

Respuesta a la lesión del manguito de los rotadores: variación en la expresión de factores de crecimiento durante las primeras 8 semanas poslesión. Estudio experimental en ratas

J. Díaz Heredia¹, M.Á. Ruiz Ibán¹, J. Martínez-Botas Mateo², F. Aranda Romero¹, S. Moros Marco³, F. González Lizán¹, F.J. Pascual Martín Gamero¹

¹ Departamento de COT. ² Departamento de Investigación. Hospital Universitario Ramón y Cajal. Madrid.

³ Departamento COT. Clínica MAZ. Zaragoza

Correspondencia:

Dr. Jorge Díaz Heredia

Departamento de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Hospital Ramón y Cajal

Ctra. Colmenar km 9,100. 28034 Madrid

Correo electrónico: drdiazheredia@gmail.com

Los factores de crecimiento presentan un papel muy importante en la reparación de los tejidos tendinosos. La sutura de las roturas de tendón supraespinoso presenta elevadas tasas de rerotura por su bajo potencial biológico de reparación. El objetivo de este estudio es evaluar la expresión temporal de diferentes factores de crecimiento (VEGF, IL-1 β , TGF-1 β) durante la lesión del tendón supraespinoso en un modelo experimental con ratas. Creemos que la expresión de los diferentes factores de crecimiento presenta un patrón temporal específico y diferenciado por zonas durante la lesión de los tejidos tendinosos. Para ello, procedimos a realizar una desinserción del tendón supraespinoso en ambos hombros de las ratas. Se evalúa la expresión de los diferentes factores de crecimiento en los tiempos 0, 3, 7, 14 y 56 días mediante PCR cuantitativa a nivel de la inserción tendinosa, el tendón y la unión miotendinosa. Se evidencia un pico de expresión de TGF-1 β a nivel del tendón y la unión miotendinosa durante la primera semana poslesión, un aumento de expresión de VEGF en las tres zonas durante las 8 semanas, y un pico de expresión de la IL-1 β desde el primer día poslesión a los tres niveles. Se demuestran los diferentes patrones temporales en los que actúan los factores de crecimiento.

Palabras clave: *Estudio experimental animal. Factores de crecimiento. Manguito rotador.*

The healing response after rotator cuff lesion: variations in growth factor expression during the first 8 weeks post lesion. An experimental study in rats

Growth factors play an important role in tendon repair. Lesions of the supraspinatus are difficult to heal because of the poor biological potential of this tissue. The objective of this study was to evaluate the temporal expression of 3 different growth factors (VEGF, IL-1 β , TGF-1 β) in tendon lesion in an animal model. We believe that there is a different temporal expression of this factors in each part of the tendon. We made a full thickness defect in the supraspinatus tendon in both rat shoulders. We assessed the expression of the growth factors in the humeral foot print, tendon and muscle on days 0, 3, 7, 14 and 56 postlesion. After ARNm extraction quantitative PRC analysis was made. There was an increased expression of TGF-1 β since the first week postlesion mainly in tendon and muscle. There was also a significant increase in IL-1 β the first day postlesion in the three zones. There was an increase in VEGF expression in the three zones during the eight weeks. We set the pattern of the temporal expression of VEGF, IL-1 β , TGF-1 β postsupraspinatus lesion.

Key words: *Experimental animal trial. Growth factors. Rotator cuff.*

INTRODUCCIÓN

Las lesiones del manguito de los rotadores son una de las patologías tendinosas más prevalentes, sin embargo la fisiopatología y etiología de estas lesiones no se conocen en profundidad.

La sutura de la rotura del tendón suele ser la técnica utilizada para el manejo de la lesión. La tasa de fracaso de la sutura es elevada⁽¹⁾, ya que la reparación de este tejido está comprometida con la propia biología de la reparación de un tejido que presenta unos particulares condicionantes, en concreto una vascularización pobre y unos requerimientos mecánicos altos⁽²⁾. El conocimiento del patrón biológico de lesión y reparación del manguito rotador nos puede permitir ampliar el uso de tratamientos biológicos que implementen la reparación quirúrgica.

Los factores de crecimiento son esenciales en el proceso de promover la regeneración y reparación de los tejidos en las lesiones tendinosas^(3,4).

Diferentes factores de crecimiento han demostrado tener funciones específicas en el proceso de reparación de los tendones. De todos ellos, el TGF-1 β ha demostrado tener un papel predominante en la reparación de tejidos conectivos, estimulando la síntesis y proliferación de matriz extracelular, IL-1 β ha sido catalogado como un factor inhibidor de la reparación de tejidos conectivos y VEGF es el factor determinante de la neovascularización necesaria para reparación de cualquier tejido. Sin embargo, no está bien establecido cuál es el patrón temporal de expresión de estos factores en las lesiones de los tendones del manguito rotador.

