



apunts

MEDICINA DE L'ESPORT

www.apunts.org



ARTÍCULO ORIGINAL

Generación de un nuevo modelo de tendinopatía rotuliana en ratas que imita la patología deportiva humana: estudio piloto

David Domínguez^{a,*}, Paola Contreras-Muñoz^{b,c}, Silvia Lope^{d,e}, Gil Rodas^{a,c}, Mario Marotta^{b,c}

^a Servicios Médicos, Futbol Club Barcelona, Ciutat Esportiva Joan Gamper, Sant Joan Despí, Barcelona, España

^b Laboratorio de Bioingeniería Ortopédica y Cirugía Pediátrica, Vall d'Hebron Institut de Recerca (VHIR), Hospital Vall d'Hebron, Universitat Autònoma de Barcelona, Barcelona, España

^c Fundació Leitat, Centro Tecnológico Leitat, Terrassa, Barcelona, España

^d Servicio de Resonancia Magnética, Facultat de Medicina, Universitat Autònoma de Barcelona, Bellaterra, Barcelona, España

^e Centro de Investigación Biomédica en Red en Bioingeniería, Biomateriales y Nanomedicina (CIBER-BBN), Cerdanyola del Vallès, Barcelona, España

Recibido el 22 de diciembre de 2016; aceptado el 11 de enero de 2017

PALABRAS CLAVE

Tendón;
Modelo;
Colagenasa

Resum

Introducción: La fisiopatología de la tendinopatía rotuliana no es del todo conocida. Es difícil obtener muestras clínicas de deportistas que permitan conocer el desarrollo de la tendinopatía, sobre todo en las primeras etapas. Por este motivo, el propósito de este estudio es desarrollar, en una primera fase, un modelo experimental de tendinopatía rotuliana en ratas que simule la tendinopatía humana mediante la aplicación in vivo de colagenasa en la porción proximal del tendón rotuliano.

Material y métodos: El modelo experimental utilizado fueron ratas Wistar macho de 8 semanas de edad (n = 4). La administración de colagenasa se realizó, tras anestesia e inmovilización de los animales, mediante punción guiada por ecografía a nivel de la porción proximal y profunda del tendón rotuliano. La lesión tendinosa se evaluó 48 h después de la lesión mediante resonancia magnética, tras lo cual se procedió a la eutanasia de los animales y a la extracción de los tendones rotulianos para su evaluación histológica.

Resultados: El modelo de lesión inducida con colagenasa demostró similitud a nivel de la histología con la tendinopatía rotuliana humana en la región de su inserción proximal.

Conclusiones: El modelo experimental de tendinopatía rotuliana en ratas induce la degeneración y distorsión de la arquitectura del tendón rotuliano en su porción proximal, situación similar a la observada en la tendinopatía rotuliana humana, y representa un excelente modelo preclínico para el estudio de nuevas terapias enfocadas al tratamiento de la tendinopatía.

© 2017 Consell Català de l'Esport. Generalitat de Catalunya. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Todos los derechos reservados.

*Autor para correspondencia.

Correo electrónico: david.dominguez@fcbarcelona.cat (D. Domínguez)

KEYWORDS

Tendon;
Model;
Collagenase

Generation of a new model of patellar tendinopathy in rats which mimics the human sports pathology: A pilot study

Abstract

Introduction: Patellar tendon pathophysiology is not still fully understood. The collection of clinical samples from athletes that could permit the analysis of the tendinopathy progression, especially in the early stages, is difficult. For that reason, the purpose of this study is to develop a new experimental animal model of patellar tendinopathy in rats which mimics the human tendinopathy by in vivo intratendinous collagenase injection in the proximal portion of the patellar tendon.

Material and methods: The experimental model used was 8-week-old male Wistar rats (n = 4). The administration of collagenase was performed by ultrasound-guided puncture at the level of the proximal and deep portion of the patellar tendon in anesthetized animals. The tendon lesion was evaluated 48 h after injury by magnetic resonance and then, the animals were euthanized and the patellar tendons were collected for histological evaluation.

Results: The collagenase-induced lesion model demonstrated important similarities with the human patellar tendinopathy in the region of the proximal insertion.

