



▶ **Biblioteca digital**

Incluye **e-Book**

PLASMA RICO EN PLAQUETAS

EN ORTOPEDIA Y MEDICINA DEPORTIVA

Eduardo Anitua - Ramón Cugat - Mikel Sánchez



AMOLCA

Plasma rico en plaquetas en ortopedia y medicina deportiva

Eduardo Anitua

Director del University Institute for Regenerative Medicine
and Oral Implantology (UIRMI) de la
Universidad del País Vasco/Euskal Herriko Unibertsitate (UPV/EHU)
Vitoria-Gasteiz, España

Mikel Sánchez

Unidad de Cirugía Artroscópica
Hospital Vithas San José
Vitoria-Gasteiz, España

Ramón Cugat

Hospital Quirón
Artroscopia GC
Barcelona, España

2022



Contenido

1	Plaquetas en la interfaz entre inflamación y reparación de tejidos	1
	Alan Nurden, Paquita Nurden	
2	Caracterización del plasma rico en factores de crecimiento (PRGF): componentes y formulaciones	17
	Eduardo Anitua, Roberto Prado, Alan Nurden, Paquita Nurden	
3	Reparación y regeneración: estableciendo la relación entre coagulación, sistema inmunitario, sistema nervioso sensorial y fibrogénesis	33
	Sabino Padilla, Mikel Sánchez, Ione Padilla, Eduardo Anitua	
4	Efectos del plasma rico en factores de crecimiento en células y tejidos del sistema musculoesquelético: del cartílago articular a los músculos y nervios	49
	Sabino Padilla, Mikel Sánchez, Eduardo Anitua	
5	Intervención molecular con plasma rico en factores de crecimiento para mejorar la perfusión muscular y el remodelado de tejidos en enfermedades isquémicas. Tratamiento con PRGF de músculo isquémico y corazón.....	65
	Beatriz Pelacho, Ana Pérez, Felipe Prósper	
6	Aplicación de Endoret® (PRGF®) en el campo oral y maxilofacial	79
	Eduardo Anitua, Laura Piñas, Mohammad Hamdan Alkhraisat	
7	Fundamento científico para aplicar plasma rico en factores de crecimiento en patologías de tejidos articulares: osteoartritis de rodilla.....	103
	Sabino Padilla, Eduardo Anitua, Nicolás Fiz, Orlando Pompei, Juan Azofra, Mikel Sánchez	
8	Un nuevo enfoque para tratar las lesiones articulares: combinación de inyecciones intraarticulares e intraóseas de plasma rico en plaquetas.....	121
	Mikel Sánchez, Eduardo Anitua, Diego Delgado, Peio Sánchez, Roberto Prado, Felipe Prósper, Nicolás Fiz, Sabino Padilla	
9	Osteoartritis de rodilla: tratamiento con infiltraciones de PRGF de un ciclo versus dos ciclos	137
	Víctor Vaquerizo, María del Mar Ruiz de Castañeda	

10	PRGF en lesiones ligamentarias relacionadas con el deporte	149
	Ramón Cugat, Xavier Cuscó, Roberto Seijas, David Barastegui, Pedro Álvarez Díaz, Eduard Alentorn Geli, Marta Rius, Gilbert Steinbacher, Esther Sala, Juan Boffa, Sebastián Grossi, Montserrat García-Balletbó, Sue-Sonia Tizol, Patricia Laiz, Miguel Marín, Xavier Álvarez, Nieves Lama	
11	Tendinopatía y su tratamiento: fundamento y dificultades en la aplicación clínica de PRP	163
	James Wang, Yiqin Zhou, Xavier Nirmala	
12	Infiltraciones de PRGF para tratar lesiones de ligamentos y tendones en la cadera y la pelvis	181
	Matthew J. Kraeutler, Tigran Garabekyan, Omer Mei-Dan	
13	Una terapia biológica adyuvante novedosa y versátil en el manejo de las neuropatías	193
	Mikel Sánchez, Eduardo Anitua, Diego Delgado, Ane Garate, Ane Miren Bilbao, Peio Sánchez, Sabino Padilla	
14	Intervención molecular con PRGF: un puente entre la reparación espontánea y la muscular	207
	Mikel Sánchez, Eduardo Anitua, Beatriz Aizpurua, Diego Delgado, Peio Sánchez, Jorge Guadilla, Sabino Padilla	
15	Tratamiento mínimamente invasivo con PRGF para el dolor lumbar y la enfermedad degenerativa del disco	223
	Fernando Kirchner, Eduardo Anitua	
16	Educación y estandarización en ortobiología: pasado, presente y futuro	239
	Steven Sampson, Hunter Vincent, Mary Ambach	



Efectos del plasma rico en factores de crecimiento en células y tejidos del sistema musculoesquelético: del cartílago articular a los músculos y nervios

Sabino Padilla,^{1,2,4} Mikel Sánchez,³ Eduardo Anitua^{1,2,4}

RESUMEN

Un enfoque innovador para el tratamiento de las lesiones deportivas agudas y crónicas es el uso de la ingeniería biológica (*engineering biology*) asistida por la aplicación de terapias de administración de biológicos (BDDT, por sus siglas en inglés) derivados de la sangre en sus diferentes formulaciones. La inflamación estéril es el punto en común de la destrucción del cartílago y la osteoartritis (OA), las tendinopatías, las distensiones musculares y ligamentarias, las fracturas óseas o compresión o transección nerviosa, entre otros daños tisulares. Los procesos clave en la reparación de los tejidos dañados son la inflamación, la angiogénesis, la activación y polarización de macrófagos, los destinos celulares y la diferenciación de células madre progenitoras, la fibro-

génesis además la resolución activa de la inflamación, la angiogénesis y la fibrogénesis, que se rigen esencialmente por citocinas, factores de crecimiento y otros mediadores biológicos. El presente capítulo resume nuestro conocimiento actual de los efectos de las terapias de administración de biológicos (BDDT) derivados de la sangre en los tejidos del sistema musculoesquelético.

1. INTRODUCCIÓN

A través del diseño y la construcción de materiales biológicos sintéticos, la ingeniería de tejidos nos proporciona los mejores andamios y dispositivos de reemplazo disponibles técnicamente. Sin embargo, el punto más débil de los tratamientos quirúrgicos orto-

¹ Fundación Eduardo Anitua para la Investigación Biomédica, Vitoria-Gasteiz, España

² BTI Biotechnology Institute, Vitoria-Gasteiz, España

³ Unidad de Cirugía Artroscópica, Hospital Vithas San José, Vitoria-Gasteiz, España

⁴ University Institute for Regenerative Medicine and Oral Implantology (UIRMI) de la Universidad del País Vasco/ Euskal Herriko Unibertsitate (UPV/EHU)

pédicos actuales no radica en estos biomateriales altamente sofisticados, sino en la calidad de los tejidos del paciente en el sitio donde se unirán o anclarán los biomateriales sintéticos. Por lo tanto, el campo de la medicina regenerativa se está alejando desde la biología sintética más tradicional hacia terapias de administración de medicamentos biológicos derivados de la sangre (BDDT) cada vez más complejas y multimoleculares. De hecho, la sangre en sí misma contiene los ingredientes básicos para la creación biológica de dispositivos de administración de medicamentos que proporcionen control en el espacio y el tiempo a partir de la presentación de una amplia gama de agentes bioactivos, incluidos moléculas pequeñas, citocinas y factores de crecimiento.¹

La sangre contiene una amplia gama de elementos biológicos que influyen en el desarrollo de sustitutos funcionales para los tejidos dañados. Contiene los ingredientes básicos de la tríada de ingeniería de tejidos: células, factores de crecimiento y elementos formadores de andamios.² De manera significativa, la sangre proporciona fibrina como un andamio provisional para el crecimiento del tejido. También contiene elementos de señalización celular tanto en plasma como en plaquetas en forma de señales bioquímicas o ambientales que afectan el destino biológico y el fenotipo de las células. Es importante destacar que las BDDT no necesitan ser sembradas con células antes de la administración, ya que los andamios de fibrina derivados de la sangre se enriquecen con los factores de crecimiento y las citocinas del paciente que proporcionan señales para dirigir las células endógenas, incluidas las células madre, a los sitios de reparación.³ El presente capítulo destaca nuestro conocimiento actual de las BDDT en el potencial terapéutico de su uso en diferentes lesiones relevantes del tejido musculoesquelético, incluyendo tendones, ligamentos, cartílagos, músculos y nervios.

