

Studio clinico sull'efficacia della viscosupplementazione con carbossimetilcellulosa amidata nella patologia degenerativa articolare del gomito del cane



Introduzione - La viscosupplementazione è una terapia sintomatica per il trattamento dell'osteoartrosi (OA) introdotta storicamente mediante iniezione intrarticolare di acido ialuronico (HA). La carbossimetilcellulosa amidata (CMCA) è un materiale di sintesi con proprietà reologiche simili all'HA, ma che richiede un numero inferiore di applicazioni.

Scopo del lavoro - Valutare l'efficacia di un prodotto a base di CMCA (Viscoten®) per la terapia sintomatica dell'OA del gomito nel cane.

Materiali e metodi - Un totale di 19 cani affetti da OA del gomito (30 gomiti trattati in totale) hanno ricevuto due iniezioni intrarticolari di Viscoten®: alla presentazione (T0) e dopo sei mesi (T6). I pazienti sono stati sottoposti nell'arco di 9 mesi a visite ortopediche, radiografie, videoregistrazioni, pedana podometrica, esame citologico del liquido sinoviale e questionario di valutazione da parte dei proprietari.

Risultati - I risultati dell'esame ortopedico riportavano un miglioramento significativo ($p < 0,05$) a tre mesi (T3) e a sei mesi (T6) post-iniezione. Si osservava una valutazione media positiva dei proprietari a T3 e T6. Nel 47% dei pazienti migliorava il quadro citologico. La pedana podometrica valutata su 23 gomiti evidenziava una maggiore superficie d'appoggio dell'arto ($T0 = 0,54 \text{ cm}^2$; $T3 = 0,65 \text{ cm}^2$; $T6 = 0,62 \text{ cm}^2$) e una migliore distribuzione del carico ($T0 63,70 \text{ g/cm}^2$; $T3 48,47 \text{ g/cm}^2$; $T6 48,69 \text{ g/cm}^2$).

Discussione - La valutazione dell'efficacia clinica della CMCA ha dimostrato un miglioramento significativo dei parametri analizzati soprattutto a T3; si ipotizza che a T6 il prodotto inizi a essere riassorbito dai tessuti circostanti. La CMCA si può considerare una molecola valida nel trattamento dell'OA canina.

Chiara Adorini^{1*},
Med Vet,
CVA, CCRT

Chiara Colautti²,
Med Vet

Daniele Coz³,
Med Vet

Sara Del Ponte⁴,
Dott. Ing

Giulio Lenarduzzi^{2*},
Med Vet

¹ Ambulatorio Veterinario Dott.ssa. Adorini, Zugliano, Pozzuolo del Friuli, Udine

² Ambulatorio Veterinario Dott. Lenarduzzi, Udine

³ Studio Associato Dott. Coz e Dott.ssa Legisa, Gorizia

⁴ HPF Spa, Flagogna, Forgaria del Friuli, Udine

*Corresponding Author (chiara.adorini@gmail.com)

*Corresponding Author (giuliolena@libero.it)

Ricevuto: 11/04/2016 - Accettato: 20/02/2018

INTRODUZIONE

L'osteoartrite (OA) è una patologia che si manifesta con dolore e zoppia associate a modificazioni patologiche della cartilagine articolare e del tessuto connettivo^{1,2}. I principali fattori che spesso predispongono i pazienti veterinari allo sviluppo dell'osteoartrosi sono riconducibili ad alterate forze biomeccaniche o ad un'alterata conformazione articolare e dello sviluppo dello scheletro. Questi cambiamenti innescano un ciclo irreversibile di infiammazione e deterioramento che causano rigidità articolare, gonfiore, dolore e disfunzione¹.

Ad oggi non esiste una cura per questa malattia, spesso viene gestita in maniera conservativa attraverso una combinazione di terapie quali: fisioterapia, riduzione del peso, farmaci antinfiammatori, nutraceuti, terapie alternative, trapianto di condrociti autologhi, cellule staminali mesenchimali, viscosupplementazione, radioterapia, interventi chirurgici come il debridement articolare, chirurgia micropick, osteotomia omerale o ulnare per scaricare il peso dal compartimento mediale, radioterapia, protesi articolare e artrodesi^{1,3,4,6,7,8,9,10,11,12}.

La viscosupplementazione nelle articolazioni può essere di beneficio nel trattamento dell'osteoartrosi.

L'iniezione intrarticolare di HA è stata impiegata a partire dagli anni '70 sulle persone e l'utilizzo di questa tecnica è cresciuto significativamente nel corso dell'ultimo decennio¹³. Di norma l'HA è sintetizzato da sinoviociti o fibroblasti e rilasciato nell'articolazione per resistere allo stress meccanico e alle forze di taglio^{13,14}.

L'osteoartrosi articolare causa una riduzione della concentrazione e del peso molecolare dell'HA, questo comporta una minor viscoelasticità e una maggior predisposizione al deterioramento cartilagineo. Le infiltrazioni di HA sono state sviluppate per alleviare il dolore, migliorare la capacità di movimento e fornire un'azione antinfiammatoria^{13,14}.

Tuttavia l'HA, riassorbendosi rapidamente, rende necessarie multiple iniezioni intrarticolari¹⁴. Il derivato amidato della carbossimetilcellulosa (CMCA) è un polisaccaride che, in forma di idrogel, dimostra un comportamento fisico-chimico simile all'HA ma con un tempo di riassorbimento meno rapido^{14,16}. Dal punto di vista fisico-chimico la CMCA si caratterizza per la sua viscoelasticità, resistenza a stress continui e per un basso livello di attrito, simile a quello dell'HA. Inoltre, la CMCA agisce da cuscinetto resistendo alle sollecitazioni intrarticolari senza perdere le sue proprietà meccaniche.

Uno studio sperimentale in vivo sul coniglio ha dimostrato le capacità di rigenerazione dei tessuti dell'idro-

gel di CMCA con un minor tempo di deterioramento del polisaccaride, giustificando così la necessità di un numero inferiore di applicazioni rispetto all'HA¹⁴.

La CMCA è un agente biocompatibile sicuro che può essere usato nella cura per l'osteoartrite¹⁷. In questo studio clinico esaminiamo l'effetto dell'iniezione intrarticolare della CMCA nel cane affetto da OA. Ipotizziamo che l'impiego del gel di CMCA sia una procedura sicura da compiere e che migliori lo stato di OA del cane per un periodo di almeno sei mesi.