El objetivo de este estudio es definir el patrón temporal de expresión de los factores de crecimiento VEGF, TGF-1 β e IL-1 β tras la rotura del tendón supraespinoso en las primeras 6 semanas tras la lesión, en un modelo experimental de lesión del manguito rotador en la rata.

MATERIAL Y MÉTODOS

Técnica

Se utilizaron 20 ratas Sprague-Dawley (peso 452 g \pm 60 g), a las cuales se les realizó desinserción del tendón supraespinoso en ambos

hombros según abordaje descrito por Thomopoulos *et al.*⁽⁵⁾ se realiza una incisión cutánea de unos 3 cm transversa sobre el hombro de la rata, tras disección del tejido subcutáneo, se procede a la exposición del manguito mediante desinserción del deltoides a nivel acromial. Se identifican las inserciones en la cabeza humeral del tendón supraespinoso, infraespinoso y subescapular, y se exponen sus tendones y masas musculares. Se aísla el tendón del supraspinoso y se procede a su desinserción del hueso con bisturí del n.º 11. Se deja el tendón *in situ* sin reparar. Para el cierre se procede a reinserción con puntos transóseos del deltoides, y cierre por planos del tejido subcutáneo y piel.

Los animales se confinaron en jaulas sin restricciones para su movilidad. El sacrificio de los animales se realizó por inhalación de CO₂ según los patrones temporales determinados por el estudio.

Se establecieron 4 puntos temporales de evaluación con 4 animales (8 hombros) en cada uno de ellos. Se sacrificaron 4 animales a los 3, 7, 14 y 56 días posesión, cuantificando la expresión de ARN. Asimismo, se sacrificaron 4 animales para evaluar la expresión basal (a tiempo 0) de los factores de crecimiento.

Tras el sacrificio del animal, evaluamos el estado del tendón supraspinoso y del resto de los tendones del manguito rotador, y tomamos muestras de 3 mm de tejido óseo de la huella tendinosa del supraspinoso, 3 mm del tendón supraspinoso y 3 mm de la unión miotendinosa del tendón supraspinoso.

RT-PCR en tiempo real (Q-PCR)

El ARN total de las diferentes muestras se extrajo con TriPure Isolation Reagent (Roche Applied Science) y se cuantificó utilizando el espectrofotómetro NanoDrop. La integridad del ARN se analizó mediante electroforesis en gel de agarosa. La retrotranscripción del ARN se realizó con el PrimerScip RT Reagent Kit (Takara), utilizando una combinación de oligo(dT) and *random primers*. Para la PCR en tiempo real se utilizó el kit LightCycler 480 SYBR Green I Master mix (Roche Applied Science) y el termociclador LightCycler 480 II (Roche Applied Science). Los resultados se analizaron mediante el método de cuantificación relativa descrito por Pfaffl⁽⁶⁾ y que tiene en cuenta la eficiencia de la reacción para el gen diana y el control invariable. Como control invariable

ble, se utilizó la expresión del gen GAPDH. En todos los casos, se comprobó la eficiencia de la reacción mediante la amplificación de diluciones seriadas de cADN, asegurándonos de que la amplificación fue lineal y la eficiencia fue próxima a 2. También se analizó la especificidad de la reacción corriendo el producto amplificado en un gel de agarosa y, en todos los casos, tras la reacción de amplificación, se analizó la curva de disociación.

Se realizó el proceso por triplicado para cada muestra y gen, y se obtuvo un número que representaba la expresión de cada gen relativa al gen invariable. Para su comparación y análisis estadístico cada dato obtenido fue normalizado, considerando la media de expresión a tiempo 0 de las muestras para cada factor de crecimiento como un nivel de expresión de 1.

Se obtuvo la autorización del comité de bienestar animal del centro donde se realizó el estudio. El análisis estadístico de los resultados fue realizado usando los programas informáticos SPSS (versión 16.0) y Stata (versión 10.0; Stata Corp., College Station, TX).

RESULTADOS

La evaluación macroscópica del manguito rotador tras el sacrificio evidenció en todos los animales la ausencia de reparación de las lesiones del supraespinoso, y que no se había producido retracción de los cabos tendinosos ni atrofia de la musculatura.

