

UNIVERSIDAD MIGUEL HERNÁNDEZ

FACULTAD DE MEDICINA

TRABAJO FIN DE GRADO EN FISIOTERAPIA



Inhibición del VEGF como potencial diana terapéutica en las tendinopatias degenerativas.

AUTOR: Aleixandre Carrera, Fernando.

Nº expediente: 00972

TUTOR: Juana Gallar Martínez.

Departamento y Área. Fisiología/Fisiología

Curso académico 2016 - 2017

Convocatoria de Junio

Contenido

Resumen	4
Abstract.....	5
Introducción.....	6
Material y métodos	12
Resultados y discusión	13
Conclusiones.....	25
Referencias bibliográficas	26



Resumen

La tendinopatía crónica es una alteración común que afecta tanto a la población general como a los deportistas. A pesar de su gran prevalencia no se conoce con exactitud su etiología y, consecuentemente, la efectividad de los tratamientos es altamente variable. Uno de los eventos característicos de las tendinopatías crónicas degenerativas es la neovascularización. El agente angiogénico más potente y que se ha sido mejor estudiado es el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF). Existe evidencia de la expresión del VEGF en el contexto de tendinopatía crónica degenerativa asociada al fenómeno de la neovascularización patológica y algunas técnicas la consideran una diana terapéutica potencial. Los anticuerpos contra el VEGF han mostrado capacidad para inhibir la neovascularización en patologías oftalmológicas y neoplasias malignas.

El propósito de la presente revisión es explorar la evidencia disponible en la literatura científica sobre el empleo del anticuerpo monoclonal del VEGF (anti-VEGF o Bevacizumab) en las tendinosis como alternativa terapéutica.

La búsqueda bibliográfica ha sido realizada en la base de datos MEDLINE durante los meses de Abril y Mayo de 2017. La selección de artículos se basó en la lectura del título y el resumen.

Recientemente se han llevado a cabo dos ensayos preclínicos en animales de experimentación empleando monoinyecciones intratendinosas ecoguiadas de Bevacizumab en modelos de tendinosis, ambos con resultados prometedores. Sin embargo es necesario ampliar las poblaciones de los ensayos y realizar seguimientos más prolongados para evaluar la eficacia del anti-VEGF en las tendinosis con neovascularización.

Palabras clave: tendons, tendinopathy, neovascularization, vascular endothelial growth factor (VEGF), Bevacizumab.

Abstract

Chronic tendinopathy is a common disorder affecting the general population as well as elite athletes. Despite its great prevalence, the mechanisms standing behind the pathogenesis are not accurately known. A common characteristic event of chronic degenerative tendinopathies is neovascularization. The most powerful and best studied angiogenic agent is vascular endothelial growth factor (VEGF). Antibodies against VEGF have shown to inhibit neovascularization in ophthalmologic pathologies and malignant neoplasms. There is evidence of VEGF expression in chronic degenerative tendinopathies associated with development of pathological neovascularization. Consequently, several techniques consider this feature as a potential therapeutic target.

The purpose of the present review is to explore the evidence available in scientific literature regarding the use of anti-VEGF monoclonal antibody (Bevacizumab) as a therapeutic alternative in tendinosis.

MEDLINE database was examined during April and May of 2017. The articles included in this manuscript went through two filters. First being the abstract reading and secondly the reading of the full texts with the goal of selecting relevant papers for the present review.

Two preclinical trials using ultrasonography-guided mono-injections of Bevacizumab have been recently conducted in an animal model of tendinosis with promising results. Nevertheless further studies with increased sample sizes and longer follow-ups are required in order to assess the efficacy of anti-VEGF therapy in tendinosis associated with neovascularization.

Key words: tendons, tendinopathy, neovascularization, vascular endothelial growth factor (VEGF), Bevacizumab.

Introducción

El tendón es un tejido conectivo especializado en transmitir al hueso la fuerza generada por los músculos posibilitando el movimiento articular (Xu et al., 2008). Durante la actividad física es capaz de soportar y almacenar grandes fuerzas. Se han medido magnitudes cercanas a 4000 N en el tendón de Aquiles durante el salto estático repetitivo y se estima que el 40% del trabajo mecánico total se debe al almacenamiento de energía elástica en el propio tendón (Maffulli et al., 2003).

Histológicamente el tendón es un tejido relativamente pobre en células en el cual la matriz extracelular (MEC) proporciona las características necesarias para el desarrollo de su función. Los tenocitos y tenoblastos suponen el 90-95% de las células residentes y el 5-10 % restante se distribuye entre condrocitos, células sinoviales de las vainas del tendón y células endoteliales de los capilares (Sharma et al., 2006).

En 2007 el estudio de Bi et al. identificó en ratones y humanos una nueva población de células residentes en el tendón denominadas células progenitoras de los tenocitos (TSPCs). Muestran los rasgos fundamentales de las células progenitoras; clonicidad, multipotencia y autorrenovación (Bi et al., 2007). Se cree que son la fuente de nuevos y diferenciados tenocitos, manteniendo la población nativa y sustituyéndola tras lesión (Sun et al., 2015).

Los tendones muestran tres regiones especializadas (Figura 1) a lo largo de su extensión con características y funciones ligeramente diferentes: la unión miotendinosa, el tendón propiamente y la unión tenoperióstica (entesis). Las transiciones de tejido muscular a tendinoso y de tejido tendinoso a tejido óseo son progresivas permitiendo una transmisión de cargas adecuada minimizando la concentración de estrés mecánico (Baldino et al., 2016).

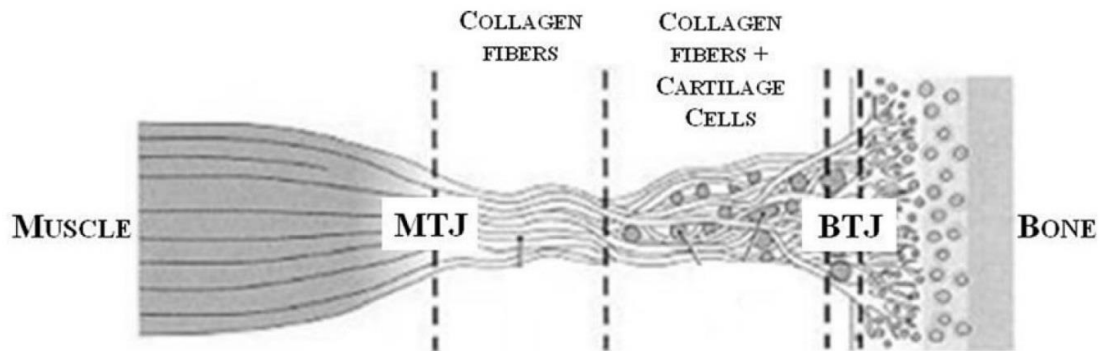


Figura 1. Ilustración de la estructura del tendón y sus uniones al músculo y hueso (reproducción de Baldino et al., 2015)

La transmisión de fuerza desde el músculo al tendón requiere la unión entre las proteínas intracelulares de los miocitos con las proteínas extracelulares del tendón. Esto sucede en la unión mio-tendinosa mediante la unión entre los filamentos de actina del sarcómero terminal y las fibras de colágeno tipo I, formando una estructura cohesiva en la que las células se interconectan mediante largos procesos citoplasmáticos que permiten la comunicación entre células adyacentes (Baldino et al., 2016).