Conclusions: The experimental model of patellar tendinopathy in rat model induces a degeneration and distortion of the patellar tendon architecture in its proximal portion, which closely mimics to that seen in human patellar tendinopathy, and could represent an excellent preclinical model for the study of new therapies focused on treatment of tendinopathy.

© 2017 Consell Català de l'Esport. Generalitat de Catalunya. Published by Elsevier España, S.L.U. All rights reserved.

Introducción

La tendinopatía rotuliana fue descrita por primera vez por Blazina en 1973 como «rodilla del saltador»¹. Es una patología frecuente que afecta a la inserción proximal del tendón rotuliano y es una de las formas más comunes de tendinopatía crónica en deportistas². Aunque se han propuesto numerosas teorías, las causas de la fisiopatología de la tendinopatía rotuliana todavía son poco conocidas^{3,4}.

Cook y Purdam⁵ propusieron un modelo basado en el continuum de la patología tendinosa. Este modelo considera 3 fases que pueden sobreponerse e interconectarse a lo largo del tiempo: tendinopatía reactiva, deterioro del tendón (fallo del proceso de cicatrización) y tendinopatía degenerativa. Este modelo propone que la carga de trabajo del tendón desempeña un papel esencial al inicio y en la progresión de la tendinopatía⁵. Los resultados que se encuentran comúnmente en deportistas son una tendinopatía degenerativa, caracterizada por un aumento de la matriz no colágena (proteoglicanos), degeneración mucoide con fibrosis variable, neovascularización y aumento de la celularidad debida a los fibroblastos⁶. Por otro lado, Fu et al.⁷ también propusieron un modelo de tres etapas caracterizado por una lesión inicial, un proceso de cicatrización y una manifestación clínica ineficaz. A pesar de la importancia clínica de la tendinopatía, su fisiopatología y evolución clínica siguen siendo poco conocidas, lo que restringe las intervenciones terapéuticas. El avance en el conocimiento y la comprensión de la evolución clínica de la tendinopatía presenta importantes limitaciones, no solo en los obstáculos para obtener muestras de tejido humano de deportistas, sino también debido a que estas muestras representan solo las etapas finales de los procesos patológicos con un inicio

y duración no revelados⁸⁻¹⁰. Por esta razón, se han propuesto varios modelos animales para el estudio de la tendinopatía, aunque sus similitudes con la tendinopatía humana y su idoneidad para estudiar la fisiopatología del tendón rotuliano todavía son controvertidos¹¹⁻¹³.

Se han descrito varios modelos animales para estudiar la tendinopatía rotuliana, como las lesiones del tendón inducidas quirúrgicamente¹⁴⁻²², inyección intratendinosa de collagenasa²³⁻³¹, por administración de sustancias biológicas^{32,33} o inducida por sobrecarga³⁴⁻³⁶. Sin embargo, la mayoría de ellos se utilizan para verificar los abordajes terapéuticos y solo unos pocos se usan para describir los mecanismos patológicos de la tendinopatía rotuliana. Por esta razón, el presente trabajo propone la creación de un nuevo modelo animal capaz de reproducir la tendinopatía rotuliana de la porción proximal profunda que se observa comúnmente en deportistas. Este modelo podría permitirnos estudiar y comprender la evolución patológica de la tendinopatía en su porción proximal, así como evaluar la efectividad de nuevas intervenciones terapéuticas para fomentar los procesos de regeneración del tendón rotuliano.

Material y métodos**Animales**

El modelo animal experimental utilizado fueron ratas Wistar macho de 8 semanas (Harlan). Se usaron un total de 4 animales. Las ratas se mantuvieron a 22-24 °C en ciclos de 12 h de luz/oscuridad, con acceso sin límite a comida y agua. Todos los procedimientos se llevaron a cabo de acuerdo con las legislaciones española (Real Decreto 53/2013) y



Figura 1 Modelo de lesión basado en la aplicación de colagenasa. Se administró una dosis de colagenasa en la porción proximal profunda del tendón rotuliano con infiltración guiada por ultrasonido (*).

europaea (2010/63/EU) y aprobados por el Departament d'Agricultura, Ramaderia, Pesca, Alimentació i Medi Natural del Gobierno Catalán (Generalitat de Catalunya).