IL-1 β

El patrón de expresión se aprecia en la **Figura 1**. Se evidencia un pico de expresión de este factor, tras el cual se produce una bajada brusca a sus

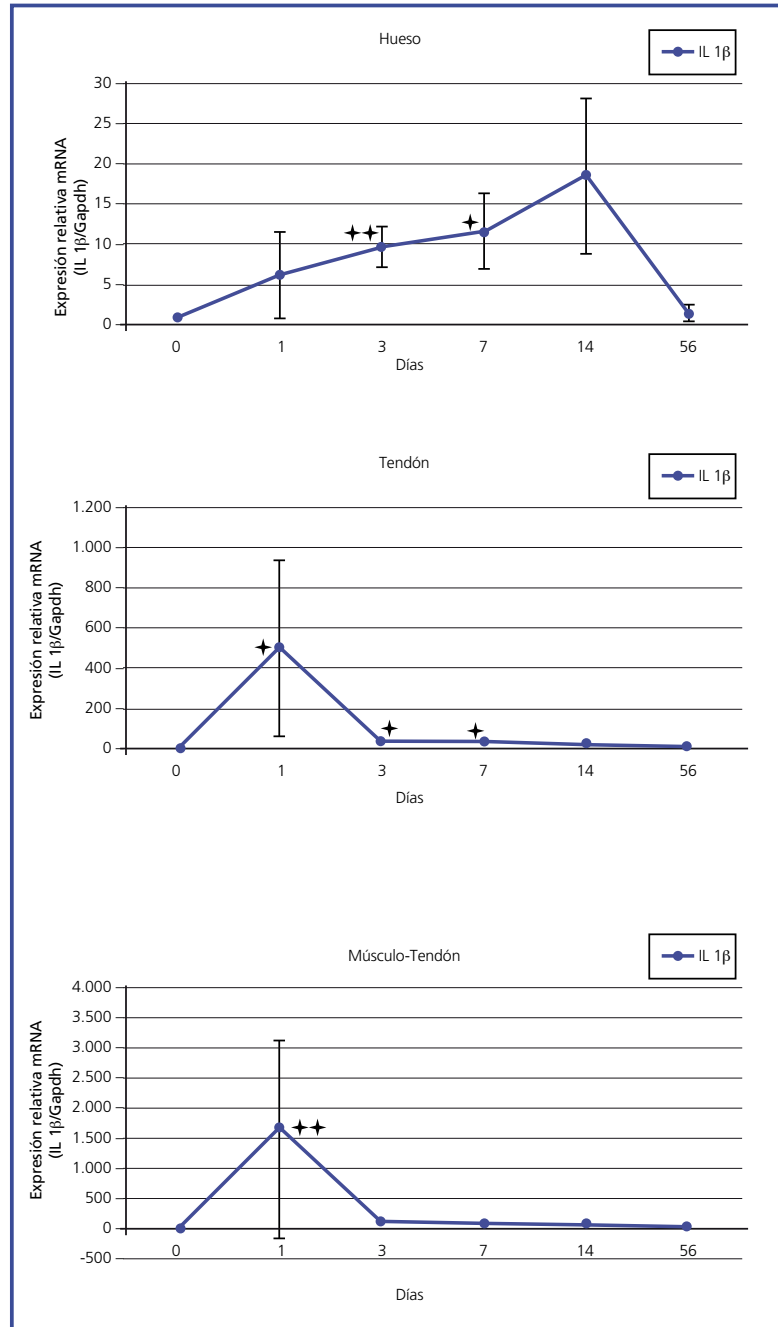


Figura 1. A: La expresión de IL-1 β en la huella ósea; B: en el tendón y C: en la unión miotendinosa. Se analizaron las diferencias de expresión en cada punto respecto a los valores basales. ◆: $p < 0,05$; ◆◆: $p < 0,01$.

niveles basales de expresión, en las tres zonas evaluadas. En la huella, el pico de expresión se produce de una forma más progresiva, siendo el máximo a las 2 semanas de la lesión para normalizarse hacia la octava semana. Sin embargo, a nivel del tendón y de la unión miotendinosa,

el pico de expresión es muy marcado sólo al día siguiente de la lesión, normalizándose su expresión en los días sucesivos.

TGF-1 β

El patrón de expresión se aprecia en la **Figura 2**. Se evidencia un aumento progresivo de la expresión de este factor hasta el tercer día poslesión. Posteriormente, se mantiene con niveles elevados hasta la segunda semana, momento en el cual se produce un descenso progresivo de la expresión, normalizándose hacia la octava semana poslesión. Este patrón de expresión se produce de forma similar a nivel de la huella, tendón y unión miotendinosa.

