientes con los tendones vascularizados, mostraron antes, mejoría en la función (hasta los 6 meses), mientras que los pacientes con los tendones avasculares no mejoraron a corto plazo (3 meses), pero mostraron una mejoría sustancial desde los 3 a los 12 meses.

Los pacientes con bajo grado de hipoecogenicidad (<1/3) tuvieron una mejoría precoz hasta los 3 meses (**Δ**M $_{6-7sem-3m}$=18.71, 95%CI=4.39a 33.03, p=0.011), pero a partir de entonces no hubo más mejoría (**Δ**M $_{3m-12m}$=-3.76, 95%CI=-23.28 a 15.75, p=0.704).

Los pacientes con una hipoecogenicidad moderada (entre 1/3 y 2/3) no mejoraron a los 3 meses (**Δ**M $_{6-7\ sem-3m}$=4.76, 95%CI=-3.16 a 12.69, p=0.236), pero mostraron una mejoría tardía (**Δ**M $_{3m-12m}$=18.30, 95%CI=9.84 a 26.75, p<0.001; **Δ**M $_{6-7sem-12m}$=23.06, 95%CI=14.82 a 31.30, p<0.001).

Los pacientes con hipoecogenicidad severa (más de 2/3) mejoraron gradualmente en los primeros 6 meses (**Δ**M $_{6-7sem-3m}$=10.51, 95%CI=4.51 a 16.49, p<0.01; **Δ**M $_{6-7sem-6m}$=17.89, 95%CI=11.68 a 24.09, p<0.01), pero a partir de ahí no hubo cambios (**Δ**M $_{6m-12m}$=2.99, 95%CI=-10.31 a 4.31, p=0.419).

Los pacientes con rotura parcial tuvieron una mejoría muy gradual, (**Δ**M $_{6\text{-}7sem\text{-}12m}$=16.64, 95%CI=3.63 a29.65 33.03, p=0.012), pero sin diferencias entre las citas más tempranas (**Δ**M $_{6\text{-}7sem\text{-}6m}$=9.05, 95%CI=-3.78 a 21.88, p=0.165).

Las articulaciones de codo con o sin entesofitos, mostraron diferentes patrones temporales de recuperación funcional (p=0.028). Los pacientes sin entesofito mostraron una mejoría mantenida hasta los 6 meses, (**Δ**M $_{6\text{-}7sem\text{-}6m}$=21.76, 95%CI=13.80 a 29.71, p<0.001; **Δ**M $_{3m\text{-}6m}$=13.57, 95%CI=5.67 a 21.46, p=0.001). La mejoría fue mantenida tras 1 año, (**Δ**M $_{6\text{-}7sem\text{-}12m}$=24.65, 95%CI=15.02 a 34.28, p<0.01); pero no hubo diferencias entre los 6 meses y 1 año (**Δ**M $_{6m\text{-}12m}$=-2.89, 95%CI=-6.77 a 12.55, p=0.554.

Por otro lado, los pacientes con entesofitos mejoraron más tempranamente (hasta los 3 meses) (**Δ**M $_{6\text{-}7sem\text{-}3m}$=9.65, 95%CI=4.35 a 14.91, p=0.001), pero sin cambios desde los 3 meses a los 12 meses (**Δ**M $_{3m\text{-}6m}$=1.76, 95%CI=-3.53 a v7.05, p=0.511; **Δ**M $_{3m\text{-}12m}$=1.07, 95%CI=-4.91 a 7.06, p=0.723).

Tabla XV. Predictores de resultados funcionales (grados de DASH) a cambios ajustados (95% CI)

	6-7wk	3 months	6 months	12 months	p-value
Gender					.020
Male	31.62 (25.78 to 37.46)	19.19 (13.54 to 24.83)	14.48 (8.62 to 20.35)	15.09 (8.60 to 21.58)	
Female	36.57 (31.05 to 42.08)	30.38 (24.89 to 35.87)	22.73 (17.11 to 28.35)	21.11 (15.19 to 27.04)	
Difference Male - Female	-4.94 (-13.34 to 3.45)	-11.19 (-19.29 to -3.09)*	-8.24 (-16.64 to 0.14)	-6.02 (-14.93 to 2.88)	
Cholesterol					<.001
No	36.72 (32.66 to 40.78)	26.98 (22.93 to 31.02)	20.43 (16.21 to 64)	19.94 (15.39 to 24.49)	
Yes	11.74 (-0.45 to 23.95)	7.28 (-5.52 to 20.08)	3.97 (-7.94 to 15.89)	2.56 (-10.78 to 15.91)	
Difference No-Yes	24.97 (11.99 to 37.95)*	19.69 (6.13 to 33.25)*	16.45 (3.62 to 29.28)*	17.37 (3.29 to 31.46)*	
Neovascularization					.039
No neovascularization	41.76 (31.22 to 52.31)	41.83 (31.19 to 52.48)	27.56 (17.29 to 37.83)	18.83 (5.80 to 31.86)	
Neovessels on the tendon surface	33.47 (18.64 to 48.30)	7.38 (-7.37 to 22.15)	13.65 (-1.15 to 28.45)	2.48 (-14.27 to 19.24)	
1 or 2 intratendinousneovessels	32.50 (27.79 to 37.20)	23.23 (18.71 to 27.74)	17.53 (12.84 to 22.21)	19.96 (14.96 to 24.97)	
Difference No neovascularization -Neovessels on the tendon surface	8.29 (-10.44 to 27.03)	34.45 (15.98 to 52.91)*	13.92 (-4.77 to 32.60)	16.35 (-5.44 to 38.15)	
Difference No neovascularization - 1 or 2 intratendinousneovessels	9.27 (-2.86 to 21.40)	18.60 (6.74 to 30.46)*	10.04 (-1.45 to 21.53)	-1.13 (-15.28 to 13.03)	
Difference Neovessels on the tendon surface - 1 or 2 intratendinousneovessels	0.97 (-14.75 to 16.70)	-15.84 (-31.52 to -0.17)*	-3.88 (-19.62 to 11.86)	-17.48 (-35.43 to 0.47)	
Echotexture					.037
Normal	24.05 (2.54 to 45.56)	10.61 (-6.86 to 28.09)	25.11 (7.39 to 42.84)	39.62 (20.90 to 58.35)	
Hypoechogenicity in less than one-third the tendon	28.18 (14.47 to	9.47 (-5.07 to	10.01 (-3.53 to	13.23 (-6.09 to	

	41.89)	24.01)	23.55)	32.56)	
Hypoechogenicity in between one-third and two-thirds of the tendon	38.01 (30.62 to 45.41)	33.25 (25.33 to 41.17)	22.33 (14.31 to 30.35)	14.95 (6.92 to 22.99)	
Hypoechogenicity in more than two-thirds of the tendon	35.59 (29.51 to 41.67)	25.09 (19.40 to 30.78)	17.70 (11.78 to 23.63)	20.70 (13.69 to 27.71)	
Partial-thickness tear	26.68 (14.68 to 38.68)	20.80 (8.81 to 32.79)	17.62 (5.01 to 30.23)	10.04 (-2.77 to 22.86)	
Difference Normal - Hypoechogenicity in less than one-third the tendon	-4.13 (-28.00 to 19.74)	1.14 (-19.83 to 22.13)	15.10 (-5.15 to 35.36)	23.39 (1.50 to 51.28)*	
Difference Normal - Hypoechogenicity in between one-third and two-thirds of the tendon	-13.97 (-38.09 to 10.15)	-22.66 (-43.09 to -2.18)*	2.78 (-17.90 to 23.46)	24.67 (2.82 to 46.52)*	
Difference Normal - Hypoechogenicity in more than two-thirds of the tendon	-11.54 (-38.83 to 10.74)	-14.47 (-33.16 to 4.21)	7.41 (-11.68 to 26.50)	18.92 (-2.06 to 39.91)	
Difference Normal - Partial-thickness tear	-2.63 (-27.71 to 22.45)	-10.18 (-32.01 to 11.64)	7.49 (-14.73 to 29.71)	29.58 (5.56 to 53.60)*	
Difference Hypoechogenicity in less than one-third -Hypoechogenicity in between one third and two-thirds	-9.83 (-26.29 to 6.63)	-23.78 (-41.06 to -6.50)*	-12.32 (-28.87 to 4.23)	-1.72 (-23.32 to 19.87)	
Difference Hypoechogenicity in less than one-third - Hypogenicity in between one third and two thirds	-7.40 (-22.63 to 7.81)	-15.62 (-31.45 to 0.21)	-7.69 (-22.69 to 7.30)	-7.47 (-28.69 to 13.76)	
Difference Hypoechogenicity in less than one-third - Partial-thickness tear	1.50 (-16.60 to 19.61)	-11.33 (-30.37 to 7.71)	-7.62 (-26.39 to 11.16)	3.19 (-20.34 to 26.72)	
DifferenceHypoechogenicity in between one and two-thirds of the tendon – hypoechogenicity is more than two thirds	2.43 (-7.23 to 12.08)	8.16 (-1.59 to 17.92)	4.63 (-5.23 to 14.49)	-5.74 (-16.21 to 4.71)	
DifferenceHypoechogenicity in between one and two-thirds of the tendon -partial-thickness tear	11.34 (-2.63 to 25.31)	12.45 (-1.66 to 26.56)	4.71 (-10.13 to 19.55)	4.91 (-9.67 to 19.50)	
Difference hypoechogenicity in more than two thirds- partial-thickness tear	8.91 (-4.84 to 22.66)	4.29 (-9.08 to 17.66)	0.08 (-13.98 to 14.13)	10.66 (-3.87 to 25.19)	
Enthesophytes					.028
No	40.44 (32.89 to 47.99)	32.25 (24.69 to 39.81)	18.68 (10.90 to 26.46)	15.79 (6.66 to 24.91)	
Yes	30.46 (25.24 to 35.68)	20.81 (15.68 to 25.94)	19.05 (13.86 to 24.24)	19.74 (13.99 to 25.48)	
Difference No-Yes	9.98 (0.08 to 20.03)*	11.44 (1.49 to 21.38)*	-0.37 (-10.50 to 9.76)	-3.95 (-15.81 to 7.91)	

En el caso del **dolor** reportado por el paciente (VAS-P), la hipercolesterolemia y la neovascularización fueron predictores estadísticamente significativos de cambios en el dolor a lo largo de un año de seguimiento.

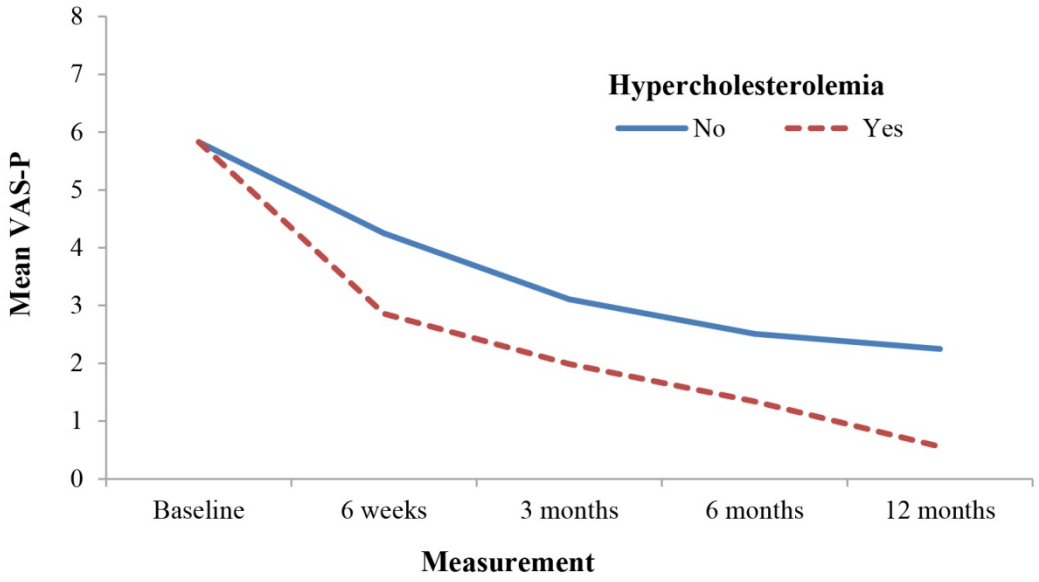


Figura 29. Muestra los efectos longitudinales de la hipercolesterolemia sobre el cambio ajustado del nivel de dolor.

En todas las medidas, los pacientes con hipercolesterolemia mostraron menos dolor, pero las diferencias no alcanzaron significación estadística (**Δ**M $_{6\text{-}7\ sem}$=1.39, 95%CI=-0.29 a 3.07, p=0.104; **Δ**M $_{3m}$=1.22, 95%CI=-0.56 a 2.80, p<0.190; **Δ**M $_{6m}$=1.17, 95%CI=-0.44 a 2.78, p<0.154; **Δ**M $_{12m}$=1.69, 95%CI=-0.13 a 3.51, p=0.069).

C. RESULTADOS CLÍNICOS Y ECOGRÁFICOS DURANTE UN PERIODO DE SEGUIMIENTO DE 20 MESES *(ARTÍCULOS IV)*

i. Participantes y resultados clínicos a los 20 meses tras tratamiento.

Los pacientes fueron incluidos desde Abril de 2014 a Mayo de 2017. El diagrama de flujo del progreso de los participantes del estudio hasta los 12 meses es el de la figura 28. Un total de 71 pacientes fue tratado. Se obtuvo el consentimiento informado de todos ellos. Un paciente del grupo del PRP y cuatro del grupo de la lidocaina se perdieron en el seguimiento. 51 pacientes (que eran

ciegos al tratamiento asignado, 27 pacientes en el grupo del PRP y 24 pacientes en el de lidocaina), fueron examinados a los 20 meses.

A los 20 meses postratamiento, el 80,85% y el 90,91% de los pacientes mostraron una mejoría clínica significativa, es decir más del 25% de cambio en el DASH-E y VAS-P respecto al basal. No hubo diferencias clínicas significativas entre el grupo del PRP y el de lidocaina, en ninguno de los momentos de análisis hasta los 20 meses. El DASH-E cambió de 42,76 (15,93) y 44,60 (17,20) en los grupos de lidocaina y PRP, respectivamente antes del tratamiento, a 14,47 (10,01) y 12,62 (14,54) en los grupos de lidocaina y PRP, 20 meses tras el tratamiento. El VAS-P cambió de 5,87 (1,52) antes del tratamiento a 1,73 (2,08) a los 20 meses en el grupo de lidocaina y de 5,97 (1,77) a 1,39 (1,40) a los 20 meses en el grupo del PRP. No hubo diferencias significativas en las complicaciones reportadas entre ambos grupos. Un número similar de pacientes de ambos grupos reportó dolor y disestesias, que se resolvieron espontáneamente en un corto periodo de tiempo.

ii. Cambios estructurales a lo largo del tiempo (0-20 meses) en la totalidad de los pacientes y diferencias entre los grupos de tratamiento: grosor, vascularización y ecotextura.

Los pacientes tuvieron similares características ecográficas basales (**tabla XVI**).

Tabla XVI. Características ecográficas antes del tratamiento.

	Lidocaine (n=35)	**PRP (n=34)**	**Total (n=69)**
Mean Tendon thickness ratio (SE)	1.16 (0.21)	1.18 (0.22)	1.17 (0.21)
% Vascularization, no. (%)			
No vessels	7 (20.00)	5 (14.71)	12 (17.39)
1 or 2 vessels on tendon surface	1 (2.86)	3 (8.82)	4 (5.80)
1 to 4 intratendinous vessels	10 (28.57)	17 (50.00)	27 (39.13)
5 to 8 intratendinous vessels	11 (31.43)	6 (17.65)	17 (24.64)
Vascular ball	6(17.14)	3 (8.82)	9 (13.04)
% Echotexture, no. (%)			
Normal	3 (8.57)	1 (2.94)	4 (5.80)
Hypoechogenicity <1/3 of the tendon	2 (5.71)	4 (11.76)	6 (8.70)
Hypoechogenicity >1/3 and <2/3	10 (28.57)	10 (29.41)	20 (28.99)
Hypoechogenicity >2/3	15 (42.86)	16 (47.06)	31 (44.93)
Partial-thickness tear	5(14.29)	3 (8.82)	8 (11.59)

Los cambios estructurales en el tendón, valorados ecográficamente a los 20 meses se muestran en la tabla XVII. En conjunto, hubo una reducción significativa del grosor del tendón ($p=0,0006$), de la vascularización ($p<0,0001$), y de la ecotextura ($p<0,0001$), comparando la valoración basal y a los 20 meses postratamiento.

El diámetro tendinoso se redujo a lo largo del tiempo en ambos grupos (3 meses vs 20 meses $T=2,47$, $p=0,014$; 6 meses vs 20 meses ($T=4,07$, $p<0,001$); 12 meses vs 20 meses ($T=2,66$, $p=0,008$). Sin embargo no hubo diferencias significativas en la comparación global entre grupos de los 20 meses, en el diámetro tendinoso, ($p=0,089$ en el modelo ajustado). Curiosamente a los 6 meses postratamiento el engrosamiento tendinoso permanecía significativamente elevado en el grupo del PRP frente al de lidocaina, $p<0,001$.

Tabla XVII. Medidas ecográficas seriadas y valoración clínica a lo largo del tiempo. Los valores P representan la significación estadística para la comparación global entre grupos, de los resultados ecográficos a los 20 meses.

Unadjusted change						
Outcome	Lidocaine	PRP	Total	Treatment -time Measurement interaction (p-value)	Multivariate-adjusted attributable difference (p-value)a,b,c	
Echography Outcomes						
Mean Tendon thickness ratio (SE)[a]				.102	.089	
3 months	1.14 (0.03)	1.17 (0.03)	1.15 (0.02)			
6 months	1.06 (0.03)	1.17 (0.03)*	1.12 (0.02)			
12 months	1.08 (0.03)	1.11 (0.03)	1.09 (0.02)			
20months	1.04 (0.03)	1.03 (0.03)	1.04 (0.03)			
% Vascularization[b], no. /total no. (%)				.037	.049	
3 months						
No vessels	6/35 (17.14)	1/33 (3.03)	7/68 (10.29)			
1 or 2 vessels on tendon surface	3/35 (8.57)	5/33 (15.15)	8/68 (11.76)			
1 to 4 intratendinous vessels	13/35 (37.14)	12/33 (36.36)	25/68 (36.76)			
5 to 8 intratendinous vessels	8/35 (22.86)	8/33 (24.24)	16/68 (23.53)			
Vascular ball	5/35 (14.29)	7/33 (21.21)	12/68 (17.65)			
6 months						
No vessels	11/33 (33.33)	6/33 (18.18)	17/66 (25.76)			
1 or 2 vessels on tendon surface	3/33 (9.09)	5/33 (15.15)	8/66 (12.12)			
1 to 4 intratendinous vessels	10/33 (30.30)	13/33 (39.39)	23/66 (34.85)			
5 to 8 intratendinous vessels	8/33 (24.24)	7/33 (21.21)	15/66 (22.73)			
Vascular ball	1/33 (3.03)	2/33 (6.06)	3/66 (4.55)			
12 months						
No vessels	13/29 (44.83)	12/33 (36.36)	25/62 (40.32)			

1 or 2 vessels on tendon surface	5/29 (17.24)	7/33 (21.21)	12/62 (19.35)			
1 to 4 intratendinous vessels	7/29 (24.14)	8/33 (24.24)	15/62 (24.19)			
5 to 8 intratendinous vessels	3/29(10.39)	3/33 (9.09)	6/62 (9.68)			
Vascular ball	1/29 (3.45)	3/33 (9.09)	4/62 (6.45)			
20 months						
No vessels	9/26 (34.62)	18/24 (75.00)	27/50 (54.00)			
1 or 2 vessels on tendon surface	7/26 (26.92)	2/24 (8.33)	9/50 (18.00)			
1 to 4 intratendinous vessels	7/26 (26.92)	3/24 (12.50)	10/50 (20.00)			
5 to 8 intratendinous vessels	1/26 (3.85)	0/24 (0.00)	1/50 (2.00)			
Vascular ball	2/26 (7.69)	1/24 (4.17)	37/50 (6.00)			
% Echotexture[a], no. /total no. (%)				. 210	.259	
3 months						
Normal	6/34 (17.65)	4/33 (12.12)	10/67 (14.93)			
Hypoechogenicity <1/3 of the tendon	9/34 (26.47)	7/33 (21.21)	16/67 (23.88)			
Hypoechogenicity >1/3 and <2/3	10/34 (29.41)	11/33 (33.33)	21/67 (31.34)			
Hypoechogenicity >2/3	8/34 (23.53)	11/33 (33.33)	19/67 (28.36)			
Partial-thickness tear	1/34 (2.94)	0/33 (0.00)	1/67 (1.49)			
6 months						
Normal	7/31 (22.58)	9/32 (28.13)	16/63 (25.40)			
Hypoechogenicity <1/3 of the tendon	13/31 (41.94)	4/32 (12.50)	17/63 (26.98)			
Hypoechogenicity >1/3 and <2/3	9/31 (29.03)	13/32 (40.63)	22/63 (34.92)			
Hypoechogenicity >2/3	1/31 (3.23)	6/32 (18.75)	7/63 (11.11)			
Partial-thickness tear	1/31 (3.23)	0/32 (0.00)	1/63 (1.59)			
12 months						
Normal	7/29 (24.14)	12/32 (37.50)	19/ 61 (31.15)			
Hypoechogenicity <1/3 of the tendon	13/29 (44.83)	7/32 (21.88)	20/61 (32.79)			
Hypoechogenicity >1/3 and <2/3	7/29 (24.14)	10/32 (31.25)	17/61 (27.87)			
Hypoechogenicity >2/3	1/29 (3.45)	3/32 (9.38)	4/61 (5.56)			
Partial-thickness tear	1/29 (3.45)	0/32 (0.0)	1/61 (1.64)			
20 months						

Normal	11/27 (40.74)	9/19 (47.37)	20/46 (43.48)			
Hypoechogenicity <1/3 of the tendon	7/27 (25.93)	6/19 (31.58)	13/46 (28.26)			
Hypoechogenicity >1/3 and <2/3	4/27 (14.81)	4/19 (21.05)	8/46 (17.39)			
Hypoechogenicity >2/3	1/27 (3.70)	0/19 (0.00)	1/46 (2.17)			
Partial-thickness tear	4/27 (14.81)	0/19 (0.00)	4/46 (8.70)			
Clinical Outcomes						
Mean DASH-E scores (SE)				.438	.390	
3 months	20.78 (3.50)	27.31 (3.42)	24.04 (2.44)			
6 months	18.12(3.55)	20.26 (3.53)	19.19 (2.51)			
12 months	20.52 (3.59)	21.11 (3.63)	20.82 (2.56)			
20 months	14.70 (3.47)	15.43 (3.67)	15.07 (2.52)			
Mean VAS-P scores (SE)				.412	.479	
3 months	2.92 (0.40)	3.67 (0.40)	3.30 (0.28)			
6 months	2.58 (0.40)	2.39 (0.41)	2.48 (0.29)			
12 months	2.18 (0.45)	2.26 (0.44)	2.22 (0.31)			
20 months	1.78 (0.41)	1.87 (0.46)	1.83 (0.31)			

[a] La relación de grosor tendinoso y ecotextura fueron ajustados a los niveles basales.

[b] La vascularización fue ajustada al nivel basal, diabetes, tendón lesionado y al *tiempo de tratamiento con estatinas.

[c] El DASH-E y VAS-P fueron ajustados a los índices basales, tendón lesionado y al *tiempo de tratamiento con estatinas.

*p=.000

La **figura 30** muestra la distribución de pacientes en las cinco categorías de vascularización en los diferentes tiempos postratamiento. A los 20 meses postratamiento, el 19,55% en el grupo de lidocaina, frente al 40,15% de los pacientes del grupo del PRP mostró ausencia de vascularización, y el 15,66% de los pacientes del grupo de lidocaina frente al 6,3% del grupo del PRP mostró más de 5 vasos intratendinosos. Hubo diferencias significativas en los cambios de vascularización a lo largo del tiempo entre grupos, p=0,037 y p=0,049 en los modelos ajustado y no ajustado.

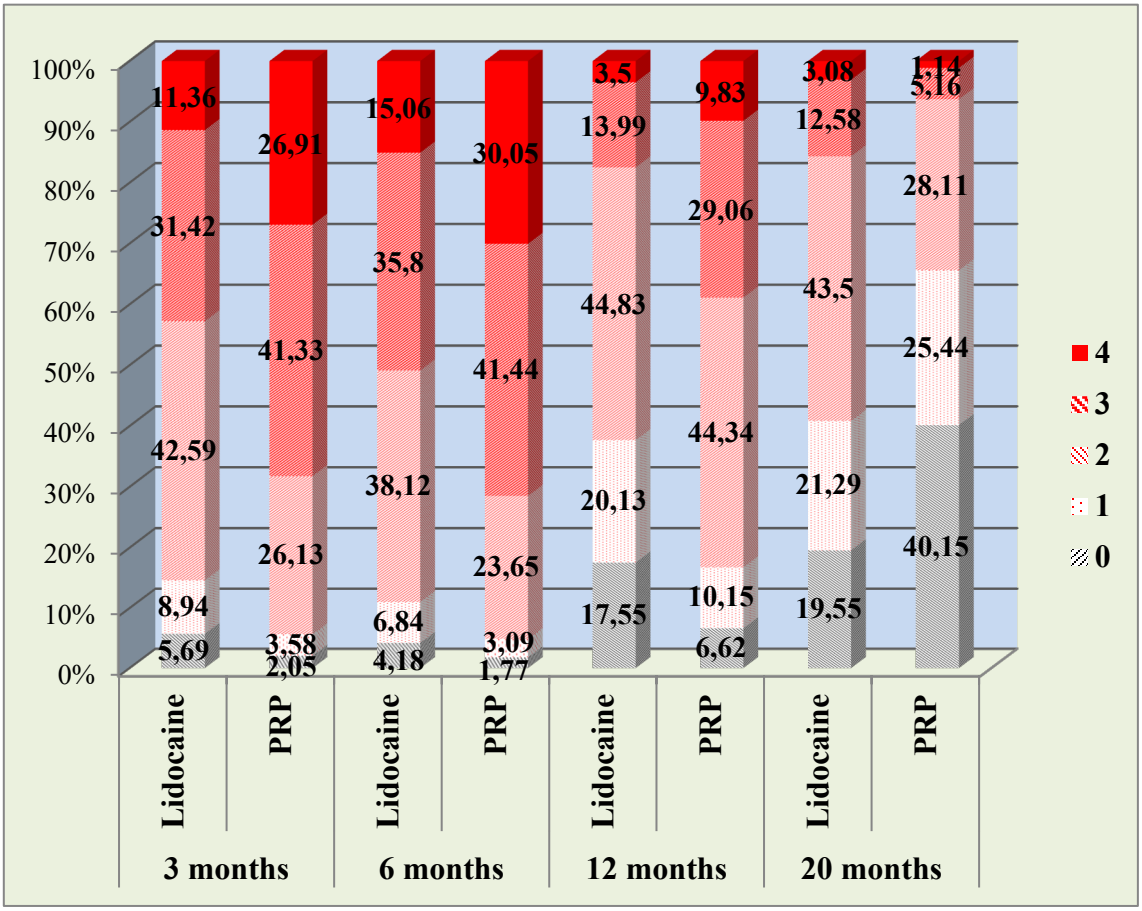


Figura 30.El gráfico de barras ilustra la distribución estimada de categorías de vascularización en ambos grupos a los diferentes tiempos de valoración. Los datos fueron ajustados a los niveles basales, diabetes, tendón lesionado y tiempo de tratamiento con estatinas hasta el tiempo de valoración.

La **figura 31** muestra imágenes representativas de las características ecográficas basales y 14 días tras la tenotomía, que no mostró variación significativa, en ambos grupos de Lidocaina y PRP.

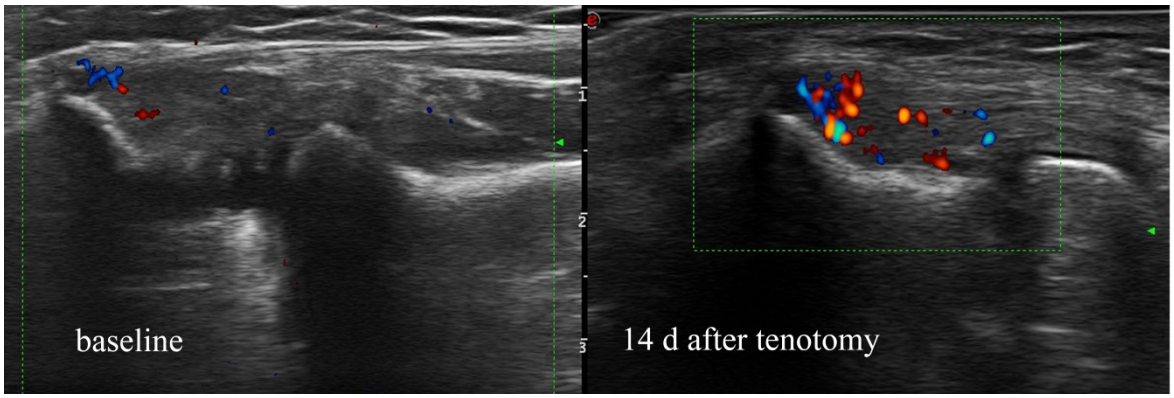


Figura 31. Imágenes representativas de características ecográficas basales y 14 días tras tras primera tenotomía, donde se evidencia el incremento de vascularización inducido por la propia tenotomía, que fue similar, independientemente del adyuvante.

La figura 32 muestra imágenes representativas del curso temporal de los cambios en la vascularización tras la tenotomía con PRP, como adyuvante.

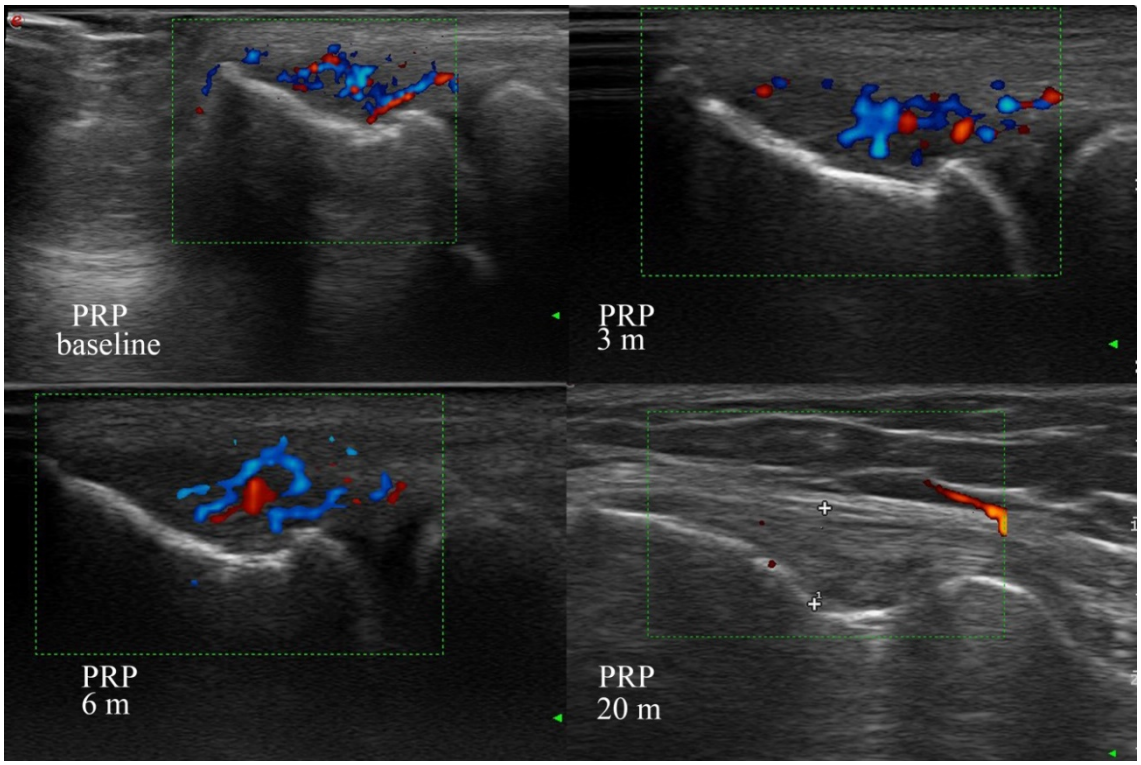


Figura 32. Imágenes representativas basal, a los 3 meses, 6 meses y 20 meses, tras 2 tenotomías percutáneas realizadas con un intervalo de 2 semanas con PRP como adyuvante. Reducción progresiva de la vascularización, con desaparición a los 20 m.

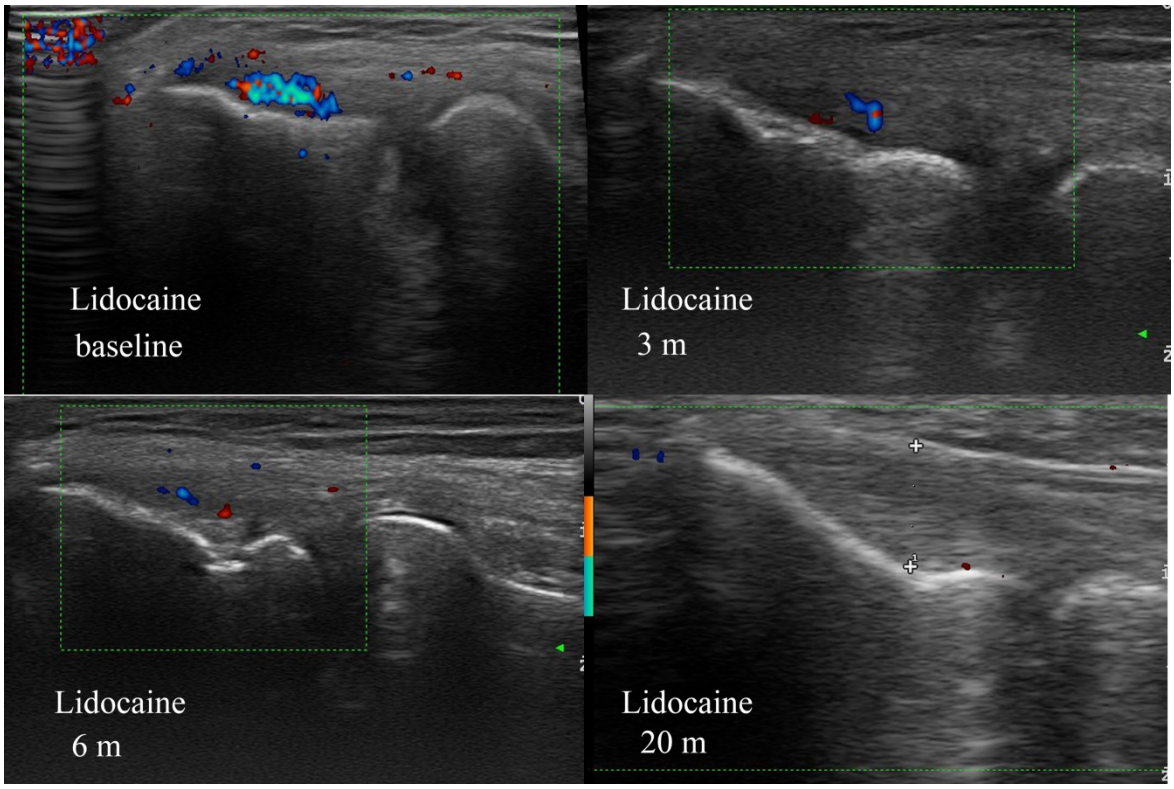


Figura 33. Imágenes representativas basal, a los 3 meses, 6 meses y 20 meses, tras 2 tenotomías percutáneas realizadas con un intervalo de 2 semanas con lidocaina como adyuvante. Marcada reducción temprana de la vascularización.

La tabla **XVIII** describe los factores pronósticos basales de la categoría de vascularización, que fueron incluidos en el modelo ajustado. La localización anatómica (medial o lateral) y la diabetes, mostraron un efecto constante, que no cambió a lo largo de todos los tiempos de seguimiento. Por el contrario la toma de estatinas tuvo un efecto creciente sobre la vascularización y la interacción a lo largo del tiempo.

Tabla XVIII. Distribución de los pacientes según el tendón lesionado (lateral o medial), toma de estatinas y diagnóstico de diabetes.

	No vessels	1 or 2 vessels on tendon surface	1 to 4 intratendinous vessels	5 to 8 intratendinous vessels	Vascular ball
Tendon affect, %					
Lateral	4.11	6.76	37.88	35.99	15.26
Medial	14.80	17.69	46.64	17.09	4.50
Statins,%					
No	4.09	6.72	37.79	36.06	15.34
Yes	14.15	17.74	46.62	17.01	4.48
Diabetes,%					
No	43.52	25.12	25.76	4.54	0.99
Yes	0.90	1.62	14.30	37.32	45.86

iii. Asociación entre los parámetros ecográficos y los resultados clínicos (correlaciones)

No hubo correlación entre el dolor o la función, y la valoración ecográfica de Doppler color o ecotextura, ni basalmente ni en ninguno de los tiempos de valoración. A pesar de todo, el VAS-P y el DASH se correlacionaron positivamente basalmente (r_s= 0,390, p= 0,001, n=68) y durante el seguimiento (r_s= 0,761 p< 0,001, n=53 a 3 meses; r_s= 0,865 p< 0,001, n=48 a los 6 meses; r_s= 0,894 p= 0,001, n=38 a los 12 meses; r_s= 0,766 p< 0,001, n=45 a los 20 meses).

Por otro lado, las características ecográficas se asociaron entre ellas. En particular, hubo una asociación positiva entre la ecotextura y el engrosamiento tendinoso, antes y hasta los 12 meses tras el tratamiento: basalmente (r_s= 0,241, p= 0,045, n=69), a los 3 meses (r_s= 0,428, p< 0,001, n=67), a los 6 meses (r_s= 0,414, p= 0,001, n=62) y a los 12 meses (r_s= 0,276, p= 0,031, n=61). La correlación positiva desapareció a los 20 meses (r_s= 0,117, p= 0,471, n=40). El Doppler y la ecotextura no mostraron asociación basalmente, pero esta asociación fue significativa en todos los controles posintervención (r_s= 0,340, p= 0,005, n=67 a 3 meses; r_s= 0,420, p= 0,001, n=63 a los 6 meses; r_s= 0,423, p= 0,001, n=61 a los 12 meses; r_s= 0,478, p= 0,001, n=43 a los 20 meses postratamiento).

DISCUSION

5. DISCUSION

Nuestra hipótesis establecía que el PRP podía ser un adyuvante efectivo a la tenotomía lateral o medial del codo, en pacientes que eran recalcitrantes al tratamiento conservador. Como la tenotomía es un tratamiento activo, que de por si influencia los resultados en la tendinopatía [Mattie R, 2017], nuestro objetivo no fue valorar el PRP por sí solo, sino determinar la eficacia clínica del procedimiento combinado (tenotomía + PRP). Nosotros encontramos que las 2 tenotomías (una intensa, aproximadamente 20-25 fenestraciones y abrasión ósea), y la segunda más discreta, aproximadamente 10 fenestraciones) con PRP o lidocaina fueron efectivas para reducir el dolor y mejorar la función hacia los 6 meses. Es más, la mejoría era mantenida 1 año tras la intervención, lo cual está más allá de los límites de la recurrencia. Sin embargo, no encontramos ninguna diferencia clínica entre los efectos de los adyuvantes, PRP y lidocaina, en la reducción del dolor o en la recuperación funcional a los 6 o 12 meses.

Aunque fallamos para demostrar diferencias entre PRP y lidocaina, nuestros resultados encajan con los prometedores resultados observados en un estudio previo multicéntrico, comparando L-PRP con anestésicos en la tendinopatía lateral del codo [Mishra AK, 2014]. Se ha visto escasa evidencia (estudio retrospectivo casos-control con pocos pacientes) para resultados mejores con PRP puro a los 6 y 12 meses comparado con bupivacaina [Behera P, 2015]. Por el contrario, Palacio et al. [Palacio EP, 2016] no encontró ninguna diferencia a los 3 y 6 meses, cuando comparó PRP con anestésicos y corticoides en pacientes no tratados, tras inyecciones ciegas de 3 mL. Según nuestro conocimiento, solo los 3 estudios anteriormente referenciados [Mishra AK, 2014; Palacio EP, 2016; Behera P, 2015] compararon inyecciones de PRP con anestésicos. Sin embargo el número de tratamientos, formulaciones de PRP y volumen inyectado, e intensidad de la tenotomía difiere en los diferentes estudios.

Nosotros elegimos lidocaina como comparador, porque lo utilizamos en nuestra práctica clínica diaria para incrementar el confort del paciente y el clínico durante los procedimientos. En realidad, la tenotomía es muy dolorosa. Si la lidocaina, en este contexto, es un control activo o placebo, es controvertido. Realmente, hay una preocupación general sobre la administración intratendinosa de anestésicos, porque podría comprometer la viabilidad celular [Wang WZ, 2014]. Del mismo modo, la administración de anestésicos peritendinosa, que es una práctica clínica frecuente para reducir el dolor de la intervención, podría dañar las

células del compartimento extrínseco que participan en la reparación extrínseca temprana [Sung CM, 2014]. Es más, el volumen de lidocaina infiltrado peritendón del origen del extensor común, varía entre estudios de 10 a 15 mL de lidocaina (10 mg/mL) [Krogh TP, 2013]. La lidocaina puede inducir citotoxicidad (apoptosis y/o necrosis), a través de lesiones mitocondriales mediadas por especies de oxígeno radical intracelular (ROS), por protein-kinasas activadas mitogénicas específicas (MAPKs)(es decir ERK1/2, JNK y p38) y por caspasa-3/7, in vitro [Sung CM, 2014]. Sin embargo, aún no se ha explorado las diferencias en vulnerabilidad citotóxica entre células sanas y tendinopáticas de los compartimentos intrínseco y extrínseco, y si el PRP refuerza la citotoxicidad de la lidocaina o no.

A pesar de estos datos negativos sobre la lidocaina in vitro, nuestro pacientes del grupo de la lidocaina mostraron similar perfil de seguridad que los pacientes que recibieron PRP.

Además de la elección de un comparador activo (sangre, corticoides) o placebo (salino), la eficacia del PRP en las intervenciones tendinosas puede ir fuertemente ligada a otros factores, que pueden tener relevancia clínica/biológica; por ejemplo, primero si la intervención es ecoguiada para controlar la liberación espacial del producto, es decir, peritendinoso, intratendinoso o ambos; y segundo, la intensidad de la tenotomía, que puede variar de 5 a 50 fenestraciones. Finalmente, la composición del PRP, varía entre estudios, en términos de la composición del producto, y el protocolo de aplicación. De acuerdo con el "Platelet Physiology Subcommittee of the Scientific an Standarization Committee" de la Sociedad Internacional de Trombosis y Hemostasis (ISTH), el plasma utilizado en este ensayo era recalcificado a 4.5 mL (x2) PRP IIA1 [Harrison P, 2018]. Las propiedades biológicas de este PRP, respecto a inflamación y angiogénesis [Andia I, 2015] migración celular, proliferación y efectos anabólicos, han sido completamente examinadas en cultivos de tenocitos [Rubio-Azpeitia E, 2015; Rubio-Azpeitia E, 2016], pero ellos utilizaron PRP alogénico congelado-descongelado.

Comparando con otros estudios clínicos, nosotros utilizamos un volumen relativamente elevado (4-5 mL vs.1-3mL). Estos altos volúmenes implican difusión del PRP mas allá de los sitios de infiltración, alcanzando tejido peritendinoso adyacente, incluido grasa subcutánea y peritenón (epitenón) [Loftus ML, 2012; Park GY, 2017].

Realmente, la activación del compartimento extrínseco (con mayor número de células que el propio tendón), también se necesita para conducir la curación a través de la acción complementaria de las células intrínsecas y extrínsecas. Sin embargo, cómo interactúan los compartimentos intrínsecos y extrínsecos en la

respuesta de curación fallida, es desconocido, y si el PRP (u otros productos regenerativos) deben ser liberados intra- o peritendinoso, o en ambos, y su interacción con los anestésicos locales, debe ser investigado. De acuerdo con hallazgos recientes [Papalia R, 2017], la liberación peritendinosa de PRP en las entesopatías fue efectivo en la reducción del dolor y produjo mejores resultados que las inyecciones en el propio tendón, en las tendinopatías del propio tendón.

Hay varios procedimientos para administrar el PRP, que pueden influir en los resultados clínicos y estructurales. La tenotomía con aguja consiste en la fenestración repetida del tendón con una aguja. El propósito del tratamiento es ocasionar un trauma local, dirigido a trasformar "la curación crónica fallida", en una lesión aguda con mayor potencial de curación. El objetivo es activar los mecanismos de curación agudos, es decir la inflamación y la angiogénesis. Sin embargo, hay algo de confusión en lo referente al procedimiento y la terminología asociada. En general, tenotomía, fenestraciones y punciones con aguja (neddling) son considerados sinónimos y describen de 20 a 50 pases con aguja a través del tendón [Kanaan Y et al, 2013; Jacobson JA et al, 2016]. Tratando de profundizar, otros autores describían 2 diferentes tipos de tenotomía con aguja, incluyendo la llamada técnica de "peppering", que incluye menos fenestraciones tendinosas (aproximadamente 5 pases con aguja), y una tenotomía con aguja más agresiva, que incluye múltiples punciones, hasta conseguir el reblandecimiento del tejido. Ambos procedimientos han sido recientemente comparados [Gaspar MP et al. 2017). Aunque los resultados son similares, se evidenció un incremento en la reducción del dolor a largo plazo en el grupo de la tenotomía, y en el grupo del "peppering" más pacientes requirieron cirugía abierta.

Nuestro protocolo también difirió de aquellos que publicaron el número de intervenciones. En realidad, acordes con la idea de que la tendinopatía se adquiere a través de muchos años y el hecho de que una sola intervención es improbable que cambie la estructura del tendón y la trayectoria de la tendinopatía, nosotros hemos practicado 2 intervenciones. En nuestro estudio, realizamos dos tenotomías secuenciales, con guía ecográfica, en un intervalo de 2 semanas, de 15 a 25 pases con aguja, con abrasión del periostio en la primera intervención, pero solo 10 pases con aguja en la segunda intervención, con infiltración intratendinosa (y probablemente peritendinosa) del producto, con inyección peritendinosa de anestésico local (lidocaina) y sin programa de ejercicio asociado. El procedimiento que proponemos puede ser útil en pequeños tendones, como el extensor común y el flexor común, para facilitar la infiltración de volúmenes crecientes del inyectable elegido.

Nosotros y otros autores presuponemos que la repetición de la inyección de PRP podría prolongar la exposición a factores de crecimiento y otras citoquinas liberadas por el PRP al tendón y de esa manera mejorar los resultados. Creany L, Montalvan B y Stenhouse G [Creany L, 2011; Montalvan B, 2016; Stenhouse G, 2013] repitieron las inyecciones con una diferencia de 2 a 4 semanas. Mientras no hay evidencias de los beneficios de la segunda inyección en la epicondilopatía [Glazmann MC, 2015], una segunda inyección incrementó los resultados en un estudio prospectivo randomizado de tendinopatía patelar [Zayni R, 2015]. Deseablemente, en el futuro, las intervenciones serán diseñadas según subgrupos de pacientes con diferentes necesidades tendinosas.

De acuerdo con un reciente meta-análisis [Miller LE, 2017], que incluía 12 estudios de epicondilopatía lateral dolorosa, un tamaño de efecto del 0.57 favorecía el tratamiento con PRP. Por ello, nuestro ensayo está infraponderado, ya que haría falta una muestra de 73 pacientes por grupo, para detectar cualquier diferencia significativa en los resultados clínicos. De acuerdo con estos datos, la mayoría de los estudios de la literatura, excepto uno [Mishra AK, 2014] examinando PRP en la epicondilopatía del codo, están infraponderados. Es más, la probabilidad de superioridad y el número necesitado para tratar, varía dependiendo del control [Tsikopoulos K, 2016].

En realidad, PRP ha sido comparado con varios inyectables, incluido sangre autóloga [Creany L, 2011; Thanasas C, 2011; Raeissadat SA, 2014], salino [Krogh TP, 2013; Palacio EP, 2016; Montalvan B, 2016] o corticoides [Peerbooms JC, 2010; Krogh TP, 2013; Palacio EP, 2016; Lebiedzinski R, 2015], utilizando diferentes protocolos de tratamiento. Además, a la elección del comparador, el uso o no de la tenotomía o una variante más suave como el “peppering” (aproximadamente 5 fenestraciones) puede llevar a diferentes diferencias temporales en la eficacia del PRP. Por ejemplo, Peerbooms et al. [Peerbooms JC, 2010] y Lebiedzinski et al. [Lebiedzinski R, 2015], utilizaron la técnica del “peppering” y demostraron que el L-PRP era superior a los corticoides a los 12 meses pero no a los 3 y 6 meses de seguimiento, corroborando hallazgos de otros estudio con solo 3 meses de seguimiento [Krogh TP, 2013]. Por otro lado, otros estudios, con muestras pequeñas por grupo [20-25 pacientes), fallaron para encontrar diferencias entre salino y L-PRP a los 3 meses [Krogh TP, 2013] o entre salino y PRP puro a los 6 o 12 meses [Montalvan B, 2016]. El último estudio incluía pacientes con epicondilitis reciente. Del mismo modo, cuando se utilizó sangre autóloga como comparador, no hubo diferencias relevantes en los resultados primarios en un periodo de 6 meses [Creany L, 2011; Thanasas C, 2011].

De acuerdo con la potencia estimada utilizando nuestros datos clínicos, nuestros resultados nos son concluyentes, debido a un inadecuado tamaño de muestra. Sin embargo, todos estos estudios son de valor, dado que contribuyen a fortalecer los hallazgos de los meta-análisis y revisiones de meta-análisis.

Inicialmente este ensayo fue diseñado para hacer un seguimiento de 12 meses y los cambios en el dolor y la función fueron considerados resultados primarios [Martin JI, 2013]. Debido a la pérdida de datos clínicos, no fuimos capaces de detectar diferencias clínicas [Martín JI, 2019], por lo que planificamos otra visita de seguimiento a los 20 meses. Curiosamente, la longitud del seguimiento en la mayoría de ensayos clínicos controlados y randomizados (ECR) va de 3 a 6 meses [Fitzpatrick J, 2017; Miller LE, 2017; Saltychev M, 2018] y solo uno de cada tres ECR tiene seguimiento a 12 meses. Los seguimientos a largo plazo son importantes, porque las acciones del PRP recaen sobre mecanismos paracrinos, es decir que el pool molecular activa células locales, que responden al PRP sintetizando más proteínas señalizadoras, principalmente involucradas en la inflamación y angiogénesis [Andía I, 2015]. Esto puede tener repercusión en el dolor y la función a medio y largo plazo. Realmente, en contraste con los corticoides, los efectos del PRP no se observan a corto plazo, sino tras varios meses.

Sin embargo, en nuestro estudio, a pesar del largo tiempo de seguimiento, no encontramos un beneficio clínico (medido con el DASH-E y el VAS-P) adicional del PRP sobre la lidocaina.

Pese a ello, la probabilidad de detectar diferencias significativas en los efectos del tratamiento, puede mejorar, no solo realizando ensayos mayores y durante un periodo más largo de seguimiento, si no también midiendo otros parámetros que sean relevantes a las propiedades biológicas del producto. Estudios de laboratorio revelan que el PRP regenera el tendón lesionado, por lo que la medida de parámetros ecográficos que sean relevantes a las propiedades biológicas del producto, podrían ayudar a dilucidar qué mecanismo de acción es importante para su eficacia, y como este tipo de intervenciones podría ser mejorado.

Utilizando cinco valoraciones seriadas, durante 20 meses, encontramos que el grado de vascularización se regulaba a la baja a lo largo del tiempo, de forma diferente para el PRP que para la lidocaina. Además, el grosor tendinoso a lo largo del tiempo fue diferente en los tendones tratados con PRP. Estos hallazgos están en concordancia con datos experimentales que revelan la influencia del PRP sobre la inflamación, angiogénesis y anabolismo tisular [Yan R, 2017; Rubio-Azpeitia E, 2016; Lyras D, 2010] y con los datos ecográficos en la epicondilopatía [Krogh TP,

2013], que muestran un incremento del grosor tendinoso 3 meses tras la inyección de PRP comparado con salino. El PRP libera una miríada de proteínas señalizadoras, por ejemplo VEGF (vascular endothelial growth factor), PF4 (platelet factor), TSP-1 (thrombospondin), PDGF (platelet derived growth factor), bFGF (basic fibroblastic growth factor) y endostatina, para modular la angiogénesis. Además el IGF-I (insulin-like growth factor) y el TGF-b1 (transforming growth factor) estimulan la síntesis de colágeno 1 por las células tendinosas.

El PRP en combinación con la tenotomía puede modular la neovascularización, una característica típica de la respuesta fallida a la curación, que subyace en las tendinopatías. Sin embargo, aunque la estructura tendinosa mejora en términos de vascularización y engrosamiento, no se restaura la completa continuidad de las fibras. Es más, corroborando otros estudios, nosotros no conseguimos demostrar ninguna asociación entre los diferentes parámetros clínicos y ecográficos, en ninguno de los momentos de seguimiento. Aunque encontramos correlaciones entre el DASH, VAS-P, y la ecotextura y vascularización en el conjunto de todos los datos (dato no mostrado), no conseguimos mostrar correlaciones en los tiempos específicos de seguimiento. Las razones para este desajuste temporal es pobremente comprendido, y puede tener que ver no solo con las escalas clínicas empleadas, sino también con la forma en que los cambios degenerativos en el tendón, interactúan con los nervios periféricos, con la activación subsecuente de vías nociceptivas controladas por mecanismos superiores del SNC [Palaniswamy V, 2018]. Es más, como luego demostramos, dependiendo de las características clínicas y los hallazgos ecográficos basales (y no del adyuvante de la tenotomía), la mejoría clínica se manifestaba a diferentes tiempos [Martín JI, 2018].

En definitiva, en este subestudio del ensayo clínico donde valoramos los cambios estructurales ecográficos a los 20 meses, comprobamos que el PRP influyó sobre el grosor tendinoso y la vascularización de manera diferente a la lidocaina, pero el PRP no fue superior a la lidocaina en la reducción del dolor y la recuperación funcional tras 20 meses de tratamiento, en pacientes con epicondilopatía recalcitrante de codo.

La identificación de los factores clínicos y características del tendón que pueden predecir los resultados tras tenotomía con aguja, podrían ayudar a optimizar las estrategias terapéuticas. Nosotros creamos un modelo que tenía en cuenta las variables entre sujetos y entre tendones (características ecográficas pretratamiento) y su influencia en la respuesta terapéutica a la tenotomía con aguja asociada con PRP o lidocaína. En nuestro modelo de efectos lineales mezclados, la variación introducida por el tipo de inyectable no explicó ninguna

diferencia en los resultados clínicos. Igualmente, la presencia de irregularidad cortical o el engrosamiento tendinoso no explicó la variabilidad en los resultados clínicos. Por el contrario, encontramos que la neovascularización influía significativamente en la respuesta terapéutica a la tenotomía. Es más, las interacciones entre sexo, grado de colesterolemia y características ecográficas, que incluyeron neovascularización, ecotextura y entesofitos, eran predictores significativos del patrón temporal de cambios funcionales. De acuerdo con estos hallazgos, los seguimientos a corto plazo pueden ser inapropiados para valorar la eficacia del tratamiento, dado que las características del paciente modulan el tiempo de mejoría.

Si la ecografía puede discriminar entre diferentes tipos de pacientes y funcionar como una potencial herramienta pronóstica en las intervenciones tendinosas, está bajo observación. Struijs et al. analizaron el valor predictivo de la ecografía en pacientes con codo de tenista que siguieron dos diferentes tratamientos conservadores: un grupo con abrazadera (ortesis), y otro grupo con terapia física. En este estudio las anomalías ecográficas no tuvieron valor predictivo de la efectividad de estas terapias (Struijs PA, 2005). No obstante, otros autores observaron una correlación negativa entre la hipoecogenicidad y los resultados tras terapia física [Clarke AW et al., 2010]. En estos pacientes, la presencia de ligamento colateral radial roto y el tamaño de las roturas intrasustancia, se correlacionó con pobres resultados a los 6 meses.

Hasta ahora no se había explorado el valor predictivo de la ecografía tras tenotomía con aguja en las epicondilopatías del codo. Sin embargo, en el tendón patelar, los resultados clínicos fueron mejores en tendones con áreas bien definidas de tendinosis, comparativamente con tendones con áreas mal definidas, cuatro semanas tras tenotomía [Kanaan Y et, 2013].

A pesar de las diferencias anatómicas y biológicas sustanciales entre las epicondilopatías lateral y medial, nosotros introdujimos ambas patologías en nuestro estudio. Encontramos diferencias significativas en el estado de la vascularización pretratamiento, dado que el tendón extensor común está más vascularizado.

Al contrario que otros estudios que involucraron al tendón aquíleo, en los cuales la presencia de vascularización pretratamiento se correlacionó con los síntomas, pero no predijo los resultados [Ohberg L eta., 2001; de Vos RJ et a., 2007; Zanetti M et al, 2003]. Tanto la vascularización como la ecotextura tuvieron un efecto significativo en los resultados clínicos (DASH) en nuestro modelo de mezcla de efectos. Sin embargo, no identificamos ninguna asociación entre vascularización y ecotextura, y la situación clínica pretratamiento.

En suma, nuestros datos revelan un importante beneficio clínico tras la tenotomía con aguja, en términos de los cambios experimentados a lo largo del tiempo en DASH y VAS-P. Aunque el DASH no es un cuestionario específico de codo, es la primera o segunda opción para la valoración de las tendinopatías de codo [Evans JP et al, 2018]. A señalar, que es el único cuestionario que ha sido analizado para la validación intercultural en español [Rosales RS et al, 2002]. Cambios en el DASH de 10 (5 a 15) puntos, se considera que representan una mejoría importante para los pacientes, la denominada Mínima Diferencia Clínicamente Importante (MDCI) [Sorensem et al, 2013; Franchignoni F et al, 2014]. Nuestros datos muestran mejorías en el DASH mayores que las MDCI tras un año, pero las interacciones entre las diferentes características demográficas, metabólicas y ecográficas pretratamiento, determinaron la progresión en el tiempo de la respuesta clínica. Del mismo modo, el dolor alcanzó una reducción clínica significativa del 56,9% tras 12 meses.

En nuestro contexto de hospital terciario, nuestra muestra, refleja las típicas características demográficas de la epicondilopatía, dado que los pacientes se situaban al final de los 40 y la mayoría eran trabajadores manuales. Curiosamente, nuestros datos revelaron que la hipercolesterolemia podía influenciar la respuesta clínica a la tenotomía con aguja. Existe una conexión entre tendinopatía e hipercolesterolemia, y una reciente hipótesis sugiere que el depósito de colesterol dentro del tendón puede iniciar una inflamación crónica subclínica y la subsecuente degeneración tendinosa [Abate M et al, 2013]. Tres de ocho pacientes con hipercolesterolemia (todos tomando estatinas), no realizaban trabajos manuales y eran sedentarios, lo que sugiere que la patología metabólica puede explicar su tendinopatía. Por qué los pacientes con hipercolesterolemia pueden responder mejor a la tenotomía es curioso. Estos hallazgos son considerados como “generadores de hipótesis”, y requieren confirmación.

Que los pacientes alcancen una mejoría MDCI a los 3, 6 o 12 meses depende de la interacción entre sexo, metabolismo graso, neovascularización, ecotextura y entesofitos. Sin embargo, el concepto de que estas características pueden modular la respuesta a la tenotomía con aguja es nuevo y requiere confirmación en otros estudios.

En nuestro estudio, el PRP se preparó en una sala estéril, siguiendo los procedimientos operativos estándar, y el coste del PRP por tratamiento fue de 46 €. La tenotomía llevó el mismo tiempo tanto con PRP como con lidocaína, como coadyuvantes. El tiempo medio de ocupación de la sala, en ambos casos fue de 15-20 minutos.

Nuestro estudio tiene diferentes limitaciones: 1. Si el PRP es superior a la lidocaina en este contexto, se mantiene sin resolver en este ensayo, en parte por la gran cantidad de datos perdidos, no atribuible a pacientes perdidos, sino a otras razones. Nosotros no realizamos recordatorios telefónicos de las citas a los pacientes y no controlamos si los pacientes que habían asistido a la cita del control ecográfico, luego asistían también a la cita con el traumatólogo. En realidad, muchos perdían su cita clínica, por los largos tiempos de espera. Es más, algunos cuestionarios de DASH-E fueron incompletamente rellenados, y no pudieron ser computados. 2. El diagnóstico es meramente clínico, basado en signos clínicos y dolor local. 3. Nosotros realizamos unas terapia combinada, es decir tenotomía + PRP, y la posible acción sinérgica de la tenotomía con el PRP no está bien estudiada. Pocos estudios han comparado la tenotomía seca con las inyecciones de PRP como terapias alternativas [Peerbooms JC, 2010]. La falta de un grupo con tenotomía seca en nuestro ensayo, significa que no podemos, con certeza, descartar el efecto de la tenotomía seca como el primer conductor de los beneficios terapéuticos. Es más, los efectos del PRP o lidocaina sin tenotomía, persisten sin ser dilucidados. Más investigaciones con un grupo control sin tenotomía con aguja, es mandatorio para confirmar estos resultados. 4. El DASH-E es la única escala funcional validada en español, pero tiene importantes limitaciones para valorar la función del codo, dado que otras patologías del miembro superior artefactan los resultados en el cuestionario DASH-E. 5. De acuerdo con los más recientes metaanálisis que incluyen información sobre el PRP [Fitzpatrick J, 2017; Miller LE, 2017; Saltychev M, 2018], nuestro estudio está infraponderado para detectar diferencias en los resultados clínicos y probables cambios ecográficos. Nosotros calculamos el tamaño muestral para los resultados funcionales primarios basados en un ECR previo [Peerbooms JC, 2010], que comparaba PRP con corticoides en epicondilopatía lateral, pero no se estimó el tamaño muestral para las variables ecográficas. 6. Nosotros hemos incluido pacientes tanto con epicondilopatía lateral como medial, lo que añade heterogeneidad a nuestros resultados. 7. Primero, no recomendamos ningún programa de ejercicio específico y no controlamos la modificación de actividad de los pacientes. Nuestra población estaba formada principalmente por trabajadores manuales, y la continuación de la exposición al trabajo [Descatha A et al, 2016], puede influir los resultados. 8. El estudio ecográfico se realizó utilizando ecografía Doppler color convencional. Aunque elaboramos cuidadosamente nuestros protocolos de valoración ecográfica, la variabilidad operador-dependiente, es inevitable; somos conscientes que herramientas en investigación para una estimación más precisa de los ecotipos mediante la caracterización tisular

ecográfica computerizada (CTEC), podría eliminar la variabilidad. En este sentido, la utilización de ecografía con contraste podría ser más eficiente en la valoración de la vascularización tras la inyección con PRP [Chaudhury S, 2013]. Sin embargo el tiempo de ocupación de la sala de ecografía es una limitación intrínseca de la organización de nuestro Servicio de Salud, y nuestra investigación se ha realizado en un Hospital Universitario de Referencia para más de 700.000 habitantes.

