

SPIS TREŚCI

Badanie 1

ANALIZA PRZYCZEPNOŚCI I PROLIFERACJI KOMÓREK ŚCIĘGNA PODDANYCH DZIAŁANIU PREPARATU CIGNON, PRZEPROWADZONA DZIĘKI WYKORZYSTANIU NASTĘPUJĄCYCH TECHNIK: MIKROSKOPII ELEKTRONOWEJ, IMMUNOFLUORESCENCJI I ANALIZY WESTERN BLOT

3

Badanie 2

BADANIE WPŁYWU PREPARATU CIGNON NA STAN ZDROWIA PACJENTÓW Z URAZAMI ŚCIĘGNA ACHILLESA, ŚCIĘGNA MIĘSNIA NADGRZEBIENIOWEGO, ROZCIĘGNA PODESZWOWEGO I „ZESPOŁEM ŁOKCIA TENISISTY”

14

Badanie 3

WPŁYW PREPARATU CIGNON NA STAN ZDROWIA SPRTOWCÓW Z RÓŻNYMI URAZAMI ŚCIĘGIEN

18



Badanie 1

WPŁYW PREPARATU CIGNON NA STAN ZDROWIA OSÓB Z ZAPALENIEM ŚCIĘGIEN

ANALIZA PRZYCZEPNOŚCI I PROLIFERACJI KOMÓREK ŚCIĘGNA PODDANYCH DZIAŁANIU PREPARATU CIGNON, PRZEPROWADZONA DZIĘKI WYKORZYSTANIU NASTĘPUJĄCYCH TECHNIK: MIKROSKOPII ELEKTRONOWEJ, IMMUNOFLUORESCENCJI I ANALIZY WESTERN BLOT

1. PROF. MEHDI SHAKIBAEI / CONSTANZE CSAKI 2. ALI MOBASHERI

1. MUSCULOSKELATAL RESERCH GROUP, INSTITUTE OF ANATOMY, LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITAT MUNICHEN, PETTENKOFERSTRASS 11, 80336, MUNICH, GERMANY.

2. DIVISION OF VETERINARY MEDICINE, UNIVERSITY OF NOTTINGHAM, SUTTON BONINGTON CAMPUS, LE12 5RD, UNITED KINGDOM.

WPROWADZENIE

Liczne badania potwierdziły, że kości oraz tkanki miękkie, takie jak więzadła i ścięgna mają ograniczoną zdolność do samo regeneracji, w szczególności u osób dorosłych.

Ścięgna są cylindrycznymi, podłużnymi strukturami anatomicznymi, odpowiedzialnymi za przyłączenie mięśni do szkieletu. Zbudowane są z tkanki łącznej włóknistej (utworzonej głównie poprzez równoległe włókna kolagenowe), która odpowiada za dostosowanie się ścięgna do jednokierunkowego napięcia.

Zmniejszone unaczynienie tych tkanek jest jedną z przyczyn tak długiego okresu leczenia ścięgien i więzadeł. Zadaniem tenocytów – najliczniejszej grupy komórek budujących ścięgna jest zachowanie struktury macierzy poprzez reakcje syntezy i degradacji. Ścięgna mają jednak stosunkowo niską gęstość komórek i wykazują niewielką aktywność mitotyczną, co tłumaczy ograniczone tempo zmian zachodzących w tkankach. Pojawia się również pytanie, czy komórki te mają wpływ na wewnętrzną odbudowę ścięgna.

Urazy ścięgien są najczęstszym rodzajem urazów ortopedycznych. Każdego roku w Stanach Zjednoczonych diagnozowanych jest około 100,000 przypadków urazów ścięgna Achillesa. Mogą one mieć wiele różnych przyczyn, takich jak: kontuzje sportowe, wypadki, infekcje bakteryjne, niewłaściwa postawa, choroby zwyrodnieniowe stawów i wiele innych. Zbyt krótkie leczenie, długi okres rehabilitacji i wysoka częstotliwość nawrotów choroby powodują, że urazy ścięgien są trudne do wyleczenia.

Wyniki badań in vitro przeprowadzone na ludzkich tenocytach na Uniwersytecie Ludwik-Maximilians w Monachium (Niemcy) wykazały, że preparat CIGNON, działa poprzez zwiększenie proliferacji tenocytów - komórek, odpowiadających za produkcję macierzy zewnątrzkomórkowej, a tym samym proteoglikanów i kolagenu typu I. W badaniu tym wykorzystano czynnik wzrostu jako kontrolę pozytywną a zachowanie tenocytów analizowano przez 10 dni. Badanie wykazało, że CIGNON przyspiesza proces leczenia ścięgien poprzez zwiększenie tempa regeneracji tenocytów.

CEL BADAŃ

Ocena potencjalnego wpływu CIGNON na regenerację i poprawę stanu ścięgien u badanych osób.

OPIS DOŚWIADCZENIA

- Dawki preparatu: 225, 1110, 1660 [$\mu\text{g/ml}$]; kontrola pozytywna: IGF – 1,10 ng/ml
- Rodzaje kultur: ludzkie tenocyty in vitro

RODZAJE PRZEPROWADZONYCH BADAŃ:

1. ANALIZA PRZYCZEPNOŚCI I PROLIFERACJI

- Kontrola: kompletna pożywka hodowlana pozbawiona surowicy
- Metoda: ludzkie eksplanty ścięgien (3 – 5 mm) hodowano w kolbie z pożywką. Po upływie 1 – 2

godzin, tenocyty zaczęły migrować z tkanki i przylegać do powierzchni tworząc monowarstwę. Powstałą w ten sposób monowarstwę pasażowano kilka razy w celu uzyskania odpowiedniej gęstości tenocytów.

Na płytkach zaszczerpiono po 15,000 tenocytów i inkubowano z CIGNON przez okres 10 dni.

W teście przyczepności i proliferacji tenocyty liczono ręcznie.

POWTÓRZENIA: 3 stężenia CIGNON, 2 pacjentów (jedno z badań przeprowadzono w Monachium, drugie w Berlinie) w trzech powtórzeniach.

2. BADANIE PRZEPROWADZONE DZIĘKI WYKORZYSTANIU TRANSMISYJNEGO MIKROSKOPU ELEKTRONOWEGO (TEM).

Na płytkach Petriego zaszczerpiono po 100,000 tenocytów i inkubowano w pożywce hodowlanej do momentu, aż komórki pokryły całą powierzchnię płytki. Komórki inkubowano z preparatem CIGNON przez jedną godzinę a następnie przygotowano preparat możliwy do obejrzenia pod mikroskopem elektronowym. Próbką została wykorzystana do oceny stanu komórek (apoptozy, itp.) poddanych działaniu związków wchodzących w skład preparatu CIGNON.

3. OCENA EKSPRESJI KOLAGENU TYPU I β 1-INTEGRYNY

Doświadczenie przeprowadzono na kulturach jednowarstwowych, umieszczonych na płytkach w ilości 5,000 tenocytów na jednej. Detekcja możliwa była dzięki wykorzystaniu przeciwciał anty – kolagenowych typu I (Chemicon, pAb) oraz przeciwciał anty – integrynowych 1 (Sigma, mAb). Następnie hodowle obserwowano pod mikroskopem fluorescencyjnym (Leica). Oceny dokonano po godzinnej inkubacji hodowli ze związkami CIGNON.

