

Предварительное полевое исследование по изучению эффективности 4% полиакриламидного гидрогеля у лошадей с остеоартритом

Scott R. McClure^{a, *}, Chong Wang^{b, c, d}

^a Отдел ветеринарных клинических наук, Колледж Ветеринарной Медицины, Университет Штата Айова, Эймс, IA

^b Отдел ветеринарной диагностики, Колледж Ветеринарной Медицины, Университет Штата Айова, Эймс, IA

^c Отдел медицины продуктивных животных, Колледж Ветеринарной Медицины, Университет Штата Айова, Эймс, IA

^d Отдел статистики, Колледж Ветеринарной Медицины, Университет Штата Айова, Эймс, IA

Ключевые слова: лошади, полиакриламид, остеоартрит, полевое исследование

Резюме

Полиакриламидный гидрогель для внутрисуставного применения изучают с целью лечения остеоартрита (ОА) у многочисленных особей. 4% полиакриламидный гидрогель изучали у человека, при этом были получены положительные результаты. Для определения эффективности этой терапии предписано проведение полевого исследования с использованием 4% полиакриламидного гидрогеля для внутрисуставного применения в суставах у лошадей с естественно возникшим ОА. Цель этого полевого исследования – изучить эффект 4% полиакриламидного гидрогеля для внутрисуставного применения у лошадей с естественно возникшим ОА. Лошадей отбирали для включения в исследование на основании обследования хромоты, включая внутрисуставную локализацию и рентгенологическое обследования. Для оценки первичной конечной точки было включено двадцать восемь лошадей, удовлетворявших критериям включения. По первичной конечной точке эффективность была определена как снижение хромоты как минимум как одну степень и/или комбинированное снижение как минимум на три степени боли, объема движений и припухлости сустава с начала лечения до дня 43. Наблюдалось достоверное ($P < .001$) снижение среднего значения (диапазон) по шкалы оценки хромоты с 2 (1–4,5) до 1 (0–3) с улучшением у 23 из 28 (82%) лошадей на основании критериев исследования. Помимо этого, 21 из 28 (75%) лошадей удовлетворяли критериям исследования по эффективности лечения в день 90. На протяжении всего периода исследования провели 43 инъекции полиакриламидного гидрогеля, что включало восемь лошадей, которым материал вводили двукратно, и ни у одной из лошадей не зарегистрировано нежелательных явлений. Ограничением этого исследования является отсутствие контрольной группы, и последующее наблюдение в исследовании составляло максимум 90 дней.

1. Введение

Полиакриламидный гидрогель является инертным, вязко-эластичным, нераспадаемым и неиммуногенным материалом [1]. Материал является биосовместимым и применяется в урологической, офтальмологической и дерматологической области [2–4]. При применении у человек полиакриламидный гидрогель является безопасным и эффективным методом снижения клинических признаков остеоартрита (ОА) [5,6]. Полиакриламидный гель ограничил объем исследования у лошадей. У 12 лошадей ОА проксимальных межфаланговых суставов были здоровы через 6 месяцев после лечения [7]. В проспективном исследовании полиакриламидного гидрогеля для лечения ОА у 43 лошадей сообщалось о достоверном снижении хромоты, 82,5% из 43 лошадей были здоровы при 2-летнем последующем наблюдении [8]. В обоих исследованиях использовали 2,5% полиакриламидный материал в

качестве наполняющего вещества. Другой полиакриламидный гидрогель, применяемый у человека с ОА, состоит из 4% полиакриламида, и этот полимер разработан особым образом для минимальной реактивности в суставе [5,6,9]. Цель этого исследования – изучить эффект внутрисуставного введения трехразмерного 4% полиакриламидного гидрогеля (Нолтрекс, ООО «Научно-исследовательский центр Биоформ», Москва, Россия) у лошадей с естественно возникшим ОА.

2. Материалы и методы

Это проспективное многоцентровое, неконтролируемое полевое исследование по изучению эффективности полиакриламидного гидрогеля после внутрисуставного введения в сустав, пораженный ОА. Исследовательские центры выбирались на основании интереса ветеринара в участии и географическом разнообразии, и количества лошадей.

