

Manguito Rotador: Histología, de la Normalidad a la Patología

Dr. Fernando Barclay*, Dr. Francisco Arcuri #, Dra. Andrea Papparatto §

RESUMEN

Introducción: Las causas de ruptura de manguito rotador no son bien comprendidas. Existen diferentes teorías que explicarían su etiopatología. El objetivo del presente trabajo es describir un patrón histológico de normalidad y desarrollar un score histológico para evaluar lesiones agudas y crónicas del manguito rotador. // **Material y Métodos:** Se realizaron once biopsias de espesor completo del manguito rotador en once pacientes con rupturas, no menores de 3 cm de longitud anteroposterior de distinto tiempo de evolución y 3 biopsias, en manguitos rotadores sin patología (Inestabilidad y Luxación Acromio-Clavicular). Se las sometió a estudios histológicos con hematoxilina-eosina, tricrómico de Masson (fibras colágenas), Giemsa (evaluar mastocitos), CD45 (leucocitos), CD68 (macrófagos), CD 34 (endotelio vascular) y MIB-1 (índice proliferación celular). Se evaluaron los siguientes parámetros: Matriz extracelular (edema, orientación colágeno y metaplasia condroide), celularidad (fibroblastos, linfocitos, mastocitos y macrófagos), proliferación vascular y espesor de la membrana sinovial. Cada ítem fue cuantificado y se le colocó un valor de 0 (normal) a 3 (severo). // **Resultados:** En las lesiones de menor tiempo de evolución, la característica primaria fue la desorganización de las fibras de colágeno, el aumento de la celularidad, a predominio de macrófagos y el edema. En las lesiones crónicas se observó un aumento del espesor de la membrana sinovial, metaplasia condroide y aumento de la celularidad a predominio de linfocitos. // **Conclusión:** Los patrones histológicos varían, de acuerdo a la indemnidad del tendón y al tiempo de evolución de la ruptura. // **Relevancia Clínica:** La posibilidad de reconocer diferentes patrones histológicos patológicos, en biopsias de manguitos rotadores con lesiones de distinto tiempo de evolución, nos permitirá, con un nivel de evidencia mayor, crear nuevas técnicas quirúrgicas y mejorar los escenarios biológicos para el mejor tratamiento de esta patología. // **Palabras clave:** Manguito rotador, Supraespinoso, Histología, Score histológico, Patrones histológicos.

ABSTRACT:

*What causes a rotator cuff tear is still not well understood. Different theories try to explain its etiology. The purpose of this study is to describe a normal histological pattern and to develop a histological score to evaluate acute and chronic rotator cuff tears. // **Material and Methods:** Eleven full thickness rotator cuff biopsies were performed in eleven patients with 3 cm in length antero-posterior and different time of evolution. All specimens were stained with hematoxylin eosin, Masson's stain (edema, collagen orientation), Giemsa (evaluate mast cells), CD45 (leucocytes), CD48 (macrophages), CD 34 (vascular endothelium) and MIB-1 (cellular proliferation index). The following parameters were evaluated: Extracellular matrix (edema, collagen orientation, chondroid metaplasia), Cellularity (fibroblasts, lymphocytes, mast cells and macrophages), vascular proliferation and synovial thickness. Each item was quantified and a 0 (normal) to 3 (severe) values was assigned. // **Results:** Loss in collagen alignment and increase in cellularity, with increase in the number of macrophages and edema was observed in sub-acute rotator cuff tears. An increase in the thickness of the synovium, chondroid metaplasia and lymphocyte proliferation was observed in chronic lesions. // **Conclusion:** Different histological patterns exist for a normal rotator cuff, acute/sub acute tear and a chronic one. // **Clinical relevance:** The possibility to recognize a normal histological pattern and a torn one will enable recognize the healing capacity of a repaired tendon. // **Keywords:** Rotator cuff, supraespinatus, histology, Histological score, histological patterns.*

INTRODUCCIÓN

A pesar de la gran incidencia de rupturas del manguito rotador en la población adulta, los conocimientos sobre su

etiopatogenia siguen siendo limitados. Existen múltiples teorías que intentan explicar las causas de estas lesiones y la mayoría de ellas las clasifican en intrínsecas o extrínsecas.

La teoría clásica descrita por Neer, de fricción subacromial (extrínseca), implica al arco coraco-acromial como la causa de la lesión del tendón, en especial del lado bursal a través de fricción del tendón con el acromion.

El modelo de causa intrínseca es el sobreuso, la degeneración del tendón o el microtrauma descrito inicialmente en ratas de laboratorio, en las cuales se realizó un perfil genético del tendón del supraespinoso y del tendón patelar, y en donde se observó la expresión de genes presentes en el cartílago y agregados^{1,2} en el tendón del supraespinoso pero no en el tendón patelar. Esto explicaría la transformación

Dr. Fernando Barclay

Instituto Argentino de Diagnóstico y Tratamiento.

Marcelo T. de Alvear 2346/2400 (C1122AAL) CABA, Bs. As., Arg.