En el tendón propiamente los tenocitos y tenoblastos se distribuyen entre las fibras de colágeno a lo largo del eje del tendón siendo los primeros responsables de la síntesis de los elementos de la MEC. De sus componentes el 65-80% es colágeno tipo I y el 2% está formado por elastina (Baldino et al., 2016).

El tropocolágeno constituye la unidad esencial de las microfibras tendinosas. Ultraestructuralmente se compone de una triple hélice de colágeno tipo I. Las microfibras resultan de la organización paralela de cinco de hebras de tropocolágeno (Baldwin et al., 2014). A su vez, varias microfibras paralelas forman fibras y posteriormente fascículos empaquetados por el endotendón (O'Brien, 1997).

Por tanto, el colágeno se organiza en niveles jerárquicos de creciente complejidad desde la escala molecular a la escala macroscópica y anatómica (Figura 2). En la MEC, además de las fibras de

colágeno se ha identificado la presencia de proteoglicanos, glicosaminoglicanos (GAGs), glicoproteínas y otras pequeñas moléculas. Es por tanto un entorno fuertemente hidrofílico permitiendo la rápida difusión de moléculas solubles y la migración celular (Sharma et al., 2006).

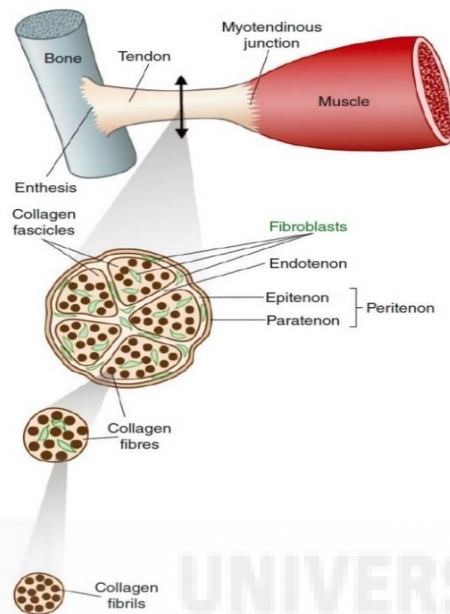


Figura 2. Organización jerárquica del colágeno en el tendón y sus envoltorios conectivos (modificación de Gaut et al., 2016)

La unión tenoperióstica consta de cuatro zonas: [1] tendón, caracterizada por fibras de colágeno tipo I bien organizadas. [2] fibrocartílago, contiene colágeno tipo II y III con pequeñas cantidades de tipo I, IX y X. [3] fibrocartílago mineralizado, se considera el frente de mineralización en la transición desde el tendón al tejido óseo. [4] hueso, caracterizado por un 40% de colágeno tipo I organizado de modo similar al tendón y un 50% de minerales carbonatados (Baldino et al., 2016). La variación gradual de la composición en la entesis asegura una transmisión de fuerza progresiva desde el tendón al hueso minimizando la concentración de estrés mecánico (Sharma et al., 2006).

El tendón es un tejido relativamente avascular y durante muchos años se les consideraba “cables no viables” desde un punto de vista fisiológico. Actualmente se conoce que la vascularización en los tendones emana fundamentalmente de las uniones miotendinosa y tenoperióstica. En general, los tendones con vaina presentan menor penetración de capilares desde el paratendón en

comparación con el resto. En cualquier caso la red vascular predomina en ambos extremos y en las zonas centrales se limita a los capilares presentes en los envoltorios conectivos de los tendones (Tempfer et al., 2015).

Diversos estudios han revelado que la vascularización del tendón se encuentra comprometida en los lugares sometidos a torsión, fricción o compresión (Sharma et al., 2006). Sin embargo, en condiciones normales la pobre vascularización no supone un compromiso de la homeostasis tisular dada la baja tasa metabólica del tendón. Se ha estimado que el consumo de oxígeno del tejido tendinoso es unas 7.5 veces menor que el del músculo esquelético (O'Brien, 1997).

De forma similar a la vascularización, el tendón muestra un bajo grado de inervación. Se origina en los troncos nerviosos peritendinosos, musculares y cutáneos de las regiones vecinas. Habitualmente las fibras nerviosas no penetran en el tendón propiamente sino que se circunscriben a las superficies conectivas (Sharma et al., 2006).

Las tres principales funciones de la inervación del tendón son la mecanorrecepción, la nocicepción y la modulación vasomotora. En relación a la mecanorrecepción, el órgano tendinoso de Golgi es el principal mecanorreceptor del tendón y el responsable de detectar y modular el grado de tensión al que está sometido el tejido. Su distribución no es homogénea, fundamentalmente se localiza en la unión miotendinosa aunque también ha sido identificado en la entesis (Ackermann, 2013).

Actualmente el término tendinopatía define un síndrome clínico que se manifiesta con dolor, engrosamiento y pérdida de la función. Sin embargo las características histopatológicas de las tendinopatías son diversas (Tabla 1), hecho que ha llevado al empleo de terminología más apropiada para describir los fenómenos que se desencadenan a nivel tisular.

<i>Diagnóstico patológico</i>	<i>Patología macroscópica</i>	<i>Hallazgos histopatológicos</i>
<i>Tendinosis</i>	Degeneración intratendinosa (típicamente debida a edad avanzada, microtrauma, compromiso vascular).	Desorganización de las fibras de colágeno mediante el incremento de sustancia mucoide (GAGs), proliferación celular local con o sin neovascularización, necrosis focal o calcificación.
<i>Tendinitis</i>	Degeneración sintomática del tendón con roturas vasculares y respuesta inflamatoria de reparación.	Alteraciones degenerativas como las mencionadas anteriormente con evidencia de desgarro, hemorragia y presencia de células inflamatorias.
<i>Paratendinitis</i>	Inflamación únicamente de la capa externa del tendón (paratendón).	Leve infiltrado mononuclear disperso con o sin depósito focal de fibrina y exudado fibroso.
<i>Paratendinitis con tendinosis</i>	Paratendinitis asociada con degeneración intratendinosa.	Alteraciones degenerativas de las tendinosis y degeneración mucoide. Con o sin dispersión de células inflamatorias en el paratendón.

Tabla 1. Clasificación histopatológica de las alteraciones del tendón (traducción de Maffulli et al., 2003)

Tendinosis hace referencia a un cuadro de degeneración tisular sin signos clínicos o histológicos de inflamación. Los datos sugieren que la mayoría de tendinopatias por sobreuso son causadas por tendinosis. La observación mediante microscopía óptica revela la pérdida de la orientación paralela y la presencia de microrroturas en las fibras de colágeno así como un aumento de proteoglicanos en la MEC.