VEGF

El patrón de expresión se aprecia en la **Figura 3**. Se evidencia la presencia elevada de este factor desde momentos iniciales de la lesión, que se mantiene de una forma más o menos constante hasta la octava semana. Esta respuesta a la lesión es menos destacada a nivel del tendón, mientras que, a nivel de la huella y la unión miotendinosa, la respuesta se establece principalmente a partir del tercer día y la primera semana poslesión.

DISCUSIÓN

Se eligió como modelo experimental la rata, ya que, aunque ningún otro ser vivo presenta una réplica exacta del manguito rotador humano, este espécimen ha demostrado ser el que más similitudes presenta, tanto a nivel macroscópico como a nivel microscópico⁽⁷⁾.

La nula capacidad de reparación del manguito rotador lesionado ha sido ampliamente demostrada. Una vez lesionado el tendón dañado con el paso del tiempo mantiene el tamaño de la lesión o incluso aumenta^(8,9).

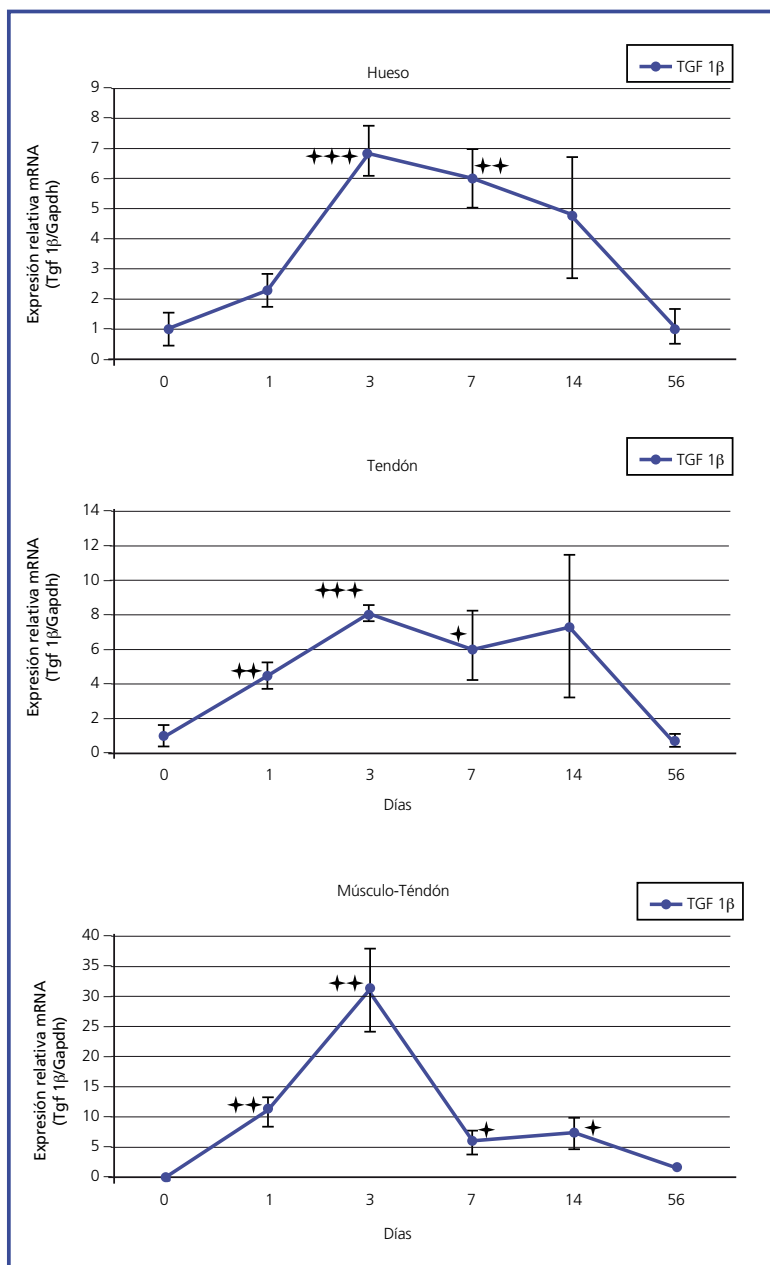


Figura 2. A: La expresión de TGF-1 β en la huella ósea; B: en el tendón; y C: en la unión miotendinosa. Se analizaron las diferencias de expresión en cada punto respecto a los valores basales (*: $p < 0,05$; **: $p < 0,01$; ***: $p < 0,001$).