2.1. Лошади

Для включения в исследование лошади должны были находиться в возрасте от 2 лет и весить менее 636 кг (1400 фунтов). В исследование включали лошадей с хромотой по причине локального поражения ОА дистального межфалангового, проксимального межфалангового, пястно-фалангового/плюснефалангового, лучезапястного или среднезапястного сустава, что подтверждалось внутрисуставной анестезией и рентгенологическими признаками, такими как сужение суставной щели, наличие остеофитов и субхондрального склероза. Лошади должны были страдать от хромоты как минимум на протяжении 4 недель и иметь положительный результат теста на сгибание пораженного сустава.

Критериями исключения являлось проведение внутрисуставной терапии пораженного сустава в течение 4 недель до включения в исследование или в период исследования, системное применение кортикостероидов, НПВП или иного анальгетика, проведение ударно-волновой терапии, иглоукалывания или назначение гомеопатических средств или пероральных пищевых добавок в течение 4 недель до включения в исследование или в период исследования. Лошадей, которые подвергались хирургическому вмешательству в течение 90 дней до набора в исследование, страдали хромотой из-за поражения множественных суставов, переломов, хромотой 5 степени, или были беременны, также не включали в исследование.

Владелец лошади должен был дать согласие на соблюдение протокола исследования и подписать договор с информированным согласием. Ветеринару следовало дать согласие на протокол исследования и предоставлять все данные последующего наблюдения. Исследование одобрялось применимыми комитетами по биоэтике.

Исследователь обследовал лошадей при включении в исследование, через 21 (3 дня), 45 (5 дней) и 90 дней (5 дней). Клиентов просили связываться с исследователем, если в период между ветеринарными обследованиями отмечались нежелательные явления. При включении в исследование клиент получал протокол по физической реабилитации применительно к лечению лошади. Спортивных лошадей пускали шагом в течение 1–5 дней, водили на сбруе в течение 6–10 дней, затем могли пустить тихой рысью в дни 11–20 при здоровой активности до возвращения к полноценной активности. Скаковых лошадей просили пускать шагом в течение 1–5 дней, до 20 минут на беговой дорожке в течение 6–15 дней, затем в течение 16–20 дней при уверенной активности лошадям позволяли бег трусцой на протяжении мили в день до возврата к полноценной активности. Домашних лошадей просили оставить в

стойле или в небольшом загоне в течение 1–10 дней, затем в упряжке на небольшой огороженной площадке в течение 11–20 дней, и в течение этого периода лошади могли передвигаться в сбруе, после чего можно было вернуть лошадей к обычному лечению. Владельцу разрешалось отозвать лошадей из исследования после оценки в день 45. Если животное выводили из исследования через 45 дней, то эти случаи оценивались ветеринаром по мере возможности через 90 дней, но расценивались через 90 дней как случаи неэффективности лечения для общего результата лечения. Все рентгенограммы, полученные до набора в исследование, как и результаты, оценивались и подсчитывались одним автором (SM) заслепленным образом. Рентгенографическая оценка ОА в баллах была основана на значениях стандартных рентгенографических проекций для каждого сустава (0 ¼ - отсутствие поражения; 1 ¼ - легкое поражение; 2 ¼ - умеренное поражение; 3 ¼ -тяжелое поражение) только при исходной оценке [8,10].

Лошадям, которые удовлетворяли критериям включения, назначали балл по шкале оценки на основании системы бальной оценки Американской ассоциации практикующих конских ветеринарных врачей, значения с увеличением на $\pm 0,5$ балла также были приемлемыми. Назначались баллы по сгибанию пораженного сустава, боли при манипуляции, объему движения и припухлости пораженной конечности (Таблица 1).

2.2. Технология инъекции

Пораженные суставы лечили путем введения однократной дозы 2,5 4% трехмерного полиакриламида при использовании асептической технологии. Материал имел комнатную температуру, для инъекции использовали калибр 19 и иглу 1,5 дюймов. До введения полиакриламида сливали синовиальную жидкость, стекавшую со шприца. С полиакриламидом не разрешалось вводить ни противомикробных средств, ни кортикостероидов.