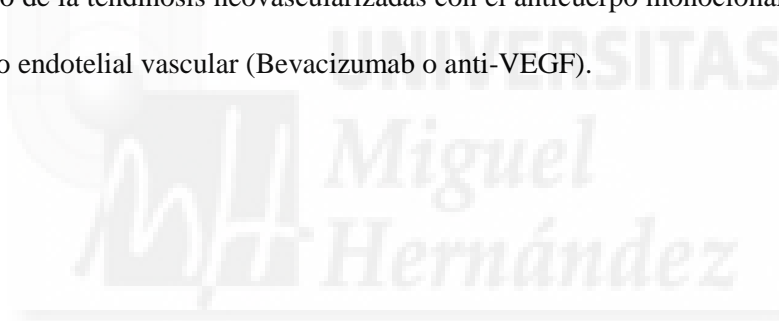
Histológicamente, en la tendinosis se ha identificado hiper celularidad tisular (en comparación con el tejido sano); los tenocitos son anormalmente abundantes y muestran alteraciones fenotípicas (núcleo redondeado) que recuerdan a la morfología de los condrocitos. Un rasgo característico de las tendinosis es la proliferación de capilares y arteriolas en el tejido tendinoso propiamente dicho (Maffulli et al., 2003).

De las lesiones relacionadas con el deporte, el 30-50% reciben el diagnóstico de tendinopatía siendo las extremidades las regiones afectadas con mayor frecuencia. La tendinopatía del manguito de los rotadores es la más frecuente, seguida del aparato extensor de la rodilla y de la

tendinopatía aquilea, respectivamente (Goel et al., 2009). Se estima una prevalencia de 2.4-21 % para la tendinopatía del manguito rotador en la población general y del 3% para la tendinopatía epicondílea. El 52% de los corredores de élite corren el riesgo de sufrir tendinopatía aquilea a lo largo de su carrera y la prevalencia en la población general se estima en el 5.6% (Mallows et al., 2017, Li et al., 2016).

Las tendinopatias constituyen por tanto un problema de gran magnitud tanto en la población general como en los deportistas. Durante las últimas décadas la incidencia ha aumentado con el aumento de actividad física media por habitante. Es por ello que resulta necesario investigar alternativas tanto preventivas como terapéuticas en el campo de la tendinopatias.

La presente revisión pretende explorar basándose en la literatura científica la eficacia potencial del tratamiento de la tendinosis neovascularizadas con el anticuerpo monoclonal contra el factor de crecimiento endotelial vascular (Bevacizumab o anti-VEGF).



Material y métodos

La búsqueda bibliográfica ha sido realizada en la base de datos MEDLINE durante los meses de Abril y Mayo de 2017. Se emplearon Medical Subject Headings (MeSH) tales como: [1] tendons OR [2] tendinopathy OR [3] connective tissue AND [1] Vascular endothelial growth factor A OR [2] Bevacizumab [3] Neovascularization, Pathologic. También se emplearon términos de búsqueda libre tales como [1] tendón structure, [2] VEGF, [3] anti-VEGF, [4] basic science, [5] tendinosis [6] collagen.

No se emplearon filtros cronológicos ni de especie. Únicamente se incluyeron artículos en inglés. La inclusión de los artículos se basó en la lectura del título y el resumen. En caso de duda se accedió al artículo completo. Durante la lectura de artículos y cuando se identificaba una referencia relevante para el tema que no había sido incluida previamente se procedió a la inclusión del artículo de forma selectiva tras su lectura.



Resultados y discusión

El factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF) es una de las citoquinas con efecto angiogénico más importantes y se conocen siete isoformas moleculares diferentes (Scott et al., 2008). Estimula la proliferación de las células microvasculares endoteliales y aumenta la permeabilidad de los vasos (Nakama et al., 2006).

La hipoxia es uno de los estímulos más potentes que pueden inducir la expresión génica del VEGF. El regulador clave de los genes sensibles a la hipoxia es el factor inducible por hipoxia 1 (HIF-1). En condiciones de déficit de oxígeno facilita la transcripción del gen que codifica el VEGF. Se han descrito otros estímulos que pueden desencadenar la sobreexpresión del VEGF como son la presencia de otras citoquinas inflamatorias y la sobrecarga mecánica (Sahin et al., 2012).

Los mecanismos de señalización del VEGF están mediando por dos receptores: el VEGF receptor-1 (VEGFR-1) y el VEGF receptor-2 (VEGFR-2). Ambos receptores se localizan principalmente en las membranas de las células endoteliales vasculares (Petersen et al., 2004).

El estudio de Mousavizadeh et al. analizó la expresión in vitro del VEGF en tenocitos humanos. Los cultivos fueron sometidos a estiramiento cíclico del 10% durante 24 horas con una frecuencia de 1 Hz. Durante las 4 horas inmediatamente posteriores observaron como la expresión del VEGF alcanzó niveles máximos en comparación con los controles. Sin embargo, pasadas más de 4 horas los niveles de VEGF retornaron a cotas basales. Los autores sugieren que el tejido tendinoso podría estar sometido repetidamente a cortas ráfagas de estímulos angiogénicos, los cuales con el paso del tiempo conducirían al desarrollo de neovascularización (Mousavizadeh et al., 2014).

De forma similar el estudio de Petersen et al. empleó tenocitos procedentes de ratas y aplicó un protocolo de estiramiento cíclico semejante, aunque no idéntico. Los resultados mostraron que frecuencias de 1 Hz aumentaban significativamente la expresión del VEGF pero frecuencias menores (0.5 Hz) arrojaron resultados comparables a los controles. Al mismo tiempo la expresión

del HIF-1 se incrementó significativamente en los cultivos sometidos a estiramiento cíclico (Petersen et al., 2004).

Nakama et al. llevaron a cabo un ensayo con propósito similar en un modelo de tendinopatía in vivo. Diseñaron un protocolo de electroestimulación del flexor profundo de los dedos en conejos albinos de Nueva Zelanda. La electroestimulación se administró 3 veces por semana, dos horas al día para un total acumulado de 80 horas de contracción submáxima. Las extremidades contralaterales sirvieron como controles. Al completar el protocolo se procedió a la eutanasia de los animales, se tomaron muestras de las regiones profunda, media y superficial del tendón epitrocLEAR y se prepararon con tinciones específicas para revelar la presencia de VEGF y VEGFR-1. Las extremidades electroestimuladas mostraron densidades significativamente mayores de células expresando VEGF y VEGFR-1 en comparación con los controles en todas las regiones del tendón. A su vez, las muestras correspondientes a las regiones superficiales del tendón mostraron mayores densidades de expresión de VEGF y VEGFR-1 en comparación con el resto de zonas. Los autores sugieren que las zonas superficiales estarían sometidas a mayores fuerzas tensiles y las zonas más profundas soportarían mayores fuerzas compresivas (adyacentes a eminencias óseas). Especulan acerca de que son las fuerzas tensiles las que estimulan la expresión del VEGF mientras que las compresivas inhiben su producción (Nakama et al., 2006).

Estudios en humanos también han mostrado evidencia de la sobreexpresión del VEGF y sus receptores en tendones con signos de tendinosis o tras rotura espontánea sin un traumatismo de intensidad suficiente que lo justifique.

El estudio inmunohistoquímico de Pufe et al., diseñado para detectar el VEGF y sus receptores en tendones de Aquiles humanos, reveló la sobreexpresión de todos ellos tras rotura espontánea, sugiriendo un marcado proceso de neovascularización en la localización lesionada. Las muestras fueron extraídas y congeladas durante las dos horas inmediatamente posteriores a la rotura. Simultáneamente las concentraciones de VEGF en los tendones sanos que sirvieron como controles fueron despreciables (Pufe et al., 2001).

