



apunts

MEDICINA DE L'ESPORT

www.apunts.org



REVISIÓN

Conceptos actuales de la fisiopatología de las tendinopatías. Ingeniería tisular

Tomás F. Fernández Jaén^{a,*}, Fernando Baró Pazos^b, Ascensión Fernández Jiménez^a,
Marta Guillén Vicente^c y Pedro Guillén García^d

^aServicio de Medicina y Traumatología del Deporte, Clínica CEMTRO, Madrid, España

^bClínica Traumatológica, Valladolid, España

^cUnidad de la Mano de la Clínica CEMTRO, Madrid, España

^dDepartamento de Traumatología y Cirugía Ortopédica, Clínica CEMTRO, Madrid, España

Recibido el 23 de marzo de 2010; aceptado el 30 de abril de 2010

Disponible en Internet el 8 de octubre de 2010

PALABRAS CLAVE

Tendinopatías;
Fisiopatología;
Ingeniería tisular;
Deporte

KEYWORDS

Tendinopathies;
Pathophysiology;
Tissue engineering;
Sport

Resumen

La tendinopatía es una lesión frecuente que se produce durante la práctica deportiva. El reparto desigual de la carga de trabajo a lo largo del tendón produce roturas heterogéneas en extensión y distribución. Estas roturas ponen en marcha procesos de reparación defectuosos que producen un tendón degenerado con alteración estructural y de la respuesta funcional al ejercicio.

En este trabajo se estudian y analizan los distintos factores predisponentes, mecanismos de acción de los agentes químicos y celulares implicados en la fisiopatología de la tendinopatías.

Por otra parte, se analizan los componentes básicos (soporte, células y sustancias químicas) que se usan para la ingeniería tisular. Las posibilidades actuales de uso de los componentes básicos y sus interrelaciones, y el nivel actual de desarrollo.

© 2010 Consell Català de l'Esport. Generalitat de Catalunya. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

Current concepts of the pathophysiology of tendinopathies. Tissue engineering

Abstract

Tendinopathy is a common condition that occurs while practising sport. The unequal distribution of the work load throughout the tendon causes heterogeneous ruptures in extension and distribution. These ruptures start defective repair processes that produce a degenerated tendon with a change in structure and functional response to exercise.

*Corresponding author.

Correos electrónicos: tomas.fernandez@clinicacentro.com, drfernandezjaen@gmail.com (T.F. Fernández Jaén).

In this article the different predisposing factors are study, along with the mechanisms of action of the chemical and cellular agents involved in the physiology of tendinopathies.

The basic components (support, cells and chemical substances) that are used for tissue engineering are also analysed, as well as the current possibilities of using the basic components, the inter-relationships between them and the current level of execution.

© 2010 Consell Català de l'Esport. Generalitat de Catalunya. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

Para valorar la trascendencia de la lesión del tendón en el mundo del deporte diremos que la afectación tendinosa es una patología frecuente durante la práctica deportiva. La frecuencia es, según diversos autores, de 30 a 50% de todas las lesiones deportivas¹. Existen estudios que señalan que el 30% de los corredores sufren tendinopatías crónicas y un 40% presentan codo de tenista en los deportes de raqueta². La afectación degenerativa del tendón de Aquiles es la más frecuente (56,6%) en los corredores de fondo, está relacionada con el número de años de práctica de la carrera y es más frecuente en la porción media del tendón³.

La tendinopatía del manguito de los rotadores es la causa más frecuente de dolor y disfunción a nivel del miembro superior y aumenta su aparición con la edad⁴.

Fisiopatología

Durante la actividad física, desde el punto de vista etiopatogénico y biomecánico, la carga que actúa sobre el tendón produce una rotura fibrilar cuando la tracción mecánica supera el 4% de la longitud en reposo, siendo una rotura completa si supera el 4%. El reparto desigual de la carga a lo largo del tendón produce roturas heterogéneas en extensión y distribución. Por otra parte, debido a la distinta proporción de las uniones cruzadas entre las fibras de colágeno según la región tendinosa (zona músculo tendinosa, porción media, zona osteotendinosa) es diferente la resistencia mecánica, el perfil bioquímico y estructural del tendón^{5,6}.