Actualmente, no hay descritos agentes que permitan la reparación de estos tejidos, siendo la sutura quirúrgica la única opción terapéutica disponible. Por tanto, la descripción de factores biológicos que permitan favorecer la reparación de los tendones del manguito lesionados puede ser muy beneficiosa.

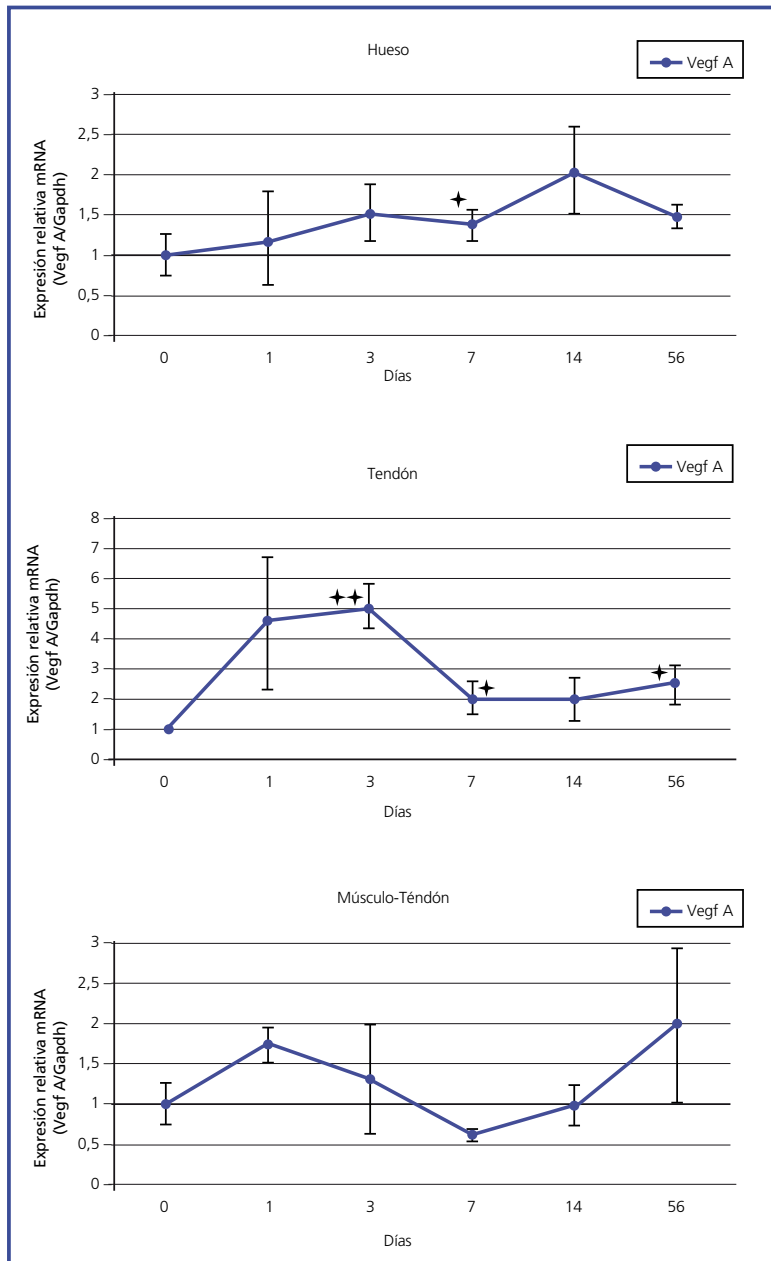


Figura 3. A: La expresión de VEGF en la huella ósea; B: en el tendón; y C: en la unión miotendinosas. Se analizaron las diferencias de expresión en cada punto respecto a los valores basales (◆: $p < 0,05$; ◆◆: $p < 0,01$).

El objetivo de este estudio es evaluar la expresión de tres factores, representativos de las diferentes fases de reparación de los tejidos conectivos, en la lesión del tendón supraespinoso. Creemos que la expresión de los distintos factores de crecimiento siguen patrones temporales y cuantitativos diferentes durante la lesión del tendón supraespinoso en fun-

ción de si se miden en el hueso, tendón o unión miotendinosa. Nuestros resultados concuerdan con esta hipótesis. Encontramos picos de expresión de los distintos factores en patrones temporales diferentes según la localización evaluada.