2. TERAPIAS DE ADMINISTRACIÓN DE BIOLÓGICOS DERIVADOS DE LA SANGRE

Las plaquetas constituyen uno de los elementos biológicos esenciales dentro de las BDDT-sangre. Son las primeras células que se acumulan en los sitios de lesión y, después de la activación, liberan docenas

de mediadores biológicamente activos en el microambiente, incluidas las conocidas quimiocinas, citocinas y factores de crecimiento.⁴ La multitud de señales liberadas ejerce efectos biológicos complejos que impulsan la reparación y regeneración de tejidos. Por ejemplo, los factores derivados de las plaquetas modulan la activación de los fibroblastos, inducen la proliferación y migración de células que participan de manera crítica en la reparación de tejidos, como las células del músculo liso y las células madre mesenquimales (MSC),⁵ regulan la angiogénesis, un proceso fundamental para la recuperación de la función del tejido,⁶ y pueden regular la apoptosis y la supervivencia de las células mediante micropartículas de plaquetas liberadas.⁷ Por lo tanto, las BDDT derivados de la sangre, que están enriquecidas en secretoma de plaquetas, pueden usarse con éxito como herramientas terapéuticas productivas y autólogas, promoviendo la curación y reparación de tejidos lesionados.

El andamio de fibrina, que se genera a partir de la BDDT derivado de la sangre, consiste principalmente en factores enriquecidos de fibrinógeno, trombina y calcio factores de la coagulación (Fig. 1). Curiosamente, cumple con las capacidades críticas que debe tener un andamio, incluida la forma, la fijación y la formación.⁸ Para que un andamio tenga forma, debe poder llenar el espacio para el que está diseñado. La BDDT derivado de la sangre se usa terapéuticamente para rellenar úlceras, defectos óseos o alvéolos dentales, entre otros.^{9,10} Otra propiedad clave es la fijación: la capacidad de un andamio para integrarse y unirse al microambiente circundante. Los andamios de fibrina autóloga son biocompatibles y biodegradables, y sirven como vehículos de administración y como matrices de andamios. Además, contienen docenas de proteínas adhesivas, incluidas fibronectina, vitronectina y serpinas, entre otras (todas ellas elementos fundamentales de la matriz extracelular). Tras una caracterización proteómica de alto rendimiento y la clasificación de las proteínas en familias y redes según la ontología génica, se han identificado más de 40 proteínas específicamente involucradas en la regeneración de tejidos y la cicatrización de heridas.¹¹ Por último, el andamio de fibrina puede conducir la formación del tejido deseado.

De manera interesante, las terapias de administración de medicamentos biológicos derivados de

la sangre están modernizando el antiguo «arte de la curación» al proporcionar versatilidad en la forma de dosificación sobre la disponibilidad de medicamentos (Recuadro 1). Las nuevas terapias actuales a base de sangre se pueden administrar por vía tópica, como gotas oftálmicas o mediante inyecciones subcutáneas, intradérmicas e intramusculares. Además, pueden existir como un líquido puro, un líquido gelificante *in situ* o un andamio de fibrina tridimensional, lo que permite nuevas estrategias terapéuticas.¹ En general, todas estas formulaciones terapéuticas se administran localmente. Una vez situado, el andamio de fibrina actúa como un depósito de mediadores bioactivos en cualquier sitio de lesión, controlando temporalmente su presentación. La corta vida media de los mediadores biológicos autólogos, incluidos los factores de crecimiento, las citocinas y las quimiocinas, enfatiza la importancia de este sistema de administración que imita la biología (Fig. 1).

Los opositores a la BDDT derivado de la sangre sostienen que estas terapias pueden mostrar mecanismos relevantes, pero aún poco conocidos de reparación tisular. Sin embargo, nuestro conocimiento actual sobre biología y biología molecular está aliviando algunas de estas preocupaciones.¹² Por ejemplo, las plaquetas dentro de la BDDT libera agentes como el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y el factor de crecimiento derivado del estroma 1 (SDF-1), que se sabe que controlan la proliferación, el reclutamiento y la activación de los tipos de células que participan de manera crítica en la cicatrización de heridas y regeneración de tejidos (Fig. 1). En particular, el HGF ejerce actividad antiapoptótica,¹³ proangiogénica¹⁴ e inmunosupresora¹⁵ y promueve el reclutamiento de MSC en células endoteliales arteriales humanas.⁵ El SDF-1 estimula el reclutamiento de células progenitoras a los trombos arteriales y la diferenciación de las células en progenitores endoteliales *in vivo*.^{16,17}

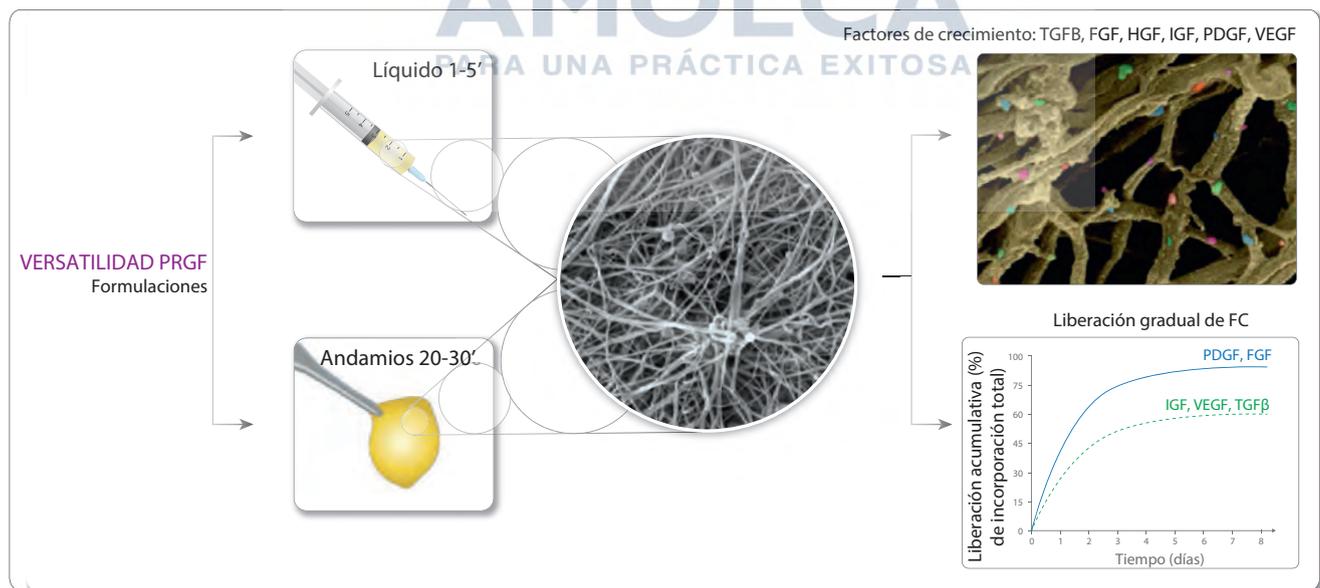


FIG. 1 Las terapias de administración de biológicos (BDDT) derivados de la sangre están basadas en una combinación de biomateriales derivados de manera natural, tales como la fibrina y un conjunto de factores de crecimiento. Por ejemplo, el andamio de fibrina tridimensional obtenido a partir de plasma humano fraccionado representa una solución fisiológicamente inspirada para controlar la liberación de la amplia gama de mediadores derivados de plasma y plaquetas.⁶⁴

3. REGLAS MECÁNICAS DE LA BIOLOGÍA CELULAR

Prácticamente todas las células de los tejidos musculoesqueléticos son mecanosensibles y experimentan estrés mecánico a través de la distorsión del complejo de la matriz extracelular (ECM). Responden a estas tensiones cambiando su bioquímica y fisiología celular (mecanobiología y adaptación plástica) (Fig. 2).¹⁸ Además, se requieren fuerzas mecánicas para mantener la integridad física de las estructuras anatómicas y la homeostasis de los tejidos mediante la regulación de las funciones celulares, incluida la inducción de genes, la síntesis de proteínas y la proliferación, diferenciación, crecimiento, supervivencia y apoptosis celular.¹⁹