4. ANALIZA ILOŚCIOWA KOLAGENU TYPU I, PRZEPROWADZONA DZIĘKI WYKORZYSTANIU TECHNIKI WESTERN BLOT ANALYSIS.

Po oddzieleniu kolagenu typu I od pożywki hodowlanej, przeprowadzono hydrolizę enzymatyczną białka. Frakcje kolagenu rozdzielono za pomocą elektroforezy w żelu. Powstałe prążki wybarwiono i poddano analizie ilościowej poprzez wykonanie densytogramu.

WYNIKI

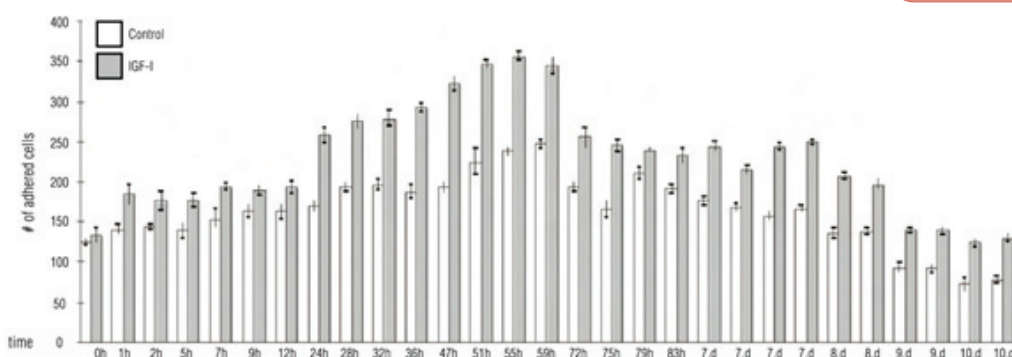
1. PRZYCZEPNOŚĆ I PROLIFERACJA

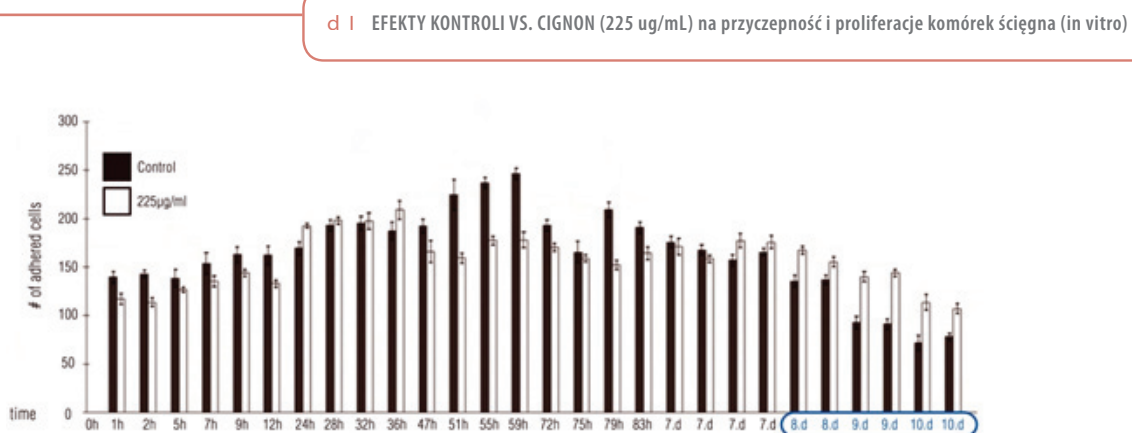
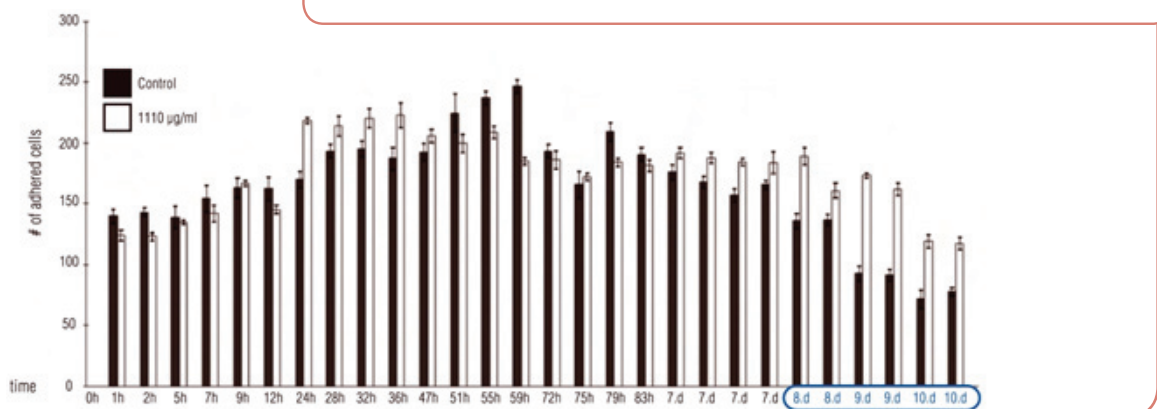
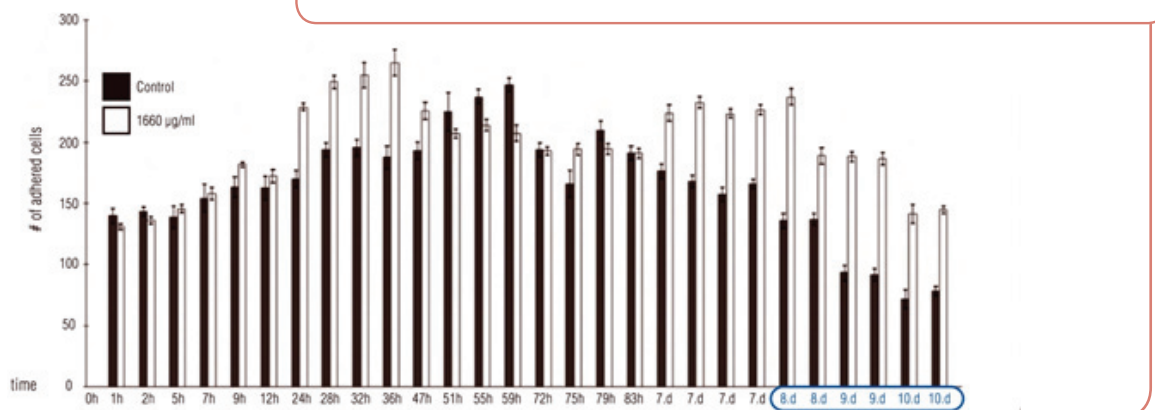
Ilość komórek w hodowli kontrolnej inkubowanej wyłącznie w pożywce pozbawionej surowicy, utrzymywała się na stałym poziomie, z nieznaczną redukcją między 59 a 73 godziną (Rys. 1a). Ponieważ komórki ścięgien w warunkach in vitro rosną powoli, ich stała liczba w hodowli kontrolnej była możliwa do przewidzenia.