MATERIALI E METODI

I soggetti di proprietà sono stati arruolati nello studio tra gennaio 2013 e novembre 2014 presso l'ambulatorio veterinario del Dr. Lenarduzzi (Udine, Italia). A tutti i cani era stata diagnosticata, clinicamente e radiograficamente, l'OA su una o entrambe le articolazioni del gomito. Non sono stati inclusi nello studio i cani che manifestavano gravi malattie concomitanti o alterazioni dei parametri sanguigni. Ai clienti è stato fatto firmare un consenso informato e sono state date loro le istruzioni su come rispondere al questionario di valutazione in merito alla reazione del cane al trattamento. I cani che presentavano grave osteoartrosi del gomito con un collasso completo dello spazio intrarticolare o perdita ossea, non sono stati considerati come oggetto di questo studio.

Diciannove cani sono stati sottoposti alla viscosupplementazione intrarticolare con CMCA e controllati quattro volte in nove mesi.

Impostazione dello studio

I pazienti sono stati visitati in quattro momenti diversi (T0, T3, T6, T9) per un periodo complessivo di nove mesi, come descritto nella Tabella 1. In questo lasso di tempo i cani sono stati sottoposti a due iniezioni intrarticolari di idrogel di CMCA (Viscoten® HPFVet, Fagagna, Udine, Italia) a distanza di sei mesi, considerata l'efficacia di questo prodotto che era stata studiata in precedenza per questo arco di tempo^{17,18,19,20,21}. Gli esami ortopedici e le iniezioni di Viscoten® sono state eseguite

La CMCA è stata iniettata per via intrarticolare usando un volume che variava a seconda della taglia e dello spazio intrarticolare.

dallo stesso chirurgo (GL), i dati della pedana podometrica e gli strisci dell'esame citologico del liquido sinoviale sono stati analizzati da altri osservatori (SDP, DC).

Tabella 1 - Alla presentazione (T0) i valori basali sono stati valutati mediante esame ortopedico, esame visivo e registrazione video dell'andatura, analisi con pedana podometrica, radiografie e citologia del fluido sinoviale. I candidati in buono stato di salute, sono stati selezionati dopo aver eseguito esami del sangue di controllo. Quindici giorni dopo l'iniezione intrarticolare di Viscoten® a T0, sono stati predisposti questionari di valutazione telefonica (T0,5). A tre mesi (T3) sono stati rivalutati i pazienti con esame ortopedico, esame dell'andatura visivo e videoregistrato, analisi con pedana podometrica. A 6 mesi (T6) con esame ortopedico, esame dell'andatura visivo e videoregistrato, analisi con pedana podometrica, analisi del sangue ed esame citologico del fluido sinoviale. La seconda iniezione di Viscoten® è stata eseguita a questo punto e i candidati sono stati rivalutati dopo 3 mesi (T9) seguendo gli stessi criteri adottati a T3.

	T0	T0,5 15 days	T3 3 months	T6 6 months
Esame ortopedico	X	X	X	X
Analisi videoregistrata dell'andatura	X		X	X
Pedana podometrica	X		X	X
Radiografie	X			X
Profilo emocromocitometrico e biochimico completo	X			X
Citologia del liquido sinoviale	X			X
Iniezione di Viscoten	X			X
Questionario compilato dal cliente		X	X	X
Esame ortopedico	X	X	X	X

Il citologo (DC) non veniva messo a conoscenza della risposta clinica dei pazienti al trattamento.

Esame ortopedico, Videotape e Gait Analysis

L'esame ortopedico è stato eseguito con esame visivo e registrazione video dell'andatura al passo e al trotto utilizzando una scala di valutazione da 1 a 4 (dove 4 rappresenta il livello massimo di zoppia). L'articolazione del gomito è stata poi valutata per dolore alla palpazione, versamento e crepitio. I dati relativi alla presenza di versamento e crepitio sono stati analizzati utilizzando una scala da 0 a 3, dove 3 rappresenta la peggiore condizione con immediata retrazione dell'arto da parte del paziente ad ogni intento di manipolazione.

Gait analysis

È stata usata la pedana podometrica (freeMed®, Sensor Medica, Roma, Italia). Sono stati considerati validi solamente i dati ottenuti da un minimo di otto ad un massimo di dodici misurazioni per ogni arto interessato da patologia. Le analisi sono rapportate al peso del paziente. Il picco massimo di forza verticale (PVF) e la superficie di appoggio (BS) sono stati registrati a T0, T3, T6, T9. I valori medi del PVF (espressi in g/cm²) e i valori della BS sono stati espressi dal software (freeStep®, Sensor Medica, Rome, Italy) usando la media percentuale. La pedana consta di sensori rivestiti in oro 24 k e materiale plastico conduttivo. Ogni sensore della pedana è di 1 cm² ed è suddiviso in ulteriori 4 parti che ci restituiscono 4 valori: da questi valori si va ad individuare l'area a pressione massima. Il sistema somma le risposte to-

Complessivamente, i parametri analizzati sono migliorati in maniera notevole; inclusi quelli relativi alla superficie di appoggio e al picco di forza verticale degli arti anteriori interessati del cane.

tali dei sensori, le rapporta al peso del cane e individua e calcola con una formula matematica le aree BS e quelle a pressione massima verticale PVF.

Studio radiografico

I cani sono stati posti in sedazione con 3 mcg/kg IM di medetomidina, 0,1 mg/kg IM di metadone, 1 mg/kg di propofol in bolo ad effetto. Sono state eseguite le proiezioni mediolaterali e craniocaudali del gomito. Le lesioni osteoartrosiche sono state valutate secondo i criteri dell'International Elbow Working Group²⁷. Gomito con valore 0 veniva considerato normale; valore 1: lieve OA articolare; valore 2: moderata OA o sospetta lesione primaria; valore 3: OA grave o evidente lesione primaria.

Protocollo utilizzato per la CMCA

Viscoten® è una soluzione polimerica reticolata del polisaccaride lineare CMCA più acqua e idrogel. Questa composizione permette alla CMCA di modificare facilmente la sua struttura passando da viscosa a elastica a seconda del diverso carico pressorio^{18,21}. Prima dell'utilizzo, Viscoten® era contenuto in siringhe monouso da 4 ml all'interno di confezioni refrigerate e sterili. Le siringhe sono state lasciate a temperatura ambiente

Tabella 2 - Indicare su una scala da 1 a 10 dove "1" sta per grave peggioramento, "3" per peggioramento significativo, "5" per condizioni invariate, "6" per piccoli benefici ottenuti dal trattamento, "8" per benefici significativi e "10" per grandi benefici. Nella voce corrispondente alla modificazione del comportamento sono stati annotati e valutati i cambiamenti nell'appetito seguendo una scala da 0 a 10 con "0" a indicare il cane inappetente e "10" il cane con appetito ottimale.