Varios estudios han mostrado que las alteraciones degenerativas de los tendones ocurren preferentemente en zonas caracterizadas por un pobre o incluso ausente suministro vascular. Un ejemplo típico es la porción media del tendón de Aquiles (3-6 cm cranealmente a su inserción calcánea), lugar en el que el tendón muestra una baja densidad de capilares sanguíneos.

Paradójicamente, existe abundante evidencia de angiogénesis en dichas zonas de tendones de Aquiles con características degenerativas (Öhberg et al., 2001, Stange et al., 2014). La inducción de neovascularización puede desencadenarse como consecuencia de la sobreexpresión del VEGF mediada por el aumento en los niveles de HIF-1.

Para hacer posible la invasión vascular de un tejido que carecía vasos sanguíneos (o estaban presentes en menor medida) es necesaria la degradación de la MEC de forma que nuevas células puedan ocupar el espacio tisular liberado. Es bien conocido que el fenómeno de angiogénesis inducido por sobreexpresión de HIF-1/VEGF se acompaña de la destrucción de la MEC como consecuencia de la síntesis de metaloproteinasas de la matriz (MMPs) (Sahin et al., 2012, Pufe et al., 2005).

Sahin et al., 2012, realizaron un ensayo empleando ratas Wistar como modelo en el cual analizaron la expresión del VEGF, HIF-1, MMPs, la síntesis de colágeno tipo I, tipo III y las propiedades mecánicas tras la inducción de tendinosis por congelación in situ del tendón rotuliano. A los 0, 7, 14 y 28 días tras la cirugía las muestras fueron sometidas a análisis biomecánicos e inmunohistoquímicos. Los tendones rotulianos contralaterales sirvieron como controles. Los datos (Figuras 3, 4 y 5) mostraron que la estabilización del HIF-1 α (se produce en condiciones de hipoxia) alcanza el máximo a los 0 días para descender gradualmente y situarse en niveles inferiores al basal a los 14 y 28 días. Simultáneamente encontraron que la síntesis de VEGF y MMP3 alcanza su pico a los 7 días, para descender ostensiblemente a los 14 y 28 días tras la cirugía. Especialmente los niveles de HIF-1 α presentaron una distribución homogénea mientras que la expresión de VEGF, MMP3 y la concentración de nuevos vasos sanguíneos se localizó en las regiones cercanas a los envoltorios conectivos del tendón. Paralelamente, la síntesis de colágeno tipo I se redujo de forma casi lineal desde los 0 a los 28 días y la expresión de

colágeno tipo III (colágeno de reparación) se vio incrementada fundamentalmente a los 28 días. Los resultados indican una fuerte relación entre los procesos de angiogénesis y reparación tisular. En cuanto al análisis de las propiedades mecánicas de los tendones, se observó una reducción tanto del estrés máximo de rotura como del módulo de Young, alcanzando el mínimo a los siete días, mejorando en las mediciones posteriores, aunque sin alcanzar niveles control a los 28 días (Sahin et al., 2012).

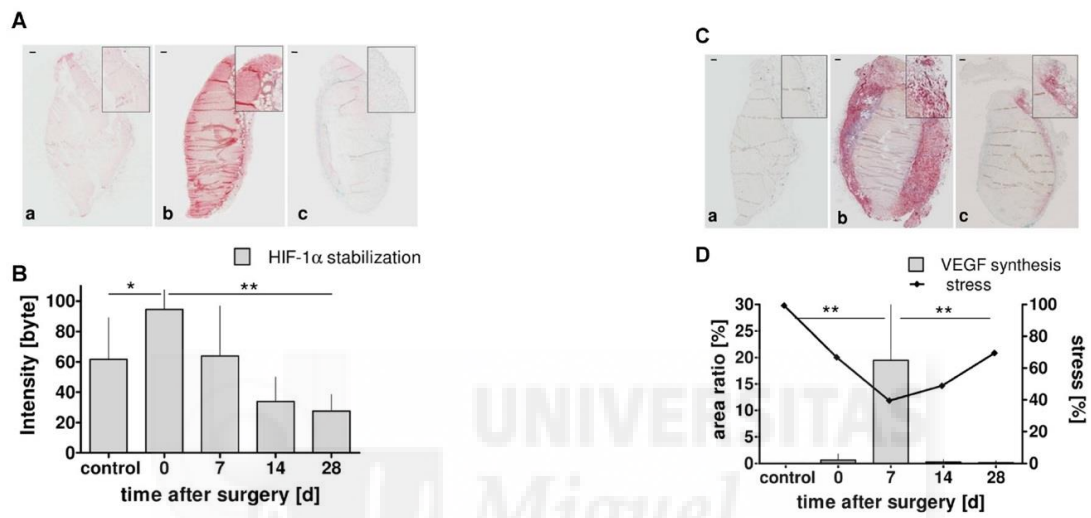


Figura 3. Expresión del HIF-1 y del VEGF en función del tiempo tras inducción de tendinosis (reproducción de los resultados de Sahin et al., 2012)

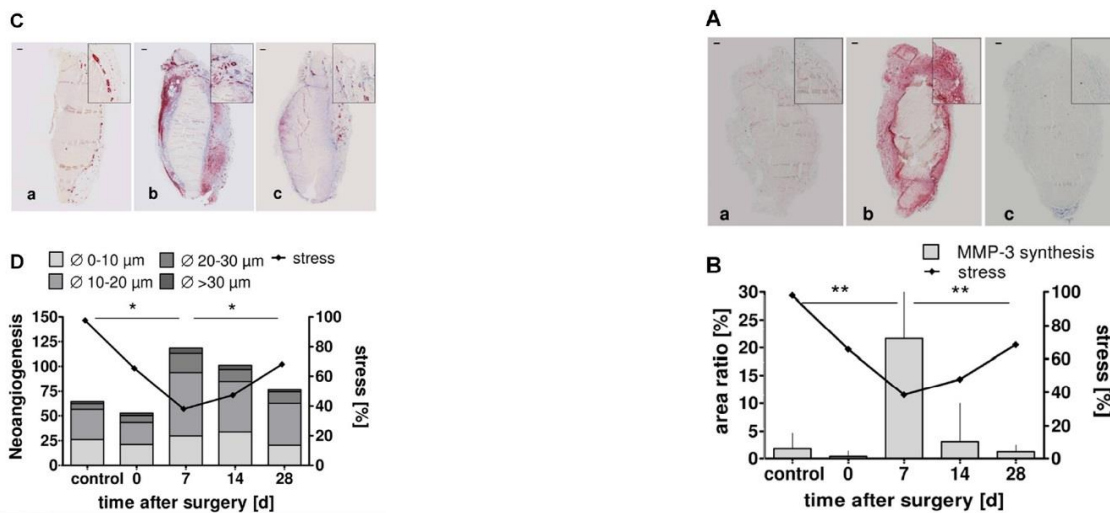


Figura 4. Neovascularización y expresión de MMP-3 en función del tiempo tras inducción de tendinosis (reproducción de los resultados de Sahin et al., 2012)