Los análisis "intention-to-treat" reflejan que la doble tenotomía con lidocaina o PRP como adyuvantes, es efectiva en producir una reducción clínicamente significativa en el DASH y VAS-P, en una cohorte de pacientes con tendinopatía recalcitrante de codo. En más del 70% de los casos, la tenotomía tenía éxito, cuando el resto de terapias conservadoras habían fallado, y ambos adyuvantes parecen tener una eficacia comparable con este limitado tamaño muestral. Por tanto recomendamos tenotomía húmeda con PRP/lidocaina como una importante opción de segunda línea, en pacientes en los que la terapia física conservadora haya fracasado, siendo fundamental describir y discutir los detalles de nuestro protocolo de actuación, que puedan implicar consecuencias clínicas. Los pacientes son normalmente tratados siguiendo el tradicional esquema de aproximación a la enfermedad de "ensayo-error". No podemos predecir que pacientes experimentarán una respuesta positiva a la tenotomía. Nuevos modelos que combinen características demográficas, genéticas y metabólicas, con las características ecográficas de la entidad, pueden ayudar en la identificación de los pacientes respondedores, mejorando así la eficacia del manejo conservador de la tendinopatía.

CONCLUSIONES

6. CONCLUSIONES

1) Dos tenotomías húmedas con aguja, es una terapia segura que reduce el dolor, mejora la función e induce cambios estructurales en los tendones del codo a los 20 meses.

2) No encontramos ninguna diferencia clínica entre los efectos de los adyuvantes, PRP y lidocaina, en la reducción del dolor o en la recuperación funcional.

3) Los cambios en el grosor y la vascularización difieren a lo largo del tiempo, dependiendo del adyuvante: el PRP tiene una mayor influencia sobre los cambios temporales de la vascularización y el engrosamiento tendinoso, pero estos cambios no se correlacionan con la evolución clínica.

4) La presencia de neovascularización tendinosa basal es predictivo de buena respuesta terapéutica a la tenotomía.

5) Las interacciones entre sexo, hipercolesterolemia y características ecográficas, que incluyeron neovascularización, ecotextura y entesofitos, eran predictores significativos del patrón temporal de cambios funcionales. De acuerdo con estos hallazgos, los seguimientos a corto plazo pueden ser inapropiados para valorar la eficacia del tratamiento, dado que las características del paciente modulan el tiempo de mejoría.

PERPECTIVAS FUTURAS

7. PERPECTIVAS FUTURAS

Nuestro estudio ha utilizado un diseño concreto de tenotomía (15-20 festraciones con aguja), que per se tiene un efecto importante, pero existen otras intervenciones percutáneas menos agresivas que podrían permitir valorar de manera más precisa el efecto del adyuvante y la efectividad intrínseca del PRP. Futuras terapias en investigación debierán enfrentar la tenotomía a la infiltración con PRP peritendinosa.

Nuestros resultados abren la vía al diseño de un tratamiento personalizado, en función de la localización anatómica, entesopatía vs tendinopatía no insercional, características ecográficas del tendón afecto asi como las características demográficas y clínicas de cada paciente.

La formulación óptima de PRP y el mejor protocolo de tratamiento para pacientes con tendinopatías no se conoce todavía. El volumen y el número de inyecciones permanecen sin definir, y los estudios clínicos publicados hasta ahora presentan gran variabilidad en cuanto al volumen de plasma que oscila entre 1.5-4 ml; la concentración de plaquetas 1-8x, la concentración de leucocitos desde no detectable a 5x, el número de inyecciones 1-3, la activación del plasma ex vivo con Ca2Cl/activación in situ con los factores titulares, el intervalo entre inyecciones 1-4 semanas. Futuras investigaciones debieran determinar la eficacia de las diferentes formulaciones de PRP.

Asi mismo el estudio de productos celulares, como la fracción vascular estromal de la grasa (SVF) abre nuevos campos en la investigación de las Terapias Biológicas para las tendinopatías.

La ecografía se consolida como una herramienta clínica fundamental en la investigación y diseño de nuevas terapias, que permite alcanzar con total precisión espacial las dianas terapéuticas, tanto intrínsecas como extrínsecas al tendón. Además del valor diagnóstico, la ecografía Doppler permite describir mecanismos biológicos activados tras la intervención percutánea mínimamente invasiva.

BIBLIOGRAFIA

8. BIBLIOGRAFIA

1) Abat F, Alfredson H, Cucchiarini M, Madry H, Marmotti A, Mouton C, Oliveira JM, Pereira H, Peretti GM, Spang C, Stephen J, van Bergen CJA y de Girolamo L. Current trends in tendinopathy: consensus of the ESSKA basic science committee. Part II: treatment options. Journal of Experimental Orthopaedics. 2018; 5:38.

2) Abate M, Silbernagel KG, Siljeholm C, Di Iorio A, De Amicis D, Salini V, Werner S, Paganelli R. Pathogenesis of tendinopathies: inflammation or degeneration? Arthritis Res Ther. 2009; 11(3):235.

3) Abate M, Schiavone C, Di Carlo L, Salini V. Achilles tendon and plantar fascia in recently diagnosed type II diabetes: role of body mass index. ClinRheumatol. 2012 Jul; 31(7):1109-13.

4) Abate M, Schiavone C, Salini V, Andia I. Occurrence of tendon pathologies in metabolic disorders. Rheumatology (Oxford). 2013 Apr; 52(4):599-608.

5) Ackermann PW1, Renström P. Tendinopathy in sport. Sports Health. 2012 May; 4(3):193-201.

6) Ahmad Z, Brooks R, Kang SN, Weaver H, Nunney I, Tytherleigh-Strong G, Rushton N. The effect of platelet-rich plasma on clinical outcomes in lateral epicondylitis.Arthroscopy. 2013 Nov; 29(11):1851-62. Review.

7) Alfredson H. The chronic painful Achilles and patellar tendon: research on basic biology and treatment.Scand J Med Sci Sports. 2005 Aug; 15(4):252-9.

8) Al-Qattan MM.Factors in the pathogenesis of Dupuytren's contracture.J Hand Surg Am. 2006 Nov; 31(9):1527-34. Review

9) Andia I, Sanchez M, Maffulli N. Tendon healing and platelet-rich plasma therapies. Expert OpinBiolTher. 2010 Oct; 10(10):1415-26.

10) Andia I, Sánchez M, Maffulli N. Joint pathology and platelet-rich plasma therapies.ExpertOpinBiolTher. 2012 Jan; 12(1):7-22. Review.

11) Andia I, Maffulli N. Platelet-rich plasma for muscle injury and tendinopathy.Sports Med Arthrosc Rev. 2013 Dec; 21(4):191-8. Review.

12) Andia I, Rubio-Azpeitia E. Angiogenic and innate immune responses triggered by PRP in tendon cells are not modified by hyperuricemia. Muscles Ligaments Tendons J. 2014 Nov 17; 4(3):292-7.

13) Andia I, Rubio-Azpeitia E, Maffulli N. Platelet-rich plasma modulates the secretion of inflammatory/angiogenic proteins by inflamed tenocytes. Clin Orthop Relat Res. 2015 May; 473(5):1624-34.

14) Andia I, Abate M. Hyperuricemia in Tendons.AdvExp Med Biol. 2016; 920:123-32. Review.

15) Andia I, Maffulli N. Biological Therapies in Regenerative Sports Medicine. Sports Med 2017;47(5):807-828.

16) Andia I, Martin JI, Maffulli N. Advances with platelet rich plasma therapies for tendon regeneration. Expert Opin Biol Ther. 2018; 18(4):389-98.

17) Andres BM, Murrell GA. Treatment of tendinopathy: what works, what does not, and what is on the horizon.ClinOrthopRelat Res. 2008 Jul; 466(7):1539-54. Review

18) Anitua E. Plasma rich in growth factors: preliminary results of use in the preparation of future sites for implants.Int J Oral Maxillofac Implants. 1999 Jul-Aug; 14(4):529-35.

19) Anitua E, Andia I, Ardanza B, Nurden P, Nurden AT.Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration.ThrombHaemost. 2004 Jan; 91(1):4-15. Review

20) Anitua E, Andía I, Sanchez M, Azofra J, del Mar Zalduendo M, de la Fuente M, Nurden P, Nurden AT.Autologous preparations rich in growth factors promote proliferation and induce VEGF and HGF production by human tendon cells in culture.J Orthop Res. 2005 Mar;23(2):281-6.

21) Anitua E, Sanchez M, Nurden AT, Zalduendo M, de la Fuente M, Orive G, Azofra J, Andia I. Autologous fibrin matrices: a potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities. J Biomed Mater Res A. 2006 May; 77(2):285-93.

22) Anitua E, Sánchez M, Nurden AT, Nurden P, Orive G, Andía I. New insights into and novel applications for platelet-rich fibrin therapies.Trends Biotechnol. 2006 May; 24(5):227-34. Review.

23) Anitua E, Sánchez M, Zalduendo MM, de la Fuente M, Prado R, Orive G, Andía I. Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. Cell Prolif. 2009 Apr; 42(2):162-70.

24) Arirachakaran A, Sukthuayat A, Sisayanarane T, Laoratanavoraphong S, Kanchanatawan W, Kongtharvonskul J.Platelet-rich plasma versus autologous blood versus steroid injection in lateral epicondylitis: systematic review and network meta-analysis.J OrthopTraumatol. 2016 Jun; 17(2):101-12. Review.

25) Aström M, Rausing A.Chronic Achilles tendinopathy. A survey of surgical and histopathologic findings.ClinOrthopRelat Res. 1995 Jul; (316):151-64.

26) Aström M. Laser Doppler flowmetry in the assessment of tendon blood flow.Scand J Med Sci Sports. 2000 Dec; 10(6):365-7.

27) Bachta A, Rowicki K, Kisiel B, Żabicka M, Elert-Kopeć S, Płomiński J, Tłustochowicz W, Maliborski A.Ultrasonography versus magnetic resonance imaging in detecting and grading common extensor tendon tear in chronic lateral epicondylitis.PLoSOne. 2017 Jul 27; 12(7):e0181828.

28) Baksh N1, Hannon CP, Murawski CD, Smyth NA, Kennedy JG. Platelet-rich plasma in tendon models: a systematic review of basic science literature.Arthroscopy. 2013 Mar; 29(3):596-607.

29) Bashford GR1, Tomsen N, Arya S, Burnfield JM, Kulig K. Tendinopathy discrimination by use of spatial frequency parameters in ultrasound B-mode images.IEEE Trans Med Imaging. 2008 May; 27(5):608-15.

30) Behera P, Dhillon M, Aggarwal S, Marwaha N, Prakash M.Leukocyte-poor platelet-rich plasma versus bupivacaine for recalcitrant lateral epicondylar tendinopathy.J OrthopSurg (Hong Kong). 2015 Apr;23(1):6-10

31) Behzad H, Sharma A, Mousavizadeh R, Lu A, Scott A.Mast cells exert pro-inflammatory effects of relevance to the pathophyisology of tendinopathy.Arthritis Res Ther. 2013;15(6):R184

32) Bendinelli P, Matteucci E, Dogliotti G, Corsi MM, Banfi G, Maroni P, Desiderio MA.Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: mechanisms of NF-κB inhibition via HGF.J Cell Physiol. 2010 Nov;225(3):757-66.

33) Benjamin M, Qin S, Ralphs JR. Fibrocartilage associated with human tendons and their pulleys. J Anat. 1995 Dec; 187 (Pt 3):625-33.

34) Best TM, McElhaney J, Garrett WE Jr, Myers BS.Characterization of the passive responses of live skeletal muscle using the quasi-linear theory of viscoelasticity.J Biomech. 1994 Apr; 27(4):413-9.

35) Bi Y, Han Z, Shu H, Caramazza A.Nouns, verbs, objects, actions, and the animate/inanimate effect.CognNeuropsychol. 2007 Jul;24(5):485-504.

36) Bijlsma JW, Berembaum F, Lafeber FP. Osteoarthritis: an update with relevance for clinical practice. Lancet 2011 Jun 18; 377(9783):2115-26.

37) Bjordal JM, Lopes-Martins RA, Joensen J, Couppe C, Ljunggren AE, Stergioulas A, Johnson MI.A systematic review with procedural assessments and meta-analysis of low level laser therapy in lateral elbow tendinopathy (tennis elbow).BMC MusculoskeletDisord. 2008 May 29;9:75. Review.

38) Boesen AP, Hansen R, Boesen MI, Malliaras P, Langberg H. Effect of High-Volume Injection, Platelet-Rich Plasma, and Sham Treatment in Chronic Midportion Achilles Tendinopathy: A Randomized Double-Blinded Prospective Study. Am J Sports Med. 2017;45(9):2034-43.

39) Bosch G, van Schie HT, de Groot MW, Cadby JA, van de Lest CH, Barneveld A, van Weeren PR. Effects of platelet-rich plasma on the quality of repair of mechanically induced core lesions in equine superficial digital flexor tendons: A placebo-controlled experimental study. J Orthop Res. 2010 Feb;28(2):211-7.

40) Bosch G, René van Weeren P, Barneveld A, van Schie HT. Computerised analysis of standardised ultrasonographic images to monitor the repair of surgically created core lesions in equine superficial digital flexor tendons following treatment with intratendinous platelet rich plasma or placebo. Vet J. 2011 Jan;187(1):92-8.

41) Bosch G, Moleman M, Barneveld A, van Weeren PR, van Schie HT. The effect of platelet-rich plasma on the neovascularization of surgically created equine superficial digital flexor tendon lesions. Scand J Med Sci Sports. 2011 Aug;21(4):554-61.

42) Boswell SG1, Schnabel LV, Mohammed HO, Sundman EA, Minas T, Fortier LA. Increasing platelet concentrations in leukocyte-reduced platelet-rich plasma decrease collagen gene synthesis in tendons.Am J Sports Med. 2014 Jan;42(1):42-9.

43) Buchbinder R, Green S, Youd JM, Johnston RV.Oral steroids for adhesive capsulitis.Cochrane Database Syst Rev. 2006 Oct 18;(4).Review.

44) Calfee RP, Patel A, DaSilva MF, Akelman E. Management of lateral epicondylitis: current concepts.J Am AcadOrthop Surg. 2008 Jan;16(1):19-29. Review

45) Capasso G, Testa V, Maffulli N, Bifulco G. Aprotinin, corticosteroids and normosaline in the management of patellar tendinopathy in athletes: a prospective randomized study. Sports Exerc Injury. 1997;3:111–115

46) Carofino B, Chowaniec DM, McCarthy MB, Bradley JP, Delaronde S, Beitzel K, Cote MP, Arciero RA, Mazzocca AD.Corticosteroids and local anesthetics decrease positive effects of platelet-rich plasma: an in vitro study on human tendon cells.Arthroscopy. 2012 May; 28(5):711-9.

47) Carr AJ, Norris SH.The blood supply of the calcaneal tendon.J Bone Joint Surg Br. 1989 Jan; 71(1):100-1.

48) Chabot V, Dromard C, Rico A, Langonné A, Gaillard J, Guilloton F, Casteilla L, Sensebé L.Urokinase-type plasminogen activator receptor interaction with β1 integrin is required for platelet-derived growth factor-AB-induced human mesenchymal stem/stromal cell migration.Stem Cell Res Ther. 2015 Sep 29; 6:188.

49) Chan O, O`Dowd D, Padhiar N, Morrisey D, King J, Jalan R et al. High volume image guided injections in chronic Achilles tendinopathy. Disability and Rehabilitation. 2008 30; 20-22:1697-1708.

50) Chaudhury S, de La Lama M, Adler RS, et al. Platelet-rich plasma for the treatment of lateral epicondylitis: sonographic assessment of tendon morphology and vascularity (pilot study). Skeletal Radiol. 2013; 42(1):91-7.

51) Clarke AW, Ahmad M, Curtis M, Connell DA Lateral elbow tendinopathy: correlation of ultrasound findings with pain and functional disability. Am J Sports Med 2010; 38(6):1209-1214.

52) Coombes BK, Bisset L, Brooks P, Khan A, Vicenzino B.Effect of corticosteroid injection, physiotherapy, or both on clinical outcomes in patients with unilateral lateral epicondylalgia: a randomized controlled trial. JAMA. 2013 Feb 6; 309(5):461-9.

53) Couppé C, Kongsgaard M, Aagaard P, Hansen P, Bojsen-Moller J, Kjaer M, Magnusson SP. Habitual loading results in tendon hypertrophy and increased stiffness of the human patellar tendon. J Appl Physiol (1985). 2008 Sep; 105(3):805-10.

54) 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. 2011 Sep; 45(12):966-71.

55) Cross JA, Cole BJ, Spatny KP, Sundman E, Romeo AA, Nicholson GP, Wagner B, Fortier LA.Leukocyte-Reduced Platelet-Rich Plasma Normalizes Matrix Metabolism in Torn Human Rotator Cuff Tendons.Am J Sports Med. 2015 Dec;43(12):2898-906.

56) Czekay RP1, Wilkins-Port CE, Higgins SP, Freytag J, Overstreet JM, Klein RM, Higgins CE, Samarakoon R, Higgins PJ. PAI-1: An Integrator of Cell Signaling and Migration.Int J Cell Biol. 2011; 2011:562481.

57) D'Addona A, Maffulli N, Formisano S, Rosa D. Inflammation in tendinopathy. Surgeon. 2017 Oct;15(5):297-302.

58) Dakin SG, Martinez FO, Yapp C, Wells G, Oppermann U, Dean BJ, Smith RD, Wheway K, Watkins B, Roche L, Carr AJ.Inflammation activation and resolution in human tendon disease.SciTransl Med. 2015 Oct 28;7(311):311ra173.

59) Danielson P, Alfredson H, Forsgren S. Immunohistochemical and histochemical findings favoring the occurrence of autocrine/paracrine as well as nerve-related cholinergic effects in chronic painful patellar tendon tendinosis.Microsc Res Tech. 2006 Oct; 69(10):808-19.

60) de Jonge S, Tol JL, Weir A, Waarsing JH, Verhaar JA, de Vos RJ. The Tendon Structure Returns to Asymptomatic Values in Nonoperatively Treated Achilles Tendinopathy but Is Not Associated With Symptoms: A Prospective Study. Am J Sports Med. 2015 Dec; 43(12):2950-8.

61) de Jorge EG, Macor P, Paixão-Cavalcante D, Rose KL, Tedesco F, Cook HT, Botto M, Pickering MC.The development of atypical hemolytic uremic syndrome depends on complement C5.J Am SocNephrol. 2011 Jan; 22(1):137-45.

62) de Vos D, Bruggeman FJ, Westerhoff HV, Bakker BM.How molecular competition influences fluxes in gene expression networks.PLoS One. 2011; 6(12):e28494.

63) de Vos RJ, Weir A, Cobben LP, Tol JL. The value of power Doppler ultrasonography in Achilles tendinopathy: a prospective study. Am J Sports Med 2007;35(10):1696-1701.

64) de Vos RJ, Weir A, van Schie HT, Bierma-Zeinstra SM, Verhaar JA, Weinans H, Tol JL. Platelet-rich plasma injection for chronic Achilles tendinopathy: a randomized controlled trial. JAMA. 2010 Jan 13; 303(2):144-9.

65) Deans VM1, Miller A, Ramos J. A prospective series of patients with chronic Achilles tendinopathy treated with autologous-conditioned plasma injections combined with exercise and therapeutic ultrasonography. J Foot AnkleSurg. 2012 Nov-Dec; 51(6):706-10.

66) Del Buono A, Oliva F, Osti L, Maffulli N. Metalloproteases and tendinopathy. Muscles Ligaments Tendons J. 2013 May 21;3(1):51-7.

67) Descatha A, Albo F, Leclerc A, et al. Lateral Epicondylitis and Physical Exposure at Work? A Review of Prospective Studies and Meta-Analysis. Arthritis Care Res (Hoboken) 2016; 68(11):1681-1687.

68) David M. DohanEhrenfest, Isabel Andia, Matthias A. Zumstein, Chang-Qing Zhang, Nelson R. Pinto, and TomaszBielecki. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. Muscles Ligaments Tendons J. 2014 Jan-Mar; 4(1): 3–9.

69) Dones VC 3rd, Grimmer K, Thoirs K, Suarez CG, Luker J. The diagnostic validity of musculoskeletal ultrasound in lateral epicondylalgia: a systematic review. BMC Med Imaging. 2014 Mar 3;14:10.

70) Dragoo JL1, Wasterlain AS, Braun HJ, Nead KT.Platelet-rich plasma as a treatment for patellar tendinopathy: a double-blind, randomized controlled trial.Am J Sports Med. 2014 Mar; 42(3):610-8.

71) Dyment NA, Galloway JL.Regenerative biology of tendon: mechanisms for renewal and repair.CurrMolBiol Rep. 2015 Sep; 1(3):124-131.

72) Epro G, Mierau A, Doerner J, Luetkens JA, Scheef L, Kukuk GM, Boecker H, Maganaris CN, Brüggemann GP, Karamanidis K. The Achilles tendon is mechanosensitive in older adults: adaptations following 14 weeks versus 1.5 years of cyclic strain exercise. J Exp Biol. 2017 Mar 15; 220(Pt 6):1008-1018.

73) Evans JP, Smith CD, Fine NF, et al. Clinical rating systems in elbow research-a systematic review exploring trends and distributions of use. J Shoulder Elbow Surg 2018 Feb 12. pii: S1058-2746(18)30014-4. doi: 10.1016/j.jse.2017.12.027.

74) Filardo G, Di Matteo B, Kon E, Merli G, Marcacci M. Platelet-rich plasma in tendon-related disorders: results and indications.Knee Surg Sports TraumatolArthrosc. 2016 Sep 24. Review.

75) Finnoff JT, Fowler SP, Lai JK, Santrach PJ, Willis EA, Sayeed YA, Smith J.Treatment of chronic tendinopathy with ultrasound-guided needle tenotomy and platelet-rich plasma injection. PM R. 2011 Oct; 3(10):900-11.

76) Fitzgerald MJ. Undergraduate medical anatomy teaching. *J Anat.* 1992 Feb;180(Pt 1):203–209

77) Fitzpatrick J1, Bulsara M2, Zheng MH1. The Effectiveness of Platelet-Rich Plasma in the Treatment of Tendinopathy: A Meta-analysis of Randomized Controlled Clinical Trials.Am J Sports Med. 2017 Jan; 45(1):226-233.

78) Flad HD1, Brandt E. Platelet-derived chemokines: pathophysiology and therapeutic aspects.Cell Mol Life Sci. 2010 Jul; 67(14):2363-86.

79) Ford RD, Schmitt WP, Lineberry K, Luce P. A retrospective comparison of the management of recalcitrant lateral elbow tendinosis: platelet-rich plasma injections versus surgery.Hand (N Y). 2015 Jun; 10(2):285-91.

80) Franchignoni F, Vercelli S, Giordano A, Sartorio F, Bravini E, Ferriero G. Minimal clinically important difference of the disabilities of the arm, shoulder and hand outcome measure (DASH) and its shortened version (QuickDASH). J Orthop Sports Phys Ther 2014; 44(1):30-39.

81) Fu SC, Rolf C, Cheuk YC, Lui PP, Chan KM.Deciphering the pathogenesis of tendinopathy: a three-stages process.Sports Med ArthroscRehabilTher Technol. 2010 Dec 13;2:30

82) Gabel GT1, Morrey BF. Operative treatment of medical epicondylitis. Influence of concomitant ulnar neuropathy at the elbow.J Bone Joint Surg Am. 1995 Jul; 77(7):1065-9.

83) Gardner RC. Tennis elbow: diagnosis, pathology and treatment. Nine severe cases treated by a new reconstructive operation. ClinOrthopRelat Res. 1970 Sep-Oct; 72:248-53.

84) Gaspar MP, Motto MA, Lewis S, et al. Platelet-Rich Plasma Injection With Percutaneous Needling for Recalcitrant Lateral Epicondylitis: Comparison of Tenotomy and Fenestration Techniques. Orthop J Sports Med 2017;5(12):2325967117742077

85) Gautam VK, Verma S, Batra S, Bhatnagar N, Arora S.Platelet-rich plasma versus corticosteroid injection for recalcitrant lateral epicondylitis: clinical and ultrasonographic evaluation.J OrthopSurg (Hong Kong). 2015 Apr; 23(1):1-5.

86) Gawaz M, Langer H, May AE.Platelets in inflammation and atherogenesis.J Clin Invest. 2005 Dec; 115(12):3378-84. Review.

87) Glazmann MC, Audigé L. Platelet-rich plasma for chronic lateral epicondylitis: Is one injection sufficient? Arch Orthop Trauma Surg 2015; 135(12):1637-45.

88) Gleissner Christian A., Shaked Iftach, Little Kristina M., Ley Klaus. CXCL4 induces a unique transcriptome in monocyte-derived macrophages. J Immunol. 2010 May 1; 184(9): 4810–4818.

89) Gosens T, Peerbooms JC, van Laar W, den Oudsten BL.Ongoing positive effect of platelet-rich plasma versus corticosteroid injection in lateral epicondylitis: a double-blind randomized controlled trial with 2-year follow-up.Am J Sports Med. 2011 Jun;39(6):1200-8.

90) Grosse U, Syha R, Martirosian P, Wuerslin C, Horger M, Grözinger G, Schick F, Springer F. Ultrashort echo time MR imaging with off-resonance saturation for characterization of pathologically altered Achilles tendons at 3 T.MagnReson Med. 2013 Jul;70(1):184-92.

91) Guelfi M, Pantalone A, Vanni D, Abate M, Guelfi MG, Salini V. Long-term beneficial effects of platelet-rich plasma for non-insertional Achilles tendinopathy.Foot Ankle Surg. 2015 Sep;21(3):178-81.

92) Hammerman M, Aspenberg P, Eliasson P. Microtrauma stimulates rat Achilles tendon healing via an early gene expression pattern similar to mechanical loading. J Appl Physiol (1985) 2014; 116(1):54-60.

93) Hansen M1, Kongsgaard M, Holm L, Skovgaard D, Magnusson SP, Qvortrup K, Larsen JO, Aagaard P, Dahl M, Serup A, Frystyk J, Flyvbjerg A, Langberg H, Kjaer M. Effect of estrogen on tendon collagen synthesis, tendon structural characteristics, and biomechanical properties in postmenopausal women. J Appl Physiol. 2009 Apr; 106(4):1385-93.

94) Harrison P; Subcommittee on Platelet Physiology. The use of platelets in regenerative medicine and proposal for a new classification system: guidance from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost 2018 Jul 4. doi: 10.1111/jth.14223.

95) Heijnen H1, van der Sluijs P2. Platelet secretory behaviour: as diverse as the granules … or not? J ThrombHaemost. 2015 Dec; 13(12):2141-51.

96) María Teresa Hervás a, María José Navarro Collado a, b, Salvador Peiró b, c, José Luis Rodrigo Pérez d, Pedro López Matéu a, Isabel Martínez Tello. Versión española del cuestionario DASH. Adaptación transcultural, fiabilidad, validez y sensibilidad a los cambiosSpanish version of the DASH questionnaire. Cross-cultural

adaptation, reliability, validity and responsiveness. Medicina Clínica 2006 Sep; 127(12): 441-447.

97) Hodgson RJ, O'Connor PJ, Hensor EM, Barron D, Robinson P. Contrast-enhanced MRI of the subdeltoid, subacromial bursa in painful and painless rotator cuff tears. Br J Radiol. 2012 Nov; 85(1019):1482-7.

98) Hong-Yun Li and Ying-Hui Hua. Achilles Tendinopathy: Current Concepts about the Basic Science and Clinical Treatments. BioMed Research International. Volume 2016, Article ID 6492597, 9 pages. Review .

99) Hoogvliet P1, Randsdorp MS, Dingemanse R, Koes BW, Huisstede BM. Does effectiveness of exercise therapy and mobilisation techniques offer guidance for the treatment of lateral and medial epicondylitis? A systematic review.Br J Sports Med. 2013 Nov; 47(17):1112-9.

100) Hsu SH, Moen TC, Levine WN, Ahmad CS.Physical examination of the athlete's elbow.Am J Sports Med. 2012 Mar;40(3):699-708. Review

101) Huisman E, Lu A, McCormack RG, Scott A. Enhanced collagen type I synthesis by human tenocytes subjected to periodic in vitro mechanical stimulation.BMC MusculoskeletDisord. 2014 Nov 21;15:386.

102) Hunt P. The physiologic role and therapeutic potential of the Mpl-ligand in thrombopoiesis. Stem Cells. 1995 Nov; 13(6):579-87. Review

103) Jacobson JA, Kim SM, Brigido MK. Ultrasound-Guided Percutaneous Tenotomy. Semin Musculoskelet Radiol 2016; 20(5):414-421.

104) Jafari L, Vachon P, Beaudry F, Langelier E. Histopathological, biomechanical, and behavioral pain findings of Achilles tendinopathy using an animal model of overuse injury.Physiol Rep. 2015 Jan 19;3(1).

105) Järvinen M. Epidemiology of tendon injuries in sports.Clin Sports Med. 1992 Jul; 11(3):493-504. Review

106) Jennings LK. Mechanisms of platelet activation: need for new strategies to protect against platelet-mediated atherothrombosis.ThrombHaemost. 2009 Aug;102(2):248-57. Review

107) Jo CH, Kim JE, Yoon KS, Shin S.Platelet-rich plasma stimulates cell proliferation and enhances matrix gene expression and synthesis in tenocytes from human rotator cuff tendons with degenerative tears.Am J Sports Med. 2012 May; 40(5):1035-45.

108) Josefsson EC, Burnett DL, Lebois M, Debrincat MA, et al. Platelet production proceeds independently of the intrinsic and extrinsic apoptosis pathways. Nat Commun. 2014 Mar 17; 5:3455.

109) Józsa L, Bálint JB, Réffy A, Demel Z. Histochemical and ultrastructural study of adult human tendon.ActaHistochem. 1979; 65(2):250-7.

110) Jozsa, Laszlo G. and Kannus, Pekka. Human Tendons: Anatomy, Physiology, and Pathology. Editorial: Human Kinetics, Champaign, Illinois, U.S.A., 1997

111) Kajikawa Y. Research core and framework of sustainability science. Sustainability Science. October 2008, Volume 3, Issue 2, pp 215–239 .ISBN 10: 0873224841 / ISBN 13: 9780873224840

112) Kanaan Y, Jacobson JA, Jamadar D, Housner J, Caoili EM. Sonographically Guided Patellar Tendon Fenestration.Prognostic Value of Preprocedure Sonographic Findings. J Ultrasound 2013:32(5):771-777.

113) Kaniki N1, Willits K2, Mohtadi NG3, Fung V4, Bryant D. A retrospective comparative study with historical control to determine the effectiveness of platelet-rich plasma as part of nonoperative treatment of acute achilles tendon rupture.Arthroscopy. 2014 Sep; 30(9):1139-45.

114) Kannus P, Józsa L.Histopathological changes preceding spontaneous rupture of a tendon. A controlled study of 891 patients.J Bone Joint Surg Am. 1991 Dec; 73(10):1507-25.

115) Kannus P, Järvinen M, Vuori I.Fall-induced injuries among the elderly are a big challenge of the 21st century.Duodecim. 2000; 116(5):469-71.

116) Karaduman M, Okkaoglu MC, Sesen H, Taskesen A, Ozdemir M, Altay M.Platelet-rich plasma versus open surgical release in chronic tennis elbow: A retrospective comparative study.J Orthop. 2016 Jan 22; 13(1):10-4.

117) Karousou E, Ronga M, Vigetti D, Barcolli D, Passi A, Maffulli N. Molecular interactions in extracellular matrix of tendon.Front Biosci (Elite Ed). 2010 Jan 1;2:1-12. Review.

118) Kaux JF, Bruyere O, Croisier JL, Forthomme B, Le Goff C, Crielaard JM. One-year follow-up of platelet-rich plasma infiltration to treat chronic proximal patellar tendinopathies. Acta Orthop Belg. 2015 Jun; 81(2):251-6.

119) Kearney RS, Parsons N, Costa ML.Achilles tendinopathy management: A pilot randomised controlled trial comparing platelet-richplasma injection with an eccentric loading programme. Bone Joint Res. 2013 Oct 17; 2(10):227-32.

120) Khaliq A, Khan I, Inam M, Saeed M, Khan H, Iqbal MJ. Effectiveness of platelets rich plasma versus corticosteroids in lateral epicondylitis.J Pak Med Assoc. 2015 Nov; 65(11 Suppl 3):S100-4.

121) Khan KM, Maffulli N, Coleman BD, Cook JL, Taunton JE.Patellar tendinopathy: some aspects of basic science and clinical management.Br J Sports Med. 1998 Dec;32(4):346-55. Review.

122) Kim HM, Nelson G, Thomopoulos S, Silva MJ, Das R, Gelberman RH.Technical and biological modifications for enhanced flexor tendon repair.J Hand Surg Am. 2010 Jun;35(6):1031-7; quiz 1038. Review

123) Kirkendall DT, Garrett WE.Function and biomechanics of tendons.Scand J Med Sci Sports. 1997 Apr; 7(2):62-6.

124) Kjaer M, Laqngberg H, Heinemeier K, Bayer ML, Hansen M, Holm L, Doessing S, Kongsgaard M, Krogsgaard MR, Magnusson SP. From mechanical loading to collagen synthesis, structural changes and function in human tendon. Scand J Med Sci Sports 2009; 19:500-10.

125) Kon E, Buda R, Filardo G, Di Martino A, Timoncini A, Cenacchi A, Fornasari PM, Giannini S, Marcacci M. Platelet-rich plasma: intra-articular knee injections produced favorable results on degenerative cartilage lesions.Knee Surg Sports TraumatolArthrosc. 2010 Apr; 18(4):472-9.

126) Kozlova N, Jensen JK, Chi TF, Samoylenko A, Kietzmann T.PAI-1 modulates cell migration in a LRP1-dependent manner via β-catenin and ERK1/2.ThrombHaemost. 2015 May; 113(5):988-98.

127) Kraushaar BS, Nirschl RP, Cox W. A modified lateral approach for release of posttraumatic elbow flexion contracture.J Shoulder Elbow Surg. 1999 Sep-Oct;8(5):476-80

128) Krogh TP, Fredberg U, Stengaard-Pedersen K, Christensen R, Jensen P, Ellingsen T. Treatment of lateral epicondylitis with platelet-rich plasma, glucocorticoid, or saline: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Am J Sports Med. 2013 Mar; 41(3):625-35.

129) Krysko DV, D'Herde K, Vandenabeele P. Clearance of apoptotic and necrotic cells and its immunological consequences.Apoptosis. 2006 Oct; 11(10):1709-26. Review.

130) Kvist M, Józsa L, Järvinen MJ, Kvist H.Chronic Achilles paratenonitis in athletes: a histological and histochemical study. Pathology. 1987 Jan; 19(1):1-11.

131) Kvist M, Hurme T, Kannus P, Järvinen T, Maunu VM, Jozsa L, Järvinen M. Vascular density at the myotendinous junction of the rat gastrocnemius muscle after immobilization and remobilization.Am J Sports Med. 1995 May-Jun;23(3):359-64

132) Labelle H, Guibert R.Efficacy of diclofenac in lateral epicondylitis of the elbow also treated with immobilization. The University of Montreal Orthopaedic Research Group.Arch Fam Med. 1997 May-Jun;6(3):257-62

133) Lebiedziński R1, Synder M1, Buchcic P1, Polguj M2, Grzegorzewski A1, Sibiński M. A randomized study of autologous conditioned plasma and steroid injections in the treatment of lateral epicondylitis.IntOrthop. 2015 Nov; 39(11):2199-203.

134) Leo MS1, Kumar AS2, Kirit R3, Konathan R4, Sivamani RK5. Systematic review of the use of platelet-rich plasma in aesthetic dermatology.J CosmetDermatol. 2015 Dec;14(4):315-23.

135) Lephart SM, Pincivero DM, Giraldo JL, Fu FH.The role of proprioception in the management and rehabilitation of athletic injuries.Am J Sports Med. 1997 Jan-Feb;25(1):130-7

136) Lequesne M, Mathieu P, Vuillemin-Bodaghi V, Bard H, Djian P. Gluteal tendinopathy in refractory greater trochanter pain syndrome: diagnostic value of two clinical tests. Arthritis Rheum. 2008 Feb 15; 59(2):241-6.

137) Levin D, Nazarian LN, Miller TT, O'Kane PL, Feld RI, Parker L, McShane JM. Lateral epicondylitis of the elbow: US findings.Radiology. 2005 Oct; 237(1):230-4.

138) Lian O, Scott A, Engebretsen L, Bahr R, Duronio V, Khan K. Excessive apoptosis in patellar tendinopathy in athletes.Am J Sports Med. 2007 Apr;35(4):605-11.

139) Lian OB1, Engebretsen L, Bahr . Prevalence of jumper's knee among elite athletes from different sports: a cross-sectional study.Am J Sports Med. 2005 Apr; 33(4):561-7.

140) Liang JI, Lin PC, Chen MY, Hsieh TH, Chen JJ, Yeh ML.The effect of tenocyte/hyaluronic acid therapy on the early recovery of healing Achilles tendon in rats.J Mater Sci Mater Med. 2014 Jan;25(1):217-27.

141) Lin CL, Lee JS, Su WR, Kuo LC, Tai TW, Jou IM.Clinical and ultrasonographic results of ultrasonographically guided percutaneous radiofrequency lesioning in the treatment of recalcitrant lateral epicondylitis.Am J Sports Med. 2011 Nov;39(11):2429-35.

142) Loftus ML, Endo Y, Adler RS. Retrospective analysis of postinjection ultrasound imaging after platelet-rich plasma or autologous blood: observational review of anatomic distribution of injected material. AJR Am J Roentgenol 2012; 199(4):W501-5.

143) Lyras DN, Kazakos K, Agrogiannis G, Verettas D, Kokka A, Kiziridis G, Chronopoulos E, Tryfonidis M.Experimental study of tendon healing early phase: is IGF-1 expression influenced by platelet rich plasma gel? OrthopTraumatolSurg Res. 2010 Jun; 96(4):381-7.

144) Lyras DN, Kazakos K, Georgiadis G, Mazis G, Middleton R, Richards S, O'Connor D, Agrogiannis G.Does a single application of PRP alter the expression of IGF-I in the early phase of tendon healing? J Foot Ankle Surg. 2011 May-Jun; 50(3):276-82.

145) Lyras D, Kazakos K, Verettas D, Polychronidis A, Simopoulos C, Botaitis S, Agrogiannis G, Kokka A, Patsouris E. Immunohistochemical study of angiogenesis

after local administration of platelet-rich plasma in a patellar tendon defect. IntOrthop. 2010 Feb; 34(1):143-8.

146) Lyras DN, Kazakos K, Verettas D, Polychronidis A, Tryfonidis M, Botaitis S, Agrogiannis G, Simopoulos C, Kokka A, Patsouris E. The influence of platelet-rich plasma on angiogenesis during the early phase of tendon healing. Foot Ankle Int. 2009 Nov; 30(11):1101-6.

147) Lyras DN, Kazakos K, Verettas D, Botaitis S, Agrogiannis G, Kokka A, Pitiakoudis M, Kotzakaris A. The effect of platelet-rich plasma gel in the early phase of patellar tendon healing. Arch Orthop Trauma Surg. 2009 Nov; 129(11):1577-82.

148) Lyras DN, Kazakos K, Tryfonidis M, Agrogiannis G, Botaitis S, Kokka A, Drosos G, Tilkeridis K, Verettas D. Temporal and spatial expression of TGF-beta1 in an Achilles tendon section model after application of platelet-rich plasma.
Foot Ankle Surg. 2010 Sep; 16(3):137-41.

149) Lyras DN, Kazakos K, Georgiadis G, Mazis G, Middleton R, Richards S, O'Connor D, Agrogiannis G.Does a single application of PRP alter the expression of IGF-I in the early phase of tendon healing? J Foot Ankle Surg. 2011 May-Jun; 50(3):276-82.

150) Maffulli N, Longo UG, Loppini M, Spiezia F, Denaro V. New options in the management of tendinopathy.Open Access J Sports Med. 2010 Mar 31; 1:29-37. Review

151) Maffulli N, Spieza F, Longo U G, Denaro V y Maffulli GD. High volume image guided injections for the management of chronic tendinopathy of the main body of the achilles tendon. Phisical Therapy in Sport. 2013; 14: 163-167.

152) Maffulli N, Tallon C, Wong J, Peng Lim K, Bleakney R. No adverse effect of early weight bearing following open repair of acute tears of the Achilles tendon.J Sports Med Phys Fitness. 2003 Sep; 43(3):367-79.

153) Magnusson SP, Hansen M, Langberg H, Miller B, Haraldsson B, Westh EK, Koskinen S, Aagaard P, Kjaer M.The adaptability of tendon to loading differs in men and women.Int J ExpPathol. 2007 Aug; 88(4):237-40. Review.

154) Magnusson SP, Narici MV, Maganaris CN, Kjaer M. Human tendon behaviour and adaptation, in vivo.J Physiol. 2008 Jan 1;586(1):71-81. Review.

155) Magra M1, Maffulli N. Genetic aspects of tendinopathy.J Sci Med Sport. 2008 Jun; 11(3):243-7.

156) Major HP (1883) Lawn-tennis elbow. Br Med J.1883; 2:557.

157) Malliaras P, Cook J.Patellar tendons with normal imaging and pain: change in imaging and pain status over a volleyball season.Clin J Sport Med. 2006 Sep;16(5):388-91

158) Martin JI, Merino J, Atilano L, Areizaga LM, Gomez-Fernandez MC, Burgos-Alonso N, Andia I. Platelet-rich plasma (PRP) in chronic epicondylitis: study protocol for a randomized controlled trial.Trials. 2013 Dec 1; 14:410.

159) Martín JI, Atilano L, Merino J, Gonzalez I, Iglesias G, Areizaga L, Bully P, Grandes G, Andia I. Predictors of outcome following tenotomy in patients with recalcitrant epicondilopathy. PMR. 2019 Jan 4. doi: 10.1002/pmrj.12064. PubMed PMID: 30609276

160) Martin JI, Atilano L, Bully P, Iglesias G, Merino J, Grandes G, Andia I. Needle tenotomy with PRP versus lidocaine in epicondylopathy: clinical and ultrasonographic outcomes over twenty months. Skeletal Radiol. 2019 Mar 2. doi: 10.1007/s00256-019-03193-1. PubMed PMID: 30826853

161) Marx RE1, 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 RadiolEndod. 1998 Jun; 85(6):638-46.

162) Mattie R, Wong J, McCormick Z, Yu S, Saltychev M, Laimi K. Percutaneous Needle Tenotomy for the Treatment of Lateral Epicondylitis: A Systematic Review of the Literature. PM R. 2017 Jun; 9(6):603-611.

163) Maxwell NJ, Ryan MB, Taunton JE, Gillies JH, Wong AD. Sonographically guided intratendinous injection of hyperosmolar dextrose to treat chronic tendinosis of the Achilles tendon: a pilot study. AJR Am J Roentgenol. 2007 Oct;189(4):W215-20.

164) Maynard DM1, Heijnen HF, Horne MK, White JG, Gahl WA. Proteomic analysis of platelet alpha-granules using mass spectrometry.J Thromb Haemost. 2007 Sep;5(9):1945-55.

165) Maynard DM1, Heijnen HF, Gahl WA, Gunay-Aygun M. The α-granule proteome: novel proteins in normal and ghost granules in gray platelet syndrome.J ThrombHaemost. 2010 Aug; 8(8):1786-96.

166) McCarrel TM1, Minas T, Fortier LA. Optimization of leukocyte concentration in platelet-rich plasma for the treatment of tendinopathy. J Bone Joint Surg Am. 2012 Oct 3; 94(19):e143(1-8).

167) McCallum SDA, Paoloni JA, Murrell GAC. Five-year prospective comparison study of topical glyceryl trinitrate treatment of chronic lateral epicondylosis at the elbow.Br J Sports Med 2011;45:416-420

168) Millar NL1, Hueber AJ, Reilly JH, Xu Y, Fazzi UG, Murrell GA, McInnes IB. Inflammation is present in early human tendinopathy.Am J Sports Med. 2010 Oct; 38(10):2085-91.

169) Millar NL, Murrell GA.Heat shock proteins in tendinopathy: novel molecular regulators.Mediators Inflamm. 2012; 2012:436203. Review.

170) Miller LE1, Parrish WR2, Roides B2, Bhattacharyya S2. Efficacy of platelet-rich plasma injections for symptomatic tendinopathy: systematic review and meta-analysis of randomised injection-controlled trials. MJ Open Sport Exerc Med. 2017 Nov 6;3(1):e000237

171) Mishra AK, Skrepnik NV, Edwards SG, Jones GL, Sampson S, Vermillion DA, Ramsey ML, Karli DC, Rettig AC. Efficacy of platelet-rich plasma for chronic tennis elbow: a double-blind, prospective, multicenter, randomized controlled trial of 230 patients. Am J Sports Med. 2014 Feb; 42(2):463-71.

172) Montalvan B, Le Goux P2, Klouche S3, Borgel D4, Hardy P5, Breban M. Inefficacy of ultrasound-guided local injections of autologous conditioned plasma for recent epicondylitis: results of a double-blind placebo-controlled randomized clinical trial with one-year follow-up. Rheumatology (Oxford). 2016 Feb; 55(2):279-85.

173) de Mos M, van der Windt AE, Jahr H, van Schie HT, Weinans H, Verhaar JA, van Osch GJ. Can platelet-rich plasma enhance tendon repair? A cell culture study.Am J Sports Med. 2008 Jun; 36(6):1171-8.

174) Movin T, Guntner P, Gad A, Rolf C. Ultrasonography-guided percutaneous core biopsy in Achilles tendon disorder.Scand J Med Sci Sports. 1997 Aug; 7(4):244-8.

175) Murphy PG, Hart DA.Influence of exogenous growth factors on the expression of plasminogen activators and plasminogen activator inhibitors by cells isolated from normal and healing rabbit ligaments.J Orthop Res. 1994 Jul;12(4):564-75.

176) Murrell GA. Using nitric oxide to treat tendinopathy. Br J Sports Med. 2007 Apr; 41(4):227-31. Epub 2007 Feb 8. Review.

177) Necas, Jiri &Bartosikova, L &Brauner, P &Kolář, Jozef. Hyaluronic acid (Hyaluronan): A review. 2008. VeterinarniMedicina. 53.

178) Nourissat G, Berenbaum F, Duprez D. Tendon injury: from biology to tendon repair.Nat Rev Rheumatol. 2015 Apr; 11(4):223-33.

179) O'Brien M. Structure and metabolism of tendons. Scand J Med Sci Sports. 1997 Apr; 7(2):55-61.

180) Ohberg L, Lorentzon R, Alfredson H. Neovascularisation in Achilles tendons with painful tendinosis but not in normal tendons: an ultrasonographic investigation. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc 2001; 9(4):233-228.

181) Ohberg L, Lorentzon R, Alfredson H. Eccentric training in patients with chronic Achilles tendinosis: normalised tendon structure and decreased thickness at follow up.Br J Sports Med. 2004 Feb; 38(1):8-11.

182) Oliva F, Piccirilli E, Berardi AC, Frizziero A, Tarantino U, Maffulli N. Hormones and tendinopathies: the current evidence.Br Med Bull. 2016 Mar; 117(1):39-58. Review.

183) Omar Aziza S, Maha EI, Amal SA, Mahmoud S. Local injection of autologous platelet rich plasma and corticosteroid in treatment of lateral epicondylitis and plantar fasciitis: randomized clinical trial. Egypt Rheumatol. 2012; 34:43–49.

184) Orchard J, Kountouris A. The management of tennis elbow. BMJ. 2011 May 10; 342:d2687. doi: 10.1136/bmj.d2687.

185) Orchard J, Massey A, Rimmer J, Hofman J, Brown R. Delay of 6 weeks between aprotinin injections for tendinopathy reduces risk of allergic reaction.J Sci Med Sport. 2008 Sep; 11(5):473-80.

186) Osti L, Berardocco M, di Giacomo V, Di Bernardo G, Oliva F, Berardi AC.Hyaluronic acid increases tendon derived cell viability and collagen type I expression in vitro: Comparative study of four different Hyaluronic acid preparations by molecular weight.BMC MusculoskeletDisord. 2015 Oct 6; 16:284.

187) Paavola M, Järvinen TA.Paratendinopathy.Foot Ankle Clin. 2005 Jun; 10(2):279-92. Review

188) Paavola M, Kannus P, Järvinen TA, Järvinen TL, Józsa L, Järvinen M.Treatment of tendon disorders. Is there a role for corticosteroid injection? Foot Ankle Clin. 2002 Sep; 7(3):501-13. Review.

189) Palacio EP, Schiavetti RR, Kanematsu M, Ikeda TM, Mizobuchi RR, Galbiatti JA. Effects of platelet-rich plasma on lateral epicondylitis of the elbow: prospective randomized controlled trial. Rev Bras Ortop. 2016 Jan 13; 51(1):90-5.

190) Palaniswamy V, Ng SK, Manickaraj N et al. Relationship between ultrasound detected tendon abnormalities, and sensory and clinical characteristics in people with chronic lateral epicondylalgia. PLoS One. 2018;13(10):e0205171

191) Paoloni JA, Appleyard RC, Nelson J, Murrell GA. Topical nitric oxide application in the treatment of chronic extensor tendinosis at the elbow: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial. Am J Sports Med. 2003 Nov-Dec; 31(6):915-20.

192) Paoloni JA, Appleyard RC, Nelson J, Murrell GA. Topical glyceryl trinitrate treatment of chronic noninsertionalachilles tendinopathy. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial.J Bone Joint Surg Am. 2004 May;86-A(5):916-22

193) Paoloni JA, Appleyard RC, Nelson J, Murrell GA. Topical glyceryl trinitrate application in the treatment of chronic supraspinatus tendinopathy: a randomized, double-blinded, placebo-controlled clinical trial.Am J Sports Med. 2005 Jun;33(6):806-13.

194) Papalia R, Zampogna B, Vadala G et al. Are platelet rich plasma injections more effective in tendinopathy or enthesopathy?. J Pain Relief 2017; 6(3):1-5.

195) Park GY, Kwon DR, Cho HK, Park J, Park JH. Distribution of platelet-rich plasma after ultrasound-guided injection for chronic elbow tendinopathies. J Sports Sci Med 2017; 16(1):1-5.

196) Pattanittum P, Turner T, Green S, Buchbinder R. Non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) for treating lateral elbow pain in adults.Cochrane Database Syst Rev. 2013 May 31; (5):CD003686. Review

197) Pearce CJ and Tan A. Non-insertional Achilles tendinopathy. EFORT Open Rev. 2016 Nov; 1(11): 383–390.

198) Peerbooms JC, van Laar W, FaberF, SchullerHM, van der HoevenH, Gosens Ta. Use of platelet rich plasma to treat plantar fasciitis: design of a multi centre randomized controlled trial. BMC MusculoskeletDisord. 2010; 11: 69.

199) Peterson JE, Zurakowski D, Italiano JE Jr, Michel LV, Fox L, Klement GL, Folkman J.Normal ranges of angiogenesis regulatory proteins in human platelets.Am J Hematol. 2010 Jul; 85(7):487-93.

200) Pingel J, Harrison A, Simonsen L, Suetta C, Bülow J, Langberg H.The microvascular volume of the Achilles tendon is increased in patients with tendinopathy at rest and after a 1-hour treadmill run.Am J Sports Med. 2013 Oct;41(10):2400-8.

201) Placzek R, Drescher W, Deuretzbacher G, Hempfing A, Meiss AL. Treatment of chronic radial epicondylitis with botulinum toxin A. A double-blind, placebo-controlled, randomized multicenter study.J BoneJointSurg Am. 2007 Feb; 89(2):255-60.

202) Popov C, Burggraf M, Kreja L, Ignatius A, Schieker M, Docheva D. Mechanical stimulation of human tendon stem/progenitor cells results in upregulation of matrix proteins, integrins and MMPs, and activation of p38 and ERK1/2 kinases.BMC Mol Biol. 2015 Mar 13;16:6.

203) Rabago D, Lee KS, Ryan M, Chourasia AO, Sesto ME, Zgierska A, Kijowski R, Grettie J, Wilson J, Miller D. Hypertonic dextrose and morrhuate sodium injections (prolotherapy) for lateral epicondylosis (tennis elbow): results of a single-blind, pilot-level, randomized controlled trial. Am J Phys Med Rehabil. 2013 Jul; 92(7):587-96.

204) Raeissadat SA, Rayegani SM, Hassanabadi H, Rahimi R, Sedighipour L, Rostami K. Is Platelet-rich plasma superior to whole blood in the management of chronic tennis elbow: one year randomized clinical trial.BMC Sports Sci Med Rehabil. 2014 Mar 18; 6:12.

205) Rees JD, Wilson AM, Wolman RL. Current concepts in the management of tendon disorders. Rheumatology (Oxford). 2006 May; 45(5):508-21.

206) Reeves ND1, Maganaris CN, Narici MV. Effect of strength training on human patella tendon mechanical properties of older individuals. J Physiol. 2003 May 1; 548(Pt 3):971-81.

207) Reynolds NL, Worrell TW. Chronic achillesperitendinitis: etiology, pathophysiology, and treatment. J Orthop Sports Phys Ther. 1991; 13(4):171-6.

208) Rha DW, Park GY, Kim YK, Kim MT, Lee SC. Comparison of the therapeutic effects of ultrasound-guided platelet-rich plasma injection and dry needling in rotator cuff disease: a randomized controlled trial. Clin Rehabil. 2013; 27(2):113-22.

209) Riley G.The pathogenesis of tendinopathy. A molecular perspective.Rheumatology (Oxford). 2004 Feb; 43(2):131-42. Review.

210) Rompe JD, Furia J, Maffulli N. Eccentric loading versus eccentric loading plus shock-wave treatment for midportionachilles tendinopathy: a randomized controlled trial.Am J Sports Med. 2009 Mar; 37(3):463-70.

211) Rosales RS, Delgado EB, Díez de la Lastra-Bosch I. Evaluation of the Spanish version of the DASH and carpal tunnel syndrome health-related quality-of-life instruments: cross-cultural adaptation process and reliability. J Hand Surg Am 2002; 27(2):334-343.

212) Rubio-Azpeitia E, Sánchez P, Delgado D, Andia I. Three-dimensional platelet-rich plasma hydrogel model to study early tendon healing. Cells Tissues Organs 2015; 200(6):394-404.

213) Rubio-Azpeitia E, Bilbao AM, Sánchez P, Delgado D, Andia I. The Properties of 3 Different Plasma Formulations and Their Effects on Tendinopathic Cells. Am J Sports Med. 2016 Aug; 44(8):1952-61.

214) Ryan M1, Wong A, Taunton J.Favorable outcomes after sonographically guided intratendinous injection of hyperosmolar dextrose for chronic insertional and midportionachilles tendinosis.AJR Am J Roentgenol. 2010 Apr;194(4):1047-53.

215) Saltychev M, Laimi K, Virolainen P y Fredericson M. Effectiveness of platelet-rich plasma in treatment of lateral epicondylitis- a systematic review and meta-analysis. PMR+. 2018. Volumen 1, Issue 1: 7-16.

216) Sánchez M1, Azofra J, Anitua E, Andía I, Padilla S, Santisteban J, Mujika I. Plasma rich in growth factors to treat an articular cartilage avulsion: a case report.Med Sci Sports Exerc. 2003 Oct;35(10):1648-52.

217) Sánchez M1, Anitua E, Azofra J, Andía I, Padilla S, Mujika I. Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. Am J Sports Med. 2007 Feb; 35(2):245-51. Epub 2006 Nov 12.

218) Sánchez M1, Anitua E, Azofra J, Aguirre JJ, Andia I. Intra-articular injection of an autologous preparation rich in growth factors for the treatment of knee OA: a retrospective cohort study. ClinExpRheumatol. 2008 Sep-Oct; 26(5):910-3.

219) Sanchez M, Anitua E, Orive G, Mujika I, Andia I. Platelet-rich therapies in the treatment of orthopaedic sport injuries. Sports Med. 2009; 39(5):345-354.

220) Sánchez M1, Fiz N, Azofra J, Usabiaga J, AdurizRecalde E, Garcia Gutierrez A, Albillos J, Gárate R, Aguirre JJ, Padilla S, Orive G, Anitua E. A randomized clinical trial evaluating plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) versus hyaluronic acid in the short-term treatment of symptomatic knee osteoarthritis.Arthroscopy. 2012 Aug; 28(8):1070-8.

221) Schwartz A, Watson JN, Hutchinson MR. Patellar Tendinopathy.Sports Health. 2015 Sep-Oct; 7(5):415-20.

222) Schwartz YSh1, Svistelnik AV. Functional phenotypes of macrophages and the M1-M2 polarization concept. Part I. Proinflammatory phenotype. Biochemistry (Mosc). 2012 Mar; 77(3):246-60.

223) Scott A1, Ashe MC. Common tendinopathies in the upper and lower extremities. Curr Sports Med Rep. 2006 Sep; 5(5):233-41.

224) Scott A1, 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. 2007 Mar; 56(3):871-81.

225) Sharma P, Maffulli N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. J Musculoskelet Neuronal Interact. 2006 Apr-Jun; 6(2):181-90. Review

226) Sorensen AA, Howard D, Tan WH, Ketchersid J, Calfee RP. Minimal clinically important differences of 3 patient-rated outcomes instruments. J Hand Surg Am 2013;38(4):641-649.

227) Spang JT, Tischer T, Salzmann GM, Winkler T, Burgkart R, Wexel G, Imhoff AB. Platelet concentrate vs. saline in a rat patellar tendon healing model. Knee Surg Sports TraumatolArthrosc. 2011 Mar; 19(3):495-502.

228) Spiesz EM, Thorpe CT, Chaudhry S, Riley GP, Birch HL, Clegg PD, Screen HR. Tendon extracellular matrix damage, degradation and inflammation in response to in vitro overload exercise.J Orthop Res. 2015 Jun;33(6):889-97.

229) Stenhouse G, Sookur P, Watson M. Do blood growth factors offer additional benefit in refractory lateral epicondylitis? A prospective, randomized pilot trial of dry needling as a stand-alone procedure versus dry needling and autologous conditioned plasma. Skeletal Radiol. 2013 Nov; 42(11):1515-20.

230) Stenroth L, Cronin NJ, Peltonen J, Korhonen MT, Sipilä S, Finni T. Triceps surae muscle-tendon properties in older endurance- and sprint-trained athletes. J Appl Physiol (1985). 2016 Jan 1; 120(1):63-9.

231) Stephenson AL, Wu W, Cortes D, Rochon PA. Tendon Injury and Fluoroquinolone Use: A Systematic Review.Drug Saf. 2013 Sep; 36(9):709-21. Review.

232) Struijs PA, Spruyt M, Assendelft WJ, van Dijk CN. The predictive value of diagnostic sonography for the effectiveness of conservative treatment of tennis elbow. AJR Am J Roentgenol 2005;185(5):1113-1118

233) Sun YL, Yang C, Amadio PC, Zhao C, Zobitz ME, An KN. Reducing friction by chemically modifying the surface of extrasynovial tendon grafts. J Orthop Res. 2004 Sep; 22(5):984-9.

234) Sung CM, Hah YS, Kim JS, Nam JB, Kim RJ, Lee SJ, et al. Cytotoxic effects of ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine on rotator cuff tenofibroblasts. Am J Sports Med 2014; 42(12):2888-96.

235) Taguchi M, Zhao C, Sun YL, Jay GD, An KN, Amadio PC.The effect of surface treatment using hyaluronic acid and lubricin on the gliding resistance of human extrasynovial tendons in vitro. J Hand Surg Am. 2009 Sep; 34(7):1276-81.

236) Taguchi T, Kubota M, Saito M, Hattori H, Kimura T, Marumo K. Quantitative and Qualitative Change of Collagen of Achilles Tendons in Rats With Systemic Administration of Glucocorticoids. Foot Ankle Int. 2016 Mar; 37(3):327-33.

237) Teggeler M, Schmitz M, Fink A, Jansen JACG, Pisters MF. Reliability and agreement of ultrasonographic thickness measurements of the common lateral extensors of the elbow. Ultrasound in Med & Biol 2015; 41(6):1592-1598.

238) Tetschke E1, Rudolf M, Lohmann CH, Stärke C. Autologous proliferative therapies in recalcitrant lateral epicondylitis. Am J Phys Med Rehabil. 2015 Sep; 94(9):696-706.

239) Thanasas C1, Papadimitriou G, Charalambidis C, Paraskevopoulos I, Papanikolaou A. Platelet-rich plasma versus autologous whole blood for the treatment of chronic lateral elbow epicondylitis: a randomized controlled clinical trial. Am J Sports Med. 2011 Oct; 39(10):2130-4.

240) Tidball JG, Daniel TL. Myotendinous junctions of tonic muscle cells: structure and loading. Cell Tissue Res. 1986; 245(2):315-22.

241) Titchener AG, Booker SJ, Bhamber NS, Tambe AA, Clark DI. Corticosteroid and platelet-rich plasma injection therapy in tennis elbow (lateral epicondylalgia): a survey of current U.K. specialist practice and a call for clinical guidelines. Br J Sports Med. 2015 Nov; 49(21):1410-3.

242) Tonk G, Kumar A, Gupta A. Platelet rich plasma versus laser therapy in lateral epicondylitis of elbow.Indian J Orthop. 2014 Jul; 48(4):390-3.

243) Tosti R, Jennings J, Sewards JM. Lateral epicondylitis of the elbow. Am J Med. 2013 Apr; 126(4):357.e1-6. Review.

244) Trinh KV1, Phillips SD, Ho E, Damsma K. Acupuncture for the alleviation of lateral epicondyle pain: a systematic review. Rheumatology (Oxford). 2004 Sep; 43(9):1085-90.

245) Tsikopoulos K, Tsikopoulos I, Simeonidis E, Papathanasiou E, Haidich AB, Anastasopoulos N, et al. The clinical impact of platelet-rich plasma on tendinopathy compared to placebo or dry needling injections: A meta-analysis. Phys Ther Sport 2016; 17:87-94.

246) Vailas AC, Tipton CM, Laughlin HL, Tcheng TK, Matthes RD. Physical activity and hypophysectomy on the aerobic capacity of ligaments and tendons.J ApplPhysiolRespir Environ ExercPhysiol. 1978 Apr; 44(4):542-6.