Tel/fax: +54-11 4963-9500

E-mail: fbarclay@cosefa.com.ar

*Instituto Argentino de Diagnóstico y Tratamiento. Marcelo T. de Alvear 2346/2400 (C1122AAL) CABA, Bs. As., Arg.

#Clínica Bessone. Paumero 1648, San Miguel. Buenos Aires. Argentina
§ Servicio de Patología del Instituto Universitario CEMIC. Galván 4102 (1431), CABA, Bs. As., Arg.

de regiones del tendón del supraespinoso en un fibrocartilago que en situaciones específicas sería mucho más susceptible a las rupturas.

Algunos autores sostienen que diferentes metaloproteasas,³ que se encuentran en el tendón, encargadas de degradar la matriz extracelular están sobre expresadas en las rupturas de manguito rotador crónicas.⁴ Además se observó un aumento de apoptosis (muerte celular programada), en las lesiones crónicas.^{5,6}

La teoría de avascularidad⁷ sugiere que una región crítica, avascular en el tendón del supraespinoso, situada 5 a 10 mm de su inserción humeral en el toquiter,^{8,9} sería el área mecánicamente más débil y el sitio de origen de la mayoría de las lesiones del manguito rotador.¹⁰ Además, se demostró que la circulación dentro del tendón del supraespinoso y de la bursa peri tendón disminuye significativamente a partir de los 40 años, tanto en tendones sanos como en los patológicos.

Haciendo un análisis profundo de la bibliografía, consideramos que el foco de la investigación se centró inicialmente en desarrollar diversas teorías, teniendo en cuenta principalmente fenómenos físicos (biomecánicos)^{11,12} y no anatomopatológicos e histológicos.

A pesar de las dificultades para explicar las causas de la tenopatía del manguito rotador, se ha demostrado que los cambios histopatológicos serían los responsables de la debilidad y pérdida de la fuerza tensora del tendón, y esto llevaría definitivamente a la posibilidad de rupturas.

En la actualidad no se ha descrito una clasificación histológica que cuantifique los cambios estructurales en las diversas lesiones. Longo et al.^{13,14,15} propuso un sistema básico de score de 4 puntos, que evaluó solo con hematoxilina eosina.

El objetivo del presente trabajo es describir los hallazgos histopatológicos en biopsias de manguitos rotadores, normales, con rupturas agudas, subagudas y crónicas; y establecer una clasificación histológica cuantitativa que nos permita, en el futuro, hacer estadística y comparar objetivamente los diferentes métodos terapéuticos empleados para el tratamiento de esta patología.

MATERIALES Y MÉTODO

Entre enero y diciembre de 2010, se realizaron 11 biopsias de espesor completo del manguito rotador intraoperatorias, previas a la reparación artroscópica del mismo, en 11 pacientes con diagnóstico de ruptura de distinto tiempo de evolución. Se excluyeron pacientes con enfermedades metabólicas o sistémicas como diabetes, enfermedades reumatólogicas, hiperuricemia y cáncer. Se incluyeron solo rupturas completas grandes, no menores de 3 cm de longitud antero-posterior, medido artroscópicamente durante la reparación.

Al mismo tiempo se realizaron 3 biopsias de espesor completo del supraespinoso en pacientes tratados por inestabilidad y luxación acromio-clavicular, y se utilizaron como patrón histológico de normalidad.

Para las biopsias, se utilizó un dispositivo SUPERCORE II de 18Gx9 cm, tomando el margen posterior del tendón del bíceps como límite anterior y a 15 mm del borde libre del tendón roto.

Las biopsias fueron fijadas con formol al 10%, deshidratadas por diferentes gradientes de alcohol. Se realizaron tacsos de parafina y se cortaron con micrótopo con 4 cm de espesor. Se colorearon con hematoxilina y eosina y se realizaron cortes en blanco para la realización de técnicas de inmunohistoquímica para determinación CD45 (marcador leucocitario), CD68 (macrófagos), CD34 (endotelio vascular) y MIB-1 (índice de proliferación celular)¹⁶ y técnicas de histoquímicas de Tricrómico de Masson para evaluar fibrosis estromal y Giemsa para demostración de mastocitos.

En el examen histológico se evaluaron los siguientes parámetros:

1. Matriz extracelular (edema, orientación y tipo de colágeno, metaplasia condroide).
2. Celularidad (fibroblastos, linfocitos, mastocitos, macrófagos).
3. Proliferación vascular.
4. Espesor del sinovitelio.¹³

Se estableció un score de 4 puntos, cuantificando cada parámetro previamente descrito, donde se consideró: 0 normal, 1 leve, 2 moderado, 3 severo.

ANATOMÍA E HISTOLOGÍA NORMAL

El manguito rotador incluye los tendones de los músculos subescapular, supraespinoso, infraespinoso y redondo menor. Diferentes estudios anatómicos demostraron que la inserción del manguito rotador es una confluencia de estos tendones, la capsula glenohumeral y los ligamentos glenohumerales y coracohumeral.