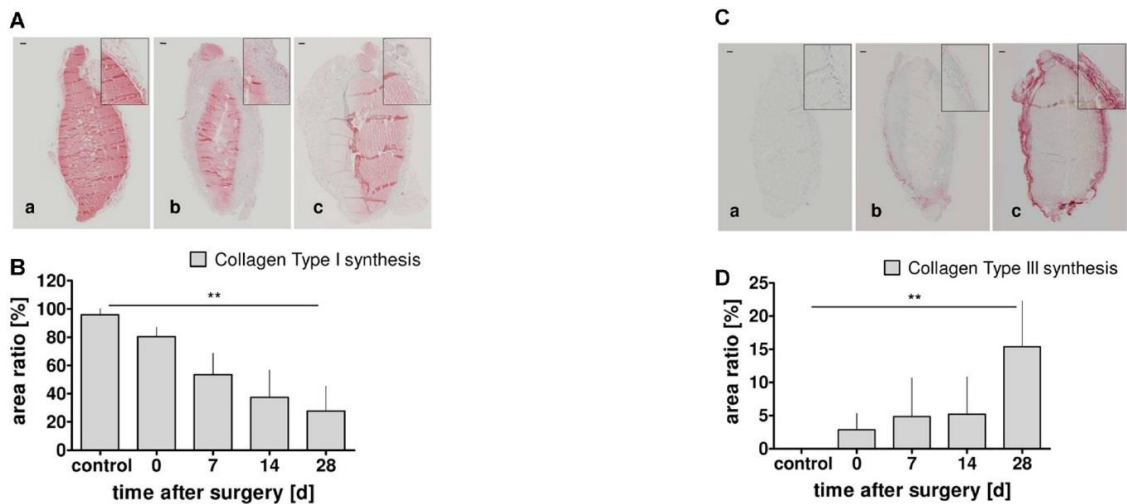


Figura 5. Expresión de colágeno tipo I y III en función del tiempo tras inducción de tendinosis (reproducción de los resultados de Sahin et al., 2012)

Las MMPs tienen un papel fundamental en el mecanismo de reparación tisular del tendón. Son las responsables de la degradación de la MEC para hacer posible la sustitución de los elementos degradados por componentes de nueva síntesis que reconstituyan la estructura y propiedades mecánicas del tejido original (Freedman et al., 2014). Sin embargo la sobreexpresión de MMPs asociada al proceso neoangiogénico durante la fases tempranas de la reparación tisular debilita la MEC y por tanto perjudica las propiedades mecánicas de los tendones predisponiendo a sufrir lesiones más severas e incluso la rotura total (Salles et al., 2016, Stange et al., 2014, Sahin et al., 2012, Magra et al., 2005).

Numerosos estudios han hallado evidencia de que el proceso de neovascularización sucede en asociación con un proceso de crecimiento de nuevas fibras del sistema nervioso. Es bien conocido que las fibras nerviosas suelen seguir trayectos razonablemente paralelos a los vasos sanguíneos. Se cree que las fibras nerviosas que acompañan a los vasos sanguíneos de nueva creación son la fuente de dolor en la tendinosis. Sin embargo la práctica clínica ha revelado que no todos los tendones con signos manifiestos de degeneración (incluyendo neovascularización) resultan sintomáticos (Xu et al., 2008). Sería más preciso afirmar que la gran mayoría de tendinosis sintomáticas muestran signos de degeneración tisular, incluyendo la angiogénesis y el crecimiento de fibras nerviosas asociado.

La investigación de Alfredson et al., 2003, realizó un estudio empleando ultrasonografía convencional, ultrasonografía Doppler, análisis inmunohistoquímico e inyecciones diagnósticas de anestésico local en 25 tendones de Aquiles de pacientes con diagnóstico confirmado de tendinosis.

Los 25 tendones sintomáticos mostraron presencia de vasos sanguíneos en la ecografía Doppler en estrecha relación con las áreas con signos de degeneración. El análisis inmunohistoquímico específico para detectar tejido nervioso de las biopsias de 6 de los pacientes reveló la presencia del mismo en la vecindad de los vasos sanguíneos. Con el objetivo de evaluar si el crecimiento de fibras nerviosas constituyen la fuente de dolor emplearon la inyección ecoguiada en la zona neovascularizada de bajas dosis de anestésico local y solicitaron a los pacientes que realizaran flexión plantar en bipedestación (elevación de talones). La presencia de dolor durante la carga del tendón de Aquiles evaluada mediante escala visual analógica se redujo de 7,5 a 3 en promedio. Por supuesto los autores asumen que no pueden afirmar con total seguridad la anestesia selectiva de los nervios asociados a la angiogénesis pero pretendieron restringir la difusión del anestésico a otras fibras nerviosas mediante el empleo de bajas dosis administradas de forma ecoguiada en la zona diana (Alfredson et al., 2003).

Tomados en conjunto, los hallazgos experimentales han conducido a la formulación de nuevas hipótesis que expliquen la etiopatogenia de las tendinopatias. La revisión de 2016 de Cook et al. recoge los principales modelos propuestos (Tabla II) y los clasifica en tres categorías: [1] modelos de microrrotura/disrupción del colágeno, [2] modelos inflamatorios, [3] modelos de respuesta celular de los tendones (Cook et al., 2016).

Modelos teóricos de la etiopatogenia de las tendinopatias

<i>Modelos de microrrotura/disrupción del colágeno</i>	Se basa en que las alteraciones patológicas se deben a por infraestimulación de los tenocitos como consecuencia de la incapacidad de soportar carga mecánica de las fibras de colágeno dañadas. Se consideran zonas mecánicamente silentes que terminan por mostrar desorganización de las fibras.
<i>Modelos inflamatorios</i>	El incremento de citoquinas inflamatorias podría corresponderse con un mecanismo de señalización celular en respuesta a los estímulos mecánicos que termina por alterar el equilibrio entre procesos de síntesis y degradación en el tendón. Este desequilibrio conduciría a la desorganización y degeneración tisular.
<i>Modelos de respuesta celular de los tendones</i>	Los tenocitos son los responsables del mantenimiento de la MEC en respuesta a los estímulos mecánicos del entorno. Alteraciones en los niveles de carga mecánica o del ambiente bioquímico resultarían en una cascada de respuestas celulares como activación celular, síntesis de proteoglicanos o cambios en la expresión del tipo de colágeno.

Tabla 2. Resumen de los modelos teóricos de la etiopatogenia de la tendinopatias (reproducción y traducción de Cook et al., 2016)

El paradigma actual está representado por el modelo continuo de tendinopatía y se basa en el concepto fundamental de que regiones discretas de un mismo tendón pueden estar en fases patológicas diferentes simultáneamente (Figura 6). Esto se refiere a situaciones clínicas en las que las regiones estructuralmente normales de los tendones fluctúan entre respuestas reactivas (inflamatorias) y no reactivas (no inflamatorias). Este fenómeno podría estar justificado por el hecho de que las regiones degeneradas del tendón se comportan como áreas mecánicamente silentes, es decir, incapaces de transmitir carga de modo que las zonas adyacentes se verían sometidas a mayor demanda (Cook et al., 2016).