Estas roturas parciales o fibrilares ponen en marcha los mecanismos de reparación tendinosa, en los que están implicados:

- Diversas sustancias químicas entre ellos los factores de crecimiento.
- Células como los tenocitos residentes que se ocupan del balance, producción y destrucción de la matriz extracelular, también las células madres que se van a diferenciar en tenocitos, adipocitos, en línea condrogénica u osteogénica dependiendo entre otros factores de la carga mecánica que reciba durante el proceso de reparación.
- La matriz extracelular que tiene como componente fundamental las fibras de colágeno tipo I^{6,7}.

Estos procesos de reparación defectuosos producen un tendón degenerado con alteración estructural. Esta regeneración defectuosa se ha relacionado con niveles de hipoxia a nivel de la lesión, presencia de un daño isquémico, apoptosis

desigual mediada por citoquinas y mediadores inflamatorios, existencia de un estrés oxidativo, presencia de hipertermia local y una alteración del balance de las metaloproteinasas (MMP) de la matriz.

Las interacciones químicas en la matriz, los depósitos insolubles, la tensión mecánica, la liberación local de citoquinas y de moléculas de señalización tendrán efecto directo en la actividad del tenocito, en la expresión de los genes celulares y en los enzimas de la matriz.

El tenocito tiene un papel fundamental en la homeostasis normal, en la regularización de la matriz y del cambio patológico que sucede durante la enfermedad degenerativa, además parece que tiene un papel trascendental en la producción inadecuada de tejido durante reparación del fibrocartilago en el desarrollo de las tendinopatías⁸.

Todos estos procesos generan un tendón degenerado y fibrótico por lo que disminuye la capacidad para soportar carga. Se cierra de esta manera el círculo fisiopatológico de las tendinopatías (fig. 1).

Factores predisponentes

La aparición de las tendinopatías va a depender de unos factores intrínsecos del propio deportista y extrínsecos.

Factores intrínsecos: se ha demostrado la presencia del gen variante de la tenascina C (TNC) y variantes del gen de colágeno v alfa1 (COL5A1)⁹; la mala alineación de los miembros inferiores con varo/valgo, recurvatum; la eversión del tobillo en corredores favorece la aparición de la tendinopatía aquilea^{10,11}; cambios en la biomecánica normal articular con alteración de la longitud tendinosa,

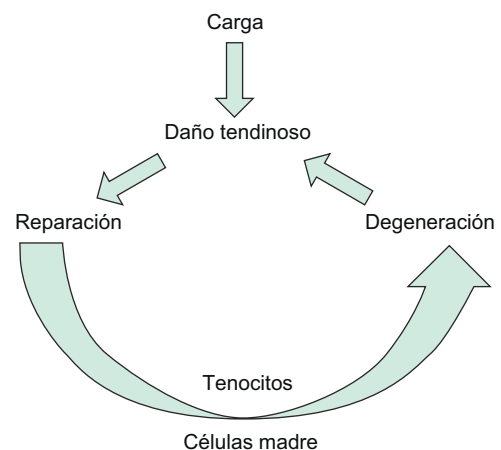


Figura 1 Fisiopatología de la tendinopatía.

modificación de la relación grosor/potencia muscular en el caso de la toma de anabolizantes, alteración del brazo de palanca con cambios en el momento de fuerza que hace que aumente la carga en un punto determinado del tendón.