W przypadku kontroli pozytywnych (IGF – 1)* odnotowano ostry wzrost liczby komórek, z maximum między godzinami 51 i 55. To namnażanie było stałe aż do 72 godziny, w której nieznacznie spadło (Rys.1a). Zważywszy na to, że IGF -1 ma stymulujący wpływ na proliferację, wzrost liczby komórek był możliwy do przewidzenia. Niewielki spadek liczby komórek w obu hodowlach był prawdopodobnie spowodowany zmniejszonym stężeniem składników odżywczych w podłożu – oczywistym ze względu na stosunkowo długi czas inkubacji.

WNIOSKI

CIGNON ma silne działanie stymulujące na komórki. Stężenie preparatu wielkości 1660 µg/ml było bardziej skuteczne niż pozostałe dwa stężenia (Rys. 1 b,c,d). Zwiększenie proliferacji było mniejsze tylko w hodowlach kontrolnych inkubowanych wyłącznie w pożywce pozbawionej surowicy. Efekt ten zaobserwowano głównie pod koniec badania w dniach 8, 9 i 10.



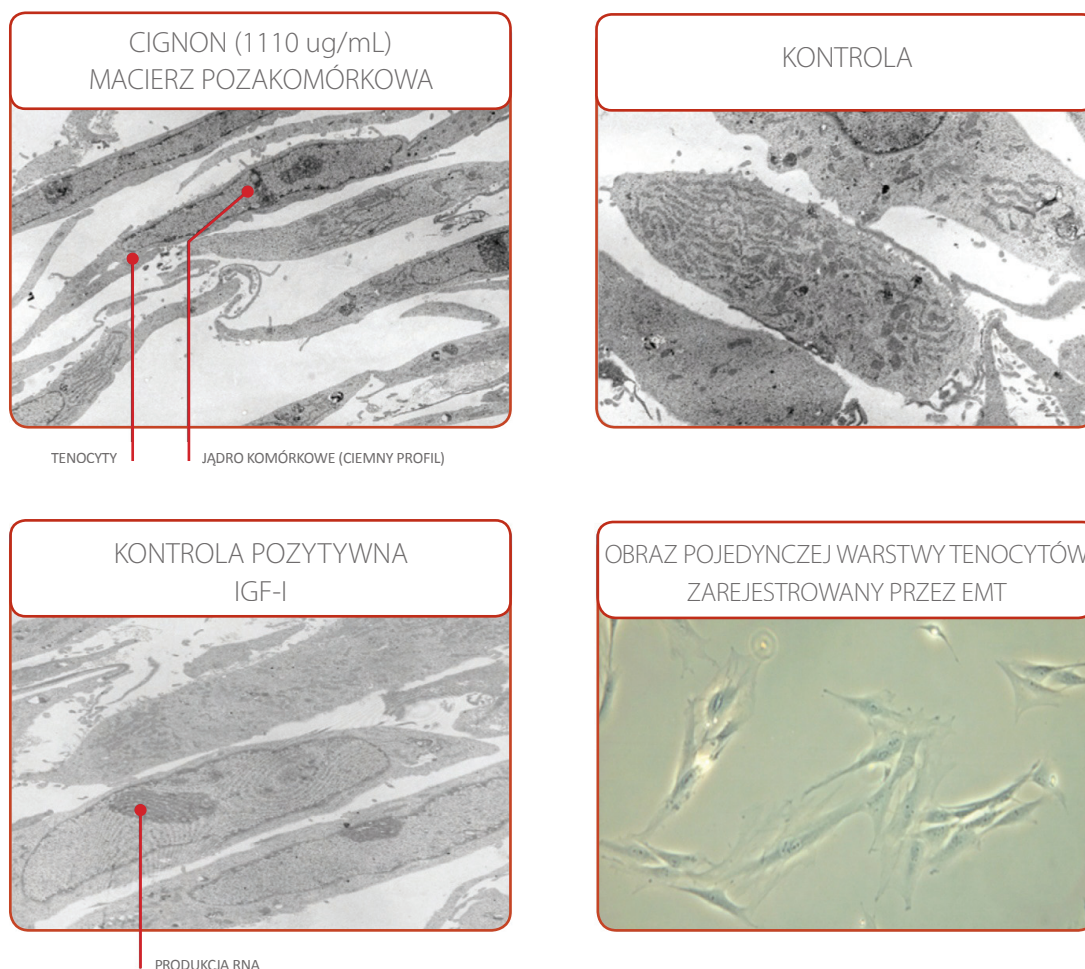


Rys. 1) Wykresy zależności ilości komórek ścięgna od czasu inkubacji a) kontrola pozytywna; b) porównanie próby kontrolnej i doświadczalnej, w której stężenie Cignone wynosi 1660 µg/ml; c) 1100 µg/ml; d) 225 µg/ml

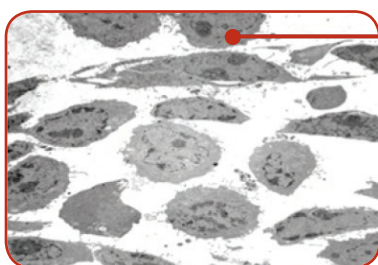
2. WYNIKI UZYSKANE NA PODSTAWIE OBSERWACJI W TRANSMISYJNYM MIKROSKOPIE ELEKTRONOWYM

Technika ta została wykorzystana do analizy żywotności komórek, apoptozy i innych czynników biologicznych tenocytów, poddanych działaniu związków zawartych w preparacie CIGNON.

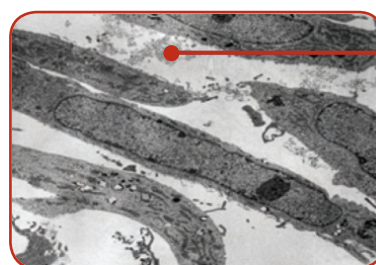
- Nie odnotowano objawów zatrucia, apoptozy czy nekrozy komórek.
- Zaobserwowano duże ilości retikulum endoplazmatycznego - będącego miejscem syntezy białek (np. kolagenu typu I).
- Zaobserwowano również produkcję macierzy pozakomórkowej przez tenocyty.



Rys. 2) Obraz wybranych struktur komórkowych zarejestrowanych przez EMT.



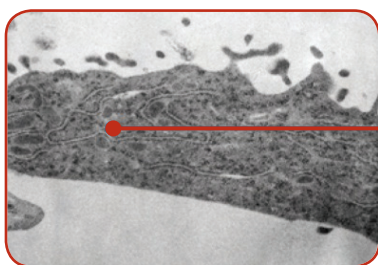
TENOCYTY, NA KTÓRE ZADZIAŁANO
INTERLEUKINAMI - 1β W STĘŻENIU 10 μg/mL



OBRAZ MACIERZY POZAKOMÓRKOWEJ
PODDANEJ DZIAŁANIU CIGNON (1110 μg/mL)
PRZEZ 24h

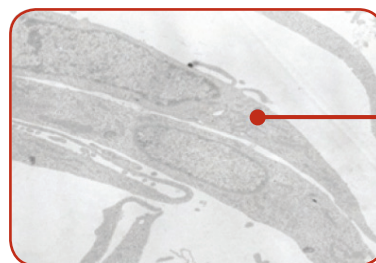
Jedną z podstawowych funkcji tenocytów jest produkcja macierzy pozakomórkowej, której najważniejszymi elementami są kolagen typu proteoglikany.