2.3. Критерии эффективности лечения

Первичной конечной точкой исследования было клиническое улучшение в день 45. Улучшение определялось как соблюдение как минимум одного из следующих условий: (1) снижение выраженности хромоты как минимум на одну степень и/или (2) сочетание снижения выраженности заболевания как минимум по трех показателям в отношении интенсивности боли, объема движения и припухлости суставов. Вторичной конечной точкой было улучшение в день 90, как определено выше.

2.4. Статистический анализ

Лошадей, которых выводили из исследования, или которые подвергались дополнительному лечению в интервале 45 – 90 дней, считали не прошедшими лечения в ходе статистического анализа через 90 дней. Для анализа суммировали данные всех исследовательских центров. Статистический анализ проводился с использованием коммерческого программного обеспечения (SAS, версия 9.2, Институт SAS Инк, Кэри, СК). Данные для каждой точки времени представлены с описательной статистикой. Различия значений по шкале оценки хромоты в период со дня 0 до дня 45 оценивали по ранговому критерию Уилкоксона.

Таблица 1

Системы бальной оценки, используемые в каждую точку времени, представляли собой ответы по категориям, как показано в таблице. Использовали стандартную шкалу бальной оценки хромоты Американской ассоциации практикующих конских ветеринарных врачей, и исследователям разрешалось использовать значения в интервале $\pm 0,5$ только в отношении оценки хромоты.

Балл	Хромота	Тест на сгибание	Боль при манипуляции	Объем движения	Припухлость
0	Не ощутима	Без изменений	Отсутствие ответа при твердом нажатии с давлением	Нормальный	Отсутствие припухлости (<3%)
1	Не имеет стойких проявлений, затруднительно отследить	Положительный результат	Легкая (избегание)	Небольшое снижение (<25%)	Легкая (3%-10%)
2	Имеет стойкие проявления при определенных обстоятельствах	Крайне положительный результат	Умеренная (отдергивание конечности)	Умеренное снижение (25%-50%)	Умеренная (11%-20%)
4	Выражена при хождении		Тяжелая (избегание при попытках манипуляции)	Серьезное снижение (>50%)	Тяжелая (>20%)

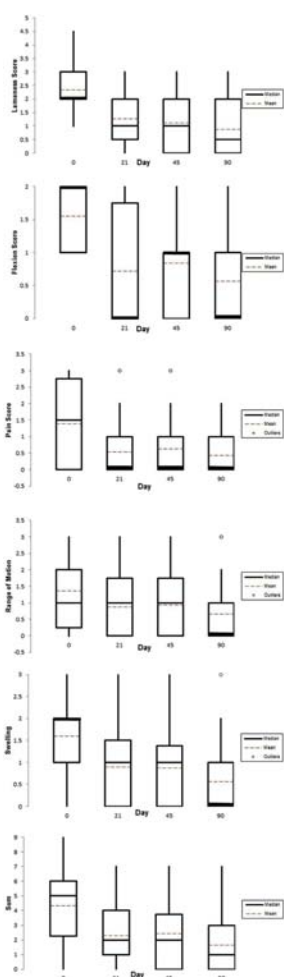


Рис. 1. Показаны диаграммы размаха для всех 28 лошадей при включении в исследование (день 0) и дни 21 и 45. Диаграммы результатов в день 90 включают данные только 23 лошади, которых не вывели из исследования и не подвергли дополнительному лечению через 45 дней. Это привело к наличию отобранной группы лошадей с положительным результатом. На диаграмме отражен межквартильный диапазон с полосками, указывающими на диапазон данных. Шкалы оценки боли, объема движения и припухлости сустава комбинировали для получения суммарного балла.

Двойные переменные конечных точек, эффективность или неэффективность лечения в день 45 и день 90 анализировали при использовании анализов логистической регрессии. Однофакторные анализы проводили только с целью анализа каждой независимой переменной. Многофакторные анализы по всем независимым переменным (порода, возраст, пол, использование, пораженная конечность, сустав и значение выраженности хромоты, сгибания, боли, объема движения, и рентгенограммы в день 0) также проводились с использованием критериев отбора поэтапной модели оценки. Значимость была установлена при $P \leq .05$.