Los tendones del supraespinoso e infraespinoso se unen 15 mm a medial de la inserción humeral.¹⁷ Según los estudios anatómicos convencionales, los primeros 13 a 17 mm posteriores al tendón del bíceps¹⁸ corresponderían al tendón del supraespinoso solamente, pero hay nuevas investigaciones anatómicas que solo le adjudican los primeros 13 mm del footprint (área de inserción) anterior al tendón del supraespinoso.^{19,20,21}

El espesor del manguito rotador es de 10-14 mm.²² Anatómicamente el tendón del supraespinoso se extiende desde la unión miotendinosa, aproximadamente a 5 cm a medial del troquiter, hasta la región fibrocartilaginosa de unión, que comprende a los últimos 1,8 a 0,5 cm,²³ con una zona de fibrocartilago no calcificado y finalmente la zona

de fibrocartilago calcificado, que comprende la fijación del tendón al hueso.^{24,25}

Histológicamente, el manguito rotador están constituidos de agua (55%) y colágeno tipo I, 85% del peso en seco. En menor proporción, colágenos tipo III y XIII, proteoglicanos, glucosaminoglicanos, elastina y fibroblastos.²⁰

El colágeno es producido por los fibroblastos y ambos conforman la arquitectura fascicular característica del tendón.

Clark y Harryman,²⁶ en estudios histológicos del manguito rotador describieron las siguientes capas:

Hallazgos Histológicos en la Normalidad (por capas)

- Capa 1: contiene arteriolas y fibras del ligamento coracohumeral orientadas de manera oblicua a las fibras musculares (Fig. 1).
- Capa 2: Constituida por haces gruesos de las fibras tendinosas que se insertan directamente en la tuberosidad (Fig. 2).
- Capa 3: Constituida por pequeños haces de colágeno con orientación menos uniforme, los que conforman un trabeculado que contribuye la inserción del tendón (Fig. 3).
- Capa 4: Contiene tejido conectivo laxo y gruesas bandas colágenas que se fusionan con el ligamento coracohumeral en el borde más anterior del supraespinoso (Fig. 4).
- Capa 5: Representado por la capsula glenohumeral, constituida por una lámina de colágeno entretejido con el fibrocartilago, que en la región del footprint forma las fibras de Sharpey, que se extiende desde el labrum glenoideo al humero²⁷ (Fig. 5).

Hallazgos histológicos en la ruptura

Los diferentes hallazgos histológicos observados en las tenopatías incluyen: adelgazamiento y desorganización en las fibras colágenas de las diferentes capas, metaplasia condroide,²⁸ edema, proliferación vascular, infiltrado de linfocitos y presencia de mastocitos, e hiperplasia del sinoviotelio.^{29,30,31,32,33}

En cuanto al tejido colágeno, el tipo III se incrementa con la edad,³⁴ en la tenopatía degenerativa y en las rupturas.³⁵ En la reparación predomina el colágeno tipo III, cuyas fibras son de menor diámetro que en el tipo I, y además se agrupan al azar formando un trabeculado, lo cual se traduce en una menor fuerza tensil, permitiendo que el tendón sea más vulnerable a sufrir rupturas, incluso ante esfuerzos fisiológicos.^{36,37,38}

La respuesta reparativa depende esencialmente de si la lesión tiene una evolución aguda subaguda o crónica.³⁹ La mayoría de los trabajos publicados en modelos animales utilizaban laceraciones, lesiones agudas como modelo.^{40,41}

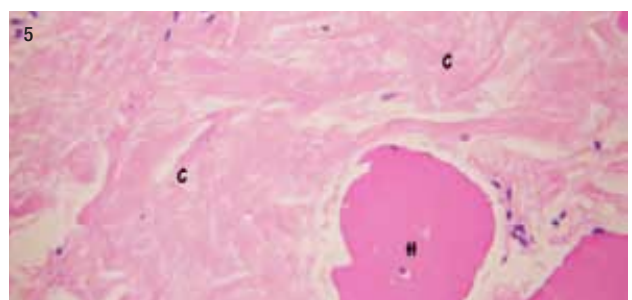
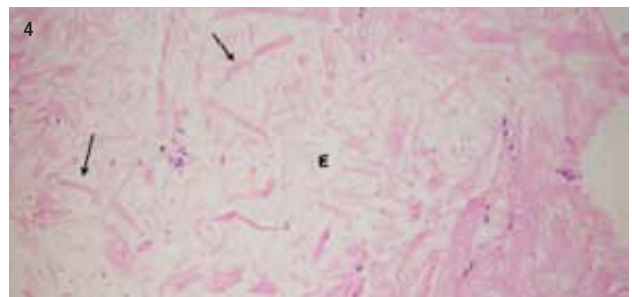
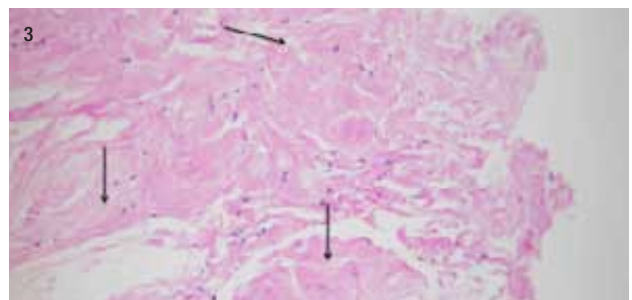
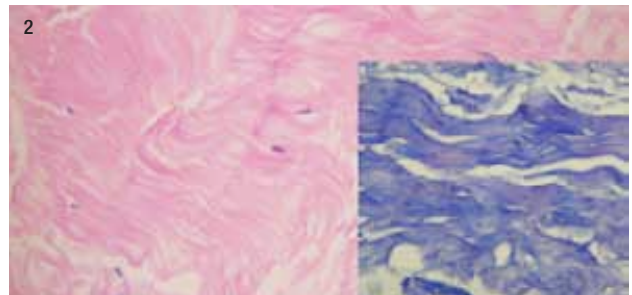
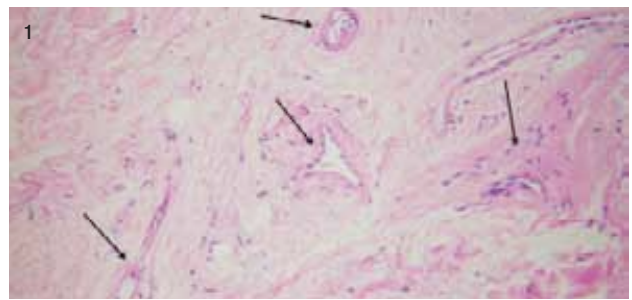