Macierz pozakomórkowa nadaje tkance specjalne właściwości biomechaniczne.



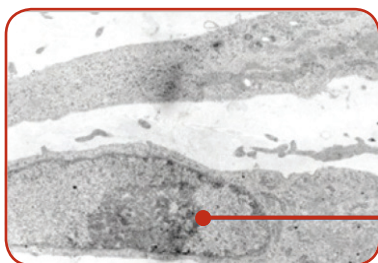
MITOCHONDRIA (BĘDĄCE MIEJSCEM
PRODUKCJI ATP) PODDANE DZIAŁANIU
CIGNON (1110 μg/mL) /24h

Mitochondria znajdują się w tej części komórki i odpowiadają za wytwarzanie energii w tenocytach.
Postać tej energii = ATP



RETIKULUM ENDOPLAZMATYCZNE
(KONTROLA 24h)

Retikulum endoplazmatyczne odpowiada za syntezę białka (np. kolagenu)



PRODUKCJA RNA
(CIGNON 1110 μg/mL, 72h)

Ciemna plama wewnątrz jądra komórkowego wskazuje miejsce produkcji RNA

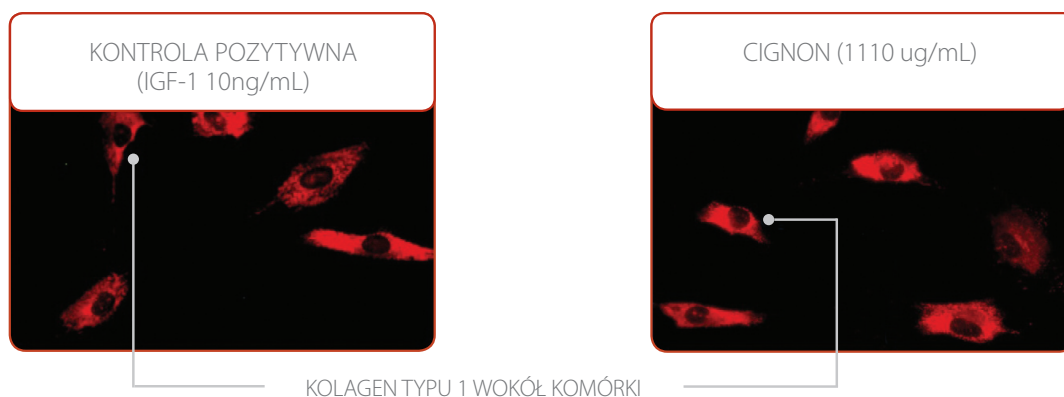
Rys. 3) Obraz organelli komórkowej i procesów biologicznych zachodzących pod wpływem interleukiny-1β i Cignon

3. IMMUNOFLUORESCENCJA

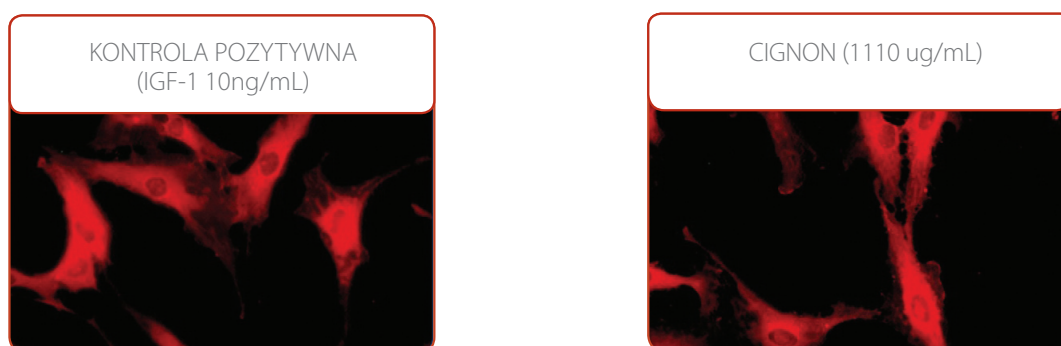
3.1. KOLAGEN TYPU I

Mikroskopia immunofluorescencyjna jest techniką immunohistochemiczną, obejmującą sprzęganie barwników fluorescencyjnych (takich jak izocyjanian fluoresceiny czy kwas 1 – dimetyloamino – naftaleno – 5 – sulfonowy) z przeciwciałami i antygenami, a następnie ekspozycję tych koniugatów do odpowiednich przeciwciał czy antygenów pochodzących z tkanek, wymazów z mikroorganizmów czy pojedynczych warstw komórek pochodzących z konkretnych tkanek. Gdy reakcja jest pozytywna – fluorescencyjny kompleks poddany działaniu promieni ultrafioletowych można obserwować pod mikroskopem fluorescencyjnym.