3. Результаты

Полиакриламидный гель вводили в 36 суставов у 35 лошадей. Среди этих 35 лошадей четыре лошади вывели из исследования по критериям исключения (две лошади с двухсторонним заболеванием одна лошадь с внутрисуставным переломом и одна лошадь без рентгенографического подтверждения ОА). Из исследования вывели три лошади с односторонним поражением коленных суставов, так как поражение сустава не было перечислено в критериях набора из-за разнообразного размера, сдавливания множества суставов и потенциальных множественных повреждений связок и мениска. В результате в исследовании приняли участие 28 лошадей из 10 различных исследовательских центров, удовлетворяющих критериям исследования. Было 12 лошадей теплокровной породы, девять скакунов/американских пейнтхорсов/лошадей породы аппалуза, пять чистокровных лошадей, одна лошадь породы Хафлингер и одна американская верховая лошадь. Лошади имели средний возраст 11 лет (диапазон 3–23). Было девять самок, три нестерилизованных самца и 16 стерилизованных животных. В исследовании участвовали 20 спортивных лошадей, одна скаковая лошадь и семь лошадей, которых использовали для легких и/или развлекательных поездок. Было шесть лошадей с ОА запястного сустава, две лошади с ОА лучезапястного сустава и четыре с поражением среднелучезапястного сустава. В исследовании изучали 10 пястно-фаланговых суставов и один плюснефаланговый сустав. В исследование включили два и один проксимальный межфаланговый сустав передней и задней конечности, и восемь дистальных межфаланговых суставов. Средний балл рентгенографической оценки лошадей, включенных в исследование, составил 2, и они были распределены как восемь лошадей с баллом 1, 12 лошадей с баллом 2 и восемь лошадей с баллом 3. Общая результативность исследования составила 82% (23/28) в день 45 и 75% (21/28) в день 90. Ответ на лечение был получен в 21-дневных данных, только с ограниченными изменениями со дня 21 до дня 45 (Рис. 1 и 2). Средний балл по шкале оценки хромоты в день 0 составил 2 (диапазон 1–4,5) и снизился до 1 (диапазон 0–3) в день 45. Применение рангового критерия Уилкоксона для оценки изменения по шкалы хромоты в период со дня 0 до дня 45 у 28 лошадей, которые удовлетворяли критериям исследования, привело к достоверному ($P < .001$) снижению балла по шкалы оценки хромоты. Оценка двойных конечных точек эффективности или неэффективности лечения в день 45 и 90 не выявила значимых переменных, связанных с исходом, для однофакторного или многофакторного моделирования.

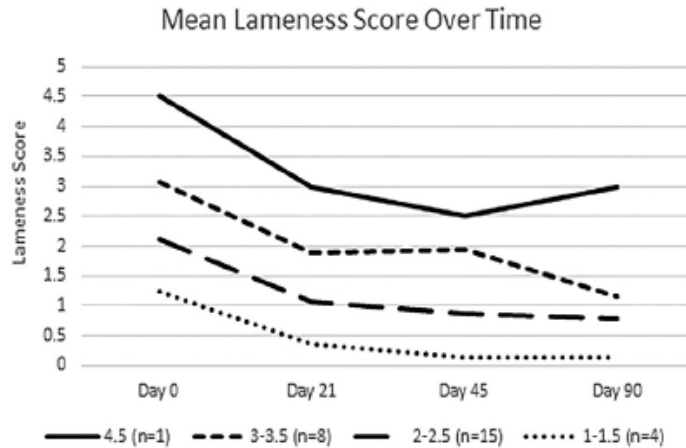


Рис. 2. Данные поделены по категориям на основании балла по шкале оценки хромоты при включении в исследование, и показано число животных в каждой группе при включении в исследование. Средние баллы по шкале оценки хромоты при оценке в день 21, 45 и 90- по каждой категории показали аналогичную тенденцию к снижению показателей хромоты с течением времени. Преобладающее снижение выраженности хромоты отмечалось в период со дня 0 до дня 21.