Modelo de lesión basado en la colagenasa

Los animales fueron anestesiados mediante inyección intraperitoneal de una mezcla de ketamina (75 mg/kg) y xilazina (10 mg/kg) y colocados en posición supina, con la articulación de la rodilla izquierda hacia arriba, antes del procedimiento quirúrgico. El proceso quirúrgico de producción de la lesión del tendón rotuliano se ilustra en la figura 1. La articulación de la rodilla se rasuró previamente y se esterilizó con alcohol al 70%. La lesión del tendón se generó mediante inyección guiada por ultrasonido de una solución de colagenasa al 10% disuelta en solución salina previamente filtrada para esterilización con un filtro de 0,22 μ m (Nalge-ne), usando una aguja de 29 G (0,33 mm de diámetro interno). La intervención se realizó en el lado anterior de la rodilla, insertando la aguja en la porción proximal del tendón hasta llegar a las fibras profundas. Una vez en el área seleccionada, se liberaron 20 μ l de solución de colagenasa en el área de inserción proximal del tendón (fig. 1). Después de la intervención quirúrgica, se administró analgesia posquirúrgica (buprenorfina 0,01 mg/kg) por vía subcutánea a todos los animales. Nuestro estudio siguió los estándares éticos en el deporte y la investigación en ciencias del deporte³⁷.

Análisis mediante resonancia magnética

Se realizaron estudios de resonancia magnética ¹H *in vivo* en la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB, Barcelona, España) usando BioSpec 70/30 USR (7T) de Bruker (Bruker BioSpin GmbH, Ettlingen, Alemania) con un miniequipo de resonancia con gradiente (400 mT/m) y una bobina transceptora de cuadratura de 72 mm de diámetro interno.

Las ratas se colocaron en un lecho, lo que permitió el suministro de anestesia (isoflurano, 1,5-2,0% en O₂ a 1 l/min), con un circuito de agua caliente integrado para la regulación de la temperatura corporal. La temperatura corporal se midió con una sonda rectal y se mantuvo a 37 \pm 1 °C. Se controló la frecuencia respiratoria con una sonda de presión y se mantuvo entre 60 y 80 respiraciones/min. Se obtuvieron inicialmente imágenes rápidas de eco de espín de baja resolución, calibradas en T2, en planos axial, sagital y coronal para ser utilizadas como imágenes scout de referencia. Los parámetros de imagen de estas imágenes fueron: tiempo de eco efectivo (TE_{eff}) = 36 ms; tiempo de repetición (TR) = 3 s; longitud del tren de ecos (ETL) = 8; campo de visión (FOV) = 6 \times 6 cm²; tamaño de la matriz (MTX) = 128 \times 128; grosor de corte (ST) = 2 mm; separación entre cortes (gap) = 0,5 mm; número de cortes de imágenes (NS) = 25 axiales, 10 sagitales, 11 coronales; número de medias (NA) = 1. Se obtuvieron imágenes de eco de espín rápido de alta resolución en T2 en planos sagitales que contenían la lesión y el lado contralateral. Los parámetros ex-



Figura 2 Durante las pruebas de resonancia magnética se controló la temperatura y la frecuencia cardíaca a los animales anestesiados. Se obtuvieron imágenes sagitales en alta resolución de secuencias rápidas de eco de espín ponderadas en T2 de los tendones lesionado rotuliano y contralateral.

perimentales de estas imágenes fueron: $TE_{eff} = 30$ ms; $TR = 4$ s; $ETL = 8$; $FOV = 3,2 \times 3,2$ cm²; $MTX = 256 \times 256$; $ST = 1$ mm; $gap = 0,1$ mm; $NS = 18$; $NA = 12$; tiempo experi-

mental = 25 min 36 s. Los datos de resonancia magnética se obtuvieron y fueron procesados en un ordenador con el sistema operativo Linux mediante el software Paravision 5.1 (Bruker BioSpec GmbH, Ettlingen, Alemania) (fig. 2).