Con independencia de la capacidad intrínseca de un tejido para repararse, la cicatrización se ve favorecida por la formación e invasión de nuevos vasos en la zona lesionada que aporten factores de crecimiento y celularidad que favorezca el proceso regenerativo. El principal factor angiogénico conocido es el VEGF. Se ha demostrado el aumento de la concentración de VEGF como respuesta inicial a la lesión de otros tejidos conectivos⁽¹⁰⁾. Se ha evidenciado un incremento a nivel local y sistémico de la síntesis de VEGF en aquellos hombros con lesión o rotura del manguito rotador⁽¹¹⁻¹³⁾ interpretado como intento de reparación del tejido dañado. Similar a este patrón, en nuestro modelo experimental hemos encontrado un aumento progresivo de la síntesis de VEGF que se mantiene constante hasta más allá de la semana 36 poslesión. Como en los estudios previos, interpretamos este patrón como el esfuerzo inicial del organismo para reparar el tejido lesionado, aumentando el aporte de células y factores de crecimiento. Este aumento de síntesis de VEGF se produce de forma similar en las tres zonas estudiadas. No encontramos diferencias significativas entre la síntesis en el hueso, la unión miotendinosa o el tendón. No podemos determinar una zona que tome un papel predominante en el proceso regenerativo, aunque se aprecia un leve incremento de la síntesis de este factor a nivel del miotendón, las diferencias no son significativas.

Una vez pasada la fase inicial de reclutamiento celular, se desarrolla una fase proliferativa estimulada por factores de crecimiento que estimulan la síntesis e inhiben la degradación de la matriz extracelular. Se ha demostrado la capacidad del TGF- β 1 de influir sobre la actividad de los fibroblastos y de actuar durante la fase de reparación del tejido conectivo⁽³⁾. El TGF- β 1 presenta funciones autocrinas y paracrinas, favorece la angiogénesis, es quimiotáctico para los fibroblastos, monocitos y macrófagos, y estimula el depósito de colágeno y la producción de glucosaminoglicanos, favoreciendo la adhesión celular^(14,15). Anaguchi *et al.*⁽¹⁶⁾ estimularon la reparación de lesiones completas del tendón rotuliano en ratas con TGF- β 1 y demostraron un aumento de la resistencia a la rotura en los sujetos tratados. Galatz *et al.*⁽¹⁷⁾, en un modelo de reparación del supraespinoso de la rata, evidenciaron un aumento de la síntesis de TGF- β 1 en la zona de inserción y en el tejido de reparación o cicatriz en fases tardías (10 días poslesión). Por otro lado, Tsubone *et al.*⁽¹⁸⁾ han relacionado los niveles elevados de TGF- β 1 durante las fases iniciales con un exceso en la formación de tejido cicatricial. Los últimos estudios hacen referencia a la influencia del grupo TGF en la reparación del tejido tendinoso, aumentando la resistencia a la tracción^(19,20). Dentro del grupo TGF, se cree que el subgrupo β 1 está más relacionado con una reparación predominante de tejido cicatricial, mientras que el subgrupo β 3 se asocia a una reparación propia del tejido sin cicatriz^(21,22). Por otro lado, Kim *et al.*⁽²³⁾, en un modelo de lesión de manguito de rata, no encuentra diferencias significativas entre el uso de TGF- β 1 o el TGF- β 3, evaluando la características biomecánicas de la reparación. Sí que encuentra diferencias significativas respecto de estos grupos con el grupo placebo.

Los resultados de nuestro estudio concuerdan con lo descrito en la literatura. Existe un aumento de la síntesis del TGF- β 1 predominante a partir del tercer día poslesión, es decir, en la fase proliferativa de la reparación. Este aumento es más significativo cuando se evalúa su expresión a nivel del tendón, lógicamente, ya que es la zona donde se produce la reparación. Los niveles de expresión en cuanto al miotendón son inferiores, ya que el músculo participa en menor medida en la reparación, al igual que la

huella ósea, que presenta unos niveles bajos de expresión y, por tanto, tampoco parece ser un factor determinante en la reparación.

La interleukina 1 (IL-1) es conocida como mediador de la inflamación y lesiones tisulares, y se le relaciona con la patogenia de enfermedades inflamatorias articulares⁽²⁴⁾. No está claramente documentada la influencia de la IL-1 β en la reparación del manguito rotador. Este factor actúa como mediador proinflamatorio asociado a una disminución de la proliferación de fibroblastos⁽²⁵⁾. Sí se ha encontrado una relación directa en la expresión de este factor con la presencia de sinovitis subacromial y dolor de hombro⁽²⁶⁾. Koshima *et al.*⁽²⁷⁾, en un modelo de lesión del manguito en conejos, evidencia un aumento de la expresión de IL-1 β a nivel del tendón dañado. La elevación de la síntesis de IL-1 β se producía a partir del primer día poslesión, manteniéndose elevado hasta el día 7, en el que empezaba su descenso, desapareciendo hacia el día 21. Los niveles elevados de IL-1 β estimulan la expresión de COX-2, no sólo a nivel de tendón, sino también de los condrocitos. Los altos niveles de COX-2 producen aumento de síntesis de PGE2, que sería el mediador directo del aumento del dolor⁽²⁸⁾. Goth *et al.*⁽²⁶⁾ han demostrado la presencia de niveles elevados de IL-1 β en aquellos pacientes con lesión del manguito rotador en comparación con los pacientes con manguito íntegro.