a) Kolagen typu I



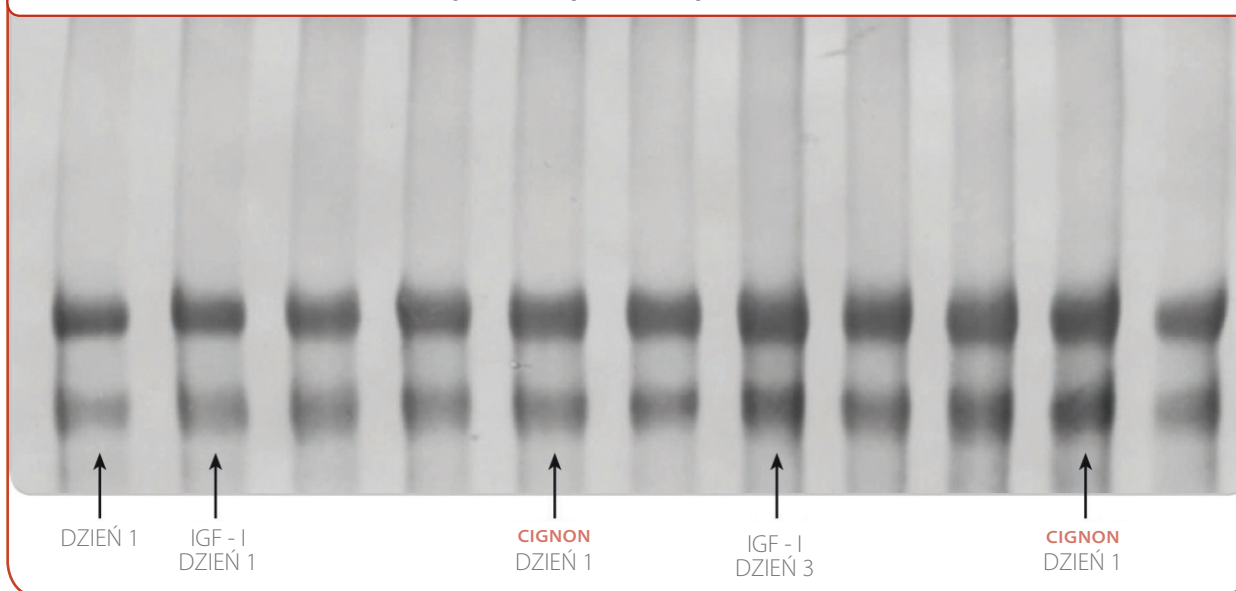
b) $\beta 1$ - integryny



Ujęcie ilościowe kolagenu typu I

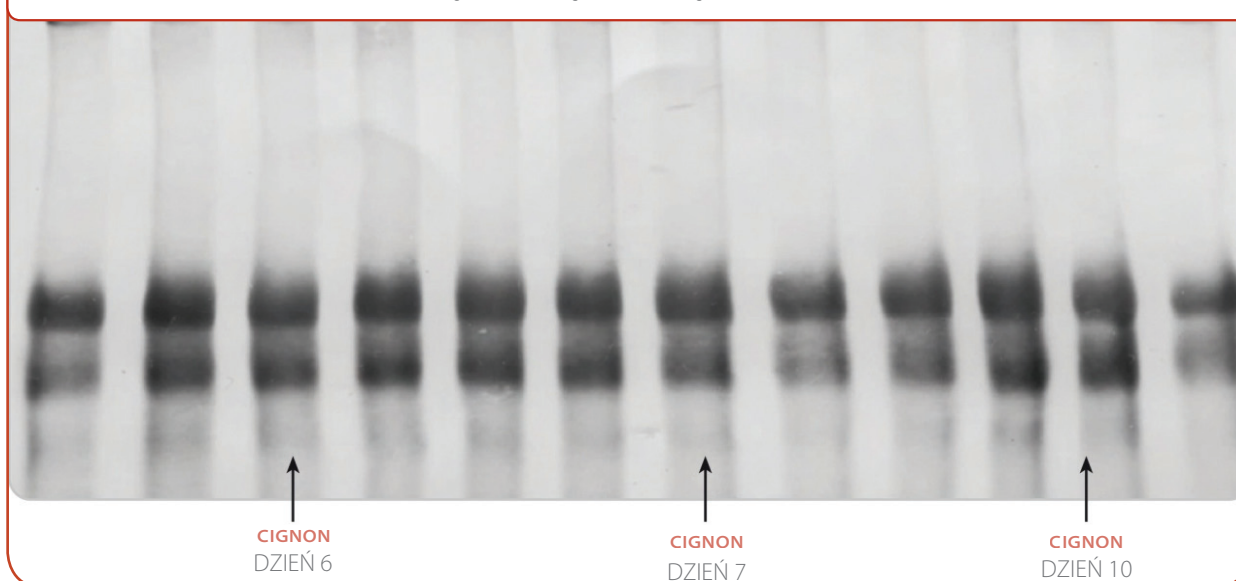
1 |

CIEMNIEJSZE PRAŻKI - WIĘKSZE STĘŻENIE KOLAGENU TYPU I

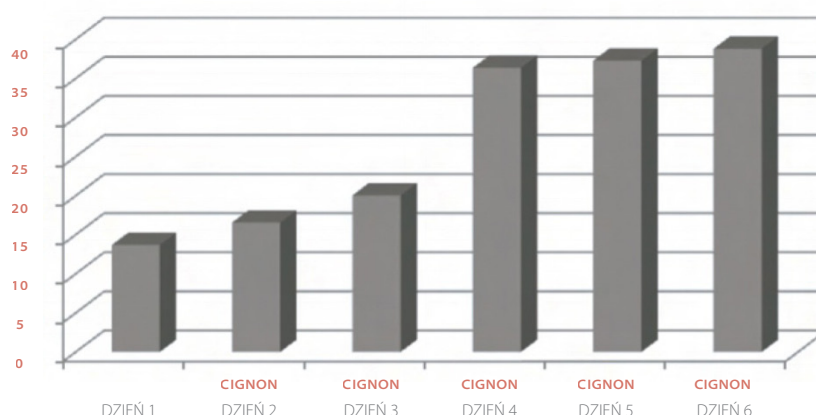


2 |

CIEMNIEJSZE PRAŻKI - WIĘKSZE STĘŻENIE KOLAGENU TYPU I



Rys. 4) Zdjęcia żeli poliakrylamidowych będących wynikiem elektroforezy potwierdzającej obecność kolagenu typu I w próbkach inkubowanych z preparatem Cignon dni I, II (1) oraz dzień VI, VII, X (2)



WNIOSKI

CIGNON działa wysoce stymulująco na proliferację tenocytów, ma więc wpływ na zachodzące w nich reakcje anaboliczne.

Użycie transmisyjnego mikroskopu elektronowego pozwoliło stwierdzić, że komórki zachowują żywotność i zawierają duże ilości retikulum endoplazmatycznego – niezbędnego do syntezy macierzy zewnątrzkomórkowej (w tym kolagenu typu I). Immunofluorescencję wykorzystano do potwierdzenia faktu mówiącego o tym, że tenocyty poddane działaniu CIGNONU, wykazują aktywną ekspresję kolagenu typu I i $\beta 1$ – integryny. Kolagen typu I nadaje ścięgnom wytrzymałość na rozciąganie. Zdrowe ścięgna są zbudowane głównie z kolagenu typu I oraz niewielkich ilości kolagenu typu III. Jednak w przypadku chronicznego bólu ścięgien, część kolagenu typu I jest utracona a struktura ścięgna jest przywracana poprzez syntezę kolagenu typu III (niekompletna architektura ścięgna). Dlatego też w procesie regeneracji - kolagen typu III powinien być zastąpiony kolagenem typu I. B1 – integryny to receptory błonowe, które opowiadają za adhezję komórek. Są zatem niezbędne do zachowania właściwej proliferacji tenocytów i różnicowania.

Wyniki pokazały, że CIGNON może być przydatny w procesie zapobiegania i / lub leczenia zapalenia ścięgna, bólu ścięgna itp. Stosowanie preparatu Cignon przyczynia się do odbudowy ścięgien, co jest niezbędnym krokiem w procesie przywracania dojrzałej struktury funkcjonalnej ścięgien.



Badanie 2

BADANIE WPŁYWU PREPARATU CIGNON
NA STAN ZDROWIA PACJENTÓW Z URAZAMI
ŚCIĘGNA ACHILLESA, ŚCIĘGNA MIĘŚNIA
NADGRZEBIENIOWEGO, ROZCIĘGNA PODE-
SZWOWEGO I „ZESPOŁU ŁOKCIA TENISISTY”

BADANIE PRZEPROWADZONE W: CLÍNICA SAGRADA FAMÍLIA, BARCELONA
CENTRE DE FISIOTERÀPIA TONI BOVÉ, BARCELONA



NADAL, F., BOVÉ, T., SANCHÍS, D., AND MARTÍNEZ-PUIG, D.
PRESENTED AT 14TH WORLD CONGRESS ON OSTEOARTHRITIS (OARSI),
2009, MONTREAL

CEL BADAŃ

Ocena skuteczności działania preparatu CIGNON w leczeniu tendinopatii, takich jak: urazy ścięgna Achillesa, ścięgna mięśnia nadgrzebieniowego, rozciągna podeszwowego i „zespołu łokcia tenisisty”.