Análisis histológico

Los animales fueron sacrificados 7 días después de la lesión mediante la administración intraperitoneal de una sobredosis de ketamina (75 mg/kg) y xilazina (10 mg / kg). Inmediatamente se extrajeron los tendones de ambas piernas desde la rótula a la inserción de la tibia, incluyendo la almohadilla grasa de Hoffa. Las muestras se congelaron en 2-metilbutano (Alfa Aesar, Johnson Matthey Company, Karlsruhe, Alemania) previamente sobreenfriadas en nitrógeno líquido y almacenadas a -80 °C hasta su uso. Las muestras de tendón se seccionaron longitudinalmente (10 μ m de espesor) utilizando un criotomo (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania) a -20 °C y se montaron en un portaobjetos de Polilisina® (VWR, Lovaina, Bélgica). Para el análisis histológico se utilizaron secciones consecutivas de tendones congelados. Se realizó la tinción de las muestras con hematoxilina-eosina (1 min de hematoxilina y 15 s de eosina), se lavaron con agua y se deshidrataron con soluciones de gradiente de etanol (1 \times 50% de etanol, 2 \times 70% de etanol, 2 \times 90% de etanol, 2 \times 100% de etanol, 1 min cada uno) y se aclararon con xileno (5 s). Después del secado con aire, los portaobjetos se montaron con un medio DPX y un cubreobjetos (VWR, Madrid, España). Se obtuvieron microfotografías a través de un microscopio BX-61 (Olympus) equipado con una cámara DP72 (Olympus) y el software de tratamiento digital de imágenes CellSens® (versión 1.9).



Figura 3 Estudio comparativo mediante resonancia magnética. No se encontraron diferencias en la estructura del tendón rotuliano sano (A) y el tendón lesionado (B).

Resultados

Análisis de la lesión del tendón rotuliano mediante resonancia magnética

Se compararon imágenes sagitales mediante resonancia magnética de tendones rotulianos sanos y lesionados. No se detectaron diferencias de alineamiento o grosor de las fibras tendinosas a lo largo del tejido del tendón. Se observó edema difuso que afectaba principalmente a las estructuras articulares y musculares (fig. 3).

Análisis macroscópico de la lesión del tendón

Se encontraron diferencias macroscópicas manifiestas entre tendones sanos y lesionados. Así, el tendón sano evidenciaba un color blanco brillante e intenso y una fuerte consistencia, mientras que el tendón lesionado presentaba un color marrón amarillento y una apariencia gelatinosa. Se observó que los tejidos periarticulares, principalmente los músculos esqueléticos adyacentes, presentaban cambios de color y consistencia (fig. 4).

Análisis histológico del tendón rotuliano

El tendón contralateral sano mostró un aspecto uniforme, presentando fibras de colágeno compactas y bien alineadas. Los tenocitos mostraron forma de huso y se localizaron en paralelo a la muestra de fibras tendinosas. La estructura de la grasa de Hoffa mostró características normales. Por el contrario, en el tendón lesionado se observó claramente una degeneración de la estructura de la fibra de colágeno, mostrando también una estructura ondulada evidente y espacios vacíos entre los haces de fibras adyacentes al nivel del tercio proximal del tendón rotuliano. También se observó una fragmentación parcial de las fibras del tendón en el lugar de la inyección. Asimismo, se detectó una clara desorganización del tejido graso de Hoffa, lo que sugiere su afectación y alteración como consecuencia de la administración de colagenasa (fig. 5).

Discusión

El principal hallazgo del presente estudio fue la demostración de la similitud de las alteraciones estructurales del



Figura 4 Análisis macroscópico. Comparación del tendón sano (izquierda) y del lesionado (derecha). El tendón lesionado es de un color marrón amarillento y de una apariencia gelatinosa (flecha y cabeza de flecha).

tendón rotuliano de la rata, tratado con colagenasa, caracterizado por la desorganización de las fibras de colágeno y estructuras adyacentes, con respecto a la tendinopatía rotuliana observada en la clínica de los humanos. Estos resultados sugieren que la administración de una única dosis de colagenasa infiltrada guiada por ecografía es eficaz para reproducir exactamente los cambios estructurales en la integridad de la región proximal del tendón rotuliano de la tendinopatía rotuliana humana.