247) Van Schie HT, de Vos RJ, de Jonge S, Bakker EM, Heijboer MP, Verhaar JA, Tol JL, Weinans H.Ultrasonographic tissue characterisation of human Achilles tendons: quantification of tendon structure through a novel non-invasive approach. Br J Sports Med. 2010 Dec; 44(16):1153-9.

248) Vetrano M, Castorina A, Vulpiani MC, Baldini R, Pavan A, Ferretti A. Platelet-rich plasma versus focused shock waves in the treatment of jumper's knee in athletes. Am J Sports Med. 2013 Apr;41(4):795-803.

249) Via AG, De Cupis M, Spoliti M, Oliva F. Clinical and biological aspects of rotator cuff tears. Muscles Ligaments Tendons J. 2013 Jul 9;3(2):70-9.

250) Virchenko O, Aspenberg P. How can one platelet injection after tendon injury lead to a stronger tendon after 4 weeks? Interplay between early regeneration and mechanical stimulation.ActaOrthop. 2006 Oct; 77(5):806-12.

251) Wang JH. Mechanobiology of tendon. J Biomech. 2006;39(9):1563-82.

252) Wang JH, Iosifidis MI, Fu FH. Biomechanical basis for tendinopathy. Clin Orthop Relat Res. 2006 Feb; 443:320-32.

253) Wang WZ, Fang XH, Williams SJ, Stephenson LL, Baynosa RC, Khiabani KT, et al. Lidocaine-induced ASC apoptosis (tumescent vs. local anesthesia). Aesthetic Plast Surg 2014; 38(5):1017-23.

254) Westacott DJ1, Minns JI, Foguet P.The diagnostic accuracy of magnetic resonance imaging and ultrasonography in gluteal tendon tears--a systematic review.Hip Int. 2011 Nov-Dec;21(6):637-45.

255) Whitman DH[1], Berry RL, Green DM. Platelet gel: an autologous alternative to fibrin glue with applications in oral and maxillofacial surgery. J Oral Maxillofac Surg. 1997 Nov; 55(11):1294-9.

256) Williams JG. Achilles tendon lesions in sport. Sports Med. 1986 Mar-Apr; 3(2):114-35. Review.

257) Woolf CJ. Central sensitization: implications for the diagnosis and treatment of pain. Pain. 2011 Mar; 152(3 Suppl):S2-15. Review.

258) Xu Y[1], Murrell GA . The basic science of tendinopathy. Clin Orthop Relat Res. 2008 Jul; 466(7):1528-38.

259) Yadav R[1], Kothari SY[2], Borah D[3]. Comparison of Local Injection of Platelet Rich Plasma and Corticosteroids in the Treatment of Lateral Epicondylitis of Humerus. J Clin Diagn Res. 2015 Jul; 9(7):RC05-7.

260) Yan R, Gu Y, Ran J, et al. Intratendon Delivery of Leukocyte-Poor Platelet-Rich Plasma Improves Healing Compared With Leukocyte-Rich Platelet-Rich Plasma in a Rabbit Achilles Tendinopathy Model. Am J Sports Med. 2017; 45(8):1909-20.

261) Yang ZM[1], Wang L, Yuan J, Shen J, Lin SC. Synthetic studies on nonthrombogenic biomaterials 14: synthesis and characterization of poly(ether-urethane) bearing a Zwitterionic structure of phosphorylcholine on the surface. J Biomater Sci Polym Ed. 2003; 14(7):707-18.

262) Yu W[1], Wang J, Yin J. Platelet-rich plasma: a promising product for treatment of peripheral nerve regeneration after nerve injury. Int J Neurosci. 2011 Apr; 121(4):176-80.

263) Zanetti M, Metzdorf A, Kundert HP, et al. Achilles tendons: clinical relevance of neovascularization diagnosed with power Doppler US. Radiology 2003; 227(2):556-560.

264) Zargar Baboldashti N, Poulsen RC, Franklin SL, Thompson MS, Hulley PA. Platelet-rich plasma protects tenocytes from adverse side effects of dexamethasone and ciprofloxacin. Am J Sports Med. 2011 Sep; 39(9):1929-35.

265) Zaslavsky A, Baek KH, Lynch RC, Short S, Grillo J, Folkman J, Italiano JE Jr, Ryeom S. Blood. 2010 Jun 3; 115(22):4605-13.

266) Zayni R[1], Thaunat M[2], Fayard JM[2], Hager JP[2], Carrillon Y[2], Clechet J[2], Gadea F[2], Archbold P[2], Sonnery Cottet B[2]. Platelet-rich plasma as a treatment for chronic patellar tendinopathy: comparison of a single versus two consecutive injections. Muscles Ligaments Tendons J. 2015 Jul 3; 5(2):92-8.

267) Zhai W, Wang N, Qi Z, Gao Q, Yi L. Platelet-rich plasma reverses the inhibition of tenocytes and osteoblasts in tendon-bone healing. Orthopedics. 2012 Apr; 35(4):e520-5.

268) Zhang L, Chen S, Chang P, Bao N, Yang C, Ti Y, Zhou L, Zhao J. Harmful Effects of Leukocyte-Rich Platelet-Rich Plasma on Rabbit Tendon Stem Cells In Vitro. Am J Sports Med. 2016 Aug; 44(8):1941-51.

269) Zhang YJ1, Xu SZ, Gu PC, Du JY, Cai YZ, Zhang C, Lin XJ. Is Platelet-rich Plasma Injection Effective for Chronic Achilles Tendinopathy? A Meta-analysis. Clin Orthop Relat Res. 2018 Aug;476(8):1633-1641

270) Zhou Y, Zhang J, Wu H, Hogan MV, Wang JH. The differential effects of leukocyte-containing and pure platelet-rich plasma (PRP) on tendon

stem/progenitor cells - implications of PRP application for the clinical treatment of tendon injuries. Stem Cell Res Ther. 2015 Sep 15; 6:173.

271) Zhou Z, Li X, Li J, Su C, Zhuang L, Luo S, Zhang L. Direct B-cell stimulation by peripheral blood monocyte-derived dendritic cells in idiopathic thrombocytopenic purpura patients. J Clin Immunol. 2010 Nov; 30(6):814-22.

272) Zügel M, Maganaris CN, Wilke J, Jurkat-Rott K, Klingler W, Wearing SC, Findley T, Barbe MF, Steinacker JM, Vleeming A, Bloch W, Schleip R and Hodges PW. Fascial tissue research in sports medicine : from molecules to tissue adaptation, injury and diagnostics. Br J Sports Med. 2018; 0:1-9. Doi: 10.1136/bjsports-2018-099308.

ANEXOS

Osakidetza

Gurutzetako Unibertsitate Ospitalea
Hospital Universitario Cruces

Teléfono: 94 600 6000
48903 Barakaldo (Bizkaia)

DICTAMEN DEL COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

Doña **AMAYA MARTÍNEZ GALARZA**, como Secretaria del Comité Ético de Investigación Clínica del Hospital Universitario Cruces.

CERTIFICA:

Que este Comité ha evaluado la propuesta del promotor **DR. D. JOSE IGNACIO MARTIN GOMEZ/Sº RADIOLOGÍA/HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES** para que se realice el ensayo clínico código Eudract **2013-000478-32** código de protocolo **B-PRPTENDON2013** titulado **"Estudio clínico, piloto, aleatorizado para valorar la seguridad y eficacia potencial de la TENOTOMÍA CON PLASMA RICO EN PLAQUETAS (PRP) en la epicondilitis crónica (Protocolo versión 5 de fecha 16 de Mayo de 2013"** considera que:

El ensayo se plantea siguiendo los requisitos del Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero y las normas que lo desarrollan y su realización es pertinente

Se cumplen los requisitos necesarios de idoneidad del protocolo en relación con los objetivos del estudio y están justificados los riesgos y molestias previsibles para el sujeto, teniendo en cuenta los beneficios esperados

El seguro o garantía financiera previstos es adecuado

El procedimiento para obtener el Consentimiento Informado, incluyendo la Hoja de Información para los pacientes y Consentimiento Informado versión 5 de fecha 16 de Mayo de 2013, Cuaderno del Paciente versión 5 de fecha 16 de Mayo de 2013, CRD versión 5 de fecha 16 de mayo de 2013 y el plan de reclutamiento de los sujetos previstos es adecuado, así como las compensaciones previstas para los sujetos por daños que pudieran derivarse de su participación en el ensayo

La capacidad del investigador y los medios disponibles son apropiados para llevar a cabo el estudio

El alcance de las compensaciones económicas previstas no interfiere con el respeto a los postulados éticos.

Que el Comité Ético de Investigación Clínica tanto en su composición como en sus Procedimientos Normalizados de Trabajo cumple con las Normas de Buena Práctica Clínica (CPMP/ICH/135/95) conforme a lo establecido en el Real Decreto 223/2004, de 6 de febrero, sobre ensayos clínicos.

Por lo tanto, este CEIC como Comité de Referencia de este ensayo clínico unicéntrico acepta que dicho ensayo sea realizado en el **Centro Hospital Universitario Cruces** por **D. JOSE IGNACIO MARTIN GOMEZ** como investigador principales.

Lo que firmo en **CRUCES-BARAKALDO** a **28 de MAYO de 2013**

Firmado:

Dña. Amaya Martínez Galarza

Osakidetza

GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES
IKERKUNTZA KLINIKORAKO BATZORDE ETIKOA
COMITÉ ÉTICO DE INVESTIGACIÓN CLÍNICA

R. 48/570 Cod. 5031104

Fecha:07/12/13

Número de páginas:5

Para:0034946006639@fax.msc.es

Remitente:notificaciones_fax_ecm@aemps.es

Compañía

Departamento :

Fax number :0034946006639

Subject:Solicitud de autorización del ensayo clínico con EudraCT: 2013-000478-32 - Autorización Ensayo

Correo automático generado en contestación a su solicitud de autorización del ensayo clínico descrito en el asunto

Se le remite el oficio **Autorización Ensayo** como respuesta a esta solicitud:
Datos de la solicitud
Nº EudraCT: 2013-000478-32
Nº AEMPS: 13-0132
Código Protocolo: B¿PRPtendon2013
Título Protocolo: Estudio clínico piloto aleatorizado para valorar la seguridad y eficacia potencial de la tenotomía con plasma rico en plaquetas (PRP) en la epicondilitis crónica

Agencia Española del Medicamento
Área de Ensayos Clínicos
Departamento de Medicamentos de Uso Humano
Email: aecaem@aemps.es
Teléfono: (+34) 902 101 322
Fax: (+34) 91 822 50 76

Si piensa que este email ha sido enviado por error póngase en contacto con la siguiente dirección de soporte de la aplicación: incidensayos@aemps.es

Este mensaje va dirigido, de manera exclusiva, a su destinatario y la información contenida en este e-mail y en cualquiera de sus ficheros adjuntos es RESERVADA y CONFIDENCIAL. Si Usted lee este mensaje y no es el destinatario indicado (o responsable de remitirlo a la persona indicada), no revele estos contenidos a ninguna otra persona y no los utilice para otra finalidad, está prohibido y puede ser ilegal. Por ello le informamos de que está totalmente prohibido el acceso a este mensaje a cualquier otra persona distinta a los indicados y, está también prohibida, cualquier utilización, duplicación, divulgación, distribución y/o reproducción de esta comunicación, total o parcial, en medio alguno, cualquier uso de la información contenida o cualquiera otra acción u omisión tomada en relación con el mismo sin autorización expresa en virtud de la legislación vigente. Po r último, si ha recibido este mensaje por error, le rogamos y agradeceríamos tenga la amabilidad de notificarlo/reenviarlo inmediatamente a su emisor, por esta vía, a su dirección electrónica, y proceda, a su eliminación de su sistema, junto, en su caso, con sus ficheros anexos sin leerlo ni grabarlo.

MINISTERIO DE SANIDAD, SERVICIOS SOCIALES E IGUALDAD
agencia española de medicamentos y productos sanitarios

DEPARTAMENTO
DE MEDICAMENTOS
DE USO HUMANO
Área de Ensayos Clínicos

DESTINATARIO

Basque Health Service
Plaza de Cruces
48003 Barakaldo (España)

REFERENCIA: MUH/AEC

ASUNTO: RESOLUCIÓN DE AUTORIZACIÓN DEL ENSAYO CLINICO Nº EUDRACT 2013-000478-32 CON MEDICAMENTO CON CALIFICACIÓN DE PEI (Nº DE PEI13-049)

Adjunto se remite la resolución sobre el ensayo clínico titulado **Estudio clínico piloto aleatorizado para valorar la seguridad y eficacia potencial de la tenotomía con plasma rico en plaquetas (PRP) en la epicondilitis crónica**, N° EudraCT: **2013-000478-32**.

El promotor o solicitante nombrado por éste deberá notificar la fecha de inicio del ensayo en España, remitir la información pertinente o solicitar autorización a la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios, según proceda y de acuerdo con lo que establece el Real Decreto 223/2004, de las modificaciones relevantes a la documentación del ensayo, informes de seguimiento, sospechas de reacciones adversas graves e inesperadas, finalización del ensayo y demás circunstancias que establezca la legislación vigente.

Firmado digitalmente por: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
Fecha de la firma: 12/07/2013
Localizador: NAVKLPC99B

Puede comprobar la autenticidad del documento en la aplicación Localizador de la Web de la AEMPS

Referencia: MUH/CLIN

ASUNTO: RESOLUCIÓN DE AUTORIZACIÓN DEL ENSAYO CLINICO Nº EUDRACT 2013-000478-32

DESTINATARIO: Jose Ignacio Martin Gomez
Plaza de Cruces
48003 Barakaldo (España)

Vista la solicitud formulada por **Basque Health Service** para la realización del ensayo clínico número **2013-000478-32**, titulado **Estudio clínico piloto aleatorizado para valorar la seguridad y eficacia potencial de la tenotomía con plasma rico en plaquetas (PRP) en la epicondilitis crónica**, código de protocolo del promotor **B¿PRPtendon2013**, cuyo promotor es **Jose Ignacio Martin Gomez** se emite resolución a tenor de los siguientes:

ANTECEDENTES DE HECHO

PRIMERO: Con fecha **05/03/2013**, solicita la autorización de este ensayo clínico.
SEGUNDO: Con fecha 23/05/2013 se solicitaron aclaraciones y, con fecha 03/07/2013 envió una propuesta de denegación que fueron adecuadamente respondidas.

TERCERO: A la solicitud de ensayo se acompaña solicitud de calificación del medicamento liquid PRP, plasma rico en plaquetas-PRP, como producto en fase de investigación clínica.

A estos antecedentes de hecho les es de aplicación los siguientes:

FUNDAMENTOS DE DERECHO

Único.- Son de aplicación al presente procedimiento la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones Públicas y del Procedimiento Administrativo Común, modificada por la Ley 4/1999, de 13 de enero; la Ley 12/2000, de 29 de diciembre de medidas fiscales, administrativas y de orden social; Ley 29/2006, de 26 de julio, de Garantías y Uso Racional de Medicamentos y Productos Sanitarios; el Real Decreto 223/2004 de 6 de febrero, por el que se regulan los ensayos clínicos con medicamentos; el Real Decreto 1275/2011, de 16 de septiembre, por

el que se crea la Agencia estatal «Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios» y se aprueba su Estatuto, y demás normas aplicables.

Así, del expediente se deduce que se cumplen los requisitos establecidos para su autorización de acuerdo con el artículo 23 del Real Decreto 223/2004.
Asimismo, el artículo 24 del Real Decreto 223/2004, establece que cuando se autorice un ensayo con medicamentos en investigación, se hará constar en la autorización del mismo la calificación de dicho medicamento como producto en fase de investigación clínica.

Por todo lo anteriormente expuesto la Directora de la Agencia de Medicamentos y Productos Sanitarios en el ejercicio de sus competencias **RESUELVE:**

1º.- AUTORIZAR la realización de este ensayo clínico con número EudraCT 2013-000478-32

2º.- CALIFICAR el medicamento liquid PRP, plasma rico en plaquetas-PRP como producto en fase de investigación clínica, asignándole el Nº de PEI 13-049 con la indicación tendinopatía.

Deberán comunicar a los CEICs implicados en la evaluación de este ensayo clínico, la versión de los documentos aprobada por la AEMPS.

Contra esta Resolución, que pone fin a la vía administrativa, puede interponerse potestativamente Recurso de Reposición ante el/la Director/a de la Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios en el plazo de un mes, conforme a lo dispuesto en el artículo 116 de la Ley 30/1992, de 26 de noviembre, de Régimen Jurídico de las Administraciones públicas y del Procedimiento Administrativo Común, o interponerse Recurso Contencioso-Administrativo ante el Juzgado Central de lo Contencioso-Administrativo de Madrid, en el plazo de dos meses a contar desde el día siguiente a la recepción de la presente notificación, conforme a lo dispuesto en la Ley Reguladora de la Jurisdicción Contencioso-Administrativa de 13 de julio de 1998, y sin perjuicio de cualquier otro recurso que pudiera interponerse.

LA DIRECTORA DE LA AGENCIA ESPAÑOLA
DE MEDICAMENTOS Y PRODUCTOS SANITARIOS

Dª. Belén Crespo Sánchez-Eznarriaga

Firmado digitalmente por: Agencia Española de Medicamentos y Productos Sanitarios
Fecha de la firma: 12/07/2013
Localizador: NAVKLPC99B

Puede comprobar la autenticidad del documento en la aplicación Localizador de la Web de la AEMPS

CORREO ELECTRÓNICO
smhaem@aemps.es

C/ CAMPEZO, 1 - EDIFICIO 8
28022 MADRID
Tel.: 918225073
Fax: 918225043

Don Luis Mª Larrea Bilbao, Jefe del Servicio de Radiodiagnóstico, del Hospital Universitario Cruces, perteneciente al Servicio Vasco de Salud, Osakidetza, y en referencia al ensayo clínico abajo indicado

TÍTULO

Estudio clínico piloto aleatorizado para valorar la seguridad y eficacia potencial de la tenotomía con plasma rico en plaquetas (PRP) en la epicondilitis crónica" cuyo:

Investigador Principal: Jose Ignacio Martin Gomez

Código: B-PRPtendon2013

Código EudraCT: **2013-000478-32**

Promotor: Jose Ignacio Martin Gomez

DECLARO que tengo conocimiento de que dicho ensayo se va a llevar a cabo conjuntamente entre:

Servicio de Radiología Intervencionista
Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología
Unidad de Epidemiología Clínica y Apoyo Metodológico
Unidad de Investigación Atención Primaria de Bizkaia
BioCruces, Instituto de Investigaciones Sanitarias

En el Servicio de Cirugía Ortopédica y Traumatología, del Hospital Universitario Cruces, se atienden habitualmente pacientes con esas características; por lo que afirmo que tengo conocimiento de la participación de mi servicio y acepto colaborar en el ensayo clínico arriba citado.

Cruces, 2 de abril, 2013

Firma:

EUSKO JAURLARITZA GOBIERNO VASCO

OSASUN ETA KONTSUMO SAILA
Kalitate, Ikerketa eta Berrikuntza Sanitarioko Sailburuordetza
Ezagutzaren Gestioko eta Ebaluazioko Zuzendaritza

DEPARTAMENTO DE SANIDAD Y CONSUMO
Viceconsejería de Calidad, Investigación e Innovación Sanitaria
Dirección de Gestión del Conocimiento y Evaluación

MARTIN GOMEZ, JOSE IGNACIO
Hospital Universitario de Cruces
Expediente nº 2012111084

Gaia: 2012KO OSASUN ARLOKO IKERKETA-PROIEKTUETARAKO LAGUNTZAK

Zure proiektua diru-laguntza eman diogunetako bat denez, onarpen-dokumentazioaren bi ale bidaltzen dizkizugu. Hor ikusiko dituzu urterokoetarako emandako zenbatekoak eta finantzatutako kontzeptuak.

Dokumentazioa jaso eta **HAMABOST EGUNEKO** epean bidalitako dokumentu bakoitzaren ale bana behar bezala bete eta sail honetara itzuli behar duzu. Dokumentazioan akatsik balego edo eskaria egin zenuenetik daturen bat aldatu baldin bada, zuzendu egin behar duzu. Bekaduna onartzeko dokumentuari bekadunaren currikuluma erantsi behar diozu.

Zure esanetara gaude edozein zalantza argitzeko. Bide batez, har ezazu gure agurrik zintzoena.

Asunto: AYUDAS A PROYECTOS DE INVESTIGACION SANITARIA 2012

Siendo su Proyecto uno de los subvencionados, adjunto le enviamos por duplicado la documentación de aceptación. En ella podrá observar la cuantía concedida por anualidades y los conceptos financiados.

En el plazo de **15 DIAS** a partir de su recepción, uno de los ejemplares de cada uno de los documentos remitidos, deberá ser devuelto a este Departamento una vez cumplimentados, rectificando en su caso algún dato que no sea correcto o que haya cambiado desde el momento de la solicitud. Al Documento de Aceptación del becario se deberá acompañar el Currículo del mismo.

Quedamos a su disposición para cualquier aclaración y le enviamos un atento saludo.

Vitoria-Gasteizen, 2012ko abenduaren 19an

José Asua Batarrita
Ezagutzaren Gestioko eta Ebaluazioko Zuzendaria
Director de Gestión del Conocimiento y Evaluación

Eranskina:Bikoitza/ Anexo:Duplicado

Donostia - San Sebastian, 1 – 01010 VITORIA-GASTEIZ
Tfno. 945 01 92 40 – Fax 945 01 92 80 - E-mail: docencia-san@ej-gv.es

EUSKO JAURLARITZA GOBIERNO VASCO

OSASUN ETA KONTSUMO SAILA
Kalitate, Ikerketa eta Berrikuntza Sanitarioko Sailburuordetza
Ezagutzaren Gestioko eta Ebaluazioko Zuzendaritza

DEPARTAMENTO DE SANIDAD Y CONSUMO
Viceconsejería de Calidad, Investigación e Innovación Sanitaria
Dirección de Gestión del Conocimiento y Evaluación

LAGUNTZAREN DATUAK/ DATOS DE LA AYUDA 2012

IKERTZAILE NAGUSIA / INVESTIGADOR/A PRINCIPAL:
***Jn./And.:* / D./Dña**: MARTIN GOMEZ, JOSE IGNACIO
***N.A.N./*D.N.I.**: 30570461B
***Zentro Egilea*/Centro de realización**: Hospital Universitario de Cruces
***Zentro Eskatzailea*/Centro solicitante**: Hospital Universitario de Cruces

PROIEKTUA/PROYECTO:
"Estudio clínico piloto aleatorizado para valorar la seguridad y eficacia potencial de la tenotomía con plasma rico en plaquetas (PRP) en la epicondilitis crónica".

ESPEDIENTE ZK./Nº EXPEDIENTE: 2012111084

IRAUPENA: 20...ko .....(a)ren .....(e)tik 20....ko .....(a)ren .....(e)ra
DURACIÓN: De ..... de ..... de 20.... a ..... de ..... de 20....

EMANDAKO LAGUNTZA / AYUDA CONCEDIDA:

Kontzeptua/Concepto	1.*urtea*/año	2.*urtea*/año	3.*urtea*/año	*Guztira*/Total
***Bekarioa*/ Becario/a**	€	€	€	0 €
Ondasunak eta Zerbitzuak **Bienes y Servicios:**				
- *Material Inbentariagarria* - Material Inventariable	8.240 €	€	€	8.240 €
- *Material Suntsigarria* - Material fungible	950 €	2.500 €	€	3.450 €
- *Zerbitzu-Kontratazioa* - Contratación de servicios	€	€	€	0 €
Beste zenbait gastu **Otros gastos**	€	€	€	0 €
***Guztira*/Total**	9.190 €	2.500 €	0 €	11.690 €

Cruces, a 20 de diciembre de 2012
....., 2012ko .....k .....

Osakidetza
GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES
GERENTZIA
GERENCIA

Onritzia/V°B° *Sin.*:/Fdo: MARTIN GOMEZ, JOSE IGNACIO
Zentroko arduraduna/Responsable del centro *Ikerlzaile Nagusia*/El Investigador Principal

EUSKO JAURLARITZA GOBIERNO VASCO

OSASUN ETA KONTSUMO SAILA
Kalitate, Ikerketa eta Berrikuntzako Sailburuordetza
Ezagutzaren Gestioko eta Ebaluazioko Zuzendaritza

DEPARTAMENTO DE SANIDAD Y CONSUMO
Viceconsejería de Calidad, Investigación e Innovación Sanitaria
Dirección de Gestión del Conocimiento y Evaluación

IKERKETA-PROIEKTUETARAKO LAGUNTZAK 2012

AYUDAS A PROYECTOS DE INVESTIGACION 2012

ONARPEN-AGIRIA

MARTIN GOMEZ, JOSE IGNACIO jaunak/andreak, 30570461B Zki.ko N.A.N.a duelarik, *"Estudio clínico piloto aleatorizado para valorar la seguridad y eficacia potencial de la tenotomía con plasma rico en plaquetas (PRP) en la epicondilitis crónica*" izeneko eta 2012111084 expediente zki.ko ikerketa-proiektuaren ikertzaile nagusia izanik, eta Osasun eta Kontsumo Sailaren laguntza horiek emateari buruzko araudia (2012ko uztailaren 17ko Agindua, 2012ko uztailaren 19ko E.H.A.A.) ezagutzen duenez gero,

HITZ EMATEN DU:

1. Laguntza-dirua erabiliko duela aipatutako ikerketa egiteko.

2.- Deialdian agertzen denari jarraiki, lanaren garapenari buruzko txosten idatzia bidaltzea, zentroko legezko ordezkariaren oniritzia duena, bai eta egindako gastuen frogagiriak ere.

3. Ikerlanetik eratorritako argitarapenen separata bidaliko duela. Gainera, argitarapen guztietan eta kongresuetan egindako aurkezpen guztietan ere Osasun eta Kontsumo Sailetik hartutako laguntza agertu beharko da. Patente edo produktuei buruzko informazioa ere bidali.

4. Jatorrizko proiektuari edozein aldaketa eginez gero, Saila jakitun berehala ipiniko duela.

5. Ezagutzaren Gestioko eta Ebaluazioko Zuzendaritzak eskatzen duenean, informazio puntuala bidaliko duela eta Zuzendaritza horrek egoki iritzitako egiaztapen edo segimenduak erraztuko dituela.

DOCUMENTO DE ACEPTACION

D./Dña. MARTIN GOMEZ, JOSE IGNACIO con D.N.I.: 30570461B como investigador principal del proyecto de investigación *"Estudio clínico piloto aleatorizado para valorar la seguridad y eficacia potencial de la tenotomía con plasma rico en plaquetas (PRP) en la epicondilitis crónica"*, expediente 2012111084, conocedor de la normativa que regula la concesión de estas ayudas (Orden de 17 de julio de 2012, B.O.P.V. de 19 de julio de 2012) del Departamento de Sanidad y Consumo.

SE COMPROMETE A:

1. Emplear el dinero de la ayuda en realizar la investigación mencionada.

2. Remitir en la forma que indica la convocatoria un informe escrito, con el V°B° del representante legal del Centro, del desarrollo del trabajo, así como la justificación documental de los gastos realizados.

3. Enviar una separata de las publicaciones que se deriven del trabajo de investigación. En todas las publicaciones y presentaciones a congresos deberá hacerse constar la ayuda recibida del Departamento de Sanidad y Consumo. Remitir información sobre las patentes o productos que se deriven del proyecto.

4. Notificar de inmediato al Departamento cualquier alteración del proyecto original.

5. Remitir información puntual cuando sea solicitada por la Dirección de Gestión del Conocimiento y Evaluación y facilitar las comprobaciones o seguimientos que esta Dirección estime oportunos.

....., 2012ko.....k .....

Cruces, a 20 de Diciembre de 2012

*Sin./*Fdo.: RESPONSABLE DEL CENTRO / ZENTROKO ARDURADUNA
Kargua / Cargo:

Osakidetza
GURUTZETAKO UNIBERTSITATE OSPITALEA
HOSPITAL UNIVERSITARIO CRUCES
GERENTZIA
GERENCIA

*Sin./*Fdo.: MARTIN GOMEZ, JOSE IGNACIO
Ikerzaile Nagusia / El Investigador Principal

EUSKO JAURLARITZA GOBIERNO VASCO

CONCEPTOS DE GASTO DEL PROYECTO FINANCIADOS CON LA AYUDA 2012

Estos son los conceptos de gasto del Proyecto de Investigación de la Convocatoria 2011 de título ***Estudio clínico piloto aleatorizado para valorar la seguridad y eficacia potencial de la tenotomía con plasma rico en plaquetas (PRP) en la epicondilitis crónica*** cuyo IP es ***MARTIN GOMEZ, Jose Ignacio*** y con Expediente ***2012111084***, a los que deberá ser destinada la Ayuda concedida.

CONCEPTOS FINANCIADOS	
Bekaduna / Becario/a	€
SUBTOTAL	€
SUBTOTAL	€
Ondasunak eskuratzea eta zerbitzuak kontratatzea. **Ikertzaileak ordeztea /** Adquisición de bienes y contratación de servicios. Sustitución del Investigador **2012** INVENTARIABLE..... Centrífuga PRP y cabina de flujo .....8.240 € FUNGIBLE ..... Material PRP ..... 500 € Separación plasma ..... 450 € **2013** FUNGIBLE ..... Material PRP ..... 300 € Separación plasma .... 200 € Gastos difusión reuniones ..... 2.000 €	 8.240 € 950 € 2.500 €
SUBTOTAL	**11.690 €**
Bidaiak eta dietak. Bestelako gastuak / Otros gastos. Viajes y dietas	€
SUBTOTAL	€

TOTAL AYUDA 2012	**11.690 €**

Martin et al. Trials 2013, 14:410
http://www.trialsjournal.com/content/14/1/410

TRIALS

STUDY PROTOCOL Open Access

Platelet-rich plasma (PRP) in chronic epicondylitis: study protocol for a randomized controlled trial

Jose I Martin[1], Josu Merino[2], Leire Atilano[1], Luis M Areizaga[2], Maria C Gomez-Fernandez[3], Natalia Burgos-Alonso[3] and Isabel Andia[4*]

Abstract

Background: Tendinopathy is a difficult problem to manage and can result in significant patient morbidity. Currently, the clinical use of platelet-rich plasma (PRP) in painful tendons is widespread but its efficacy remains controversial.

Methods/Design: This study is a single-center, randomized double-blind controlled trial. Eighty patients will be allocated to have ultrasound (US)-guided needling combined with a leukocyte-depleted (that is, pure) PRP or lidocaine each alternate week for a total of two interventions. Outcome data will be collected before intervention, and at 6 weeks, 3, 6, and 12 months after intervention. Main outcome measure: Changes in pain and activity levels, as assessed by Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand (DASH-E, Spanish version) score, at 6 months. We will compare the percentage of patients in each group that achieve a successful treatment defined as a reduction of at least 25% in the DASH-E score. Secondary outcome measures include changes in DASH-E at 3 and 12 months, changes in pain as assessed by the visual analogue scale (VAS) at the 6-week, 3-, 6-, and 12-month follow-up, changes in sonographic features and neovascularity, and percentage of patients in each group with adverse reactions at 3, 6, and 12 months.

Discussion: The results of this study will provide insights into the effect of pure PRP in tendon and may contribute to identifying the best protocol for PRP application in tendinopathies.

Trial registration: ClinicalTrials.gov: NCT01945528.

Keywords: Platelet-rich plasma, Tendinopathy, Clinical trial, Epicondylitis

Background

Tendon disorders (tendinopathies) are noteworthy in sports and occupational settings due to repetitive trauma and overuse; besides they are prevalent among individuals of all ages, and also part of the ageing process. The term 'tendinopathy' describes painful conditions affecting tendons associated with repetitive strain, overuse, ageing, degeneration, or poor biomechanics [1]. Tendinopathies worsen quality of life by causing pain and impairing mobility, decreasing the ability to perform daily activities, and compromising an active lifestyle.

Current research has produced several biological hypothesis based on histopathological, biochemical, and clinical findings that show cell apoptosis, angiofibroblastic features, or abnormal biochemical adaptations, largely suggesting that a failed healing response underlies the condition [2].

At present, minimally invasive interventions capable of boosting the healing response or counteracting degenerative changes in tendinopathy are being investigated. Among the emerging technologies, one investigational biological therapy, platelet-rich plasma (PRP), has been recently explored in several clinical studies [3]; in particular, several controlled clinical studies have examined the effect of PRP in epicondylitis [4-9]. PRP therapies are multitargeted approaches able to release a large pool of signals, producing an instructional biological microenvironment for local and migrating cell activities. Moreover, PRPs modulate inflammation and angiogenesis largely because of their ability to secrete high levels of growth factors and chemokines [10].

Different PRP formulations can be obtained depending on the preparation protocol, that is, single or double spinning. Most double spinning and also the buffy coat-based

* Correspondence: iandia2010@hotmail.com
[4]Regenerative Medicine Laboratory, BioCruces Health Research Institute, Hospital Universitario Cruces, Pza Cruces s/n, Barakaldo 48903, Spain
Full list of author information is available at the end of the article

BioMed Central

© 2013 Martin et al.; licensee BioMed Central Ltd. This is an Open Access article distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/2.0), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

methods (single spinning) produce PRP with a high concentration of platelets and leukocytes relative to peripheral blood. These products are named L-PRP in contrast to pure PRP that contains a moderate concentration of platelets and absence or non-relevant concentration of leukocytes, and are generally obtained after a soft single spinning procedure [11]. The majority of clinical studies published up to now (>90%) have examined the efficacy of L-PRP injections with controversial results [12]. Assuming that leukocyte-released proteases may compromise the stability of platelet-released growth factors, better efficacy might be achieved with pure PRP injections. Currently, most published controlled studies have used corticosteroids as comparators. Instead, we propose lidocaine injections to avoid corticosteroids interference with the healing mechanisms.

We will compare the clinical outcomes and sonographic features of US-guided tenotomy combined with pure PRP with the outcome of US-guided tenotomy combined with lidocaine. This study protocol aims to evaluate the potential of pure PRP associated with needling for the treatment of epicondylitis.

Methods/Design

Study design

B-PRPtendon is a patient and assessor blinded superiority-type randomized controlled trial; the study will be conducted at Hospital Universitario Cruces (HUC). The research protocol is approved by the Ethics Committee of HUC and authorized by the Spanish Agency of Medicines. A total of 80 patients will be randomly allocated into one of two groups. The two groups are: US-guided percutaneous needling tenotomy combined with PRP injection each alternate week for a total of two interventions; and US-guided needling tenotomy combined with lidocaine injection each alternate week for a total of two interventions.

The study will run for 2 years. Recruitment will be for 12 months with final follow-up at 1 year post treatment (Table 1).

Study population

Patients will be identified, and recruited in HUC and from primary care settings of Bizkaia. Primary care physicians and research nurses will introduce the trial to the patient and refer them to an orthopedic investigator for screening and potential recruitment.

Patients will be treated and followed up in HUC at 6 weeks, 3, 6, and 12 months post treatment, and will be required to attend an appointment for sonographic assessments at 3, 6, and 12 months.

The inclusion criteria are: tendinopathy present in either lateral or medial elbow; patients will have failed conservative treatment; baseline elbow pain >3/10 during resisted wrist extension; history of at least two periods of elbow pain lasting >10 days; symptoms lasting at least 3 months or longer; body mass index (BMI) between 20 and 35; commitment to comply with all study procedures; and the patient must give written informed consent.

Patients may not enter the study if any of the following apply: presence of full tendon tear; BMI >35; systemic autoimmune rheumatologic disease (connective tissue diseases and systemic necrotizing vasculitis); poorly controlled diabetes mellitus (glycosylated hemoglobin above 9%); blood disorders (thrombopathy, thrombocytopenia, anemia with Hb <9); patient receiving immunosuppressive treatments; received local steroid injection within 3 months of randomization; received non-steroidal anti-inflammatory, opioids, or oral corticosteroids within 15 days before inclusion in the study; severe heart disease; patients unable to comply with scheduled visits, for work, or spend long periods away from their habitual residence; patients with active cancer or cancer diagnosed in the last 5 years; analytical diagnosis of hepatitis B, C, or HIV infection; pregnant or lactating; or people who are taking a drug in clinical investigation. Initial patient selection is conditioned to the negative results in the analytical tests for hepatitis B, C, or HIV infection.

PRP preparation

Peripheral venous blood is collected into three 9 mL tubes containing 3.8% (wt/vol) sodium citrate. The anticoagulated blood is centrifuged at 1,200 rpm for 6 min and PRP is collected taking care to avoid contamination with the buffy coat containing the leukocytes. Plasma is kept at room temperature until intervention; the delay between blood extraction and plasma administration will not be >4 h. To avoid blood lipids in the PRP, patients will fast or follow a fat-free diet during the 6 h prior to blood extraction.

Just preceding PRP administration, 10% calcium chloride will be added, at a final concentration of 22.6 mM (50 μL per 1 mL of PRP), and the 5 mL Luer Lok syringe is filled with the activated PRP.

Procedures

Interventions are performed by two radiologists with extensive clinical experience in musculoskeletal intervention procedures. Prior to needling and administration of PRP or lidocaine, an exploratory echography is performed to identify clefts of hypoechogenicity and/or changes in vascularity, and baseline sonographic characteristics are recorded, as described in Table 2 [13].

Needle tenotomy with PRP (or lidocaine)

Ultrasound-guided percutaneous needle tenotomy with PRP (or lidocaine) will be performed each alternate week for a total of two interventions. Blood will be drawn

Table 1 Outcome assessments

	Study period							
	Enrollment	**Allocation**	**Treatment**			**Follow-up**		
Timepoints	−15 days		**0**	**2 weeks**	**6 weeks**	**3 months**	**6 months**	**12 months**
Eligibility screen	X							
Informed consent	X							
Laboratory tests	X							
Allocation		X						
Interventions			X	X				
Assessments								
DASH			X		X	X	X	X
VAS			X		X	X	X	X
Complications			X		X	X	X	X
Ultrasound			X			X	X	X

from all the patients' unaffected arm and PRP prepared as described above. Using a single skin portal, local anesthetic (2 mL of 1% lidocaine HCl 10 mg/mL) will be injected into the subcutaneous tissue of the lateral or medial elbow using a 20 G needle. Once the needle is in place, the 5 mL Luer Lok syringe loaded with the treatment is attached. Multiple longitudinal and transversal penetrations of the tendon are performed, and 3 to 5 mL of PRP (or lidocaine) is delivered in multiple depots during needling fenestrations. The injected volume is adapted to the morphometric characteristics of each patient. The same protocol with lidocaine is performed in the control group.

Study assessments

Study assessments will include the Spanish version [14] of the patient-reported outcome measure Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand (DASH-E, Spanish version of the DASH, © Institute for Work & Health 2006), pain outcome as measured by the visual analogue scale (VAS) and changes in tendon structures and vascularity as assessed by Doppler sonography (Table 2).

Table 2 Sonographic assessments

Echotexture grading scale	
0	Normal
1a	Hypoechogenicity in less than one-third of the tendon
1b	Hypoechogenicity in between one-third and two-thirds of the tendon
1c	Hypoechogenicity in more than two-thirds of the tendon
2	Partial-thickness tear
3	Full-thickness tear
Neovascularization grading scale	
0	No neovascularization
1	Neovessels on the tendon surface
2	1 or 2 intratendinous neovessels
3	3 or more intratendinous neovessels
Tendon size (mm)	
Calcifications	

DASH is a patient-filled questionnaire based on the patient's subjective assessment of symptoms and abilities to perform activities of daily living on the last week. The range of available scores is 0 (best) to 100 (worst). The questionnaire will be administered to patients at the baseline and during their follow-up visits at 6 weeks, 3, 6, and 12 months.

The DASH disability/symptom score is calculated as follows: DASH score = ((sum of n responses/n)−1) × 25, where n is equal to the number of completed responses.

Primary outcome measures

Successful treatment is defined as a reduction of >25% in the DASH-E score at 6 months post-treatment. The primary outcome measure is the percentage of patients that achieve a successful treatment. We will examine if the therapeutic success rates of the PRP and control groups are statistically different.

Secondary outcome measures

Secondary outcomes include: percentage of patients that achieve a successful treatment at 6 weeks, 3, and 12 months; pain reduction as measured by changes in pain rating on a visual analogue scale (VAS) with respect to baseline; changes in echogenicity and vascularity as assessed by Doppler sonography at 3, 6, and 12 months.

Frequency, severity, intensity, and duration of adverse events will be recorded and the ratio of adverse events in both groups compared.

A summary of the study design is shown in Figure 1.

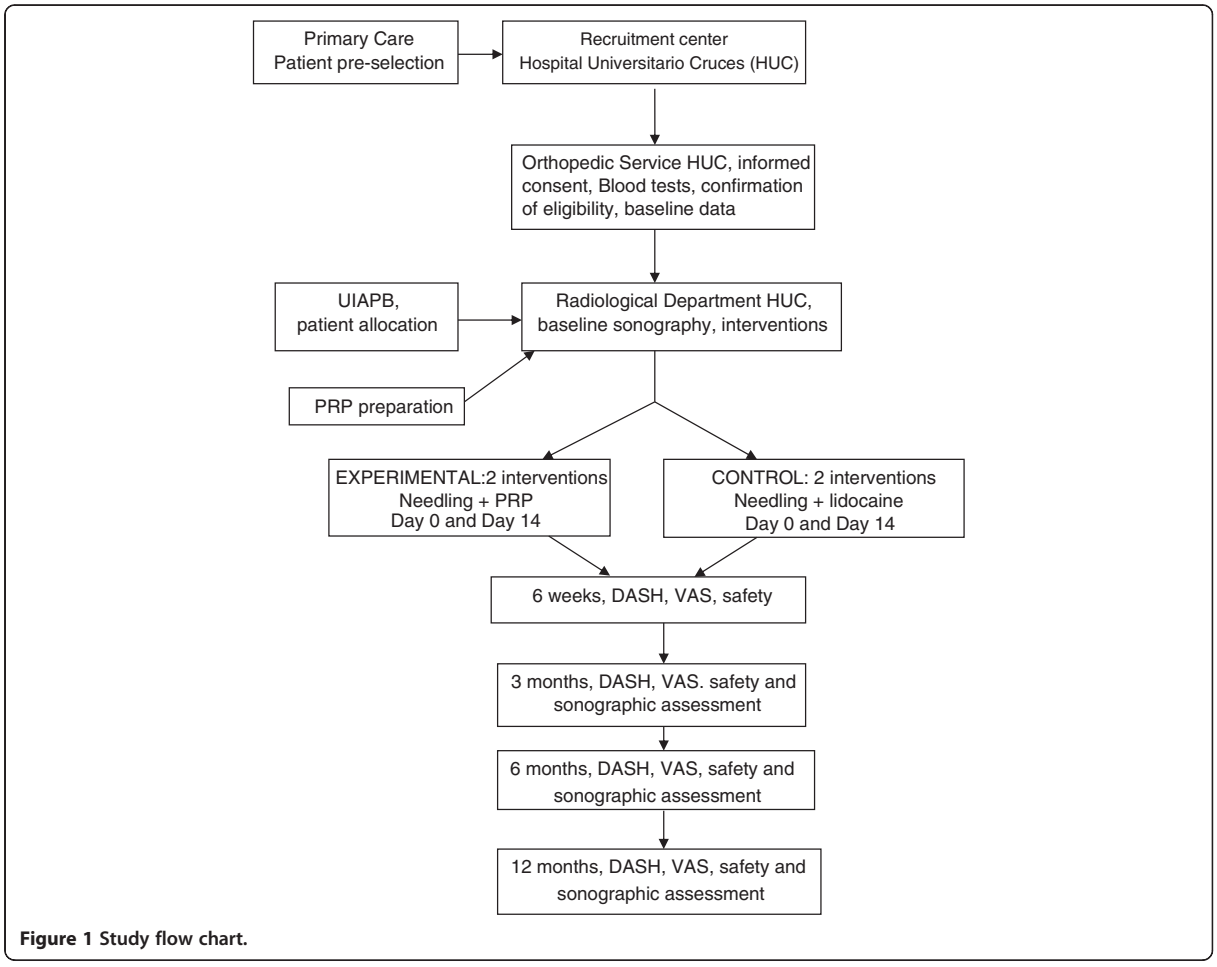


Figure 1 Study flow chart.

Sample size

The minimum sample size required to achieve scientifically valid results is 80. This sample size provides an 80% potency to detect any significant difference between the success rates in both groups ($P1 = 0.93$ and $P2 = 0.65$) with a level of significance of 5%, being each arm formed by 40 patient. We have assumed that the relative improvement with the PRP intervention is 1.43, assuming that the differences between PRP and lidocaine would be similar to the differences reported with corticoids [8], and a patient loss of approximately 20%. However, this is a randomized study which will help to gain insights into feasibility of recruitment, and into the number of patients who become lost to follow-up.

Randomization

Randomization will be performed in blocks of four, and equal allocation ratio will be achieved by means of a free informatics tool, EPIDAT3.1. Treatment assignments will be conducted by an independent researcher at Primary Care Investigation Unit of Bizkaia (UIAPB) who will not interfere with the study.

Blinding

All patients will be blinded to the treatment to which they are allocated, thus peripheral blood is drawn even if they are assigned to the control group. All outcome assessors (orthopedists and radiologists) will be blinded, but the radiologists applying the treatment will not.

Adverse events

The patients will be instructed to record any discomfort and/or any adverse reaction or event, whether or not it is related to the intervention. The investigator will evaluate and record the seriousness, intensity, expectedness, and causality relationship, and a written communication will be sent to the sponsor. Pertinent adverse events will be notified to the licensing authorities (Ethics Committee of HUC and Spanish Agency of Medicines) by fax or email.

Statistical analysis

Categorical variables will be presented as rates and percentages. Demographic and clinical baseline characteristics will be assessed to confirm comparability between groups. If any clinically relevant data are unbalanced, we will perform an adjusted analysis. Categorical variables will be presented as frequencies and percentages, and we will use the mean and standard deviation for data with a normal distribution and median and interquartile range for non-parametric data. Potential efficacy analysis will be performed as intention to treat, comparing the percentage of patients that have achieved therapeutic success in each group using the chi-squared test with $P < 0.05$ deemed statistically significant. All statistical analysis will be performed using the SAS 9.2 version.

Discussion

The present study had three principal objectives: first, to investigate if pure PRP interventions reduce symptoms and improve function by using the patient self-reported DASH-E questionnaire; second, to examine the clinical efficacy of needling combined with PRP injections in pain; and third, to identify the potential structural changes in the tendon after PRP treatment.

Multiple commercial protocols to prepare PRP are currently available on the market. Depending on the specific preparation protocol the qualitative and quantitative composition of PRP varies, and most likely so do the biological effects. Current experimental research postulates different efficiency among PRP formulations [15,16], mainly leukocyte-rich PRP (L-PRP) and leukocyte-depleted PRP (pure PRP). In fact, experimental research has shown that L-PRP is more pro-inflammatory when injected in rabbits [15], and it increases the levels of metalloproteases when assayed in tenocyte cultures compared to pure PRP [17].

On the basis of these preliminary experimental results, and the clinical results in the conservative management of knee OA in which L-PRP injections induced more transient post-injection swelling and pain than pure PRP [18], we expect fewer adverse reactions using pure PRP (leukocyte-depleted).

To date, all controlled clinical trials in epicondylitis have been performed with L-PRP [4-9]. In this pilot study, we aim to examine the efficacy of pure PRP, and potential comparative efficacy studies (L-PRP *vs.* pure PRP) would be performed in a subsequent step forward. Moreover, when compared to published clinical protocols performed with L-PRP, we might anticipate improved function and reduced pain using pure PRP associated with the needling intervention.

Additionally, there is no consensus about the frequency and number of PRP treatments in chronic injuries. Thus, whether two interventions would be more efficient than a single PRP application remains to be clarified. Previous studies in tendinopathy have not found any structural change after one PRP injection pointing out that one single intervention may be insufficient to induce structural changes [19,20]. In this pilot study we will explore whether two injections could modify the structural characteristics of the injured tendon. In addition, the optimal volume of PRP has not been defined so far thus we will adjust the injected volume (3–5 mL) to the individual anatomical characteristics.

The results of this study will provide insights into the effect of pure PRP in tendons and may contribute to identifying the best protocol for PRP application in tendinopathies.

Trial status

Recruitment commencement is planned by January 2014 and the expected average enrollment rate is four patients every month. Data collection will continue for one year after the last recruited patient.

Competing interests

The authors declare that they have no competing interests.

Authors' contributions

MJI, AL, MJ, and ALM designed the study protocol; G-FMC, B-AN, and AI wrote the clinical protocol and obtained authorization from the Ethics Committee and Spanish Agency of Drugs. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

The study is partially funded by the Basque Health Department.

Author details

[1]BioCruces Health Research Institute, Radiology Service, Hospital Universitario Cruces, Barakaldo, Spain. [2]BioCruces Health Research Institute, Orthopedic Service, Hospital Universitario Cruces, Barakaldo, Spain. [3]BioCruces Health Research Institute, Primary Care Research Unit of Bizkaia, Bilbao, Spain. [4]Regenerative Medicine Laboratory, BioCruces Health Research Institute, Hospital Universitario Cruces, Pza Cruces s/n, Barakaldo 48903, Spain.

Received: 25 September 2013 Accepted: 20 November 2013
Published: 1 December 2013

References

1. Maffulli N, Kha KM, Puddu G: **Overuse tendon conditions: time to change a confusing terminology.** *Arthroscopy* 1998, **14:**840–843.
2. Andia I, Sánchez M, Maffulli N: **Tendon healing and platelet rich plasma therapies.** *Expert Opin Biol Ther* 2010, **10:**1415–1426.
3. Andia I, Abate M: **Platelet rich plasma injections for tendinopathy and osteoarthritis.** *Int J Clin Rheumatol* 2012, **7:**397–412.
4. Creaney L, Walla A, Curtis M, Connell D: **Growth factor-based therapies provide additional benefit beyond physical therapy in resistant elbow tendinopathy: a prospective, double-blind, randomised trial of autologous blood injections versus platelet-rich plasma injections.** *Br J Sports Med* 2011, **45:**966–971.
5. Krogh TP, Fredberg U, Stengaard-Pedersen K, Christensen R, Jensen P, Ellingsen T: **Treatment of lateral epicondylitis with platelet-rich plasma, glucocorticoid, or saline: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial.** *Am J Sports Med* 2013, **41:**625–635.
6. Mishra AK, Skrepnik NV, Edwards SG, Jones GL, Sampson S, Vermillion DA, Ramsey ML, Karli DC, Rettig AC: **Platelet-rich plasma significantly improves clinical outcomes in patients with chronic tennis elbow: a double-blind, prospective, multicenter, controlled trial of 230 patients.** *Am J Sports Med* 2013. Epub ahead of print.

7. Omar Aziza S, Maha El, Amal SA, Mahmoud S: **Local injection of autologous platelet rich plasma and corticosteroid in treatment of lateral epicondylitis and plantar fasciitis: randomized clinical trial.** *Egypt Rheumatol* 2012, **34:**43–49.
8. 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* 2010, **38:**255–262.
9. Thanasas C, Papadimitriou G, Charalambidis C, Paraskevopoulos I, Papanikolaou A: **Platelet-rich plasma versus autologous whole blood for the treatment of chronic lateral elbow epicondylitis: a randomized controlled clinical trial.** *Am J Sports Med* 2011, **39:**2130–2134.
10. Andia I, Abate M: **Platelet-rich plasma: underlying biology and clinical correlates.** *Regen Med* 2013, **8:**645–58.
11. Dohan Ehrenfest DM, Rasmusson L, Albrektsson T: **Classification of platelet concentrates: from pure platelet-rich plasma (P-PRP) to leucocyte- and platelet-rich fibrin (L-PRF).** *Trends Biotechnol* 2009, **27:**158–167.
12. Andia I, Maffulli N: **Platelet-rich plasma for muscle injury and tendinopathy.** *Sports Med Arthrosc* 2013, **21:**191–198.
13. Finnoff JT, Fowler SP, Lai JK, Santrach PJ, Willis EA, Sayeed YA, Smith J: **Treatment of chronic tendinopathy with ultrasound-guided needle tenotomy and platelet-rich plasma injection.** *PM R* 2011, **3:**900–911.
14. Hervás MT, Navarro Collado MJ, Peiró S, Rodrigo Pérez JL, López Matéu P, Martínez Tello I: **Spanish version of the DASH questionnaire. Cross-cultural adaptation, reliability, validity and responsiveness.** *Med Clin (Barc)* 2006, **127:**441–447.
15. Dragoo JL, Braun HJ, Durham JL, Ridley BA, Odegaard JI, Luong R, Arnoczky SP: **Comparison of the acute inflammatory response of two commercial platelet-rich plasma systems in healthy rabbit tendons.** *Am J Sports Med* 2012, **40:**1274–1281.
16. Sundman EA, Cole BJ, Fortier LA: **Growth factor and catabolic cytokine concentrations are influenced by the cellular composition of platelet-rich plasma.** *Am J Sports Med* 2011, **39:**2135–2140.
17. McCarrel TM, Minas T, Fortier LA: **Optimization of leukocyte concentration in platelet-rich plasma for the treatment of tendinopathy.** *J Bone Joint Surg Am* 2012, **94:**e1431–1438.
18. Filardo G, Kon E, Pereira Ruiz MT, Vaccaro F, Guitaldi R, Di Martino A, Cenacchi A, Fornasari PM, Marcacci M: **Platelet-rich plasma intra-articular injections for cartilage degeneration and osteoarthritis: single- versus double-spinning approach.** *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2012, **20:**2082–2091.
19. de Jonge S, de Vos RJ, Weir A, van Schie HT, Bierma-Zeinstra SM, Verhaar JA, Weinans H, Tol JL: **One-year follow-up of platelet-rich plasma treatment in chronic Achilles tendinopathy: a double-blind randomized placebo-controlled trial.** *Am J Sports Med* 2011, **39:**1623–1629.
20. de Vos RJ, Weir A, Tol JL, Verhaar JA, Weinans H, van Schie HT: **No effects of PRP on ultrasonographic tendon structure and neovascularisation in chronic midportion Achilles tendinopathy.** *Br J Sports Med* 2011, **45:**387–392.

doi:10.1186/1745-6215-14-410
Cite this article as: Martin *et al.*: Platelet-rich plasma (PRP) in chronic epicondylitis: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials* 2013 **14**:410.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- **Convenient online submission**
- **Thorough peer review**
- **No space constraints or color figure charges**
- **Immediate publication on acceptance**
- **Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar**
- **Research which is freely available for redistribution**

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit

BioMed Central

Martin et al. Journal of Orthopaedic Surgery and Research (2019) 14:109
https://doi.org/10.1186/s13018-019-1153-6

Journal of Orthopaedic Surgery and Research

RESEARCH ARTICLE Open Access

Platelet-rich plasma versus lidocaine as tenotomy adjuvants in people with elbow epicondylopathy: a randomized controlled trial

Jose Ignacio Martin[1,2], Leire Atilano[1,2], Josu Merino[2,3], Igor Gonzalez[2,3], Gotzon Iglesias[1,2], Luis Areizaga[2,3], Paola Bully[4], Gonzalo Grandes[4] and Isabel Andia[2*]

Abstract

Objectives: To determine the efficacy of platelet-rich plasma (PRP) compared to lidocaine as a tenotomy adjuvant for people with elbow tendinopathy.

Methods: Our study was a parallel-group, double-blind, randomized trial involving 71 patients with recalcitrant elbow tendinopathy who received two sessions of ultrasound-guided tenotomy with either PRP or lidocaine in a tertiary public hospital. The primary end point was the percentage of patients with an improvement exceeding 25% reduction in disability (Spanish version of the Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand questionnaires–DASH-E) at 6 and 12 months; the secondary outcome was the percentage of patients exceeding 25% reduction in pain (VAS-P).

Results: There was no evidence of significant differences in the proportion of patients who experienced clinically relevant improvements. After 6 months, 18 patients (78.59%) in the lidocaine group and 19 patients (73.08%) in the PRP group showed improved function above 25% (unadjusted odds ratio, 0.90; 95% confidence interval [CI], 0.90 (0.17 to 4.60)); 21 patients (72.21%) in the lidocaine group versus 22 patients (84.62%) in the PRP group achieved more than 25% pain reduction (unadjusted odds ratio, 0.48; 95% CI, 0.10 to 2.37). After 12 months, 17 patients (70.83%) in the lidocaine group versus 19 patients (76%) in the PRP group had improved function (unadjusted odds ratio, 0.71; 95% CI, 0.13 to 3.84), and 19 patients (76%) in the lidocaine group versus 20 patients (90.91%) in the PRP group had improved pain above 25% (unadjusted odds ratio, 0.35; 95% CI, 0.06 to 2.51). Hypercholesterolemia and baseline vascularization influenced outcomes. There were no differences between groups in the adjusted odds ratios.

Conclusion: PRP results in similar improvements to those obtained with lidocaine. Selecting patients according to their pretreatment status can improve treatment efficacy.

Trial registration: NCT01945528, EudraCT 2013-000478-32. Registered 18 August 2013, enrolment of the first participant 10 March 2014

Keywords: Elbow tendinopathy, Epicondylitis, Lateral, Medial, Tenotomy, Platelet-rich plasma, Function, Pain, Randomized controlled study, Sonography

* Correspondence: isabel.andiaortiz@osakidetza.eus; iandia2010@hotmail.com
[2]Regenerative Medicine, BioCruces Health Research Institute, Cruces University Hospital, 48903 Barakaldo, Spain
Full list of author information is available at the end of the article

© The Author(s). 2019 **Open Access** This article is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution 4.0 International License (http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided you give appropriate credit to the original author(s) and the source, provide a link to the Creative Commons license, and indicate if changes were made. The Creative Commons Public Domain Dedication waiver (http://creativecommons.org/publicdomain/zero/1.0/) applies to the data made available in this article, unless otherwise stated.

Introduction

Elbow tendinopathy (epicondylalgia) is the most common tendinopathy in upper limbs and it has a relevant economic burden [1]. It can affect the wrist extensors that originate from the lateral epicondyle and/or the flexors originating from the medial epicondyle, with similar rates between men and women. Lateral epicondylopathy is more prevalent than medial epicondylopathy, i.e., 1.3% versus 0.4% [2], but the prevalence could be as high as 5.2% or higher in middle-aged people performing repetitive movements and/or forceful tasks as part of their working activities [3, 4].

Local injection treatments are proposed as a cost-effective conservative management in patients who are recalcitrant to bracing, non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs), or physiotherapy before considering tendon release through arthroscopy or open surgery. The most common injectable is corticosteroids, a palliative treatment frequently administered on the peritendon. Actually, the target could be sympathetic and sensory innervation could be found in the superficial side of the extensor carpi radialis brevis (ECRB) origin [5]. However, in persistent elbow tendinopathy, corticosteroid injections delayed complete recovery and increased the recurrence rate [6]; therefore, research has shifted towards the development of tendon regenerative treatments.

Needle tenotomy is a commonly performed therapy that involves passing a needle through the abnormal tendon multiple times, with intensities that can vary according to the number of passes, ranging from 5 to 50, with needle diameters ranging from 20 to 25 gauge (also described as fenestrations, needling, or peppering) [7]. Any type of tenotomy can be considered a regenerative technique because ensuing microtrauma induces a healing response through an early gene expression (transcription factors) pattern similar to mechanical loading, thereby enhancing tendon structure and strength [8]. The goal is to convert a chronic degenerative process into acute inflammation by breaking the vicious loop of failed healing and remodelling provoked by accumulated tendon damage [9]. Nevertheless, few controlled studies have examined the efficacy of percutaneous needle tenotomy for elbow epicondylopathy [10].

Moreover, tenotomy can be "dry" (as a standalone procedure) or can be part of a combined intervention; i.e., associated with anaesthetics, corticosteroids, or regenerative products, such as blood or platelet-rich plasma (PRP). PRP consists of a plasma preparation with a concentration of platelets above peripheral blood (pure PRP) and optionally with concentrated leukocytes (L-PRP). The molecular pool present in PRP modulates biological processes involved in tissue healing, including modulation of angiogenesis and inflammation as well as cell proliferation and survival [11]. In addition, it provides a fibrin template that can guide cells in the injured areas. Although these biological actions have been shown in vitro [12], the clinical efficacy of PRP preparations in tendons is still controversial.

PRP has been widely used to treat diverse tendinopathies, e.g., rotator cuff, Achilles, patellar and gluteal tendons, but current meta-analyses have shown modest improvements [13–15]. Specifically, the value of PRP in epicondylopathy has been investigated in more than a dozen controlled trials [16], mostly using corticosteroids or whole blood as comparators. However, efficacy has not been demonstrated yet, in part due to heterogeneity among clinical studies that was mainly attributed to variability in PRP formulations [17] and procedures of delivery. In addition, whether PRP is more efficient in enthesopathies, such as epicondylopathy, or tendinopathies in the proper tendon is controversial [18].

Our objective was to examine whether pure PRP (with a moderate concentration of platelets) is a good adjuvant to tenotomy in the management of chronic elbow tendinopathy (medial and lateral). We have used [tenotomy + lidocaine] as a comparator, which is our gold standard. Consistent with the classic view of chronic wounds where a single intervention may be insufficient to regenerate a chronic injury, we performed two interventions with a 2-week interval.

Methods

We performed a parallel-group, assessor- and patient-blinded, randomized controlled trial in a tertiary public hospital.

Inclusion criteria were tendinopathy present in either the lateral or medial elbow in patients who had failed conservative treatments. The latter consisted of 4–6 weeks of antialgic and anti-inflammatory medication (NSAIDs), physical therapy associated with orthosis and at least one corticosteroid infiltration in the painful area. Patients were included if they had symptoms lasting at least 3 months or longer and baseline elbow pain above 3/10 during resisted wrist extension or flexion, in the case of lateral or medial epicondylopathy respectively. Other inclusion criteria were age between 18 and 75 years, body mass index (BMI) between 20 and 35 and commitment to comply with all study procedures. The most symptomatic elbow was treated in bilateral patients. Patients suspended any analgesic therapy 15 days before the intervention; merely paracetamol 1 gr/6 h or metamizole granulated oral suspension, maximum 4 g/day, was allowed. Oral corticoids were not permitted nor were NSAIDs for up to ten or more consecutive days.

The exclusion criteria were the presence of a full tendon tear; BMI > 35; systemic autoimmune rheumatologic disease (connective tissue diseases and systemic necrotizing vasculitis); poorly controlled diabetes mellitus (glycosylated haemoglobin above 9%); blood disorders (thrombopathy, thrombocytopenia, anaemia with a Hb level < 9); receiving

immunosuppressive treatments; receiving local steroid injection within 3 months of randomization; receiving NSAIDs, opioids, or oral corticosteroids within 15 days before inclusion in the study; severe heart disease; patients unable to comply with scheduled visits due to work, or spending long periods away from their habitual residence; patients with active cancer or cancer diagnosed in the last 5 years; analytical diagnosis of hepatitis B or C or HIV infection; pregnant or lactating; and patients who were taking a drug in a clinical investigation. Initial patient selection was conditioned to the negative results in the analytical tests for hepatitis B or C or HIV infection.