Sin embargo, la exposición de las células musculoesqueléticas a estímulos no fisiológicos, ya sean mecánicos o bioquímicos, conduce a oscilaciones de la homeostasis tisular hacia alteraciones profundas de los componentes de la matriz extracelular, tanto celular como acelular, así como a las propiedades físicas y químicas de la ECM. Tales estímulos

conducen a daño del microambiente celular, degeneración y enfermedad.²⁰

La exposición de las células (tenocitos, condrocitos, fibroblastos, miofibras) a un nuevo microambiente citoplasmático y extracelular puede modificar su estado de activación/desactivación de genes (interruptores de genes), lo que podría inducirlos a activar genes previamente silenciosos, alterando así su expresión génica y productos génicos como las metaloproteinasas (MMP) y otras moléculas de la ECM (Fig. 2).^{20,21}

El punto en común entre la destrucción del cartílago y la osteoartritis (OA), las tendinopatías, las distensiones musculares y ligamentosas, las fracturas óseas o compresión o transección nerviosa, entre otros daños tisulares. Los procesos clave en la curación de los tejidos dañados son la inflamación, la angiogénesis, la activación y polarización de macrófagos, los destinos celulares y la diferenciación de células madre progenitoras, la fibrogénesis así como la resolución activa de la inflamación, la angiogénesis y la fibrogénesis, que se rigen esencialmente por citocinas, factores de crecimiento y otros mediadores biológicos (Fig. 3).²²

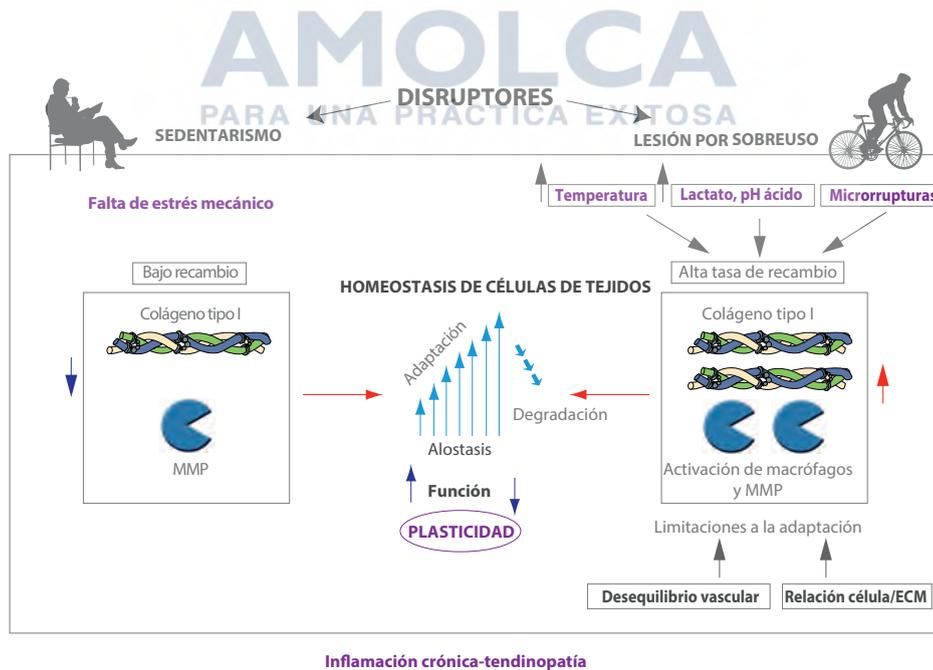


FIG. 2 La exposición de las células musculoesqueléticas a estímulos no fisiológicos, ya sean mecánicos o bioquímicos, conduce a oscilaciones bajo recambio tisular hacia alteraciones profundas de las células y componentes de la matriz extracelular, así como a las propiedades físicas y químicas de la ECM. Tales estímulos conducen a daños en el microambiente celular, baja inflamación crónica y disfunción.^{20,39}

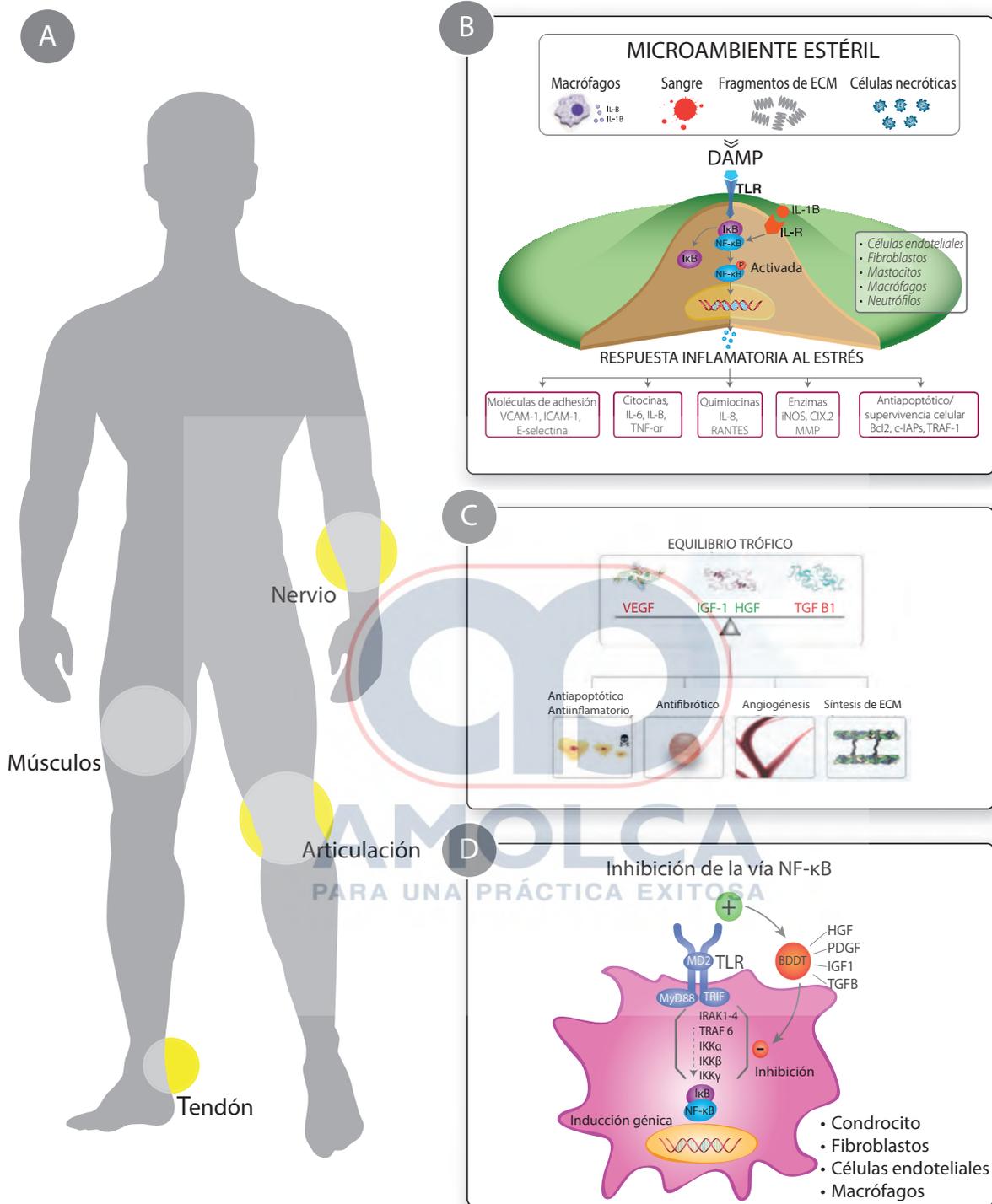


FIG. 3 A) La inflamación estéril es el punto en común de la destrucción del cartílago y la osteoartritis (OA), las tendinopatías, las distensiones musculares y ligamentosas, las fracturas óseas o compresión o transección nerviosa, entre otros daños tisulares. B) La lesión del tejido interrumpe la composición química y física de los microambientes celulares, lo que provoca que varios linajes celulares respondan con una expresión génica proinflamatoria mediante la activación de la vía de señalización de NFκB sin ninguna participación de patógenos. C) Un mecanismo hipotético mediante el cual la presencia concurrente y una relación equilibrada entre TGFβ1 y VEGF secretados por plaquetas, y factores de crecimiento plasmático como IGF-1 y HGF, todos administrados mediante BDDT derivado de la sangre, podrían ejercer algunos efectos biológicos. D) BDDT derivado de la sangre, FC incluidos, tales como HGF, PDGF, IGF-1, TGFβ1 y micropartículas de plaquetas, han demostrado ejercer un efecto inmunomodulador y promover un ambiente antiinflamatorio.²² (Reimpreso con autorización de Padilla y cols.²²)

4. EFECTOS DE LA BDDT DERIVADO DE LA SANGRE EN CONDICIONES MUSCULOESQUELÉTICAS

Gracias a una comprensión más profunda de los procesos moleculares y celulares que ocurren en las patologías musculoesqueléticas, la cirugía ortopédica está atravesando un cambio de paradigma serio: en lugar de simplemente eliminar y reemplazar el tejido dañado con dispositivos y materiales artificiales, la aplicación de terapias de administración de medicamentos biológicos derivados de la sangre está dirigida a desencadenar y mejorar la morfogénesis tisular natural *in vivo* y la capacidad regenerativa del tejido dañado²³ (véase Capítulo 3).