	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
Camminata, trotto e a riposo										
Facilità del cane a sedersi										
Distendersi e alzarsi										
Facilità nel muoversi										
Riuscire a saltare										
Eseguire attività quotidiane come salire e scendere dal divano										
Percezione del dolore con cambi di posizione										
Miglioramento della qualità di vita complessiva										
Volontà del cane ad essere attivo, in movimento										
Miglioramento del comportamento complessivo										

quindici minuti prima dell'iniezione. I cani sono stati sedati e posizionati in decubito laterale a seconda del gomito interessato, sono stati rasati e preparati in condizioni di asepsi. Per pulire la zona è stata usata la soluzione di clorexidina-alcool (Dermoscrub, Lombarda H s.r.l., Abbiategrasso MI) alternata tre volte all'alcool e ad una soluzione antisettica (Esosan Pronto, Ecolab, Agrate Brianza MB).

Il liquido sinoviale è stato aspirato dallo spazio intrarticolare: la quantità variava da 0,1 ml a 4 ml a seconda della taglia e dello stato di infiammazione dell'articolazione del paziente. Il volume delle iniezioni Viscoten® variava da 0,4 ml a 2,1 ml, a seconda della taglia e delle dimensioni dello spazio intrarticolare. Viscoten® è arrivato all'interno di una confezione monodose sterilizzata, aghi sterili e teli chirurgici.

Dopo il risveglio i cani sono stati dimessi con l'indicazione, ai proprietari, di somministrare al bisogno farmaci antinfiammatori non steroidei (FANS) e di annotarne tipo e posologia. Inoltre si raccomandava di permettere agli animali di svolgere liberamente le attività secondo quanto tollerato.

Esame citologico del liquido sinoviale

Quindici campioni del liquido sinoviale aspirato (SF) sono stati mandati a un citologo che non era a conoscenza del trattamento a cui il paziente veniva sottoposto (Tab. 1). Quattro cani non sono stati analizzati a causa di quantità insufficiente di SF o di inadeguata cellularità del campione. Gli strisci sono stati fissati, asciugati e colorati con la colorazione May Grunwald Giemsa. Due campioni non sono stati valutati a causa dell'alta concentrazione di globuli rossi e scarsa cellularità. I campioni sono stati analizzati mediante conta manuale con microscopio ottico

ad ingrandimento 10x (Nikon Eclipse 50i, Nikon Instruments, Japan) e, per ottenere il numero di cellule per microlitro è stato utilizzato un coefficiente moltiplicatore pari a 100, 22, 23, 24, 25.

Questionario per i proprietari

Il questionario di valutazione per i proprietari è stato strutturato in 13 domande a risposta numerica compresa tra 1-10. Veniva chiesto loro di valutare il dolore dal punto di vista: psicologico, sensoriale, comportamentale e affettivo (Tab. 2). Da queste risposte è stato ottenuto un valore medio.

Analisi statistiche

I dati vengono riportati come valore medio \pm deviazione standard e il livello di significatività è stato fissato a $p < 0,05$. Le analisi statistiche sono state sviluppate usando un test t di distribuzione calcolando i valori per ogni distribuzione t. Questa funzione è stata considerata ideale per verificare le ipotesi di distribuzione di probabilità sul nostro campione di pazienti.

RISULTATI

Sono stati reclutati diciannove cani e trattati un totale di trenta gomiti. L'età media era di 6,9 anni (7 pazienti su 19 avevano dagli 1 ai 5 anni di età, 12/19 dai 6 ai 12 anni di età), il peso variava da 6,9 kg a 58,3 kg. La razza più rappresentata era il labrador retriever (8 pazienti), seguita dal pastore tedesco (3 pazienti); le altre razze presenti sono state: dogue de Bordeaux, chow chow, pastore australiano, bichon frisé, bulldog inglese e il carlino. Presentavano tutti cambiamenti strutturali lievi o medio-gravi ad uno o entrambi i gomiti causati dall'OA.

All'esame ortopedico si è visto un miglioramento significativo della zoppia al passo o al trotto ($p < 0,05$). Due cani non sono stati esaminati a T3 in quanto i proprietari non sono riusciti a portarli alla visita. A T6 solo due cani non sono stati esaminati. La zoppia variava da un valore medio di 1,68 prima dell'iniezione della CMCA a 0,93 (T3) e 0,65 (T6) mostrando quindi una diminuzione statistica significativa della zoppia in quell'arco di tempo. Il livello di dolore, versamento e crepitio sono migliorati ($p < 0,05$) se si compara T3 e T6 alla linea di riferimento (Fig. 3). Per quanto riguarda il dolore, per il 20% dei cani è stato riportato dolore nei due giorni successivi all'iniezione a T0. A T9 solo 12 pazienti su 19 sono stati condotti alla visita di controllo: a tre pazienti sono state diagnosticate malattie concomitanti, un proprietario non ha voluto guidare a causa della lunga distanza, altri tre hanno deciso di non sottoporre ad anestesia i propri cani una seconda volta. Risultati non pubblicati dell'esame ortopedico svolto a T9 indicano stabilità rispetto alle osservazioni eseguite a T6 con un leggero miglioramento della zoppia e del dolore alla palpazione in due pazienti. Crepitio e versamento articolare, invece, non hanno mostrato grandi cambiamenti rispetto a T6, fatta eccezione per due cani per cui era stato re-

In questo studio la zoppia, il dolore e il versamento articolare sono migliorati dopo l'iniezione della CMCA.

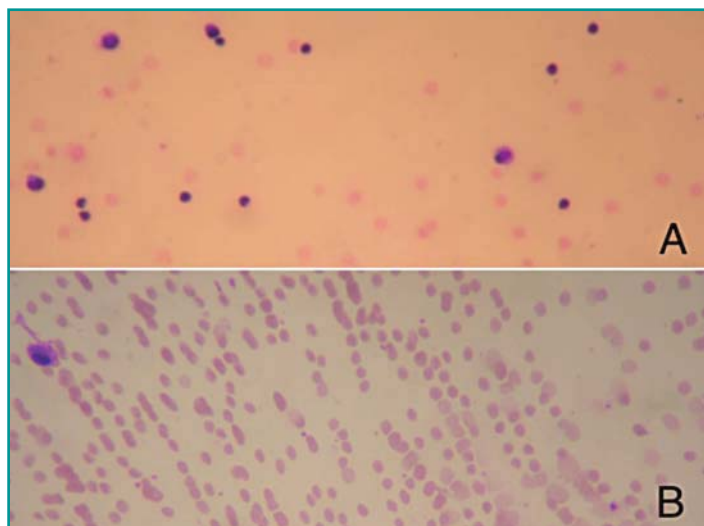


Figura 1 - Campione di liquido sinoviale di un paziente raccolto prima (A) e sei mesi dopo la seconda iniezione di Viscoten (B). Si evidenziano una riduzione della cellularità e una disposizione lineare delle cellule (qui testimoniato dalla contaminazione degli eritrociti). Questa disposizione è indice di un incremento della viscosità rispetto ai precedenti campioni.