La acción de este factor puede ser inhibidora de la proliferación de fibroblastos, lo que, asociado con su acción nociceptiva, le hace en parte responsable del fracaso de la reparación del manguito rotador.

En nuestro estudio correlacionado con los estudios previos existe una hiperexpresión de IL-1 β tras la lesión del manguito, predominantemente a nivel de la unión miotendinosa. Las diferencias se establecen en que la expresión a nivel de la unión miotendinosa y del músculo se produce en un pico a nivel del primer día poslesión, decreciendo y desapareciendo el tercer día poslesión. Por el contrario, a nivel de la huella ósea, la expresión se produce de una forma más progresiva hasta la segunda semana poslesión, desapareciendo hacia el día 56. Se evidencia que el estímulo doloroso tras la lesión persiste hasta la segunda semana poslesión, momento en el cual comienza a decrecer. Sería interesante, en es-

tudios sucesivos, evaluar si la reparación de la lesión del manguito mantiene niveles elevados de IL-1 β y durante cuánto tiempo.

LIMITACIONES

El estudio con animales de experimentación aporta numerosos factores de distorsión, uno de ellos es la variación de comportamiento entre individuos. Además, el manguito de rotador de la rata se equipara al humano, pero no es idéntico a él, ya que comparamos un animal cuadrúpedo con uno bípedo.

La fiabilidad de este estudio se ve limitada por la sensibilidad de la PCR cuantitativa en detectar pequeñas diferencias de expresión de factores de crecimiento.

CONCLUSIONES

El objetivo de este estudio era evaluar el diferente patrón temporal de expresión de diversos

factores de crecimiento tras la lesión del manguito rotador. Creemos que cada factor de crecimiento tiene un patrón temporal específico que se correlaciona con las diferentes fases de la lesión del manguito rotador, y que cada parte de la unidad hueso-tendón-músculo representa un papel diferenciado en todo este proceso.

La IL-1 β se expresa predominantemente en las fases iniciales tras la lesión, el TGF inicia su expresión una vez pasada la fase inicial a partir del tercer día, mientras que el VEGF se mantiene elevado en cierta medida durante todo el proceso.

AGRADECIMIENTOS

Estudio financiado con una beca de la Sociedad Española de Artroscopia.

Los autores quieren agradecer el trabajo de Irene Buendía, del Departamento de Investigación del Hospital Ramón y Cajal, así como el trabajo y la colaboración de la Unidad de Cirugía Experimental del Hospital Ramón y Cajal.

BIBLIOGRAFÍA

1. Boileau P, Brassart N, Watkinson DJ, et al. Arthroscopic repair of full-thickness tears of the supraspinatus: does the tendon really heal? *J Bone Joint Surg Am* 2005; 87 (6): 1229-40.
2. Kovacevic D, Rodeo SA. Biological augmentation of rotator cuff tendon repair. *Clin Orthop Relat Res* 2008; 466 (3): 622-33.
3. Bennett NT, Schultz GS. Growth factors and wound healing: biochemical properties of growth factors and their receptors. *Am J Surg* 1993; 165 (6): 728-37.
4. Molloy T, Wang Y, Murrell G. The roles of growth factors in tendon and ligament healing. *Sports Med* 2003; 33 (5): 381-94.
5. Thomopoulos S, Williams GR, Gimbel JA, et al. Variation of biomechanical, structural, and compositional properties along the tendon to bone insertion site. *J Orthop Res* 2003; 21 (3): 413-9.
6. Pfaffl MW. A new mathematical model for relative quantification in real-time RT-PCR. *Nucleic Acids Res* 2001; 29 (9): e45.
7. Soslowsky LJ, Carpenter JE, DeBano CM et al. Development and use of an animal model for investigations on rotator cuff disease. *J Shoulder Elbow Surg* 1996; 5 (5): 383-92.
8. Hamada K, Fukuda H, Mikasa M, et al. Roentgenographic findings in massive rotator cuff tears. A long-term observation. *Clin Orthop Relat Res* 1990; 254: 92-6.
9. Yamanaka K, Matsumoto T. The joint side tear of the rotator cuff. A followup study by arthrography. *Clin Orthop Relat Res* 1994; 304: 68-73.
10. Becker R, Pufe T, Kulow S, et al. Expression of vascular endothelial growth factor during healing of the meniscus in a rabbit model. *J Bone Joint Surg Br* 2004; 86 (7): 1082-7.
11. Lakemeier S, Reichelt JJ, Patzer T, et al. The association between retraction of the torn rotator cuff and increasing expression of hypoxia inducible factor 1alpha and vascular endothelial growth factor expression: an immunohistological study. *BMC Musculoskelet Disord* 2010; 11: 230.
12. Savitskaya YA, Izaguirre A, Sierra L, et al. Effect of angiogenesis-related cytokines on rotator cuff disease: the search for sensitive biomarkers of early tendon degeneration. *Clin Med Insights Arthritis Musculoskelet Disord* 2011; 4: 43-53.
13. Yanagisawa K, Hamada K, Gotoh M, et al. Vascular endothelial growth factor (VEGF) expression in the subacromial bursa is increased in patients with impingement syndrome. *J Orthop Res* 2001; 19 (3): 448-55.
14. Chan BP, Chan KM, Maffulli N, et al. Effect of basic fibroblast