Con esto en mente, la sangre siempre ha estado presente en la ecuación de las terapias curativas. Varias líneas de evidencia derivadas de terapias de nicho de células madre sistémicas o locales, y representadas por parabiosis o microfracturas y escarificaciones de tendones respectivamente, respaldan el concepto de que los factores derivados de plaquetas o proteínas plasmáticas son candidatos para el rejuvenecimiento y la cicatrización de tejidos de mamíferos.²⁴⁻²⁸

Cartílago articular

El tratamiento de las patologías de la articulación sinovial, tales como defectos traumáticos osteocondrales, osteocondritis disecante, osteonecrosis, lesiones similares a edema de la médula ósea y osteoartritis, cuya víctima final parece ser el cartílago articular, con el hueso subcondral como el culpable, sigue siendo desalentador.²⁹ Las estrategias terapéuticas actuales están orientadas a aprovechar la respuesta de la reparación endógena mediante la estimulación de las células de la médula ósea a través de enfoques de perforación y microfractura, el trasplante de autoinjerto osteocondral y aloinjerto osteocondral, la distracción articular y la implantación de condrocitos autólogos. En este complejo panorama terapéutico, las terapias de administración de biológicos derivados de la sangre surgen como un prometedor biomaterial autólogo adyuvante con efectos trófico-anabólicos, antiinflamatorios, inmunomoduladores, antioxidantes y analgésicos en los tejidos articulares (Recuadro 2).²⁸ La versatilidad hace que estos productos sean biomateriales

óptimos, para ser aplicados en el sitio lesionado disfuncional y desregulados como una terapia de nicho^{24,28} (Fig. 4B). Se pueden aplicar solos, aprovechando el efecto proliferativo, migratorio y condrogénico sobre las células progenitoras mesenquimales endógenas,³⁰ o como portadores de células madre y/o componentes extracelulares como colágenos y ácido hialurónico.³¹ Los estudios en modelos animales sugieren que las terapias de administración de medicamentos biológicos derivados de la sangre autóloga, cuya fibrina está incrustada con FC plasmáticos y derivados de plaquetas, ya sean solas o sembradas con MSC, tienen potencial como un andamio de gel para la reparación de defectos osteocondrales y del cartílago focal.³²⁻³⁵ Estos productos de BDDT están mínimamente manipulados, concebidos y preparados *in situ* y listos para ser aplicados en el consultorio médico o en el quirófano. Se ha comprobado que las inyecciones intraarticulares de BDDT derivados de la sangre reducen el dolor y mejoran la funcionalidad de las articulaciones en pacientes con osteoartritis de rodilla o cadera^{36,37} (Fig. 4B, Recuadro 2). Además, cada vez más evidencia indica que la BDDT derivado de la sangre sirve como un enfoque estimulante de la médula ósea, o combinado con hidrogel, colágeno y/o membrana de ácido hialurónico, como portador de células madre mesenquimales derivadas de la médula ósea, lo que resulta en células estructurales y mejora funcional en el defecto del cartílago focal humano.^{27,30,34} Una nueva estrategia para la administración segura de la BDDT derivado de la sangre para la articulación sinovial dañada —una estrategia que evita la toxicidad sistémica, ofrece una excelente biodisponibilidad y no presenta limitación de tamaño molecular— es la combinación de infiltraciones intraarticulares e intraóseas de BDDT derivado de la sangre como un enfoque biológico *in situ* «centrado en las articulaciones» para tratar defectos osteocondrales traumáticos, osteocondritis disecante, osteonecrosis, lesiones similares a edema de médula ósea y osteoartritis. Dicha aplicación clínica abre nuevas vías terapéuticas en el tratamiento de las patologías de las articulaciones^{28,38} (Recuadro 2, Fig. 4B) (véanse Capítulos 9 y 11).

Tejido tendinoso

Las lesiones musculoesqueléticas son un problema médico creciente asociado con el uso excesivo y/o

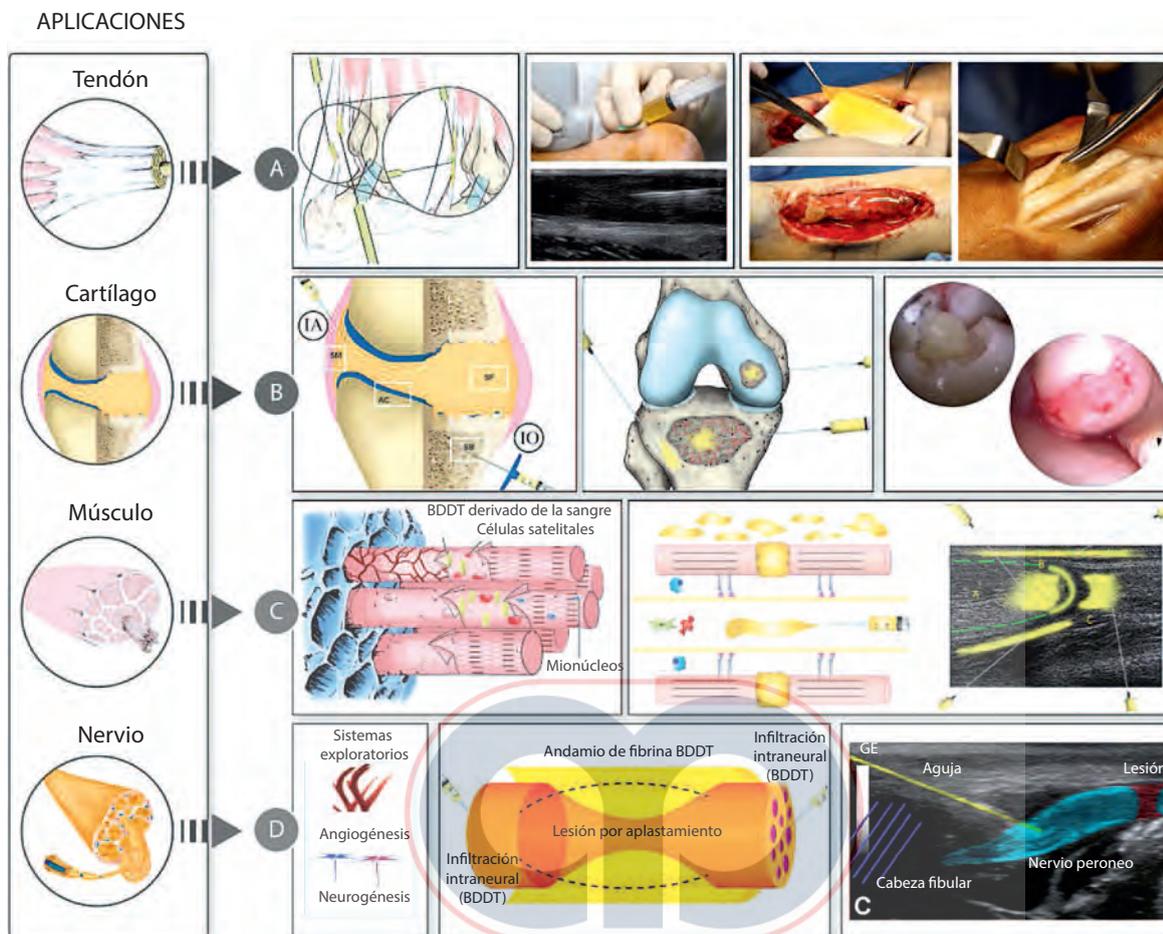


FIG. 4 Avances en ortopedia regenerativa basada en la aplicación de BDDT derivado de la sangre. A) Infiltraciones intrandinosas y aplicación de andamios obtenidos de BDDT derivado de la sangre para ayudar a la reconstrucción quirúrgica de las roturas de tendones. En las tendinopatías crónicas, las inyecciones intratendinosas se aplican bajo guía ecográfica. B) Un enfoque novedoso para tratar la osteoartritis de rodilla grave y las lesiones osteocondrales dirigidas a la membrana sinovial, el cartilago articular superficial, el líquido sinovial y el hueso subcondral combinando inyecciones intraarticulares e infiltraciones intraóseas de BDDT derivado de la sangre. C) El BDDT derivado de la sangre se ha propuesto como un puente entre la espontaneidad y la intervención molecular en la reparación de la rotura muscular. La inyección intramuscular temprana realizada con guía de ultrasonido asigna el producto al espacio interfascicular e interfibrilar, y al sitio lesionado. La fibrinólisis local actúa sobre el andamio de fibrina liberando gradualmente FC y citocinas. D) La regeneración del nervio periférico se basa en la angiogénesis y la transdiferenciación de células de Schwann, cuyo comportamiento exploratorio impulsa la regeneración espontánea del nervio. Las infiltraciones intraneurales guiadas por ultrasonido de BDDT derivado de la sangre combinadas con la aplicación de un andamio de fibrina envuelven el área lesionada y mejoran la regeneración nerviosa.²² (Reimpreso con autorización de Padilla y cols.²²)