gistrato un leggero peggioramento su questi due parametri. Grazie ai passi effettuati sulla pedana podometrica è stato possibile ottenere grafici in formato digitale sulla distribuzione della pressione delle zampe. È stato raccolto un numero adeguato di dati per quindici cani (23 gomiti) a T6, tredici di loro sono tornati per una seconda valutazione a T9 (Fig. 4; 5). Tutte le misurazioni sono state parametrizzate al peso del paziente. I sensori che misuravano la BS ad ogni singolo movi-

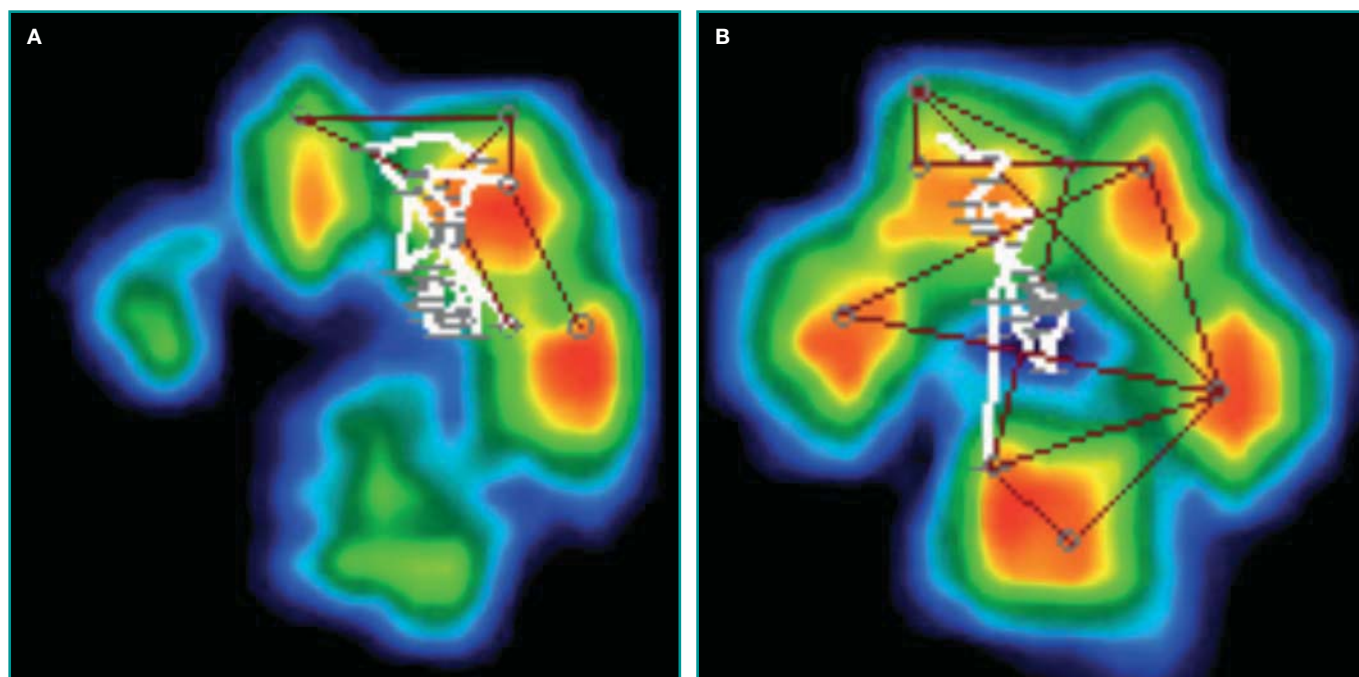


Figura 2 - Gus, labrador retriever, 33 kg, 1 anno di età. I risultati della pedana podometrica della zampa anteriore destra prima (A) e dopo (B) l'applicazione. Le aree con la forza di appoggio più intensa sono segnate in rosso, mentre il giallo, il verde e il blu indicano rispettivamente la diminuzione graduale dei punti di forza. La figura rivela un aumento significativo nella superficie di contatto.

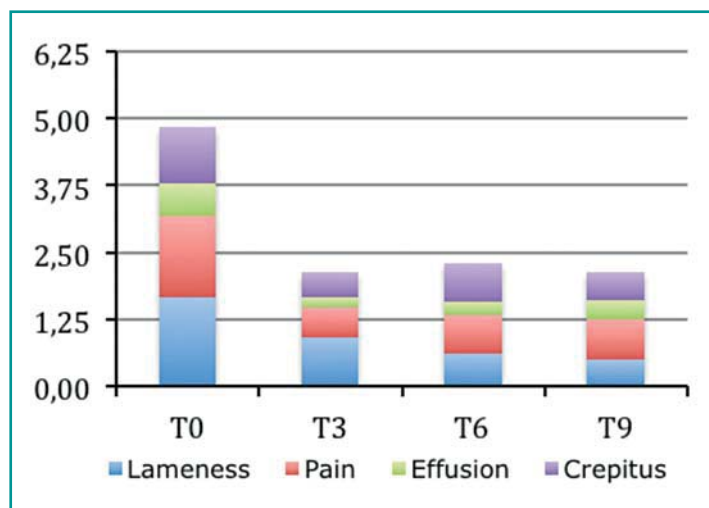


Figura 3 - I risultati ottenuti da un esame ortopedico video nel quale veniva valutato il livello di zoppia in relazione a dolore, crepitio e versamento a T0, T3, T6, T9. I risultati sono stati normalizzati in base al numero di pazienti. Si evidenzia un miglioramento significativo della condizione clinica. I risultati migliori sono stati raggiunti a T3 e a T9, tre mesi dopo l'iniezione di Viscoten®.