Como factores extrínsecos al deportista podemos encontrar: los parámetros relacionados con la carga tanto en su intensidad como en la frecuencia; entrenamiento; realización del gesto técnico; periodicidad para dejar tiempo de recuperación y de descanso del tendón; determinadas drogas (quinolonas, estatinas) por su interrelación con las metaloproteinasas (MMP) o en otros casos por interferir los mecanismos de reparación^{12,13}. Las metaloproteinasas tienen un papel fundamental en la degeneración tendinosa¹⁴.

El mayor recambio del colágeno de la matriz extracelular estuvo asociado con un aumento en la expresión y actividad de varios miembros de la familia de MMP. La MMP-3 (estromelisin) es considerada la enzima reguladora clave en el control del recambio de la matriz, su disminución podría representar una alteración en el proceso de remodelado normal. El estudio de líquido sinovial tendinoso mostró elevados niveles de expresión de MMP-1 y MMP-3, además un estudio molecular de la patología del tendón de Aquiles confirmó la ausencia de inflamación, con incrementos notables en la expresión de genes del colágeno tipo I y tipo III, aumento de versican, biglicano, perlecan y de las glicoproteínas laminina, SPARC y tenascina-C. Los niveles de MMP-3 fueron menos abundantes o estuvieron ausentes en la tendinopatía dolorosa y en la ruptura del tendón. Fármacos como el ibuprofeno aumenta la expresión de la MMP1, 2, 8, 9 y 13 sin alterar la expresión de colágeno I y III^{15,16}. Las fluoroquinolonas pueden inducir tendinopatías en algunos casos, dado que modulan la actividad MMP, también los corticoides aumentan el riesgo para padecer tendinopatías¹⁷.

La histología ha demostrado la alteración de la distribución normal de la curación, la ausencia de las células inflamatorias, la existencia de una pobre respuesta reparativa que condiciona una degeneración no inflamatoria intratendinosa de las fibras de colágeno provocando una desorientación y delgadez de las fibras con un aumento interfibrilar de glucosaminos, hiper celularidad y un crecimiento vascular disperso. Se ha observado la alteración de la matriz extracelular combinada con aumento de la expresión de proteoglicanos y aumento de la razón colágeno III/I que aparece en las tendinopatías calcificantes¹⁸.

En las tendinopatías, a nivel de la estructura de la matriz extracelular existe: una reducción en el contenido total de colágeno, siendo la morfología anormal; una disminución de la densidad fibrilar y una alteración de la alineación¹⁹ con una mayor proporción de colágeno tipo III con una organización al azar sobre el tipo I de estructura más alineada y organizada; aumento de proteoglicanos en los tendones con proceso degenerativo; acumulación de tejido necrótico y de fibrina; aumentan las glicoproteínas como la tenascina C; y un deterioro gradual de la calidad del tendón.

Por otra parte, la medición de los factores de crecimiento ha demostrado que:

- a) El Insulin Growth Factor 1 (IGF I) ayuda a la proliferación y migración de fibroblastos e incrementa la producción de colágeno.
- b) El Transforming Growth Factor beta (TGF beta) regula la migración celular, la proliferación de las uniones cruzadas y la remodelación de la matriz²⁰.
- c) El Vascular Endothelial Growth Factor (VEGF) es un potente estimulador de la angiogénesis. La demostración del aumento de la cantidad de VEGF en los tenocitos intrínsecos sugiere un papel del VEGF en la angiogénesis de la reparación del tendón. En tendones degenerados se puede detectar un aumento de los receptores de tipo 1 y 2 para los factores de crecimiento del endotelio vascular VEGF^{21,22} circunstancia que no sucede en los tendones normales.
- d) El Platelet Derived Growth Factor (PDGF) estimula la producción de otros factores de crecimiento y tiene un papel en la remodelación tendinosa.
- e) El basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) es un potente estimulador de la angiogénesis también regula la proliferación y migración celular^{23,24}. Los tenocitos proliferan en cultivo cuando están expuestos al bFGF²⁵.