Figura 1: Imagen histológica de la primera capa. Se visualizan arteriolas (flechas) y fibras colágenas oblicuas a las fibras musculares. Hematoxilina-eosina 20X. Figura 2: Capa 2, haces gruesos de colágeno orientados paralelamente. Hematoxilina-eosina 40X. Capa 2 con Tricromico de Masson. Figura 3: Capa 3, haces de colágeno cortos (flecha) que conforman un trabeculado. Hematoxilina-eosina 20X. Figura 4: Capa 4, tejido conectivo laxo con gruesas bandas colágenas (flecha). HE 20X. Figura 5: Capa 5. Lámina de colágeno entretejido(C). Con Hueso (H). Fibras de Sharpey HE20X.

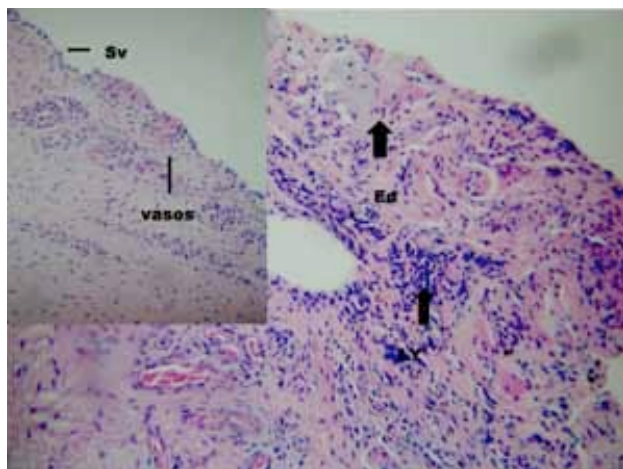


Figura 6: Patrón de Lesión Subaguda. Infiltrado linfocitario (LY), Edema (Ed), Vasocongestión (Vasos), sinoviotelio conservado. HE X20.

Pero los mecanismos de reparación de las lesiones provocadas por microtraumatismo son menos comprendidas.^{42,43}

En una lesión traumática aguda, existe inicialmente un periodo de respuesta inflamatoria en donde las células migran hacia en sitio de la ruptura.⁴⁴ En las siguientes 48 horas, comienza la síntesis de proteínas, los fibroblastos activados producen colágeno tipo III que en las próximas 6 a 8 semanas idealmente sería reemplazado por colágeno tipo I, pero nunca llegan a recuperar las mismas características del tendón sano^{45,46,47,48,49} (Fig. 6).

En las lesiones crónicas, la degeneración del tendón es la característica predominante. Esta se produce porque coexisten los intentos de reparación tisular en sus diferentes etapas.⁵⁰ Durante las primeras 12 semanas, se observan altos niveles de síntesis de colágeno tipo I y III. La producción de colágeno tipo III continua hasta por lo menos 18 meses,^{51,52} obteniendo una hiperplasia angio-fibroblástica⁵³ y el reemplazo de colágeno tipo III por tipo I, alterando así la composición de la matriz colágena, siendo el resultado final una menor resistencia a las fuerzas tensiles.^{54,55,56}

RESULTADOS

En las 14 muestras evaluadas, 3 correspondían a tendones normales (inestabilidad y luxación acromio-clavicular); las 11 restantes correspondían a ruptura del manguito rotador, de distintos grados de cronicidad, lo que nos permitió observar variados cambios histológicos.