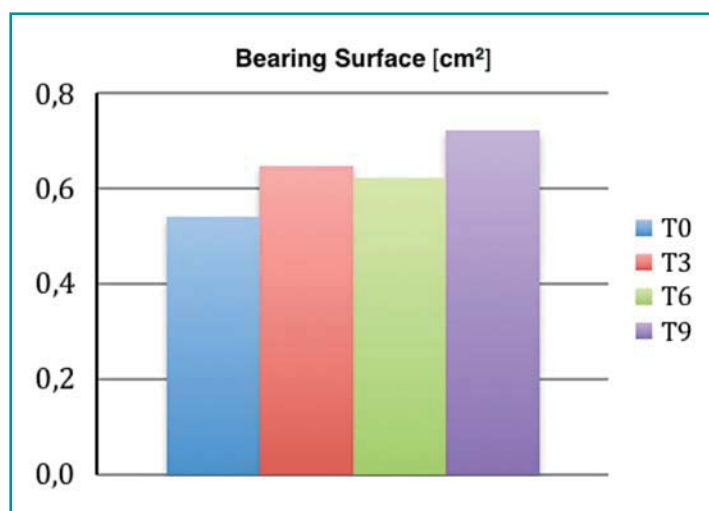


Figura 4 - Rappresenta l'incremento medio nella superficie di appoggio del paziente da T0 a T9. C'è una piccola deflessione nella colonna T6, indice che Viscoten® sta iniziando a riassorbirsi.

mento di zampa hanno mostrato un miglioramento a T3, T6 e T9 nella maggior parte dei casi (Tabella 3). Un cane non è migliorato in maniera evidente, un altro esemplare a T3 ha mostrato un incremento pari a 300 volte. I valori di quest'ultimo sono poi tornati ad essere simili a quelli degli altri pazienti, ragion per cui si ipotizza ci sia stato un errore durante l'acquisizione dei dati. Questo cane non è stato preso in considerazione per nessuna analisi statistica relativamente alla pedana podometrica. Il PVF è diminuito in tutti i casi analizzati tranne due, i quali mostravano un leggero aumento del PVF pari a 0,1-0,3% a T3. I cani affetti da una condizione bilaterale rivelano una pressione media per zampa stabile prima e dopo Viscoten®, ma dopo

Tabella 3 - Dati che dimostrano un miglioramento significativo della superficie d'appoggio come descritto nella Tabella 4.

Superficie d'appoggio				
	T0	T3	T6	T9
Gomiti	23	23	23	13
Valore medio	0,54	0,65	0,62	0,72
Deviazione Standard	0,17	0,12	0,12	0,09
p<0,05	p<0,06	p<0,07	p<0,08	p<0,09

Tabella 4 - Dati che dimostrano un miglioramento significativo del PVF.

Picco Massimo di Forza Verticale (PVF)				
	T0	T3	T6	T9
Gomiti	25	25	25	15
Valore medio	63,70	48,47	48,69	53,07
Deviazione Standard	13,38	8,46	9,43	11,40
p<0,05	p<0,11	p<0,12	p<0,13	p<0,14

la viscosupplementazione è stato possibile evidenziare la presenza di una più ampia superficie d'appoggio (Fig. 2).

La valutazione radiografica dell'articolazione del gomito mostra un valore medio di 2,7 su 3 prima del trattamento. Otto pazienti su diciannove erano affetti da lesioni primarie o secondarie di OA: a quattro è stata diagnosticata la frammentazione del processo coronoideo e sono stati curati mediante mini-artrotomia mediale con rimozione del frammento; a due pazienti con mancata unione del processo anconeale è stato rimosso il processo anconeale utilizzando un approccio caudolaterale, due pazienti erano stati trattati in precedenza con osteotomia distale dell'ulna, come indicato per cani giovani con una chiusura prematura della fisi distale ulnare e radio valgo che portano a una disparità nella lunghezza radioulnare. Dall'esame radiografico undici pazienti su diciannove presentavano i gomiti affetti bilateralmente con presenza di osteofitosi, incongruenza articolare del gomito e sclerosi subtrocleare dell'ulna. A due pazienti che pesavano meno di 10 kg l'osteofitosi è stata diagnosticata in età avanzata (12 anni), per questi soggetti non si è potuto risalire al trascorso clinico. Un paziente era stato sottoposto a un'operazione chirurgica, ma il proprietario non è stato in grado di descriverla. A T0,5 i questionari compilati dai clienti mostravano un valore medio di 6,68/10, dove 5 rappresenta un cambiamento non significativo rispetto al periodo precedente all'iniezione. A T3 due clienti non avevano completato il questionario. Sempre a T3 i risultati evidenziavano un incremento positivo nel punteggio di va-

lutazione, pari a 7,18/10. Solo undici pazienti sono stati monitorati dai proprietari fino a T9 dove hanno registrato un miglioramento complessivo dell'attività e del comportamento del cane (7,25/10). Quindici campioni di liquido sinoviale sono stati considerati validi per la valutazione citologica. A sette pazienti su quindici (47%) è stata riscontrata una diminuzione importante della conta cellulare del liquido sinoviale (Fig. 1), il 27% non ha mostrato variazioni rispetto alla valutazione precedente all'iniezione e il 13% evidenziava un aumento nella cellularità del liquido. Due pazienti non sono stati esaminati in quanto i campioni presentavano un'attività macrofagica ridotta che potrebbe comportare errori durante l'esame dello striscio.

DISCUSSIONE

L'osteoartrite è una condizione invalidante che può colpire tutte le articolazioni. È stato stimato che circa il 20% della popolazione canina prova dolore a causa dell'OA^{2,26}. L'OA potrebbe essere indotta da un trauma violento, ma molto spesso è il risultato della progressione di una condizione cronica come la displasia dei gomiti²⁷. Balazs, alla fine degli anni '60, ha introdotto il concetto di viscosupplementazione di HA per ripristinare le proprietà reologiche delle articolazioni affette da osteoartrosi nelle persone²⁸. Nelle articolazioni colpite la concentrazione di HA si riduce a quasi la metà del valore normale e anche il peso molecolare è diminuito^{13,30,31}. Balazs utilizzava l'acido ialuronico per trattare l'OA post-traumatica dei cavalli da corsa con l'obiettivo di migliorare la resistenza delle articolazioni a stress da impatto e a forze di taglio, ottenendo risultati efficaci²⁹. Oggi, l'uso clinico della viscosupplementazione per trattare l'OA è cresciuto in tutto il mondo. In condizioni normali, l'HA contenuto nel liquido sinoviale, conferisce alle articolazioni proprietà viscoelastiche straordinarie permettendo il distanziamento delle superfici articolari sottoposte a carico, riducendo l'attrito, protegge meccanicamente i sinoviociti e favorisce l'accumulo di proteoglicani conferendo quindi forza^{18,30,32}. In alcune condizioni patologiche il liquido sinoviale mantiene la sua viscosità, ma perde elasticità e la capacità di proteggere le articolazioni da lesioni indotte dal movimento continuo⁸. La CMCA è un materiale composito viscoelastico ottenuto da un polimero idrofilico naturale: la carbossimetilcellulosa amidata (CMCA)¹⁴⁻²⁰. La CMCA presenta proprietà fisico-chimiche che sono molto simili a quelle dell'HA, è biocompatibile, più resistente ad attacchi enzimatici e aumenta la viscoelasticità del liquido sinoviale per un periodo di tempo più lungo¹⁶⁻¹⁷.

L'elastoviscosità mostra effetti sulla meccanosensibilità dei recettori del dolore articolari. Il dolore e la zoppia sono le caratteristiche principali dell'osteoartrite nei cani^{4,16}.