En relación al dolor que presentan las tendinopatías, se ha demostrado que aumenta en dos veces la concentración de lactato intratendinoso. También existe aumento del neurotransmisor glutamato y aumento de la PGE2 que se ha relacionado incluso con la aparición de la formación de calcificaciones. El nivel de sustancia P se ha vinculado con el nivel de dolor en la tendinopatía del manguito y codo²⁶. En otros estudios se ha detectado un incremento de la expresión de la sustancia P y del gen relacionado con el péptido de la calcitonina (CGRP) en la reparación defectuosa y dolorosa del tendón²⁷.

Por otra parte, en las tendinopatías existen evidencias histológicas del crecimiento neural a nivel intratendinoso y del paratendon que está regulado por mediadores pro y anti-inflamatorios de la periferia del tendón durante el proceso de reparación. Este hecho depende del tiempo de reparación, de aspectos sensitivos, autonómicos y de mediadores de glutamatérgicos, sin embargo en los tendones normales solo se observa presencia de nervios a nivel del paratendon que refleja la normal homeostasis del tendón^{27,28}.

En resumen existen evidencias clínica, histológicas y bioquímicas de la alteración de la homeostasis del tendón durante el proceso de regeneración y reparación después de una rotura fibrilar postejercicio.

Ingeniería tisular

Desde el punto de vista teórico podemos considerar a cualquier tejido biológico compuesto por:

- a) Un soporte o transportador (scaffold en inglés) que engloba las estructuras de sostén del tejido fundamentalmente compuesto por sustancias fibrilares.
- b) Células que pueden poseer cualquier grado de diferenciación desde las indiferenciadas (células madres) hasta las más diferenciadas, como por ejemplo, los tenocitos maduros.
- c) Sustancias químicas de distintos tipos entre ellos los factores de crecimiento. Estas sustancias químicas actúan como mensajeras intercelulares, intracelulares y autocrinas para mediar las diferentes respuestas celulares.

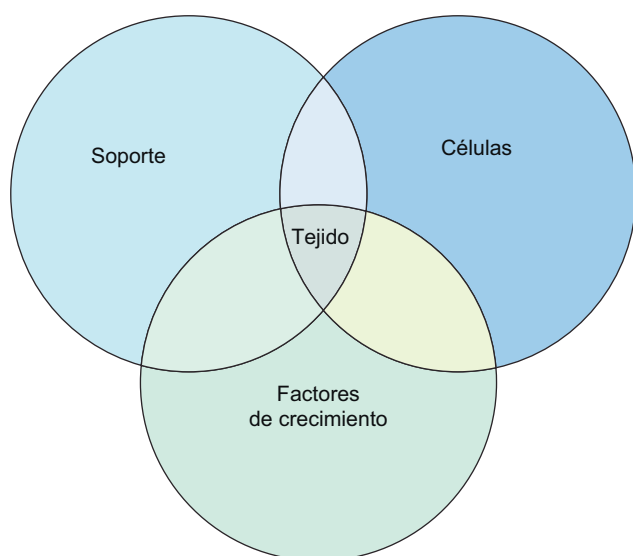


Figura 2 Areas de interés de la ingeniería tisular en la actualidad.

La ingeniería tisular, rama de la bioingeniería, intenta crear o producir tejidos para rellenar defectos tisulares. Para conseguir este fin parte del desarrollo o combinación de uno, dos o de los tres componentes mencionados previamente, así puede crear solo soporte para que sirva de andamiaje a las células del propio individuo o soporte con células para ser implantado en el defecto tisular como por el ejemplo el implante de matriz de colágeno con condrocitos autólogos cultivados (MACI), (fig. 2).

La presente revisión señala posibilidades actuales que se están desarrollando dentro del campo de la ingeniería tisular para el tratamiento de las lesiones tendinosas, muchos de ellos solo están a nivel de modelo animal o *in vitro*.