METODA

Do badań wybrano grupę liczącą 80 pacjentów, spośród których 20 cierpiało na uraz ścięgna Achillesa, 20 – na uraz ścięgna mięśnia nadgrzebieniowego, kolejnych 20 – na uraz rozciągna podeszwowego, natomiast ostatnia 20 – osobowa grupa – na „zespół łokcia tenisisty”.

Dodatkowo, pacjentów z tego samego 20 – osobowego zespołu podzielono na 2 równe grupy: kontrolną i doświadczalną.

GRUPA	TENDINOPATIA ŚCIĘGNA MIĘŚNIA NADGRZEBIENIOWEGO	TENDINOPATIA ŚCIĘGNA ACHILLESA	TENDINOPATIA ROZCIĘGNA PODESZWOWEGO	TENDINOPATIA „ZESPÓŁ ŁOKCIA TENISISTY”
KONTROLNA	10	10	10	10
DOŚWIADCZALNA	10	10	10	10

ZABIEGI

GRUPA KONTROLNA: rehabilitacja (n=40)

GRUPA DOŚWIADCZALNA: rehabilitacja + 2 kapsułki CIGNON (n=40)

OKRES PODAWANIA

90 dni

PARAMETRY POMIARU

BÓL - w wizualnej skali analogowej (VAS)

BADANIE JAKOŚCI ŻYCIA (SF-36v2)

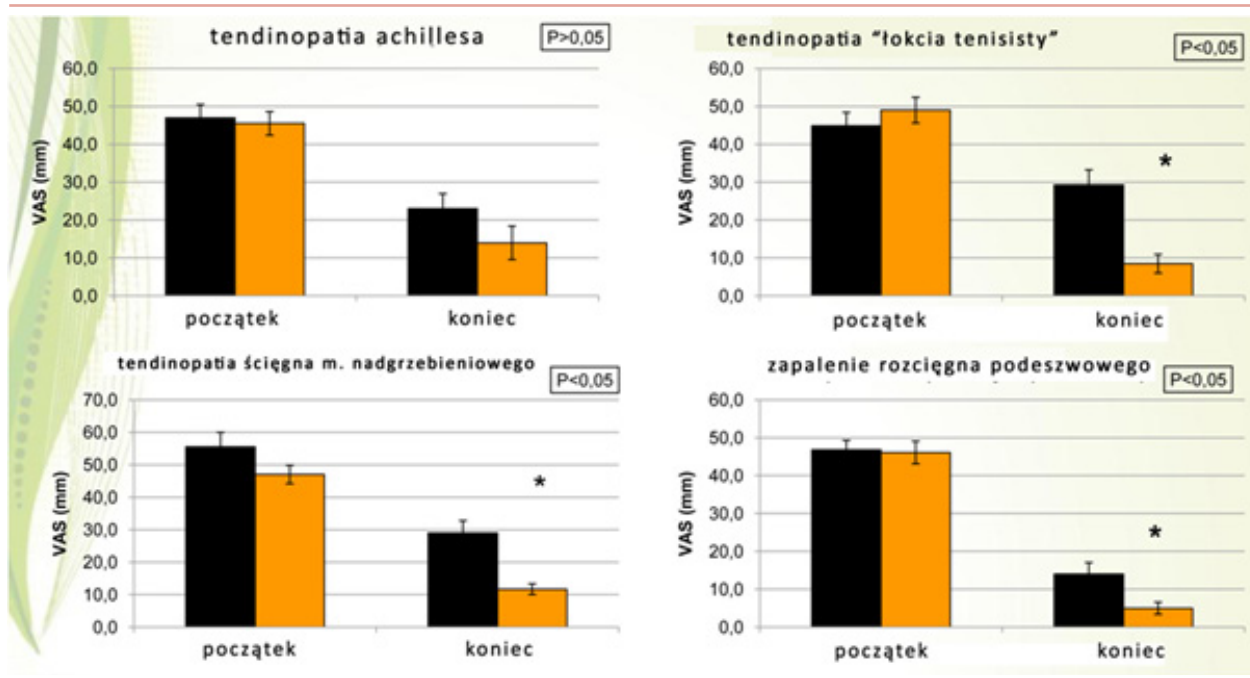
OCENA FUNKCJONOWANIA (ocena psychoterapeutyczna)

POWRÓT DO AKTYWNOŚCI (ocena aktywności)

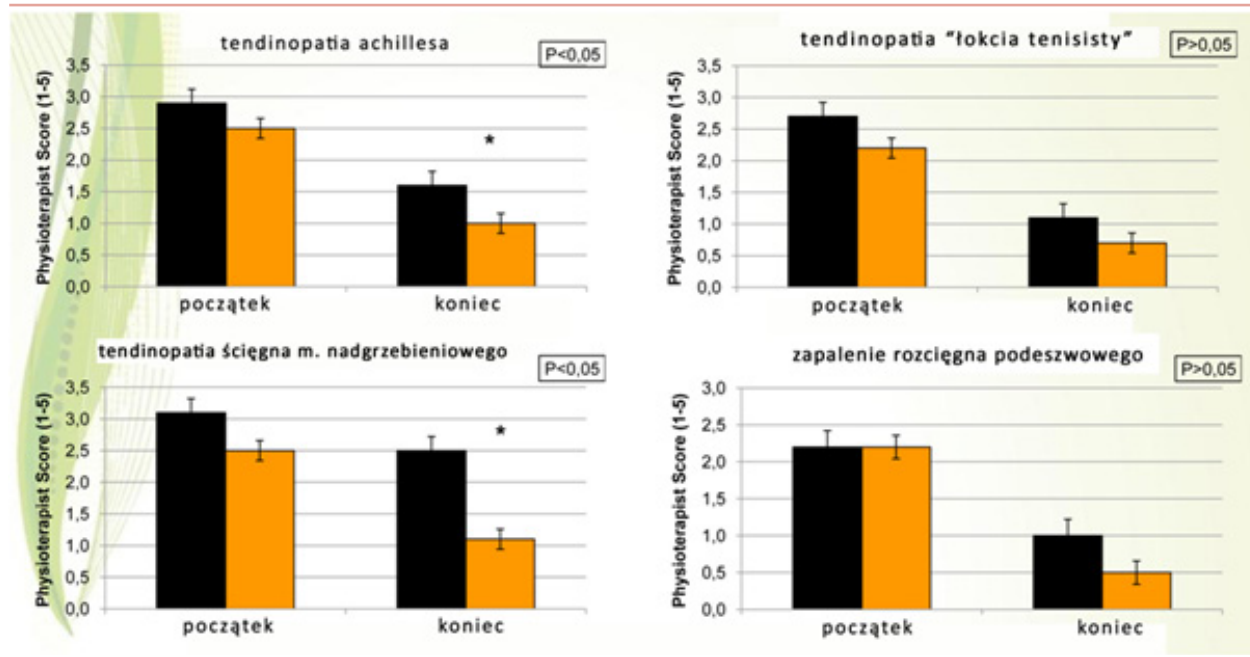
DANE DEMOGRAFICZNE

	STEROWANIE	CIGNON
WIEK (lata)	43,1	40,4
PŁEĆ (K/M)	22M / 18K	18M / 22K
BMI (kg/m ²)	24,4	24,0
BÓL – VAS (mm)	48,5	46,9
FIZYCZNOŚĆ (SF 36)	60,6	65,0
PSYCHIKA (SF 36)	70,2	70,4