la alteración del tejido relacionada con la edad, con un gasto anual estimado de 30 mil millones de USD en su manejo solo en EUA. El tendón y el ligamento representan el 45 % de estas lesiones y desafortunadamente ninguna de las diversas terapias, incluida la fisioterapia basada en el ejercicio, las inyecciones de corticosteroides, los medicamentos antiinflamatorios no esteroideos, la terapia de ondas de choque extra-

corpóreas y las intervenciones quirúrgicas, han proporcionado un éxito a largo plazo.³⁹ El tendón es una estructura compuesta mecanosensible dinámica hipocelular que alberga células progenitoras/madre multipotentes tendinosas e inmunocompetentes (TDSC),⁴⁰ los objetivos clave de las BDDT con derivados de la sangre (Fig. 4A, Recuadro 3). El equilibrio anabólico/catabólico de las células del estroma y del parén-

quima cambia según su historial de carga mecánica (Fig. 2). Junto con otras estructuras biológicas altamente especializadas, los tendones son extremadamente efectivos en el desempeño de los roles para los que han evolucionado, pero siguen siendo particularmente delicados. El frágil equilibrio que mantienen sus células con la matriz extracelular se puede alterar de diferentes maneras. Este es el caso, por ejemplo, para actividades deportivas de alto nivel con demandas de alto rendimiento y daños por uso excesivo, o, en el sentido opuesto, el caso de un estilo de vida sedentario y el daño posterior por desuso. Las lesiones agudas y crónicas del tendón provocan dolor, sensibilidad focal y una disminución de la fuerza y el movimiento derivado de un tendón inflamado o roto. Los bioandamios autólogos derivados de la sangre se han utilizado durante varios años como materia prima en constructos de ingeniería de tejidos, ya sean solos en formulaciones líquidas o de matriz, o enriquecidos con señales mecánicas o químicas, y su aplicación ha sido producto de la investigación *in vitro* e *in vivo* que ha proporcionado una mejor comprensión de los tenocitos y la respuesta de TDSC a la BDDT derivado de la sangre (Recuadro 3, Fig. 4A).

La BDDT derivado de la sangre se ha aplicado mediante infiltraciones intratendinosas o intraligamentarias guiadas por US en la tendinopatía rotuliana crónica y el esguince agudo de tobillo^{44,45} respectivamente o como infiltraciones intratendinosas combinadas con andamios de fibrina intraoperatoriamente en desgarros de tendones de Aquiles reparados quirúrgicamente⁴³ (Fig. 4A). En ambas situaciones, los resultados mostraron una mejoría de los síntomas y la función, un retorno a la arquitectura normal del tendón y la sindesmosis evaluada mediante resonancia magnética y un tiempo más corto en la recuperación del movimiento y el regreso a las actividades deportivas.⁴³ Además, se descubrió que la aplicación de bioandamios derivados de la sangre en el injerto tendinoso o en el nivel del sitio donante después de la reconstrucción del ligamento cruzado anterior reduce significativamente los síntomas clínicos y acelera el proceso de remodelación e integración del injerto, además de llenar satisfactoriamente el espacio y la reconstrucción del tendón rotuliano y el espacio óseo tibial y rotuliano.⁴⁶⁻⁴⁸

Tejidos muscular y nervioso

Otros dos tejidos altamente especializados que forman una unidad funcional en el sistema musculoesquelético son los músculos y los nervios, y se pueden establecer varios paralelos entre sus procesos de regeneración (Recuadro 4). En las lesiones musculares agudas, la BDDT derivado de la sangre en forma líquida se infiltra en el sitio de la lesión, las áreas adyacentes y el músculo periférico sano bajo guía ecográfica. En los siguientes 1-3 minutos, este andamio inyectable 3D de transición de líquido a gel permite un llenado exitoso de las perforaciones y defectos musculares y sirve como una autopista para que la energía mecánica transite del ambiente a la célula, puentando así la transición de tejido de célula a célula, promoviendo el ensamblaje multicelular y apuntando a las células madre e inmunocompetentes musculares, proporcionando señales químicas, soporte mecánico y rigidez plástico-elástica que no solo tiene un impacto drástico en el destino de las células madre musculares, sino también dota a los tejidos de un microambiente mecánico y químico adecuado para la restauración biológica⁴⁹ (Fig. 1 y 4C). Esta terapia dinámica de administración de biológicos con matriz de fibrina esponjosa es autóloga, biorreabsorbible y biocompatible.¹² Se ha demostrado que la aplicación de BDDT derivado de la sangre acorta el tiempo de recuperación e incluso reduce el dolor en el caso de la aplicación en humanos.⁵⁰ Es notable aquí otro estudio reciente que no reportó ningún beneficio de este enfoque terapéutico.⁵¹ Sin embargo, es muy posible que la fuente de resultados clínicos inconsistentes en las lesiones musculares tratadas con BDDT derivado de la sangre pueda deberse a la administración tardía, la baja dosis y la heterogeneidad de la composición biológica de BDDT derivado de la sangre, para lo cual aún no existe un protocolo estándar.⁵² Con el fin de caracterizar, estandarizar y adaptar la composición de BDDT derivado de la sangre a los procesos específicos de reparación celular y diana celular, se están llevando a cabo varios esfuerzos *in vitro* e *in vivo* con énfasis en aplicar solo factores plasmáticos o modificar su composición⁵³ mediante el bloqueo de TGFB como factor fibrótico o agotando la miostatina (MSTN) con el objetivo de mejorar la diferenciación de mioblastos.^{54,55}

En el tratamiento de la lesión del nervio periférico (LNP) y propiciado por los inconvenientes planteados por los autoinjertos de nervios autólogos, se han aplicado una gran cantidad de estrategias de ingeniería biomédica, que incluyen conductos nerviosos guía y andamios, incorporación y suministro de factores neurotróficos,⁵⁶ incorporación de células de soporte en conductos nerviosos guía (NGC) o geles de fibrina, y la estimulación de los órganos diana a través de inyecciones intramusculares de GF.^{56,57} En animales, las plataformas que usan andamios de fibrina bañadas en un cóctel de factores de crecimiento e inyectadas o colocadas en el área dañada mejoran el crecimiento axonal necesario para lograr una recuperación funcional óptima^{56,58} (Recuadro 4). En humanos, la intervención molecular con BDDT derivado de sangre está cerrando parcialmente la brecha entre la aplicación básica y clínica, y en un ensayo clínico aleatorizado, doble ciego, la aplicación de inyecciones de BDDT derivados de sangre guiadas por US en los nervios tibial y cubital ha mostrado una mejoría sensorial en la neuropatía periférica por lepra.⁵⁹ Además, varios estudios de casos sobre terapias con administración de medicamentos biológicos derivados de la sangre, ya sea como relleno de conductos nerviosos a través de brechas nerviosas después del trauma⁶⁰ o mediante la infiltración intraneural en una parálisis del nervio peroneo,⁶¹ han reportado recuperación neurológica (Fig. 4D). Por lo tanto, la BDDT derivado de la sangre aplicado en una estrategia combinatoria como relleno, membrana suturable y andamio, se destaca como una candidata prometedora para un enfoque de reparación nerviosa adyuvante que los cirujanos pueden aprovechar en el quirófano y en el entorno clínico^{61,62} (véase Capítulo 16).