- growth factor. An in vitro study of tendon healing. *Clin Orthop Relat Res* 1997; 342: 239-47.
15. Klein MB, Yalamanchi N, Pham H, et al. Flexor tendon healing in vitro: effects of TGF-beta on tendon cell collagen production. *J Hand Surg Am* 2002; 27 (4): 615-20.
 16. Anaguchi Y, Yasuda K, Majima T, et al. The effect of transforming growth factor-beta on mechanical properties of the fibrous tissue regenerated in the patellar tendon after resecting the central portion. *Clin Biomech (Bristol, Avon)* 2005; 20 (9): 959-65.
 17. Galatz LM, Sandell LJ, Rothermich SY, et al. Characteristics of the rat supraspinatus tendon during tendon-to-bone healing after acute injury. *J Orthop Res* 2006; 24 (3): 541-50.
 18. Tsubone T, Moran SL, Amadio PC, et al. Expression of growth factors in canine flexor tendon after laceration in vivo. *Ann Plast Surg* 2004; 53 (4): 393-7.
 19. Kobayashi M, Itoi E, Minagawa H, et al. Expression of growth factors in the early phase of supraspinatus tendon healing in rabbits. *J Shoulder Elbow Surg* 2006; 15 (3): 371-7.
 20. Wurgler-Hauri CC, Dourte LM, Baradet TC, et al. Temporal expression of 8 growth factors in tendon-to-bone healing in a rat supraspinatus model. *J Shoulder Elbow Surg* 2007; 16, 5 Suppl: S198-203.
 21. Kovacevic D, Fox AJ, Bedi A, et al. Calcium-phosphate matrix with or without TGF-beta3 improves tendon-bone healing after rotator cuff repair. *Am J Sports Med* 2011; 39 (4): 811-9.
 22. Manning CN, Kim HM, Sakiyama-Elbert S, et al. Sustained delivery of transforming growth factor beta three enhances tendon-to-bone healing in a rat model. *J Orthop Res* 2011; 29 (7): 1099-105.
 23. Kim HM, Galatz LM, Das R, et al. The role of transforming growth factor beta isoforms in tendon-to-bone healing. *Connect Tissue Res* 2011; 52 (2): 87-98.
 24. Van de Loo AA, Arntz OJ, Bakker AC, et al. Role of interleukin 1 in antigen-induced exacerbations of murine arthritis. *Am J Pathol* 1995; 146 (1): 239-49.
 25. Wilusz RE, Weinberg JB, Guilak F, et al. Inhibition of integrative repair of the meniscus following acute exposure to interleukin-1 in vitro. *J Orthop Res* 2008; 26 (4): 504-12.
 26. Gotoh M, Hamada K, Yamakawa H, et al. Interleukin-1-induced subacromial synovitis and shoulder pain in rotator cuff diseases. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40-9: 995-1001.
 27. Koshima H, Kondo S, Mishima S, et al. Expression of interleukin-1beta, cyclooxygenase-2, and prostaglandin E2 in a rotator cuff tear in rabbits. *J Orthop Res* 2007; 25 (1): 92-7.
 28. Blaine TA, Cote MA, Proto A, et al. Interleukin-1beta stimulates stromal-derived factor-1alpha expression in human subacromial bursa. *J Orthop Res* 2011; 29 (11): 1695-9.