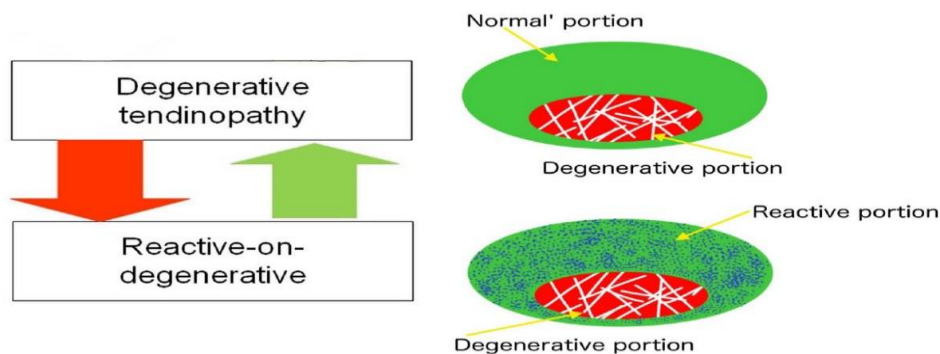


Figura 6. Representación esquemática del modelo continuo de tendinopatía y la imagen ultrasonográfica típica (reproducción de Cook et al., 2016)

En 2005, la revisión de Pufe et al. postuló que la sobrecarga mecánica repetida de los tendones genera un entorno de hipoxia en las zonas ya de por sí hipovasculares para los estándares del tendón. Consecuentemente el HIF-1 facilita la expresión del VEGF y si la sobrecarga mecánica se prolonga el proceso de remodelación tisular fisiológico termina desvirtuado en un proceso degenerativo (Figura 7). En tal situación el VEGF incrementa la expresión de MMPs por parte de las células endoteliales y de los propios tenocitos causando la degradación de la MEC que a su vez se traduce en una reducción de la capacidad del tendón para tolerar estiramiento mecánico (Pufe et al., 2005).

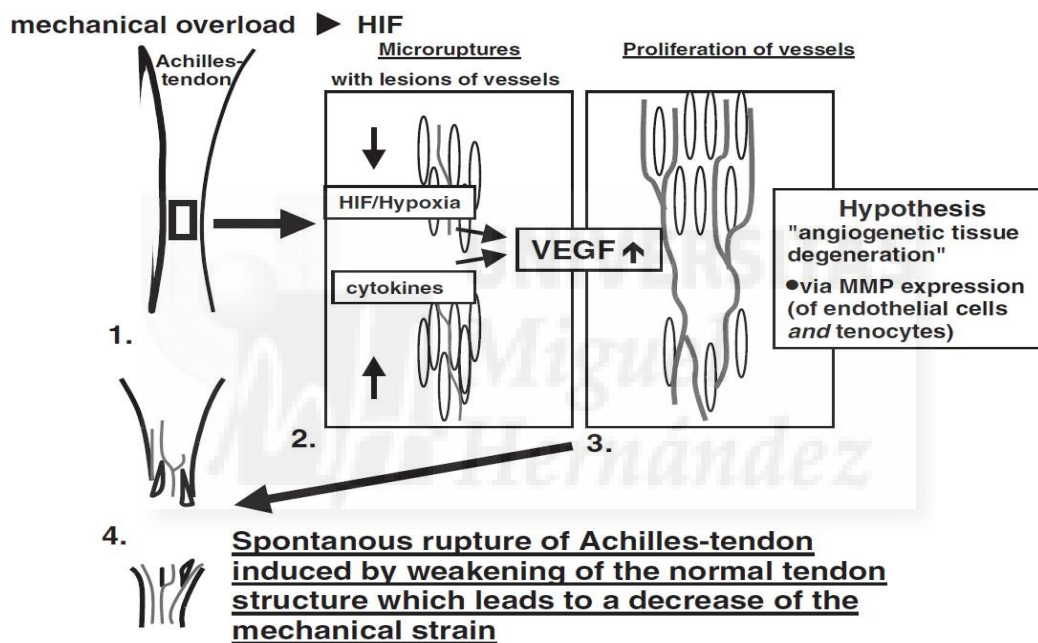


Figura 7. Hipótesis de la etiología de la rotura espontánea del tendón de Aquiles (reproducción de Pufe et al., 2005)

En cualquier caso y como consecuencia de la sobrecarga mecánica del tejido, considerando los modelos etiológicos de las tendinopatías en conjunto, la neovascularización, la proliferación de nuevas fibras nerviosas y la sobreexpresión de MMPs juegan un papel fundamental en los cambios tisulares degenerativos. Frecuentemente en la literatura científica se ha descrito este hecho como un intento de reparación tisular fallido dado que las características mencionadas anteriormente se prolongan en el tiempo en lugar de manifestarse como un proceso autolimitado (Ackermann, 2013, Scott et al., 2008, Oliva et al., 2016).

Durante las últimas dos décadas se ha propuesto la terapia antiangiogénica como una alternativa potencialmente eficaz para el tratamiento de las tendinopatías degenerativas con neovascularización. La técnica más empleada han sido la destrucción de los nuevos capilares mediante la inyección ecoguiada de agentes esclerosantes. Sin embargo, el desarrollo de anticuerpos monoclonales contra el VEGF principalmente para el tratamiento de neoplasias malignas abre una nueva perspectiva terapéutica (Pufe et al., 2005).

El Bevacizumab es un anticuerpo monoclonal desarrollado en 1997 y autorizado para el uso en cáncer colorectal metastásico en 2004 por la *Food and Drug Administration* (FDA) de los Estados Unidos y posteriormente por la *European Medicines Agency* (EMA). Desde entonces su uso se ha ampliado al tratamiento de otras neoplasias malignas y patologías oftalmológicas. Se desarrolló específicamente para inhibir el efecto del VEGF y consecuentemente el proceso de neovascularización (Ferrara et al., 2016).

Se une selectivamente a todas las isoformas del VEGFA impidiendo la activación del receptor VEGFR-2 que se expresa abundantemente en las células vasculares endoteliales (Figura 8). De esta forma bloquea la cascada de señalización intracelular que desencadena permeabilidad vascular, migración, proliferación y angiogénesis (Ferrara et al., 2016, Ferrara et al., 2005).