5. DIRECCIÓN FUTURA

La intimidante complejidad de muchos tejidos musculoesqueléticos elegidos para la BDDT derivado

de la sangre, junto con factores confusos asociados con los contextos regulatorios, clínicos y comerciales, se suma a múltiples barreras para el desarrollo y progreso del producto. En los últimos años, se han abordado muchos aspectos relacionados con los campos tecnológico, biológico y farmacéutico, incluidas estrategias para la caracterización *in vitro* de la liberación de medicamentos, procesos reguladores para la preparación de medicamentos *in situ*,⁶³ minimizando la manipulación y preparando dispositivos que mejoran la seguridad y versatilidad de las terapias de administración de biológicos a base de sangre. Además, los esfuerzos académicos y de la industria con respecto a la biotecnología con el fin de trasladar rápidamente la ciencia básica a la aplicación clínica tienden a superar nuestra comprensión de los roles biológicos de esta terapia.

Afortunadamente, hay razones para el optimismo. Es probable que las nuevas formulaciones y los métodos de fabricación ayuden a ampliar el catálogo de aplicaciones de la BDDT basado en sangre. El diseño de tecnologías sin operador para la fabricación de BDDT junto con el uso de nuevas tecnologías de fabricación aditiva, o bioimpresión 3D, puede ayudar a controlar las propiedades finales de las preparaciones autólogas. Los esfuerzos deben seguir en la ampliación de la ciencia detrás de la generación actual de la BDDT derivado de la sangre. La exploración de su potencial para la expansión *ex vivo* de células madre mesenquimales, junto con el valor de los andamios de fibrina para el manejo y trasplante de células madre, también puede reducir algunos de los desafíos que se enfrentan en el campo. Por último, la BDDT derivado de sangre homólogo puede convertirse en una alternativa para los pacientes cuyos componentes sanguíneos, como plasma, plaquetas o fibrinógeno, carecen de varios inductores clave regenerativos. Como resultado de estos y otros avances, se espera que la implementación clínica segura de la BDDT derivado de la sangre se acelere y se expanda.

● RECUADRO 1**Consideraciones biofarmacéuticas acerca de las terapias de administración de biológicos**

El éxito terapéutico de un medicamento no solo depende del tipo y la cantidad de medicamentos (mediadores biológicamente activos), sino también de la manera y el momento de su administración al tejido. Cuando los medicamentos se liberan sin control sobre su ubicación o tasa de administración, se necesitan grandes dosis para lograr los efectos biológicos deseados, lo que lleva a una mayor toxicidad o efectos secundarios indeseables. Las terapias de administración de biológicos (BDDT) derivados de la sangre se basan en una combinación de biomateriales derivados naturalmente como la fibrina y un conjunto de factores de crecimiento. Por ejemplo, el andamio tridimensional de fibrina obtenido a partir de plasma humano fraccionado representa una solución fisiológicamente inspirada para controlar la liberación de la amplia gama de mediadores derivados de plasma y plaquetas.⁶⁴ En la práctica, el perfil de liberación es una combinación de difusión y degradación de la matriz. La difusión controla la liberación de los agentes biológicamente activos cuando es lenta en comparación con la tasa de disociación del fármaco del material, pero ocurre mucho más rápido que la degradación del material.⁶⁵ La degradación de la matriz está regulada de manera preferente por escisión hidrolítica del cuerpo del vehículo y por degradación enzimática. De esta manera, los factores de crecimiento se liberan progresivamente y el andamio de fibrina actúa como una matriz temporal para el nuevo tejido en crecimiento (Fig. 1).

● RECUADRO 2**Aprovechamiento del proceso de reparación endógeno de los tejidos articulares**

El cartílago articular (CA) es un tejido notablemente resistente a las fuerzas de compresión y corte. Sin embargo, es muy frágil a las alteraciones de la membrana sinovial (MS) y del hueso subcondral (HSC), dos tejidos bien vascularizados de donde surgen lesiones sistémicas y de inflamación local.⁶⁶ Estas agresiones están mediadas por citoquinas proinflamatorias, macrófagos y sinoviocitos inflamatorios, que dañan el cartílago articular, como en el caso de la artritis reumatoide o la artrosis.⁶⁶ Sin embargo, MS y HSC también son el punto de salida y la fuente de nutrientes y de células progenitoras mesenquimales para el montaje de una respuesta reparadora condrogénica, que está impulsada por el reclutamiento y la orientación quimiotáctica de las células madre derivadas de la médula ósea y sinovial mediadas por SDF-1, TGFB y fibronectina. Este es el caso de las técnicas de microfracturas y la estrategia combinada que utiliza infiltraciones intraarticulares (IA) e intraóseas (IO) de BDDT derivado de la sangre.^{26,28} Al hacerlo, esta novedosa terapia local aborda los cuatro tejidos de la articulación sinovial (CA, LS, MS y HSC) y actúa como un andamio líquido autólogo dinámico que, de manera sostenida y gradual, transmite MSC endógenas quimiotácticas y factores condrogénicos tales como SDF-1, TGFB y fibronectina.^{27,28,30,67} Además, la BDDT amortigua el estrés inflamatorio a nivel de los tejidos articulares, al inhibir la vía del NFkB en los condrocitos y macrófagos⁶⁸ y al regular el elemento de respuesta antioxidante NF-E2 relacionado con el factor 2 (Nrf2-ARE) en osteoblastos.⁶⁹ Mediante la aplicación de esta estrategia se informaron mejoras en los resultados clínicos en pacientes con artrosis de rodilla y cadera,^{28,36} lo cual que podría estar mediado principalmente por HGF, CTGF, IGF-1, PDGF, entre otros,⁶⁸⁻⁷¹ allanando así el camino hacia la regeneración del cartílago, por muy esquivo que pueda ser (Fig. 3).

● **RECUADRO 3****Adaptación, inflamación y proceso homeostático en tendón**

Cada vez hay más evidencia que muestra que los procesos de adaptación, lesión y reparación de tendones y ligamentos comparten varias vías intracelulares, y aunque es difícil trazar la línea entre las respuestas celulares y moleculares que conducen a la adaptación del tejido o al daño tisular, el proceso inflamatorio parece estar en la interfaz de adaptación y daño del tendón (Fig. 2).^{39,68} La carga mecánica repetitiva, como es el caso en las etapas tempranas de la tendinopatía, y el uso excesivo del tendón, induce la activación de la vía NFκB y, por lo tanto, la síntesis de metaloproteinasas (MMP), dos isoformas de ciclooxigenasa (COX) COX-1 y COX-2, y PGE2 por tenocitos inflamatorios, mastocitos y otras células inmunocompetentes.^{39,72-74} PGE2 es un importante mediador inflamatorio sistémico y local que disminuye la producción de colágeno y causa una diferenciación aberrante de las TDSC en linajes adipogénicos y osteogénicos [74], lo que podría explicar en parte la presencia de fibrocartilago, calcificaciones y tejido adiposo en tendones degenerativos lesionados y crónicos.^{39,40,72,74}

Una excelente serie de estudios *in vitro* e *in vivo* demostró que la BDDT derivado de la sangre indujo la proliferación de tenocitos, estimuló la síntesis de colágeno de tipo I y la neovascularización [42], y promovió la diferenciación de TDSC en tenocitos activos, pero de manera significativa, se demostró que la adición de leucocitos en las BDDT aumentaba la síntesis de PGE2 y la expresión génica de la metaloproteasa-1 (MMP-1), MMP-13, interleuquina-1B (IL-1B) mientras que disminuía la expresión de α -SMA como marcador de tenocitos activos.⁷³⁻⁷⁵ Entre los innumerables mediadores transmitidos por la BDDT derivado de la sangre, se ha demostrado que el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y la lipoxina A4 (LX4) ejercen un efecto antiinflamatorio y prorrresolución de la inflamación en los tendones lesionados (Fig. 1D y Fig. 2A).^{73,76}

● **RECUADRO 4****Aplicación de BDDT derivado de la sangre en patologías musculares y nerviosas**

La inflamación precoz, la activación de las células de Schwann mielinizantes similares a células madre y las satélites musculares, la angiogénesis y la polarización de macrófagos, son impulsores clave de la recuperación de la función completa, donde los factores de crecimiento (FC) y la matriz de fibrina son factores instrumentales instructivos y permisivos.⁷⁷⁻⁸⁰ En la reconstrucción completa del tejido muscular, las células satélite endoteliales y musculares, junto con los macrófagos y otras células progenitoras miogénicas, señalizadas recíproca y principalmente por VEGF, PDGF, IGF-1 y HGF, hace que la angiogénesis, la miogénesis y la neurogénesis avancen de forma concomitante.^{77,80} En estudios preclínicos extensos *in vitro* e *in vivo*, la combinación de los GF mencionados anteriormente o el uso de la BDDT derivado de la sangre promovieron una regeneración más temprana de los músculos dañados principalmente por la modulación de la respuesta inflamatoria, un estímulo angiogénico fiable, una expansión significativa de la reserva miogénica, y una polarización de macrófagos de un fenotipo inflamatorio a trófico.⁷⁹⁻⁸¹ Estos efectos biológicos impidieron la formación de una reparación aberrante y de fibrosis, lo cual de otro modo daría lugar a recaídas musculares clínicas (Fig. 4C).