Por primera vez, se generó un modelo animal que imita la degeneración del tejido tendinoso en el lugar anatómico más común observado en la tendinopatía rotuliana humana. Se han desarrollado otros modelos animales de tendinopatía para inducir la degeneración tisular en la parte media del tercio del tendón rotuliano a través de una «ventana» creada quirúrgicamente¹⁴⁻²². Este mecanismo de lesión no reproduce la lesión detectada en clínica humana, ya que los defectos creados quirúrgicamente se generan en áreas tendinosas distintas al sitio más común donde se produce la patología tendinosa, por lo que se plantea la hipótesis que los mecanismos de reparación del tendón de estos modelos no reproducen la patología del tendón sometido a cargas de

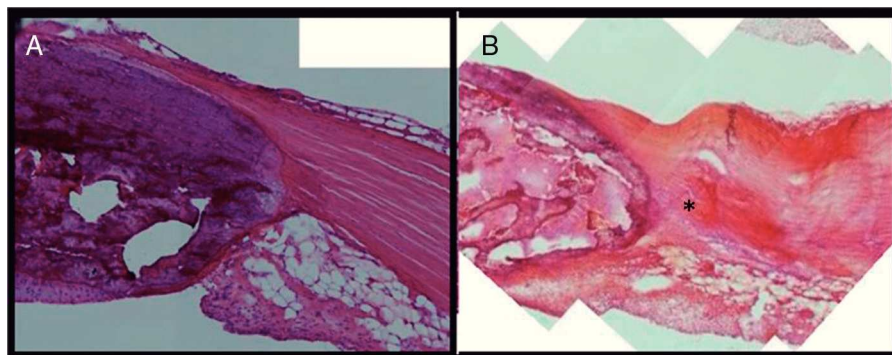


Figura 5 Estudio histológico comparativo del tendón sano (A) y del lesionado (B). El tendón lesionado presenta degeneración de la estructura del colágeno en el lugar de la punción (*).

trabajo repetitivas^{35,38}. Nuestro modelo está dirigido a imitar la degeneración de las fibras proximales profundas, ya que tanto la biomecánica como la relación de la región proximal del tendón rotuliano con las estructuras adyacentes, principalmente con la almohadilla grasa de Hoffa, son importantes, no solo para el desarrollo de la tendinopatía, sino también en los procesos de cicatrización del tendón^{39,40}.

Se considera que la carga de trabajo excesiva del tendón durante un entrenamiento físico intenso es la causa principal de la degeneración patológica⁴¹. Por esta razón, se ha utilizado el entrenamiento como modelo para inducir la tendinopatía rotuliana^{36,42,43}. El principal inconveniente de esta técnica se basa en la necesidad de pasar un largo período de tiempo en entrenar a los animales con el fin de desarrollar los cambios patológicos característicos de la tendinopatía rotuliana humana. En nuestra opinión, sería interesante crear un modelo combinado de degeneración del tendón rotuliano basado en una lesión inicial mediante inyección intratendinosa a base de colagenasa en la región proximal profunda seguida de un período de entrenamiento físico intenso con el fin de inducir más rápidamente la degeneración patológica característica del tendón rotuliano. Datos previos reportados en modelos de tendinopatía de Aquiles generados por la administración de colagenasa peritendinosa guiada por ecografía sugieren que la administración de colagenasa puede conducir a tendinopatía en ratas y que la elastasa también podría estar implicada en el desarrollo de tendinopatía crónica⁴⁴.

En nuestro estudio existen algunas limitaciones. La primera es la pequeña cantidad de animales ($n = 4$) utilizada en el estudio. En segundo lugar, debería optimizarse la dosis de colagenasa para reproducir exactamente los cambios característicos en la tendinopatía rotular humana y prevenir el daño colateral de estructuras adyacentes al tendón. Perucca Orfei et al.⁴⁵ generaron un modelo en el tendón de Aquiles de los ratones que reproduce estrechamente los cambios histológicos observados en la tendinopatía de Aquiles en humanos. Evaluaron el efecto de dos dosis de colagenasa administrada intratendinosa (1 y 3 mg/ml). Aunque ambas dosis indujeron a la desorganización de las fibras de colágeno y al aumento de la celularidad, el tratamiento con mayor dosis de colagenasa pudo inducir una mayor neovascularización y degeneración de la grasa, siendo también cambios dependientes del tiempo. En nuestro estudio estos cambios no se observaron, ya que el tiempo transcurrido desde la administración de colagenasa al análisis de tendones fue más corto. Además, Perucca Orfei et al. presentaron el tendón mediante una incisión longitudinal de la piel, mientras que nosotros utilizamos una técnica mínimamente invasiva basada en la aplicación de colagenasa guiada por ecografía para inducir tendinopatía en la región de las fibras proximales profundas específicas del tendón rotuliano con la perturbación mínima de las estructuras y tejidos de la articulación de la rodilla. Además, nuestro análisis realizado por resonancia magnética demuestra que el efecto de la colagenasa no se localiza exclusivamente a nivel del tendón, sino que también podría afectar a las estructuras periarticulares, circunstancia que no se ha discutido en estudios anteriores.