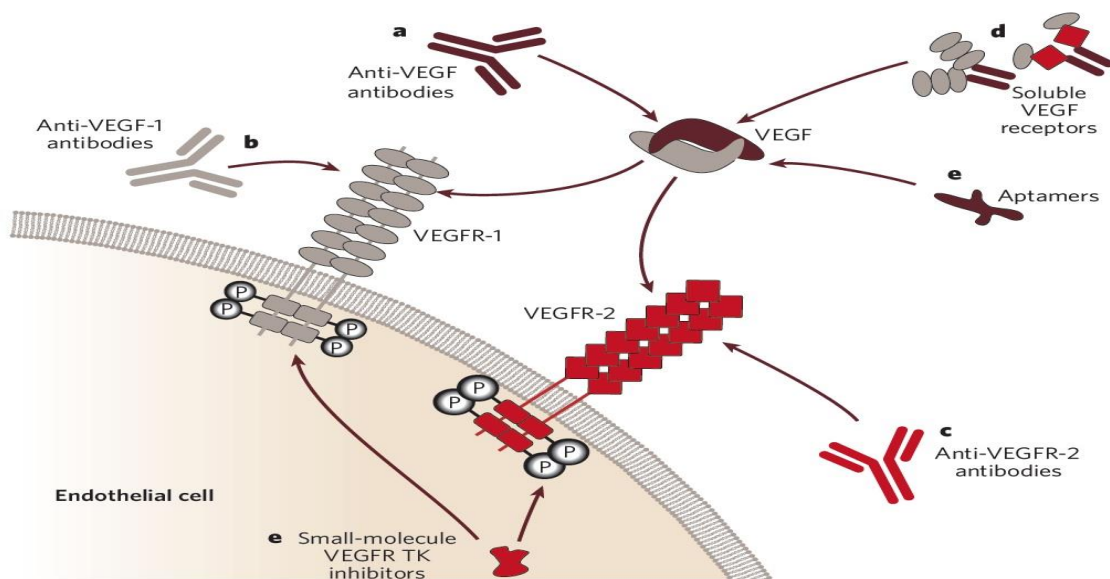


Figura 8. Estrategias para la inhibición de la señalización del VEGF. El Bevacizumab se corresponde con el mecanismo de acción (a) al ligarse al VEGF e impedir su unión al VEGFR-2 (reproducción de Ferrara et al., 2005)

A lo largo de los años el empleo de Bevacizumab ha demostrado su eficacia en la reducción de la angiogénesis tanto en su aplicación asociada a quimioterapia en cáncer como en patología oftalmológica (Mello et al., 2011, Ferrara et al., 2016).

Durante los años en los que se ha empleado el Bevacizumab se han descrito efectos adversos infrecuentes pero importantes entre los que se incluyen perforaciones gastrointestinales, síndrome nefrítico, infarto de miocardio o accidente cerebrovascular especialmente en pacientes con antecedentes de enfermedad cardiovascular o mayores de 65 años (Ferrara et al., 2016, Ferrara et al., 2005). Cabe decir que los efectos adversos mencionados han sido descritos en tratamientos por vía parenteral prolongados y con dosis altas para combatir el cáncer.

Recientemente (2013 y 2014) Dallaudière et al. llevó a cabo dos ensayos preclínicos en modelo animal con el objetivo de evaluar la eficacia y toxicidad del anti-VEGF en tendinosis. Hasta el momento son los dos únicos ensayos que se conocen del empleo de Bevacizumab en tejido tendinoso.

En el primero indujeron tendinosis en los tendones patelar y aquileo de ratas macho Sprague Dawley mediante la administración ecoguiada de colagenasa tipo I en una única dosis. Dicho modelo ha sido descrito como un modelo válido de tendinosis desde el tercer día y hasta las 12 semanas. El día 3 (D3) tras la inducción de tendinosis química, administraron una segunda inyección ecoguiada (dirigida al segmento engrosado del tendón) de 2.5 mg (0.1ml) de Bevacizumab o 0.1 ml de suero fisiológico (grupo control) (Dallaudière et al., 2013).

Para evaluar la eficacia del tratamiento realizaron exploración clínica, exploración por ultrasonografía y análisis histológico de los tendones en los días D6 y D13 tras la inducción de tendinosis química. La medición del diámetro anteroposterior de ambos tendones en D6 fue significativamente menor en el grupo de tratamiento en comparación con los controles. Sin embargo la significancia estadística desapareció en D13. Dentro del grupo tratado con Bevacizumab hubo una reducción cronológica significativa del diámetro anteroposterior de ambos tendones en D3, D6 y D13. El examen histológico en D6 mostró menor desorganización fibrilar y neovascularización en el grupo de tratamiento pero en D13 no hubo diferencias

significativas. El análisis inmunohistoquímico no detectó presencia de macrófagos ni alteraciones que sugieran efectos tóxicos del Bevacizumab en el tejido tendinoso (Dallaudière et al., 2013).

El segundo ensayo utilizó en modelo animal de tendinosis idéntico. En este caso el primer grupo fue tratado mediante monoinyección ecoguiada de 0.05 ml de Bevacizumab (1.25 mg) en combinación con 0.05 ml de plasma rico en plaquetas (PRP) no activado con una concentración 3 veces superior al plasma sanguíneo (se considera la mínima dosis terapéutica). Un segundo grupo fue tratado únicamente con 1 ml de PRP con la misma concentración (Dallaudière et al., 2014).

La exploración ecográfica en el día D6 mostró significativamente menores diámetros anteroposteriores tanto el tendón patelar como aquileo en el grupo de Bevacizumab+PRP en comparación con el grupo tratado exclusivamente con PRP. En el día D18 la diferencia sólo fue significativa en el tendón de Aquiles. En el D25 el grupo tratado con Bevacizumab+PRP mostró de nuevo diámetros anteroposteriores menores en ambos tendones. El análisis histológico en el día D25 evidenció con significancia estadística menor desorganización de la fibras de colágeno y menor densidad de capilares sanguíneos en el grupo tratado con Bevacizumab+PRP. En ninguno de los dos grupos se detectó presencia de macrófagos ni efectos citotóxicos (Dallaudière et al., 2014).

Del primer procedimiento experimental los autores extraen la conclusión de que el tratamiento con anti-VEGF acelera el proceso de reparación tisular sin efectos de toxicidad local. Proponen que el efecto antiangiogénico podría ser beneficioso mediante la prevención de la actividad de las MMPs asociada a los mecanismos de neovascularización. De este modo se evitaría una degradación secundaria de la MEC.

Por el contrario, la inhibición de la angiogénesis evitaría durante una fase más avanzada el aporte de factores de crecimiento activos que estimulan la cicatrización del tejido y la producción de colágeno por parte de los tenocitos. El aporte de los factores de crecimiento activos mediante inyecciones de PRP compensaría el efecto negativo que tendría la inhibición de la angiogénesis. Los autores proponen que la combinación de ambos principios activos podría ser beneficiosa al

prevenir la degradación secundaria de la MEC y al mismo tiempo favorecer la producción de colágeno y por tanto la reparación tisular mediante el aporte de factores de crecimiento activos (Dallaudière et al., 2014).



Conclusiones

La revisión bibliográfica efectuada ha perseguido el objetivo de explorar la evidencia disponible en la literatura científica en relación con el empleo del anti-VEGF como agente antiangiogénico en las tendinopatias crónicas degenerativas. Tan sólo dos ensayos preclínicos han estudiado el efecto del Bevacizumab en las tendinosis. A pesar de que los resultados de ambos procedimientos experimentales son prometedores, existen múltiples sesgos que impiden asegurar de forma concluyente su eficacia.

Es por tanto necesario realizar estudios futuros con poblaciones mayores en modelo animal y con seguimientos más largos con el objetivo de evaluar tanto los efectos beneficiosos como perjudiciales que potencialmente puede tener el empleo del anti-VEGF como agente antiangiogénico en las tendinosis.