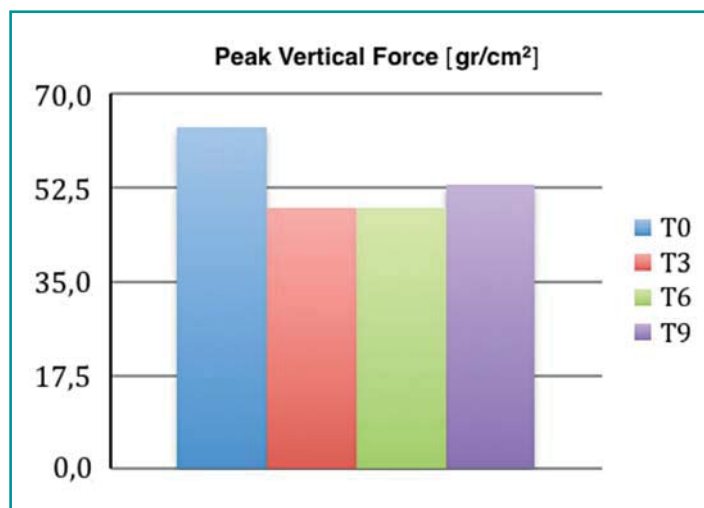


Figura 5 - Questo grafico rappresenta i valori medi associati al picco di forza verticale in diverse fasi in un arco di tempo. Il PVF diminuisce dopo le iniezioni di Viscoten® in quanto c'è una migliore distribuzione del carico.

Gli strisci citologici hanno mostrato come le cellule seguano un modello lineare nella loro disposizione, ciò significa che la CMCA è stata in grado di ristabilire la viscosità del liquido intrarticolare.

Nel nostro studio, i dati relativi alla zoppia hanno dimostrato un miglioramento significativo dopo le iniezioni di CMCA. L'entità della zoppia può non essere necessariamente correlata alla severità del dolore²⁶. Nonostante ciò, nel nostro studio, la diminuzione della zoppia era anche associata a un significativo miglioramento del dolore alla palpazione, crepitio e versamento dell'articolazione a T3. La pedana podometrica ci permette di misurare in modo oggettivo la ridistribuzione delle forze di carico a T3 e a T9. L'aumento della superficie di appoggio risultava più evidente nei cani che, secondo il questionario fornito ai proprietari, presentavano i livelli più alti di miglioramento nelle attività e nel gioco. Inoltre, all'alleviamento del dolore corrispondeva una diminuzione della conta cellulare nell'esame citologico del liquido sinoviale per sette pazienti su quindici. In quattro campioni citologici non vi sono state variazioni mentre vi era un aumento della conta cellulare in quattro campioni su quindici. In linea generale l'aumentata cellularità e la presenza di cellule multinucleate si può considerare indicatore di danno cartilagineo e di reattività articolare. L'incremento della conta cellulare osservato in quattro pazienti a T6 potrebbe essere spiegato dall'aumento del peso in appoggio sull'arto colpito. La viscosupplementazione di HA su altri modelli di animali ha dimostrato un incremento del carico e un conseguente aumento della formazione di osteofiti nell'articolazione

post-iniezione^{34,35}. Anche con CMCA si è vista una maggiore presenza di crepitio nelle articolazioni di alcuni pazienti a T9. Basandoci sulla pedana podrometrica, Viscoten® ha migliorato il carico articolare e pertanto potrebbe aver influenzato la progressione dell'osteofitosi. Inoltre, la progressione dell'osteofitosi potrebbe essere dovuta alla persistente incongruità articolare (diagnosticata a 7 pazienti per un totale di 10 gomiti) e all'attrito presente sul lato compresso dello spazio intrarticolare. Per quanto riguarda la viscosità, il liquido sinoviale patologico mostra un deterioramento delle proprietà reologiche inclusa la diminuzione della viscosità del liquido stesso^{31,36}. I risultati ottenuti a T6 evidenziavano che le cellule dell'esame citologico erano allineate. Questo modello è conosciuto anche come *windrowing* e si presenta negli strisci ad alta viscosità, ciò significa che la CMCA è stata in grado di ristabilire le proprietà reologiche del liquido²⁴. L'OA è una malattia eterogenea che si associa ad alterazioni nella cartilagine e a un complesso ambiente infiammatorio³¹. Nel nostro studio non abbiamo eseguito una valutazione istologica del tessuto danneggiato, ciononostante ipotizziamo, come aveva fatto a sua volta Walsh, che Viscoten® influisca sulla cartilagine. Usando come modello la pecora, Walsh aveva scoperto che dopo le iniezioni della CMCA la progressione del rimodellamento dell'osso subcondrale era regredita allo stato normale, non-patologico nel 75% dei campioni istologici. Studi ulteriori si rendono necessari per confermare e avvalorare questi dati sugli effetti dell'idrogel sulla progressione del danno cartilagineo. I maggiori benefici del trattamento con Viscoten® si sono visti per patologie articolari da lievi a moderate. Abbiamo ipotizzato, come riportato da Wang *et al.*, che i pazienti affetti da uno schiacciamento completo dello spazio intrarticolare o da perdita ossea all'esame radiografico, avrebbero avuto una scarsa risposta clinica al trattamento di viscosupplementazione. Inoltre, questi pazienti non sono stati considerati per lo studio dato che, anche nell'uomo, la viscosupplementazione per loro non è riuscita a ridurre la percezione di dolore^{37,38,39,40}. L'iniezione intrarticolare è una procedura invasiva, potenzialmente dolorosa, che mette il paziente a rischio di infezione⁴¹. Per evitare questo rischio il pelo è stato rasato con attenzione poco prima dell'iniezione e l'area pulita usando la soluzione clorexidina-alcool (Dermoscrub, Lombarda H s.r.l., Abbiategrasso MI) alternata tre volte all'alcool e una soluzione antisettica (Esosan Pronto, Ecolab, Agrate Brianza MB), Viscoten® era confezionato in una busta monodose sterilizzata, aghi sterili e un telo chirurgico. Per quanto riguarda il dolore, il 20% dei nostri pazienti ha mostrato segni di dolore fino a due giorni