Posibilidades actuales

Soporte

También como posibilidad actual se han usado soportes de biomateriales biocompatibles y biodegradables para rellenar defectos óseos²⁹, también se ha creado una estructura de nanofibras electrospum que estimula la diferenciación de las células madres tendinosas³⁰. En otros trabajos, han realizado el soporte con biocerámicas de ortofosfatos de calcio para rellenar los defectos de las inserciones tendinosas³¹. Por último, algunos utilizan estructuras de poliláctico en sus formas planares y en dos dimensiones por doble capa³².

Combinación de soporte y células

Para aumentar la producción proteica fibrilar se ha realizado combinación de células fibroblásticas con el gel de polímero³³. En otros casos a los tendones acelulares de cadáver se les ha implantado tenocitos cultivados para ser usados como injertos³⁴. También en soporte de hidrogel se ha implantado

células mesequimales³⁵ incluso en soporte de intestino porcino se ha colocado los tenocitos cultivados³⁶.

Células

Para regeneración de tejido músculo tendinoso se ha utilizado el implante de células musculares sometidas a campos magnéticos de baja intensidad³⁷. En el caso de rotura y defecto del manguito de los rotadores del hombro, se ha realizado implante con células que sintetizan glicoproteínas y lubricina³⁸. Se ha elaborado técnica con tenocitos cultivados y criopreservados³⁹ y en otros trabajos se han desarrollado células mesenquimales procedentes del tejido adiposo⁴⁰.

Células y factores de crecimiento

En defectos tendinosos se han utilizado células mesenquimales de médula ósea más factores de crecimiento⁴¹. Otros investigadores han manejado a las células madres embrionológicas humanas más factor de diferenciación fetal para la curación tendinosa⁴². En casos de fallos en la inserción tendinosa se ha estudiado la posibilidad del implante de las células madres mesenquimales con plasma rico en plaqueta tamponado (bPRP) que aumenta la proliferación y diferenciación a la línea condrogénica, este trabajo ha sido realizado *in vitro*⁴³.

Factores de crecimiento

En un centro de investigación utilizan un birreactor para favorecer la curación y las propiedades mecánicas de los tendones⁴⁴. Otros manejan una proteína soluble para estimular la regeneración músculo esquelética⁴⁵. El basic Fibroblast Growth Factor (bFGF) como factor de crecimiento más conocido se ha usado para estimular la diferenciación de las células madres mesenquimales (MSC) del tendón⁴⁶.

Factores de crecimiento más soporte

También como posibilidad actual se han usado el colágeno tipo I combinado con el condroitín 6 sulfato como sustancia que favorece la estimulación de las células madres mesenquimales autólogas para la reparación tendinosa⁴⁷. EL b FGF en soporte fibroso biohíbrido (nano y micro) para ligamento cruzado anterior de la rodilla y para la afectación tendinosa⁴⁸. Los factores de crecimiento del plasma enriquecido más soporte sintético puede aumentar la proliferación y síntesis de las células tendinosas (*in vitro*)⁴⁹. Las nanofibras con gradiente mineral para la inserción tendinosa⁵⁰.

Células más factores de crecimiento y soporte

Se están utilizando y manipulando los tejidos autólogos y heterólogos, para realizar autoinjerto o alonjerto modificados por medio de la técnica de conservación.

En resumen, existen actualmente, distintos y variados procedimientos para conseguir la construcción de un tejido vivo. Estudios posteriores delimitarán qué método o procedimiento es más eficaz para una determinada lesión

tendinosa y se establecerán las indicaciones de cada una de las posibilidades terapéuticas.

Conclusiones

La carga de trabajo sobre el tendón produce un daño de distribución e intensidad desigual que pone en marcha mecanismos de regeneración y reparación defectuosos en calidad a nivel de la matriz extracelular, celular y de los procesos bioquímicos por lo que disminuye la tolerancia del tendón al ejercicio físico.