En resumen, nuestro estudio sugiere que la administración de una solución de colagenasa guiada por ecografía en

la región proximal profunda del tendón rotuliano podría constituir un modelo coherente para reproducir la degeneración y los cambios habitualmente vistos en la tendinopatía rotuliana en humanos. Este nuevo modelo también nos permitirá desarrollar nuevas terapias dirigidas a mejorar y curar la tendinopatía rotuliana como un paso previo para iniciar ensayos clínicos en pacientes humanos.

Financiación

Este artículo no ha contado con ninguna fuente de financiación.

Conflicto de intereses

Los autores declaran que no tienen ningún conflicto de intereses directamente relacionado con el contenido de este artículo.

Agradecimientos

Los autores agradecen al Departament de Cirurgia de la Facultat de Medicina de la Universitat Autònoma de Barcelona (UAB). En el momento de la redacción de este estudio, David Domínguez era estudiante de doctorado de la UAB y este trabajo forma parte de su tesis doctoral realizada en dicho departamento bajo la dirección y supervisión del Dr. Gil Rodas y el Dr. Mario Marotta.

Bibliografía

- Blazina ME, Kerlan RK, Jobe FW, Carter VS, Carlson GJ. Jumper's knee. *Orthop Clin North Am.* 1973;4:665-78.
- Hamilton B, Purdam C. Patellar tendinosis as an adaptive process: A new hypothesis. *Br J Sports Med.* 2004;38:758-61.
- Astrom M. On the nature and etiology of chronic Achilles tendinopathy [tesis]. Lund, Suecia: University of Lund; 1997.
- Kvist M. Achilles tendon overuse injuries: A clinical and pathophysiological study in athletes [tesis]. Turku, Finlandia: University of Turku; 1991.
- Cook JL, Purdam CR. Is tendon pathology a continuum? A pathology model to explain the clinical presentation of load-induced tendinopathy. *Br J Sports Med.* 2009;43:409-16.
- Khan KM, Cook JL, Bonar F, Harcourt P, Astrom M. Histopathology of common tendinopathies. Update and implications for clinical management. *Sports Med.* 1999;27:393-408.
- Fu SC, Rolf C, Cheuk YC, Lui PP, Chan KM. Deciphering the pathogenesis of tendinopathy: A three-stages process. *Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol.* 2010;2:30.
- Williams IF, McCullagh GD, Goodship AE, Silver IA. Studies on the pathogenesis of equine tendinitis following collagenase injury. *Res Vet Sci.* 1984;36:326-38.
- Stone D, Green C, Rao U, Aizawa H, Yamaji T, Niyibizi C, et al. Cytokine-induced tendinitis: A preliminary study in rabbits. *J Orthop Res.* 1999;17:168-77.
- Soslowsky LJ, Carpenter JE, DeBano CM, Banerji I, Moalli MR. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. *J Shoulder Elbow Surg.* 1996;5:383-92.
- Warden SJ. Animal models for the study of tendinopathy. *Br J Sports Med.* 2007;41:232-40.