Referencias bibliográficas

1. Ackermann PW. Neuronal regulation of tendon homeostasis. *Int J Exp Pathol.* 2013;94(4):271–86.
2. Alfredson H, Öhberg L, Forsgren S. Is vasculo-neural ingrowth the cause of pain in chronic Achilles tendinosis? *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2003;11(5):334–8.
3. Baldino L, Cardea S, Maffulli N, Reverchon E. Regeneration techniques for bone-To-Tendon and muscle-To-Tendon interfaces reconstruction. *Br Med Bull.* 2016;117(1):25–37.
4. Baldwin SJ, Quigley AS, Clegg C, Kreplak L. Nanomechanical mapping of hydrated rat tail tendon collagen i fibrils. *Biophys J.* 2014;107(8):1794–801.
5. Bi Y, Ehrchiou D, Kilts TM, Inkson CA, Embree MC, Sonoyama W, et al. Identification of tendon stem/progenitor cells and the role of the extracellular matrix in their niche. *Nat Med.* 2007;13(10):1219–27.
6. Cook JL, Rio E, Purdam CR, Docking SI. Revisiting the continuum model of tendon pathology: what is its merit in clinical practice and research? *Br J Sports Med.* 2016;50(19):1187–91.
7. Dallaudière B, Lempicki M, Pesquer L, Louedec L, Preux PM, Meyer P, et al. Acceleration of tendon healing using US guided intratendinous injection of bevacizumab: First pre-clinical study on a murine model. *Eur J Radiol.* 2013;82(12):e823–8.
8. Dallaudiere B, Zurlinden O, Perozziello A, Deschamps L, Larbi A, Louedec L, et al. Combined intra-tendinous injection of Platelet Rich Plasma and bevacizumab accelerates and improves healing compared to Platelet Rich Plasma in tendinosis: comprehensive assessment on a rat model. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014;4(3):351–6.
9. Ferrara N, Adamis AP. Ten years of anti-vascular endothelial growth factor therapy. *Nat Rev Drug Discov.* 2016;15(6):385–403.
10. Ferrara N, Kerbel RS. Angiogenesis as a therapeutic target. *Nature.* 2005;438(7070):967–74.
11. Freedman BR, Gordon JA, Soslowsky LJ. The Achilles tendon: fundamental properties and mechanisms governing healing. *Muscles Ligaments Tendons J.* 2014;4(2):245–55.

12. Goel DP, Chan D, Watson K, Mohtadi N. Safety and hospital costs of Achilles tendon surgery: The serendipitous impact of a randomized clinical trial. *Can J Surg.* 2009;52(6):467–72.
13. Li H-Y, Hua Y-H. Achilles Tendinopathy: Current Concepts about the Basic Science and Clinical Treatments. *Biomed Res Int.* 2016;2016:1–9.
14. Maffulli N, Wong J, Almekinders LC. Types and epidemiology of tendinopathy. *Clin Sports Med.* 2003;22(4):675–92.
15. Magra M, Maffulli N. Molecular events in tendinopathy: A role for metalloproteases. *Foot Ankle Clin.* 2005;10(2):267–77.
16. Mallows A, Debenham J, Walker T, Littlewood C. Association of psychological variables and outcome in tendinopathy: a systematic review. *Br J Sports Med.* 2017;51(9):743–8.
17. Mello GR, Pizzolatti ML, Wasilewski D, Santhiago MR, Budel V, Moreira H. The effect of subconjunctival bevacizumab on corneal neovascularization, inflammation and re-epithelization in a rabbit model. *Clinics.* 2011;66(8):1443–50.
18. Mousavizadeh R, Khosravi S, Behzad H, McCormack RG, Duronio V, Scott A. Cyclic strain alters the expression and release of angiogenic factors by human tendon cells. *PLoS One.* 2014;9(5).
19. Nakama LH, King KB, Abrahamsson S, Rempel DM. VEGF, VEGFR-1, and CTGF cell densities in tendon are increased with cyclical loading: An in vivo tendinopathy model. *J Orthop Res.* 2006;24(3):393–400.
20. O'Brien M. Structure and metabolism of tendons. *Scand J Med Sci Sports.* 1997;7(2):55–61.
21. Öhberg L, Lorentzon R, Alfredson H. Neovascularisation in Achilles tendons with painful tendinosis but not in normal tendons: An ultrasonographic investigation. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2001;9(4):233–8.
22. Oliva F, Piccirilli E, Berardi AC, Frizziero A, Tarantino U, Maffulli N. Hormones and tendinopathies: The current evidence. *Br Med Bull.* 2016;117(1):39–58.

23. Petersen W, Pufe T, Zantop T, Tillmann B, Tsokos M, Mentlein R. Expression of VEGFR-1 and VEGFR-2 in degenerative Achilles tendons. *Clin Orthop Relat Res.* 2004;1(420):286–91.
24. Petersen W, Varoga D, Zantop T, Hassenpflug J, Mentlein R, Pufe T. Cyclic strain influences the expression of the vascular endothelial growth factor (VEGF) and the hypoxia inducible factor 1 alpha (HIF-1 α) in tendon fibroblasts. *J Orthop Res.* 2004;22(4):847–53.
25. Pufe T, Petersen W, Tillmann B, Mentlein R. The angiogenic peptide vascular endothelial growth factor is expressed in foetal and ruptured tendons. *Virchows Arch.* 2001;439(4):579–85.
26. Pufe T, Petersen WJ, Mentlein R, Tillmann BN. The role of vasculature and angiogenesis for the pathogenesis of degenerative tendons disease. *Scand J Med Sci Sport.* 2005;15(4):211–22.
27. Sahin H, Tholema N, Petersen W, Raschke MJ, Stange R. Impaired biomechanical properties correlate with neoangiogenesis as well as VEGF and MMP-3 expression during rat patellar tendon healing. *J Orthop Res.* 2012;30(12):1952–7.
28. Salles JI, Duarte MEL, Guimarães JM, Lopes LR, Cardoso JV, Aguiar DP, et al. Vascular endothelial growth factor receptor-2 polymorphisms have protective effect against the development of tendinopathy in volleyball athletes. *PLoS One.* 2016;11(12):1–11.
29. Scott A, Lian Ø, Bahr R, Hart DA, Duronio V. VEGF expression in patellar tendinopathy: A preliminary study. *Clin Orthop Relat Res.* 2008;466(7):1598–604.
30. Sharma P, Maffulli N. Biology of tendon injury: Healing, modeling and remodeling. *J Musculoskelet Neuronal Interact.* 2006;6(2):181–90.
31. Stange R, Sahin H, Wieskötter B, Persigehl T, Ring J, Bremer C, et al. In vivo monitoring of angiogenesis during tendon repair: a novel MRI-based technique in a rat patellar tendon model. *Knee Surgery, Sport Traumatol Arthrosc.* 2014;23(8):2433–9.
32. Sun HB, Schaniel C, Leong DJ, Therapeutics S, Biology R. HHS Public Access. 2015;33(6):785–92.

33. Tempfer H, Traweger A. Tendon vasculature in health and disease. *Front Physiol.* 2015;6(NOV):1–7.
34. Xu Y, Murrell GAC. The basic science of tendinopathy. *Clin Orthop Relat Res.* 2008;466(7):1528–38.