WYNIKI: BÓL (SKALA VAS)

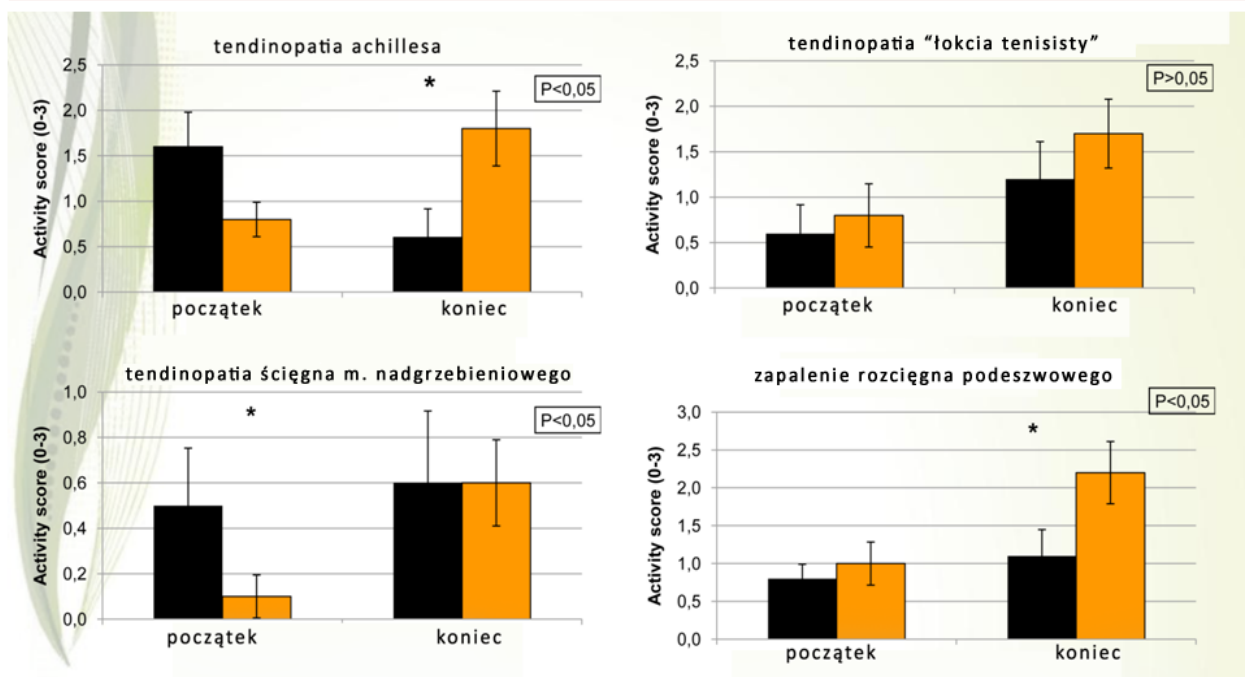


WYNIKI: OCENA PSYCHOTERAPEUTYCZNA

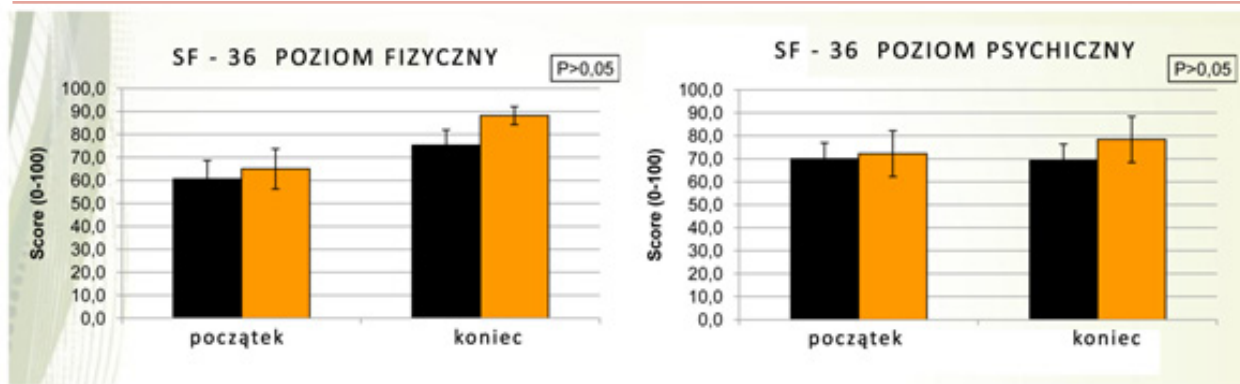


■ GRUPA KONTROLNA
■ GRUPA DOŚWIADCZALNA

WYNIKI: OCENA AKTYWNOŚCI FIZYCZNEJ



WYNIKI: OCENA PSYCHOTERAPEUTYCZNA



■ GRUPA KONTROLNA
■ GRUPA DOŚWIADCZALNA

WNIOSKI

Podawanie pacjentom CIGNON w urazach i stanach zapalnych ścięgien jest bezpieczne i skuteczne. Stosowanie CIGNON (1x2 kapsułki przez okres 3 miesięcy) prowadzi do znacznego zmniejszenia bólu i poprawy właściwości biomechanicznych ścięgien.

Badanie 3

WPŁYW PREPARATU CIGNON NA STAN ZDROWIA SPORTOWÓW Z RÓŻNYMI URAZAMI ŚCIĘGIEN

DR INGRID MÖLLER PARERA DR CARMEN PASTOR MORAGUES.
INSTYTUT REUMATOLOGII, BARCELONA. 2004

CEL BADAŃ

Ocena wpływu preparatu CIGNON na stan zdrowia sportowców z różnymi urazami ścięgien.

Przeprowadzono badanie USG, obrazujące tendinopatie u sportowców i zmiany po 3 – miesięcznym stosowaniu preparatu CIGNON. W badaniu wykorzystano wysokiej rozdzielczości obrazy z aparatu USG, w celu porównania urazów ścięgien, sprzed kuracji, z okresu kuracji i po niej, z użyciem preparatu CIGNON.

DANE STATYSTYCZNE

W badaniu brało udział 30 zawodników w wieku do 35 lat: 19 mężczyzn i 11 kobiet o średniej wieku 25 lat i aktywności sportowej minimum 8 godzin w tygodniu.