En el tratamiento de la lesión del nervio periférico (LNP), las BDDT derivado de la sangre han surgido como un enfoque adyuvante novedoso y versátil. Una vez infiltrado intraneuralmente como un andamio inyectable líquido a gel, o envuelto alrededor de la brecha nerviosa lesionada como un andamio de estructura viscosa y maleable, o ambos (Figura 4D), la fibrinólisis tisular rompe la fibrina liberando así moléculas de señalización celular tales como factores neurotróficos (NGF, BDGF, IGF-1, PDGF, VEGF, HGF) y neurotrópicos (fibrina, fibronectina y vitronectina). Estas biomoléculas gobiernan la inflamación precoz, la activación de las células de Schwann mielinizantes similares a células madre, la angiogénesis, la polarización de macrófagos, así como la resolución activa de la inflamación, la angiogénesis y la fibrogénesis, actuando así como impulsores clave de la recuperación de la función nerviosa completa.^{56,77}

REFERENCIAS

1. Anitua, E. et al. (2007) The potential impact of the preparation rich in growth factors (PRGF) in different medical fields. *Biomaterials*. 28, 4551-4560
2. Langer, R. and Vacanti, J.P. (1993) Tissue engineering. *Science*. 260, 920-926
3. Murphy, C.M. et al. (2013) Cell-scaffold interactions in the bone tissue engineering triad. *Eur Cell Mater*. 26, 120-132
4. Anitua, E. et al. (2004) Autologous platelets as a source of proteins for healing and tissue regeneration. *Thromb Haemost*. 91, 4-15
5. Langer, H.F. et al. (2009) Platelet derived bFGF mediates vascular integrative mechanisms of mesenchymal stem cells in vitro. *J Mol Cell Cardiol*. 47, 315-325
6. Stellos, K. et al. (2010) Platelets in regeneration. *Semin Thromb Hemost*. 36, 175-184
7. Gawaz, M. and Vogel, S. (2013) Platelets in tissue repair: control of apoptosis and interactions with regenerative cells. *Blood*. 122, 2550-2554
8. Hollister, S.J. and Murphy, W.L. (2011) Scaffold translation: barriers between concept and clinic. *Tissue Eng Part B Rev*. 17, 459-474
9. Anitua, E. et al. (2015) Clinical, radiographical, and histological outcomes of plasma rich in growth factors in extraction socket: a randomized controlled clinical trial. *Clin Oral Investig*. 19, 589-600
10. Anitua, E. et al. (2008) Effectiveness of autologous preparation rich in growth factors for the treatment of chronic cutaneous ulcers. *J Biomed Mater Res B Appl Biomater*. 84, 415-421
11. Anitua, E. et al. (2015) High-throughput proteomic characterization of plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret)-derived fibrin clot interactome. *J Tissue Eng Regen Med*. 9, E1-12
12. Anitua, E. and Orive, G. (2012) Endogenous regenerative technology using plasma and platelet-derived growth factors. *J Control Release*. 157, 317-320
13. Xiao, G.H. et al. (2001) Antiapoptotic signaling by hepatocyte growth factor/Met via the phosphatidylinositol 3-kinase/Akt and mitogen-activated protein kinase pathways. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 98, 247-252
14. Aoki, M. et al. (2000) Angiogenesis induced by hepatocyte growth factor in non-infarcted myocardium and infarcted myocardium: up-regulation of essential transcription factor for angiogenesis, ets. *Gene Ther*. 7, 417-427
15. Okunishi, K. et al. (2005) A novel role of hepatocyte growth factor as an immune regulator through suppressing dendritic cell function. *J Immunol*. 175, 4745-4753
16. Massberg, S. et al. (2006) Platelets secrete stromal cell-derived factor 1alpha and recruit bone marrow-derived progenitor cells to arterial thrombi in vivo. *J Exp Med*. 203, 1221-1233
17. Stellos, K. et al. (2008) Platelet-derived stromal cell-derived factor-1 regulates adhesion and promotes differentiation of human CD34+ cells to endothelial progenitor cells. *Circulation*. 117, 206-215
18. Wang, J.H. and Li, B. (2010) Mechanics rules cell biology. *Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol*. 2, 16
19. Ingber, D.E. (2006) Cellular mechanotransduction: putting all the pieces together again. *Faseb j*. 20, 811-827
20. Kjaer, M. (2004) Role of extracellular matrix in adaptation of tendon and skeletal muscle to mechanical loading. *Physiol Rev*. 84, 649-698
21. Riley, G.P. (2005) Gene expression and matrix turnover in overused and damaged tendons. *Scand J Med Sci Sports*. 15, 241-251
22. Padilla S, S.M., Orive G, Anitua E. Human-based biological and biomimetic autologous therapies

- for musculoskeletal tissue regeneration. Trends Biotechnol. In press. <http://dx.doi.org/10.1016/j.tibtech.2016.09.008>
23. Ivkovic, A. et al. (2011) Regenerative medicine and tissue engineering in orthopaedic surgery. *Front Biosci (Elite Ed)*. 3, 923-944
 24. Wagers, A.J. (2012) The stem cell niche in regenerative medicine. *Cell Stem Cell*. 10, 362-369
 25. Cosgrove, B.D. et al. (2014) Rejuvenation of the muscle stem cell population restores strength to injured aged muscles. *Nat Med*. 20, 255-264
 26. Steadman, J.R. et al. (1997) Microfracture technique for full-thickness chondral defects: Technique and clinical results. *Operative techniques in orthopaedics*. 7, 300-304
 27. Liu, H.Y. et al. (2014) Delayed animal aging through the recovery of stem cell senescence by platelet rich plasma. *Biomaterials*. 35, 9767-9776
 28. Sanchez, M. et al. (2016) A new strategy to tackle severe knee osteoarthritis: Combination of intra-articular and intraosseous injections of Platelet Rich Plasma. *Expert Opin Biol Ther*. 16, 627-643
 29. Campbell, T.M. et al. (2016) Mesenchymal Stem Cell Alterations in Bone Marrow Lesions in Patients With Hip Osteoarthritis. *Arthritis Rheumatol*. 68, 1648-1659
 30. Kreuz, P.C. et al. (2015) Platelet-Rich Plasma Preparation Types Show Impact on Chondrogenic Differentiation, Migration, and Proliferation of Human Subchondral Mesenchymal Progenitor Cells. *Arthroscopy*. 31, 1951-1961
 31. Zhu, Y. et al. (2013) Basic science and clinical application of platelet-rich plasma for cartilage defects and osteoarthritis: a review. *Osteoarthritis Cartilage*. 21, 1627-1637
 32. Milano, G. et al. (2010) The effect of platelet rich plasma combined with microfractures on the treatment of chondral defects: an experimental study in a sheep model. *Osteoarthritis Cartilage*. 18, 971-980
 33. Lee, H.R. et al. (2012) Platelet-rich plasma loaded hydrogel scaffold enhances chondrogenic differentiation and maturation with up-regulation of CB1 and CB2. *J Control Release*. 159, 332-337
 34. Xie, X. et al. (2014) Biology of platelet-rich plasma and its clinical application in cartilage repair. *Arthritis Res Ther*. 16, 204
 35. Chiang, C.-W. et al. (2014) Application of Synovial Fluid Mesenchymal Stem Cells: Platelet-rich Plasma Hydrogel for Focal Cartilage Defect. *Journal of Experimental & Clinical Medicine*. 6, 118-124
 36. Sanchez, M. et al. (2012) Ultrasound-guided platelet-rich plasma injections for the treatment of osteoarthritis of the hip. *Rheumatology (Oxford)*. 51, 144-150
 37. Sanchez, M. et al. (2012) 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*. 28, 1070-1078
 38. Sánchez, M. et al. (2016) Combination of Intra-articular and Intraosseous Injections of Platelet Rich Plasma for Severe Knee Osteoarthritis: A Pilot Study. *BioMed Research International*. 2016
 39. Dakin, S.G. et al. (2015) Inflammation activation and resolution in human tendon disease. *Sci Transl Med*. 7, 311ra173
 40. Bi, Y. et al. (2007) Identification of tendon stem/progenitor cells and the role of the extracellular matrix in their niche. *Nat Med*. 13, 1219-1227
 41. Crowe, C.S. et al. (2015) Tendon regeneration with a novel tendon hydrogel: in vitro effects of platelet-rich plasma on rat adipose-derived stem cells. *Plastic and reconstructive surgery*. 135, 981e-989e
 42. Anitua, E. et al. (2006) Autologous fibrin matrices: a potential source of biological mediators that modulate tendon cell activities. *J Biomed Mater Res A*. 77, 285-293