La alteración de la matriz colágena, remarcada con la técnica de tricrómico de Masson, junto con la proliferación vascular, evaluada con hematoxilina eosina y destacada con CD34, fueron los hallazgos más trascendentes en cuanto al cambio en la histoarquitectura normal de los tendones, coincidiendo esto con las rupturas que llevaban más tiempo de evolución.

El tricrómico de Masson nos permite destacar la trama

colágena, pudiendo observar la pérdida de la alineación de las fibras. Lo evaluamos como 0 normal, y de leve a severo con score numérico de 1 a 3.

Las lesiones con menor tiempo de evolución mostraron menor distorsión de la arquitectura, destacándose en ellas el edema.

La hiperplasia sinovial fue variable, siendo más grosera en las lesiones con mayor daño histológico (Fig. 7).

En cuanto al infiltrado linfocitario, presencia de macrófagos, fibroblastos activados y mastocitos, los mismos fueron variables según las distintas lesiones. Los evaluamos con hematoxilina eosina y confirmamos su presencia con histoquímica, Giemsa, para mastocitos y técnicas de inmunohistoquímica para demostración de CD45 (linfocitos), CD68 (macrófagos).

En dos de los casos, la metaplasia condroide fue protagonista en la imagen histológica coincidiendo con una historia de daño de larga evolución (Fig. 8).

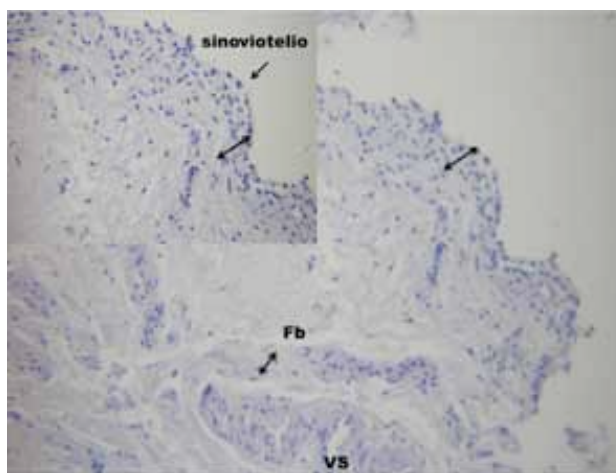


Figura 7: Patrón Crónico. Hiperplasia del sinoviotelio, presencia de fibroblastos (Fb) e incremento de la vascularización (VS). HE X20.

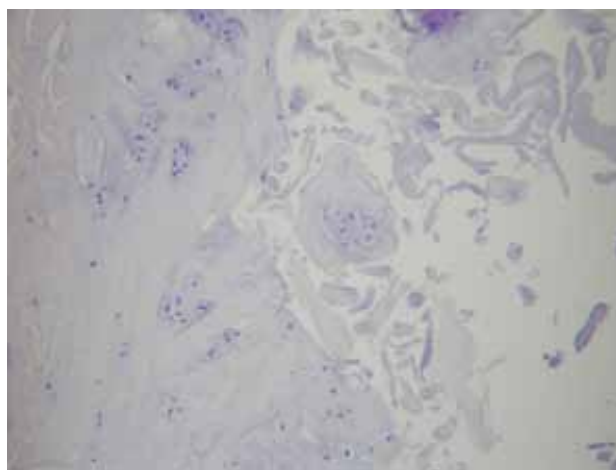


Figura 8: Metaplasia condroide. HE X 20.

DISCUSIÓN

El manejo terapéutico de las rupturas del manguito rotador continúa siendo controvertido, y si bien las nuevas configuraciones de reparación (tercera generación) estarían mejorando la sobrevida, el índice de re-ruptura sigue siendo demasiado alto en las lesiones grandes y masivas.

En la actualidad, gran parte de los recursos de investigación se enfocan en mejorar las propiedades biomecánicas de los implantes y de las técnicas de sutura.

Los modelos biomecánicos mejoraron y tratan de imitar la realidad anatómica de inserción en un área (footprint), prestando mayor atención a la interface tendón hueso, aumentando la superficie de contacto y presión de contacto y disminuyendo el micro movimiento, factores que teóricamente afectarían positivamente en el proceso biológico de la cicatrización.

Nuevas investigaciones apuntan a mejorar el escenario biológico para la curación, como el cruentado del lecho óseo, diseños de técnicas que excluyan los anclajes del área de inserción (tercera generación o suturas en puente), anclajes perforados, todas técnicas tendientes a aumentar el volumen de sangre en la interface.

Finalmente, la utilización de concentrados plaquetarios ricos en factores de crecimiento, inyectados intratendón o en la interface, en forma líquida o solidificada, abren una nueva esperanza en la batalla para disminuir definitivamente la posibilidad de re-rupturas.⁵⁷

En el presente trabajo realizamos una evaluación histológica exhaustiva y detallada, incorporando técnicas de alta complejidad en cuanto a los métodos de estudio en cada biopsia, lo que nos permitió realizar un score de evalua-

ción histológica reproducible, luego, solo con técnicas de hematoxilina eosina, donde hemos podido observar objetivamente los diferentes cambios anatomopatológicos en los distintos casos clínicos, pudiendo cuantificar las diferentes lesiones.