dopo la prima iniezione a T0. La stessa reazione è stata osservata in altri studi dove venivano utilizzate procedure di viscosupplementazione^{42,43}. Si trattava di un dolore autolimitante di pochi giorni ed ai proprietari era stato permesso di somministrare ai propri animali FANS in questo lasso di tempo. Per ridurre ulteriormente il verificarsi di questo effetto negativo, il volume di Viscoten® iniettato era stato diminuito del 20% quando il paziente si ripresentava a T6. Questa diminuzione del volume aveva portato alla risoluzione del dolore post-iniezione in tutti i casi tranne uno. A conferma di ciò, la decisione del proprietario di non somministrare FANS dopo l'iniezione a T6. Le limitazioni di questo studio si attribuiscono alla mancanza di un gruppo di controllo, un numero ridotto di pazienti esaminati e un campione di pazienti non omogeneo per età, razza e presenza di condizioni unilaterali o bilaterali. Tuttavia, si è cercato di fornire una valutazione oggettiva delle osservazioni grazie all'uso della pedana podrometrica e di un citologo che non conosceva il trattamento a cui il paziente era stato sottoposto. Non tutti i pazienti hanno seguito lo studio fino a T9 ma i dati disponibili mostrano risultati incoraggianti nel livello di attività del cane. L'uso della scala di valutazione numerica nel questionario di valutazione dei proprietari, potrebbe aver portato ad un giudizio distorto e a mancanza di sensibilità²⁶. La soddisfazione generale dei proprietari è stata positiva, i loro cani sono tornati a camminare normalmente dopo il risveglio e, ancora più importante, non si sono registrati gravi effetti collaterali associati al trattamento con la CMCA. Le conclusioni sulla CMCA sono incoraggianti nonostante l'alto numero di limitazioni contenute in questo studio. Misurazioni oggettive dimostrano che è sicura, è adeguata per la viscosupplementazione intrarticolare a lungo termine nei cani e non richiede complesse

L'idrogel di CMCA può essere considerato un'opzione valida per ridurre il dolore in lievi o moderati casi di osteoartrite canina.

procedure anestetiche come altri agenti di viscosupplementazione. L'idrogel di CMCA può essere considerata un'opzione valida per alleviare il dolore nei casi di osteoartrosi canina da lieve a moderata laddove i trattamenti conservativi hanno fallito.

RINGRAZIAMENTI

Questo progetto è stato sostenuto finanziariamente da HPF SpA. Viscoten è stato gentilmente fornito da HPF SpA. Nessuno degli autori ha alcun interesse commerciale con HPF SpA.

PUNTI CHIAVE

- L'osteoartrosi è una patologia comune nel cane e si associa a dolore e zoppia. Ad oggi non esiste una cura definitiva per questa patologia ma se ne possono controllare i sintomi e la progressione grazie a una gestione terapeutica multimodale.
- L'infiltrazione intrarticolare, storicamente eseguita con l'utilizzo di acido ialuronico, è un'opzione terapeutica che allevia il dolore e ripristina le proprietà reologiche del liquido sinoviale nelle articolazioni affette da osteoartrosi.
- Il derivato amidato della carbossimetilcellulosa (CMCA) è un idrogel che per comportamento chimico-fisico è simile all'acido ialuronico ma che presenta un tempo di riassorbimento meno rapido.
- Nei pazienti canini trattati con infiltrazione di CMCA nel gomito, è migliorato significativamente il dolore alla palpazione e si è vista una migliore distribuzione del carico sulla pedana podometrica.
- Il trattamento con idrogel di CMCA non ha dato esito ad effetti collaterali gravi e può essere considerato una alternativa valida e sicura per la viscosupplementazione intrarticolare in caso di osteoartrosi nel cane.

Clinical evaluation of Intrarticular injection of an amidated carboxymethylcellulose hydrogel for the purpose of canine elbow osteoarthritis management

Summary

Introduction - Viscosupplementation is a symptomatic therapy for osteoarthritis (OA) that has been performed historically with intrarticular injection of Hyaluronic Acid (HA). Amidated carboxymethylcellulose (CMCA) displays similar properties to HA but requires a lower number of injections.

Study purpose - Evaluate the efficacy of a CMCA based compound (Viscoten®) in the treatment of canine OA.

Materials and methods - Nineteen dogs (30 elbows) diagnosed with elbow OA were examined in this study. They received two Viscoten® injections six months apart (T0; T6). Patients were re-checked periodically within a 9 months period using orthopedic exam, radiographs, video-tape assisted gait, baropodometric platform, synovial cytology and owner assessment questionnaire.

Results - Orthopaedic exam resulted in a significant ($p < 0.05$) amelioration at 3 months (T3) and 6 months (T6) follow-up. Owners mean evaluation reported improvement of symptoms within first 6 months and 47% of synovial fluid samples analyzed resulted in a decrease in cell-count. Baropodometric platform on 23 elbows showed an increase in bearing surface compared to baseline (T0=0,54 cm²; T3=0,65 cm²; T6=0,62 cm²) as well as a wider distribution of the affected front-limb load (T0 63,70 gr/cm²; T3 48,47 gr/cm²; T6 48,69 gr/cm²).

Discussion - Clinical evaluation of a CMCA compound gave us significant good results at T3 CMCA could be considered as a valid treatment in the case of canine elbow OA.

BIBLIOGRAFIA

1. Tobias KM, Spencer AJ. Veterinary Small Animal Surgery, Vol. 1. Elsevier Saunders 2012, pp. 1078-1097.
2. Johnston SA. Osteoarthritis: joint anatomy, physiology, and pathobiology. Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice 27:699, 1997.
3. Redman SN, Oldfield SF, Archer CW. Current strategies for articular cartilage repair. European Cells & Material Journal 9:23-32, 2005.
4. Sanderson RO, Beata C, Flipo RM *et al.* Systematic review of the management of canine osteoarthritis. Veterinary Record 164:418-424, 2009.
5. Mathieu P, Conrozier T, Vignon E *et al.* Rheologic Behaviour of Osteoarthritic Synovial Fluid after Addition of Hyaluronic Acid, Clinical Orthopaedics and Related Research 467:3002-3009, 2009.
6. Clegg TE, Caborn D, Mauffrey C. Viscosupplementation with hyaluronic acid in the treatment for cartilage lesions: a review of current evidence and future directions. European Journal of Orthopaedic Surgery and Traumatology 23:119-24, 2012.