The diagnosis was performed by orthopaedic surgeons and was merely clinical. Lateral epicondylopathy was diagnosed based on pain and maximum tenderness upon palpation at the common extensor origin at the lateral humeral epicondyle, pain upon resisted forearm supination, painful active wrist extension and painful passive wrist flexion. Medial epicondylopathy was diagnosed based on pain distal to the common flexor insertion, increased pain with resisted wrist flexion and pain with resisted forearm pronation and elbow extension. Patients with suspected ulnar neuropathy were not included. Clinical assessments were performed by the same orthopaedic surgeons that performed the inclusion assessment and were unaware of the treatment modality.

Settings and locations

The study protocol was approved by the local Ethics Committee of HUC, authorized by the Spanish Agency of Medicines (EudraCT 2013-000478-32), registered at clinicaltrials.gov (NCT01945528) and was published previously [19].

Between April 2014 and May 2017, a total of 85 patients with elbow tendinopathy were referred to the Orthopaedic Department at Cruces University Hospital, by general practitioners or by other orthopaedic departments, and they were assessed for eligibility. Eighty-two patients met the inclusion/exclusion criteria and underwent blood tests. All patients provided written informed consent and could decide to leave the study at any time.

Interventions

The experimental and control groups were ultrasound (US)-guided percutaneous tenotomy combined with PRP each alternate week for a total of two interventions and US-guided tenotomy combined with lidocaine each alternate week for a total of two interventions.

PRP preparation

Twenty-four mL of peripheral blood (i.e., three 9 mL tubes containing 0.9 mL of sodium citrate, Vacuette, Greiner BioOne, Switzerland) were withdrawn from all patients at every intervention. Pure (leukocyte-free) PRP was prepared by single spinning at 570 G for 6 min and the plasma layer was collected, under laminar flow, avoiding aspirating the buffy coat, following our standard operating procedures. In doing so, we obtained approximately 6-8 mL of pure PRP (no leukocytes) without detectable leukocytes and a moderated enrichment of platelets (2.30 ± 0.68 times above peripheral blood baseline). According to previous classifications [20], it can be described as pure platelet-rich plasma (P-PRP) or leukocyte-poor platelet-rich plasma, i.e., preparations without leukocytes and with a low-density fibrin network after activation.

At the interventional radiologist office, PRP is activated with $CaCl_2$ (final concentration 22.5 mM) prior to loading 5 mL in a 10-mL Luer-lock syringe.

Tenotomy

We performed all procedures with the patient in a supine position, the elbow flexed 120° and forearm in pronation (lateral) or supination (medial), guided with a 4-13 MHz high-frequency linear probe (Esaote MyLab 70 XVG, Esaote S.p.A. Genoa, Italy). A senior radiologist with more than 20 years of experience in musculoskeletal interventional ultrasonography performed all tenotomies.

A sterile protocol was followed as for any other musculoskeletal intervention. The subcutaneous tissues overlying the lateral epicondyle were infiltrated tangential to the plane of the lateral epicondyle with 2 mL lidocaine via a 22-gauge hypodermic needle. Then, the bulb containing the injectable (PRP or lidocaine) was connected to the needle, which was inserted parallel to the tendon long axis, from distal to proximal. The tendon was repeatedly fenestrated (15–25 times) by redirecting the needle in different directions, until softening of the tissue. In addition to piercing the tendon, the tip needle was used to abrade the periosteum. At the same time, the injectable was delivered in the areas of hypoechogenicity and the surround. A second intervention, involving approximately ten tendon perforations and no abrasions of the periosteum, was performed after 2 weeks. We injected 4.23 ± 1.09 mL (range 1–5) of lidocaine and 4.47 ± 1.11 (range 1–5) of PRP in the first intervention and 4.18 ± 1.14 mL (range 1–5) of lidocaine and 4.53 ± 0.88 mL (range 2–5) of PRP in the second intervention. There were no differences between the injected volumes. After each intervention, patients were instructed to rest for the first 48 h and avoid weight lifting. Patients did not follow any post-procedural exercise programme, but they modified their activities and resumed physical work upon demand.

Outcomes

The primary outcome measures were the number (percent) of patients who achieved clinically relevant improvement, defined as a reduction in Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand self-reported questionnaires, Spanish version (DASH-E), of at least 25% relative to baseline [21]

at 6 and 12 months. Secondary outcome measures were the number (percent) of patients who achieved a clinically relevant improvement in pain, VAS-P (0–10 Likert scale), at 6 and 12 months. For safety assessments, patients recorded any adverse reaction and needed medication in a diary that was collected at each hospital visit. Acetaminophen was the only drug allowed for pain.

Sample size

We assumed that the relative improvement with the PRP intervention was 1.43, assuming that the differences between PRP and lidocaine would be similar to the differences reported with corticoids [22], and a patient loss of approximately 20%. A sample size of 80 patients was expected to provide an 80% potency to detect any significant difference between the success rates in both groups (P1 = 0.93 and P2 = 0.65) with a level of significance of 5%, with each arm formed by 40 patients.

Randomization and blinding

An independent researcher performed randomization in blocks of four, using EPIDAT3.1, and created aluminium paper blinded envelopes with the numbered treatment allocation. The numbered envelopes were opened on the treatment day by the researcher who was in charge of the PRP preparation. All physicians (including orthopaedists involved in clinical outcome assessments and radiologists involved in ultrasound assessments), except one radiologist who performed the procedures, were unaware of treatment allocation. All patients were blinded to the treatment. Peripheral blood was drawn from all patients, and in each intervention, the syringe containing the treatment was wrapped with gauze hindering treatment visualization.

Statistical methods

To test the overall effect of the treatment, [tenotomy + PRP] and [tenotomy + lidocaine], on an intention-to-treat basis, we compared changes in function and pain levels between the two groups over 12 months. No imputation method was used to handle the missing data. To confirm comparability between groups at baseline, Student's t test was used for continuous variables due to the proven normal distribution of the data in both groups, and a x^2 test was used for categorical variables. Spearman's tests were used to assess the association between outcome variables. Data are summarized as the mean and standard deviation for normally distributed variables, medians and interquartile ranges for non-normally distributed variables and the frequency and percentage for categorical variables. To evaluate the differences between the PRP and lidocaine groups, longitudinal generalized mixed models, with and without adjustments, were used, considering the repeated four follow-up measurements for each patient. The treatment, the time of measurement and treatment-by-time interaction were included as fixed effects in the models. Patients were included as random effects in the intercept of the different repeated measurements. Time evolution was considered as a categorical variable without autocorrelation within an individual. These options were chosen because they provided a better fit to our data. The overall effect of the treatment was assessed by testing the interaction between the treatment and time of measurement. Additionally, these models were also adjusted for baseline values of the outcome variables, socio-demographics and risk factors, possible determinants of pain and function. Likewise, to simplify the fixed effects structure, maximum likelihood ratio tests were used following backward, forward and stepwise strategies. Unadjusted and adjusted odds ratios with 95% confidence intervals (CI) and mean differences with 95% CI were calculated for categorical and continuous outcomes, respectively. Planned contrasts were used to determine whether changes in the PRP group between baseline and each of the follow-up points were different from those observed in the lidocaine group. For all the contrasts, $p < 0.05$ was considered the significance criterion.

A post hoc power calculation was performed based on longitudinal mixed effects models adjusted to the final sample size, actual data variability and clustering to detect differences with small (0.2 standard deviations), medium (0.5 standard deviations) and large (0.8 standard deviations) effect sizes between the comparison groups. All analyses were carried out using the SAS statistical package version 9.4.

Results

Figure 1 represents the flow of participants through the trial. Eighty patients, recruited between 2014 and 2017, meeting all inclusion criteria, were randomly allocated to the [tenotomy + PRP] and [tenotomy + lidocaine] groups. Four patients in the PRP group and one patient in the lidocaine group withdrew from the study before treatment for the following reasons: horse accident (1), preferred the surgical option (1), entitled to hip surgery (1), had no pain the day of the first intervention (1) and declined without any reason (1). One patient in the PRP group and three in the lidocaine group received only the first tenotomy and declined to receive the second intervention because they found the procedure too painful. A total of 71 patients were treated. During the study, one patient treated with PRP was lost to follow-up after the 6-week assessment and four patients (three from the lidocaine group and one from the PRP group) were lost after the 6-month assessment. We had additional missing data for two main reasons. First, many patients did not fill out the DASH-E properly (i.e., less than 25 answers over 30 questions, making the DASH-E invalid for analyses). Second, some patients attended the radiology service during follow-up but failed

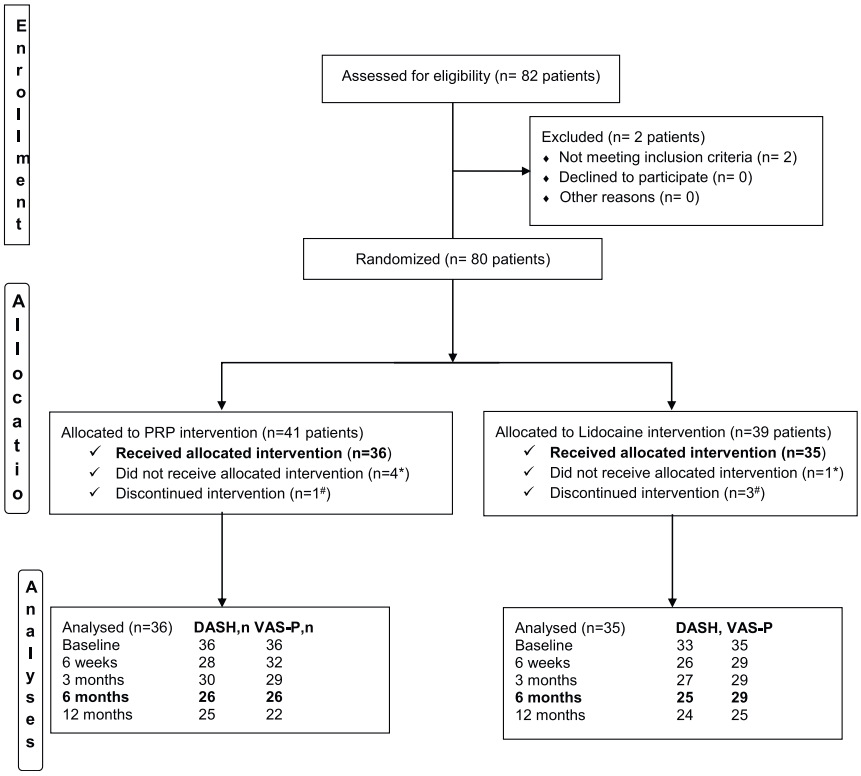


Fig. 1 Participants' flow diagram. Asterisk denotes did not receive allocated intervention because of: a horse accident (1), preferred the surgical option (1), entitled for hip surgery (1), had no pain the day of the first intervention (1) and declined without any reason (1). Number sign indicates discontinued intervention because of post-tenotomy pain. During the study, one patient treated with PRP was lost to follow-up after the 6-week assessment and four patients (three from the lidocaine group and one from the PRP group) were lost after the 6-month assessment. We had additional missing data for two main reasons. First, many patients did not fill the DASH properly (i.e., with less than 25 answers over 30 questions, the DASH was not valid for analyses). Second, some patients attended to the echography service during follow-up but failed orthopaedists 'consultation where clinical data were collected

to complete orthopaedist consultations where clinical data were collected. Sociodemographic and clinical characteristics were well-balanced at baseline (shown in Table 1). The association between pain and function increased throughout the follow-up in a similar way for both groups (see Table 2).

Primary and secondary clinical outcomes

Successful treatment was defined as more than 25% reduction in DASH-E or VAS-P scores after 1 year. Table 3 shows the rate of patients who met these criteria in each measurement. A high rate of patients showed enhanced function and pain reduction over the 12-month follow-up.

Data for functional improvement were available for 25 (71.43%) and 24 (68.57%) patients in the lidocaine group and 26 (72.22%) and 25 (69.44%) patients in the PRP group, at 6 and 12 months, respectively. There were no significant differences between therapies in terms of the rate of patients who achieved the minimum clinically important difference in function recovery at 6 or 12 months after treatment (Table 3). The differences in the percentage of success between [tenotomy+lidocaine] and the [tenotomy+PRP] were − 1.94% (95% CI, − 30.46 to 26.59) at 6 months and − 6.03% (95% CI, − 35.98 to 23.90) at 12 months.

In the case of pain, the frequencies for the available data were 29 (82.85%) and 25 (71.43%) in the lidocaine group and 26 (72.22%) and 22 (61.11%) in the PRP group. Likewise, there were no differences between tenotomy adjuvants (lidocaine versus PRP) in the rate of patients who achieved clinically important pain relief and differences in the percentage of success at 6 months, − 10.56% (95% CI, − 33.01 to 11.89), and at 12 months, − 11.51% (95% CI, − 32.29 to 9.27). The differences between the two groups in the short term were not statistically significant either. The difference in the percentage of patients with better functionality at 6 weeks was 7.53% (95% CI, − 27.62 to 42.67) and at 3 months was 26.62% (95% CI, − 0.82 to 54.06). The difference in the percentage of patients with pain reduction exceeding 25% at 6 weeks was 21.70% (95% CI, −

Table 1 Baseline sociodemographic clinical and sonographic characteristics in both groups

Variable	Lidocaine ($N = 35$)		PRP ($N = 36$)	
Age, *n*, M ± SD	35	48.26 ± 7.64	36	50.80 ± 6.73
Gender, no. (%)				
Male	19	(54.3)	14	(38.9)
Female	16	(45.7)	22	(61.1)
Manual worker, no. (%)				
No	10	(29.4)	11	(28.2)
Yes	24	(70.6)	25	(71.8)
Throwing sports, no. (%)				
No	29	(87.9)	33	(94.3)
Yes	4	(12.1)	2	(5.7)
Other sports, no. (%)				
No	20	(60.6)	22	(62.9)
Yes	13	(39.4)	13	(37.1)
BMI, *n*, M ± SD	34	26.05 ± 3.15	36	25.58 ± 4.19
Hypercholesterolemia, no. (%)				
No	29	(82.9)	34	(94.4)
Yes	6	(17.1)	2	(5.6)
Hypercholesterolemia treatment				
No	31	(88.6)	35	(97.2)
Yes	4	(11.4)	1	(2.8)
Diabetes, no. (%)				
No	34	(97.1)	36	(100.0)
Yes	1	(2.9)	0	(0.0)
Diabetes treatment				
No	34	(97.1)	36	(100.0)
Yes	1	(2.6)	0	(0.0)
Hyperuricaemia, no. (%)				
No	35	(100.0)	36	(100.0)
Tendon involvement, no. (%)				
Lateral	31	(88.6)	29	(80.6)
Medial	4	(11.4)	7	(19.4)
Location, no. (%)				
Left	9	(25.7)	15	41.7
Right	26	(74.3)	21	58.3
Neovascularization, no. (%)				
No neovascularization	7	(20.0)	6	(16.7)
Neovessels on the tendon surface	2	(5.7)	3	(8.3)
Intratendinous neovessels	26	(74.3)	27	(75.0)
Echotexture grading scale, no. (%)				
Normal	3	(8.6)	1	(2.8)
Hypoechogenicity < 1/3 of the tendon	2	(5.7)	4	(11.1)
Hypoechogenicity > 1/3 and < 2/3	10	(28.6)	11	(30.6)
Hypoechogenicity > 2/3	15	(42.9)	17	(47.2)
Partial-thickness tear	5	(14.3)	3	(8.3)

Table 1 Baseline sociodemographic clinical and sonographic characteristics in both groups *(Continued)*

Variable	Lidocaine ($N = 35$)		PRP ($N = 36$)	
Age, *n*, M ± SD	35	48.26 ± 7.64	36	50.80 ± 6.73
Calcifications, no. (%)				
No	28	(80.0)	32	(91.4)
Yes	7	(20.0)	3	(8.6)
Tendon thickness, *n*, M ± SD	35	1.16 ± 0.21	36	1.17 ± 0.21
DASH-E, *n*, M ± SD	33	44.06 ± 14.05	36	44.74 ± 17.09
VAS-P, *n*, M ± SD	35	5.87 ± 1.52	35	5.91 ± 1.78

BMI body mass index, *DASH-E* Spanish version of the Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand questionnaires, *M* mean, *SD* standard deviation, *PRP* platelet-rich plasma, *VAS-P* visual analogue scale for pain\

8.63 to 52.02) and 20.81% (95% CI, − 6.84 to 48.47) at 3 months.

Essentially, the time course was different between treatments. In the PRP group, the increase in the rates of patients who achieved functional improvement and pain reduction was steadier than in the lidocaine group, which reached a plateau at 3 months. Furthermore, there was no statistical evidence of a modification in treatment effects by the controlled patient's factors. When data were adjusted for confounders, both groups showed enhanced function and pain reduction over the 12-month follow-up without significant differences between PRP and lidocaine (see Fig. 2 and Table 3).

There were no differences between lidocaine and PRP in DASH-E and VAS-P over time (Fig. 3a, b).

The estimated power calculated with our current data, for small, medium and big differences for DASH-E were 0.12, 0.26 and 0.93, respectively. Likewise, estimated powers for VAS-P were 0.18, 0.81 and 0.99, respectively.

Safety

Twenty-three adverse events in twelve patients (six patients from each treatment group) were reported as probably ($n = 22$) or likely ($n = 1$) related to treatment. Pain and swelling were the most commonly reported in the 6 weeks following tenotomy. In addition, throughout the 12-month follow-up, a total of 593 events were reported as unlikely or not related to the treatment. They included headache, migraines, back pain, shoulder pain, gastrointestinal discomfort and allergies, with cold and flu being the most common among others.

Discussion

Our hypothesis stated that PRP could be an effective adjuvant to elbow tenotomy (medial and lateral) in patients who were recalcitrant to conservative treatment. As tenotomy is an active treatment that per se influences outcomes in tendinopathy [10], our goal was not to test PRP on its own, but to determine the clinical efficacy of the combined procedure [tenotomy + PRP]. We found that two tenotomies (one strong, approximately 20–25 penetrations and bone abrasion, and the second weaker, approximately 10 penetrations) with PRP or lidocaine were effective to reduce pain and improve function over 6 months. Moreover, the improvement was maintained at 1 year after intervention, which is beyond the limits of recurrence. However,

Table 2 Association between DASH-E and VAS-P by treatment

VAS-P	DASH-E				
	Basal	6 weeks	3 months	6 months	12 months
Basal, *r* (*n*)	**0.28* (33)** ***0.52* (35)***	0.59* (25) *0.26 (28)*	0.42* (26) *0.28 (27)*	0.46* (25) *0.24 (25)*	0.16 (25) *0.25 (24)*
6 weeks, *r* (*n*)	0.26 (28) *0.34 (32)*	**0.70* (24)** ***0.83* (28)***	0.63* (24) *0.67* (25)*	0.48*(22) *0.47* (23)*	0.37 (24) *0.45* (22)*
3 months, *r* (*n*)	0.23 (27) *0.21 (29)*	0.53* (23) *0.60* (24)*	**0.74* (25)** ***0.79* (27)***	0.63* (23) *0.77* (23)*	0.51*(23) *0.76* (20)*
6 months, *r* (*n*)	0.34* (27) *0.20 (27)*	0.56* (22) *0.63* (22)*	0.67* (23) *0.84* (25)*	**0.94* (24)** ***0.88* (23)***	0.73* (23) *0.79* (21)*
12 months, *r* (*n*)	0.11 (24) *0.07 (23)*	0.32 (21) *0.42*(18)*	0.34 (22) *0.50*(21)*	0.64* (21) 0.63* (20)	**0.91* (24)** ***0.77* (20)***

Data without italics represent lidocaine; data with *italics* represent PRP

DASH-E Spanish version of the Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand questionnaires, *r* Spearman's rank correlation coefficient, *VAS-P* visual analogue scale for pain assessment

*$p < 0.05$

Boldface and bold italics represent statistically significative associations

Table 3 Outcome measurements and adjusted intergroup differences

Outcome	Unadjusted change			Odds ratio (95% CI)	
	Lidocaine	PRP	Treatment-time measurement interaction (*p* value)	Unadjusted	Adjusted[a]
% meeting DASH-E improvement, no./total no. (%)			.307		
6–7 weeks	11/24 (45.83)	10/28 (35.71)		1.37 (0.31 to 6.04)	1.33 (0.31 to 5.71)
3 months	20/24 (83.33)	17/29 (58.62)		4.73 (0.86 to 26.08)	5.67 (0.98 to 32.74)
6 months	18/25 (72.00)	19/26 (73.08)		0.90 (0.17 to 4.60)	1.15 (0.22 to 5.95)
12 months	17/24 (70.83)	19/25 (76.00)		0.71 (0.13 to 3.84)	0.91 (0.17 to 4.88)
% meeting VAS-P improvement, no./total no. (%)			.105		
6–7 weeks	19/30 (63.33)	13/31 (41.94)		2.42 (0.67 to 8.76)	2.67 (0.74 to 9.68)
3 months	22/29 (75.86)	16/28 (57.14)		2.78 (0.68 to 11.38)	2.92 (0.71 to 12.04)
6 months	21/29 (72.41)	22/26 (84.62)		0.48 (0.10 to 2.37)	0.50 (0.10 to 2.48)
12 months	19/25 (76.00)	20/22 (90.91)		0.35 80.06 to 2.51)	0.42 (0.06 to 3.03)
Median DASH-E scores (IQR)			.429		
6-7 weeks	30.17 (30.0)	40.59 (34.86)		NA	NA
3 months	16.49 (29.04)	31.73 (34.94)		NA	NA
6 months	12.93 (28.44)	14.25 (26.66)		NA	NA
12 months	7.50 (31.15)	9.17 (24.17)		NA	NA
Median VAS-P scores (IQR)			.441		
6–7 weeks	4.00 (3.00)	4.25 (4.75)		NA	NA
3 months	2.00 (2.50)	4.00 (5.00)		NA	NA
6 months	2.00 (4.40)	2.00 (3.50)		NA	NA
12 months	2.00 (3.50)	2.00 (4.00)		NA	NA

CI confidence interval, *DASH-E* Spanish version of the Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand questionnaires, *IQR* interquartile range, *NA* not applicable, *no* number, *VAS-P* visual analogue scale for pain assessment
[a]% meeting DASH-E and VAS-P improvement were adjusted for the degree of vascularization before treatment

we did not find any clinical differences between the effects of the adjuvants, PRP and lidocaine, in pain reduction or in functional recovery at 6 or 12 months.

According to a recent meta-analysis [14] (including 12 studies of painful lateral epicondylopathy), an effect size of 0.57 favoured PRP treatment. Thus, our trial was underpowered, as a sample size of 73 patients per group would be necessary to detect any significant difference in clinical outcomes. According to these data, most studies in the literature, except one study [23] examining PRP in elbow epicondylopathy, are underpowered. Moreover, the probability of superiority and the number needed to treat varied depending on the comparator [24].

In fact, PRPs have been compared with various injectables, including autologous blood [25–27], saline [28–30] or corticosteroids [22, 28, 29, 31], using different treatment protocols. In addition to the choice of the comparator, the use (or not) of tenotomy or an alternative milder peppering technique (approximately five perforations) can yield to different temporal differences in PRP efficacy. For example, Peerbooms et al. [22] and Liebiedzinsky et al. [31] used a peppering technique and demonstrated that L-PRP was superior to corticosteroids at 12 months but not at the 3- and 6-month follow-ups, corroborating data from other studies with only a 3-month follow-up [28]. On the other hand, other studies with small samples per group (20–25 patients) failed to find differences between saline and L-PRP at three months [28] or between saline and pure PRP at 6 months or 12 months [30]. The latter study involved patients with recent epicondylitis. Likewise, when autologous blood was used as a comparator, there were no relevant differences in primary outcomes over a 6-month period [25, 26]. According to the estimated potency using our clinical data, our results are not conclusive due to an inadequate sample number. However, all these studies are valuable as they contribute to stronger findings through meta-analyses and umbrella reviews.

Although we failed to show differences between PRP and lidocaine, our results do match the promising results observed in a previous multicentre study comparing L-PRP with anaesthetics in lateral elbow tendinopathy [23]. Weak evidence (retrospective case-controlled study with few patients) for better outcomes with pure PRP at 6 and 12

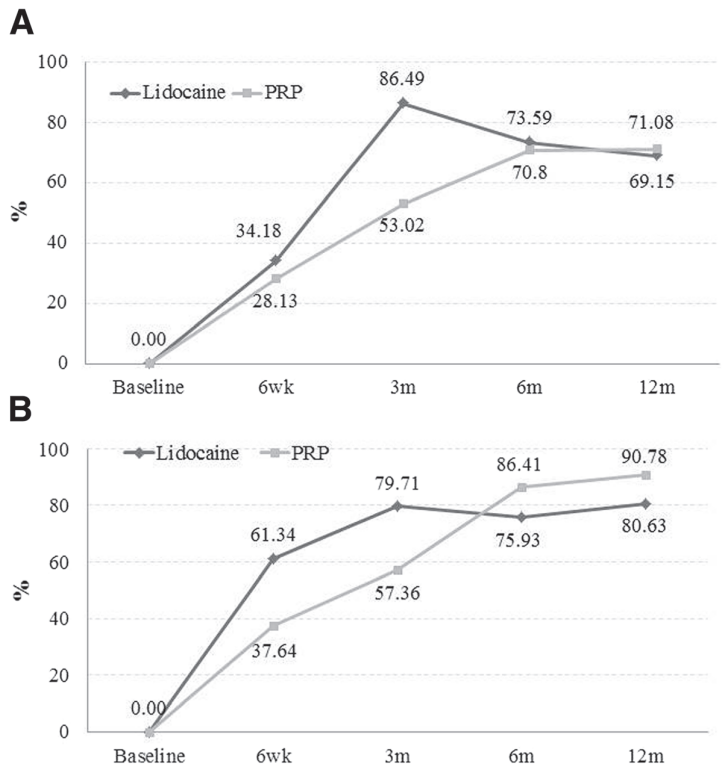


Fig. 2 Percentage of patients with an improvement exceeding 25% reduction in DASH-E (**a**) and in VAS-P (**b**) over 1-year follow-up, after adjusting data for baseline vascularization. DASH-E, Spanish version of the Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand questionnaires; VAS-P, visual analogue scale for pain; m, month

months compared to bupivacaine has been reported [32]. In contrast, Palacio et al. [29] did not find any difference at 3 or 6 months when comparing PRP with anaesthetics or corticosteroids in untreated patients after blind 3 mL injections. To the best of our knowledge, only the three above referenced studies [23, 29, 32] compared injections of PRP versus anaesthetics. However, the number of treatments, PRP formulation and injected volume and intensity of tenotomy differed among studies.

We chose lidocaine as a comparator because it is our routine practice to enhance patient and physician comfort during the procedure. Indeed, tenotomy is very painful. Whether lidocaine is an active or placebo control in this context is controversial. Actually, there is general concern regarding the intratendinous administration of anaesthetics, because it might compromise cell viability [33]. Similarly, administering anaesthetics peripherally, which is common clinical practice in order to reduce pain during intervention, could damage cells from the extrinsic compartment that participate in early extrinsic repair [34]. Furthermore, the volume of lidocaine delivered in the peritendon of the common extensor origin varied between studies and was as high as 10–15 mL lidocaine (10 mg/mL) [28]. Lidocaine may induce cytotoxicity (apoptosis and/or necrosis) through mitochondrial insults mediated by intracellular radical oxygen species (ROS), by specific mitogen-activated protein kinases (MAPKs) (i.e., ERK1/2, JNK and p38) and by caspase-3/7 in vitro [34]. However, differences in cytotoxic vulnerability between healthy and tendinopathic cells in the intrinsic and extrinsic compartments and whether PRP reinforces lidocaine cytotoxicity or not have not been explored yet. Despite all these negative in vitro data related to lidocaine, our patients in the lidocaine group showed a similar safety profile to that of patients receiving PRP.

In addition to the choice of active (blood, corticosteroids) or placebo comparators (saline), the efficacy of PRP in tendon interventions may be strongly linked to other factors that can have biological/clinical relevance, e.g., first, whether the intervention is echo-guided to control the spatial delivery of the product, i.e., peri-tendinous, intratendinous or both, and second, the intensity of the tenotomy procedure, which can vary from 5 to 50 penetrations. Finally, the composition of PRPs varies between studies in terms of product composition and application protocol. According to the Platelet Physiology Subcommittee of the Scientific and Standardization Committee of the International Society on Thrombosis and Haemostasis (ISTH),

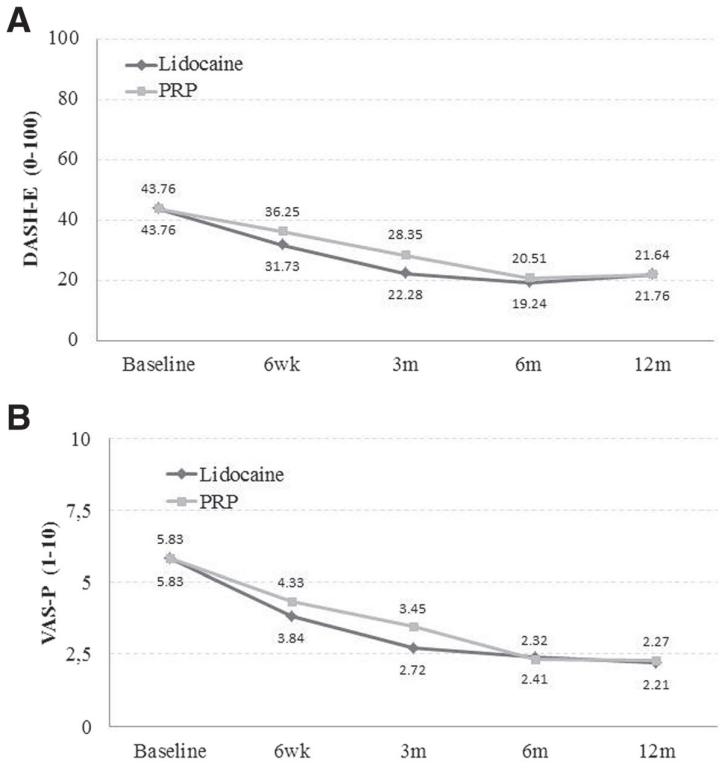


Fig. 3 Changes of DASH-E (**a**) and VAS-P (**b**) over time, after adjusting data for baseline DASH-E and VAS-P scores, vascular status and hypercholesterolemia. DASH-E, Spanish version of the Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand questionnaires; PRP, platelet-rich plasma; VAS-P, visual analogue scale for pain; m, month

the plasma product used in this trial was recalcified at 4.5 mL (× 2) PRP IIA1 [35]. The biological properties of this PRP product regarding inflammation and angiogenesis [11], cell migration, proliferation and anabolic effects have been fully examined in tenocyte cultures [12, 17], but they used frozen-thawed allogeneic PRP.

Compared to other clinical studies, we used a relatively high volume (4–5 mL versus 1–3 mL). This high volume implies diffusion of PRP away from the injection sites, reaching adjacent peritendinous tissues, including the subcutaneous fat and peritenon (epitenon) [36, 37]. Actually, activation of the extrinsic compartment (with a higher number of cells than the proper tendon) is also needed to drive healing through the complementary actions of intrinsic and extrinsic cells. However, how the extrinsic and intrinsic compartments interact in the failed healing response is unknown and whether PRP (or other regenerative products) should be delivered intra- or peritendinously or both and their interaction with local anaesthetics should be investigated. According to recent data [18], peritendinous delivery of PRP in enthesopathies was effective in pain reduction and produced better results than injections within the proper tendon in proper tendinopathies.

Our protocol also differed from those that published the number of interventions. In fact, consistent with the idea that tendinopathy is acquired through many years and the fact that a unique intervention is unlikely to change the tendon structure and fate of tendinopathy, we have performed two interventions (tenotomies). Other authors [25, 30, 38] repeated the injections 2–4 weeks apart. While there is no evidence on the benefits of the second injection in epicondylopathy [39], a second injection enhanced outcomes in a randomized prospective study in patellar tendinopathy [40]. Hopefully, in the future, interventions would be tailored to patient subgroups with different tendon needs.

Our study has several limitations. First, the diagnosis was merely clinical based on clinical signs and local pain. Second, whether PRP is superior to lidocaine in this context remains unsolved in this trial, in part because of the large amount of missing data not attributable to lost patients, but for other reasons. We did not perform telephone reminders regarding patient appointments and did not control if those patients were examined in the sonographic service attending their orthopaedist appointment. In fact, some of them missed their clinical appointment because of long waiting times. Moreover,

some DASH-E questionnaires were incompletely filled and could not be computed.

Third, the lack of a dry tenotomy group in our trial means that we cannot, with certainty, rule out the effect of "dry" tenotomy as the main driver of therapeutic benefits. Moreover, the effects of PRP or lidocaine without tenotomy remain to be elucidated. Lastly, DASH-E is the sole functional score validated in Spanish, but it has important limitations for assessing elbow function, as other upper limb pathologies result in artefacts in DASH-E scores.

Conclusions

The intention-to-treat analysis revealed that a double tenotomy, with lidocaine or PRP as adjuvants, is effective in producing a clinically significant reduction in DASH-E and VAS-P scores in a cohort of patients with recalcitrant elbow tendinopathy. In up to 70% of the cases, tenotomy can succeed when conservative therapies have already failed, and both adjuvants appear to be of comparable efficacy with this limited sample size. We thus recommend "humid" tenotomy with PRP/lidocaine as an important second line option in patients in whom conservative physical therapy has failed. As always, "the devil is in the details"; thus, we have focused here on describing and discussing the details of our protocol that could have clinical consequences.

Abbreviations

BMI: Body mass index; CI: Confidence interval; DASH-E: Spanish version of the Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand questionnaires; ECRB: Extensor carpi radialis brevis; HUC: Hospital Universitario Cruces; IQR: Interquartile range; ISTH: International Society on Thrombosis and Haemostasis; L-PRP: Leukocyte- rich, platelet-rich plasma; M: Mean; MAPKs: Mitogen-activated protein kinases; NA: Not applicable; NSAIDs: Non-steroidal anti-inflammatory drugs; PRP: Platelet-rich plasma; SD: Standard deviation; US: Ultrasound; VAS-P: Visual analogue scale for pain

Acknowledgements

The authors wish to thank Nuria Zuazo for monitoring data acquisition and Mercedes Moreno and Julio del Bosque for nursing assistance.

Funding

This work was supported by "Instituto de Salud Carlos III", ISCIII (grant number PI13/01707 to I.A.) co-financed by FEDER funds.

Availability of data and materials

The data from the current trial are available from the corresponding author on reasonable request

Authors' contributions

JIM, LA, JM, LA, GI and IA contributed to the conceptualization. GG, PB and IA contributed to the methodology. PB and GG contributed to the formal analysis. JIM, LA, JM, LMA, GI, IG and IA contributed to the investigation. JIM, LA, JM, LMA, GI, IG and IA contributed the resources. PB and IA contributed to the data curation. JIM, PB, and IA contributed to the writing and preparation of the original draft. JIM, LA, PB, GG and IA contributed to the writing, reviewing and editing of the manuscript. Supervision was done by IA and GG. IA contributed to the project administration., IA and JIM contributed to the funding acquisition. All authors read and approved the final manuscript.

Ethics approval and consent to participate

This study was approved by the Ethics Committee of Hospital Universitario Cruces (No. CEIC 13/04). All enrolled patients provided written informed consent. The study protocol was registered at ClinicalTrials.gov (identifier NCT01945528) EUDRACT No.2013-000478-32.
All procedures were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Consent for publication

All participants gave their written consent for publication

Competing interests

The authors declare no conflicts of interest.

Publisher's Note

Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

Author details

[1]Interventional Sonography, Department of Radiology, Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain. [2]Regenerative Medicine, BioCruces Health Research Institute, Cruces University Hospital, 48903 Barakaldo, Spain. [3]Department of Orthopaedic Surgery, Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain. [4]Primary Care Research Unit of Bizkaia (Basque Healthcare Service), BioCruces Health Research Institute, Bilbao, Spain.

Received: 16 November 2018 Accepted: 12 April 2019
Published online: 23 April 2019

References

1. Degen RM, Conti MS, Camp CL, Altchek DW, Dines JS, Werner BC. Epidemiology and disease burden of lateral epicondylitis in the USA: analysis of 85,318 patients. HSS J. 2018;14(1):9–14.
2. Shiri R, Viikari-Juntura E, Varonen H, Heliövaara M. Prevalence and determinants of lateral and medial epicondylitis: a population study. Am J Epidemiol. 2006;164(11):1065–74.
3. Pitzer ME, Seidenberg PH, Bader DA. Elbow tendinopathy. Med Clin North Am. 2014;98(4):833–49.
4. Descatha A, Albo F, Leclerc A, Carton M, Godeau D, Roquelaure Y, et al. Lateral epicondylitis and physical exposure at work? a review of prospective studies and meta-analysis. Arthritis Care Res (Hoboken). 2016;68(11):1681–7.
5. Spang C, Alfredson H. Richly innervated soft tissues covering the superficial aspect of the extensor origin in patients with chronic painful tennis elbow - Implication for treatment? J Musculoskelet Neuronal Interact. 2017;17(2):97–103.
6. Abate M, Salini V, Schiavone C, Andia I. Clinical benefits and drawbacks of local corticosteroids injections in tendinopathies. Expert Opin Drug Saf. 2017;16(3):341–9.
7. Gaspar MP, Motto MA, Lewis S, Jacoby SM, Culp RW, Lee Osterman A. Platelet-rich plasma injection with percutaneous needling for recalcitrant lateral epicondylitis: comparison of tenotomy and fenestration techniques. Orthop J Sports Med. 2017;5(12):2325967117742077.
8. Hammerman M, Aspenberg P, Eliasson P. Microtrauma stimulates rat Achilles tendon healing via an early gene expression pattern similar to mechanical loading. J Appl Physiol (1985). 2014;116(1):54–60.
9. Jacobson JA, Kim SM, Brigido MK. Ultrasound-guided percutaneous tenotomy. Semin Musculoskelet Radiol. 2016;20(5):414–21.
10. Mattie R, Wong J, McCormick Z, Yu S, Saltychev M, Laimi K. Percutaneous needle tenotomy for the treatment of lateral epicondylitis: a systematic review of the literature. PM R. 2017;9(6):603–11.
11. Andia I, Rubio-Azpeitia E, Maffulli N. Platelet-rich plasma modulates the secretion of inflammatory/angiogenic proteins by inflamed tenocytes. Clin Orthop Relat Res. 2015;473(5):1624–34.
12. Rubio-Azpeitia E, Sánchez P, Delgado D, Andia I. Three-dimensional platelet-rich plasma hydrogel model to study early tendon healing. Cells Tissues Organs. 2015;200(6):394–404.
13. Fitzpatrick J, Bulsara M, Zheng MH. The effectiveness of platelet-rich plasma in the treatment of tendinopathy: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. Am J Sports Med. 2017;45(1):226–33.
14. Miller LE, Parrish WR, Roides B, Bhattacharyya S. Efficacy of platelet-rich plasma injections for symptomatic tendinopathy: systematic review and

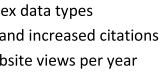
meta-analysis of randomised injection-controlled trials. BMJ Open Sport Exerc Med. 2017;3(1):e000237.
15. Chen X, Jones IA, Park C, Vangsness CT Jr. The efficacy of platelet-rich plasma on tendon and ligament healing: a systematic review and meta-analysis with bias assessment. Am J Sports Med. 2018;46(8):2020–32.
16. Saltychev M, Laimi K, Virolainen P, Fredericson M. Effectiveness of platelet rich plasma in the treatment of lateral epicondylitis-a systematic review and metaanalysis. PMR+. 2018;1(1):7–16.
17. Rubio-Azpeitia E, Bilbao AM, Sánchez P, Delgado D, Andia I. The properties of 3 different plasma formulations and their effects on tendinopathic cells. Am J Sports Med. 2016;44(8):1952–61.
18. Papalia R, Zampogna B, Vadala G, et al. Are platelet rich plasma injections more effective in tendinopathy or enthesopathy? J Pain Relief. 2017;6(3):1–5.
19. Martin JI, Merino J, Atilano L, Areizaga LM, Gomez-Fernandez MC, Burgos-Alonso N, et al. Platelet-rich plasma (PRP) in chronic epicondylitis: study protocol for a randomized controlled trial. Trials. 2013;14:410.
20. Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, Zhang CQ, Pinto NR, Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. Muscles Ligaments Tendons J. 2014;4(1):3–9 eCollection 2014 Jan. Review.
21. Franchignoni F, Vercelli S, Giordano A, Sartorio F, Bravini E, Ferriero G. Minimal clinically important difference of the disabilities of the arm, shoulder and hand outcome measure (DASH) and its shortened version (QuickDASH). J Orthop Sports Phys Ther. 2014;44(1):30–9.
22. 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. 2010;38(2):255–62.
23. Mishra AK, Skrepnik NV, Edwards SG, Jones GL, Sampson S, Vermillion DA, et al. Platelet-rich plasma significantly improves clinical outcomes in patients with chronic tennis elbow: a double-blind, prospective, multicenter, controlled trial of 230 patients. Am J Sports Med. 2014;42(2):463–71.
24. Tsikopoulos K, Tsikopoulos I, Simeonidis E, Papathanasiou E, Haidich AB, Anastasopoulos N, et al. The clinical impact of platelet-rich plasma on tendinopathy compared to placebo or dry needling injections: a meta-analysis. Phys Ther Sport. 2016;17:87–94.
25. Creaney L, Walla A, Curtis M, Connell D. Growth factor-based therapies provide additional benefit beyond physical therapy in resistant elbow tendinopathy: a prospective, double-blind, randomised trial of autologous blood injections versus platelet-rich plasma injections. Br J Sports Med. 2011;45(12):966–71.
26. Thanasas C, Papadimitriou G, Charalambidis C, Paraskevopoulos I, Papanikolaou A. Platelet-rich plasma versus autologous whole blood for the treatment of chronic lateral elbow epicondylitis: a randomized controlled clinical trial. Am J Sports Med. 2011;39(10):2130–4.
27. Raeissadat SA, Rayegani SM, Hassanabadi H, Rahimi R, Sedighipour L, Rostami K. Is platelet-rich plasma superior to whole blood in the management of chronic tennis elbow: one year randomized clinical trial. BMC Sports Sci Med Rehabil. 2014;6(1):12.
28. Krogh TP, Fredberg U, Stengaard-Pedersen K, Christensen R, Jensen P, Ellingsen T. Treatment of lateral epicondylitis with platelet-rich plasma, glucocorticoid, or saline: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Am J Sports Med. 2013;41(3):625–35.
29. Palacio EP, Schiavetti RR, Kanematsu M, Ikeda TM, Mizobuchi RR, Galbiatti JA. Effects of platelet-rich plasma on lateral epicondylitis of the elbow: prospective randomized controlled trial. Rev Bras Ortop. 2016;51(1):90–5.
30. Montalvan B, Le Goux P, Klouche S, Borgel D. Hardy P5, Breban M. Inefficacy of ultrasound-guided local injections of autologous conditioned plasma for recent epicondylitis: results of a double-blind placebo-controlled randomized clinical trial with one-year follow-up. Rheumatology (Oxford). 2016;55(2):279–85.
31. Lebiedziński R, Synder M, Buchcic Polguj M, Grzegorzewski A, Sibiński M. A randomized study of autologous conditioned plasma and steroid injections in the treatment of lateral epicondylitis. Int Orthop. 2015;39(11):2199–203.
32. Behera P, Dhillon M, Aggarwal S, Marwaha N, Prakash M. Leukocyte-poor platelet-rich plasma versus bupivacaine for recalcitrant lateral epicondylar tendinopathy. J Orthop Surg (Hong Kong). 2015;23(1):6–10.
33. Wang WZ, Fang XH, Williams SJ, Stephenson LL, Baynosa RC, Khiabani KT, et al. Lidocaine-induced ASC apoptosis (tumescent vs. local anesthesia). Aesthetic Plast Surg. 2014;38(5):1017–23.
34. Sung CM, Hah YS, Kim JS, Nam JB, Kim RJ, Lee SJ, et al. Cytotoxic effects of ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine on rotator cuff tenofibroblasts. Am J Sports Med. 2014;42(12):2888–96.
35. Harrison P. Subcommittee on Platelet Physiology. The use of platelets in regenerative medicine and proposal for a new classification system: guidance from the SSC of the ISTH. J Thromb Haemost. 2018. https://doi.org/10.1111/jth.14223.
36. Loftus ML, Endo Y, Adler RS. Retrospective analysis of postinjection ultrasound imaging after platelet-rich plasma or autologous blood: observational review of anatomic distribution of injected material. AJR Am J Roentgenol. 2012;199(4):W501–5.
37. Park GY, Kwon DR, Cho HK, Park J, Park JH. Distribution of platelet-rich plasma after ultrasound-guided injection for chronic elbow tendinopathies. J Sports Sci Med. 2017;16(1):1–5.
38. Stenhouse G, Sookur P, Watson M. Do blood growth factors offer additional benefit in refractory lateral epicondylitis? A prospective, randomized pilot trial of dry needling as a stand-alone procedure versus dry needling and autologous conditioned plasma. Skeletal Radiol. 2013;42(11):1515–20.
39. Glazmann MC, Audigé L. Platelet-rich plasma for chronic lateral epicondylitis: Is one injection sufficient? Arch Orthop Trauma Surg. 2015;135(12):1637–45.
40. Zayni R, Thaunat M, Fayard JM, Hager JP, Carrillon Y, Clechet J, et al. Platelet-rich plasma as a treatment for chronic patellar tendinopathy: comparison of a single versus two consecutive injections. Muscles Ligaments Tendons J. 2015;5(2):92–8.

Ready to submit your research? Choose BMC and benefit from:

- fast, convenient online submission
- thorough peer review by experienced researchers in your field
- rapid publication on acceptance
- support for research data, including large and complex data types
- gold Open Access which fosters wider collaboration and increased citations
- maximum visibility for your research: over 100M website views per year

At BMC, research is always in progress.

Learn more biomedcentral.com/submissions



PM R xx (2019) 1-10

www.pmrjournal.org

Original Research

Predictors of Outcome Following Tenotomy in Patients with Recalcitrant Epicondylopathy

Jose I. Martin, MD, Leire Atilano, MD, Josu Merino, MD, Igor Gonzalez, MD, Gotzon Iglesias, MD, Luis Areizaga, MD, Paola Bully, PhD, Gontzal Grandes, MD, Isabel Andia, PhD

Abstract

Background: Elbow tendinopathies are associated with tenderness, pain, and functional disability with ensuing socioeconomic costs. There is lack of consensus regarding the best treatment for patients recalcitrant to first-line conservative treatments. Percutaneous needle tenotomy is considered a regenerative approach that injures the tendon to elicit a healing response.
Objective: To investigate whether demographic characteristics, clinical factors, baseline sonographic entities, or their interactions are related to the likelihood of responding positively to needle tenotomy over a 1-year follow-up period.
Design: Prospective case series.
Setting: Tertiary institutional hospital.
Participants: Patients with elbow tendinopathy for whom conservative treatments had failed and who had persistent symptoms lasting for at least 3 months.
Methods: Patients underwent needle tenotomy with or without PRP followed by a lighter needle tenotomy within a 2-week interval as part of treatment.
Main Outcome Measurements: Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand (DASH) and Visual Analogue Scale for pain (VAS-P) scores were assessed before intervention (baseline) and at 6 weeks and 3, 6, and 12 months after intervention. A generalized linear mixed effects model was created to examine whether injectate type, clinical, demographic, or pretreatment sonographic entities or their interactions influenced clinical outcomes.
Results: The authors analyzed 74 elbows (71 patients). At baseline, analyzed patients (mean age: 49.48 years; 51.35% women) scored 43.30 and 5.83 on the DASH and VAS-P, respectively. Pretreatment tendon vascularization was a predictor of pain (P = .011) and DASH score changes (P = .019). The linear mixed effect model revealed that male gender and hypercholesterolemia were associated with enhanced functional recovery, (P = .020 and P < .001, respectively). Moreover, the interactions between pretreatment vascular status (P = .039), echotexture (P = .037) and enthesophytes (P = .028) influenced the temporal pattern of functional recovery after needle tenotomy.
Conclusions: Baseline patient characteristics, such as gender and hypercholesterolemia, along with ultrasound features may be predictive of outcomes following needle tenotomy for elbow tendinopathy.
Level of Evidence: IV (NCT01945528).

Introduction

Elbow tendinopathies are typically middle-life conditions that involve degenerative changes in the common extensor (lateral) and common flexor (medial) tendons caused by various factors, including but not limited to overuse, repetitive movements, and/or overloading the tendon limits. Elbow tendinopathies are associated with tenderness, pain, and functional disability with ensuing socioeconomic costs. Lateral epicondylopathy (LE) is the most prevalent tendinopathy in workers,[1] and the resultant work absenteeism was estimated to cost £27 million in 2012 in the United Kingdom alone.[2] Medial epicondylitis ("golfer elbow") is less common (prevalence 0.3%-

© 2019 American Academy of Physical Medicine and Rehabilitation
https://dx.doi.org/10.1002/pmrj.12064

0.6% vs 0.7%-1.3% for LE),[3] but both conditions are relatively frequent in athletes, mainly overhead throwers, amateur and elite golfers[4], and tennis players.[5]

Epicondylopathies are self-limiting diseases,[6] but certain patients do not improve with time or with first-line conservative treatments, that is, activity modification, bracing, physical therapy, or steroid injections. For these recalcitrant patients, there is lack of consensus surrounding the best treatment. In this context, regenerative strategies aiming to trigger healing mechanisms are an investigative option before surgical tendon release.

Needle tenotomy is considered a regenerative approach that injures the tendon to elicit a healing response.[7] On the other hand, autologous biological regenerative therapies, for example, platelet-rich plasma (PRP),[8] whole blood, bone marrow concentrate (BMC), or stromal vascular fraction of adipose tissue (SVF), have yielded promising results when delivered peri- or intratendinously. Moreover, when combined, biological therapies and needle tenotomy may exhibit synergistic effects.[9]

A recent systematic review[10] aiming to examine the efficacy of percutaneous tenotomy in elbow tendinopathies identified only six studies (four were retrospective and two prospective). Corticosteroid injections were used with tenotomy in three of the six studies. Only one study included both medial and lateral epicondilopathy. Although the quality of evidence is low, current data support the use of needle tenotomy as an alternative to surgical tendon release. Consistent with the case of chronic wounds where a single intervention may be insufficient to regenerate a chronic injury,[11] we repeated the procedure.

Potential modifiers of the ultimate effects of tenotomy have been poorly explored and their relationship with clinical outcomes has not been established. This study examined the clinical efficacy of needle tenotomy in 74 elbows. We hypothesized that needle tenotomy causes additional trauma to tendons and might form part of a therapeutic protocol only in specific patient subsets. Thus, demographic characteristics, clinical factors, and baseline sonographic entities potentially related to the likelihood of responding positively to needle tenotomy over a 1-year follow-up period were examined. In addition, we hypothesized that the interactions of all these variables could predict the variability in clinical outcomes.

Patients and Methods

This prospective cohort substudy was part of a clinical trial that is currently being performed at Cruces University Hospital. Our hospital medical ethics committee approved the study protocol, and all patients provided written informed consent. The protocol is registered with Clinicaltrials.gov (number NCT01945528), and full details of the study protocol have been previously published.[12] Briefly, patients were included if they showed no improvement or unsatisfactory improvement after conservative management, which consisted on 4 to 6 weeks of analgesic and anti-inflammatory medication (NSAIDs), physical therapy associated with orthosis, and at least one corticosteroid infiltration in the painful area, and if symptoms persisted for more than 3 months.

Clinical diagnosis of lateral epicondylopathy was based on pain and maximum tenderness upon palpation at the common extensor origin at the lateral humeral epicondyle, pain upon forearm supination resistance, painful active wrist extension, and painful passive wrist flexion. Diagnosis of medial tendinopathy was based on pain distal to the common flexor insertion, increased pain with wrist flexion resistance and pain with combined elbow extension resistance and forearm pronation. Patients with suspected ulnar neuropathy were not included.

Pretreatment Assessment of Potential Sonographic Predictors

A senior radiologist with more than 20 years of experience in musculoskeletal interventional ultrasonography performed all tenotomies and pretreatment sonographic assessments. For lateral epicondylopathy, we performed all procedures with the patient in a supine position, the elbow flexed at 110° to 120° and forearm in pronation (lateral) or supination (medial)under guidance with a 4- to 13-MHz high-frequency linear probe (Esaote MyLab 70 XVG, Esaote S.p.A., Genoa, Italy).

Tendons were examined in both the coronal and axial axis planes. Echotexture was graded as normal, mild (<1/3 affected), moderate (1/3<affected<2/3), or severe (>2/3 affected) or partial rupture. The grading system was adapted from Finoff et al.[13]

We assessed vascularization using power Doppler with a pulse repetition frequency (PRF) in the range of 370 to 750 Hz. Neovascularization was categorized roughly into three categories: no neovascularization, neovessels in the tendon surface, or intratendinous neovessels. In addition, tendon thickness, the presence of cortical irregularities, intratendinous calcifications, and enthesophytes were assessed. Maximal tendon thickness was measured at the base of the lateral epicondyle with the transducer in the long axis of tendon in treated and untreated contralateral tendons. The ratio between both measurements is used in the analyses. Representative images were recorded and stored using the picture archiving and communication system (PACS).

Needle Tenotomy Procedure

Injectables used as tenotomy adjuvants were lidocaine (N = 38) or PRP (N = 36). The concentration of lidocaine was 10 mg/mL (1%). PRP contained a moderated enrichment of platelets (2.30 $\pm$ 0.68 times above peripheral blood baseline), no detectable leukocytes and was

activated with 10% $CaCl_2$ prior to use (final concentration of $CaCl_2$ was 22.5 μM). Blood was withdrawn from all patients. The adjuvant type was blinded for patients, clinical outcome assessors and statisticians.

A sterile protocol was followed as suggested for all musculoskeletal interventions. The subcutaneous tissues overlying the lateral epicondyle were infiltrated tangential to the plane of the lateral epicondyle with 2 mL lidocaine via a 22-gauge hypodermic needle. Then, the bulb containing the injectable was connected to the needle, which was inserted parallel to the tendon long axis from distal to proximal. The tendon was repeatedly fenestrated (15-25 times) by redirecting the needle in different directions until tissue softening is achieved, with special emphasis in the vascularized areas. In addition to piercing the tendon, the tip of the needle was used to abrade the periosteum. Simultaneously, the injectable was delivered to hypoechogenic and surrounding areas. A second intervention involving approximately 10 tendon perforations and no abrasions of the periosteum was performed after 2 weeks. We injected 4.23 ± 1.09 mL (range 1-5) of lidocaine and 4.47 ± 1.11 (range 1-5) of PRP in the first intervention and 4.18 ± 1.14 mL (range 1-5) of lidocaine and 4.53 ± 0.88 mL (range 2-5) of PRP in the second intervention. There were no differences between the injected volumes. After each intervention, patients were instructed to rest for the first 48 hours and avoid weight lifting. Patients did not follow any postprocedural exercise program but modified their activities and resumed physical work upon demand.

For safety assessments, patients recorded any adverse reaction and medication consumed in a diary that was collected at each hospital visit. Acetaminophen was the only drug allowed for pain.

Clinical Outcomes

We used Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand (DASH) self-reported questionnaires as a regional assessment tool for measuring whole limb functional disability and pain in elbow tendinopathy. Clinical outcomes included serial DASH results and patient-reported pain, as assessed by VAS-P (0-10 Likert scale), at 6 weeks and 3, 6, and 12 months.

Statistical Analysis

Analysis of the results was made on an intent-to-treat (ITT) basis. Quantitative data with normal distribution were described as the mean ± SD and 95% confidence intervals for the means; the normality of the distribution was evaluated using Kolmogorov-Smirnov's test. Absolute and relative frequencies were used to describe qualitative variables. Cramer's and Pearson's tests were used to assess the association between nominal and continuous variables. We performed a linear mixed effects analysis of the relationship between pretreatment sonographic entities and changes in pain and function over the 1-year follow-up period using the repeated measurements for each patient. There were no clinical differences between the two injectables used concurrently with needle tenotomy, P value in the multivariate model for injectable and injectable*time for DASH were $P = .47$ and $P = .70$, respectively, and $P = .27$ and $P = .49$ for VAS-P. The groups had similar sociodemographic, clinical, and sonographic characteristics at baseline, thus for the purpose of this substudy all patients were collapsed into one group. We entered the type of injectable, sonographic entities and the time of follow-up (with interaction term) as fixed effects. Patients were included as random effects in the intercept of the different repeated measurements. This process was performed assuming that each measurement was a category and without autocorrelation within an individual. These options were chosen because they provided a better fit to our data. Pain and functionality determinants included baseline sociodemographics and clinical factors.

Similarly, to simplify the fixed effects structure, likelihood ratio tests were used following backward, forward, and stepwise strategies (significance criterion $P < .05$). β coefficients and 95% confidence intervals (CIs) were displayed for important associations to estimate the strength of the association. No imputation method was used to handle the missing data. All analyses were performed using the SAS statistical package.

Results

Participants

A total of 71 patients and 74 elbows were included in this analysis. The sociodemographic and clinical characteristics at baseline are shown in Table 1. Three men were bilaterally treated: Two men had lateral epicondylopathy in both arms, and one man had medial epicondylopathy in both arms. The contralateral tendons in all these patients were treated after completing the 1-year follow-up of the other tendon.

The mean age was 49.48 (7.16) years, and 53.52% of the patients were women. Sixty patients (84.5%) had lateral elbow (62 tennis elbows) tendinopathy, and 11 patients (15.5%) had medial elbow (12 golfer's elbow) tendinopathy.

The most frequent work was housework (15.22%) and industrial cleaning (9.12%).In addition, 70.83% of individuals were catalogued as "manual workers". Regarding metabolic factors, the mean body mass index (BMI) was 25.89 (3.69). In addition, 10.81% of patients were diagnosed with hypercholesterolemia, 1.35% with hypothyroidism and 1.35% with diabetes. The most frequent previous diagnoses were hypertension (12.16%) and allergies (4.05%). Four patients with hypertension (5.63%) were taking atorvastatin. Given the potential influence of overall demographic and clinical data (ie, concomitant

Table 1
Baseline sociodemographic and clinical characteristics included in the analyses

Variable		
Age, n M ± SD	71	49.48 ± 7.16
Gender, no. (%)		
Male	33	(46.5%)
Female	38	(53.5%)
Manual worker, no. (%)		
No	20	(28.2%)
Yes	51	(71.8%)
Throwing sports, no. (%)		
No	63	(91.4%)
Yes	6	(8.6%)
Other sports, no. (%)		
No	41	(60%)
Yes	28	(40%)
BMI, n M ± SD	71	25.89 ± 3.69
Hypercholesterolemia, no. (%)		
No	63	88.7%
Yes	8	11.3%
Hypercholesterolemia treatment,		
No	66	93%
Yes	5	7%
Hypothyroid disease, no. (%)		
No	70	98.6%
Yes	1	1 0.4%
Hypothyroidism treatment		
No	70	98.6%
Yes	1	1.4%
Diabetes, no. (%)		
No	70	98.6%
Yes	1	1.4%
Diabetes treatment,		
No	70	98.6%
Yes	1	1.4%
Hyperuricemia, no. (%)		
No	71	100%
Yes	0	

pathologies and medication intake), these variables were considered as possible confounders in multivariate analyses.

The sonographic characteristics at baseline are shown in Table 2. Significant associations were noted between the echotexture and the vascularization ($x^2(8) = 16.71$; $P = .03$; Cramer's V = .34) as well as the echotexture and the presence of enthesophytes ($x^2(4) = 13.57$; $P = .008$; Cramer's V = .43).

No significant associations were noted between vascularity and baseline pain (F = 1.56, $P = .22$) or baseline DASH (F = .21, $P = .81$).

Before treatment, a significant difference in neovascularization was noted between extensor carpis radialis brevis (ECRB) and flexor-pronator tendons; the latter exhibited reduced vascularization ($P < .001$).

Function and Pain Over Time

Average DASH and VAS-P scores decreased over time (see Table 3). Regarding DASH, a statistically significant progressive improvement was noted up to 6 months without further improvement between 6 and 12 months (T [218] = −0.48, $P = .63$). Similar results were observed for VAS-P. A progressive reduction of pain intensity was noted up to 6 months without further modifications between 6 and 12 months (T [226] = 0.74, $P = .46$).

Table 2
Baseline sonographic characteristics included in the analyses

Tendon involvement, no. (%)		
Lateral	62	83.8%
Medial	12	16.2%
Location, no. (%)		
Left	25	33.8%
Right	49	66.2%
Neovascularization, no. (%)		
No neovascularization	13	17.6%
Neovessels on the tendon surface	6	8.1%
Intratendinous neovessels	55	74.3%
Echotexture grading scale, no. (%)		
Normal	4	5.4%
Hypoechogenicity <1/3 of the tendon	7	9.5%
Hypoechogenicity >1/3 and < 2/3	22	29.7%
Hypoechogenicity >2/3	33	44.6%
Partial-thickness tear	8	10.8%
Intratendinous calcifications, no. (%)		
No	63	86.3%
Yes	10	13.7%
Enthesophytes, no. (%)		
No	28	37.8%
Yes	46	62.2%
Cortical irregularities, no. (%)		
No	36	49.3%
Yes	37	50.7%
Tendon thickness ratio, n M ± SD	74	1.16 ± 0.21

The association between DASH and VAS-P was statistically significant at baseline (r[71] = 0.45; $P < .001$), 6-7 weeks (r[56] = .77; $P < .001$), 3 months (r[54] = .77; $P < .001$), 6 months (r[49] = .89; $P < .001$) and 12 months (r[33] = 0.92; $P < .001$).

Factors Associated with Variability of Clinical Outcomes

There were significant differences in DASH and VAS-P depending on the vascular status of the tendon before treatment. Table 4 shows the estimated scores of function (DASH) and pain (VAS-P) during the 1-year follow-up based on vascularization.