Son necesarios más estudios para ajustar con más precisión para ajustar con más precisión el diagnóstico de la patología tendinosa, definir estrategias y establecer protocolos terapéuticos para conseguir restaurar la histología normal del tendón.

Agradecimientos

Al Dr. Carlos Revilla por sus sabias y maestras indicaciones.

Bibliografía

- De Vos RJ, Weir A, van Schie HT, Bierma-Zeinstra SM, Verhaar JA, Weinans H, et al. Platelet-rich plasma injection for chronic Achilles tendinopathy: a randomized controlled trial. *JAMA*. 2010;303:144.
- Sharma P, Maffulli N. Biology of tendon injury: healing, modeling and remodeling. *J Musculoskelet Neuronal Interact*. 2006;6:181–90.
- Knobloch K, Yoon U, Vogt PM. Acute and overuse injuries correlated to hours of training in master running athletes. *Foot Ankle Int*. 2008;29:671–6.
- Hansen P, Haraldsson BT, Aagaard P, Kovanen V, Avery NC, Qvortrup K, et al. Lower strength of the human posterior patellar tendon seems unrelated to mature collagen cross-linking and fibril morphology. *J Appl Physiol*. 2010;108:47–52.
- Hansen P, Hassenkam T, Svensson RB, Aagaard P, Trappe T, Haraldsson BT, et al. Glutaraldehyde cross-linking of tendon-mechanical effects at the level of the tendon fascicle and fibril. *Connect Tissue Res*. 2009;50:211–22.
- Zhang J, Wang JH. Mechanobiological response of tendon stem cells: Implications of tendon homeostasis and pathogenesis of tendinopathy. *J Orthop Res*. 2010;28:639–43.
- Abate M, Gravare-Silbernagel K, Siljeholm C, Di Iorio A, De Amicis D, Salini V, et al. Pathogenesis of tendinopathies: inflammation or degeneration? *Arthritis Res Ther*. 2009;11:235.
- Clegg PD, Strassburg S, Smith RK. Cell phenotypic variation in normal and damaged tendons. *Int J Exp Pathol*. 2007;88:227–35.
- Collins M, Raleigh SM. Genetic Risk Factors for Musculoskeletal Soft Tissue Injuries. *Med Sport Sci*. 2009;54:136–49.
- Ryan M, Grau S, Krauss I, Maiwald C, Taunton J, Horstmann T. Kinematic analysis of runners with achilles mid-portion tendinopathy. *Foot Ankle Int*. 2009;30:1190–5.
- Rodas G, Bové T, Puigdemívil J, Martínez X, Pedret C, Dalmau A. Lesión de «tennis leg» asociada a rotura parcial del tendón de Aquiles. *Apunts Med Esport*. 2010;165:40–4.
- Marie I, Delafenêtre H, Massy N, Thuillez C, Noblet C. Tendinosis disorders attributed to statins: a study on ninety-six spontaneous reports in the period 1990–2005 and review of the literature. *Arthritis Rheum*. 2008;59:367–72.
- Barge-Caballero E, Crespo-Leiro MG, Paniagua-Martín MJ, Muñoz J, Naya C, Bouzas-Mosquera A, et al. Quinolone-related Achilles tendinopathy in heart transplant patients: incidence and risk factors. *J Heart Lung Transplant*. 2008;27:46–51.
- Pasternak B, Aspenberg P. Metalloproteinases and their inhibitors—diagnostic and therapeutic opportunities in orthopedics. *Acta Orthop*. 2009;80:693–703.
- Hosaka YZ, Takahashi H, Uratsuji T, Tangkawattana P, Ueda H, Takehana K. Comparative study of the characteristics and properties of tendinocytes derived from three tendons in the equine forelimb. *Tissue Cell*. 2010;42:9–17.