En el proceso de cicatrización del tendón, la fuerza y durabilidad del método de reparación utilizado juegan un rol preponderante en el camino hacia la reparación.

Hay evidencia de estudio in vitro, que demuestran que el plasma rico en plaquetas,^{58,59,60,61} posee los factores de crecimiento e interleukinas, que favorecerían la angiogénesis⁶² y la migración de células pluripotenciales⁶³ hacia el sitio de reparación y su posterior diferenciación a tenocitos.

Estudios in vivo en animales demostraron que estos factores favorecerían la reparación de los tendones del manguito rotador, no así para las lesiones del tendón de Aquiles, las cuales a diferencia del manguito rotador se comportan como lesiones agudas.⁶⁴

Futuros diseños de investigación, con grupos control, en donde se disminuya al máximo las variables que puedan intervenir, modificando procesos de cicatrización o reparación, comprobables por medio de estudios histológicos In Vivo, son necesarios para acercarnos cada vez más a la posibilidad de un tratamiento óptimo de esta patología.

AGRADECIMIENTOS

Agradecemos a Silvana Nieto, Encargada de Área de citotecnología del CEMIC, por su valiosa tarea técnica en la realización de preparados histológicos y técnicas de histo e inmunohistoquímica, fundamentales para la realización del presente trabajo.

BIBLIOGRAFÍA

1. Thomopoulos S., Hattersley G., Rosen V., et al. The localized expression of extracellular matrix components in healing tendon insertion sites: an in situ hybridization study. *Journal of orthopaedic research*. 2002;20(3):454-63.
2. Thomopoulos S., Williams G. R., Gimbel J. a, Favata M., Soslowky L. J. Variation of biomechanical, structural, and compositional properties along the tendon to bone insertion site. *Journal of orthopaedic research* 2003;21(3):413-9.
3. Tillander B., Franzén L., Norlin R. Fibronectin, MMP-1 and histologic changes in rotator cuff disease. *Journal of orthopaedic research*. 2002;20(6):1358-64.
4. Zhang J., Wang J. H-C. Mechanobiological response of tendon stem cells: implications of tendon homeostasis and pathogenesis of tendinopathy. *Journal of orthopaedic research* 2010;28(5):639-43.
5. Benson R. T., McDonnell S. M., Knowles H. J., et al. Tendinopathy and tears of the rotator cuff are associated with hypoxia and apoptosis. *The Journal of bone and joint surgery. British volume*. 2010;92(3):448-53.
6. Yuan J., Murrell G. a C., Wei A-Q, Wang M-X. Apoptosis in rotator cuff tendonopathy. *Journal of orthopaedic research* . 2002;20(6):1372-9.
7. Lakemeier S., Reichelt J. J. a, Patzer T., et al. The association between retraction of the torn rotator cuff and increasing expression of hypoxia inducible factor 10 and vascular endothelial growth factor expression: an immunohistological study. *BMC musculoskeletal disorders*. 2010;11:230.
8. Kim H. M., Dahiya N., Teefey S. a, et al. Relationship of tear size and location to fatty degeneration of the rotator cuff. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*. 2010;92(4):829-39.
9. Kim H. M., Dahiya N., Teefey S. A., et al. Location and initiation of degenerative rotator cuff tears: an analysis of three hundred and sixty shoulders. *The Journal of bone and joint surgery. American volume*. 2010;92(5):1088-96.
10. Ko J-Y., Huang C. C., Chen W-J., et al. Pathogenesis of partial tear of the rotator cuff: a clinical and pathologic study. *Journal of shoulder and elbow surgery* . 1998;15(3):271-8.
11. Lo I., Burkhart S. Biomechanical principles of arthroscopic repair of the rotator cuff. *Operative Techniques in Orthopaedics*. 2002;12(3):140-155.
12. Yadav H., Nho S., Romeo A., MacGillivray J. D. Rotator cuff tears: pathology and repair. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy*. 2009;17(4):409-21.
13. Longo U. G., Franceschi F., Ruzzini L., et al. Histopathology of the