Table 3
DASH and VAS-P from baseline to 12 month follow-up

	Baseline	6-7 wk	3 mo	6 mo	12 mo
DASH (0-100)					
n	71	55	56	51	43
M	43.23	33.72	24.27	20.05	18.62
SD	15.69	19.75	20.74	19.19	22.45
VAS-P (0-10)					
n	74	63	58	56	37
M	5.84	4.19	3.21	2.47	2.28
SD	1.66	2.35	2.31	2.29	2.50

Table 4
Score estimations for function and pain over 12 months

	6-7 wk Mean (95% CI)	3 mo Mean (95% CI)	6 mo Mean (95% CI)	12 mo Mean (95% CI)	*P* value
DASH SCORE (0-100)†					
Neovascularization					**.02**
No neovascularization	39.93 (30.23 to 49.63)	37.25 (27.58 to 46.92)	29.03 (19.65 to 38.40)	28.64 (17.55 to 39.73)	
Neovessels on the tendon surface	39.81 (24.67 to 54.95)	13.09 (−2.12 to 28.32)	14.07 (−1.16 to 29.30)	4.97 (−11.92 to 21.87)	
More than 2 intratendinous neovessels	31.16 (26.44 to 35.89)	22.15 (17.44 to 26.85)	17.03 (12.09 to 21.97)	19.65 (14.50 to 24.81)	
Difference No neovascularization - Neovessels on the tendon surface	*0.12 (−17.80 to 18.50)*	***24.16 (6.20 to 42.11)****	*14.95 (−2.92 o 32.83)*	***23.67 (3.39 to 43.94)****	
Difference No neovascularization - more than 2 intratendinous neovessels	*8.77 (−2.06 to 19.60)*	***15.10 (4.32 to 25.88)****	***11.99 (1.33 to 22.65)****	***8.98 (−3.25 to 21.22)****	
Difference Neovessels on the tendon surface - more than 2 intratendinous neovessels	*8.65 (−7.23 to 24.53)*	*−9.05 (−25.04 to 6.93)*	*−2.96 (−19.06 to 13.14)*	*−14.68 (−32.40 to 3.03)*	
VAS SCORE (1-10)‡					
Neovascularization					**.01**
No neovascularization	5.22 (4.11 to 6.33)	4.21 (3.07 to 5.39)	4.18 (2.97 to 5.39)	3.25 (1.70 to 4.80)	
Neovessels on the tendon surface	3.52 (1.47 to 5.56)	1.65 (-.99 to 4.31)	0.63 (−2.02 to 3.27)	0.13 (−2.47 to 2.74)	
More than 2 intratendinous neovessels	3.99 (3.42 to 4.56)	2.96 (2.37 to 3.55)	2.19 (1.60 to 2.77)	2.09 (1.43 to 2.76)	
Difference No neovascularization - Neovessels on the tendon surface	*1.70 (−0.63 to 4.03)*	*2.56 (−0.32 to 5.44)*	***3.56 (0.63 to 6.48)****	***3.11 (0.07 to 6.15)****	
Difference No neovascularization - more than 2 intratendinous neovessels	*1.23 (−0.02 to 2.47)*	*1.25 (−0.03 to 2.53)*	***1.99 (0.65 to 3.33)****	*1.15 (−0.53 to 2.84)*	
Difference Neovessels on the tendon surface - more than 2 intratendinous neovessels	*−0.47 (−2.60 to 1.65)*	*−1.30 (−4.04 to 1.42)*	*−1.56 (−4.28 to 1.16)*	*−1.96 (−4.66 to 0.74)*	

*$P < .05$.
†Scores adjusted for the baseline DASH score, treatment, and cholesterol.
‡Scores adjusted for the baseline VAS score, treatment, and cholesterol.
p = global test for between-groups comparison of the 12-mo evolution of clinical outcomes.

There were no differences of function (DASH) or pain (VAS-P) outcomes in patients with different degrees of hypoechogenicity ($P = .63$ and $P = .61$, respectively), presence or not of enthesophytes ($P = .77$ and $P = .69$), cortical irregularities ($P = .46$ and $P = .11$), or intratendinous calcifications ($P = .66$ and $P = .69$) (Appendix S1). There were no statistical differences in function and pain outcomes between patients with lateral or medial epicondylopathy, $P = .05$ for DASH and $P = .23$.

Figure 1 shows representative ultrasonographic findings of the common extensor and common flexor tendons.

Interactions Between Potential Predictors of Clinical Outcomes

Table 5 shows the baseline demographic, clinical, and sonographic characteristics that were identified as prognostic factors of the longitudinal change in DASH considering the interactions between all characteristics. Male gender was associated with enhanced functional recovery ($P = .02$). Remarkably, a progressive functional improvement was noted in patients with hypercholesterolemia that was significant at all time points ($P < .001$). These associations were not modified by time and remained constant in each of the follow-up end points. Statin intake, in either patients with hypercholesterolemia or hypertension, showed no statistical association with clinical outcomes, $P = .37$ for DASH and $P = .08$ for VAS-P.

Tendon vascularization was a predictor of functional outcomes. Tendons grouped according to their pretreatment vascular status showed different temporal patterns of outcome ($P = .04$). Higher vascularization was associated with progressive amelioration of function, reaching a "plateau" at 6 months ($\Delta M_{6wk\text{-}3m} = 9.27$, 95% CI = 4.47 to 14.06, $P < .001$; $\Delta M_{3m\text{-}6m} = 5.70$, 95% CI = 0.99 to 10.41, $P = .02$; $\Delta M_{6\text{-}7wk\text{-}12m} = 12.53$, 95% CI = 7.23 to 17.84, $P < .001$; $\Delta M_{6m\text{-}12m} = -2.44$, 95% CI = −7.64 to 2.77, $P = .36$).

In contrast, avascular tendon function did not improve in the first 3 months ($\Delta M_{6\text{-}7wk\text{-}3m} = -0.07$, 95% CI = −10.98 to 10.84, $P = .99$) but was progressively ameliorated between 3 and 12 months ($\Delta M_{3m\text{-}6m} = 14.27$, 95% CI = 3.05 to 25.49, $P = .01$; $\Delta M_{3m\text{-}12m} = 23.00$, 95% CI = 9.31 to 36.69, $P < .001$). However, the improvement between 6 and 12 months was less pronounced ($\Delta M_{6m\text{-}12m} = 8.73$, 95% CI = −4.63 to 22.08, $P = .20$). Finally, the improvement at 12 months was greater than the minimal clinically significant important difference (MCID) ($\Delta M_{6\text{-}7wk\text{-}12m} = 22.93$, 95% CI = 9.02 to 36.84, $P = .001$).

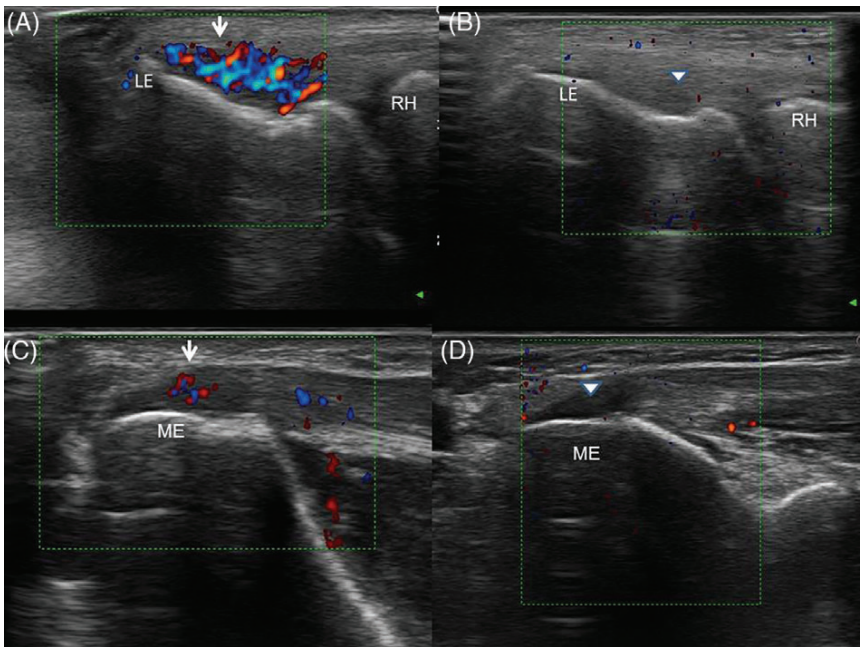


Figure 1. Ultrasonographic findings of the common extensor and common flexor tendons. (A) Longitudinal power Doppler image of the common extensor tendon showing a hypervascular region within the tendon, which was scored as "more than two intratendinous vessels". In addition, hypoechogenicity was scored as "between one- and two-thirds of the tendon" (PRF: 750 Hz, frequency, F: 6.3 MHz). (B) Longitudinal power Doppler image of the common extensor tendon showing "no neovascularization", and hypoechogenicity was scored as "between one- and two-thirds of the tendon", (PRF: 370 Hz, F: 6.3 MHz). (C) Longitudinal power Doppler image of the common flexor tendon showing neovessels within the tendon, which was scored as "more than two intratendinous vessels". In addition, hypoechogenicity was scored as "in more than two-thirds of the tendon" (PRF: 750 Hz, F: 6.3 MHz). (D) Longitudinal power Doppler image of the common flexor tendon showing "no neovascularization", and hypoechogenicity was scored as "in more than two-thirds of the tendon" (PRF: 750 Hz, F: 6.3 MHz). Left is proximal.LE: lateral epicondyle of the humerus; RH: radius head; ME: medial epicondyle of the humerus; PRF: pulse repetition frequency; F: frequency.

In summary, patients with vascularized tendons showed earlier improvement in function (up to 6 months), whereas patients with avascular tendons did not exhibit amelioration in the short term (3 months) but showed sustained improvement (from 3 to 12 months).

Baseline echotexture influenced the temporal pattern of functional recovery as shown in Table 6. Patients with a low degree of hypoechogenicity (<1/3) exhibited early clinical improvement up to 3 months, but no further amelioration was noted thereafter.

Patients with moderate hypoechogenicity (between 1/3 and 2/3) did not improve at 3 months, but showed improvement at later time points. Patients with severe hypoechogenicity (more than 2/3) improved gradually in the first 6 months, but no changes were noted thereafter. Patients with partial tears exhibited a very gradual improvement, without differences between earlier time points.

Elbow joints with or without enthesophytes showed different temporal patterns of functional recovery ($P = .03$). Patients without enthesophytes showed sustained improvement up to 6 months ($\Delta M_{6\text{-}7wk\text{-}6m} = 21.76$, 95% CI = 13.80 to 29.71, $P < .001$; $\Delta M_{3m\text{-}6m} = 13.57$, 95% CI = 5.67 to 21.46, $P < .001$). Improvement was maintained after 1 year ($\Delta M_{6\text{-}7wk\text{-}12m} = 24.65$, 95% CI = 15.02 to 34.28, $P < .001$), but no differences were noted between 6 months and 1 year ($\Delta M_{6m\text{-}12m} = -2.89$, 95% CI = −6.77 to 12.55, $P = .55$).

On the other hand, patients with enthesophytes exhibit earlier improvement (up to 3 months) ($\Delta M_{6\text{-}7wk\text{-}3m} = 9.65$, 95% CI = 4.35 to 14.91, $P = .001$) without any change from 3 months to 12 months ($\Delta M_{3m\text{-}6m} = 1.76$, 95% CI = −3.53 to 7.05, $P = .51$; $\Delta M_{3m\text{-}12m} = 1.07$, 95% CI = −4.91 to 7.06, $P = .72$).

Regarding patient-reported pain (VAS-P), hypercholesterolemia and neovascularization were statistically significant predictors of changes in pain throughout the 1-year follow-up.

Figure 2 shows the longitudinal effect of hypercholesterolemia on pain level-adjusted changes. In all measurements, patients with hypercholesterolemia experienced less pain, but the differences did not reach statistical significance ($\Delta M_{6\text{-}7wk} = 1.39$, 95% CI = −0.29 to 3.07, $P = .10$; $\Delta M_{3m} = 1.22$, 95% CI = −0.56 to 2.80, $P < .19$; $\Delta M_{6m} = 1.17$, 95% CI = −0.44 to 2.78, $P < .15$; $\Delta M_{12m} = 1.69$, 95% CI = −0.13 to 3.51, $P = .07$).

Safety and Adverse Events

The procedure was safe, and major complications (infection, nerve damage) were not observed. As expected, patients reported temporary posttenotomy pain and tingling sensation, which resolved

Table 5
DASH score changes posttreatment by demographic, clinical, and sonographic characteristics

	6-7 wk Mean (95% CI)	3 mo Mean (95% CI)	6 mo Mean (95% CI)	12 mo Mean (95% CI)	*P* value
Gender					.02
Male	31.62 (25.78 to 37.46)	19.19 (13.54 to 24.83)	14.48 (8.62 to 20.35)	15.09 (8.60 to 21.58)	
Female	36.57 (31.05 to 42.08)	30.38 (24.89 to 35.87)	22.73 (17.11 to 28.35)	21.11 (15.19 to 27.04)	
Difference Male - Female	*−4.94 (−13.34 to 3.45)*	***−11.19 (−19.29 to −3.09)****	*−8.24 (−16.64 to 0.14)*	*−6.02 (−14.93 to 2.88)*	
Cholesterol					<.001
No	36.72 (32.66 to 40.78)	26.98 (22.93 to 31.02)	20.43 (16.21 to 64)	19.94 (15.39 to 24.49)	
Yes	11.74 (−0.45 to 23.95)	7.28 (−5.52 to 20.08)	3.97 (−7.94 to 15.89)	2.56 (−10.78 to 15.91)	
Difference No-Yes	***24.97 (11.99 to 37.95)****	***19.69 (6.13 to 33.25)****	***16.45 (3.62 to 29.28)****	***17.37 (3.29 to 31.46)****	
Neovascularization					.04
No neovascularization	41.76 (31.22 to 52.31)	41.83 (31.19 to 52.48)	27.56 (17.29 to 37.83)	18.83 (5.80 to 31.86)	
Neovessels on the tendon surface	33.47 (18.64 to 48.30)	7.38 (−7.37 to 22.15)	13.65 (−1.15 to 28.45)	2.48 (−14.27 to 19.24)	
More than 2 intratendinous neovessels	32.50 (27.79 to 37.20)	23.23 (18.71 to 27.74)	17.53 (12.84 to 22.21)	19.96 (14.96 to 24.97)	
Difference No neovascularization - Neovessels on the tendon surface	*8.29 (−10.44 to 27.03)*	***34.45 (15.98 to 52.91)****	*13.92 (−4.77 to 32.60)*	*16.35 (−5.44 to 38.15)*	
Difference No neovascularization - more than 2 intratendinous neovessels	*9.27 (−2.86 to 21.40)*	***18.60 (6.74 to 30.46)****	*10.04 (−1.45 to 21.53)*	*−1.13 (−15.28 to 13.03)*	
Difference Neovessels on the tendon surface - more than 2 intratendinous neovessels	*0.97 (−14.75 to 16.70)*	***−15.84 (−31.52 to− 0.17)****	*−3.88 (−19.62 to 11.86)*	*−17.48 (−35.43 to 0.47)*	
Echotexture					.04
Normal	24.05 (2.54 to 45.56)	10.61 (−6.86 to 28.09)	25.11 (7.39 to 42.84)	39.62 (20.90 to 58.35)	
Hypoechogenicity in less than one-third the tendon	28.18 (14.47 to 41.89)	9.47 (−5.07 to 24.01)	10.01 (−3.53 to 23.55)	13.23 (−6.09 to 32.56)	
Hypoechogenicity in between one-third and two-thirds of the tendon	38.01 (30.62 to 45.41)	33.25 (25.33 to 41.17)	22.33 (14.31 to 30.35)	14.95 (6.92 to 22.99)	
Hypoechogenicity in more than two-thirds of the tendon	35.59 (29.51 to 41.67)	25.09 (19.40 to 30.78)	17.70 (11.78 to 23.63)	20.70 (13.69 to 27.71)	
Partial-thickness tear	26.68 (14.68 to 38.68)	20.80 (8.81 to 32.79)	17.62 (5.01 to 30.23)	10.04 (−2.77 to 22.86)	
Difference Normal - Hypoechogenicity in less than one-third the tendon	*−4.13 (−28.00 to 19.74)*	*1.14 (−19.83 to 22.13)*	*15.10 (−5.15 to 35.36)*	***23.39 (1.50 to 51.28)****	
Difference Normal - Hypoechogenicity in between one-third and two-thirds of the tendon	*−13.97 (−38.09 to 10.15)*	***−22.66 (−43.09 to− 2.18)****	*2.78 (−17.90 to 23.46)*	***24.67 (2.82 to 46.52)****	
Difference Normal - Hypoechogenicity in more than two-thirds of the tendon	*−11.54 (−38.83 to 10.74)*	*−14.47 (−33.16 to 4.21)*	*7.41 (−11.68 to 26.50)*	*18.92 (−2.06 to 39.91)*	
Difference Normal - Partial-thickness tear	*−2.63 (−27.71 to 22.45)*	*−10.18 (−32.01 to 11.64)*	*7.49 (−14.73 to 29.71)*	***29.58 (5.56 to 53.60)****	
Difference Hypoechogenicity in less than one-third -Hypoechogenicity in between one-third and two-thirds	*−9.83 (−26.29 to 6.63)*	***−23.78 (−41.06 to− 6.50)****	*−12.32 (−28.87 to 4.23)*	*−1.72 (−23.32 to 19.87)*	
Difference Hypoechogenicity in less than one-third - Hypogenicity in between one third and two-thirds	*−7.40 (−22.63 to 7.81)*	*−15.62 (−31.45 to 0.21)*	*−7.69 (−22.69 to 7.30)*	*−7.47 (−28.69 to 13.76)*	
Difference Hypoechogenicity in less than one-third - Partial-thickness tear	*1.50 (−16.60 to 19.61)*	*−11.33 (−30.37 to 7.71)*	*−7.62 (−26.39 to 11.16)*	*3.19 (−20.34 to 26.72)*	

Table 5
Continued

	6-7 wk Mean (95% CI)	3 mo Mean (95% CI)	6 mo Mean (95% CI)	12 mo Mean (95% CI)	*P* value
Difference Hypoechogenicity in between one and two-thirds of the tendon - hypoechogenicity is more than two-thirds	*2.43 (−7.23 to 12.08)*	*8.16 (−1.59 to 17.92)*	*4.63 (−5.23 to 14.49)*	*−5.74 (−16.21 to 4.71)*	
Difference Hypoechogenicity in between one and two-thirds of the tendon - partial-thickness tear	*11.34 (−2.63 to 25.31)*	*12.45 (−1.66 to 26.56)*	*4.71 (−10.13 to 19.55)*	*4.91 (−9.67 to 19.50)*	
Difference hypoechogenicity in more than two thirds- partial-thickness tear	*8.91 (−4.84 to 22.66)*	*4.29 (−9.08 to 17.66)*	*0.08 (−13.98 to 14.13)*	*10.66 (−3.87 to 25.19)*	
Enthesophytes					.03
No	40.44 (32.89 to 47.99)	32.25 (24.69 to 39.81)	18.68 (10.90 to 26.46)	15.79 (6.66 to 24.91)	
Yes	30.46 (25.24 to 35.68)	20.81 (15.68 to 25.94)	19.05 (13.86 to 24.24)	19.74 (13.99 to 25.48)	
Difference No-Yes	***9.98 (0.08 to 20.03)****	***11.44 (1.49 to 21.38)****	*−0.37 (−10.50 to 9.76)*	*−3.95 (−15.81 to 7.91)*	

p = global test for between-groups comparison of the 12-mo evolution of clinical outcomes.

spontaneously. After the first tenotomy 15 patients (21%) self-reported taking pain medication (acetaminophen).

Discussion

Identification of clinical factors and/or tendon features that could predict outcomes after needle tenotomy might help to optimize treatment strategies. We created a model accounting for variations between patients and between tendons (pretreatment sonographic entities) and their influence in the therapeutic response to the needle tenotomy procedure performed with either PRP or lidocaine, which is part of the biological treatment strategy we are currently examining in a clinical trial.[12] In our linear mixed effects model, the variation introduced by injectable modality did not explain any difference in clinical outcomes. Similarly, the presence of cortical irregularities or tendon thickness did not explain any variability in outcomes. Instead, we found that neovascularization significantly influenced the therapeutic response to tenotomy. Moreover, the interactions among gender, cholesterol status, and sonographic entities, including neovascularization, echotype, and enthesophytes, were significant predictors of the temporal pattern of functional changes. According to these data, short follow-ups could be inappropriate to assess treatment efficacy as patients' characteristics modulate the timing of symptom amelioration.

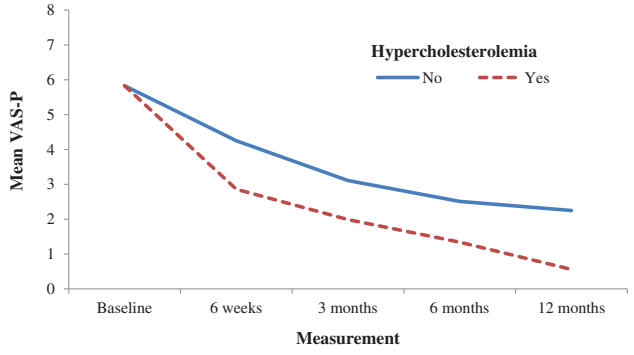


Figure 2. Longitudinal effect of hypercholesterolemia on pain level-adjusted changes. In all measurements, patients with hypercholesterolemia experienced less pain, but the differences did not reach statistical significance (M6-7wk=1.39, 95% CI = -0.29 to 3.07, *P* = .104; M3m=1.22, 95% CI = -0.56 to 2.80, *P* < .190; M6m=1.17, 95% CI = -0.44 to 2.78, *P* < .154; M12m=1.69, 95% CI = -0.13 to 3.51, *P* = .069).

Whether sonography could discriminate between different patient subsets and function as a potential prognostic tool in tendon interventions is under scrutiny. Struijs et al[14] analyzed the predictive value of sonography in patients with tennis elbow who followed two different conservative managements: brace-only group and physical therapy group. In this study, sonographic abnormalities had no predictive value for the effectiveness of these therapies. Notwithstanding, other authors observed a negative correlation between hypoechogenicity and outcome after physical therapy.[15] In these patients, the presence of lateral collateral ligament tear and the size of intrasubstance tears correlated with poor outcomes after 6 months.

To date, the predictive value of sonography after needle tenotomy in elbow epicondylopathies has not been explored. However, in the patellar tendon, clinical outcomes were improved in tendons with well-defined areas of tendinosis compared with tendons with ill-defined areas 4 weeks after tenotomy.[16]

Needle tenotomy involves repeatedly passing a needle through a tendon. The procedure purposely causes local trauma, aiming to shift the "chronic failed healing" to an acute injury with greater healing potential. The goal is to activate acute healing mechanisms, that is, inflammation, and angiogenesis. However, there is some confusion regarding the procedure and associated terminology. In general, tenotomy, fenestrations and needling are considered synonymous and described as 20-50 needle-passes

Table 6
Baseline echotexture influenced the temporal pattern of functional recovery

Functional change over time	Difference	95% CI	*P* value
Low degree hypoechogenicity			
6-7 wk to 3 mo	18.71	4.39 to 33.03	**.01**
3 to 12 mo	−3.76	−23.28 to 15.75	.70
Moderate hypoechogenicity			
6-7 wk to 3 mo	4.76	−3.16 to 12.69	.24
3 to 12 mo	18.30	9.85 to 26.75	**<.001**
6-7 wk to 12 mo	23.06	14.82 to 31.30	**<.001**
Severe hypoechogenicity			
6-7 wk to 3 mo	10.51	4.51 to 16.49	**<.001**
6-7 wk to 6 mo	17.89	11.68 to 24.09	**<.001**
6 to 12 mo	2.99	−10.31 to 4.31	.42
Partial tears			
6-7 wk to 6 mo	9.05	−3.78 to 21.88	.17
6-7 wk to 12 mo	16.64	3.63 to 29.65	**.01**

through the tendon.[16,17] Going deeper, other authors described two different needle tenotomy modalities, including the so-called peppering technique, which involves less tendon fenestrations (approximately five needle passes), and a more aggressive needle tenotomy involving multiple abrasions until tissue softening. Both procedures were recently compared.[18] Although the results are similar, increased reduction in long-term pain was observed in the tenotomy group, and more patients required open surgery in the needle tenotomy group.

In our study, we performed 15-25 needle passes with periosteum abrasion in the first intervention but only approximately 10 needle passes in the second intervention. The procedure we propose could be useful in small tendons, such as common extensor and common flexor tendons, because treating twice allows the delivery of increased volumes of the chosen injectable.

Despite the substantial biological and anatomical differences between medial and lateral epicondylopathy, we included both conditions in our study. We observed significant differences in the pretreatment vascular status given that common extensor tendons are more vascularized, a finding not previously reported.

In contrast with other studies involving the Achilles tendon, in which the presence of pretreatment vascularity correlated with symptoms but did not predict outcomes,[19-21] both pretreatment vascularity and echotexture had a significant effect on clinical outcome (DASH) in our mixed effects model. However, we did not identify any association between vascularity or echotexture and the pretreatment clinical condition.

Overall, our data revealed a clinically important benefit of needle tenotomy in terms of DASH and VAS-P changes over time. Although DASH is not an elbow-specific rating score, it is the first or second choice for elbow tendinopathy.[22] Of note, it is the only score that has been assessed for cross-cultural validity in Spanish.[23] Threshold changes of 10 (5-15) points for the DASH are considered to represent an improvement important to patients, the so-called minimal clinically important difference (MCDI).[24,25] Our data revealed ameliorations in DASH scores greater than MCDI after 1 year, but the interactions among demographic, metabolic and pretreatment sonographic features determined the timing of the clinical response. Likewise, pain achieved a clinically significant decrease of 56.9% after 12 months.

Our setting is a tertiary hospital, and our sample reflects the typical demographic characteristics of epicondilopathy given that patients were in their late 40s and most were manual workers. Interestingly, our data showed that hypercholesterolemia could influence the clinical response to needle tenotomy. A link between tendinopathy and hypercholesterolemia exists, and a current hypothesis suggests that cholesterol deposition inside the tendons could initiate subclinical chronic inflammation and subsequent tendon degeneration.[26] Three out of eight patients with hypercholesterolemia (all taking statins) were not involved in manual work and were otherwise sedentary, suggesting that metabolic pathology could explain their tendinopathy. Why patients with hypercholesterolemia could respond better to needle tenotomy is intriguing. These data are regarded as "hypothesis-generating" and require further confirmation.

Whether patients achieved MCDI improvement at 3, 6 or 12 months depended on the interaction among gender, fat metabolism, tendon neovascularization, echotexture, and enthesophytes. However, the notion that these characteristics could modulate the response to needle tenotomy is new and requires confirmation in other studies.

Our study has several limitations. First, we did not recommend any specific exercise program and did not control activity modification in our patients. Our patient population was mainly composed of manual workers, and continuous physical exposure at work[27] could influence outcomes. Second, this study is merely descriptive, and further investigation with a control group without needle tenotomy is mandatory to confirm these results. Finally, we used ordinary standard 2D sonography measurements. Investigative tools allowing more precise estimation of sonographic features should be used in future studies.

Conclusion

Patients are currently treated following the traditional "trial-and-error" approach to disease. We cannot predict which patients will experience a positive response to needle tenotomy. New models combining demographic, genetic, and metabolic data with stage-related sonographic characteristics could aid in the identification of candidate patients, thus improving the efficacy of the conservative management of tendinopathy.

Acknowledgment

The authors wish to thank Nuria Zuazo for monitoring data acquisition and Mercedes Moreno and Julio del Bosque for nursing assistance.

Supporting Information

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section at the end of the article.

References

1. Sanders TL Jr, Maradit Kremers H, Bryan AJ, Ransom JE, Smith J, Morrey BF. The epidemiology and health care burden of tennis elbow: a population-based study. *Am J Sports Med*. 2015;43(5):1066-1071.
2. Walker-Bone K, Palmer KT, Reading I, Coggon D, Cooper C. Occupation and epicondylitis: a population-based study. *Rheumatology (Oxford)*. 2012;51(2):305-310.
3. Hopkins C, Fu SC, Chua E, et al. Critical review on the socio-economic impact of tendinopathy. *Asia Pac J Sports Med Arthrosc Rehabil Technol*. 2016;4:9-20.
4. Zouzias IC, Hendra J, Stodelle J, Limpisvasti O. Golf injuries: epidemiology, pathophysiology, and treatment. *J Am Acad Orthop Surg*. 2018;26(4):116-123.
5. Fu MC, Ellenbecker TS, Renstrom PA, Windler GS, Dines DM. Epidemiology of injuries in tennis players. *Curr Rev Musculoskelet Med*. 2018;11(1):1-5.
6. Sayegh ET, Strauch RJ. Does nonsurgical treatment improve longitudinal outcomes of lateral epicondylitis over no treatment? A meta-analysis. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473(3):1093-1107.
7. Krey D, Borchers J, McCamey K. Tendon needling for treatment of tendinopathy: a systematic review. *Phys Sportsmed*. 2015;43(1):80-86.
8. Andia I, Maffulli N. Update on platelet rich plasma for elbow and shoulder tendinopathy. *Tech Shoulder Elb Surg*. 2017;18:91-100.
9. Andia I, Maffulli N. Biological therapies in regenerative sports medicine. *Sports Med*. 2017;47(5):807-828.
10. Mattie R, Wong J, McCormick Z, Yu S, Saltychev M, Laimi K. Percutaneous needle tenotomy for the treatment of lateral epicondylitis: a systematic review of the literature. *PM R*. 2017;9(6):603-611.
11. Burgos-Alonso N, Lobato I, Hernández I, et al. Adjuvant biological therapies in chronic leg ulcers. *Int J Mol Sci*. 2017;18(12):E2561.
12. Martin JI, Merino J, Atilano L, et al. Platelet-rich plasma (PRP) in chronic epicondylitis: study protocol for a randomized controlled trial. *Trials*. 2013;14:410.
13. Finnoff JT, Fowler SP, Lai JK, et al. Treatment of chronic tendinopathy with ultrasound-guided needle tenotomy and platelet-rich plasma injection. *PM R*. 2011;3(10):900-911.
14. Struijs PA, Spruyt M, Assendelft WJ, van Dijk CN. The predictive value of diagnostic sonography for the effectiveness of conservative treatment of tennis elbow. *AJR Am J Roentgenol*. 2005;185(5):1113-1118.
15. Clarke AW, Ahmad M, Curtis M, Connell DA. Lateral elbow tendinopathy: correlation of ultrasound findings with pain and functional disability. *Am J Sports Med*. 2010;38(6):1209-1214.
16. Kanaan Y, Jacobson JA, Jamadar D, Housner J, Caoili EM. Sonographically guided patellar tendon fenestration. Prognostic value of preprocedure sonographic findings. *J Ultrasound*. 2013;32(5):771-777.
17. Jacobson JA, Kim SM, Brigido MK. Ultrasound-guided percutaneous tenotomy. *Semin Musculoskelet Radiol*. 2016;20(5):414-421.
18. Gaspar MP, Motto MA, Lewis S, et al. Platelet-rich plasma injection with percutaneous needling for recalcitrant lateral epicondylitis: comparison of tenotomy and fenestration techniques. *Orthop J Sports Med*. 2017;5(12):2325967117742077.
19. Ohberg L, Lorentzon R, Alfredson H. Neovascularisation in Achilles tendons with painful tendinosis but not in normal tendons: an ultrasonographic investigation. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2001;9(4):233-228.
20. de Vos RJ, Weir A, Cobben LP, Tol JL. The value of power Doppler ultrasonography in Achilles tendinopathy: a prospective study. *Am J Sports Med*. 2007;35(10):1696-1701.
21. Zanetti M, Metzdorf A, Kundert HP, et al. Achilles tendons: clinical relevance of neovascularization diagnosed with power Doppler US. *Radiology*. 2003;227(2):556-560.
22. Evans JP, Smith CD, Fine NF, et al. Clinical rating systems in elbow research-a systematic review exploring trends and distributions of use. *J Shoulder Elbow Surg*. 2018;27:e98-e106. https://doi.org/10.1016/j.jse.2017.12.027.
23. Rosales RS, Delgado EB, Díez de la Lastra-Bosch I. Evaluation of the Spanish version of the DASH and carpal tunnel syndrome health-related quality-of-life instruments: cross-cultural adaptation process and reliability. *J Hand Surg Am*. 2002;27(2):334-343.
24. Sorensen AA, Howard D, Tan WH, Ketchersid J, Calfee RP. Minimal clinically important differences of 3 patient-rated outcomes instruments. *J Hand Surg Am*. 2013;38(4):641-649.
25. Franchignoni F, Vercelli S, Giordano A, Sartorio F, Bravini E, Ferriero G. Minimal clinically important difference of the disabilities of the arm, shoulder and hand outcome measure (DASH) and its shortened version (QuickDASH). *J Orthop Sports Phys Ther*. 2014;44(1):30-39.
26. Abate M, Schiavone C, Salini V, Andia I. Occurrence of tendon pathologies in metabolic disorders. *Rheumatology (Oxford)*. 2013;52(4):599-608.
27. Descatha A, Albo F, Leclerc A, et al. Lateral epicondylitis and physical exposure at work? A review of prospective studies and meta-analysis. *Arthritis Care Res (Hoboken)*. 2016;68(11):1681-1687.

Disclosure

J.I.M., L.A. Department of Radiology, Interventional Sonography Cruces, University Hospital, Barakaldo, Spain; and Regenerative Medicine, BioCruces Health Research Institute, Cruces University Hospital, Biscay, Spain
Disclosure: nothing to disclose

J.M., I.G. Regenerative Medicine, BioCruces Health Research Institute Cruces, University Hospital, Biscay, Spain; and Department of Orthopedic Surgery, Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain
Disclosure: nothing to disclose

G.I. Department of Radiology, Interventional Sonography Cruces, University Hospital, Barakaldo, Spain; and Regenerative Medicine, BioCruces Health Research Institute, Cruces University Hospital, Biscay, Spain
Disclosure: nothing to disclose

L.A. Regenerative Medicine, BioCruces Health Research Institute, Cruces University Hospital, Biscay, Spain; and Department of Orthopedic Surgery, Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain
Disclosure: nothing to disclose

P.B. Primary Care Research Unit of Bizkaia, BioCruces Health Research Institute, Bilbao, Spain
Disclosure: nothing to disclose

G.G. Primary Care Research Unit of Bizkaia, BioCruces Health Research Institute, Bilbao, Spain; and Enkarterrri-Ezkerraldea-Cruces Health Region, Basque Health Service (Osakidetza), Bilbao, Spain
Disclosure: nothing to disclose

I.A. Regenerative Medicine, BioCruces Health Research Institute Cruces University Hospital, Biscay, Spain. Address correspondence to: I.A.; e-mail: iandia2010@hotmail.com; isabel.andiaortiz@osakidetza.eus
Disclosure: nothing to disclose

This clinical study is supported by grant ISCIII (PI13/01707) cofinanced by FEDER funds.

Submitted for publication May 21, 2018; accepted December 2, 2018.

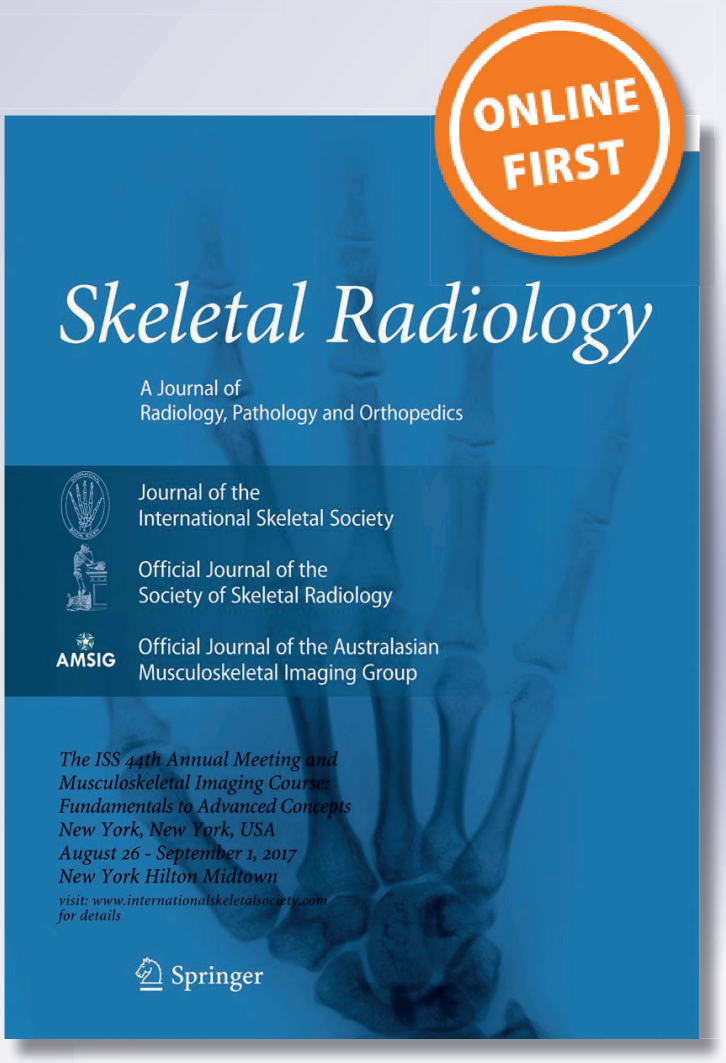
Needle tenotomy with PRP versus lidocaine in epicondylopathy: clinical and ultrasonographic outcomes over twenty months

Jose Ignacio Martin, Leire Atilano, Paola Bully, Gotzon Iglesias, Josu Merino, Gonzalo Grandes & Isabel Andia

Skeletal Radiology
Journal of the International Skeletal Society A Journal of Radiology, Pathology and Orthopedics

ISSN 0364-2348

Skeletal Radiol
DOI 10.1007/s00256-019-03193-1



Springer

Your article is protected by copyright and all rights are held exclusively by ISS. This e-offprint is for personal use only and shall not be self-archived in electronic repositories. If you wish to self-archive your article, please use the accepted manuscript version for posting on your own website. You may further deposit the accepted manuscript version in any repository, provided it is only made publicly available 12 months after official publication or later and provided acknowledgement is given to the original source of publication and a link is inserted to the published article on Springer's website. The link must be accompanied by the following text: "The final publication is available at link.springer.com".



Author's personal copy

Skeletal Radiology
https://doi.org/10.1007/s00256-019-03193-1

SCIENTIFIC ARTICLE

Needle tenotomy with PRP versus lidocaine in epicondylopathy: clinical and ultrasonographic outcomes over twenty months

Jose Ignacio Martin[1,2] · Leire Atilano[1,2] · Paola Bully[3] · Gotzon Iglesias[1,2] · Josu Merino[2,4] · Gonzalo Grandes[3,5] · Isabel Andia[2]

Received: 6 January 2019 / Revised: 17 February 2019 / Accepted: 18 February 2019
© ISS 2019

Abstract

Objective To investigate whether pathological changes in elbow epicondylopathy, as assessed by conventional ultrasonography and clinical outcomes, could be modified following tenotomy with platelet-rich plasma (PRP) versus tenotomy with lidocaine.

Methods This prospective sub-study was part of a patient- and assessor-blinded, superiority-type, randomized, lidocaine-controlled trial that was performed in a tertiary hospital to assess the effectiveness of PRP versus lidocaine as tenotomy adjuvants in patients with epicondylopathy. Patients were followed after two sessions of tenotomy with either PRP or lidocaine adjuvants (4 ml) within a 2-week interval. Tendon thickness, echotexture, and neovascularization were assessed as secondary outcome measurements at baseline and at 3, 6, 12, and 20 months after treatment, and correlations with clinical outcomes were examined.

Results Twenty months after treatment, tenotomy induced changes in tendon structure, thickness ($\pm = 0.0006$), vascularity ($p < 0.0001$), and echotexture ($p < 0.0001$). In Disabilities of the Arm, Shoulder and Hand (DASH-E) and pain (VAS-P) scores, 80.85% and 90.91% of patients showed a meaningful clinical improvement, respectively, without differences between PRP and lidocaine. There were significant differences in between-group changes in vascularity over time, $p = 0.037$ and $p = 0.049$ in the unadjusted and adjusted models, respectively. There was no relationship between pain or function and sonographic entities at the various time points.

Conclusions Two successive needle tenotomies induced structural changes in recalcitrant epicondylopathy, with PRP displaying more vascularization and increased thickness over time compared to lidocaine. PRP compared with lidocaine did not result in improved function or decreased pain over 20 months.

Keywords Elbow · Tendinopathy · Ultrasound · Needle tenotomy · PRP · RCT · Vascularization

Introduction

Tendinopathies are degenerative conditions that involve fibroblastic and vascular changes, disruption of collagen fibres and modifications in extracellular matrix composition, and they are often associated with pain and functional impairment [1]. These biological features are increasingly recognized as a failed healing response to microtrauma; tendon attempts to heal, but the process is not accomplished [2].

A wide variety of injection therapies have been studied for tendinopathies. They include needle tenotomy [3], saline high volume [4], hypertonic dextrose and morrhuate sodium [5], autologous blood, platelet-rich plasma (PRP), PRP rich in leukocytes, L-PRP, [6–8] and corticosteroids [9]. However, the ideal treatment remains poorly defined. Injections of platelet-rich plasma (i.e., PRP and L-PRP) aim to regenerate tendons by releasing a complex pool of active cytokines that

✉ Isabel Andia
iandia2010@hotmail.com; isabel.andiaortiz@osakidetza.eus

[1] Interventional Sonography, Department of Radiology, Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain

[2] Regenerative Medicine, BioCruces Health Research Institute, Cruces University Hospital, 48903 Barakaldo, Spain

[3] Primary Care Research Unit of Bizkaia, BioCruces Health Research Institute, Bilbao, Spain

[4] Department of Orthopedic Surgery, Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain

[5] Enkarterrri-Ezkerraldea-Cruces Health Region, Basque Health Service (Osakidetza), Basque, Spain

Published online: 02 March 2019

Author's personal copy

enhance cell proliferation, migration, and the synthesis of extracellular matrix, as shown in laboratory studies [10]. In doing so, PRPs can modulate inflammation, angiogenesis, and tissue anabolism in tendinopathies [11–13]. However, despite positive experimental data, the clinical benefits of PRP injections for tendinopathies are controversial [6–8]. There is only rudimentary knowledge of the PRP mechanism of action in the clinical context because of scarce data demonstrating the biological changes induced by intratendinous PRP injections [14, 15]. Randomized clinical trials and subsequent meta-analyses based on pain and functional outcomes have been inconclusive, and changes in the tendons are seldom reported.

Severe tendinopathies, in all anatomical locations, show a similar spectrum of structural changes that can be assessed by ultrasonography (US). Commonly, changes in tendon thickness and Doppler activity, as well as focal regions of hypoechogenicity accompanied by fading of the normal fibrillary pattern, are described in severe tendinopathies. Therefore, decreased tendon thickness, recovery of echotexture, and remission of neovascularization are considered findings that represent improvement [16].

Elbow tendons are superficial, and research concerning the diagnostic value of US in lateral epicondylalgia has indicated that the hypoechogenicity of the common extensor origin has the best combination of diagnostic sensitivity and specificity [17], while neovascularity inside the enthesis and cortical irregularities have strong specificity. In addition, thickness measurements could help to evaluate structural adaptations [18]. Thus, conventional US provides the opportunity to investigate whether pathological changes (neovascularization, echotexture, and tendon thickness) could be modified with tenotomy and PRP.

This study is based on the hypothesis that recovery of tendon structure is part of the intended effect of the proposed management (tenotomy associated with PRP). Thus, we performed repeated ultrasonographic measurements at different time points in order to determine if conventional sonography could identify structural changes after two sessions of needle tenotomy within a 2-week interval. We also investigated if there is a relationship between ultrasound assessments and clinical outcomes.

Methods

This prospective sub-study was part of a patient- and assessor-blinded, superiority-type, randomized, lidocaine-controlled trial that was performed in a tertiary hospital to assess the effectiveness of PRP as a tenotomy adjuvant. The hospital ethics medical committee approved the study protocol that was registered at clinicaltrials.gov (number NCT01945528). The full details of the randomized control study have been reported elsewhere [19]. Initially, the randomized controlled trial (RCT) was scheduled with a 1-year follow-up, but those patients who were blinded to treatment allocation were contacted for a longer-term follow-up (20 months).

Inclusion criteria were the presence of elbow tendinopathy (clinically diagnosed), the failure of conservative treatments, including analgesic and anti-inflammatory medications (NSAIDs), physiotherapy associated with the orthosis and symptoms lasting 3 months or longer. Patients with BMI > 35 and full tendon tears were excluded. Baseline characteristics obtained included demographic and metabolic status variables, DASH-E, VAS-P, color Doppler activity, and tendon thickness.

Procedures

Patients were randomized to the PRP group (needle tenotomy + PRP) or lidocaine group (needle tenotomy + lidocaine) and followed through two sessions of needle tenotomy within a 2-week interval. PRP was prepared by single centrifugation at 570 ×*g* for 6 min. The plasma fraction was collected with a syringe and activated just before the intervention with $CaCl_2$, final concentration 22.6 μM, All patients received 2 ml of lidocaine in the subcutaneous tissue to mitigate tenotomy pain; then, the syringe containing the injection was connected to the needle, which was inserted intratendinously parallel to the tendon fibers. We performed percutaneous interventions with a 22-gauge needle. Punctures were performed from distal to proximal parallel to the tendon long axis. The tendon was repeatedly fenestrated (15–25 times) by redirecting the needle in different directions until tissue softening is achieved. The periosteum was abraded with the tip of the needle. Simultaneously, the injectable was delivered to the hypoechogenic and surrounding areas. The second intervention was milder and involved approximately ten perforations and no abrasions of the periosteum [20]. Injected volumes were 4.23 ± 1.09 ml (range, 1–5 ml) of lidocaine and 4.47 ± 1.11 ml (range, 1–5 ml) of PRP in the first session and 4.18 ± 1.14 ml (range, 1–5 ml) of lidocaine and 4.53 ± 0.88 ml (range, 2–5 ml) of PRP in the second session. There were no differences between the injected volumes. No exercise therapy was added to the treatment. The clinical assessors, the patients, and the statisticians that collected the data and performed the analyses were all blinded to group allocation. A radiologist with more than 20 years of experience in musculoskeletal interventional US performed the needle tenotomies, guided with a 4–13-MHz high-frequency linear probe (Esaote MyLab 70 XVG, Esaote S.p.A. Genoa, Italy).

Ultrasound assessments

Serial echographic images were obtained with the patient in supine position, the elbow flexed 110° and forearm in pronation, and the transductor parallel to the tendon fibres.

Author's personal copy

Thereafter, the findings were corroborated in the axial short-axis plane, which is especially relevant for echotexture assessments (Fig. 1a, b). The echotexture was graded 0–4 as follows: normal (0); 3° of structural damage (1–3) according to the hypoechogenic area, including mild (hypoechogenicity involves less than 1/3 of the area), moderate (hypoechogenicity involves between 1/3 and 2/3) or severe (hypoechogenicity involves more than 2/3); and lastly, tendons with partial small tears (4). When present, the partial tear size was measured in both axes. Vascularization was assessed by means of power Doppler with pulse repetition frequency (PRF) set at 500 Hz and graded from 0 to 4 as follows: no vessels (0); one or two vessels on the tendon surface (1); few (1–4) intratendinous vessels (2); more than four but less than eight intratendinous vessels (3); and hypervascularity with flame appearance (4). The tendon thickness ratio was obtained by built-in on-screen electronic calipers using a split screen. Tendon thickness (mm) was measured by placing one caliper on the cortical interface (approximately 5 mm from the joint margin) and another caliper on the tendon surface at the point where maximum thickness was observed. Representative images were obtained at baseline (prior to tenotomies), and repetitive measurements were then performed at 3, 6, 12, and 20.57 months (2.68) after treatment. Images were stored using the picture archiving and communication system (PACS) for evaluations.

The ultrasound outcomes were evaluated by two trained radiologists (blinded to treatment allocation) using the same ultrasound machine and algorithm. Another senior radiologist independently scored the stored ultrasonographic images. Inter-evaluator discordances between scores were reviewed and settled. Figure 1 shows representative images of the ultrasonographic measurements.

Clinical outcome measurements

Clinical outcomes were obtained from serial DASH-E and VAS-P self-reported questionnaires at 3, 6, 12, and 20 months.

Statistical analysis

Data are shown as the mean with standard deviation and frequencies. The Levine test was used to assess homogeneity of variance. The initial differences between groups were based on a two-sample *t* test. Comparisons of categorical data were made with Pearson χ^2 test. Generalized linear mixed models were used to estimate the changes in ultrasonographic and clinical outcomes and to evaluate the differences between [tenotomy+PRP] and [tenotomy+lidocaine] treatment groups over the 20-month follow-up duration. The treatment, time of measurement, and treatment-by-time interaction were included as fixed effects in the models. Patients were included as random effects in the intercept of different repeated measurements. This process was performed assuming that each measurement was a category and without autocorrelation within

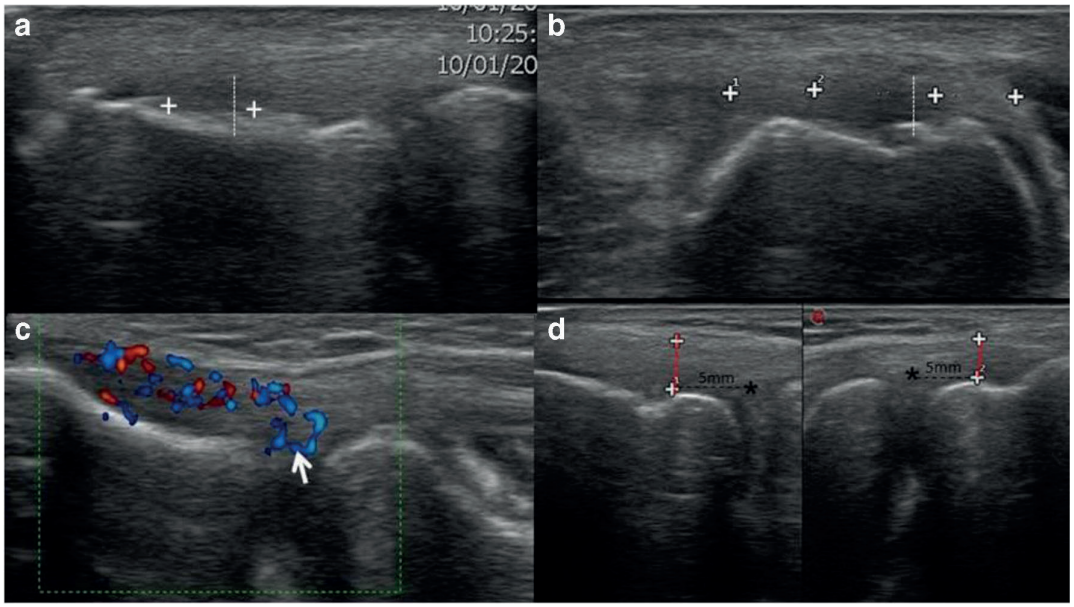


Fig. 1 Representative ultrasonograms of the common lateral extensor tendons illustrating the three ultrasound criteria used to assess potential changes over a 20-month period after tenotomy. Echotexture evaluated in the longitudinal (**a**) and axial (**b**) planes is defined as moderate (affected area between 1/3 and 2/3 of the tendon) as the probe is moved 90° along the *dotted line*; (**c**) Doppler activity is graded as 4 in the longitudinal sonogram, with the *white arrow* showing vascularization in the radial collateral ligament; and (**d**) thickness is expressed as the ratio between the longitudinal measurements of the affected (*right*) and contralateral (*left*) tendons

Author's personal copy

an individual. The overall effect of the treatment was assessed by testing the interaction between treatment and time of measurement. Additionally, these models were also adjusted for baseline values of outcome variables, socio-demographics, and risk factors. Likewise, to simplify the fixed effects' structure, maximum likelihood ratio tests were used following backward, forward, and stepwise strategies. Spearman's tests were used to assess the association between ultrasonographic and clinical variables. No imputation method was used to handle the missing data. All analyses were performed using the PROC MIXED and GLIMMIX procedures of the SAS 9.4 statistical package.

Results

Participants and clinical outcomes at 20 months after treatment

Patients treated from April 2014 to May 2017 were included. A flow diagram of the progress of study participants up to 12 months after treatment has been published previously [21] (submitted Martin JOSR). A total of 71 patients were treated. Informed consent was obtained from all individuals. One patient in the PRP group and four patients in the lidocaine group were lost to follow-up. Fifty-one patients (blinded to treatment allocation), including 27 patients in the PRP group and 24 patients in the lidocaine group, were examined in the 20th month.

Twenty months after treatment, 80.85% and 90.91% of patients showed a meaningful clinical improvement, i.e., a change of more than 25% was observed in the responses to the DASH-E and VAS-P, respectively, relative to the baseline. There were no significant clinical differences between the PRP and lidocaine groups. The DASH-E changed from 42.76 (15.93) and 44.60 (17.20) in the lidocaine and PRP groups, respectively, before treatment to 14.47 (10.01) and 12.62 (14.54) in the lidocaine and PRP groups, 20 months after treatment. The VAS-P changed from 5.87 (1.52) before treatment to 1.73 (2.08) after 20 months in the lidocaine group and from 5.97 (1.77) to 1.39 (1.40) after 20 months in the PRP group. There were no differences in complications between groups. A similar number of patients in both groups reported pain and tingling sensation, which resolved spontaneously in the short term.

Structural changes over time (0–20 months) in the entire patient cohort and differences between treatment groups concerning thickness, vascularity, and echotexture

Patients had similar US characteristics at baseline (Table 1). Structural changes in the tendons, as assessed by US over 20 months, are shown in Table 2**.** Overall, there was a significant decrease in tendon thickness ($p = 0.0006$), vascularity ($p < 0.0001$), and echotexture ($p < 0.0001$) comparing the baseline and 20-month post-intervention assessments.

The tendon thickness ratio decreased over time in both groups (3 vs. 20 months ($T = 2.47$, $p = 0.014$); 3 vs. 20 months ($T = 4.07$, $p < 0.001$); 6 vs. 20 months ($T = 2.66$, $p = 0.008$)). However, there was no statistical significance for the global between-group comparison of 20-month modifications in thickness ratio ($p = 0.089$ in the adjusted model). Interestingly, 6 months after treatment, the thickness ratio remained significantly higher in the PRP group than in the lidocaine group ($p < 0.001$).

Figure 2 shows the distribution of patients in the five Doppler categories at the time-points evaluated. Twenty months after treatment, 19.55% of patients in the lidocaine group versus 40.15% of patients in the PRP group showed no vascularization, and 15.66% of patients in the lidocaine group versus 6.3% of patients in the PRP group showed more than five intratendinous vessels. There were significant differences in between-group changes in vascularity over time, $p = 0.037$ and $p = 0.049$ in the unadjusted and adjusted models. Vascularity was adjusted for baseline degree, diabetes, affected tendon, and statin treatment*time.

Table 3 describes the baseline prognostic factors of the vascularization category that were included in the adjusted model. Anatomical location (medial or lateral) and diabetes showed a constant effect that did not change at the follow-up time-points. Instead, taking statins showed a main effect on vascularization and interaction over time.

Association between sonographic parameters and clinical outcomes (correlations)

There was no relationship between pain or function and sonographic categories for Doppler or echotexture, either at baseline or at any other time point. However, VAS-P and DASH-E correlated positively at baseline ($r_s = .390$, $p = 0.001$, $n = 68$) and during the follow-up ($r_s = .761$, $p < 0.001$, $n = 53$ at 3 months; $r_s = .865$, $p < 0.001$, $n = 48$ at 6 months; $r_s = .894$, $p < 0.001$, $n = 38$ at 12 months; and $r_s = .766$, $p < 0.001$, $n = 45$ at 20 months).

On the other hand, sonographic characteristics were associated between them. In particular, there was a positive association between echotexture and tendon thickness before and up to 12 months after treatment with values as follows: baseline ($r_s = .241$, $p = 0.045$, $n = 69$), 3 months ($r_s = .428$, $p < 0.001$, $n = 67$), 6 months ($r_s = .414$, $p = 0.001$, $n = 62$) and 12 months ($r_s = .276$, $p = 0.031$, $n = 61$). The positive correlation disappeared at 20 months ($r_s = .117$, $p = 0.471$, $n = 40$). Doppler and echotexture showed no association at baseline but a significant association at all time points after treatment

Author's personal copy

Table 1 Ultrasonographic characterization before treatment

	Lidocaine ($n = 35$)	PRP ($n = 34$)	Total ($n = 69$)
Mean tendon thickness ratio (SE)	1.16 (0.21)	1.18 (0.22)	1.17 (0.21)
% Vascularization, no. (%)			
No vessels	7 (20.00)	5 (14.71)	12 (17.39)
1 or 2 vessels on tendon surface	1 (2.86)	3 (8.82)	4 (5.80)
1 to 4 intratendinous vessels	10 (28.57)	17 (50.00)	27 (39.13)
5 to 8 intratendinous vessels	11 (31.43)	6 (17.65)	17 (24.64)
Vascular ball	6 (17.14)	3 (8.82)	9 (13.04)
% Echotexture, no. (%)			
Normal	3 (8.57)	1 (2.94)	4 (5.80)
Hypoechogenicity < 1/3 of the tendon	2 (5.71)	4 (11.76)	6 (8.70)
Hypoechogenicity > 1/3 and < 2/3	10 (28.57)	10 (29.41)	20 (28.99)
Hypoechogenicity > 2/3	15 (42.86)	16 (47.06)	31 (44.93)
Partial-thickness tear	5(14.29)	3 (8.82)	8 (11.59)

($r_s = .340$, $p = 0.005$, $n = 67$ at 3 months; $r_s = .420$, $p = 0.001$, $n = 63$ at 6 months; $r_s = .423$, $p = 0.001$, $n = 61$ at 12 months, and $r_s = .478$, $p = 0.001$, $n = 43$ at 20 months post-treatment) (Figs. 3, 4, and 5).

Discussion

In this study, PRP influenced tendon thickness and vascularity outcomes differently than lidocaine, but PRP was not superior to lidocaine with regard to reducing pain and disability after 20 months in patients with recalcitrant elbow epicondylopathy. Initially, this study had an RCT design with a 12-month follow-up, and changes in pain and function were the primary outcomes [19]. Because of the loss of clinical data, we were not able to detect clinical differences [21], and we planned another follow-up visit after 20 months. Importantly, the length of follow-up in most RCTs ranges from 3 to 6 months [6–8], and only one in every three RCTs has a 12-month follow-up. Long-term follow-up is important because PRP actions rely on paracrine mechanisms, i.e., the molecular pool activates local cells, which respond to PRP by synthesizing further signaling proteins that are mainly involved in angiogenesis and inflammation [10]. These can have repercussions on pain and function in the mid and long term. Actually, in contrast to corticosteroids, PRP effects are not observed immediately after injection, but are evident after a few months [7].

However, in our study, despite the long-term follow-up, we found no measurable clinical benefit (DASH-E and VAS-P) to the addition of PRP over lidocaine. This could be expected as, according to a recent systematic review and meta-analysis [7], the impact of PRP on clinical outcomes is not detectable with a sample size below 70 patients per group; thus, we were unable to detect significant clinical differences.

However, the likelihood of detecting significant treatment effects may be improved, not only by performing larger trials with longer follow-up periods but also by measuring parameters that are relevant to the biological properties of the product. Essentially, with laboratory studies claiming to regenerate the injured tendon with PRP, measuring US parameters that are relevant to the biological properties of the product could help to elucidate which mechanism of action is important for efficacy and how these biological interventions could be improved. In this study, PRP was prepared in a cleanroom following our standard operating procedures, and PRP cost per treatment was 46 €. Tenotomy took the same time when performed with either PRP or lidocaine adjuvants; radiology room occupancy was 15–20 min in both cases.

Using five serial ultrasonographic assessments over 20 months, we found that the degree of neovascularization was downregulated over time differently by PRP than lidocaine. Additionally, tendon thickness over time was different in tendons treated with PRP. These findings are in accordance with experimental data reporting the influence of PRP on inflammation, angiogenesis, and tissue anabolism [11–13] and with ultrasonographic data in epicondylopathies [22] that showed an increase in tendon thickness 3 months after PRP injection compared to that of saline. PRP releases a myriad of signaling proteins, for instance, vascular endothelial growth factor (VEGF), platelet factor (PF4), thrombospondin (TSP-1), platelet derived growth factor (PDGF), basic fibroblastic growth factor (bFGF), and endostatin that modulate angiogenesis. In addition, insulin-like growth factor (IGF-I) and transforming growth factor (TGF-b1) stimulate the synthesis of collagen 1 by tendon cells.