- Tsai WC, Hsu CC, Chang HN, Lin YC, Lin MS, Pang JH. Ibuprofen upregulates expressions of matrix metalloproteinase-1, -8, -9, and -13 without affecting expressions of types I and III collagen in tendon cells. *J Orthop Res*. 2010;28:487–91.
- Sendzik J, Shakibaei M, Schäfer-Korting M, Lode H, Stahlmann R. Synergistic effects of dexamethasone and quinolones on human-derived tendon cells. *Int J Antimicrob Agents*. 2010;35:366–74.
- Lui PP, Chan LS, Lee YW, Fu SC, Chan KM. Sustained expression of proteoglycans and collagen type III/type I ratio in a calcified tendinopathy model. *Rheumatology (Oxford)*. 2010;49:231–9.
- Kongsgaard M, Qvortrup K, Larsen J, Aagaard P, Doessing S, Hansen P, et al. Fibril Morphology and Tendon Mechanical Properties in Patellar Tendinopathy: Effects of Heavy Slow Resistance Training. *Am J Sports Med*. 2010;38:749–56.
- Hou Y, Mao Z, Wei X, Lin L, Chen L, Wang H, et al. The roles of TGF-beta1 gene transfer on collagen formation during Achilles tendon healing. *Biochem Biophys Res Commun*. 2009;383:235–9.
- 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;420:286–91.
- Petersen W, Pufe T, Unterhauser F, Zantop T, Mentlein R, Weiler A. The splice variants 120 and 164 of the angiogenic peptide vascular endothelial cell growth factor (VEGF) are expressed during Achilles tendon healing. *Arch Orthop Trauma Surg*. 2003;123:475–80.
- Molloy T, Wang Y, Murrell G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med*. 2003;33:381–94.
- Kjaer M, Langberg H, Heinemeier K, Bayer ML, Hansen M, Holm L, et al. From mechanical loading to collagen synthesis, structural changes and function in human tendon. *Scand J Med Sci Sports*. 2009;19:500–10.
- Tang JB, Xu Y, Wang XT. Tendon healing *in vitro*: activation of NIK, IKKalpha, IKKbeta, and NF-kappa B genes in signal pathway and proliferation of tenocytes. *Plast Reconstr Surg*. 2004;113:1703–11.
- Alfredson H. The chronic painful Achilles and patellar tendon: research on basic biology and treatment. *Scand J Med Sci Sports*. 2005;15:252–9.
- Lui PP, Chan LS, Fu SC, Chan KM. Expression of Sensory Neuropeptides in Tendon Is Associated With Failed Healing and Activity-Related Tendon Pain in Collagenase-Induced Tendon Injury. *Am J Sports Med*. 2010;38:757–64.
- Ackermann PW, Salo PT, Hart DA. Neuronal pathways in tendon healing. *Front Biosci*. 2009;14:5165–87.
- Longo UG, Lamberti A, Maffulli N, Denaro V. Tendon augmentation grafts: a systematic review. *Br Med Bull*. 2010;94:165–88.
- Yin Z, Chen X, Chen JL, Shen WL, Hieu Nguyen TM, Gao L, et al. The regulation of tendon stem cell differentiation by the alignment of nanofibers. *Biomaterials*. 2010;31:2163–75.
- Dorozhkin SV. Bioceramics of calcium orthophosphates. *Biomaterials*. 2010;31:1465–85.
- Inui A, Kokubu T, Makino T, Nagura I, Toyokawa N, Sakata R, et al. Potency of double-layered Poly L-lactic Acid scaffold in tissue engineering of tendon tissue. *Int Orthop*. 2009. [Epub ahead of print].
- Hunt NC, Grover LM. Cell encapsulation using biopolymer gels for regenerative medicine. *Biotechnol Lett*. 2010;32:733–42.