43. Sanchez, M. et al. (2007) Comparison of surgically repaired Achilles tendon tears using platelet-rich fibrin matrices. *Am J Sports Med.* 35, 245-251
44. Charousset, C. et al. (2014) Are multiple platelet-rich plasma injections useful for treatment of chronic patellar tendinopathy in athletes? a prospective study. *Am J Sports Med.* 42, 906-911
45. Laver, L. et al. (2015) Plasma rich in growth factors (PRGF) as a treatment for high ankle sprain in elite athletes: a randomized control trial. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 23, 3383-3392
46. Sanchez, M. et al. (2010) Ligamentization of tendon grafts treated with an endogenous preparation rich in growth factors: gross morphology and histology. *Arthroscopy.* 26, 470-480
47. de Almeida, A.M. et al. (2012) Patellar Tendon Healing With Platelet-Rich Plasma A Prospective Randomized Controlled Trial. *The American journal of sports medicine.* 40, 1282-1288
48. Cervellin, M. et al. (2012) Autologous platelet-rich plasma gel to reduce donorsite morbidity after patellar tendon graft harvesting for anterior cruciate ligament reconstruction: a randomized, controlled clinical study. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 20, 114-120
49. Sanchez, M. et al. (2014) Muscle repair: platelet-rich plasma derivatives as a bridge from spontaneity to intervention. *Injury.* 45 Suppl 4, S7-14
50. Hamid, M.S.A. et al. (2014) Platelet-rich plasma injections for the treatment of hamstring injuries a randomized controlled trial. *The American journal of sports medicine.* 42, 2410-2418
51. Reurink, G. et al. (2014) Platelet-rich plasma injections in acute muscle injury. *N Engl J Med.* 370, 2546-2547
52. Anitua, E. et al. (2014) More on platelet-rich plasma injections in acute muscle injury. *N Engl J Med.* 371, 1264
53. Anitua, E. et al. (2009) Fibroblastic response to treatment with different preparations rich in growth factors. *Cell Prolif.* 42, 162-170
54. Li, H. et al. (2016) Customized platelet-rich plasma with transforming growth factor beta1 neutralization antibody to reduce fibrosis in skeletal muscle. *Biomaterials.* 87, 147-156
55. Miroshmychenko, O. et al. (2016) The 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. *AAOS. Stanford Sports Medicine.* July 7-10. The Broadmoor, Colorado.
56. Lu, P. et al. (2012) Long-distance growth and connectivity of neural stem cells after severe spinal cord injury. *Cell.* 150, 1264-1273
57. Pfister, B.J. et al. (2011) Biomedical engineering strategies for peripheral nerve repair: surgical applications, state of the art, and future challenges. *Crit Rev Biomed Eng.* 39, 81-124
58. Sanchez, M. et al. (2015) Ultrasound-guided plasma rich in growth factors injections and scaffolds hasten motor nerve functional recovery in an ovine model of nerve crush injury. *J Tissue Eng Regen Med.* DOI: 10.1002/term.2079
59. Anjayani, S. et al. (2014) Sensory improvement of leprosy peripheral neuropathy in patients treated with perineural injection of platelet-rich plasma. *Int J Dermatol.* 53, 109-113
60. Kuffler, D.P. (2014) Promoting peripheral axon regeneration across nerve gaps post trauma. *JSM Neurosurg Spine.* 2, 1044
61. Sanchez, M. et al. (2013) Ultrasound-guided platelet-rich plasma injections for the treatment of common peroneal nerve palsy associated with multiple ligament injuries of the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.*
62. Kuffler, D.P. (2014) An assessment of current techniques for inducing axon regeneration and neurological recovery following peripheral nerve trauma. *Prog Neurobiol.* 116, 1-12
63. Anitua, E. et al. (2015) Closing regulatory gaps: new ground rules for platelet-rich plasma. *Trends Biotechnol.* 33, 492-495

64. Ahmed, T.A. et al. (2008) Fibrin: a versatile scaffold for tissue engineering applications. *Tissue Eng Part B Rev.* 14, 199-215
65. Kearney, C.J. and Mooney, D.J. (2013) Macro-scale delivery systems for molecular and cellular payloads. *Nat Mater.* 12, 1004-1017
66. Scanzello, C.R. and Goldring, S.R. (2012) The role of synovitis in osteoarthritis pathogenesis. *Bone.* 51,249-257
67. Liu, H.Y. et al. (2011) The balance between adipogenesis and osteogenesis in bone regeneration by platelet-rich plasma for age-related osteoporosis. *Biomaterials.* 32, 6773-6780
68. Bendinelli, P. et al. (2010) Molecular basis of anti-inflammatory action of platelet-rich plasma on human chondrocytes: mechanisms of NF-kappaB inhibition via HGF. *J Cell Physiol.* 225, 757-766
69. Tohidnezhad, M. et al. (2014) Role of platelet-released growth factors in detoxification of reactive oxygen species in osteoblasts. *Bone.* 65, 9-17
70. Coudriet, G.M. et al. (2010) Hepatocyte growth factor modulates interleukin-6 production in bone marrow derived macrophages: implications for inflammatory mediated diseases. *PLoS One.* 5, e15384
71. Montaseri, A. et al. (2011) IGF-1 and PDGF-bb suppress IL-1beta-induced cartilage degradation through down-regulation of NF-kappaB signaling: involvement of Src/PI-3K/AKT pathway. *PLoS One.* 6, e28663
72. Yang, G. et al. (2005) Repetitive mechanical stretching modulates IL-1beta induced COX-2, MMP-1 expression, and PGE2 production in human patellar tendon fibroblasts. *Gene.* 363, 166-172
73. Zhang, J. et al. (2013) HGF mediates the anti-inflammatory effects of PRP on injured tendons. *PLoS One.* 8, e67303
74. Zhang, J. and Wang, J.H. (2010) Production of PGE(2) increases in tendons subjected to repetitive mechanical loading and induces differentiation of tendon stem cells into non-tenocytes. *J Orthop Res.* 28, 198-203
75. Zhou, Y. et al. (2015) 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.* 6, 173
76. Dakin, S.G. et al. (2012) Inflammaging and arachadonic acid metabolite differences with stage of tendon disease. *PLoS One.* 7, e48978
77. Cattin, A.L. et al. (2015) Macrophage-Induced Blood Vessels Guide Schwann Cell-Mediated Regeneration of Peripheral Nerves. *Cell.* 162, 1127-1139
78. Tidball, J.G. and Villalta, S.A. (2010) Regulatory interactions between muscle and the immune system during muscle regeneration. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 298, R1173-1187
79. Dimauro, I. et al. (2014) Platelet-rich plasma and skeletal muscle healing: a molecular analysis of the early phases of the regeneration process in an experimental animal model. *PLoS One.* 9, e102993
80. Anitua, E. et al. (2015) Infiltration of plasma rich in growth factors enhances in vivo angiogenesis and improves reperfusion and tissue remodeling after severe hind limb ischemia. *J Control Release.* 202, 31-39
81. Borselli, C. et al. (2010) Functional muscle regeneration with combined delivery of angiogenesis and myogenesis factors. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 107, 3287-3292
82. Anitua, E. et al. (2015) High-throughput proteomic characterization of plasma rich in growth factors (PRGF-Endoret)-derived fibrin clot interactome. *J Tissue Eng Regen Med.* 9, E1-E12