There are varied procedures for PRP delivery that can influence clinical and structural outcomes. Our technique

Author's personal copy

Table 2 Serial ultrasonographic measurements and clinical assessments over time

Outcome	Unadjusted change			Treatment-time measurement interaction (p value)	Multivariate-adjusted attributable difference (p value) a,b,c
	Lidocaine	PRP	Total		
Echography outcomes					
Mean tendon thickness ratio (SE)[a]				0.102	0.089
3 months	1.14 (0.03)	1.17 (0.03)	1.15 (0.02)		
6 months	1.06 (0.03)	1.17 (0.03)*	1.12 (0.02)		
12 months	1.08 (0.03)	1.11 (0.03)	1.09 (0.02)		
20 months	1.04 (0.03)	1.03 (0.03)	1.04 (0.03)		
% Vascularization[b], no. /total no. (%)				0.037	0.049
3 months					
No vessels	6/35 (17.14)	1/33 (3.03)	7/68 (10.29)		
1 or 2 vessels on tendon surface	3/35 (8.57)	5/33 (15.15)	8/68 (11.76)		
1 to 4 intratendinous vessels	13/35 (37.14)	12/33 (36.36)	25/68 (36.76)		
5 to 8 intratendinous vessels	8/35 (22.86)	8/33 (24.24)	16/68 (23.53)		
Vascular ball	5/35 (14.29)	7/33 (21.21)	12/68 (17.65)		
6 months					
No vessels	11/33 (33.33)	6/33 (18.18)	17/66 (25.76)		
1 or 2 vessels on tendon surface	3/33 (9.09)	5/33 (15.15)	8/66 (12.12)		
1 to 4 intratendinous vessels	10/33 (30.30)	13/33 (39.39)	23/66 (34.85)		
5 to 8 intratendinous vessels	8/33 (24.24)	7/33 (21.21)	15/66 (22.73)		
Vascular ball	1/33 (3.03)	2/33 (6.06)	3/66 (4.55)		
12 months					
No vessels	13/29 (44.83)	12/33 (36.36)	25/62 (40.32)		
1 or 2 vessels on tendon surface	5/29 (17.24)	7/33 (21.21)	12/62 (19.35)		
1 to 4 intratendinous vessels	7/29 (24.14)	8/33 (24.24)	15/62 (24.19)		
5 to 8 intratendinous vessels	3/29(10.39)	3/33 (9.09)	6/62 (9.68)		
Vascular ball	1/29 (3.45)	3/33 (9.09)	4/62 (6.45)		
20 months					
No vessels	9/26 (34.62)	18/24 (75.00)	27/50 (54.00)		
1 or 2 vessels on tendon surface	7/26 (26.92)	2/24 (8.33)	9/50 (18.00)		
1 to 4 intratendinous vessels	7/26 (26.92)	3/24 (12.50)	10/50 (20.00)		
5 to 8 intratendinous vessels	1/26 (3.85)	0/24 (0.00)	1/50 (2.00)		
Vascular ball	2/26 (7.69)	1/24 (4.17)	37/50 (6.00)		
% Echotexture[a], no. /total no. (%)				0.210	0.259
3 months					
Normal	6/34 (17.65)	4/33 (12.12)	10/67 (14.93)		
Hypoechogenicity < 1/3 of the tendon	9/34 (26.47)	7/33 (21.21)	16/67 (23.88)		
Hypoechogenicity > 1/3 and < 2/3	10/34 (29.41)	11/33 (33.33)	21/67 (31.34)		
Hypoechogenicity > 2/3	8/34 (23.53)	11/33 (33.33)	19/67 (28.36)		
Partial-thickness tear	1/34 (2.94)	0/33 (0.00)	1/67 (1.49)		
6 months					
Normal	7/31 (22.58)	9/32 (28.13)	16/63 (25.40)		
Hypoechogenicity < 1/3 of the tendon	13/31 (41.94)	4/32 (12.50)	17/63 (26.98)		
Hypoechogenicity > 1/3 and < 2/3	9/31 (29.03)	13/32 (40.63)	22/63 (34.92)		
Hypoechogenicity > 2/3	1/31 (3.23)	6/32 (18.75)	7/63 (11.11)		
Partial-thickness tear	1/31 (3.23)	0/32 (0.00)	1/63 (1.59)		
12 months					
Normal	7/29 (24.14)	12/32 (37.50)	19/ 61 (31.15)		

Author's personal copy

Table 2 (continued)

Outcome	Unadjusted change			Treatment-time measurement interaction (*p* value)	Multivariate-adjusted attributable difference (*p* value) a,b,c
	Lidocaine	PRP	Total		
Hypoechogenicity < 1/3 of the tendon	13/29 (44.83)	7/32 (21.88)	20/61 (32.79)		
Hypoechogenicity > 1/3 and < 2/3	7/29 (24.14)	10/32 (31.25)	17/61 (27.87)		
Hypoechogenicity > 2/3	1/29 (3.45)	3/32 (9.38)	4/61 (5.56)		
Partial-thickness tear	1/29 (3.45)	0/32 (0.0)	1/61 (1.64)		
20 months					
Normal	11/27 (40.74)	9/19 (47.37)	20/46 (43.48)		
Hypoechogenicity < 1/3 of the tendon	7/27 (25.93)	6/19 (31.58)	13/46 (28.26)		
Hypoechogenicity > 1/3 and < 2/3	4/27 (14.81)	4/19 (21.05)	8/46 (17.39)		
Hypoechogenicity > 2/3	1/27 (3.70)	0/19 (0.00)	1/46 (2.17)		
Partial-thickness tear	4/27 (14.81)	0/19 (0.00)	4/46 (8.70)		
Clinical Outcomes					
Mean DASH-E scores (SE)				0.438	0.390
3 months	20.78 (3.50)	27.31 (3.42)	24.04 (2.44)		
6 months	18.12(3.55)	20.26 (3.53)	19.19 (2.51)		
12 months	20.52 (3.59)	21.11 (3.63)	20.82 (2.56)		
20 months	14.70 (3.47)	15.43 (3.67)	15.07 (2.52)		
Mean VAS-P scores (SE)				0.412	0.479
3 months	2.92 (0.40)	3.67 (0.40)	3.30 (0.28)		
6 months	2.58 (0.40)	2.39 (0.41)	2.48 (0.29)		
12 months	2.18 (0.45)	2.26 (0.44)	2.22 (0.31)		
20 months	1.78 (0.41)	1.87 (0.46)	1.83 (0.31)		

P values represent the statistical significance for the global between-group comparison of the evolution of US outcomes over 20 months

[a] Tendon thickness and echotexture were adjusted for baseline degree

[b] Vascularization was adjusted for baseline degree, diabetes, affected tendon, and statin treatment*time

[c] DASH-E and VAS-P scores were adjusted for baseline scores, affected tendon, and statin treatment*time

*$p = 0.000$

can be described as two sequential needle tenotomies (within a 2-week interval) under US guidance with intratendinous delivery of the product (and probably extratendinous), along with a local anesthetic (lidocaine) injected peritendinously and no associated exercise program. We and other authors surmised that repetition of the PRP injection might prolong the exposure of growth factors and other cytokines released from the PRP to the tendons, thereby improving the results [23–26]. PRP in combination with tenotomy can modulate neovascularization, a typical feature of the failed healing response to the underlying tendinopathy. However, although tendon structure improved in terms of vascularity and thickness, complete fiber continuity was not restored. Moreover, corroborating other studies, we failed to show any association between clinical and sonographic parameters at different time points.

Although we found correlations between vascularization and DASH, VAS-P, and echotexture in the entire set of data (data not shown), we failed to show correlations at the specific time points. The reason for this temporal mismatch is poorly understood and can be related not only to limitations on clinical scores but also to the way in which degenerative changes in the tendon interact with peripheral nerves, with subsequent activation of nociceptive pathways controlled by higher CNS mechanisms [27]. Moreover, in a previous study, we showed that, depending on patients' clinical characteristics and baseline ultrasonographic entities (not on tenotomy adjuvant), clinical improvements manifested at different time points [20].

This study has several limitations that need to be considered when deciding how to generalize our findings (both positive and negative). First, we performed a combined intervention, i.e., tenotomy + PRP, and whether tenotomy is synergistic with PRP is underresearched. Few studies have compared dry tenotomy

Author's personal copy

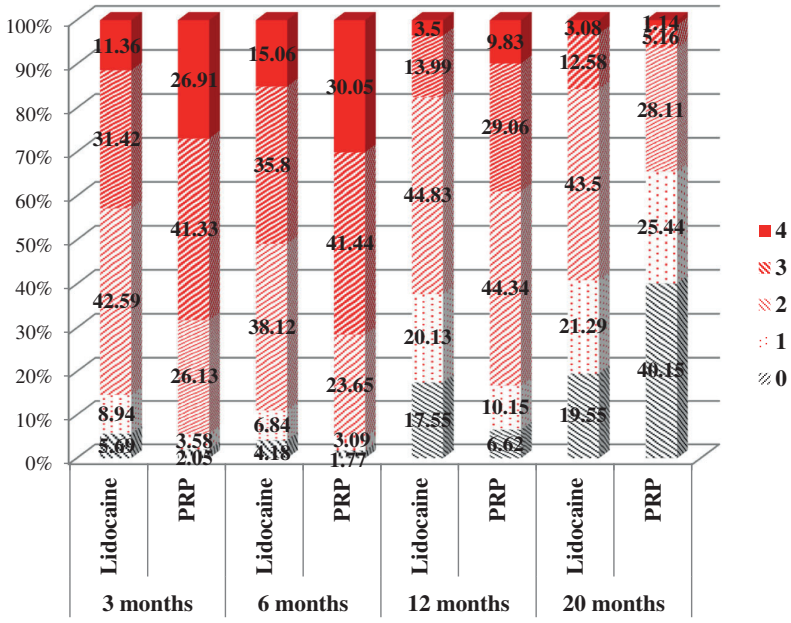


Fig. 2 Bar chart illustrating the estimated distribution of the Doppler categories in both groups at the various time points. Data were adjusted by baseline degree, diabetes, affected tendon, and statin treatment by time-point

with PRP injections as alternative treatments [28, 28]. Second, according to most recent meta-analyses condensing PRP information [6–8], our study was underpowered to detect differences in clinical outcomes and sonographic changes. We calculated the sample size for primary functional outcomes based on a previous RCT [28] comparing PRP with corticosteroids in lateral epicondylopathies, but we did not estimate the sample size for sonographic variables. Second, an ultrasound investigation was performed using conventional Doppler US. Although we carefully developed our sonographic assessment protocols, operator-dependent variability is unavoidable; we are aware that the determination of echotypes by means of computerized ultrasound tissue characterization (UTC) could help to eliminate this variability. Moreover, contrast-enhanced ultrasound may be more efficient in assessing vascularity after PRP injection [14]. However, limited time in the ultrasound room is an intrinsic limitation of our health service organization, and our pragmatic research was performed in a general tertiary hospital. Third, we have included patients with both lateral and medial epicondylopathies, adding heterogeneity to our results. Further limitations include lack of a control group, small sample size, and loss of clinical data.

In summary, two-needle "wet" tenotomies reduced pain, enhanced function, and induced structural changes in elbow tendons over 20 months. Changes in tendon thickness and vascularity over time differed depending on the adjuvant; PRP had a stronger influence over temporal changes of vascularity and tendon thickness. There were relationships between thickness, echotexture, and vascularity, but these ultrasonographic characteristics showed no correlations with clinical outcomes.

Table 3 Distribution of patients according to affected tendon (i.e., medial or lateral), statin intake, and diabetes diagnosis

	No vessels	1 or 2 vessels on tendon surface	1 to 4 intratendinous vessels	5 to 8 intratendinous vessels	Vascular ball
Tendon affect, %					
Lateral	4.11	6.76	37.88	35.99	15.26
Medial	14.80	17.69	46.64	17.09	4.50
Statins, %					
No	4.09	6.72	37.79	36.06	15.34
Yes	14.15	17.74	46.62	17.01	4.48
Diabetes, %					
No	43.52	25.12	25.76	4.54	0.99
Yes	0.90	1.62	14.30	37.32	45.86

Author's personal copy

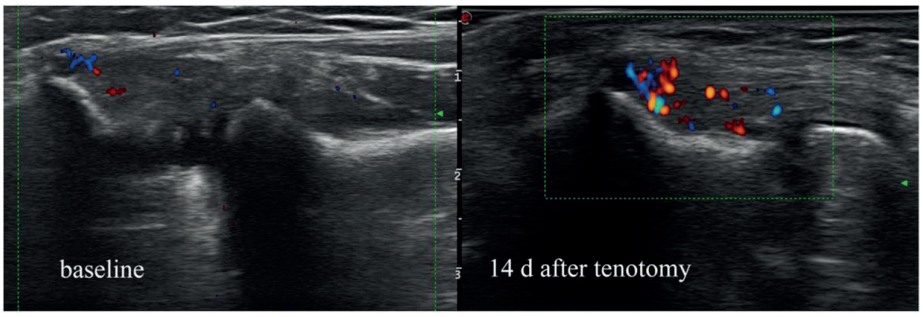


Fig. 3 Representative ultrasonograms of the common lateral extensor tendons at baseline and 14 days after tenotomy

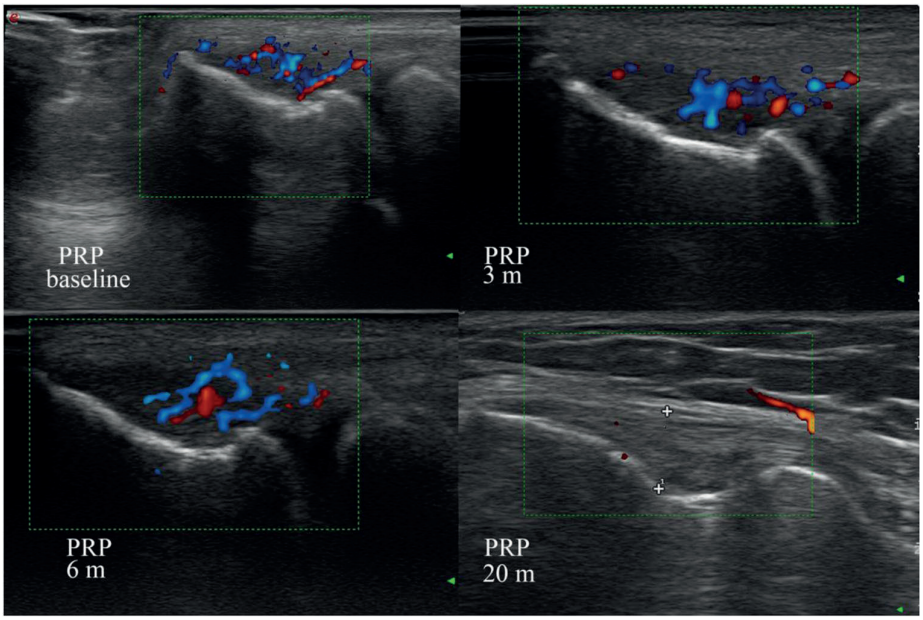


Fig. 4 Representative ultrasonograms at baseline and 3, 6, and 20 months after two tenotomies within 2 weeks interval with PRP as adjuvant

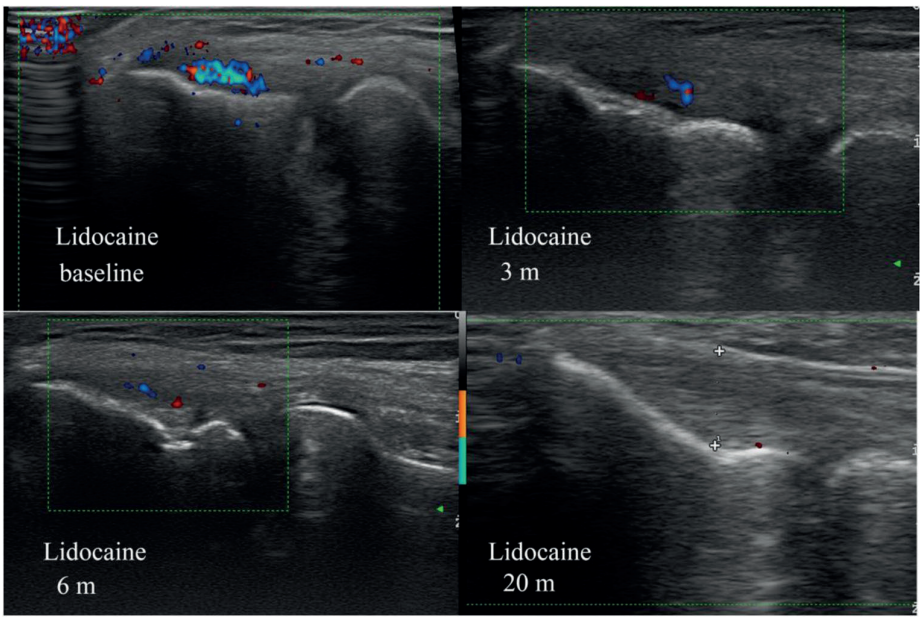


Fig. 5 Representative ultrasonograms at baseline and 3, 6, and 20 months after two tenotomies within 2 weeks interval with lidocaine as adjuvant

Author's personal copy

Acknowledgements The authors thank Igor Gonzalez for helping in recruitment, Nuria Zuazo for monitoring data acquisition, and Mercedes Moreno and Julio del Bosque for nursing assistance.

Funding This work was supported by "Instituto de Salud Carlos III", ISCIII (grant number PI13/01707 to I.A.) and co-financed by FEDER funds.

Compliance with ethical standards

Clinical trial registration: Ethics approval and consent to participate This study was approved by the Ethics Committee of Hospital Universitario Cruces (No. CEIC 13/04). All enrolled patients provided written informed consent. The study protocol was registered at ClinicalTrials.gov (identifier NCT01945528) EUDRACT No.2013–000478-32.

Conflict of interest The authors declare that they have no conflicts of interest.

Ethical approval All procedures performed in studies involving human participants were in accordance with the ethical standards of the institutional and/or national research committee and with the 1964 Helsinki Declaration and its later amendments or comparable ethical standards.

Publisher's note Springer Nature remains neutral with regard to jurisdictional claims in published maps and institutional affiliations.

References

1. D'Addona A, Maffulli N, Formisano S, Rosa D. Inflammation in tendinopathy. Surgeon. 2017;15(5):297–302.
2. Andia I, Martin JI, Maffulli N. Advances with platelet-rich plasma therapies for tendon regeneration. Expert Opin Biol Ther. 2018;18(4):389–98.
3. Mattie R, Wong J, McCormick Z, Yu S, Saltychev M, Laimi K. Percutaneous needle tenotomy for the treatment of lateral epicondylitis: a systematic review of the literature. PM&R. 2017;9(6):603–11.
4. Boesen AP, Hansen R, Boesen MI, Malliaras P, Langberg H. Effect of high-volume injection, platelet-rich plasma, and sham treatment in chronic midportion Achilles tendinopathy: a randomized double-blinded prospective study. Am J Sports Med. 2017;45(9):2034–43.
5. Rabago D, Lee KS, Ryan M, Chourasia AO, Sesto ME, Zgierska A, et al. Hypertonic dextrose and morrhuate sodium injections (prolotherapy) for lateral epicondylosis (tennis elbow): results of a single-blind, pilot-level, randomized controlled trial. Am J Phys Med Rehabil. 2013;92(7):587–96.
6. Fitzpatrick J, Bulsara M, Zheng MH. The effectiveness of platelet-rich plasma in the treatment of tendinopathy: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. Am J Sports Med. 2017;45(1):226–33.
7. Miller LE, Parrish WR, Roides B, Bhattacharyya S. Efficacy of platelet-rich plasma injections for symptomatic tendinopathy: systematic review and meta-analysis of randomised injection-controlled trials. BMJ Open Sport Exerc Med. 2017;3(1):e000237.
8. Saltychev M, Laimi K, Virolainen P. Fredericson M. Effectiveness of platelet-rich plasma in the treatment of lateral epicondylitis-a systematic review and metaanalysis. PMR+. 2018;1(1):7–16.
9. Titchener AG, Booker SJ, Bhamber NS, Tambe AA, Clark DI. Corticosteroid and platelet-rich plasma injection therapy in tennis elbow (lateral epicondylalgia): a survey of current U.K. specialist practice and a call for clinical guidelines. Br J Sports Med. 2015;49(21):1410–3.
10. Andia I, Rubio-Azpeitia E, Maffulli N. Platelet-rich plasma modulates the secretion of inflammatory/angiogenic proteins by inflamed tenocytes. Clin Orthop Relat Res. 2015;473(5):1624–34.
11. Yan R, Gu Y, Ran J, et al. Intratendon delivery of leukocyte-poor platelet-rich plasma improves healing compared with leukocyte-rich platelet-rich plasma in a rabbit Achilles tendinopathy model. Am J Sports Med. 2017;45(8):1909–20.
12. Rubio-Azpeitia E, Bilbao AM, Sánchez P, Delgado D, Andia I. The properties of 3 different plasma formulations and their effects on tendinopathic cells. Am J Sports Med. 2016;44(8):1952–61.
13. Lyras D, Kazakos K, Verettas D, Polychronidis A, Simopoulos C, Botaitis S, et al. Immunohistochemical study of angiogenesis after local administration of platelet-rich plasma in a patellar tendon defect. Int Orthop. 2010;34(1):143–8.
14. Chaudhury S, de La Lama M, Adler RS, et al. Platelet-rich plasma for the treatment of lateral epicondylitis: sonographic assessment of tendon morphology and vascularity (pilot study). Skelet Radiol. 2013;42(1):91–7.
15. de Jonge S, Tol JL, Weir A, Waarsing JH, Verhaar JA, de Vos RJ. The tendon structure returns to asymptomatic values in nonoperatively treated Achilles tendinopathy but is not associated with symptoms: a prospective study. Am J Sports Med. 2015;43(12):2950–8.
16. Zhang YJ, Xu SZ, Gu PC, Du JY, Cai YZ, Zhang C, et al. Is platelet-rich plasma injection effective for chronic Achilles tendinopathy? A meta-analysis. Clin Orthop Relat Res. 2018;476(8):1633–41.
17. Dones VC 3rd, Grimmer K, Thoirs K, Suarez CG, Luker J. The diagnostic validity of musculoskeletal ultrasound in lateral epicondylalgia: a systematic review. BMC Med Imaging. 2014;14:10.
18. Teggeler M, Schmitz M, Fink A, Jansen JACG, Pisters MF. Reliability and agreement of ultrasonographic thickness measurements of the common lateral extensors of the elbow. Ultrasound in Med & Biol. 2015;41(6):1592–8.
19. Martin JI, Merino J, Atilano L, Areizaga LM, Gomez-Fernandez MC, Burgos-Alonso N, et al. Platelet-rich plasma (PRP) in chronic epicondylitis: study protocol for a randomized controlled trial. Trials. 2013;14:410.
20. Martin JI, Atilano L, Merino J, Gonzalez I, Iglesias G, Areizaga LM, Bully P, Grandes G, Andia I. Predictors of outcome following tenotomy in patients with recalcitrant epicondylopathy. PM&R 2018 In Press.
21. Martin JI, Atilano L, Merino J, Gonzalez I, Iglesias G, Areizaga LM, Bully P, Grandes G, Andia I. Platelet-rich plasma versus lidocaine as tenotomy adjuvants in people with elbow epicondylopathy: a randomized controlled trial. J Orthop Surg res. Submitted 2018.
22. Krogh TP, Fredberg U, Stengaard-Pedersen K, Christensen R, Jensen P, Ellingsen T. Treatment of lateral epicondylitis with platelet-rich plasma, glucocorticoid, or saline: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial. Am J Sports Med. 2013;41(3):625–35.
23. 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. 2011;45(12):966–71.
24. Montalvan B, Le Goux P, Klouche S, Borgel D, Hardy P, Breban M. Inefficacy of ultrasound-guided local injections of autologous conditioned plasma for recent epicondylitis: results of a double-blind placebo-controlled randomized clinical trial with one-year follow-up. Rheumatology (Oxford). 2016;55(2):279–85.

Author's personal copy

25. Rha DW, Park GY, Kim YK, Kim MT, Lee SC. Comparison of the therapeutic effects of ultrasound-guided platelet-rich plasma injection and dry needling in rotator cuff disease: a randomized controlled trial. Clin Rehabil. 2013;27(2):113–22.
26. Stenhouse G, Sookur P, Watson M. Do blood growth factors offer additional benefit in refractory lateral epicondylitis? A prospective, randomized pilot trial of dry needling as a stand-alone procedure versus dry needling and autologous conditioned plasma. Skelet Radiol. 2013;42(11):1515–20.
27. Palaniswamy V, Ng SK, Manickaraj N, et al. Relationship between ultrasound detected tendon abnormalities, and sensory and clinical characteristics in people with chronic lateral epicondylalgia. PLoS One. 2018;13(10):e0205171.
28. 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. 2010;38(2):255–62.



Expert Opinion on Biological Therapy

ISSN: 1471-2598 (Print) 1744-7682 (Online) Journal homepage: http://www.tandfonline.com/loi/iebt20

Advances with platelet rich plasma therapies for tendon regeneration

Isabel Andia, Jose Ignacio Martin & Nicola Maffulli

To cite this article: Isabel Andia, Jose Ignacio Martin & Nicola Maffulli (2018): Advances with platelet rich plasma therapies for tendon regeneration, Expert Opinion on Biological Therapy, DOI: 10.1080/14712598.2018.1424626

To link to this article: https://doi.org/10.1080/14712598.2018.1424626

Accepted author version posted online: 04 Jan 2018.
Published online: 07 Jan 2018.

Submit your article to this journal

Article views: 7

View related articles

View Crossmark data

Full Terms & Conditions of access and use can be found at
http://www.tandfonline.com/action/journalInformation?journalCode=iebt20

Download by: [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] **Date:** 07 January 2018, At: 23:38

EXPERT OPINION ON BIOLOGICAL THERAPY, 2018
https://doi.org/10.1080/14712598.2018.1424626

Taylor & Francis
Taylor & Francis Group

REVIEW

Check for updates

Advances with platelet rich plasma therapies for tendon regeneration

Isabel Andia[a], Jose Ignacio Martin[a,b] and Nicola Maffulli[c,d]

[a]Regenerative Medicine Laboratory, BioCruces Health Research Institute, Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain; [b]Interventional Imaging. Department of Radiology, Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain; [c]Department of Musculoskeletal Disorders, University of Salerno School of Medicine and Dentristry, Salerno, Italy; [d]Barts and the London School of Medicine and Dentistry Centre for Sports and Exercise Medicine, Queen Mary University of London, London, England

ABSTRACT

Introduction: PRPs can be used in the management of tendinopathy if we improve our understanding of pathophysiology and to integrate molecular knowledge about PRP participation in healing mechanisms.

Areas covered: We provide new insights into the pathophysiology of tendinopathy, PRP therapies, and the potential links between both. We discuss the place of PRP in promoting tendon repair within what is currently understood regarding the role of PRP molecules in promoting tendon regeneration.

Expert opinion: Development of PRP treatments is challenging because a typical group of patients with tendinopathy does not exist, as it affects multiple segments of the population. Moreover, the pathophysiology and origin of pain are not elucidated yet. Although some degree of success has been achieved, PRP is not considered standard medical treatment, and it is largely not paid nor reimbursed by insurance companies. However, the arguments for using PRP in tendinopathy are increasing, and its potential to rebalance inflammation merits further research. Moreover, PRP contains tendoinductive factors that can drive the fate of stem cells. Tailoring PRPs to the specific needs of the host tendon has not been possible to date, because unanswered questions remain about the characteristics of tendinopathy within the different stages of progression.

ARTICLE HISTORY
Received 13 September 2017
Accepted 20 December 2017

KEYWORDS
Cells; cytokines; growth factors; healing; platelet-rich plasma; tendinopathy

Downloaded by [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] at 23:38 07 January 2018

1. Introduction

Tendinopathies are musculoskeletal conditions often induced by cumulative tendon microinjuries at sites of strain. Likewise, tendon conditions can result from excessive overload or trauma provoking acute macroscopic tendon tears. Clinically, tendinopathies are characterized by focal tendon soreness, lessened strength, pain upon activities, and progressive reduction in function [1]. Habitually, tendinopathy lesions are not reversible, as tendons do not heal because of their limited biological resources for repair [2]. Currently, there are no satisfactory treatments for tendon conditions, and they remain an important unmet medical need [3].

The burden of tendinopathy affects differentially diverse populations, including athletes, workers, and aging individuals, with different anatomic vulnerability and economic burden [4]. The prevalence of pathology and affected tendons varies according to biological background, mechanical requirements of the muscle-tendon unit, and endogenous risk factors [5]. In sport, the location of tendon injuries is often sport-specific, interfering extensively with practice, training, and competition. For example, Achilles tendinopathy has 18% prevalence in recreational and competitive runners [6], whereas patellar tendinopathy is common among jumping athletes [7]. On the other hand, elbow lesions (medial or lateral epicondylopathy) present frequently in the working population performing repetitive movements and have 7% prevalence in manual workers versus 1–3% in the normal population [8]. Likewise, the incidence of rotator cuff pathology is around 30% in the general population, and the prevalence of rotator cuff tears increases with age [9,10]. Patients' age also increases the probability of having other concomitant risk factors for tendinopathy, including hormonal imbalances, obesity, diabetes, and other metabolic diseases [5,11].

Over the past two decades, platelet rich plasmas (PRPs) have emerged as a biological treatment to repair or regenerate impaired or nonfunctional tissue in different medical areas. From the very beginning, they were adopted by sports medicine physicians and orthopedist surgeons with high expectations using PRP to accelerate return to play [12]. Media coverage of anecdotal outcomes in elite athletes and other celebrities raised fascination in the public [13], and enhanced demand of PRP treatments. However, a robust scientific understanding of how PRP works and clinical evidence supporting specific indications take time and resources to develop and are not available yet.

The molecular complexity of PRPs and its interactions with the different presentations of the host tissue constitute the core of PRP research. PRPs can serve to manipulate and enhance healing if we integrate molecular knowledge about PRP and its participation in healing mechanisms. An additional layer of complexity, very inciting for the researcher to challenge, is characterizing the host tissue conditions, namely stage of the disease and altered

CONTACT Isabel Andia isabel.andiaortiz@osakidetza.eus
© 2018 Informa UK Limited, trading as Taylor & Francis Group

Downloaded by [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] at 23:38 07 January 2018

Article Highlights

- The foundation of PRP application is to modify the molecular milieu by providing supraphysiological concentrations of platelets (and optionally leukocytes) at the injured/pathological tissues mimicking the initial stages of healing.
- However, the efficacy of PRP is controversial in tendinopathies, given the contrasting results from well performed randomized controlled trials.
- When extending current knowledge about PRP efficacy, it is important to consider the diversity of PRP formulations and provide clinical results with the full description of the PRP used and the protocol for application.
- The simplest way to customize PRP for the specific application consists of selecting among clinically available formulations, the timing of application, and the number of doses. These essentials of PRP treatment have not yet been optimized.
- Another logical step forward is to produce combinatory treatments by identifying what really matters to associate PRP with selected molecular inhibitors or enhancers for each clinical application. PRP has been combined with different cell phenotypes to treat tendon conditions.
- PRP is not a monotherapy; it should be used as part of a tendinopathy management program including load and pain management.

mechanisms in the pathological tendon with which PRP has to interact.

Here we provide insights into the current understanding of PRP therapies, as well as the recent advances in our knowledge of the pathophysiology of tendinopathy and the potential links between the two. To provide a framework for this link according to the most recent literature, we performed a comprehensive search in PubMed and MEDLINE using 'tendon' and 'platelet-rich plasma' as MeSH terms, and selected relevant articles published in the last 5 years. We also highlight the many opportunities that exist for further exploration and identification of strategically designed treatments associated with meaningful clinical benefit.

2. New insights into the pathogenesis of tendinopathy: implications for PRP treatment

Theories about the pathophysiology of tendinopathy are largely unproven and may diverge depending on tendon type because of unique mechanical requirements and anatomical specificities. Broadly speaking, they can be reduced to two hypotheses, not mutually exclusive: first the 'continuum model' [14] and second the 'failed healing theory' [15,16]. The former consists on initial reactive tendinopathy, followed by tendon disrepair and degenerative tendinopathy with no evidence of inflammation throughout the course [14]. Tendinopathic changes are typically progressive and silent, hampering research in early disease stages, as patients are asymptomatic until they reach a threshold [17].

On the other hand, according to the 'failed healing' theory [15,16], stalled healing mechanisms produce an innervated angiofibroblastic tissue, which is often painful and with reduced mechanical properties. Different interconnected biological processes, including inflammation, neuronal proliferation, imbalanced anabolism/catabolism, and dysregulated apoptosis, lie beneath the pathology.

2.1. Inflammation

Recent research has provided crucial information emphasizing the relevance of inflammation, as a signal mediated response to both injury and loading, and its failure to resolve in tendinopathy [18,19]. Various cell types, through their cross talk with positive and negative feedback loops, shape the main features of inflammation. Upon tendon injury, three cell sets including infiltrating immune cells (i.e. monocytes/macrophages, lymphocytes), resident immune cells (mast cells [20] and tissue macrophages) along with stromal local cells (tenocytes and precursor cells) cross talk and synchronize their activities to achieve healing or failed healing [21]. Converging themes in the pathophysiology are endogenous and exogenous risk factors that confer vulnerability to develop tendinopathy (Figure 1).

Loading modifies these interactions, thereby producing a network linking inflammation, loading, and healing. Interestingly, a similar expression of inflammatory molecules [22] and extracellular matrix (ECM) related genes (COL1, COL3, and TGF-β1) [23] were achieved upon tissue stress, no matter the triggering agent: physical aggression through needling or mechanical loading, indicating a convergence of these pathways.

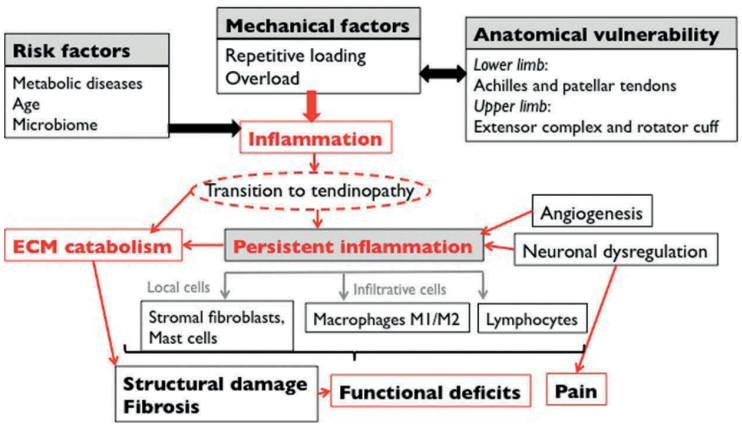


Figure 1. Converging themes in the pathophysiology are endogenous and exogenous risk factors that confer vulnerability to develop tendinopathy. Key advances in the last years consider inflammation as merging biological mechanisms crucial to the onset and perpetuation of tendinopathy.

Downloaded by [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] at 23:38 07 January 2018

Inflammation is a temporal and spatial concept, involving molecular and cell adaptions to stress. Contradicting the historical dogma of lack of inflammation in tendinopathy, a recent review of all data in the literature revealed increased numbers of macrophages and mast cells in tendinopathic tissue [24].

For effective resolution of inflammation to occur, differentiation of macrophages is required. In fact, macrophages adopt a continuum spectrum of different phenotypes, from inflammatory, that is M1 phenotype expressing IL-1b and other pro-inflammatory molecules, to healing phenotype, M2, synthesizing growth factors, cytokines, and specialized pro-resolving mediators (maresins) [25]. Balanced intensities and timing of macrophage transitions are key drivers of tendon regeneration and have become the focus of new therapeutic approaches [26].

Animal models reinforce the association between inflammation and healing and also emphasize the importance of loading and the network thereby produced. This was confirmed in an Achilles tendon transection model, in which the temporal pattern of immune cell infiltration of rats receiving botox into the calf muscles was compared with cage free moving rats. Loading prolonged the M1 phase (delayed the switch of M1-M2 macrophages assessed as CCR7/CD206 ratio) with more Treg cells (Treg/Thelper ratio) and made the tendon regenerate to bigger size [27].

Although M2 polarization is needed for the resolution of inflammation, excessive M2 activity can result in a fibrotic tendon. Consistent with this, obese mice with type II diabetes showed fibrotic tendon healing from excessive M2 activity [28]. As in other biological processes, a delicate balance between positive and negative feedback loops drives the resolution of inflammation and the quality of tendon repair.

Stromal tendon cells are not just passive players. They mediate inflammation by polarizing into pro-inflammatory states, synthesizing IL-6, IL-8, GRO-a, RANTES, and MCP-1, after exposure to IL-1β [29]. Interaction with IL-1β also enhanced the MMP/TIMP ratio. Furthermore, exposing normal tendon explants to IL-1β showed degradative processes of ECM cleavage and release of COMP analogous to tendinopathy [30]. In supraspinatus tendinopathy, inflammation was present in stromal cells with a different molecular signature, depending on the stage of severity. Data revealed activation of IFN-γ and NF-kB in the initial stages and STAT6 and glucocorticoid pathways in advanced stages [30].

Compromised cell survival [31] from crucial changes in ECM composition [32] is hypothesized in tendinopathy. On cell death, intracellular molecules named 'alarmins' are released to the extracellular space. They act as DAMPs signaling tendon stress through TLR activation in immune cells [33] (reviewed in Millar NL 2013). Immunohistochemistry has revealed increased alarmin S100A9 and HIF-1α in painful rotator cuffs compared to non-painful diseased tendons, whereas a different alarmin, HMGB1, was increased in non-painful tendons. In addition, IL-33 was reduced in diseased tendons compared to controls [34]. IL-33 is also involved in collagen synthesis, so it provides a link between inflammation and ECM synthesis. Further experiments using explant cultures exposed to IL-1β in supraspinatus tendinopathy revealed different gene and protein expression pattern (IL-6 and IL-8) than healthy controls. Immunostaining and flow cytometry also confirmed differences in podoplanin, VCAM-1, and CD106 [35]. Overall, these experimental data support evolving inflammation with different molecular patterns according to disease stages and pain symptoms [36,37].

As proposed by a recent paradigm, resolving rather than suppressing inflammation might be necessary for tendon healing [18]. In this context, it is necessary to identify molecular checkpoints that limit inflammation and enhance ECM synthesis. In this regard, IL-33, IL-17A, and IL-6 [38,39] were mechanically regulated and identified as molecular links between inflammation and collagen synthesis. Given the above picture, we can envisage future research on molecular panels of biomarkers to assess the stage of the condition and develop personalized biological treatments.

2.2. Fibrosis

Tendon fibrosis, a feature of tendinopathy, impairs normal ECM tension because of excessive deposition of collagen 1. As tendons are mechanosensitive, these changes in matrix stiffness compromise the maintenance of tendon fibroblast phenotype inducing their differentiation into myofibroblasts. Morita et al. [40] reviewed human and animal studies to explore the potential involvement of fibrotic factors, including TGFβ, BMPs, and CTGF in tendon conditions. Their expression was altered during healing in both acute and overuse injuries [40].

2.3. Neuronal dysregulation

Importantly, neuronal dysregulation is a feature of tendinopathy and is related to pain perception. Thus studies comparing tissues from painful versus pain-free patients can help in clarifying pain features in tendinopathy and the lack of correlation with tissue pathologic changes. According to published data reviewed by Dean et al. [41] there were clear changes in the peripheral neuronal phenotype with important involvement of glutamatergic transmission, through both metabotropic and ionotropic glutamate receptors [42]. In addition, autonomic and sensory pathways contribute to pain with spatial and temporal differences [43].

Different anatomical locations can display different patterns of immune response and distinct neural signaling. For example, nerve fascicles containing sensory afferents are present in the peritendinous tissue of painful epicondylopathy [44]. Upper limb tendinopathy was associated with central nervous system sensitization, whereas patellar and Achilles tendinopathies showed a peripheral pain state [45].

3. Plasma therapies in tendinopathies

Several hypotheses about PRP interfering with the pathogenesis and perpetuation of tendinopathy have been explored . Currently, there is no irrefutable evidence that PRP regenerates tendons structurally [46,47], even if clinical symptoms lessen in most controlled studies [48]. But, in a therapeutic continuum, partial healing or incomplete remission of symptoms is plausible at this stage of development of PRP technology. Certainly, as we discuss below, PRP formulations have to be tailored to specific conditions of the host tissue to obtain

Downloaded by [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] at 23:38 07 January 2018

meaningful clinical efficacy. The use of combination products (cells + PRP) is also plausible in advanced conditions [49–51].

3.1. Mechanisms of action

According to the failed healing hypothesis, the ideal tendinopathy treatment should modify the pro-inflammatory response and promote resolution actively, encouraging robust and rapid matrix repair. Inducing an acute burst of inflammation in chronic tendinopathies may finish up initiating its resolution and subsequent healing.

PRPs can modulate inflammation and healing through different modes of action, not mutually exclusive. First, activated platelets can establish direct platelet–immune cell interactions. In doing so, they can reduce the proliferation of T lymphocytes and their differentiation toward T-helper type 17 lineage [52]. Using direct cell-binding mechanisms, platelets can also modulate the actions of macrophages [53] and their polarization state, which is associated with persistence or resolution of inflammation. Direct platelet–cell interactions can be favored using activated platelets resuspended in buffer without plasma.

Second, upon activation of the coagulation cascade, PRPs release a large pool of extracellular ligands (the so-called secretome) that exert their actions via agonist properties at cognate receptors. In doing so, they regulate multiple cell functions, including inflammation, proliferation, differentiation, apoptosis, and matrix anabolism. All these mechanisms can be activated because all this pool of extracellular ligands signal through different receptors associated with diverse signaling pathways. These interactions trigger diverse expression patterns on various cell types depending on the constitutive and inducible receptor expression. In addition, but less explored, microparticles and exosomes (nano and microvesicles) are involved in intercellular communication and can modulate tissue responses [54,55].

Lastly, indirectly, PRPs can modify the biological status of pathological tissue by occupying the physical space, thereby altering the cytokine profile and removing signals of inflammation or ECM catabolism. This steric washout mechanism is favored using high volumes and might be assimilated to saline injections ('placebo'). It does not exclude former described actions.

According to these three mechanisms of action, spatial delivery of the product matters as cell signatures in the proper avascular tendon differ from those in the enthesis and surrounding vascularized structures, including endotenon, paratenon, tendon sheath, or bursa [56,57]. Furthermore, the design of specific treatments for the enthesis could be anticipated. When PRP was combined with kartogenin, fibrocartilage was formed in enthesis lesions produced with a biopsy punch [58]. This combination treatment, PRP plus kartogenin, also enhanced tendon graft integration within the bone tunnel during ACL reconstruction in a rat model [59].

3.2. Main cellular targets of PRP

In the last few years, advances with PRP for tendon regeneration were focused first on immune-modulatory actions, and second on stromal cell biology (tenocytes and precursors) in laboratory controlled experiments. *In vivo*, both actions occur in parallel as PRP modulates the cross talk between the different cell phenotypes.

3.2.1. PRP and innate immune cells

PRP is immunomodulatory acting on both the infiltrative and local immune cells, i.e. resident macrophages and resident mast cells. Catecholamines, histamine, and other metabolites in PRP induce vascular permeability and favor transmigration across the endothelium of various leukocyte subsets. PRP application produces gradients of chemoattractants for neutrophils by means of β-thromboglobulin (also known as neutrophil activating peptide-2, (NAP-2)), CXCL1/GRO, ENA78/CXCL5, and IL-8 among others. In addition, infiltration of monocytes is driven by MCP-1 and RANTES gradients.

Other abundant molecules within PRP can modulate the polarization of macrophages. For example, platelet factor-4 (PF-4), representing 25% of the α-granule content has been involved in macrophage polarization [60]. However, genome wide expression profiling data in rats did not show any effect on macrophage polarization when PRP was compared to the platelet poor plasma (PPP) [61]. Apparently, no clear single definite pathway is strongly targeted with PRP, but according to genome wide expression arrays modulated pathways included NF-kB and TNF-α signaling when compared to PPP. This is part of a larger program, as a decreased expression of ECM genes and enhanced autophagy related genes and ROS were also identified [61].

3.2.2. PRP and stromal tendon cells

At the beginning, the common paradigm of PRP healing actions was based on the proliferative potential of growth factors, crucial for achieving a critical number of local stromal cells. PRP increases proliferation of tendon cells by modulating Stat3 and p27 to upregulate expression of cyclins and cyclin-dependent kinases [62].

However, PRP research should not be restricted to growth factors but broaden to take into account the biological actions of small molecules released from dense granules. Furthermore, the crucial signaling actions of cytokines and chemokines form part of a larger regeneration program.

Stem cells have great importance in PRP therapies, as they contribute to healing or nonhealing. Current data indicated that there might be different sources of tendon stem cells with multilineage potential: vascular and nonvascular. The former can be found in epitenon and endotenon, harbored by the wall of capillaries and blood vessels [63], and the latter in the proper tendon [64].

PRP can enhance mobilization of stem cells from other sources to the location of the injury [65]. Actually, platelets provide initial cues, such as PDGF-B, bFGF, and CXCL5, for the homing of circulating precursor cells to the injury [66]. PF-4 works in cooperation with PDGF and CXCL7 to activate fibroblasts' migration [67]. As a tendon is connected to muscle, stem and progenitor cells of skeletal muscle might also be a possible source of stem cells for tendon repair after injury.

Not only migration, but the fate of these endogenous stem cells can be influenced by the cytokines contained in PRP. Recent work has shown that platelet-rich releasates (that is the

Downloaded by [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] at 23:38 07 January 2018

soluble fraction obtained after the coagulation of PRP) promoted tenogenic differentiation of progenitor cells [68,69] and leukodepleted PRP was safer than leukocyte-rich PRP (L-PRP) [70]. Animal experiments [70,71] corroborated these hypotheses as activation of the niche with PRP promoted regeneration of rat Achilles tendon in two models: acute rupture in rats [71] and collagenase induced tendinopathy [65].

Most of the signaling molecules from α-granules are active in the picogram to nanogram dose-range. But PF-4 is in the microgram range [72].

Migration, proliferation, and adequate differentiation underlie regeneration. Data from individual actions of growth factors (isolated from the full molecular pool of PRP) can serve to formulate hypotheses, but cannot be extrapolated. In this sense, *in vitro* and *in vivo* data [73] revealed activation of the tendon niche with CTGF (present in PRP), in particular CD146+ TSCs. These cells underwent robust proliferation and differentiated into tenocytes after 7 days, leading to collagen organization and tendon regeneration.

Importantly, the activities of platelet secretome and plasma circulating elements are regulated at multiple levels. In particular, TGF-β, IGF-I, and HGF are inactive while circulating and need proteolytic activation to participate in healing [74,75]. Recent data indicate that tissue injury activates a pro-HGFA enzyme, which in turn renders HGF active. This is an important mechanism: HGF interaction with the local niche enhances tendon regeneration [76].

3.3. PRP and apoptosis

Platelets control the balance from apoptosis toward cell survival by secreting mediators with anti- and pro-apoptotic functions [77]. This is relevant for the treatment of tendon conditions as excessive apoptosis was identified [31]. Platelets' microparticles can enhance survival through phosphorylation and activation of Akt, which inactivates the pro-apoptotic BCL-2 family member BAD [55]. The antiapoptotic effects of PRP can also be attributed to PRP secretome, including HGF, SDF-1α, serotonin, ADP, and sphingosine-1-phosphate IGF-1, IGFBP1, IGFBP2, BDNF, TIMP-1, PROC, INHBA, TAC1 [78]. On the other hand, platelets release TNF-α related ligands, which are pro-apoptotic, including CD95 (FAS-L), CD154 (CD40L), Apo2-L (TRAIL), Apo3-L (TWEAK), and LIGHT [76]. Mostly, PRP can augment the molecular milieu and decisively define the delicate balance between pro- and anti-survival molecules.

Furthermore, in the actual context of tendon management with anesthetics [79] and corticosteroids [80] (reviewed in Abate 2017), local cytotoxicity is acknowledged and could be potentially counteracted by PRP. Whether PRP affords protection against the deleterious effects of lidocaine and other commonly used aminoamide local anesthetics (such as ropivacaine, mepivacaine, or bupivacaine) and corticosteroids is controversial. Inhibition of apoptotic pathways (i.e. inactivation of pro-apoptotic proteins, regulation of caspases' activities) or activation of cell survival pathways has been explored *in vitro* but timing and doses strongly influence results, which are not conclusive.

3.4. Differences between plasma formulations

Different formulations, with differing biological effect *in vitro*, are obtained depending on the method of preparation or commercial protocol. The hypothesis that clinical outcomes were influenced by PRP formulation encouraged the development of classification systems according to constituents and their stoichiometry [81]. In experimental research, studies comparing leukodepleted PRP and L-PRP showed that the presence of leukocytes and platelet count influenced inflammation and matrix turnover (MMPs, ADAMTs, TIMPs). *In vitro* 3D cultures showed that L-PRP and PRP are chemotactic for tendon cells from healthy and pathological tissues. PPP did not stimulate cell migration. On the other hand, L-PRP is more pro-inflammatory than pure PRP or PPP *in vitro* as assessed by gene expression and further confirmed with protein assessments (IL-6, IL-8, MCP-1, GRO-α, RANTES) [82]. Accordingly, L-PRP induced higher inflammation (enhanced TNF-α and IL-1β/IL-1ra ratio) than pure PRP in tendon explants [83] and also in tendinopathic cells [84]. Animal models of collagenase induced tendinopathy confirmed these data. Intra-tendon delivery of pure PRP was better than L-PRP as assessed by MRI, transmission electron microscopy, and histology (analyzed under polarized light microscopy). Four weeks after treatment, L-PRP treated tendons displayed higher signal intensities on T2 mapping indicative of inflammatory edema [85]. In addition to being pro-inflammatory, L-PRP induced non-tenocyte differentiation of tendon stem cells [67,68]. PRP and PPP stimulated cells to produce ECM in more degree than L-PRP. The number of platelets [86] and the ratio platelets:leukocytes [87] influenced the synthesis of ECM, with higher platelet concentrations being detrimental for tissue anabolism.

Up to 2014, most clinical studies reported the use of L-PRP (in 97% of patients) [88], but later studies are testing the efficacy of pure PRP. Direct clinical comparisons between both products in tendinopathy are lacking.

Biological differences between these formulations can improve our treatments, but we have to establish specific indications. Furthermore, we have to consider the specific location of the injury (i.e. musculotendinous or enthesis), as muscle injuries can heal better with plasma without platelets (i.e. PPP). The reason is that PPP promotes the differentiation of satellite cells into myoblasts instead of promoting proliferation, as occurs with PRP [89].

4. How effective is PRP in treating tendinopathies?

Although some degree of success has been achieved, PRP is not considered standard medical treatment nor is it paid by insurance companies because of the lack of strong evidence about its efficacy and non-demonstrated cost-effectiveness. However, clinical research is evolving continuously, and data from new randomized clinical trials can help to overcome heterogeneity in meta-analyses. In general, pain relief is the main outcome measurement used when pooling data from different studies performed at different anatomical locations [48,88]. Other measures of outcome include patient self-reported scores. However,

Downloaded by [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] at 23:38 07 January 2018

the variability of formulations, volumes, procedures for application, number of interventions and interval between them as well as the heterogeneity of outcome measurements and comparators limit the applicability of these statistical results.

Fitzpatrick et al. pooled data from 18 clinical studies, 17 of which had low or medium risk of bias involving all anatomical areas, performed a network meta-analysis, and found that PRP is more efficient than other treatments. Moreover, they found that LR-PRP yielded better outcomes than leukodepleted PRPs. However, these analyses of data are blurred because of the heterogeneity of the comparators. These results might fit with the hypothesis of unresolved inflammation and triggering a bout of inflammation with L-PRP thus activating subsequent healing mechanisms.

Reviews and meta-analyses focusing on particular anatomical areas are imperative, as lower and upper limb tendinopathies differ with different segments of the population being affected. Using the subgroup approach, patellar tendinopathy and epicondylitis have been reviewed. The problem when performing subgroups is power reduction. For example, a very recent review and meta-analysis [90] of PRP intervention in patellar tendinopathy found only two eligible randomized controlled studies [91,92], involving one and two injections, respectively, for recalcitrant patients. Control groups differed (ESWT and dry needling). When pooling all the results, PRP was better than controls at the common longer follow-up (6 months). The number of patients is reduced and the heterogeneity of interventions claims more research in this specific application. In a recent update of clinical data, we identified 15 randomized clinical studies in epicondylar tendinopathy. A common result after combination of studies is improvement in the middle term (6 months) but not in the short term [93], comparators include corticosteroids, peripheral blood, saline, anesthetic, dry-needling, physical therapy, and surgery. When 10 of these studies were combined in a network meta-analysis (peripheral blood, corticosteroids, and PRP), results showed that both PRP and blood can improve pain and enhance function but patients treated with blood had a higher risk of adverse event [94]. The fact that epicondylopathy has free-pain periods achieved spontaneously hinders interpretation of results and enhancement of study design.

Correlations between cytokines and clinical outcomes are an emerging area of research and can help in treatment optimization. Lim et al. [95], in a controlled study including 156 patients with 24 weeks follow-up, measured PDGF-*AB*, -BB, TGF-β, VEGF, EGF and IL-1β, and their association with clinical and imaging outcomes was examined. TGF-β and VEGF levels increased significantly with changes in MRI grade. TGF-β significantly correlated with outcome and MRI in PRP treated patients. Accordingly, Lyras et al. [96] found enhanced expression of TGF-β in patellar tendons of rabbits treated with PRP. TGF-β is a pleiotropic factor, and reduced expression of TGF-β1, TGF-βR1 and R2 compared to healthy tissue was found in pathologic rotator cuff [97].

The urge for tendinopathy treatments generates novel hypothesis. In the past years, we witnessed evolving data revealing how the microbiota shapes the immune response. In this context, recent research has identified the presence of bacteria (predominantly Staphylococcus genus) in 5 out of 20 samples obtained from spontaneous Achilles tendon ruptures during reconstructive surgery [98]; hamstring tendons used as control did not show any bacterial contamination. Intriguingly, a recent experimental study has reported differential PRP healing effects related to microbiota in rat Achilles tendons [99]. Taken together, these results point out the crucial role of the immune system in healing and open a new avenue for research.

Despite the socioeconomic impact of tendinopathy public awareness is low. However, new insights into the pathogenesis of tendinopathy and the optimization of PR therapies may help to trigger healing mechanism, mainly by modification of the molecular microenvironment. But PRP is not a monotherapy, it can be used in combination with cells and as part of a broader treatment program that includes load and pain management.

5. Expert opinion

Tendinopathy is not a single entity, and a single etiopathogenetic hypothesis cannot fit all types and locations of tendinopathy. Development of PRP or other biological treatments is challenging because the typical group of patients with tendinopathy (age, sex, bone mass index, risk factors) does not exist as it affects multiple segments of the population with different mechanical requirements. The failed healing theory is what is currently explored as it fits with histopathological findings. However, these findings do not correlate with the clinical symptomatology, mainly pain.

A new understanding of the reason, why healing fails to resolve in tendinopathy, is needed to develop clinically meaningful biological therapies. Recent research on pathogenic mechanisms of tendinopathy has focused on immune modulation and inflammation as merging biological processes involved in healing or failed healing. Specifically, finding new methods for driving polarization of macrophages toward regenerative phenotypes is a focus of PRP research.

Failed resolution of inflammation is viewed as an active process that needs to be counteracted. In this context, the foundation of PRP is to provide supraphysiological concentrations of chemokines and other cytokines involved in immune regulation. In doing so, PRP can rebalance the molecular milieu within the pathological tissue and can have an active role in resolving inflammation thereby achieve healing. Thus, in this context 'medicine' is not a 'drug' but the 'molecular milieu' we produce. Therefore, PRP application should not be driven by the same concepts involved in drug administration, and development of application protocols (volume, number of injections, and spatial distribution of the product) is essential [100–103].

PRP is not a monotherapy but with knowledge from further studies it might be used to create an optimal macromolecular milieu for recovery/regeneration as part of a broader treatment program.

The arguments for using PRP for tendinopathy are increasing, and the field is progressing based on good focused science revealing that PRP contains tendoinductive factors, which can activate and differentiate endogenous stem cells. Improvement of PRP therapies can be achieved by creating

Downloaded by [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] at 23:38 07 January 2018

combination products with mesenchymal cells. Actually, PRP may be able to protect stem cells to maintain their regenerative potential under severe host conditions. But not all PRP formulations are tendoinductive: thus, they should be carefully tailored according to the desired effect (L-PRP is not tenogenic). Furthermore, precise protocols for PRP application and specific guidance cues have to identify the spatial location of tendon stem cells. Not only temporal but also spatial delivery merits further investigation.

Although some degree of clinical success has been achieved, PRP is not considered standard medical treatment, nor is it paid by insurance companies. The variability of PRP formulations hinders interpretation of research data and delays optimization of treatment protocols. Moreover, clinical studies show that PRP works only in selected patients. The concept that young blood is more effective than old was developed in parabiotic experiments with rats mainly in Alzheimer disease, and offers a new way for identification of factors that can enhance healing [104]. Using allogeneic young PRP from healthy subjects might help in some patients [105].

No clear definite pathway is strongly targeted by PRPs; thus, the identification of useful parameters for quality control has not been possible to date. The option of lyophilizing 'high quality' PRPs, while preserving their biological activities, may be a promising future [106].

Unanswered questions remain mainly about the characteristics of tendinopathy within the different stages of progression, in specific anatomical areas. Progress can be based on identifying subtypes of tendinopathy, the ambition is to find out biomarker panels and/or imaging markers. This review gives hope for tendon regeneration by tailoring PRPs to intervene at various points along the pathway of the disease.

Funding

ISCiii cofunded with FEDER PI13/01707

Declaration of interest

The authors have no relevant affiliations or financial involvement with any organization or entity with a financial interest in or financial conflict with the subject matter or materials discussed in the manuscript. This includes employment, consultancies, honoraria, stock ownership or options, expert testimony, grants or patents received or pending, or royalties.

References

Papers of special note have been highlighted as either of interest (•) or of considerable interest (••) to readers.

1. Rees JD, Maffulli N, Cook J. Management of tendinopathy. Am J Sports Med. 2009;37(9):1855–1867.
2. Nourissat G, Berenbaum F, Duprez D. Tendon injury: from biology to tendon repair. Nat Rev Rheumatol. 2015;11(4):223–233.
3. Andia I, Maffulli N. Meeting current musculoskeletal health demand through deeper insights into tissue homeostasis and regeneration. Expert Opin Biol Ther. 2015;15(6):767–771.
4. Hopkins C, Fu S-C, Chua E, et al. Critical review on the socio-economic impact of tendinopathy. Asia-Pacific J Sports Med Arthr Rehab Tec. 2016;4:9–20.
5. Abate M, Schiavone C, Salini V, et al. Occurrence of tendon pathologies in metabolic disorders. Rheumatology (Oxford). 2013;52(4):599–608.
6. Magnussen RA, Dunn WR, Thomson AB. Nonoperative treatment of midportion Achilles tendinopathy: a systematic review. Clin J Sport Med. 2009;19(1):54–64.
7. Lian OB, Engebretsen L, Bahr R. Prevalence of jumper's knee among elite athletes from different sports: a cross-sectional study. Am J Sports Med. 2005;33(4):561–567.
8. Gregory BP, Wysocki RW, Cohen MS. Controversies in surgical management of recalcitrant enthesopathy of the extensor carpi radialis brevis. J Hand Surg Am. 2016;41(8):856–859.
9. Diebold G, Lam P, Walton J, et al. Relationship between age and rotator cuff retear: a study of 1,600 consecutive rotator cuff repairs. J Bone Joint Surg Am. 2017;99(14):1198–1205.
10. Monrad N, Ganestam A, Kallemose T, et al. Alarming increase in the registration of degenerative rotator cuff-related lesions a nationwide epidemiological study investigating 244,519 patients. Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc. 2017 Jun 24. DOI:10.1007/s00167-017-4626-3
11. Oliva F, Piccirilli E, Berardi AC, et al. Hormones and tendinopathies: the current evidence. Br Med Bull. 2016;117(1):39–58.
12. McNamee MJ, Coveney CM, Faulkner A, et al. Ethics, evidence based sports medicine, and the use of platelet rich plasma in the English premier league. Health Care Anal. 2017. DOI:10.1007/s10728-017-0345-7
13. Rachul C, Rasko JEJ, Caulfield T. Implicit hype? Representations of platelet rich plasma in the news media. PLoS One. 2017;12(8):e0182496.
14. Cook JL, Rio E, Purdam CR, et al. Revisiting the continuum model of tendon pathology: what is its merit in clinical practice and research? Br J Sports Med. 2016;50(19):1187–1191.
15. Fu SC, Rolf C, Cheuk YC, et al. Deciphering the pathogenesis of tendinopathy: a three-stages process. Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol. 2010;2:30.
16. Del Buono A, Battery L, Denaro V, et al. Tendinopathy and inflammation: some truths. Int J Immunopathol Pharmacol. 2011;24:45–50.
17. Abate M, Silbernagel KG, Siljeholm C, et al. Pathogenesis of tendinopathies: inflammation or degeneration? Arthritis Res Ther. 2009;11(3):235.
18. Millar NL, Murrell GA, McInnes IB. Inflammatory mechanisms in tendinopathy - towards translation. Nat Rev Rheumatol. 2017;13(2):110–122.
19. D'Addona A, Maffulli N, Formisano S, et al. Inflammation in tendinopathy. Surgeon. 2017;15:297–302.
20. Behzad H, Tsai SH, Nassab P, et al. Mechanism of mast cell adhesion to human tenocytes in vitro. J Orthop Res. 2015;33(1):9–16.
21. Andia I, Sanchez M, Maffulli N. Tendon healing and platelet-rich plasma therapies. Expert Opin Biol Ther. 2010;10(10):1415–1426.
22. Hammerman M, Aspenberg P, Eliasson P. Microtrauma stimulates rat Achilles tendon healing via an early gene expression pattern similar to mechanical loading. J Appl Physiol (1985). 2014;116(1):54–60.
23. Heinemeier KM, Lorentzen MP, Jensen JK, et al. Local trauma in human patellar tendon leads to widespread changes in the tendon gene expression. J Appl Physiol (1985). 2016;120(9):1000–1010.
    - **This experimental work provides information about the molecular consequences of tendon needling.**
24. Dean BJ, Gettings P, Dakin SG, et al. Are inflammatory cells increased in painful human tendinopathy? A systematic review. Br J Sports Med. 2016;50(4):216–220.
    - **The authors review all the evidences of inflammatory cell infiltrations in tendinopathy.**
25. Dalli J, Serhan C. Macrophage proresolving mediators-the when and where. Microbiol Spectr. 2016 Jun;4(3). DOI:10.1128/microbiolspec
    - **These author emphasize that resolution of inflammation is an active process.**

Downloaded by [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] at 23:38 07 January 2018

26. Gelberman RH, Linderman SW, Jayaram R, et al. Combined administration of ASCs and BMP-12 promotes an M2 macrophage phenotype and enhances tendon healing. Clin Orthop Relat Res. 2017;475(9):2318–2331.
27. Blomgran P, Blomgran R, Ernerudh J, et al. A possible link between loading, inflammation and healing: immune cell populations during tendon healing in the rat. Sci Rep. 2016;6:29824.
• **Relevant research on search of molecular checkpoints in tendon healing.**
28. Ackerman JE, Geary MB, Orner CA, et al. Obesity/Type II diabetes alters macrophage polarization resulting in a fibrotic tendon healing response. PLoS One. 2017;12(7):e0181127.
•• **Insights about the influence of diabetes in macrophage polarization and fibrosis.**
29. Andia I, Rubio-Azpeitia E, Maffulli N. Platelet-rich plasma modulates the secretion of inflammatory/angiogenic proteins by inflamed tenocytes. Clin Orthop Relat Res. 2015;473(5):1624–1634.
•• **Experimental evidence about molecular polarization of stromal tendon cells in the presence of inflammatory agents is dampened with PRP.**
30. Dakin SG, Smith RK, Heinegård D, et al. Proteomic analysis of tendon extracellular matrix reveals disease stage-specific fragmentation and differential cleavage of COMP (cartilage oligomeric matrix protein). J Biol Chem. 2014;289(8):4919–4927.
31. Osti L, Buda M, Del Buono A, et al. Apoptosis and rotator cuff tears: scientific evidence from basic science to clinical findings. Br Med Bull. 2017;122(1):123–133.
32. Attia M, Scott A, Carpentier G, et al. Greater glycosaminoglycan content in human patellar tendon biopsies is associated with more pain and a lower VISA score. Br J Sports Med. 2014;48(6):469–475.
33. Millar NL, Murrell GA, McInnes IB. Alarmins in tendinopathy: unravelling new mechanisms in a common disease. Rheumatology. 2013;52:769–779.
34. Mosca MJ, Carr AJ, Snelling SJB, et al. Differential expression of alarmins-S100A9, IL-33, HMGB1 and HIF-1α in supraspinatus tendinopathy before and after treatment. BMJ Open Sport Exerc Med. 2017;3(1):e000225.
•• **Importance of alarmins in different stages of tendon pathology.**
35. Dakin SG, Buckley CD, Al-Mossawi MH, et al. Persistent stromal fibroblast activation is present in chronic tendinopathy. Arthritis Res Ther. 2017;19(1):16.
36. Hammerman M, Blomgran P, Dansac A, et al. Different gene response to mechanical loading during early and late phases of rat Achilles tendon healing. J Appl Physiol (1985). 2017 Jul;13:jap.00323.2017.
•• **Molecular differences in different stages of tendon conditions.**
37. Çirci E, Akman YE, Şükür E, et al. Impact of platelet-rich plasma injection timing on healing of Achilles tendon injury in a rat model. Acta Orthop Traumatol Turc. 2016;50(3):366–372.
38. Millar NL, Gilchrist DS, Akbar M, et al. MicroRNA29a regulates IL-33-mediated tissue remodelling in tendon disease. Nat Commun. 2015;10(6):6774. DOI:10.1038/ncomms7774
•• **This research provides a molecular link between inflammation and remodeling.**
39. Millar NL, Akbar M, Campbell AL, et al. IL-17A mediates inflammatory and tissue remodelling events in early human tendinopathy. Sci Rep. 2016;6:27149.
40. Morita W, Snelling SJ, Dakin SG, et al. Profibrotic mediators in tendon disease: a systematic review. Arthritis Res Ther. 2016;18(1):269.
41. Dean BJ, Franklin SL, Carr AJ. The peripheral neuronal phenotype is important in the pathogenesis of painful human tendinopathy: a systematic review. Clin Orthop Relat Res. 2013;471(9):3036–3046.
42. Dean BJ, Snelling SJ, Dakin SG, et al. Differences in glutamate receptors and inflammatory cell numbers are associated with the resolution of pain in human rotator cuff tendinopathy. Arthritis Res Ther. 2015;17:176.
43. Ackermann PW, Franklin SL, Dean BJ, et al. Neuronal pathways in tendon healing and tendinopathy–update. Front Biosci (Landmark Ed). 2014;19:1251–1278.
44. Spang C, Alfredson H. Richly innervated soft tissues covering the superficial aspect of the extensor origin in patients with chronic painful tennis elbow - Implication for treatment? J Musculoskelet Neuronal Interact. 2017;17(2):97–103.
45. Plinsinga ML, van Wilgen CP, Brink MS, et al. Patellar and Achilles tendinopathies are predominantly peripheral pain states: a blinded case control study of somatosensory and psychological profiles. Br J Sports Med. 2017.
•• **Important insights into pain symptomatology.**
46. Fukawa T, Yamaguchi S, Watanabe A, et al. Quantitative assessment of tendon healing by using MR T2 mapping in a rabbit achilles tendon transection model treated with platelet-rich plasma. Radiology. 2015;276(3):748–755.
47. Geburek F, Gaus M, van Schie HT, et al. Effect of intralesional platelet-rich plasma (PRP) treatment on clinical and ultrasonographic parameters in equine naturally occurring superficial digital flexor tendinopathies – a randomized prospective controlled clinical trial. BMC Vet Res. 2016;12(1):191.
48. Fitzpatrick J, Bulsara M, Zheng MH. The effectiveness of platelet-rich plasma in the treatment of tendinopathy: a meta-analysis of randomized controlled clinical trials. Am J Sports Med. 2017;45(1):226–233.
•• **Recent systematic review and meta-analysis of tendon conditions treated with PRP.**
49. Andia I, Abate M. Platelet rich plasma: combinational treatment modalities for musculoskeletal condition. Front Med. 2017. DOI:10.1007/s11684-017-0551-6
50. Rubio-Azpeitia E, Sánchez P, Delgado D, et al. Adult cells combined with platelet-rich plasma for tendon healing: cell source options. Orthop J Sports Med. 2017;5(2):2325967117690846.
51. Teng C, Zhou C, Xu D, et al. Combination of platelet-rich plasma and bone marrow mesenchymal stem cells enhances tendon-bone healing in a rabbit model of anterior cruciate ligament reconstruction. J Orthop Surg Res. 2016;11(1):96.
52. Zamora C, Bardina J, Diaz-Torné C, et al. Binding of platelets to lymphocytes: a potential anti-inflammatory therapy in rheumatoid arthritis. J Immunol. 2017;198(8):3099–3108.
•• **Description of potential therapeutic actions of platelets in RA.**
53. Jl L, Zarbock A, Hidalgo A. Platelets as autonomous drones for hemostatic and immune surveillance. J Exp Med. 2017 Jul 18. DOI:10.1084/jem.20170879
54. Guo SC, Tao SC, Yin WJ, et al. Exosomes derived from platelet-rich plasma promote the re-epithelization of chronic cutaneous wounds via activation of YAP in a diabetic rat model. Theranostics. 2017;7(1):81–96.
55. Burnouf T, Goubran HA, Chou ML, et al. Platelet microparticles: detection and assessment of their paradoxical functional roles in disease and regenerative medicine. Blood Rev. 2014;28(4):155–166.
56. Papalia R, Zampogna B, Vadala G, et al. Are plarelet-rich plasma injections more effective in tendinopathy or enthesopathy? J Pain Relief. 2017;6(3).
57. van Dijk CN, Van Sterkenburg MN, Wiegerink JI, et al. Terminology for Achilles tendon related disorders. Kssta. 2011;19(5):835–841.
58. Zhang J, Yuan T, Zheng N, et al. The combined use of kartogenin and platelet-rich plasma promotes fibrocartilage formation in the wounded rat Achilles tendon entheses. Bone Joint Res. 2017;6(4):231–244.
•• **Insights into a potential combination therapy for the enthesis.**
59. Zhou Y, Zhang J, Yang J, et al. Kartogenin with PRP promotes the formation of fibrocartilage zone in the tendon-bone interface. J Tissue Eng Regen Med. 2017 Jan 27;3445–3456. DOI:10.1002/term.2258
60. Vasina EM, Cauwenberghs S, Feijge MA, et al. Microparticles from apoptotic platelets promote resident macrophage differentiation. Cell Death Dis. 2011;2:e211.