34. Thorfinn J, Saber S, Angelidis IK, Ki SH, Zhang AY, Chong AK, et al. Flexor tendon tissue engineering: temporal distribution of donor tenocytes versus recipient cells. *Plast Reconstr Surg*. 2009;124:2019–26.
35. Salinas CN, Anseth KS. Mesenchymal stem cells for craniofacial tissue regeneration: designing hydrogel delivery vehicles. *J Dent Res*. 2009;88:681–92.
36. Gumina S, Patti AM, Vulcano A, Della Rocca C, Postacchini F. Culture of human rotator cuff cells on orthobiologic support (porcine small intestinal submucosa). *Chir Organi Mov*. 2009;93:565–70.
37. Fujita H, Shimizu K, Yamamoto Y, Ito A, Kamihira M, Nagamori E. Fabrication of scaffold-free contractile skeletal muscle tissue using magnetite-incorporated myogenic C2C12 cells. *J Tissue Eng Regen Med*. 2010. [Epub ahead of print].
38. Funakoshi T, Spector M. Chondrogenic differentiation and lubricin expression of caprine infraspinatus tendon cells. *J Orthop Res*. 2010;28:716–25.
39. Liao M, Liu C, Zhu M, Qin T. Effect of vitreous cryopreservation on in vivo implantation of tissue engineered tendons. *Zhongguo Xiu Fu Chong Jian Wai Ke Za Zhi*. 2009;23:1229–34.
40. Uysal AC, Mizuno H. Tendon Regeneration and Repair with Adipose Derived Stem Cells. *Curr Stem Cell Res Ther*. 2010;5:161–7.
41. Salamon A, Toldy E. Use of mesenchymal stem cells from adult bone marrow for injured tissue repair. *Orv Hetil*. 2009;150:1259–65.
42. Chen X, Song XH, Yin Z, Zou XH, Wang LL, Hu H, et al. Stepwise differentiation of human embryonic stem cells promotes tendon regeneration by secreting fetal tendon matrix and differentiation factors. *Stem Cells*. 2009;27:1276–87.
43. Mishra A, Tummala P, King A, Lee B, Kraus M, Tse V, et al. Buffered platelet-rich plasma enhances mesenchymal stem cell proliferation and chondrogenic differentiation. *Tissue Eng Part C Methods*. 2009;15:431–5.
44. Saber S, Zhang AY, Ki SH, Lindsey DP, Smith L, Riboh J, et al. Flexor Tendon Tissue Engineering: Bioreactor Cyclic Strain Increases Construct Strength. *Tissue Eng Part A*. 2010;16:2085–90.
45. Murphy WL. Temporal and spatial control over soluble protein signaling for musculoskeletal tissue engineering. *Conf Proc IEEE Eng Med Biol Soc*. 2009;1:2103–5.
46. Sahoo S, Ang LT, Cho-Hong Goh J, Toh SL. Bioactive nanofibers for fibroblastic differentiation of mesenchymal precursor cells for ligament/tendon tissue engineering applications. *Differentiation*. 2010;79:102–10.
47. Kinneberg KR, Nirmalanandhan VS, Juncosa-Melvin N, Powell HM, Boyce ST, Shearn JT, et al. Chondroitin-6-sulfate incorporation and mechanical stimulation increase MSC-collagen sponge construct stiffness. *J Orthop Res*. 2010;28:1092–9.
48. Sahoo S, Toh SL, Goh JC. A bFGF-releasing silk/PLGA-based biohybrid scaffold for ligament/tendon tissue engineering using mesenchymal progenitor cells. *Biomaterials*. 2010;31:2990–8.
49. Visser LC, Arnoczky SP, Caballero O, Kern A, Ratcliffe A, Gardner KL. Growth Factor-Rich Plasma Increases Tendon Cell Proliferation and Matrix Synthesis on a Synthetic Scaffold: An In Vitro Study. *Tissue Eng Part A*. 2010;16:1021–9.
50. Li X, Xie J, Lipner J, Yuan X, Thomopoulos S, Xia Y. Nanofiber scaffolds with gradations in mineral content for mimicking the tendon-to-bone insertion site. *Nano Lett*. 2009;7:2763–8.