DIAGNOZA

Różne urazy tkanek miękkich:

- 5 przypadków zapalenia ścięgna mięśnia nadgrzebieniowego
- 2 przypadki zapalenia kaletki podbarkowo-podnaramiennej
- 3 przypadki zapalenia pochewki ścięgna mięśnia dwugłowego
- 5 przypadków zapalenia ścięgna mięśnia czworogłowego
- 13 przypadków bliższego lub dalszego zapalenia ścięgna rzepki
- 2 przypadki zapalenia kaletki gęsiej
- 2 przypadki zapalenia ścięgna Achillesa
- 1 przypadek zapalenia ścięgna mięśnia prostego uda

Czas trwania badania: 3 miesiące

WPROWADZENIE

Urazy ścięgien są m. in. konsekwencją aktywności sportowej i wymagają specjalistycznego leczenia. Najczęstszą przyczyną wizyt u lekarza jest ból i niezdolność do aktywności fizycznej.

Pomiaru bólu dokonuje się za pomocą wizualnej skali analogowej – VAS.

Badanie USG pozwala zidentyfikować urazy tkanek miękkich i monitorować postępy leczenia. W niektórych urazach, działanie przeciwzapalne powoduje wzrost lokalnego ukrwienia, które może zostać zdiagnozowane dzięki zastosowaniu obrazowania Dopplera.

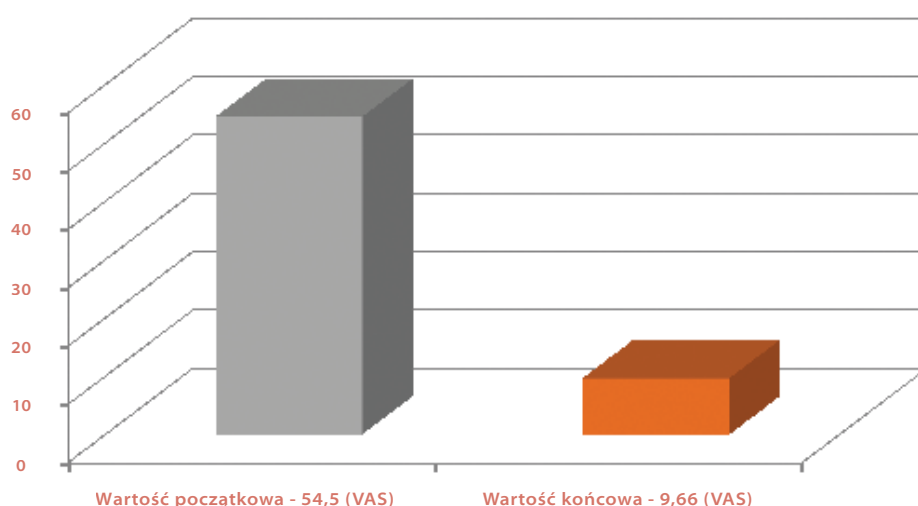
METODA

Uczestników poddano szczegółowym badaniom, dotyczącym ich stanu zdrowia.

Przeprowadzono wywiad lekarski oraz oceniono ich poziom bólu za pomocą wizualnej skali analogowej – VAS. Wszyscy przeszli badania USG na początku, w połowie leczenia oraz po 3 miesiącu kuracji.

Wszystkim pacjentom podawano niesteroidowe leki przeciwzapalne (NLPZ) - przez 15 dni oraz 2 kapsułki preparatu CIGNON dziennie – przez 3 miesiące. Zalecono im również, aby zadbali o ergonomię organizmu (dostosowanie wysiłku do możliwości psychofizycznych organizmu).

WYNIKI



W odniesieniu do pomiaru bólu za pomocą wizualnej skali analogowej – VAS oraz w oparciu o średnią wyjściową (54,5), średnia VAS po 3 miesiącach wynosiła 9,66, co odpowiada średniej redukcji bólu o 44,8%.

Pierwsze badanie USG przed rozpoczęciem leczenia nie wykazało stanu zapalnego u 2 uczestników, lekkie zapalenie u 9, umiarkowane stany zapalne u 11 i intensywny stan zapalny u 8 uczestników.

We wszystkich przypadkach, po 3 – miesięcznym leczeniu badanie USG nie wykazało żadnego stanu zapalnego.

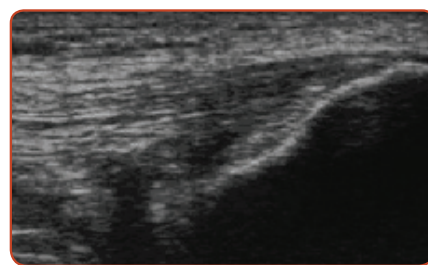
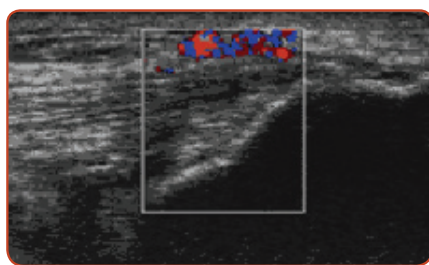
PRZYKŁAD

mężczyzna
wiek: 30 lat

kolarstwo górskie 10 h / tydzień
+
basen 3 h / tydzień

Ból w okolicach mięśnia czworogłowego
odczuwalny od 3 miesięcy

USG PRZED I PO 3 MIESIĘCZNEJ KURACJI CIGNON



VAS	(ocena poziomu bólu): 50	(ocena poziomu bólu): 0
ULTRADŹWIĘKI	ścięgno mięśnia czworogłowego wykazuje zaburzenia	ścięgno mięśnia czworogłowego nie wykazuje zaburzeń
DOPPLER	intensywny - sygnał dopplerow- ski wskazuje na stan zapalny	negatywny - nie ma stanu zapal- nego w obszarze zagrożonym

WNIOSKI

W leczeniu ostrych urazów tkanek miękkich wymaga się leków przeciwbólowych / przeciwzapalnych oraz odpoczynku fizycznego a w niektórych przypadkach rehabilitacji. Badanie to pokazuje, że wspomaganie leczenia preparatem CIGNON poprawia funkcjonalność ścięgna poprzez skrócenie okresu rekonwalescencji.

Literatura

1. Shakibaei M., Csaki C, A. Mobasheri, „In vitro study on tendinopathies in humans”, Musculoskelatal Reserch Group, Institiute Of Anatomy, Ludwig-Maximilians-Universitat Munchen, Pettenkoferstrass 11, 80336, Munich, Germany; Division Of Veterinary Medicine, University Of Nottingham, Sutton Bonington Campus, Le12 5rd, United Kingdom

2. F. Nadal, T. Bové, D. Sanchís, D. Martínez-Puig, „ Effectiveness of treatment of tendinitis and plantar fasciitis by Tendoactive”, 1 Clínica Sagrada Família, Barcelona, Spain. 2Futbol Club Barcelona, Barcelona, Spain. 3 Centre de Fisioteràpia Toni Bové, Barcelona, Spain. 4 Bioiberica S.A., Palafolls, Barcelona, Spain

3. I. Möller Parera, C. Moragues Pastor., “Observational study high-frequency ultrasound study of tendinopathies in athletes and evolution after taking TENDOACTIVE supplements”, Poal Institute of Rheumatology, Barcelona. 2004