Downloaded by [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] at 23:38 07 January 2018

61. Hudgens JL, Sugg KB, Grekin JA, et al. Platelet-rich plasma activates proinflammatory signaling pathways and induces oxidative stress in tendon fibroblasts. Am J Sports Med. 2016;44(8):1931–1940.
62. Yu TY, Pang JH, Wu KP, et al. Platelet-rich plasma increases proliferation of tendon cells by modulating Stat3 and p27 to up-regulate expression of cyclins and cyclin-dependent kinases. Cell Prolif. 2015;48(4):413–420.
63. Keramaris NC, Kaptanis S, Moss HL, et al. Endothelial progenitor cells (EPCs) and mesenchymal stem cells (MSCs) in bone healing. Curr Stem Cell Res Ther. 2012;7(4):293–301.
64. Lui PP, Wong OT. Tendon stem cells: experimental and clinical perspectives in tendon and tendon-bone junction repair. Muscles Ligaments Tendons J. 2012;2(3):163–168.
65. Chen L, Liu JP, Tang KL, et al. Tendon derived stem cells promote platelet-rich plasma healing in collagenase-induced rat Achilles tendinopathy. Cell Physiol Biochem. 2014;34(6):2153–2168.
66. Kreuz PC, Krüger JP, Metzlaff S, et al. Platelet-rich plasma preparation types show impact on chondrogenic differentiation, migration, and proliferation of human subchondral mesenchymal progenitor cells. Arthroscopy. 2015;31(10):1951–1961.
67. Stessuk T, Puzzi MB, Chaim EA, et al. Platelet-rich plasma (PRP) and adipose-derived mesenchymal stem cells: stimulatory effects on proliferation and migration of fibroblasts and keratinocytes in vitro. Arch Dermatol Res. 2016;308(7):511–520.
68. Zhou Y, Zhang J, Wu H, et al. The differential effects of leukocyte-containing and pure platelet-rich plasma (PRP) on tendon stem/progenitor cells - implications of PRP application for the clinical treatment of tendon injuries. Stem Cell Res Ther. 2015;6:173.
•• **Differences between formulations in stem cell fate.**
69. Zhang L, Chen S, Chang P, et al. Harmful effects of leukocyte-rich platelet-rich plasma on rabbit tendon stem cells in vitro. Am J Sports Med. 2016;44(8):1941–1951.
70. Wang JH, Nirmala X. Application of tendon stem/progenitor cells and platelet-rich plasma to treat tendon injuries. Oper Tech Orthop. 2016;26(2):68–72.
71. Xu K, Al-Ani MK, Sun Y, et al. Platelet-rich plasma activates tendon-derived stem cells to promote regeneration of Achilles tendon rupture in rats. J Tissue Eng Regen Med. 2017;11(4):1173–1184.
72. Peterson JE, Zurakowski D, Italiano JE Jr, et al. Normal ranges of angiogenesis regulatory proteins in human platelets. Am J Hematol. 2010;85(7):487–493.
73. Lee CH, Lee FY, Tarafder S, et al. Harnessing endogenous stem/progenitor cells for tendon regeneration. J Clin Invest. 2015;125(7):2690–2701.
•• **Application of CTGF to activate the endogenous niche.**
74. Potter RM, Huynh RT, Volper BD, et al. Impact of TGF-β inhibition during acute exercise on Achilles tendon extracellular matrix. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2017;312(1):R157–R164.
75. Holladay C, Abbah SA, O'Dowd C, et al. Preferential tendon stem cell response to growth factor supplementation. J Tissue Eng Regen Med. 2016;10(9):783–798.
76. Rodgers JT, Schroeder MD, Ma C, et al. Is an injury-regulated systemic factor that induces the transition of stem cells into GAlert. Cell Rep. 2017;19(3):479–486.
77. Gawaz M, Vogel S. Platelets in tissue repair: control of apoptosis and interactions with regenerative cells. Blood. 2013;122(15):2550–2554.
78. Sung CM, Hah YS, Kim JS, et al. Cytotoxic effects of ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine on rotator cuff tenofibroblasts. Am J Sports Med. 2014;42(12):2888–2896.
79. Jo CH, Lee SY, Yoon KS, et al. Effects of platelet-rich plasma with concomitant use of a corticosteroid on tenocytes from degenerative rotator cuff tears in interleukin 1β-induced tendinopathic conditions. Am J Sports Med. 2017;45(5):1141–1150.
80. Abate M, Salini V, Schiavone C, et al. Clinical benefits and drawbacks of local corticosteroids injections in tendinopathies. Expert Opin Drug Saf. 2017;16(3):341–349.
• **Review discussing whether PRP protects from deleterious effects of cosrticosteroids.**
81. Dohan Ehrenfest DM, Andia I, Zumstein MA, et al. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. Muscles Ligaments Tendons J. 2014;4(1):3–9.
•• **This article emphasizes the need for PRP classifications to advance in the field.**
82. Rubio-Azpeitia E, Bilbao AM, Sánchez P, et al. The properties of 3 different plasma formulations and their effects on tendinopathic cells. Am J Sports Med. 2016;44(8):1952–1961.
• **experimental assessment of differences between formulations.**
83. McCarrel TM, Minas T, Fortier LA. Optimization of leukocyte concentration in platelet-rich plasma for the treatment of tendinopathy. J Bone Joint Surg Am. 2012;94(19):e143(1-8).
84. Cross JA, Cole BJ, Spatny KP, et al. Leukocyte-reduced platelet-rich plasma normalizes matrix metabolism in torn human rotator cuff tendons. Am J Sports Med. 2015;43(12):2898–2906.
85. Yan R, Gu Y, Ran J, et al. Intratendon delivery of leukocyte-poor platelet-rich plasma improves healing compared with leukocyte-rich platelet-rich plasma in a rabbit achilles tendinopathy model. Am J Sports Med. 2017;45(8):1909–1920.
86. Jo CH, Kim JE, Yoon KS, et al. Platelet-rich plasma stimulates cell proliferation and enhances matrix gene expression and synthesis in tenocytes from human rotator cuff tendons with degenerative tears. Am J Sports Med. 2012;40(5):1035–1045.
87. Boswell SG, Schnabel LV, Mohammed HO, et al. Increasing platelet concentrations in leukocyte-reduced platelet-rich plasma decrease collagen gene synthesis in tendons. Am J Sports Med. 2014;42(1):42–49.
88. Andia I, Latorre PM, Gomez MC, et al. Platelet-rich plasma in the conservative treatment of painful tendinopathy: a systematic review and meta-analysis of controlled studies. Br Med Bull. 2014;110(1):99–115.
89. Miroshnychenko O, Chang WT, Dragoo JL. Use of platelet-rich and platelet-poor plasma to enhance differentiation of skeletal myoblasts: implications for the use of autologous blood products for muscle regeneration. Am J Sports Med. 2017;45(4):945–953.
90. Dupley L, Charalambous CP. Platelet-rich plasma injections as a treatment for refractory patellar tendinosis: a meta-analysis of randomised trials. Knee Surg Relat Res. 2017;29(3):171–177.
91. Dragoo JL, Wasterlain AS, Braun HJ, et al. Platelet-rich plasma as a treatment for patellar tendinopathy: a double-blind, randomized controlled trial. Am J Sports Med. 2014;42(3):610–618.
92. Vetrano M, Castorina A, Vulpiani MC, et al. Platelet-rich plasma versus focused shock waves in the treatment of jumper's knee in athletes. Am J Sports Med. 2013;41(4):795–803.
93. Andia I, Maffulli N. Update on platelet rich plasma for shoulder and elbow tendinopathy. Tech Shoulder Elbow Surg. 2017;18(3):91–100.
• **Systematic review focused on the use of PRP in upper limb tendinopathies.**
94. Arirachakaran A, Sukthuayat A, Sisayanarane T, et al. Platelet-rich plasma versus autologous blood versus steroid injection in lateral epicondylitis: systematic review and network meta-analysis. J Orthop Traumatol. 2016;17(2):101–112.
95. Lim W, Park Sh, Kim B, et al. Relationship of cytokine levels and clinical effect on platelet-rich plasma-treated lateral epicondylitis. J Orthop Res. 2017.
• **The authors explore potential markers for patient stratification.**
96. Lyras DN, Kazakos K, Tilkeridis K, et al. Temporal and spatial expression of TGF-β1 in the early phase of patellar tendon healing after application of platelet rich plasma. Arch Bone Jt Surg. 2016;4(2):156–160.

97. Goodier HC, Carr AJ, Snelling SJ, et al. Comparison of transforming growth factor beta expression in healthy and diseased human tendon. Arthritis Res Ther. 2016;18:48.
98. Rolf CG, Fu SC, Hopkins C, et al. Presence of bacteria in spontaneous achilles tendon ruptures. Am J Sports Med. 2017;45(9):2061–2067.
99. Dietrich F, Hammerman M, Blomgran P, et al. Effect of platelet-rich plasma on rat Achilles tendon healing is related to microbiota. Acta Orthop. 2017;88(4):463.
100. Lee KS. Ultrasound-guided platelet-rich plasma treatment: application and technique. Semin Musculoskelet Radiol. 2016;20(5):422–431.
101. Pandey V, Bandi A, Madi S, et al. Distribution of platelet-rich plasma after ultrasound-guided injection for chronic elbow tendinopathies. J Sports Sci Med. 2017;16(1):1–5.
102. Zayni R, Thaunat M, Fayard JM, et al. Platelet-rich plasma as a treatment for chronic patellar tendinopathy: comparison of a single versus two consecutive injections. Muscles Ligaments Tendons J. 2015;5(2):92–98.
103. Gwinner C, Gerhardt C, Haneveld H, et al. Two-staged application of PRP in arthroscopic rotator cuff repair: a matched-pair analysis. Arch Orthop Trauma Surg. 2016;136(8):1165–1171.
104. Rebo J, Mehdipour M, Gathwala R, et al. A single heterochronic blood exchange reveals rapid inhibition of multiple tissues by old blood. Nat Commun. 2016;7:13363.
105. Jo CH, Shin JS, Lee SY, et al. Allogeneic platelet-rich plasma for rotator cuff repair. Acta Ortop Bras. 2017;25(1):38–43.
106. Kieb M, Sander F, Prinz C, et al. Platelet-rich plasma powder: a new preparation method for the standardization of growth factor concentrations. Am J Sports Med. 2017;45(4):954–960.

Downloaded by [OSI EEC Hospital Universitario Cruces] at 23:38 07 January 2018

Platelet-rich Plasma and Mesenchymal Stem Cells: Exciting, But … are we there Yet?

Isabel Andia, PhD, Jose I. Martin, MD,*†*
and Nicola Maffulli, MD, MS, PhD, FRCS (Orth)‡§

Abstract: Joint conditions incapacitate free movement driving to a sedentary lifestyle, a major risk factor for chronic diseases. Regenerative procedures, involving the use of mesenchymal stem/stromal cells along with platelet-rich plasma (PRP), can help patients with these conditions. We describe the main characteristics of cellular products (bone marrow concentrate, stromal vascular fraction of adipose tissue, and mesenchymal stem/stromal cells derived from these tissues), and the potential benefits of combination with PRP in 3 scenarios: PRP lysates used during laboratory cell expansion; PRP to prime cellular products or the host tissue before cell implantation; PRP used as a vehicle for cell transplantation and to provide trophic signals. Clinical studies exploring the benefits of combination products are limited to case series and few controlled studies, involving either arthroscopy or percutaneous injections. Combination products are making their way to clinics but further experimental and clinical research is needed to establish protocols and indications.

Key Words: platelet-rich plasma (PRP), stromal vascular fraction (SVF), bone marrow concentrate (BMC), joint conditions, mesenchymal stem/stromal cells (MSC), adipose tissue

(*Sports Med Arthrosc Rev* 2018;26:59–63)

Both, traumatic and degenerative changes in the joint impose grave consequences in different age segments of the population.[1] Although the former distress commonly young active people,[1] the latter is very prevalent in the rapidly expanding segment of people aged over 50 years.[2] Osteoarthritis (OA) represents an important social and economic burden since an increasing number of patients undergo total joint replacement under the age of 65. Moreover, joint conditions incapacitate free movement driving to a sedentary lifestyle, a major risk factor for chronic diseases, including cancer, diabetes mellitus, obesity, dyslipidemia, hypertension, and neurological disorders among others.[3]

Yet, no single treatment can reverse degenerative changes because none targets all biological and mechanical alterations in the OA joint disease.[4] Therefore, joint conditions remain an "unmet medical need" involving important societal and medical consequences. In this context, more hope has been put in regenerative medicine, an evolving science that may help patients with these conditions.

Regenerative medicine is a health care approach focused on the regeneration, repair, and replacement of cells, tissues, and organs, aiming to restore impaired function, and in the context of OA, allowing people sufficient energy to move and profit from the health benefits derived from exercise.[5,6] To do so, regenerative medicine uses different approaches including the therapeutic application of bone marrow concentrates (BMC), the stromal vascular fraction (SVF) from adipose tissue, culture/expanded mesenchymal stromal/stem cell (MSC), and multimolecular preparations such as platelet-rich plasmas (PRPs). However, so far, MSCs and PRP treatments have had minimal impact on clinical medicine, probably because we are at the beginning of the development of regenerative approaches (ie, PRP+cells). Likewise, our limited understanding of disease etiology and basic biology underlying tissue repair in joint conditions hinders therapeutic advancements.

In this review, we will present and discuss several concepts that might help to understand the use of combination products in joint conditions, mainly PRP combined with SVF, BMC, or MSCs. First, we will address the biology of these multicellular products, the rationale for their combination with PRP, and their potential roles in healing biology and pathology. Second, we will identify clinical studies involving these products in joint conditions.

A BRIEF DESCRIPTION OF CELLULAR THERAPIES: MULTICELLULAR PRODUCTS (SVF AND BMC) AND CULTURE/EXPANDED MSCs

There are 2 different modalities for delivering adult undifferentiated stem cells, first as a collection of heterogeneous cells, in the form of BMC or SVF mostly derived from adipose tissue, which include a small number of MSCs among other more abundant cell types, and secondly, as a more homogenous population of purified MSCs.[7]

Both, the adipose subcutaneous tissue and the bone marrow are popular sources of MSCs, but alternative sources of cell products for joint conditions include the synovium or the suprapatellar fat pad.[8] In both BMC or SVF, MSCs are accompanied with stromal components of their natural niche, including various cell phenotypes at different degrees of differentiation as well as a pool of growth factors and cytokines.[9] BMC and SVF differ in the phenotype of cell populations, namely characterized by the combination of positive and negative markers as assessed by flow cytometry.[7] In physiology, the associated niche maintains the cells in a quiescent state in the absence of extrinsic wound stimuli, but would promote proliferation and maturation if needs arise. Assuming that all components of

From the *Regenerative Medicine Laboratory, BioCruces Health Research Institute; †Department of Radiology, Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain; ‡Department of Musculoskeletal Disorders, University of Salerno School of Medicine and Dentristry, Salerno, Italy; and §Queen Mary University of London, Barts and the London School of Medicine and Dentistry, Whitechapel, London, UK.

Supported by Grant PI13/01707 from ISCIII cofinanced by FEDER funds.

Disclosure: The authors declare no conflict of interest.

Reprints: Isabel Andia, PhD, Regenerative Medicine Laboratory, BioCruces Health Research Institute, Cruces University Hospital, 48903 Barakaldo, Spain.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

the niche govern cell behavior and fate during transplantation, the foundation for the combination product approach (BMC+PRP and SVF+PRP) is that the functional properties of the niche may be improved/adjusted with PRP.

Although BMC preparation only entails centrifugation, SVF preparation also requires enzymatic digestion or mechanical disruption (only for adipose tissue) to get rid of adipocytes.[10] Alternatively, refined MSCs populations can be isolated from BMC (bone marrow–derived mesenchymal/stromal cells, BM-MSCs) or SVF (adipose-derived mesenchymal/stromal cells, ASCs) based on plastic adherence properties, and subsequently expanded for several generations with clinical grade reagents, in good manufacturing practice compliant facilities, until the dose cell number is attained. This requires a complex infrastructure and to meet stringent regulatory issues that make these therapies expensive. Instead, tissue processing to obtain BMC or SVF are same-day commercial protocols, easy to implement at the point of care.[11]

The net difference in MSC yield between SVF and BMC products cannot be clearly defined because standardization of these products is problematic, since the quality and composition varies depending on patient population (young vs. old), and is also influenced by metabolic diseases and other concomitant comorbidities.[12,13] Whether subcutaneous adipose tissue–derived stem cells have similar characteristics independent of the subcutaneous tissue harvest site is controversial.[14,15] Moreover, collagenase digestion can affect the yield and cell viability, as does tissue texture and density.[16] BMC yield varies depending on patient population, and also depends on the harvesting procedure.[17]

MSCs from fat (ASCs) or from bone marrow (BM-MSCs) can have differences in CD36 and CD106 markers,[7] and in their differentiation potential in vitro.[18] In addition, culture conditions affect their physiological phenotype, though their relevance is unknown. Jurgens et al[19] examined potential differences between SVF and purified ASCs in the regeneration of full-thickness defects on the medial femoral condyles and trochlear groves in a caprine model. They compared repair using a cell free scaffold and the scaffold combined with SVF or with purified/expanded ASCs. Immunohistochemistry and biomechanical analyses showed enhanced regeneration in cell treated groups compared with acellular scaffolds after 4 months, and SVF performed better than ASCs. Essentially, the defenders of multicellular products maintain that various types of cells within complex mixtures may synergize to provide a regenerative response superior to that of the isolated homogenous population of passaged cells.

Although the expected original goal of a cell therapy was to address the depletion of local cells and address whatever functions are required for tissue repair, performing the same functions as their endogenous normal counterparts, the reality is that the primary function of stem cells in vivo appears to be their ability to communicate with other cells through paracrine interactions, creating optimal conditions for healing.

WHAT IS THE RATIONAL FOR COMBINATION PRODUCTS [PRP+(SVF OR BMC OR MSCs)]?

Joint repair occurs through a complex variety of demonstrated cell functions: trophic support; anti-inflammatory and immunomodulatory functions; antiapoptotic activity; differentiation capacity. The main idea when using cells and PRP is to target these mechanisms.[20]

There are at least 3 scenarios depending on the timing of combination. First, PRP lysates (or PRP releasates) can be used during laboratory cell expansion as a substitute of the current gold standard in cell cultures, that is, FBS.[21,22] The latter has the drawback of introducing immunological concerns associated with bovine products in human therapy. Centeno et al[23] assessed the safety of the use of autologous platelet lysate in the expansion of BM-MSCs used to treat different orthopedic conditions with a follow-up greater than one year. Two of 339 patients were diagnosed with cancer but unrelated to the local application of MSCs. The rate of neoplasms was similar to what is normally found in the Caucasian population.

Second, MSCs or precursor cells can be primed with PRP to improve their differentiation capabilities prior to transplantation. The proof of the concept was reported by van Pham et al.[24] After cell expansion in conventional culture conditions (fetal bovine serum), ASCs primed with PRP showed enhanced expression of COL2, Sox9, and ACAN, and repaired injured articular cartilage when transplanted into a murine model.[24] PRP also hindered vascular endothelial growth factor expression, a requisite to obtain avascular articular cartilage.[24] Importantly, PRPs obtained through different commercial methods showed differences with regard to their chondrogenic potential in human subchondral mesenchymal progenitor cells. This may help to explain some variability in clinical studies.[25] In addition, the number of platelets in the PRP can have repercussions on the fate of MSC.[26]

Not only the cells, but the host tissue can be primed with PRP to modulate the hostile conditions of the pathologic tissues (ie, presence of hypoxia, oxidative stress, and inflammation).[27] For example, fibronectin fragments upregulated the expression of MMPs and chemokines by chondrocytes and meniscocytes, but this catabolic mechanism was downregulated by PRP.[28]

Finally, PRP helps as a vehicle to confine cells in the chosen site, and also to enhance biological actions of implanted cells. Initially, PRP was used to improve the viability of fat grafts,[29] which is a major concern in plastic reconstruction. Liao et al[30] showed that PRP enhanced fat graft survival through the proliferation of ASCs even when cells were cultured in antiproliferative conditions. Enhanced growth of ASCs and migration occurred without interfering with differentiation capabilities.[31] However, stoichiometry of the combination and PRP formulations need to be optimized to enhance benefits.[32,33]

Cotransplantation of ASC and PRP has been performed in animal models to treat calvarial bone defects,[34] periodontal defects in dogs,[35] and in nude rats,[36] and to treat biphosphonate induced osteonecrosis in a rat model.[37] Taken together all these studies demonstrate the plasticity of the combination product.

Hermeto et al[38] examined the effect of ASC+PRP in a collagenase knee injection model in 24 New Zealand white rabbits. One group was treated with PRP, another group with PRP+MSCs and another group with PRP combined with ASCs differentiated into chondrocytes in vitro. Sixty days after the intra-articular injections, macroscopic examination (using the modified Mankin score) revealed a reduction in the severity of lesions in the groups that received differentiated or undifferentiated cells combined with PRP (4×10^6 cells resuspended in 0.5 mL PRP).

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Accordingly, microscopic differences were reported favoring the cell groups. Using beagle dogs, Yun et al[39] reported the synergistic effects of PRP+ASCs in inflammation, chondrocyte proliferation, and extracellular matrix synthesis. The authors attributed joint amelioration to the inflammatory modulatory effects of the combination product along with direct engraftment.

In contrast, biphasic scaffolds (TruFit) combined with PRP or BMC enhanced the repair of critical size osteochondral defects in minipigs, but the combination of both products did not show any additional benefit.[40] The stoichiometry could account for the lack of better results, as the combination product was formulated with 1 mL PRP and 1 mL BMC, whereas the other 2 groups were treated with 2 mL of BMC or PRP respectively.[40,41]

CLINICAL USE OF PRP AND MSC PRODUCTS: SAFETY AND EFFICACY

There is consensus among regulatory authorities from different countries about the clinical safety of BMC for joint conditions according to both criteria: homologous use and "minimally manipulated product." However, there is controversy about SVF safety. First, because collagenase is commonly used in tissue disaggregation, and secondly because injecting SVF within a joint is not considered as an homologous use.[42] Although the infrapatellar fat pad is close to the surface of articular cartilage and the synovial layer in the anterior knee compartment, it is an extrasynovial but intracapsular structure, which may be the cause to consider SVF as nonhomologous. Because of different regulatory frameworks among countries,[43] clinical studies with SVF and PRP (included in this review) were mainly performed in the Eastern world (mainly South Korea), where SVF is considered low risk and can be manufactured by the clinical provider for joint conditions.

The safety of SVF+PRP was reported retrospectively, after intra-articular injections in 100 joints (mainly knees and hips) with a follow-up up to 30 months. Magnetic resonance imaging (MRI) tracking was performed in one-third of patients with no neoplastic findings.[44]

SVF+PRP in Peripheral Joint Conditions

Cartilage tissue changes associated with load involve loss of articular volume and stiffness; the ensuing contact pressures are associated with focal cartilage defects, which progress to the diffuse pathology that affects all tissues within the joint organ.[4] Commonly focal full-thickness cartilage defects are treated arthroscopically to avoid degenerative OA. BMC or SVF are used to augment arthroscopic procedures including arthroscopic debridement or lavage, high tibial osteotomy, microfracture, bone marrow stimulation in patients with focal cartilage lesions or full-thickness osteochondral defects. Several case series, but few controlled studies have been published after augmentation with regenerative products of knee or ankle arthroscopy, mostly reporting clinical outcomes and occasionally MRI or second look arthroscopy findings.

Koh et al[45] reported clinical improvements (IKDC and Tegner) in 35 patients after intra-articular injections of SVF (obtained from 23 g of adipose tissue) +PRP performed after arthroscopic debridement of the knee. Second look arthroscopy after 12.7 months showed structural improvements except in 6% of patients who had abnormal repair. The same group,[46] performed a controlled study in 44 patients following high tibial osteotomy with (SVF+PRP) injected under arthroscopic guidance (23 patients) compared with PRP injection (21 patients). Follow-up was at 24 months; (SVF+PRP) group was better as assessed by visual analog scale pain (VAS), KOOS, and second look arthroscopy. Fibrocartilage was found in 50% of patients in the (SVF +PRP) group and 10% of patients of the PRP group.

The same group[47] reported decreased pain and enhanced function 24 months after the injection of (SVF +PRP) under arthroscopic guidance in 30 elderly patients with OA. At second look arthroscopy 24 months posttreatment, 10 patients showed improved cartilage, 4 patients maintained cartilage, and 2 patients failed in healing. SVF +PRP was injected percutaneously in 25 patients with cartilage defects and compared retrospectively with 25 patients treated with PRP. Patients treated with SVF+PRP showed better functional recovery and pain decrease (VAS, Lysholm and Tegner) than PRP group.[48] Eighteen OA patients received intra-articular injections of SVF (from the knee fat pad) combined with PRP and showed positive clinical (VAS, The Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index, Lysholm) and MRI outcomes.[49]

Bui et al[50] performed percutaneous injections of SVF +PRP in 21 patients. After 8.5 months, they reported an improvement in VAS and Lysholm scores as well as increased cartilage thickness as assessed by MRI.

Three patients with chondromalacia patellae[51] were treated with percutaneous injections of SVF+PRP+Hyaluronic Acid (HA), and MRI showed positive cartilage regeneration. An anecdotic case report, involving 1 patient with meniscus tears, who was treated with the same combination improved clinically; moreover, enhanced regeneration was observed on MRI.[52] The same combined treatment (SVF+PRP+HA), followed by 3 additional PRP injections performed weekly, was used in 3 patients reluctant to undergo total knee replacement. Symptom improvement was reported by the second week posttreatment. MRI that was performed at 16 to 22 weeks after treatment showed increase in cartilage thickness and regeneration.[53]

A controlled cohort study including 15 patients per group compared the outcomes of arthroscopic microfracture with or without (SVF+PRP) injection.[54] Patients were assessed using The Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index, Lysholm, VAS, and modified Outerbridge classifications before treatment and at 6, 12, 18 months posttreatment. Bone marrow edema was also assessed at these time points. The injection consisted 5 mL of 10^7 SVF cells/mL activated PRP ($CaCl_2$). Importantly, (SVF+PRP) affected differently OA patients in grade 2 or 3. Patients with less severe OA showed sustained improvement between 12 and 18 months, and this effect was absent in grade 3 patients.

Bansal et al[55] reported administering (SVF+PRP) injections in 10 patients with knee OA, who showed significant gradual improvements in pain, function, and physical mobility injection up to 2 years of follow-up (3, 6, 12, 18, and 24 mo), without any adverse event.[55]

Return to sports activities after arthroscopic repair of osteochondral lesions of the talus with BMC and PRP ($\pm$ HA or $\pm$ collagen powder) has been reported in 40 athletes, with durable results over time (48 mo).[56]

SVF+PRP in Central Joint Conditions

Degenerative disc disease is a common condition causing back pain radiating to hips and legs with repercussions on the

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

quality of life. Comella et al[57] reported safety and preliminary data about efficacy in 15 patients who received an injection of 1 mL SVF+PRP in each symptomatic disc under fluoroscopic guidance. SVF was prepared through collagenase digestion of 60 mL of fat, and the SVF (30 to 60×10^6 cells) resuspended in 1 to 3 mL of PRP, depending on the number of affected discs. Follow-up took place at 2, 6, and 12 months. There was a reduction of pain according to VAS and the present pain index (PPI) at 2 and 6 months compared with the baseline. No severe adverse events were reported during 12 months. All minor adverse events, namely soreness in the abdomen after liposuction or in the back after injections, resolved without any intervention.

CONCLUSIONS

Joint conditions are an "unmet medical need" with high prevalence, and regenerative therapies hold great clinical potential in this context. To meet this challenge coordinated efforts from experimental and clinical researchers are needed, in the context of translational research. Experimental researchers have to provide a scientific basis to be able to assemble the ideal regenerative therapy depending on the injured tissue and particular needs in joint conditions. SVF, BMC, and PRP products have multiple advantages because they can be prepared at the point of care by health treatment providers, avoiding the complexities of culture/expanded MSC therapies and reducing costs. Because of the availability of adipose tissue, SVF combined with PRP has garnered great interest to treat both focal and diffuse joint pathology. However, to enhance treatment protocols it is necessary to further investigate the role of the different PRP formulations in cell differentiation and engraftment, and how to maximize the paracrine interactions that modulate inflammation. The final goal is to generate continuous progress in our understanding of joint pathology and tissue repair mechanisms to drive tissue regeneration and clinical improvement.

Currently expectations are high, but the number of clinical studies is small, mostly being observational studies with insufficient population sizes and study periods. Observational and randomized-controlled studies using patient-reported outcomes produce valid data sources, but fail to answer multiple questions associated with regenerative treatments. Novel strategies in the design of clinical studies are needed to keep pace with innovations in regenerative medicine products and their associated application protocols.

REFERENCES

1. Ackerman IN, Kemp JL, Crossley KM, et al. Hip and knee osteoarthritis affects younger people, too. *J Orthop Sports Phys Ther*. 2017;47:67–79.
2. Bitton R. The economic burden of osteoarthritis. *Am J Manag Care*. 2009;15(suppl):S230–S235.
3. Knight JA. Physical inactivity: associated diseases and disorders. *Ann Clin Lab Sci*. 2012;42:320–337.
4. Andia I, Sánchez M, Maffulli N. Joint pathology and platelet-rich plasma therapies. *Expert Opin Biol Ther*. 2012;12:7–22.
5. Heywood R, McCarthy AL, Skinner TL. Safety and feasibility of exercise interventions in patients with advanced cancer: a systematic review. *Support Care Cancer*. 2017. Doi: 10.1007/s00520-017-3827-0.
6. Fairman CM, Zourdos MC, Helms ER, et al. A scientific rationale to improve resistance training prescription in exercise oncology. *Sports Med*. 2017;47:1457–1465.
7. Bourin P, Bunnell BA, Casteilla L, et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy*. 2013;15:641–648.
8. Sekiya I, Muneta T, Horie M, et al. Arthroscopic transplantation of synovial stem cells improves clinical outcomes in knees with cartilage defects. *Clin Orthop Relat Res*. 2015;473:2316–2326.
9. Guo J, Nguyen A, Banyard DA, et al. Stromal vascular fraction: a regenerative reality? part 2: mechanisms of regenerative action. *J Plast Reconstr Aesthet Surg*. 2016;69:180–188.
10. Oberbauer E, Steffenhangen C, Wirzer C, et al. Enzymatic and non-enzymatic isolation systems for adipose tissue-derived cells: current state of the art. *Cell Regen*. 2015;4:7.
11. Giancola R, Bonfini T, Iacone A. Cell therapy: cGMP facilities and manufacturing. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2012;2:243–247.
12. Siegel G, Kluba T, Hermanutz-Klein U, et al. Phenotype, donor age and gender affect function of human bone marrow-derived mesenchymal stromal cells. *BMC Med*. 2013;11:146.
13. Kontny E, Zielińska A, Skalska U, et al. Distinct secretory activity and clinical impact of subcutaneous abdominal adipose tissue in women with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Inflammation*. 2017;40:106–116.
14. Choudhery MS, Badowski M, Muise A, et al. Subcutaneous adipose tissue-derived stem cell utility is independent of anatomical harvest site. *Biores Open Access*. 2015;4:131–145.
15. Tang Y, Pan ZY, Zou Y, et al. A comparative assessment of adipose-derived stem cells from subcutaneous and visceral fat as a potential cell source for knee osteoarthritis treatment. *J Cell Mol Med*. 2017;21:2153–2162.
16. Trovato L, Monti M, Del Fante C, et al. A new medical device rigeneracons allows to obtain viable micro-grafts from mechanical disaggregation of human tissues. *J Cell Physiol*. 2015;230:2299–2303.
17. Salamanna F, Contartese D, Nicoli Aldini N, et al. Bone marrow aspirate clot: a technical complication or a smart approach for musculoskeletal tissue regeneration? *J Cell Physiol*. 2018;233:2723–2732.
18. Jang Y, Koh YG, Choi YJ, et al. Characterization of adipose tissue-derived stromal vascular fraction for clinical application to cartilage regeneration. *In Vitro Cell Dev Biol Anim*. 2015;51:142–150.
19. Jurgens WJ, Kroeze RJ, Zandieh-Doulabi B, et al. One-step surgical procedure for the treatment of osteochondral defects with adipose-derived stem cells in a caprine knee defect: a pilot study. *Biores Open Access*. 2013;2:315–325.
20. Andia I, Maffulli N. Platelet-rich plasma for managing pain and inflammation in osteoarthritis. *Nat Rev Rheumatol*. 2013;9:721–730.
21. Atashi F, Jaconi ME, Pittet-Cuénod B, et al. Autologous platelet-rich plasma: a biological supplement to enhance adipose-derived mesenchymal stem cell expansion. *Tissue Eng Part C Methods*. 2015;21:253–262.
22. Rubio-Azpeitia E, Andia I. Partnership between platelet-rich plasma and mesenchymal stem cells: in vitro experience. *Muscles Ligaments Tendons J*. 2014;4:52–62.
23. Centeno CJ, Schultz JR, Cheever M, et al. Safety and complications reporting update on the re-implantation of culture-expanded mesenchymal stem cells using autologous platelet lysate technique. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2011;6:368–378.
24. Van Pham P, Bui KH, Ngo DQ, et al. Activated platelet-rich plasma improves adipose-derived stem cell transplantation efficiency in injured articular cartilage. *Stem Cell Res Ther*. 2013;4:91.
25. Kreuz PC, Krüger JP, Metzlaff S, et al. Platelet-rich plasma preparation types show impact on chondrogenic differentiation, migration, and proliferation of human subchondral mesenchymal progenitor cells. *Arthroscopy*. 2015;31:1951–1961.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

26. Jalowiec JM, D'Este M, Bara JJ, et al. An in vitro investigation of platelet-rich plasma-gel as a cell and growth factor delivery vehicle for tissue engineering. *Tissue Eng Part C Methods*. 2016; 22:49–58.
27. Rubio-Azpeitia E, Sánchez P, Delgado D, et al. Adult cells combined with platelet-rich plasma for tendon healing: cell source options. *Orthop J Sports Med*. 2017;5:2325967117690846.
28. Wang CC, Lee CH, Peng YJ, et al. Platelet-rich plasma attenuates 30-kda fibronectin fragment-induced chemokine and matrix metalloproteinase expression by meniscocytes and articular chondrocytes. *Am J Sports Med*. 2015;43:2481–2489.
29. Tobita M, Uysal AC, Ogawa R, et al. Periodontal tissue regeneration with adipose-derived stem cells. *Tissue Eng Part A*. 2008;14:945–953.
30. Liao HT, James IB, Marra KG, et al. The effects of platelet-rich plasma on cell proliferation and adipogenic potential of adipose-derived stem cells. *Tissue Eng Part A*. 2015;21: 2714–2722.
31. D'Esposito V, Passaretti F, Perruolo G, et al. Platelet-rich plasma increases growth and motility of adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and controls adipocyte secretory function. *J Cell Biochem*. 2015;116:2408–2418.
32. Li K, Li F, Li J, et al. Increased survival of human free fat grafts with varying densities of human adipose-derived stem cells and platelet-rich plasma. *J Tissue Eng Regen Med*. 2017; 11:209–219.
33. Willemsen JC, Spiekman M, Stevens HP, et al. Platelet-rich plasma influences expansion and paracrine function of adipose-derived stromal cells in a dose-dependent fashion. *Plast Reconstr Surg*. 2016;137:554e–565e.
34. Tajima S, Tobita M, Orbay H, et al. Direct and indirect effects of a combination of adipose-derived stem cells and platelet-rich plasma on bone regeneration. *Tissue Eng Part A*. 2015;21: 895–905.
35. Tobita M, Uysal CA, Guo X, et al. Periodontal tissue regeneration by combined implantation of adipose tissue-derived stem cells and platelet-rich plasma in a canine model. *Cytotherapy*. 2013;15:1517–1526.
36. Tobita M, Tajima S, Mizuno H. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma: stem cell transplantation methods that enhance stemness. *Stem Cell Res Ther*. 2015;6:215.
37. Barba-Recreo P, Del Castillo Pardo de Vera JL, Georgiev-Hristov T, et al. Adipose-derived stem cells and platelet-rich plasma for preventive treatment of bisphosphonate-related osteonecrosis of the jaw in a murine model. *J Craniomaxillofac Surg*. 2015;43:1161–1168.
38. Hermeto LC, DeRossi R, Oliveira RJ, et al. Effects of intra-articular injection of mesenchymal stem cells associated with platelet-rich plasma in a rabbit model of osteoarthritis. *Genet Mol Res*. 2016;15:3.
39. Yun S, Ku SK, Kwon YS. Adipose-derived mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma synergistically ameliorate the surgical-induced osteoarthritis in Beagle dogs. *J Orthop Surg Res*. 2016;11:9.
40. Betsch M, Schneppendahl J, Thuns S, et al. Bone marrow aspiration concentrate and platelet rich plasma for osteochondral repair in a porcine osteochondral defect model. *PLoS One*. 2013;8:e71602.
41. Nowotny J, Farack J, Vater C, et al. Translation of cell therapy into clinical practice: validation of an application procedure for bone marrow progenitor cells and platelet rich plasma. *J Appl Biomater Funct Mater*. 2016;14:e1–e8.
42. Andia I, Maffulli N. Biological therapies in regenerative sports medicine. *Sports Med*. 2017;47:807–828.
43. Dykstra JA, Facile T, Patrick RJ, et al. Concise review: fat and furious: harnessing the full potential of adipose-derived stromal vascular fraction. *Stem Cells Transl Med*. 2017;6:1096–1108.
44. Pak J, Chang JJ, Lee JH, et al. Safety reporting on implantation of autologous adipose tissue-derived stem cells with platelet-rich plasma into human articular joints. *BMC Musculoskelet Disord*. 2013;14:337.
45. Koh YG, Choi YJ, Kwon OR, et al. Second-look arthroscopic evaluation of cartilage lesions after mesenchymal stem cell implantation in osteoarthritic knees. *Am J Sports Med*. 2014;42: 1628–1637.
46. Koh YG, Kwon OR, Kim YS, et al. Comparative outcomes of open-wedge high tibial osteotomy with platelet-rich plasma alone or in combination with mesenchymal stem cell treatment: a prospective study. *Arthroscopy*. 2014;30:1453–1460.
47. Koh YG, Choi YJ, Kwon SK, et al. Clinical results and second-look arthroscopic findings after treatment with adipose-derived stem cells for knee osteoarthritis. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*. 2015;23:1308–1316.
48. Koh YG, Choi YJ. Infrapatellar fat pad-derived mesenchymal stem cell therapy for knee osteoarthritis. *Knee*. 2012;19: 902–907.
49. Koh YG, Jo SB, Kwon OR, et al. Mesenchymal stem cell injections improve symptoms of knee osteoarthritis. *Arthroscopy*. 2013;29:748–755.
50. Bui K, Duong T, Nguyen N, et al. Symptomatic knee osteoarthritis treatment using autologous adipose derived stem cells and platelet rich plasma: a clinical study. *Biomed Res Therapy*. 2014;1:2–8.
51. Pak J, Lee JH, Lee SH. A novel biological approach to treat chondromalacia patellae. *PLoS One*. 2013;8:e64569.
52. Pak J, Lee JH, Lee SH. Regenerative repair of damaged meniscus with autologous adipose tissue-derived stem cells. *Biomed Res Int*. 2014;2014:436029.
53. Pak J, Lee JH, Park KS, et al. Regeneration of cartilage in human knee osteoarthritis with autologous adipose tissue-derived stem cells and autologous extracellular matrix. *Biores Open Access*. 2016;5:192–200.
54. Nguyen PD, Tran TD-X, Nguyen HT-N, et al. Comparative clinical observation of arthroscopic microfracture in the presence and absence of a stromal vascular fraction injection for osteoarthritis. *Stem Cells Trans Med*. 2017;6:187–195.
55. Bansal H, Comella K, Leon J, et al. Intra-articular injection in the knee of adipose derived stromal cells (stromal vascular fraction) and platelet rich plasma for osteoarthritis. *J Transl Med*. 2017;15:141.
56. Vannini F, Cavallo M, Ramponi L, et al. Return to sports after bone marrow-derived cell transplantation for osteochondral lesions of the talus. *Cartilage*. 2017;8:80–87.
57. Comella K, Silbert R, Parlo M. Effects of the intradiscal implantation of stromal vascular fraction plus platelet rich plasma in patients with degenerative disc disease. *J Transl Med*. 2017;15:12.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Copyright © 2018 Wolters Kluwer Health, Inc. All rights reserved.

Chapter 1

Current Concepts and Translational Uses of Platelet Rich Plasma Biotechnology

I. Andia, E. Rubio-Azpeitia, J.I. Martin and M. Abate

Additional information is available at the end of the chapter

http://dx.doi.org/10.5772/59954

1. Introduction

A two-decade long research has expedited knowledge about tissue repair mechanisms, and the field of Regenerative Medicine is gaining ground stimulated by novel insights and the development of therapeutic biotechnologies, intending to restore tissue architecture and functionality. Regenerative Medicine technologies concern not only traumatic tissue injuries but also involve the biological manipulation of pathological conditions aiming to drive tissue circumstances to normal, i.e. the recovery of tissue homeostasis.

Recent advances in biology and the new understanding of mechanisms such as angiogenesis, inflammation and main cell activities including proliferation, differentiation and metabolism have prompted researchers to seek how to manipulate these aspects of tissue and cell biology. Translation of this knowledge into the development of regenerative medicine technologies is imperative in order to address the current health care demand markedly boosted by demographic changes. Indeed the dramatic increase in the economic and social burden of chronic and degenerative diseases urges the development of novel therapies.

Biological interventions in Regenerative Medicine fall into four main categories including gene therapy, tissue engineering, cell-based therapies, and platelet rich plasma (PRP) therapies, with different success in clinical translation. For example, tissue engineering approaches, i.e. cells loaded within scaffolds, are in development but still several limitations of 3D tissue constructs are unresolved; these questions include biocompatibility, improvements in mechanical properties and/or the size of the 3D constructs [1]. Similarly, the efficacy of different categories of cell therapies, including mesenchymal stem cells, embryonic stem cells or induced pluripotent stem cells (iPSC), is being tested [2]. However, while registration of new clinical trials using MSCs derived from the bone marrow or from adipose tissue is growing rapidly supported by both public and private investments, the iPSC therapies are advancing at a slower

INTECH
open science | open minds

© 2015 The Author(s). Licensee InTech. This chapter is distributed under the terms of the Creative Commons Attribution License (http://creativecommons.org/licenses/by/3.0), which permits unrestricted use, distribution, and eproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

pace because reprogramming raises serious concerns about safety because of their genetic instability and potential to form tumors.

PRP, an autologous plasma fraction of peripheral blood, is the simplest regenerative medicine intervention that is rapidly extending to multiple medical fields mainly due to the easy use and biosafety that facilitates translation in humans. In fact, regulatory requirements for cell therapy involve multiple preclinical experiments to demonstrate their safety and non-teratogen effects in addition to GLP compliance in the preparation, and the use of adequate expensive installations [3]. In contrast, PRP therapies involve minimal manipulation, and in general, regulatory requirements are easy to comply thereby facilitating the widespread clinical use and commercial success of PRP kits and devices. In fact, PRP can be prepared by using any of the commercial systems available. PRPs can also be prepared by in house procedures, providing that basic rules of quality are implemented.

While regenerative medicine with cells is directed to inherent non-healing problems and a wide range of pathological conditions, PRP embrace normal healing conditions such as tissue repair during surgical invasion or traumatic injuries seeking to enhance and accelerate physiological repair. Alternatively, PRPs as occurs with cell therapies, seek to direct non-healing conditions, e.g. chronic conditions such as osteoarthritis (OA) or tendinopathy, towards healing and restoration of tissue homeostasis.

Due to the biosafety of these products, i.e. advantageous balance risk-benefit, clinical applications have preceded the basic research. Actually, in its very beginnings PRPs have been used with a vague idea of the biological mechanisms they were influencing. Thereafter, most studies were directed to examining clinical outcomes rather than identifying the precise biochemical mechanisms underlying PRP effects, which remain to be elucidated in the most part. In fact, PRP widespread use was not driven by the principles of the scientific methods instead patient demand has been boosted by sports news and propaganda reporting that outstanding elite athletes had been successfully treated with PRP. The need is clear, to investigate and describe main PRP targets and action mechanisms underlying their clinical effects. In fact, translational medicine addresses both, the biological and the clinical aspect of the novel biotechnologies.

In this book chapter, first, we will discuss recent progress on understanding the tissue regeneration process with a particular focus on the healing stages, and the role of PRP released signaling proteins in targeting different cells and inducing paracrine actions. Current biological interventions aiming tissue regeneration stem from two concepts, namely cells responsible for tissue homeostasis, and the signaling cytokines that control cell fate. Several cell phenotypes are involved in tissue repair and some processes such as inflammation and angiogenesis are commonly involved in the repair process in several conditions. Hence, several notions of tissue repair mechanisms are compatible with the biological hallmarks of regeneration in different tissues. Common mechanisms involved in healing can be modulated using PRP. This is the basic knowledge to drive clinical applications.

Second, from a practical point of view on PRP biotechnology we will discuss the main formulations, and summarize commercial systems to prepare PRP. Regulatory requirements will be briefly exposed.

http://dx.doi.org/10.5772/59954

Lastly, we will focus on translational uses, that is to say current PRP interventions from the clinical investigation perspective. We will summarize PRP applications in surgery with special emphasis in novel developments, the current use of PRP in ulcers, ophthalmology and dermatology, as well as foremost conservative treatments in orthopedics and sports medicine.

We will discuss main obstacles for the advancement of PRP science and future perspectives.

2. Tissue repair and regeneration

Despite growing knowledge on tissue regeneration mechanisms currently we are incapable to fully regenerate human tissues. The only approximation to tissue regeneration in the human body is the so-called "compensatory regeneration" in the liver. In fact, after lobe removal the liver compensates the loss and recovers its former size by balanced proliferation of all the existing cell types, including hepatocytes, kupffer macrophages, endothelial cells, duct cells, and fat storing cells. Moreover, these cells retain their functional identity and are able to produce all the liver-specific enzymes necessary for liver function [4].

In contrast to the lack of regenerative mechanisms in humans where there is no return to the embryonic state and no recapitulation of differentiating mechanisms, some amphibians as the salamander, after amputation replace their body parts by recapitulating embryological events. In these amphibians regeneration involves reactivation of developmental mechanisms in the post-natal life to restore wounded tissues identically as they were before injury.

Research in this area of experimental biology has provided useful information to the field of Regenerative Medicine. For example, the study of amphibians offers important insights into the mechanisms involved in the regeneration of complex structures. Indeed, after limb amputation in the salamander, a mass of undifferentiated cells called blastema is formed, and the blastema is capable of growing into different body parts [5].

Nevertheless, dramatic differences between frogs and salamanders in tissue repair/regeneration exist. Indeed adult frogs, despite being amphibians, cannot recapitulate embryologic mechanisms in their adult life. These differences are mainly attributed to at least three broad dissimilarities, first in their immune systems, secondly in cell differentiation mechanisms, and lastly in their potential for nerve regeneration [6].

Therefore these three notions derived from studies on experimental biology will drive our exposition of potential layers of PRP control in healing mechanisms. We will focus firstly, on immune-modulatory mechanisms i.e. the pattern of leukocyte infiltration (PMNs, monocytes, lymphocytes), and macrophage polarization, second the importance of stem/progenitor cell activation, and adequate differentiation, and third the requirement of nerve participation, as regeneration is dependent on the presence of nerves. In fact a minimum number of nerve fibers is necessary for regeneration to take place. We will emphasize the importance of an adequate crosstalk between immune cells, progenitor cells as well as local differentiated cells and the paracrine actions.

All these regenerative events constitute different layers of biological control that can be influenced by PRP administration.

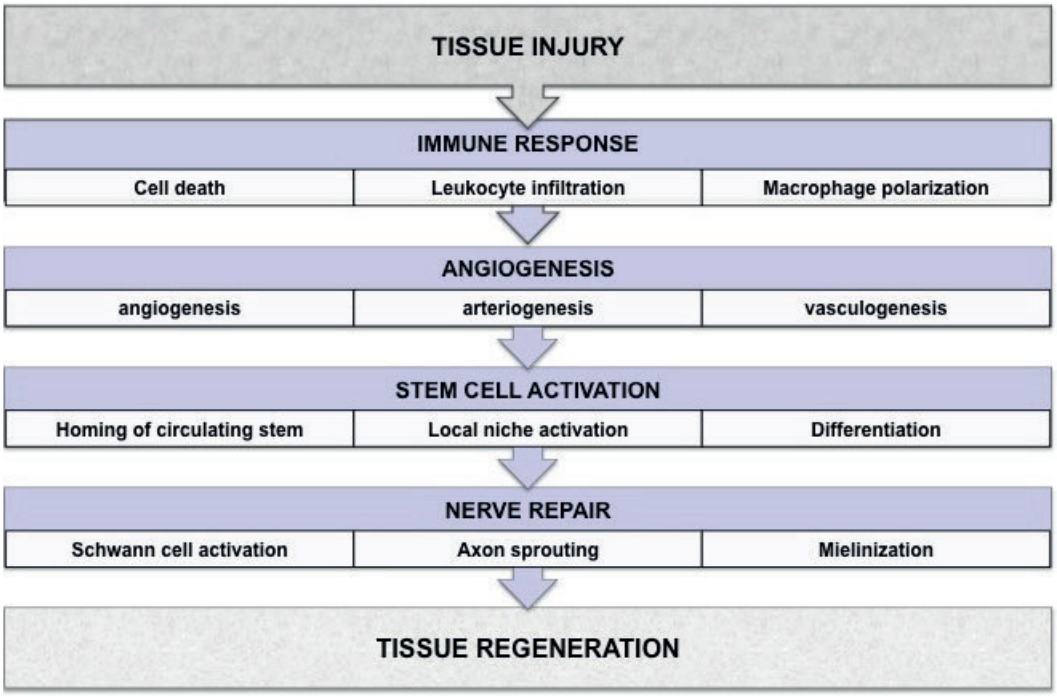


Figure 1. Potential layers for PRP influence in tissue regeneration

3. Outlook for the control of tissue healing using PRP

3.1. Inflammation

3.1.1. Cell death and DAMPs in the extracellular space

Injury in multicellular organisms is accompanied by cell damage and death, proportional to the magnitude of tissue injury that triggers a sophisticated sequence of reactions to cope with the insult. The degree of the inflammatory response depends on the severity of the injury that can induce different magnitudes of cell damage and death. Loss of cell integrity activates innate immune sensors by releasing to the extracellular space a myriad of intra-cytoplasmic molecules, known as DAMPs (Danger Activating Molecular Patterns). Among the DAMPs released by dying cells there is a growing list including cytosolic and nuclear proteins such as high mobility group box 1 (HMGB1), alarmins such as S100, and non-proteins including uric acid, DNA, RNA, and ATP. The inflammatory response triggered by the detection of DAMPs is an evolutionary conserved mechanism present in both vertebrates and invertebrates.

http://dx.doi.org/10.5772/59954

DAMPs transmit stress signals to the organism, and stimulate innate immune responses, starting by leukocyte infiltration, following by macrophage polarization and closing with the resolution of inflammation. This set of mechanisms is known as the inflammatory response, and serves to minimize the insult, and repair the damaged tissue in doing so contributes to the recovery of tissue homeostasis.

Cell death can result from injury but can also occur physiologically as a component of tissue homeostasis, since all tissues in accordance with their physiologic turnover rate replace old cells by new ones. In tissue turnover cell death is not accompanied by any inflammatory reaction, probably because DAMPs in the extracellular space do not reach a threshold concentration. Importantly, errors in the control of immune homeostasis may be behind chronic diseases.

The administration of PRP during this phase can rescue damaged cells as PRP contains cytokines that can promote cell survival, as shown both in vivo and in vitro. For example, during cell auto-transplantation for the treatment of tissue defects in plastic surgery, the use of PRP increases the survival of pre-adipocytes and adipocytes. Pre-adipocytes treated with PRP showed anti-apoptotic activities and decreased the expression of molecular mediators of cell death including Bcl-2-interacting mediator of cell death [7]. Additionally PRP can protect human tenocytes against cell death induced by ciprofloxacin and dexamethasone [8]. Furthermore, PRP could alleviate BMSC death under hostile conditions increasing the levels of paracrine interactions via stimulation of PDGFR/PI K/AKT/NF-kB signaling pathway [9]. PRP also promoted rejuvenation of aged and senescent MSC in vitro [10].

TLR receptors and DAMP-TLR activation is thought to be important in restoring homeostasis after cell death. Recent research has added layers of complexity to our understanding of PRP, and information about how molecular components of PRP interfere with DAMP signaling through NF-kb illustrates the anti-inflammatory effect of PRP in several tissues [11].

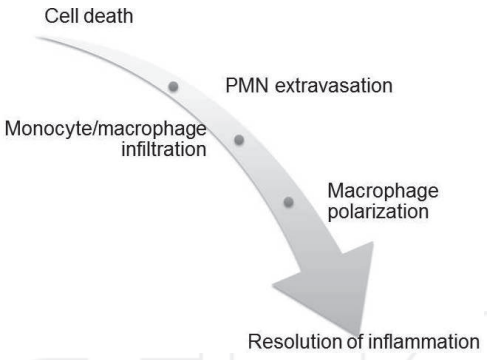
3.1.2. Pattern of leukocyte infiltration

The magnitude, pattern and timing of leukocyte infiltration are better described when tissue stress is induced by pathogens. However, in the case of sterile injuries, the extravasation of leukocytes in response to tissue damage is less understood. Actually, it is uncertain how PRP influences these three parameters: first, the magnitude of leukocyte infiltration, second, the pattern, and lastly, the timing.

The way PRP influences infiltrating immune cells is important because the latter play a major role in determining the outcome of tissue repair along with the secretory phenotype of local cells

3.1.2.1. Polimorphonuclear cell (PMNs) infiltration

The increase in vessel permeability and chemotactic signals from the injured tissues facilitates extravasation and movement of leukocytes within tissues by diapedesis. The use of PRP in this stage of healing modifies several aspects, first PRP increases vessel permeability by releasing



VEGF (also known as permeability factor, PF); in addition catecholamines such as dopamine and noradrenaline are delivered from dense granules in addition to histamine, all with synergistic effects in augmenting vessel permeability [12].

Polymorphonuclear cell (PMNs), including neutrophils (60-65% of the total leukocytes), eosinophils and basophils extravasate from the blood stream and perform a graded infiltration that reaches maximums in 12-24 h and is followed by decline, stop and apoptose. Excessive PMNs infiltration may be detrimental for the tissue because PMNs release a wide array of cytotoxic molecules. Granule components include several non-selective proteolytic enzymes, cytotoxins, antimicrobial peptides; in addition to the production of reactive oxygen species (ROS). The lifespan of neutrophils in the bloodstream is limited to hours but when they extravasate, the presence of DAMPs' agonists in the infiltrated tissues prolongs neutrophil survival.

PRP may influence both the amount of neutrophil infiltration and the survival of neutrophils in the injured tissues. In fact, PRP delivers both CCL and CXCL chemokines that attract different leukocyte subsets. In particular, CXCL7 (very abundant in platelets) in collaboration with NAP2 provides a strong chemotactic signal for neutrophil infiltration. In addition, PRP releases a known chemotactic cytokine for neutrophils, CXCL8/IL8. Moreover, we have recently shown that these chemotactic signals are reinforced and augmented by local cell synthesis in vitro [13]. PRP can also modify the lifespan of infiltrated leukocytes by modifying the molecular environment of the injury.

Thus, the administration of PRP would presumably modify the innate immune response, mainly by altering the molecular environment and the chemotactic driven pattern of neutrophil infiltration, the intensity and the timing. However, these effects may be dependent on the tissue conditions and anatomical location.

3.1.2.2. Monocyte/macrophage infiltration and polarization

During the initial days subsequent to injury (from 2 h to 72 h) monocyte/macrophages gradually infiltrate the tissue, ready to clean up apoptotic neutrophils. Indeed, macrophages are specialized in clearance of death cells.

The expression "macrophage polarization" refers to the ability of macrophages to change their functional phenotype in response to molecular signals they sense in their microenvironment.

http://dx.doi.org/10.5772/59954

Macrophages have been categorized conventionally into pro-inflammatory M1 and tissue repairing M2 phenotypes. In the presence of LPS or IFN-gamma macrophages are "classically" polarized and denominated M1 macrophages. They have an inflammatory phenotype as they express IL-1b, IL-6, IL-8 and TNF-a.

Instead, in the presence of high levels of IL-4, M2 macrophages are "alternatively" polarized and they produce anti-inflammatory cytokines, including IL-10, IL-1Ra, CD-36, scavenger receptor A or mannose receptor. However, growing knowledge about macrophage plasticity indicates that M1/M2 polarization is an over-simplified view. As a matter of fact, a continuum range of polarization states exist between the two extremes M1 and M2.

Inflammatory mechanisms are protective mechanisms that should be ideally self-limited and lead to complete resolution returning to tissue homeostasis. Recent data indicate that M1/M2 activation states are extremely plastic to external signals and macrophages can be repolarized from M2 to M1 states although the mechanism is unknown [14]. Resolution of inflammation is an active process involving the biosynthesis of specialized pro-resolving mediators by M2 polarized macrophages.

Assuming that manipulation of macrophage polarization can be a tool for therapeutic exploitation, it is imperative to gain knowledge about how PRP influences macrophages. In fact, PRP modifies the environment and macrophages can gain distinct functions supporting their participation in inflammation or alternatively in the resolution of inflammation. Previous data showed that CXCL4/PF4 induces a polarization state distinct from M1 or M2 [15], and the term M4 polarization has been proposed. This is relevant because PF4 is one of the most abundant cytokines stored in platelets' alpha-granules (micromolar concentrations), and is released from platelets upon activation. However, M4 polarization has been studied in the context of atherosclerosis, but not in tissue repair.