12. Lake SP, Ansoorge HL, Soslowky LJ. Animal models of tendinopathy. *Disabil Rehabil.* 2008;30:1530-41.
13. Warden SJ. Development and use of animal models to advance. *Front Biosci (Landmark Ed).* 2009;14:4588-97.
14. Lui PP, Wong OT, Lee YW. Transplantation of tendon-derived stem cells pre-treated with connective tissue growth factor and ascorbic acid in vitro promoted better tendon repair in a patellar tendon window injury rat model. *Cytotherapy.* 2016;18:99-112, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jcyt.2015.10.005>
15. Tan C, Lui PP, Lee YW, Wong YM. Scx-transduced tendon-derived stem cells (TDSCs) promoted better tendon repair compared to mock-transduced cells in a rat patellar tendon window injury model. *PLoS One.* 2014;9:e97453, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0097453>. eCollection2014
16. Hettrich CM, Gasinu S, Beamer BS, Stasiak M, Fox A, Birmingham P, et al. The effect of mechanical load on tendon-to-bone healing in a rat model. *Am J Sports Med.* 2014;42:1233-41, <http://dx.doi.org/10.1177/0363546514526138>
17. Xu W, Wang Y, Liu E, Sun Y, Luo Z, Xu Z, et al. Human iPSC-derived neural crest stem cells promote tendon repair in a rat patellar tendon window defect model. *Tissue Eng Part A.* 2013;19:2439-51, <http://dx.doi.org/10.1089/ten.TEA.2012.0453>
18. Ni M, Lui PP, Rui YF, Lee YW, Lee YW, Tan Q, et al. Tendon-derived stem cells (TDSCs) promote tendon repair in a rat patellar tendon window defect model. *J Orthop Res.* 2012;30:613-9, <http://dx.doi.org/10.1002/jor.21559>
19. Lui PP, Cheuk YC, Lee YW, Chan KMJ. Ectopic chondro-ossification and erroneous extracellular matrix deposition in a tendon window injury model. *Orthop Res.* 2012;30:37-46, <http://dx.doi.org/10.1002/jor.21495>
20. Ouyang HW, Goh JC, Lee EH. Viability of allogeneic bone marrow stromal cells following local delivery into patella tendon in rabbit model. *Cell Transpl.* 2004;13:649-57.
21. Lui PP, Chan LS, Cheuk YC, Lee YW, Chan KM. Expression of bone morphogenetic protein-2 in the chondrogenic and ossifying sites of calcific tendinopathy and traumatic tendon injury rat models. *J Orthop Surg Res.* 2009;4:27, <http://dx.doi.org/10.1186/1749-799X-4-27>
22. Chan BP, Fu S, Qin L, Lee K, Rolf CG, Chan K. Effects of basic fibroblast growth factor (bFGF) on early stages of tendon healing: A rat patellar tendon model. *Acta Orthop Scand.* 2000;71:513-8.
23. González JC, López C, Álvarez ME, Pérez JE, Carmona JU. Autologous leukocyte-reduced platelet-rich plasma therapy for Achilles tendinopathy induced by collagenase in a rabbit model. *Sci Rep.* 2016;6:19623, <http://dx.doi.org/10.1038/srep19623>
24. Machova Urdzikova L, Sedlacek R, Suchy T, Amemori T, Ruzicka J, Lesny P, et al. Human multipotent mesenchymal stem cells improve healing after collagenase tendon injury in the rat. *Bio-med Eng Online.* 2014;13:42, <http://dx.doi.org/10.1186/1475-925X-13-42>
25. Lui PP, Lee YW, Wong YM, Zhang X, Dai K, Rolf CG. Expression of Wnt pathway mediators in metaplastic tissue in animal model and clinical samples of tendinopathy. *Rheumatology.* 2013 Sep;52:1609-18.
26. 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 preclinical study on a murine model. *Eur J Radiol.* 2013;82:e823-8, <http://dx.doi.org/10.1016/j.ejrad.2013.06.012>
27. Lui PP, Wong Y. Higher BMP/Smad sensitivity of tendon-derived stem cells (TDSCs) isolated from the collagenase-induced tendon injury model: Possible mechanism for their altered fate in vitro. *BMC Musculoskelet Disord.* 2013;14:248, <http://dx.doi.org/10.1186/1471-2474-14-248>