- supraspinatus tendon in rotator cuff tears. *The American journal of sports medicine*. 2008;36(3):533-8.
14. Longo U. G., Franceschi F., Ruzzini L., et al. Light microscopic histology of supraspinatus tendon ruptures. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy*. 2007;15(11):1390-4.
 15. Longo U. G., Franceschi F., Ruzzini L., et al. Light microscopic histology of supraspinatus tendon ruptures. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy*. 2007;15(11):1390-4.
 16. Chuen F. S., Chuk C. Y., Ping W. Y., et al. Immunohistochemical characterization of cells in adult human patellar tendons. *The journal of histochemistry and cytochemistry : official journal of the Histochemistry Society*. 2004;52(9):1151-7.
 17. Kim S. Y., Boynton E. L., Ravichandiran K., et al. Three-dimensional study of the musculotendinous architecture of supraspinatus and its functional correlations. *Clinical anatomy (New York, N.Y.)*. 2007;20(6):648-55.
 18. Wang V. M., Wang F. C., McNickle A. G., et al. Medial versus lateral supraspinatus tendon properties: implications for double-row rotator cuff repair. *The American journal of sports medicine*. 2010;38(12):2456-63.
 19. Buck F. M., Grehn H., Hilbe M., et al. Magnetic resonance histologic correlation in rotator cuff tendons. *Journal of magnetic resonance imaging : JMRI*. 2010;32(1):165-72.
 20. Fallon J., Blevins F. T., Vogel K., Trotter J. Functional morphology of the supraspinatus tendon. *Journal of orthopaedic research*. 2002;20(5):920-6.
 21. Gates J. J., Gilliland J., McGarry M. H., et al. Influence of distinct anatomic subregions of the supraspinatus on humeral rotation. *Journal of orthopaedic research*. 2010;28(1):12-7.
 22. Malcarney H. L., Murrell G. a C. The rotator cuff: biological adaptations to its environment. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*. 2003;33(13):993-1002
 23. Roh M. S., Wang V. M., April E. W., et al. Anterior and posterior musculotendinous anatomy of the supraspinatus. *Journal of shoulder and elbow surgery* 9(5):436-40.
 24. Benjamin M., Ralphs J, R. Fibrocartilage in tendons and ligaments—an adaptation to compressive load. *Journal of anatomy*. 1998;193 (Pt 4):481-94.
 25. Benjamin M., Toumi H., Ralphs J, R., et al. Where tendons and ligaments meet bone: attachment sites (“entheses”) in relation to exercise and/or mechanical load. *Journal of anatomy*. 2006;208(4):471-90.
 26. Clark J, M., Harryman II D, T. Tendons, ligaments, and capsule of the rotator cuff. *J Bone Joint Surg* 1992; 74^a(5): 713-25.
 27. O'Brien M. Structure and metabolism of tendons. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 1997;7(2):55-61.
 28. Archambault J., Jelinsky S., Lake S., et al. Rat supraspinatus tendon expresses cartilage markers with overuse. *Journal of Orthopaedic Research*. 2007;25(5):617-624.
 29. Andres B, M., Murrell GAC. The biology of rotator cuff tears. *Current Orthopaedic Practice*. 2008;19(6):516-23.
 30. Dourte L, M., Perry S, M., Getz C, L., Soslowsky L, J. Tendon properties remain altered in a chronic rat rotator cuff model. *Clinical orthopaedics and related research*. 2010;468(6):1485-92.
 31. Järvinen M., Józsa L., Kannus P., et al. Histopathological findings in chronic tendon disorders. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 1997;7(2):86-95.
 32. Nho S, J., Yadav H., Shindle M, K., Macgillivray J, D. Rotator cuff degeneration: etiology and pathogenesis. *The American journal of sports medicine*. 2008;36(5):987-93.
 33. Khan K, M., Cook J, L., Bonar F, Harcourt P, Astrom M. Histopathology of common tendinopathies. Update and implications for clinical management. *Sports medicine (Auckland, N.Z.)*. 1999;27(6):393-408.
 34. Tuite D, Renström P, O'Brien M. The aging tendon. *Scandinavian journal of medicine & science in sports*. 1997;7(2):72-77.
 35. Keene D, R., Sakai L, Y., Burgeson R, E. Human bone contains type III collagen, type IV collagen, and fibrillin: type III collagen is present on specific fibers that may mediate attachment of tendons, ligaments, and periosteum to Calcified bone cortex. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry*. 1991;39(1):59.
 36. Fung D, T., Wang V, M., Laudier D, M., et al. Subrupture tendon fatigue damage. *Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2009;27(2):264-73.
 37. Järvinen T, a H., Järvinen T, L, N., Kannus P., Józsa L., Järvinen M. Collagen fibres of the spontaneously ruptured human tendons display decreased thickness and crimp angle. *Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2004;22(6):1303-9.
 38. Joseph M., Maresh C. M., McCarthy M. B., et al. Histological and molecular analysis of the biceps tendon long head post-tenotomy. *Journal of orthopaedic research: official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2009;27(10):1379-85
 39. Rosa T. L. D., Wang A. W., Zheng M. H., et al., others. TENDINOSIS OF THE ROTATOR CUFF: A REVIEW. *Journal of Musculoskeletal Research*. 2001;5(3):143-158
 40. Koike Y., Trudel G., Uthoff H. Formation of a new enthesis after attachment of the supraspinatus tendon: A quantitative histologic study in rabbits. *Journal of Orthopaedic Research*. 2005;23(6):1433-1440.
 41. Liu X., Manzano G., Kim H. T., Feeley B. T. A rat model of massive rotator cuff tears. *Journal of orthopaedic research : official publication of the Orthopaedic Research Society*. 2011;29(4):588-95.
 42. Fealy S., Adler R. S., Drakos M. C., et al. Patterns of vascular and anatomical response after rotator cuff repair. *The American journal of sports medicine*. 2006;34(1):120-7
 43. Finnian RP, Crosby LA. Partial-thickness rotator cuff tears. *Journal of shoulder and elbow surgery*. 2010;19(4):609-16.
 44. Marsolais D, Côté CH, Frenette J. Neutrophils and macrophages accumulate sequentially following Achilles tendon injury. *Journal of orthopaedic research*. 2001;19(6):1203-9.
 45. Glazebrook M a, Wright JR, Langman M, Stanish WD, Lee JM. Histological analysis of achilles tendons in an overuse rat model. *Journal of orthopaedic research : official*. 2008;26(6):840-6.
 46. Goodmurphy C. An immunocytochemical analysis of torn rotator cuff tendon taken at the time of repair. *Journal of Shoulder and Elbow Surgery*. 2003;12(4):368-374.
 47. Gotoh M, Hamada K, Yamakawa H, et al. Significance of granulation tissue in torn supraspinatus insertions: an immunohistochemical study with antibodies against interleukin-1 beta, cathepsin D, and matrix metalloprotease-1. *Journal of orthopaedic research*. 1997;15(1):33-9.
 48. Itoigawa Y, Kishimoto KN, Sano H, Kaneko K, Itoi E. Molecular mechanism of fatty degeneration in rotator cuff muscle with tendon rupture. *Journal of orthopaedic research* . 2011:1-6.
 49. Maffulli N, Longo UG, Maffulli GD, et al. Marked pathological changes proximal and distal to the site of rupture in acute Achilles tendon ruptures. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : published on line* 2010.DOI 10.1007/s00167-010-1193-2
 50. Sano H, Ishii H, Yeadon a, et al. Degeneration at the insertion weakens the tensile strength of the supraspinatus tendon: a comparative mechanical and histologic study of the bone-tendon complex. *Journal of orthopaedic research*. 1997;15(5):719-26.
 51. Koike Y, Trudel G, Curran D, Uthoff HK. Delay of supraspinatus repair by up to 12 weeks does not impair enthesis formation: a quantitative histologic study in rabbits. *Journal of Orthopaedic Research*. 2006;24(2):202-210.