Therefore, further research is indispensable to establish how PRP would influence the activation state of macrophages, and whether resolution of inflammation can be achieved by exposing macrophages to determined molecular environments.

3.1.3. Regulation of fibrotic pathways

Fibrotic tissue is characterized by excessive type 1 collagen accumulation that hinders tissue regeneration. The presence of myofibroblasts is central to fibrotic tissue production. They originate from a spectrum of cellular sources, and several molecular pathways can induce the transition of cells to myofibroblasts. In fact, myofibroblasts can describe a functional status rather than a fixed cell phenotype. Fibrosis is predominantly controlled by TGF-b1, which is secreted as an inactive protein associated to a latent protein. TGF-b1 enhances strongly the synthesis of type 1 collagen by creating an autocrine loop; additionally it is an antiapoptotic agent for myofibroblasts. TGF-b1 is abundant in PRP, stored in considerable amounts in a-granules and secreted upon platelet activation. Additionally leukocytes secrete TGF-b1. TGF-beta-stimulated M2-like macrophages have profibrotic activity [16]. Instead, serum amyloid protein present in plasma has been shown to inhibit fibrosis in different models by regulating macrophage function. Thus, PRP actions are theoretically paradoxical regarding the develop-

ment of fibrosis. However, clinical practitioners using PRP injections rarely report the presence of fibrosis.

Scarring is also a key problem for axon regeneration because fibrotic tissue may block axon growth and impair axon function.

3.2. Angiogenesis

The supply of oxygen is essential for cell metabolism and wound healing. Indeed, poor tissue perfusion creates a hypoxic environment that impairs the healing process. Angiogenesis involves multiple biological mechanisms including cell migration, proliferation, and differentiation.

Vascularization occurs through outgrowth of preexisting blood vessels (angiogenesis) and involves cell migration and proliferation. Upon injury, vessels consisting of naked endothelial cell channels have potential to sprout and branch providing nutrients and oxygen to regenerating tissues. Vessel sprouting and enlargement are driven by migratory endothelial cells (EC) called tip cells. Additional types of cells, i.e. smooth muscle cells and pericytes, are involved in vessel stabilization. Both mechanisms, angiogenesis and arteriogenesis, involve a wide array of cytokines and growth factors that can be supplied in physiological concentrations by PRP administration (Table 1). Essentially, PRP cause endothelial cell proliferation and capillary tube formation in vitro.

Alternatively to angiogenesis, new vessels can be formed through mobilization and domiciliation of progenitors of endothelial cells to sites of tissue injury (vasculogenesis) or ischemic tissues, a process mediated by VEGF and SDF-1a binding to CXCR4 receptors on EPCs.

PRP augments ischemic neovascularization presumably due to the stimulation of the three above described mechanisms: angiogenesis, arteriogenesis and vasculogenesis. Arteriogenesis is the main driver of restoration of blood perfusion in ischemia [17].

Indeed, the importance of coagulation factors and of platelet secretome (VEGF, TGF-b1, PDGF, bFGF, angiopoietin) is evident for angiogenesis, not only because of their individual actions but because of beneficial synergies between these GFs. For example, Ang-1, an EC survival factor, stimulates capillary tube formation synergistically with VEGF. Also synergy between both PDGF and VEGF results in the formation of a more mature vascular network than when each factor is given alone [18]. Also the angiopoietin system contributes to vessel maintenance growth and stabilization.

Paradoxically, platelets also provide several antiangiogenic factors necessary for vessel downregulation. Angiogenesis inhibitors (CXCR3 agonists) such as PF4 and TSP-1 are very abundantly stored in platelets. Additionally, angiostatin, a product of plasminogen proteolysis, inhibits angiogenesis. Both pro- and anti-angiogenic properties have been attributed to TGF-b1. At low doses it contributes to the angiogenic switch in part by upregulation of VEGF and uPA, whilst at high doses contributes to the resolution of angiogenesis by inhibiting EC proliferation and migration, promoting the reformation of the basement membrane.

http://dx.doi.org/10.5772/59954

PRP- associated angiogenesis stimulators	PRP-associated angiogenesis inhibitors
Vascular endothelial growth factor (VEGF)	Angiostatin
Basic fibroblast growth factor (bFGF)	Endostatin
Platelet-derived growth factor (PDGF)	Platelet factor 4 (PF4)
Epidermal growth factor (EGF)	Plasminogen activator inhibitor (PAI-1)
Hepatocyte growth factor (HGF)	Transforming growth factor (TGF-beta)
Insulin like growth factor 1, 2 (IGF-1, IGF-2)	Thrombospondin-1 (TSP-1)
Angiopoietin (ANGPT1)	Tissue inhibitor of metalloproteinases -1, -4
Matriz metalloproteinases 2, 9 (MMP-2 and -9)	(TIMP-1,-2,-3,-4)
Lipoprotein A (LPA)	Fibronectin
Sphingosine-1-phosphate (SIP)	α2-macroglobulin
Stromal cell derived factor (SDF-1, CXCL12)	
Heparanase	
Deoxyribose-1-phosphate	
CD40-L	
IL-8, CXCL8	
CXCL12	
Down-regulate vessel permeability	**Increase vessel permeability**
Angiopoietin-1	VEGF
Serotonin	Histamine
Sphingosin-1-P	Noradrenaline (NE)
	Dopamine (DA)

Table 1. PRP-associated positive and negative regulators of angiogenesis. Some of these molecules may have both pro- and anti-angiogenic potential depending on the situation at the time of their release and/or the expression of cryptic sites. Reproduced from International Journal of Clinical Rheumatology, August 2012, Vol.7, No4, Pages 397-412 with permission of Future Medicine Ltd.[21]

As shown above, PRP provides the opportunity to therapeutically manipulate angiogenesis by targeting multiple cell phenotypes. Crosstalk between cell types along with multiple signals constitutes the complex system that regulates angiogenesis. Not only the activities of endothelial cells, but also of endothelial progenitors, smooth muscle cells and pericytes are influenced by PRP signals. Pericytes, crucial for vessel stabilization, can arise from different cell sources since they can transdifferentiate from the endothelium, a common vascular progenitor or a mesenchymal progenitor. The association of pericytes with newly formed vessels regulates EC proliferation, survival, migration, differentiation and vascular branching, blood flow and vascular permeability. Pericytes have important roles in tissue repair. For example, in skeletal muscle perycites arise from blood vessels and express NG2 proteoglycan and alkaline phosphatase and they efficiently regenerate the muscle expressing myogenic markers only when fully differentiated [19-20]. However, no information is yet available about the interaction of the molecular pool released from PRP and pericytes.

Other cooperative mechanisms such as partial degradation of the ECM and basement membrane are necessary to facilitate cell migration during angiogenesis. Actually, several protease

families released from PRP including plasminogen activators (uPA and PAI-1), and MMPs have been characterized as having a role in the proteolytic degradation and remodeling of the subendothelial basement membrane and the surrounding ECM. By digesting ECM proteins, these enzymes create a path for tip cell migration. Platelets contain fibrinolytic factors and enzymes that may regulate precisely the pericellular proteolytic environment required for the control of cell migration and matrix remodeling. For example urokinase plasminogen (uPA) and plasminogen activator inhibitor type I (PAI-1) proceed as modifiers of the pathway that impact migratory events. Almost all cell types need to migrate under physiological or pathological conditions. Clearly the binding of PAI-1 with its several targets has the potential to influence the motile program at multiple levels. Further complexity is provided by the presence of endogenous proteases inhibitors (TIMPs) that control the activity of proteases.

3.3. Stem/precursor cell activation and differentiation

It has been demonstrated in last years that most organs have a resident pool of somatic, tissue specific cells. These stem cells are located in niches characterized by a typical spatial localization, the anchorage of stem cells to supporting cells, and the presence of typical extracellular matrix. These cells are docked in specific microenvironments that control their survival and self-renewal capabilities preventing them from exhaustion. In the niche, the integration of stimulatory and inhibitory signals determines cell quiescence.

In general, these cells are mitotically quiescent. PRP contains agents able to restore mitosis in quiescent precursor cells, consequently mitotically arrested cells are able to divide again. By definition, these precursor stem cells are capable of self-renewal and have various potentialities for differentiation. In general they are committed to differentiate in the local cell phenotype and are designed to substitute dying cells during turnover, trauma or pathology. PRP participates in mobilization of progenitor cells and proliferation but its effects in differentiation are controversial [22].

PRP influences the number of stem cells by virtue of its mitotic effect and maintains stemness in most settings. Actually, the effects of PRP on the differentiation of synovium derived MSCs are negative in all three lineages and PRP alone maintains MSCs stemness [23]. Besides PRP inhibits differentiation of adult rat tendon stem cells towards nontenocyte lineage [24]. Recent research in skeletal muscle repair has shown that PRP maintains stemness of muscle progenitor cells [25]. Though, PRP did not interfere with the osteogenic, chondrogenic and myogenic differentiation in the appropriate differentiation conditions.

In many cases of traumatic injury or disease the quantity and potency of this endogenous pool of precursor cells is insufficient to regenerate compromised tissues and migration and homing of mesenchymal stem cells circulating in the blood stream is required.

In fact, bone marrow contains several types of stem cells including hematopoietic cells that differentiate into mature blood cells, endothelial progenitor cells and MSCs which are proposed to give rise to the majority of marrow stromal cell lineages including chondrocytes, osteoblasts, fibroblasts, adipocytes, endothelial cells. Circulating MSCs in the blood stream

http://dx.doi.org/10.5772/59954

can home injured tissue in response to chemoattractants released from platelets such as SDF-1a/CXCL12.

PRP was shown to be effective in promoting the migration of MSCs. In addition PRP can increase the number of MSC by stimulating proliferation. Actually the number of CMOs manufacturing cells for in-human trials are taking advantage of the mitogen properties and fetal calf serum [FCS) the typical cell culture supplement is being substituted by PRP. Several studies showed that population cell doublings is enhanced by PRP, that is to say PRP reduces the time needed to get a predefined cell number necessary for efficacious cell therapy [26].

3.4. Modulation of nerve repair

Peripheral nerve injury and regeneration

Peripheral nerves have the capacity to regenerate after an axonal injury. There are several kinds of peripheral nerve damages depending on the damage of the axon and surrounding tissue. After an injury or a breakdown, axon is able to regrow expressing repair-related molecules and aided by Schwann cell activation, proliferation, phagocytic activity and production of neurotrophic factors. These factors activate signaling cascades promoting synthesis of molecules related to axonal regeneration events. In addition to producing bioactive molecules, Schwann cells form structures called Bünger bands, which have as a function the physical guidance of growing axons [27]. They also recruit macrophages to the injury site to remove debris from the injury and help them supporting axon repair by secreting chemokines. As a result, axon healing is the result of the interaction between molecular signals and cellular events which allow proper growth of the axonal stump and consequent recovery of its functional activity at the end of healing process.

Peripheral nerve fibers are stimulated immediately after injury and release several neuropeptides into the microenvironment of the wound. Substance P, neuropeptide Y and calcitonin gene-related peptide (CGRP) influence endothelial cells, fibroblasts and are involved in vasoregulation and angiogenesis.

Growth factor and cytokine involvement in nerve healing

All these results have been attributed to growth factors released from platelets when activation occurs, but an accurate function and optimal concentration have not been identified [28]. Platelets release a high number of growth factors which may have precise effects on their own, or work synergistically depending on their concentration. Wound healing is influenced by diverse growth factors secreted by platelet such as PDGF, TGF-β, PF4, VEFG, EGF, PDEGF, IGF-I and others. Although these are not classically classified as neurotrophic, they have been demonstrated to have a role in Schwann cell migration, proliferation, neuron metabolism, synthesis of neurotrophic factors, matrix formation and myelinization and thus in axon regeneration [29-33]. Also, platelets release other molecules which are not growth factors such as catecholamines, histamine, serotonin, ADP, ATP and others which take part in blood vessel formation, immune reactions both innate and adaptive, and thus in tissue regeneration [30].

Nerve healing depends on equilibrium between Schwann cell proliferation and activation and neurotrophic molecules which create a regenerative milieu which helps axon repair and myelinization. Several growth factors present in PRP, such as PDGF, TGF-β1 and FGF-II, have shown to promote Schwann cell proliferation, activation and differentiation which may explain beneficial PRP effects shown in the previously commented studies [30, 33]. These growth factors, for which Schwann cells and neurons have membrane receptors, trigger the expression and subsequent synthesis of classic neurotrophic factors such as nerve growth factor [NGF), Glial derived growth factor (GDNF), brain-derived neurotrophic factor (BDNF) and ciliary neurotrophic factor (CTNF)[30, 32]. Also, PDGF expression has been shown to be enhanced in neurons after a nerve injury, which may support the theory that this growth factor has an important role in axon healing. Another growth factor present in PRP, which has been signaled as neurotrophic is VEGF. It has been shown to be neuroprotective, to also augment Schwann cell proliferation and axon growth [30]. IGF-I has also been pointed out as a central promoter of nerve healing. *In vitro,* it has been observed that IGF enhanced neuron axonal growth and that myelinization does not occur when IGF is removed. Also, IGF has been shown to promote Schwann cell proliferation and migration. In vivo, IGF injections in the site of nerve injury have been proved to ameliorate nerve healing and myelinization [28, 29,30, 31].

In the clinical arena, perineural injections of PRP induced sensorial recovery in leprosy peripheral neuropathy [34].

4. PRP formulations and regulatory requirements

Innovative therapeutic tools appear in the horizon when basic knowledge and research surpasses a certain threshold and is ready for translation into the clinics. PRP technologies showed up in the late 80s, mainly based on increased knowledge about the functional role of platelets. Platelets are cytoplasmic fragments of the megakaryocyte in the bone marrow. A variety of molecules are stored in platelets' granules either synthesized by their parent cell the megakaryocyte or captured in the circulation. In PRP technologies platelets are used because of their capability to function as vehicles for growth factors and cytokine delivery.

Initially platelets were mainly studied because of their fundamental role in hemostasia. Allogeneic PRP, either derived from a single donor or pooled donors, has been used since the 60s as a transfusion product. In fact platelet transfusion is indicated in patients with platelet counts below 30,000 plt/ul or below 100,000 plt/ul if they are to follow a surgical procedure. Later in the 80s clinical researchers showed off that beyond their role in hemostasia, PRP derived product (PDWH) were effective in the management of chronic leg ulcers [35] and were an aid in cardiac surgery [36].

In the 90s, maxillofacial surgeons and oral implantologists introduced the clinical use of PRPs as autologous modifications of fibrin glue. They were confounded by the effects of PRP in bone regeneration in doing so accelerating the stability of dental implants. Of note, the anti-inflammatory properties in soft tissues, presumably attributed to the presence of platelets in the preparation, was another hallmark in PRP findings.

http://dx.doi.org/10.5772/59954

In the new millennium, the use of PRP has been boosted not only by research in maxillofacial surgery and oral dentistry but also by new applications in orthopedics and sports medicine. In 2007, the term and definition of platelet rich plasma was introduce in Pubmed as a medical subject heading (MeSH) to be used for indexing scientific articles.

However, the definition of PRP in Pubmed is out of date by several reasons. First, PRP is not only used in surgical procedures but it is also used in the conservative management of non-healing ulcers and as an injectable in the management of chronic pathologies such as tendinopathies or osteoarthritis. Secondly, the current definition claims that GFs in platelets enhance tissue regeneration this is true but only up to a point. In fact, not only GFs from platelets but also plasmatic GFs have a crucial role in repair. Besides, this definition overlooks the hundreds of proteins released from platelets that also participate in healing. Despite all these limitations, PRP inclusion as MeSH term has served to harbor PRP research under a unique term.

PRPs differ from conventionally synthesized drugs in that they are products derived from living sources. Indeed platelets are lively cells and they may experiment several temporary transformations from preparation to local tissue delivery. The process is known as platelet activation and involves changes in platelet morphology, aggregation, centralization of granules, and secretion of their content to the extracellular milieu. Another peculiarity is that PRP products are complex multi-molecular mixtures that cannot be readily characterized and reproducibility in the composition is influenced by biological inter-individual variability.

4.1. Types of PRP products

PRP is prepared by taking a given volume of blood from a patient and processing it to separate blood components and concentrate the platelets and optionally the leukocytes. Importantly, the manipulation of blood in order to obtain PRP is minimal.

The nomenclature of PRP products reached a zenith of confusion at the beginning of the new millennium. In fact, more names than products appeared and the number of commercial terms was endless, including platelet concentrates (PC), autologous growth factors (AGF), plasma rich in growth factors (PRGF), platelet gel (PG), platelet rich fibrin matrix (PRFM) etc... It was evident that there were more names than PRPs to be named.

In 2009, Dohan [37] inspired the present nomenclature and classification of PRPs. Broadly speaking PRPs were categorized as pure PRP and leukocyte and platelet rich plasmas. Considering fibrin architecture and platelet counts we can differentiate further PRP subsets. Different PRP devices and harvest yield in terms of platelet and leukocyte count lead to the proposal of classification systems for PRP.

Alternatively to commercial automatic systems, PRP can be prepared in blood banks with highly standardized procedures. In this setting, PRP is prepared from a higher volume of blood, quality is assessed and aliquots of PRP are frozen for posterior applications. PRP obtained in blood banks are less expensive than PRPs obtained with automatic devices.

For blood withdrawal, many PRP protocols use anticoagulants to prevent blood from clotting. Most kits use ACDA or sodium citrate to chelate calcium ions in doing so preventing prothrombin conversion into thrombin. Other anticoagulants (i.e. heparin, EDTA) are avoided because they may compromise platelet stability and activation. Notwithstanding, ACDA and sodium citrate make the plasma acidic and some protocols recommend buffering the PRP back to a physiologic range prior to injection. Alternatively, PRP products such as leukocyte and platelet rich fibrin (L-PRF) do not use anticoagulants and fibrin is formed during the centrifugation step. Evidently, these products have a physiological pH but cannot be used as injectable.

Importantly, PRP activation is needed to induce the secretion of granule contents i.e. platelet secretome. This occurs spontaneously in blood but is inhibited if the blood is withdrawn in tubes containing anticoagulants. Reversion of anticoagulants inhibition of coagulation and platelet activation can be achieved by several procedures. One possibility is the addition of calcium or thrombin/Ca^{2+} to cleave fibrinogen with subsequent polymerization of fibrin monomers. Alternatively, physiological activation can be achieved by injecting the unactivated PRP that once in contact with collagen and other tissue factors will get activated. The mode of delivery of PRP has also to be taken into account, since it is a more involved process than the delivery of a drug or a single recombinant protein. The application protocol and post-application management involved will have a huge impact on determining whether the potential efficacy is seen.

Device Commercial name	Technology	FDA approved	Total process time	Disposable list Price	Increase above baseline	Platelet recovery	PRP formulations
GPS III™ (Biomet)	Floating Buoy	510(k)	15 min	$700	3.2x	90%	L-PRP
Angel (Arthrex)	Computer Aided system	510(k)	25 min	$495	4.3x	76%	L-PRP
ACP (Arthrex)	Standard Centrifugation Thixotropic gel	510(k)	5 min	$295	2.1±2x	60%	Pure PRP
AutoloGel System (Cytomedix)	Standard Centrifugation	510(k)	1-2 min	$325	1x	78%	L-PRP
GenesisCS (Emcyte)	Direct Siphoning	510(k)	16 min	$1550	10±3x (4ml)	68±17.1%	L-PRP
Pure PRP 2 (Emcyte)	Standard Centrifugation	Pending	5.5 min	N/A	8-16x	76%	Pure PRP
Harvest® SmartPrep2	Floating Shelf	510(k)	16 min	$395	4x	72.0±10%	L-PRP

http://dx.doi.org/10.5772/59954

Device Commercial name	Technology	FDA approved	Total process time	Disposable list Price	Increase above baseline	Platelet recovery	PRP formulations
BMAC™							
Symphony II (Depuy)	Floating shelf	510(k)	16 min	$395	4x	72.0±10%	L-PRP
Magellan™ (Arteriocyte)	Computer Aided System	510(k)	17 min	$350-495	5.1x	70%	L-PRP
Dr PRP USA (Rmedica-Korea)	Standard Centrifugation	Approved	12 min	N/A	N/A	97%	L-PRP
Prolo 30-50 (RM Bio Co, Ltd.)	Standard Centrifugation	None	N/A	N/A	4-6x	N/A	L-PRP
Prolo-High (RM Bio Co Ltd.)	Standard Centrifugation	None	N/A	N/A	5-8x	N/A	L-PRP
PRGF®-Endoret® (BTI)	Standard Centrifugation	510(k)	28 min	N/A	1-3x	70%	Pure PRP
CASCADE® Autologous Platelet System (MTF)	Standard Centrifugation Thixotropic gel	510(k)	20 min	N/A	1-2x	N/A	Pure PRP
YCellBio PRP YCELLBIO MEDICAL	Standard Centrifugation	510(k)	15 min	$80	7-9X	N/A	L-PRP

Table 2. Main characteristics of the devices and/or kits used to prepare PRP. Modified from: http://www.perfusion.com/perfusion/prpdevicesummary.asp

4.2. Regulatory

Regulatory requirements for PRPs are not uniform across the world. For example, in the US, PRP is not a product instead administration of PRP is a procedure and is, therefore, not subject to regulation by the FDA. However, the devices used to prepare PRP are regulated by the FDA premarket approval process and have to get a 510(k) clearance.

Devices and procedures destined to prepare PRP are classified for their intended use as class III medical devices and reach the market via premarket approval application. The product is evaluated to ensure that the product is safe and effective and displays consistent performance characteristics. 510(K) premarket notification exists for products that are similar to those

already marketed usually called predicate device. In these cases 510(k) clearance is evaluated only for substantial equivalency.

Table 1 shows devices and/or kits for PRP preparation

At the European level there is no harmonized regulatory framework for PRP therapies, and each country has its own approach to PRP regulation within the jurisdiction of national authorities. Devices must comply with Class II-a medical device directive 93/42/EEC. Device approval in EU is overseen in each EU country by a governmental body called a Competent Authority. Instead, the surgical use of PRP can be considered as an autologous graft within the surgical procedure as regulated by Directive 2004/23/EC.

Of note, if regulatory requirements for PRP therapies were over-interpreted, unnecessary work derived therein will increase costs and hamper the clinical use of PRP therapies. This hypothetical situation would be prejudicial for many patients since advancements in PRP science can provide effective treatments for pathologies with substantial social and economic burden.

4.2.1. Reimbursement

Currently most insurance plans do not reimburse for PRP treatment due to the lack of data about their efficacy. Interestingly, in the US Category III, code 0232T is used for emerging technologies and applies for nonsurgical uses of PRP. This code allows data collection to be used to document widespread use for FDA approval and potential reimbursement. Besides, this code will allow the AMA (American Medical Association) to track the use of PRP, since codes T are considered experimental they will require pre-authorization for payment. If a physician feels that the patient would benefit from PRP injections, typically as a step to avoid a more costly and invasive procedure preauthorization for PRP reimbursement should be requested. Presentation of cost savings rationale can be the key to successful preauthorization. In general managers are concerned about physician's plans to get injured patients back to productivity or work.

5. Translational uses of PRP biotechnology clinical relevance of PRPs

The goal of this section is not to provide an exhaustive overview of current clinical studies but to identify and briefly describe the miscellaneous clinical applications. PRP is considered investigational because currently, there is insufficient evidence to support the use of PRP for all the indications included below.

The use of PRPs has extended to multiple clinical fields and novel applications are emerging to meet varied clinical needs. The increasing use of PRPs in sports medicine, (after withdrawal of restrictions imposed by the IOC International Olympic Committee) and PRP applications in areas such as dentistry and plastic surgery is expected to drive the financial growth of PRPs, that was estimated in the US market as CAGR annual growth rate of 14% from 2009 to 2016 ($45m in 2009 will reach $126m in 2016) (http://www.researchviews.com/healthcare/medical/

http://dx.doi.org/10.5772/59954

orthopedicdevices/Viewpoints.asp x?sector=Orthopedic%20Devices&DocID=10728). The diffusion of PRP is attributed to the biosafety of the product due to its autologous origin.

In general, clinical uses of PRP can be categorized in two. First surgical applications, when PRP is used in surgery as an aid to enhance repair, not only of target tissues but PRP also aims to enhance the healing of all the adjacent tissues damaged during the procedure, and secondly conservative uses of PRP, most often involving more than one application and used in outpatient settings. Besides, the use of PRP associated to other medical procedures (laser therapies, etc) offers potential to enhance such procedures. Table 3 and Table 4.

5.1. Treatment of non-healing wounds

PRP has been used to treat non-healing wounds for more than 2 decades. In fact, the topical management of chronic leg ulcers was the first clinical application of platelets outside the blood stream with healing purposes. Theoretically PRP or its derivatives are stimulants for non-healing wounds; the goal is to re-activate healing. The rapid formation of granulation tissue can prevent further deep tissue involvement and associated co-morbidities.

Complex non-healing wounds can have different etiologies including pressure ulcers, diabetes, venous, arterial, or surgical trauma. Impaired wound healing is the major complication that results in the development of chronic wounds often leading to amputations as often occurs in the diabetic foot. Components of lower extremity amputations in the diabetic patient include ulceration (85%), faulty wound healing (81%) initial minor trauma (81%), neuropathy (61%), infection (59%) gangrene (55%) and ischemia (46%) (38]. Actually, the wound healing society treatment guidelines for diabetic ulcers advises re-evaluation of the wound and treatment based on failure to reach a 40% reduction of initial wound size by week 4 (39]. Cost for amputations has been estimated to be between $ 20.000 and $ 60.000 per case. PRP is deemed useful in this context because it may provide a way to reduce this cost burden to society.

Several RCT have provided data about the efficacy of PRP or PRP derivatives in non-healing wounds. The initial platelet product known as PDWHF (platelet derived wound healing factors) stimulated the formation of granulation tissue in chronic leg ulcers [40]. Later, PDWHF of pooled donors was also examined in the treatment of diabetic ulcers (41]. In general, concomitant pathologies such as diabetes do not hinder the therapeutic effects of PRP, and autologous PRP is effective in the diabetic foot [42-43] or systemic sclerosis [44].

Despite several studies reporting the benefits of PRP in this setting, a recent meta-analysis of ulcer care studies and PRP failed to show any statistically relevant difference favoring PRP for the treatment of chronic wounds. Nevertheless, conclusions are not sound because they are based on 9 RCTs with high or unclear risk of bias [45]. Additional evidences complementary to RCT data can be obtained from practice based medicine and observational studies. These data obtained in a real-world setting provide pragmatic evidences of PRP benefits.

Actually, some PRP manufacturers such as Cytomedix, AutoloGel™ have created wound registries to evaluate the use of PRP and calculate cost savings based on mean treatment times; this is realistic using patients in pretreatment run-in periods as their own controls during standard wound care treatment [46].

The reduction in treatment time should impact clinical and financial decisions. Significant clinical outcomes indicated many previously nonresponsive wounds began actively healing in response to PRP therapy. Cost effectiveness analysis comparing the potential economic benefit of PRP to alternative therapies in treating non-healing diabetic foot ulcers, using an economic model based on peer-reviewed data showed that PRP resulted in improved quality of life and lower cost of care over 5-year period than other treatment modalities for non-healing diabetic ulcers [47].

5.2. Maxillofacial and oral surgery

The field of PRP gained new impetus at the end of the nineties when maxillofacial surgeons and dentists introduced PRP to augment oral reconstruction procedures. Since then a number of protocols have been developed for different applications. These include socket filling after molar extractions, implant surgery, PRP mixed with bone grafts during osteodistraction, and in the treatment of mandibular tumor resection. Numerous articles describe earlier stabilization of dental implants when PRP is used to enhance the properties of bone grafts, and to modulate the inflammatory status in the surrounding soft tissues.

The utility in several of these procedures seems evident. However, after meta-analyzing 24 studies addressing the use of PRP in the surgical treatment of periodontal diseases, it was concluded that PRP exerts a positive effect only when used with graft materials for the treatment of intrabony defects, but not in guided tissue regeneration. No significant benefit of PRP was found for the treatment of gingival recessions [48].

In sinus augmentation surgery the combination of PRP with autologous bone graft led to increased bone density at 6 months but not at three months [49].

The use of PRP in children is less known because they need little help for healing since young cells and young blood has stronger healing potential and plasticity when compared to adults. However, in the most frequent congenital facial malformation, i.e. cleft lip and palate, the use of PRP is being investigated [50- 53]. The goal here is to reestablish the maxillofacial arch and to close any oro-nasal communication. Besides, PRP is used in the closure of recurrent cleft palate fistulas.

5.3. Plastic surgery and dermatology

A recent review in plastic surgery including 15 randomized controlled studies and 25 case-controls showed that the outcomes were favorable in three main PRP indications: wound healing, fat grafting and bone grafting [54].

PRP is used in breast reconstruction associated to fat grafts because it enhances the survival of fat grafts that otherwise had a tendency to be resorbed by the organism. Similarly, the outcome of plastic reconstruction using skin grafts can be improved taking advantage of the pro-survival effects of PRP.

The use of PRP reduced recovery time in facial rejuvenation. In fact the addition of PRP to lipofilling procedures resulted in a significant reduction in the number of days needed to

http://dx.doi.org/10.5772/59954

recover before returning to work or restart social activities. Also the aesthetic outcome was significantly better with PRP [55].

Combined treatments as fat graft, laser CO2 and PRP showed clinical benefits in the treatment of atrophic and contractile scars [56].

PRP combined with erbium fractional laser therapy is effective for treating acne scars or acne, at the same time PRP enhances the recovery of laser damaged skin [57].

PRP injected into the scalp is also used to manage androgenetic alopecia [58]. When the efficacy of the interventions was examined in 64 patients, half of the patients showed a clinically meaningful improvement [59]. PRP is also used in hair transplantation [60]. In this situation, PRP shortens the time for hair formation.

5.4. Treatment of orthopedic problems

The use of PRP to solve clinical problems in orthopedics has increased with impetus in the past five years the main reason can be the biosafety of the treatment and the fact that actual strategies for management are insufficient. PRP is used in open and arthroscopic surgery and as a conservative treatment for the management of chronic pathologies, most importantly tendinopathies, chondropathies and osteoarthritis. Main properties are attributed to modulatory effects on inflammation and angiogenesis along with reduction in pain [61-63].

Research in orthopedics encompasses a wide range of applications. In sports medicine, physicians are more deeply engaged in conservative management of tendinopathies and muscle injuries

Proposed clinical and surgical applications include spinal-fusion, osteoarthritis [hip and knee), tendinopathy enhancement of healing after ACL reconstruction and muscle strains. The challenge is to show that PRP is superior to the optimal available treatment.

5.4.1. Bone regeneration

In some applications PRP is used as a coadjuvant associated to autologous or homologous graft and also to bone marrow graft. There is no compelling evidence to demonstrate the efficacy of PRP alone in facilitating the union of long bones for union of tibial osteotomies or pseudoarthrosis or fractures [64). An randomized study involving 21 participants compared PRP+allogeneic graft versus allogeneic bone alone in patients undergoing tibial osteotomy in the medial compartment in patients with OA [65]. There was a significant difference in the proportion of bones that were united after one year in favor of PRP but evidence from a single trial is insufficient to support routine interventions with PRP.

5.4.2. Lumbar fusion and intervertebral disc degeneration

Posterolateral arthrodesis in lumbar spine surgery was enhanced when PRP was combined with cancellous bone graft as shown by densitometry in a prospective study [66]. However, a randomized clinical study did not show any benefit when PRP is used with autologous bone in mono-segmental posterior lumbar interbody fusion [67].

Intervertebral disc degeneration is also common in orthopedics and current treatments are of limited value to enhance the regenerative process. In fact some studies point out the efficacy of PRP in reversing the degenerative trend of the intervertebral discs based on basic science research [68]. However this application lacks translation in published reports.

5.4.3. Osteoarthritis

The efficacy of PRP has been most studied in knee osteoarthritis while few clinical data are available about the therapeutic effects in hip OA.

There are several randomized clinical trials comparing the efficacy of PRP treatment with HA administration. Also PRP has been compared with placebo administration. Two recent metaanalysis [69,70] concluded that multiple PRP injections ameliorate pain and improves function and tends to be more effective that HA administration. Patients with lower levels of knee degeneration achieve better results than more advanced knee deterioration. Although less investigated, PRP injections in the hip ameliorate symptomatology and function, however the clinical level of evidence is low and more clinical studies are needed before claiming therapeutic effects in this joint [71].

5.4.4. Tendon pathology

Most studies in tendon pathology involve guided injections of PRP. Indeed, the development of real-time imaging techniques such ultrasonography enhances the safety and accuracy of PRP delivery during percutaneous management. Consequently, investigation on the efficacy of PRPs for managing chronic tendinopathies has grown in the last years and the quality of the studies has improved considerably. Limitations of observational studies have been overcome by level I and level 2 clinical trials. However due to tendon diversity and function, the various PRP products and the diversity of application protocols, quantitative synthesis and meta-analyses are difficult to perform.

Most frequent upper limb tendinopathies involve the supraspinatus and the medial and lateral epicondyle. In these pathologies, the quality of clinical studies is high/moderate. A quantitative synthesis evaluating the efficacy of PRP as an adjuvant in rotator cuff arthroscopy failed to show any benefit associated to PRP. The only uncertainty in favor of PRP is that it may decrease the proportion of retears, but this needs further confirmation [72].

Ultrasound guided injections and real-time follow-up has fueled the use of PRP in tendinopathies

A recent metaanalysis examining the conservative management of tendinopathy has shown that PRP provide some benefits in pain [61]. Moreover, subgroup analysis showed a modest reduction of pain in epicondylitis [73]. However, major limitations for pooling data and drawing firm conclusions comprise different outcome measurements and follow-up periods.

The most commonly treated tendons in the lower limb were Achilles, the patellar tendon and the plantar fascia. PRP shows potential benefits in these anatomical locations, current eviden-

http://dx.doi.org/10.5772/59954

ces are encouraging but limited. The need is clear to compare PRP treatment with the most adequate control for each condition.

5.4.5. Muscle injuries

PRP injections are used in professional athletes; the goal is to accelerate muscle healing, and avoid relapses through true muscle regeneration, i.e. absence of scar tissue. Especially in elite athletes the goal is to achieve rapid healing and resume competition faster than with conventional care. Although case series provide promising results, two recent randomized controlled trials showed divergent results [74,75]. Protocols and PRP formulations were different in both studies, thus further research is warranted.

5.5. Treatment of eye problems

5.5.1. Macular hole

Platelet concentrates were used in the 90s as an adjunct to macular hole healing. PRP is an autologous alternative to fibrin glue with much more biological activity conferred by hundreds of GFs and cytokines stored in alpha-granules. The efficacy of platelet concentrates was examined in a multicenter double blind study involving 53 eyes in the experimental group and 57 eyes in the control group. Injection of autologous platelet concentrates during macular hole surgery improved significantly the anatomic success of the intervention but did not influence visual acuity [76].

5.5.2. Dry eye

Autologous serum administered topically has been used to treat dry eye symptoms because it can improve not only lubrication but also enhance lacrimal production since its composition includes GFs important in this context such as EGF. However, after metaanalysing current studies there were inconsistency in relation to the benefits provided by autologous serum [77].

As an alternative, PRP derivatives mainly the PRP released supernatant or the PRP lysate are being investigated to improve dry eye conditions, administered topically. Alternatively, in severe cases PRP is injected adjacent to the lacrimal gland [78]. Results indicate a significant increase in lacrimal volume and patient's self-reported improvements. PRP also enhanced epithelial status after LASIK but did not affect the recovery of corneal sensitivity.as evaluated in a controlled study in which the contralateral eye was used as control [79].

5.5.3. Corneal ulcers

Perforated corneal ulcers have been treated with PRP fibrin in a reduced number of patients (N=11=. In all cases the corneal perforation was sealed after 3-5 days of stability of the membrane in the ulcer [80]. When PRP eyedrops were compared to autologous serum eyedrops in the treatment of persistent epithelial defects PRP was more efficient than serum [81]. After photorefractive keratectomy, the use of PRP enhanced wound healing and reduced haze formation [82]

In a prospective controlled study in acute ocular chemical injury PRP eyedrops as adjunct to standard care was superior to artificial tears, autologous platelet lysate was also effective for the treatment of refractory ocular GVDH in unresponsive patients [83].

5.5.4. Other therapeutic applications

Some anecdotic uses of PRP in urology for fistula repair [84], in the management of infantile extravasation injury [85], and in gynecology for vaginal prolapse [86-87] have been published.

6. Challenges ahead

As PRP is eminently a translational technology, challenges must be addressed through three interlinked angles: scientific, clinical and socioeconomic.

From the scientific aspect, evidence continues to build for the mechanisms of PRP in tissue repair regulating the behavior of different cell types. At present we have a more complete picture on how PRP influences healing mechanisms however, we do not know enough to design formulations for specific medical problems. Difficulties to advance are attributed to the lack of characterization of the host tissue. In fact, the host response to PRP administration will drive the healing mechanisms. The host response invariably starts with activation of the immune innate system as a result of PRP administration. Moreover, considering the local pH, O_2 levels, and cellular conditions of the host (i.e. number of dying cells apoptotic or necrotic) is important not only in terms of GFs and cytokine stability but also to have information about the main mechanism affected.

Clinical challenges: PRP research may eventually lead to superior therapies. The translational imperative is making PRP formulation effective in defined indications. The challenge is to customize PRP formulations. Essentially a single formulation cannot fulfill every need, from treating a degenerative knee to repairing a pseudo-arthritic condition.

The modest benefits achieved with clinical trials addressing PRP efficacy should not reduce our motivation, instead we need to understand better the underlying mechanisms so that the most appropriate indications can be found and appropriate trials conducted to test the specific indications. Novel approaches to clinical trial design shall recognize that the efficacy of these therapies will be dependent upon delivery protocol as well as the PRP product itself.

Socioeconomic challenges: we should consider carefully the potential of PRPs to reduce costs in chronic diseases. This could be achieved by the creation of proper registries and economic models considering the costs generated in pre-treatment run-in periods. In patients with recalcitrant pathologies, candidates to surgical interventions, economical algorithms will help to estimate savings attributable to surgical and post-surgical costs relative to the conservative management.

http://dx.doi.org/10.5772/59954

Cardiac surgery	Coronary artery bypass graft surgery*
	Aorta surgery*
Plastic surgery	Breast reconstruction**
	Infected high-energy soft tissue injuries*
	Skin grafts**
	Fat grafts***
	Pilodinal sinus abscesses*
Pediatric surgery	Alveoloplasty of cleft palate*
	Extravasation injury (premature infants)*
Maxillofacial and oral surgery	Molar extractions***
	Implant surgery***
	Osteodistraction**
	Periodontal disease**
	Mandibular tumor resection**
	Sinus lift**
Urology	Uretracutaneous fistula repair *
	Vesicovaginal fistula*
Gynecology	Vaginal prolapse*
Orthopedics and Arthroscopic surgery	Non-union (aseptic pseudo-arthrosis)*
	Tendon surgery*
	Morton neuroma*
	Peripheral nerve regeneration*
	ACL reconstruction***
	Rotator cuff surgery***
	Lumbar interbody fusion*
	Tibial osteotomy*
	Hip conditions (sacroiliac joint dysfunction)*

*** Broadly used, that is RCTs, several clinical evidences and different levels of evidence

** Moderate use, case series and at least one controlled study

* Anecdotic use, case series or an isolated prospective cohort

Table 3. Miscellaneous applications of PRPs in open surgery

Eye disease	Macular hole**	
	Restoration of human lacrimal function (dry eye)**	
	Corneal ulcers and lesions **	
		Chemical acute wounds
		Neurotrophic wounds
		epithelial
	Nerve regeneration after LASIK*	

	Refractory ocular GVDH*	
Cardiology	Complications of sternotomy**	
	Severe deep sternal wound infection**	
Dermatology	Non-healing ulcers***	
		Diabetic ulcer
		Neurogenic
		Arterial
		traumatic
		Pressure ulcers
		Vascular ulcers
	Treatment of striae distensae*	
	Androgenetic alopecia*	
	Peripheral neuropathy*	
Sports Medicine and Orthopedics	Chondropathy and Osteoarthritis***	
	Tendinopathies***	
	Muscle injuries**	
	Ligament injuries*	
	Fasciitis plantar**	
	Recalcitrant hindfoot and ankle disease**	
	Per-cutaneous non-unions*	

Table 4. Conservative clinical applications of PRP therapies

Author details

I. Andia[1*], E. Rubio-Azpeitia[1], J.I. Martin[1] and M. Abate[2]

*Address all correspondence to: iandia2010@hotmail.com

1 BioCruces Health Research Institute/Cruces University Hospital, Barakaldo, Spain

2 Department of Medicine and Science of Aging, University G. d'Annunzio, Chieti-Pescara, Italy

References

[1] Oerlemans AJM, van Hoeck MEC, van Leeuwen E, Dekkers WJM. Hype and expectations in tissue engineering. Reg Med 2014;9(1):113-122

[2] Li MD, Atkins H, Bubela T. The global landscape of stem cell clinical trials. Reg Med 2014;9(1):27-39

[3] Närhi MO, Nordström K. Regulation of cell based therapeutic products intended for human applications in the EU. Reg Med 2014;9(3):327-351

[4] Gilbert SF, Sarkar S. Embracing complexity: organicism for the 21st century. Dev Dyn. 2000 Sep;219(1):1-9

[5] Godwin JW, Rosenthal N. Scar-free wound healing and regeneration in amphibians: immunological influences on regenerative success. Differentiation 2014; 87:66-75

[6] Godwin JW, Pinto AR, Rosenthal NA. Macrophages are required for adult salamander limb regeneration. PNAS 2013

[7] Fukaya Y, Kuroda M, Aoyagi Y, Asada S, Kubota Y, Okamoto Y, Nakayama T, Saito Y, Satoh K, Bujo H. Platelet-rich plasma inhibits the apoptosis of highly adipogenic homogeneous preadipocytes in an in vitro culture system. Exp Mol Med. 2012 May 31;44(5):330-9

[8] Zargar Baboldashti N, Poulsen RC, Franklin SL, Thompson MS, Hulley PA. Platelet-rich plasma protects tenocytes from adverse side effects of dexamethasone and ciprofloxacin. Am J Sports Med. 2011 Sep;39(9):1929-35.

[9] Peng Y, Huang S, Wu Y, Cheng B, Nie X, Liu H, Ma K, Zhou J, Gao D, Feng C, Yang S, Fu X. Platelet rich plasma clot releasate preconditioning induced PI3K/AKT/NFκB signaling enhances survival and regenerative function of rat bone marrow mesenchymal stem cells in hostile microenvironments. Stem Cells Dev. 2013;22(24):3236-51

[10] Griffiths S, Baraniak PR, Copland IB, Nerem RM, McDevitt TC. Human platelet lysate stimulates high-passage and senescent human multipotent mesenchymal stromal cell growth and rejuvenation in vitro. Cytotherapy. 2013 Dec;15(12):1469-83

[11] Andia I, Maffulli N. Platelet rich plasma for muscle injury and tendinopathy. Sports Medicine Arthroscop Rev 2013 Dec;21(4):191-8

[12] Andia I, Abate M. Platelet Rich Plasma (PRP): Underlying Biology and Clinical Correlates. Reg Med 2013 Sep;8(5):645-58.

[13] Andia I,Rubio-Azpeitia E, Maffulli N. Hyperuricemic PRP in tendon cells.BioMed Res Int 2014 http://dx.doi.org/10.1155/2014/926481

[14] Davis MJ, Tsang TM, Qiu Y, Dayrit JK, Freij JB, Huffnagle GB, Olszewski MA. Macrophage M1/M2 polarization dynamically adapts to changes in cytokine microenvironments in Cryptococcus neoformans infection. MBio. 2013 Jun 18;4(3):e00264-13

[15] Gleissner CA. Macrophage phenotype modulation by CXCL4 atherosclerosis. Frontiers Physiol 2012;3:1-7

[16] Vidal B, Serrano AL, Tjwa M, Suelves M, Ardite E, De Mori R, Baeza-Raja B, Martínez de Lagrán M, Lafuste P, Ruiz-Bonilla V, Jardí M, Gherardi R, Christov C, Dierssen M, Carmeliet P, Degen JL, Dewerchin M, Muñoz-Cánoves P. Fibrinogen drives

dystrophic muscle fibrosis via a TGFbeta/alternative macrophage activation pathway. Genes Dev. 2008 Jul 1;22(13):1747-52.

[17] Bir SC, Esaki J, Marui A, Sakaguchi H, Kevil CG, Ikeda T, Komeda M, Tabata Y, Sakata R. Therapeutic treatment with sustained-release platelet-rich plasma restores blood perfusion by augmenting ischemia-induced angiogenesis and arteriogenesis in diabetic mice. J Vasc Res. 2011;48(3):195-205.

[18] Richardson TP1, Peters MC, Ennett AB, Mooney DJ. Polymeric system for dual growth factor delivery. Nat Biotechnol. 2001 Nov;19(11):1029-34.

[19] Dellavalle A, Maroli G, Covarello D, Azzoni E, Innocenzi A, Perani L, Antonini S, Sambasivan R, Brunelli S, Tajbakhsh S, Cossu G. Pericytes resident in postnatal skeletal muscle differentiate into muscle fibres and generate satellite cells. Nat Commun. 2011 Oct 11;2:499.

[20] Cappellari O, Cossu G. Pericytes in development and pathology of skeletal muscle. Circ Res. 2013 Jul 19;113(3):341-7.

[21] Andia I, Abate M. Platelet rich plasma injections for tendinopathy and osteoarthritis. Int J Clin Rheumatol 2012; 7(4): 397-412

[22] Lev EI, Estrov Z, Aboulfatova K, Harris D, Granada JF, Alviar C, Kleiman NS, Dong JF. Potential role of activated platelets in homing of human endothelial progenitor cells to subendothelial matrix. Thromb Haemost. 2006 Oct;96(4):498-504

[23] Lee JK, Lee S, Han SA, Seong SC, Lee MC. The effect of platelet-rich plasma on the differentiation of synovium-derived mesenchymal stem cells. J Orthop Res. 2014;32(10):1317-25

[24] Chen L, Dong SW, Tao X, Liu JP, Tang KL, Xu JZ. Autologous platelet-rich clot releasate stimulates proliferation and inhibits differentiation of adult rat tendon stem cells towards nontenocyte lineages. J Int Med Res. 2012;40(4):1399-409

[25] Li H, Usas A, Poddar M, Chen CW, Thompson S, Ahani B, Cummins J, Lavasani M, Huard J. Platelet-rich plasma promotes the proliferation of human muscle derived progenitor cells and maintains their stemness. PLoS One. 2013 Jun 7;8(6):e64923.

[26] Rubio-Azpeitia E, Andia I. Partnership between platelet-rich plasma and mesenchymal stem cells: in vitro experience. Muscles Ligaments Tendons J. 2014 May 8;4(1): 52-62.

[27] Madduri S, Gander B. Schwann cell delivery of neurotrophic factors for peripheral nerve regeneration. J Peripher Nerv Syst. 2010;15(2):93-103.

[28] Emel E, Ergün SS, Kotan D, Gürsoy EB, Parman Y, Zengin A, Nurten A. Effects of insulin-like growth factor-I and platelet-rich plasma on sciatic nerve crush injury in a rat model. J Neurosurg. 2011 Feb;114(2):522-8.

[29] Farrag TY, Lehar M, Verhaegen P, Carson KA, Byrne PJ. Effect of platelet rich plasma and fibrin sealant on facial nerve regeneration in a rat model. Laryngoscope. 2007 Jan;117(1):157-65.

[30] Sariguney Y, Yavuzer R, Elmas C, Yenicesu I, Bolay H, Atabay K. Effect of platelet-rich plasma on peripheral nerve regeneration. J Reconstr Microsurg. 2008;24(3): 159-67.

[31] Cho HH, Jang S, Lee SC, Jeong HS, Park JS, Han JY, Lee KH, Cho YB. Effect of neural-induced mesenchymal stem cells and platelet-rich plasma on facial nerve regeneration in an acute nerve injury model. Laryngoscope. 2010 May;120(5):907-13.

[32] Zheng C, Zhu Q, Liu X, Huang X, He C, Li J, Quan D. Improved peripheral nerve regeneration using acellular nerve allografts loaded with platelet-rich plasma. Tissue Eng Part A. 2014 Jun 5.

[33] Kaplan S, Pişkin A, Ayyildiz M, Aktaş A, Köksal B, Ulkay MB, Türkmen AP, Bakan F, Geuna S. The effect of melatonin and platelet gel on sciatic nerve repair: an electrophysiological and stereological study. Microsurgery. 2011 May;31(4):306-13.

[34] Anjayani S, Wirohadidjojo YW, Adam AM, Suwandi D, Seweng A, Amiruddin MD. Sensory improvement of leprosy peripheral neuropathy in patients treated with perineural injection of platelet-rich plasma. Int J Dermatol. 2014 Jan;53(1):109-13.

[35] Knighton DR, Ciresi KF, Fiegel VD, Austin LL, Butler EL. Classification and treatment of chronic nonhealing wounds. Successful treatment with autologous platelet-derived wound healing factors (PDWHF). Ann Surg. 1986 Sep;204(3):322-30

[36] Ferrari M, Zia S, Valbonesi M, Henriquet F, Venere G, Spagnolo S, Grasso MA, Panzani I. A new technique for hemodilution, preparation of autologous platelet-rich plasma and intraoperative blood salvage in cardiac surgery. Int J Artif Organs. 1987 Jan;10(1):47-50

[37] Dohan Ehrenfest D.M., Andia I., Zumstein M.A., Zhang, Pinto N.R., Bielecki T. Classification of platelet concentrates (Platelet-Rich Plasma-PRP, Platelet-Rich Fibrin-PRF) for topical and infiltrative use in orthopedic and sports medicine: current consensus, clinical implications and perspectives. MLTJ vol4 (1): 3 - 9, R

[38] Pecoraro RE, Reiber GE, Burgess EM. Pathways to diabetic limb amputation. Basis for prevention. Diabetes Care. 1990;13(5):513-21.

[39] Steed DL, Attinger C, Colaizzi T, Crossland M, Franz M, Harkless L, Johnson A, Moosa H, Robson M, Serena T, Sheehan P, Veves A, Wiersma-Bryant L. Guidelines for the treatment of diabetic ulcers. Wound Repair Regen. 2006;14(6):680-92.

[40] Knighton DR, Ciresi K, Fiegel VD, Schumerth S, Butler E, Cerra F. Stimulation of repair in chronic, nonhealing, cutaneous ulcers using platelet-derived wound healing formula. Surg Gynecol Obstet. 1990 Jan;170(1):56-60

[41] Steed DL, Goslen JB, Holloway GA, Malone JM, Bunt TJ, Webster MW. Randomized prospective double-blind trial in healing chronic diabetic foot ulcers. CT-102 activated platelet supernatant, topical versus placebo. Diabetes Care. 1992;15(11):1598-604

[42] de Leon JM, Driver VR, Fylling CP, Carter MJ, Anderson C, Wilson J, Dougherty RM, Fuston D, Trigilia D, Valenski V, Rappl LM. The clinical relevance of treating chronic wounds with an enhanced near-physiological concentration of platelet-rich plasma gel. Adv Skin Wound Care. 2011 Aug;24(8):357-68

[43] Carter MJ, Fylling CP, Parnell LK. Use of platelet rich plasma gel on wound healing: a systematic review and meta-analysis. Eplasty. 2011;11:e38. Epub 2011 Sep 15.

[44] Kanemaru H, Kajihara I, Yamanaka K, Igata T, Makino T, Masuguchi S, Fukushima S, Jinnin M, Ihn H. Platelet-rich plasma therapy is effective for the treatment of refractory skin ulcers in patients with systemic sclerosis. Mod Rheumatol. 2014 Jun 16:1-2.

[45] Martinez-Zapata MJ, Martí-Carvajal AJ, Solà I, Expósito JA, Bolíbar I, Rodríguez L, Garcia J. Autologous platelet-rich plasma for treating chronic wounds. Cochrane Database Syst Rev. 2012

[46] Carter MJ, Fylling CP, Li WW, de Leon J, Driver VR, Serena TE, Wilson J. Analysis of run-in and treatment data in a wound outcomes registry: clinical impact of topical platelet-rich plasma gel on healing trajectory. Int Wound J. 2011 Dec;8(6):638-50.

[47] Dougherty EJ. An evidence-based model comparing the cost-effectiveness of platelet-rich plasma gel to alternative therapies for patients with nonhealing diabetic foot ulcers. Adv Skin Wound Care. 2008 Dec;21(12):568-75.

[48] Del Fabbro M, Bortolin M, Taschieri S. Is autologous platelet concentrate beneficial for post-extraction socket healing? A systematic review. Int J Oral Maxillofac Surg. 2011 Sep;40(9):891-900

[49] Khairy NM, Shendy EE, Askar NA, El-Rouby DH. Effect of platelet rich plasma on bone regeneration in maxillary sinus augmentation (randomized clinical trial). Int J Oral Maxillofac Surg. 2013 Feb;42(2):249-55

[50] González-Sánchez JG, Jiménez-Barragán K. Closure of recurrent cleft palate fistulas with plasma rich in growth factors. Acta Otorrinolaringol Esp. 2011 Nov-Dec;62(6): 448-53.

[51] Lee C, Nishihara K, Okawachi T, Iwashita Y, Majima HJ, Nakamura N. A quantitative radiological assessment of outcomes of autogenous bone graft combined with platelet-rich plasma in the alveolar cleft. Int J Oral Maxillofac Surg. 2009 Feb;38(2): 117-25

[52] Luaces-Rey R, Arenaz-Búa J, Lopez-Cedrún-Cembranos JL, Herrero-Patiño S, Sironvalle-Soliva S, Iglesias-Candal E, Pombo-Castro M. Is PRP useful in alveolar cleft re-

construction? Platelet-rich plasma in secondary alveoloplasty. Med Oral Patol Oral Cir Bucal. 2010 Jul 1;15(4):e619-23

[53] Marukawa E, Oshina H, Iino G, Morita K, Omura K. Reduction of bone resorption by the application of platelet-rich plasma (PRP) in bone grafting of the alveolar cleft. J Craniomaxillofac Surg. 2011;39(4):278-83

[54] Sommeling CE(1), Heyneman A, Hoeksema H, Verbelen J, Stillaert FB, Monstrey S. The use of platelet-rich plasma in plastic surgery: a systematic review. J Plast Reconstr Aesthet Surg. 2013;66(3):301-11.

[55] Willemsen JC, van der Lei B, Vermeulen KM, Stevens HP. The Effects of Platelet-Rich Plasma on Recovery Time and Aesthetic Outcome in Facial Rejuvenation: Preliminary Retrospective Observations. Aesthetic Plast Surg. 2014 Jul 2. [Epub ahead of print]

[56] Nita AC, Orzan OA2, Filipescu M3, Jianu D. Fat graft, laser CO_2 and platelet-rich-plasma synergy in scars treatment. J Med Life. 2013;6(4):430-3.

[57] Zhu JT, Xuan M, Zhang YN, Liu HW, Cai JH, Wu YH, Xiang XF, Shan GQ, Cheng B. The efficacy of autologous platelet-rich plasma combined with erbium fractional laser therapy for facial acne scars or acne. Mol Med Rep. 2013 Jul;8(1):233-7

[58] Cervelli V, Garcovich S, Bielli A, Cervelli G, Curcio BC, Scioli MG, Orlandi A, Gentile P.The effect of autologous activated platelet rich plasma (AA-PRP) injection on pattern hair loss: clinical and histomorphometric evaluation. Biomed Res Int. 2014;2014:760709

[59] Schiavone G1, Raskovic D, Greco J, Abeni D. Platelet-rich plasma for androgenetic alopecia: a pilot study. Dermatol Surg. 2014;40(9):1010-9

[60] Miao Y, Sun YB, Sun XJ, Du BJ, Jiang JD, Hu ZQ. Promotional effect of platelet-rich plasma on hair follicle reconstitution in vivo. Dermatol Surg. 2013;39(12):1868-76

[61] Andia I, Latorre PM, Gomez MC, Burgos-Alonso N, Abate M, Maffulli N. Platelet-rich plasma in the conservative treatment of painful tendinopathy: a systematic review and meta-analysis of controlled studies. Br Med Bull. 2014 Jun;110(1):99-115 R

[62] Andia I, Maffulli N. Platelet Rich Plasma for patellar tendon and MCL injuries. J Knee Surg. 2014

[63] Andia I, Maffulli N. Platelet-rich plasma for managing pain and inflammation in osteoarthritis. Nat Rev Rheumatol 2013 Dec;9(12):721-30

[64] Griffin XL, Wallace D, Parsons N, Costa ML. Platelet rich therapies for long bone healing in adults. Cochrane Database Syst Rev. 2012 Jul 11;7:CD009496.

[65] Lenza M, Ferraz Sde B, Viola DC, Santos OF, Cendoroglo Neto M, Ferretti M. Platelet-rich plasma for long bone healing. Einstein (Sao Paulo). 2013;11(1):122-7.

[66] Tarantino R, Donnarumma P, Mancarella C, Rullo M, Ferrazza G, Barrella G, Martini S, Delfini R. Posterolateral arthrodesis in lumbar spine surgery using autologous pla-

telet-rich plasma and cancellous bone substitute: an osteoinductive and osteoconductive effect. Global Spine J. 2014 Aug;4(3):137-42.

[67] Sys J, Weyler J, Van Der Zijden T, Parizel P, Michielsen J.Platelet-rich plasma in mono-segmental posterior lumbar interbody fusion. Eur Spine J. 2011;20(10):1650-7.

[68] Wang SZ, Rui YF, Tan Q, Wang C. Enhancing intervertebral disc repair and regeneration through biology: platelet-rich plasma as an alternative strategy. Arthritis Res Ther. 2013;15(5):220.

[69] Chang KV, Hung CY, Aliwarga F, Wang TG, Han DS, Chen WS.Comparative effectiveness of platelet-rich plasma injections for treating knee joint cartilage degenerative pathology: a systematic review and meta-analysis. Arch Phys Med Rehabil. 2014 Mar;95(3):562-75.

[70] Khoshbin A(1), Leroux T, Wasserstein D, Marks P, Theodoropoulos J, Ogilvie-HarrisD, Gandhi R, Takhar K, Lum G, Chahal J. The efficacy of platelet-rich plasma in the treatment of symptomatic knee osteoarthritis: a systematic review with quantitative synthesis. Arthroscopy. 2013 Dec;29(12):2037-48

[71] [71] Sánchez M1, Guadilla J, Fiz N, Andia I. Ultrasound-guided platelet-rich plasma injections for the treatment of osteoarthritis of the hip. Rheumatology (Oxford). 2012 Jan;51(1):144-50.

[72] Chahal J, Van Thiel GS, Mall N, Heard W, Bach BR, Cole BJ, Nicholson GP, Verma NN, Whelan DB, Romeo AA.The role of platelet-rich plasma in arthroscopic rotator cuff repair: a systematic review with quantitative synthesis. Arthroscopy. 2012 Nov; 28(11):1718-27

[73] Ahmad Z, Brooks R, Kang SN, Weaver H, Nunney I, Tytherleigh-Strong G, Rushton N. The effect of platelet-rich plasma on clinical outcomes in lateral epicondylitis. Arthroscopy. 2013 Nov;29(11):1851-62

[74] A Hamid MS, Mohamed Ali MR, Yusof A, George J, Lee LP. Platelet-Rich Plasma Injections for the Treatment of Hamstring Injuries: A Randomized Controlled Trial. Am J Sports Med. 2014 Jul 29. pii: 0363546514541540

[75] Reurink G, Goudswaard GT, Moen MH, Weir A, Verhaar JAN, Maas M, Tol JL. Platelet rich plasma injections in acute muscle injury. N Engl J Med 2014; 370(26): 2546-2547

[76] Paques M, Chastang C, Mathis A, Sahel J, Massin P, Dosquet C, Korobelnik JF, Le Gargasson JF, Gaudric A. Effect of autologous platelet concentrate in surgery for idiopathic macular hole: results of a multicenter, double-masked, randomized trial. Platelets in Macular Hole Surgery Group. Ophthalmology. 1999;106(5):932-8

[77] Pan Q1, Angelina A, Zambrano A, Marrone M, Stark WJ, Heflin T, Tang L, Akpek EK. Autologous serum eye drops for dry eye. Cochrane Database Syst Rev. 2013 Aug 27;8:CD009327. doi: 10.1002/14651858.CD009327.pub2.

[78] Avila MY. Restoration of human lacrimal function following platelet-rich plasma injection. Cornea. 2014 Jan;33(1):18-21

[79] Javaloy J, Alió JL, Rodriguez AE, Vega A, Muñoz G. Effect of platelet-rich plasma in nerve regeneration after LASIK. J Refract Surg. 2013 Mar;29(3):213-9.

[80] Alio JL, Rodriguez AE, Martinez LM, Rio AL. Autologous fibrin membrane combined with solid platelet-rich plasma in the management of perforated corneal ulcers: a pilot study. JAMA Ophthalmol. 2013 Jun;131(6):745-51

[81] Kim KM, Shin YT, Kim HK. Effect of autologous platelet-rich plasma on persistent corneal epithelial defect after infectious keratitis. Jpn J Ophthalmol. 2012 Nov;56(6): 544-50

[82] Anitua E, Muruzabal F, Alcalde I, Merayo-Lloves J, Orive G. Plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret) stimulates corneal wound healing and reduces haze formation after PRK surgery. Exp Eye Res. 2013 Oct;115:153-61.

[83] Pezzotta S1, Del Fante C, Scudeller L, Cervio M, Antoniazzi ER, Perotti C Autologous platelet lysate for treatment of refractory ocular GVHD. Bone Marrow Transplant. 2012;47(12):1558-63

[84] Shirvan MK, Alamdari DH, Ghoreifi A. A novel method for iatrogenic vesicovaginal fistula treatment: autologous platelet rich plasma injection and platelet rich fibrin glue interposition. J Urol. 2013;189(6):2125-9

[85] Lee HJ, Kwon SH, Choi JW, Park KC, Youn SW, Huh CH, Na JI. The management of infantile extravasation injury using maternal platelet-rich plasma. Pediatr Dermatol. 2013;30(6):e114-7.

[86] Einarsson JI, Jonsdottir K, Mandle R. Use of autologous platelet gel in female pelvic organ prolapse surgery: a feasibility study. J Minim Invasive Gynecol. 2009 Mar-Apr; 16(2):204-7.

[87] Gorlero F, Glorio M, Lorenzi P, Bruno-Franco M, Mazzei C. New approach in vaginal prolapse repair: mini-invasive surgery associated with application of platelet-rich fibrin. Int Urogynecol J. 2012 Jun;23(6):715-22.