7. Ruppert R, Seegenschmiedt MH, Sauer R. Radiotherapy of osteoarthritis. Indication, technique and clinical results. *Orthopade* 33:56-62, 2004.
8. Wendelburg KM, Beale BS. Medium and long term evaluation of sliding humeral osteotomy in dogs. *Veterinary Surgery* 43:804-13, 2014.
9. Fitzpatrick N, Yeadon R *et al.* Techniques of application and initial clinical experience with sliding humeral osteotomy for treatment of medial compartment disease of the canine elbow. *Veterinary Surgery* 38:261-78, 2009.
10. Mason DR, Schulz KS *et al.* Measurement of humeroradial and humeroulnar transarticular joint forces in the canine elbow joint after humeral wedge and humeral slide osteotomies. *Veterinary Surgery* 37:63-70, 2008.
11. Vezzoni A. Paul, Case selection and Clinical experience. KYON Symposium, Switzerland, 2012.
12. Kapatkin AS, Nordquist B *et al.* Effect of single dose radiation therapy on weight-bearing lameness in dogs with elbow osteoarthritis. *Veterinary and Comparative Orthopaedics and Traumatology* 29:388-43, 2016.
13. Benke M, Shaffer B. Viscosupplementation treatment of arthritis pain. *Current pain & headache Reports* 13:440-446, 2009.
14. Leone G, Delfini M, Di Cocco ME *et al.* The applicability of an amidated polysaccharide hydrogel as a cartilage substitute: structural and rheological characterization. *Carbohydrate Research* 343:317-327, 2008.
15. Leone G, Fini M, Torricelli P *et al.* An amidated carboxymethylcellulose hydrogel for cartilage regeneration. *Journal of Materials Science* 19:2873-2880, 2008.
16. Barbucci R, Leone G, Monici M *et al.* The effect of amidic moieties on polysaccharides: evaluation of the physico-chemical and biological properties of acidic carboxymethylcellulose (CMCA) in the form of linear polymer and hydrogel. *Journal of Materials Chemistry* 15:2234-2241, 2005.
17. Walsh WR, Segatti F, Mercuri D *et al.* In vivo evaluation of novel injectable hydrogel for viscosupplementation treatment. 20th Annual Meeting of the European Orthopaedic Research Society (EORS), Amsterdam, Nederland, 2012, p. 240.
18. Lapasin R, Suerz M, Grassi *et al.* Rheological characterization of an injectable polymeric blend for viscosupplementation treatment. 16th International Congress on Rheology, Lisbon, 2012, p. 446.
19. Lapasin R, Grassi M, Battiston *et al.* Caratterizzazione reologica e NMR di miscele sol-gel a base di carbossimetilcellulosa ammidata per applicazioni biomediche. 12° Convegno Nazionale di Reologia, Ustica, 2012, pp. 65-70.
20. Lapasin R, Suerz M, Segatti F *et al.* Studio reologico dedicato allo sviluppo di un nuovo blend polimerico per la viscosupplementazione. 12° Convegno Nazionale di Reologia, Ustica, 2012, pp. 313-318.
21. Lapasin R, Segatti F, Mercuri D *et al.* S. Rheological Characterization and In Vivo Responses of A New Injectable CMC-A composite in a Sheep Knee Osteochondral Defect Model. 3rd International Congress on Biohydrogels. Florence, 2011, p. 26.
22. Barger AM. Musculoskeletal system. In Raskin RE Ed. Canine and feline cytology - A Color Atlas and Interpretation Guide. Philadelphia: Saunders, 2010, pp. 353-368.
23. Fernandes BJ. Synovial fluid analysis. In: Valenciano AC, Cowell and Tyler's diagnostic cytology and hematology of the dog and cat, St. Louis, Missouri, Mosby, 2014.
24. Cowell RL, Tyler RD, Meinkoth JH *et al.* Citologia diagnostica ed ematologia, Second Edition St. Louis, Missouri, Mosby, 2008, pp. 104-113.
25. Baker R, Lumsden JH. Synovial fluid. In: Baker R, Lumsden JH. Color Atlas of Cytology of the Dog and Cat, St. Louis, Missouri, Mosby, 2000, pp. 209-221.
26. Sharkey M, The challenges of assessing Osteoarthritis and Postoperative pain in dogs. The American Association of Pharmaceutical Scientists Journal 15:598-607, 2013.
27. Tellhelm B, Amort K, Ondreka N, Grading primary ED-lesions and elbow osteoarthritis according to the IEWG protocol. 28th annual meeting International Elbow Working Group, Cape Town, 2014, p. 30.
28. Balazs EA, Denlinger JL. Viscosupplementation: a new concept in the treatment of osteoarthritis. *Journal of Rheumatology. Supplement* 39:3-9, 1993.
29. Balazs EA, Denlinger JL. Sodium hyaluronate acid and joint function. *Journal of Equine Veterinary Science*, 5:217-8, 1985.
30. Fakhari A, Berkland C. Applications and emerging trends of hyaluronic acid in tissue engineering, as a dermal filler, and in osteoarthritis treatment. *Acta Biomater* 9:7081-92, 2013.
31. Hui AY, McCarty WJ, Masuda K *et al.* A Systems Biology Approach to Synovial Joint Lubrication in Health, Injury, and Disease. *Wiley Interdisciplinary Reviews: Systems Biology and Medicine* 4:15-37, 2012.
32. Tamer MT. Hyaluronan and synovial joint: function, distribution and healing. *Interdisciplinary Toxicology* 6(3):111-125, 2013.
33. Sawyer DC, Synovial fluid analysis of canine joints. *Journal of American Veterinary Medical Association* 143:609-12, 1963.
34. Shimizu C, Yoshioka M, Coutts RD *et al.* The effects of Hyaluronan during the development of osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage* 5:251-60, 1997.
35. Iwata H, Pharmacologic and clinical aspects of intrarticular injection of hyaluronate. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 289:285-91, 1993.
36. Teeple E, Elsaid KA, Fleming BC *et al.* Coefficients of friction, lubricin, and cartilage damage in the anterior cruciate ligament-deficient guinea pig knee. *Journal of Orthopaedic Research* 26:231-7, 2007.
37. Evanich DJ, Evanich CJ, Wright MB *et al.* Efficacy of Intrarticular Hyaluronic Acid Injections in Knee Osteoarthritis. *Clinical Orthopaedics & Related Research* 390:173-81, 2001.
38. Wang CT, Lin J, Chang CJ *et al.* Therapeutic effects of hyaluronic acid on osteoarthritis of the knee. A meta-analysis of randomized controlled trials. *Journal of Bone and Joint Surgery American Volume* 3:538-45, 2004.
39. Divine JG, Shaffer MD. Use of Viscosupplementation for knee Osteoarthritis: An Update. *Current Sports Medicine Reports* 10:279-84, 2011.
40. Carrington RM, Viscosupplementation for osteoarthritis: a primer for primary care physicians. *Advances in therapy* 30:967-986, 2013.
41. Iannitti T, Lodi D, Palmieri B. Intrarticular Injections for the treatment of osteoarthritis. *Drugs in R&D* 11:13-27, 2011.
42. Franklin SP, Cook JL. Prospective trial of autologous conditioned plasma versus hyaluronan plus corticosteroid for elbow osteoarthritis in dogs. *Canadian Veterinary Journal* 54:881-884, 2013.
43. Filardo G, Kon E, Di Martino A *et al.* Platelet-rich plasma vs hyaluronic acid to treat knee degenerative pathology: study design and preliminary results of a randomized controlled trial. *BioMed Central Musculoskeletal Disorders* 13:229, 2012.