52. Sonnabend DH, Howlett CR, Young a. Histological evaluation of repair of the rotator cuff in a primate model. *The Journal of bone and joint surgery. British volume.* 2010;92(4):586-94.
53. Silva MJ, Ritty TM, Ditsios K, et al. Tendon injury response: assessment of biomechanical properties, tissue morphology and viability following flexor digitorum profundus tendon transection. *Journal of orthopaedic research.* 2004;22(5):990-7.
54. Galatz LM, Sandell LJ, Rothermich SY, et al. Characteristics of the rat supraspinatus tendon during tendon-to-bone healing after acute injury. *Journal of Orthopaedic Research.* 2006;24(3):541-550.
55. Matthews T, Brinsden M, Athanasou N, Rees J, Carr A. Prediction of rotator cuff repair failure by histological analysis. *Shoulder & Elbow.* 2009;1(1):10-14.
56. Newsham-West R, Nicholson H, Walton M, Milburn P. Long-term morphology of a healing bone-tendon interface: a histological observation in the sheep model. *Journal of anatomy.* 2007;210(3):318-27.
57. Chang C-H, Chen C-H, Su C-Y, Liu H-T, Yu C-M. Rotator cuff repair with periosteum for enhancing tendon-bone healing: a biomechanical and histological study in rabbits. *Knee surgery, sports traumatology, arthroscopy : official journal of the ESSKA.* 2009;17(12):1447-53.
58. Anderson D, Campbell P, Guanche C. The use of biological agents to accelerate recovery from rotator cuff repair: Path to clinical application. *Operative Techniques in Sports Medicine.* 2002;10(2):58-63.
59. Castillo TN, Pouliot M a, Kim HJ, Dragoo JL. Comparison of growth factor and platelet concentration from commercial platelet-rich plasma separation systems. *The American journal of sports medicine.* 2011;39(2):266-71.
60. Castricini R, Longo UG, De Benedetto M, et al. Platelet-Rich Plasma Augmentation for Arthroscopic Rotator Cuff Repair: A Randomized Controlled Trial. *The American journal of sports medicine.* 2010.
61. Obaid H, Connell D. Cell therapy in tendon disorders: what is the current evidence? *The American journal of sports medicine.* 2010;38(10):2123-32.
62. Kajikawa Y, Morihara T, Sakamoto H, et al. Platelet-rich plasma enhances the initial mobilization of circulation-derived cells for tendon healing. *Journal of cellular physiology.* 2008;215(3):837-45.
63. Riley G. Chronic tendon pathology: molecular basis and therapeutic implications. *Expert reviews in molecular medicine.* 2005;7(5):1-25.
64. Schepull T, Kvist J, Norrman H, et al. Autologous Platelets Have No Effect on the Healing of Human Achilles Tendon Ruptures: A Randomized Single-Blind Study. *The American Journal of Sports Medicine.* 2011.39(1): 38-47