28. Dallaudière B, Lempicki M, Pesquer L, Louedec L, Preux PM, Meyer P, et al. Efficacy of intra-tendinous injection of platelet-rich plasma in treating tendinosis: comprehensive assessment of a rat model. *Eur Radiol.* 2013;23:2830-7, <http://dx.doi.org/10.1007/s00330-013-2926-7>
29. Rui YF, Lui PP, Wong YM, Tan Q, Chan KM. Altered fate of tendon-derived stem cells isolated from a failed tendon-healing animal model of tendinopathy. *Stem Cells Dev.* 2013;22:1076-85, <http://dx.doi.org/10.1089/scd.2012.0555>
30. 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, <http://dx.doi.org/10.1177/0363546509355402>
31. Fu SC, Chan KM, Chan LS, Fong DT, Lui PY. The use of motion analysis to measure pain-related behaviour in a rat model of degenerative tendon injuries. *J Neurosci Methods.* 2009;179:309-18, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jneumeth.2009.02.011>
32. Ferry ST, Afshari HM, Lee JA, Dahners LE, Weinhold PS. Effect of prostaglandin E2 injection on the structural properties of the rat patellar tendon. *Sports Med Arthrosc Rehabil Ther Technol.* 2012;4:2, <http://dx.doi.org/10.1186/1758-2555-4-2>
33. Khan MH, Li Z, Wang JH. Repeated exposure of tendon to prostaglandin-E2 leads to localized tendon degeneration. *Clin J Sport Med.* 2005.
34. Andarawis-Puri N, Sereysky JB, Jepsen KJ, Flatow EL. The relationships between cyclic fatigue loading, changes in initial mechanical properties, and the in vivo temporal mechanical response of the rat patellar tendon. *J Biomech.* 2012;45:59-65, <http://dx.doi.org/10.1016/j.jbiomech.2011.10.008>
35. Andarawis-Puri N, Sereysky JB, Sun HB, Jepsen KJ, Flatow EL. Molecular response of the patellar tendon to fatigue loading explained in the context of the initial induced damage and number of fatigue loading cycles. *J Orthop Res.* 2012;30:1327-34, <http://dx.doi.org/10.1002/jor.22059>
36. Kaux JF, Drion P, Libertiaux V, Colige A, Hoffmann A, Nusgens B, et al. Eccentric training improves tendon biomechanical properties: A rat model. *J Orthop Res.* 2013;31:119-24.
37. Harriss DJ, Atkinson G. Ethical standards in sport and exercise science research: 2014 update. *Int J Sports Med.* 2013;34:1025-8.
38. Iwuagwu FC, McGrouther DA. Early cellular response in tendon injury: The effect of loading. *Plast Reconstr Surg.* 1998;102:2064-71.
39. Dillon EM, Erasmus PJ, Müller JH, Scheffer C, de Villiers RV. Differential forces within the proximal patellar tendon as an explanation for the characteristic lesion of patellar tendinopathy: An in vivo descriptive experimental study. *Am J Sports Med.* 2008;36:2119-27, <http://dx.doi.org/10.1177/0363546508319311>
40. Haraldsson BT, Aagaard P, Krogsgaard M, Alkjaer T, Kjaer M, Magnusson SP. Region-specific mechanical properties of the human patella tendon. *J Appl Physiol (1985).* 2005;98:1006-12.
41. Selvanetti A, Cipolla M, Puddu G. Overuse tendon injuries: basic science and classification. *Oper Tech Sports Med.* 1997;5:110-7.
42. Sereysky JB, Andarawis-Puri N, Jepsen KJ, Flatow EL. Structural and mechanical effects of in vivo fatigue damage induction on murine tendon. *J Orthop Res.* 2012;30:965-72.
43. Fung DT, Wang VM, Andarawis-Puri N, Basta-Pljakic J, Li Y, Laidier DM, et al. Early response to tendon fatigue damage accumulation in a novel in vivo model. *J Biomech.* 2010;43:274-9.
44. Wu Y-T, Wu P-T, Jou I-M. Peritendinous elastase treatment induces tendon degeneration in rats: A potential model of tendinopathy in vivo. *J Orthop Res.* 2016;34:471-7, <http://dx.doi.org/10.1002/jor.23030>
45. Perucca Orfei C, Lovati AB, Viganò M, Stanco D, Bottagisio M, Di Giancamillo A, et al. Dose-related and time-dependent development of collagenase-induced tendinopathy in rats. *PLoS One.* 2016;11:e0161590, <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0161590>. eCollection