Пять владельцев отозвали своих лошадей из протокола исследования после проведения обследования в день 45. Три лошади сочли как случаи неэффективного лечения через 45 дней, и два лошади расценивали как случаи успешного лечения, у каждой лошади хромота снизилась на одну степень со дня 0 до дня 45. Всем пяти клиентам предложили провести вторую инъекцию, чтобы определить, приведет ли вторая доза полиакриламида к улучшению или дальнейшему снижению интенсивности хромоты, и всем пяти лошадям выполняли вторую инъекцию. Были доступны данные оценок в день 90 только для трех из этих лошадей, и результаты лечения всех трех лошадей считались успешными на основании баллов по шкале оценки хромоты в день 90. Эти данные сочли как случаи неэффективного лечения из-за введения второй дозы полиакриламида. Одна лошадь получила вторую инъекцию после оценки в день 90, что расценивалось как успешное лечение, но у лошади осталась хромота степени 1. Ветеринар сообщил, что в дальнейшем хромота снизилась, и лошадь далее для работы. Одна лошадь с поражением срединного большеберцового сустава, получила две инъекции.

Все 35 лошадей проходили наблюдение на протяжении всего 45-дневного периода исследования, и 32 лошади были доступны для проведения 90-дневного последующего наблюдения, независимо от того, что были включены в исследование с целью оценки нежелательных явлений. В целом, было проведено 43 инъекции полиакриламида у 35 лошадей. Одной лошади полиакриламид вводили в два различных сустава с интервалом примерно 60 дней, и семи лошадям вводили продукт два раза в период от 45 до 90 дней между инъекциями. В этом исследовании не зарегистрировано нежелательных явлений, связанных с любой из внутрисуставных инъекций полиакриламида.

4. Обсуждение

Отмечалось достоверное снижение ($P < .001$) выраженности хромоты со дня включения в исследование до оценки в день 45. Это в сочетании с отсутствием нежелательных явлений указало на потенциальную значимость 4% полиакриламидного геля для применения у лошадей с хромотой, вызванной ОА. Данные 21-дневной оценки, отраженные на Рис. 2, указали, что ответ на лечение

происходит преимущественно в первые 3 недели исследования и оставался до 90 дней у 75% лошадей. Вторую инъекцию выполнили у пяти лошадей, включенных в исследование, после оценки в день 45. Хотя это привело к исключению лошади из случаев успешного лечения при проведении последующих оценок, это не указывает на отсутствие сенситизации или отрицательного эффекта в результате серии инъекции.

У 35 лошадей, описанных в этой статье, 43 лошадей, о которых сообщали Tnibar et al [8], и 12 лошадей, о которых сообщали Janssen et al [7], не зарегистрировано значимых нежелательных явлений. Примерно у 723 людей, получавших 1–5 внутрисуставных инъекций полиакриламидного гидрогеля, не зарегистрировано серьезных нежелательных явлений [5]. В этом исследовании пациентов наиболее распространенная побочная реакция, не связанная с прогрессированием заболевания, была жгущая боль, связанная с инъекцией, возникшая у 28 пациентов (6,8%) после внутрисуставного введения в колено [5]. Механизм действия, приводящий к снижению выраженности хромоты, неизвестен. Вязкость полиакриламидного гидрогеля аналогична вязкости обычной синовиальной жидкости при температуре 37°C [11]. Повышение вязкости, благодаря полиакриlamиду, могло помочь в коррекции снижения вязкости синовиальной жидкости, наблюдаемого при ОА [12]. Полиакриламид не подвергается распаду металлопротеиназами и может иметь длительный эффект по сравнению с краткосрочным периодом повышения вязкости при введении гиалуроновой кислоты. Помимо снижения вязкости синовиальной жидкости в пораженных ОА суставах отмечалось снижение уровня смазки [13]. Смазка – смазочный пограничный слой в синовиальной жидкости, которая при замене в моделях ОА обладает болезнью-модифицирующими эффектами [14, 15]. Возможно, что полиакриламид может замещать увлажнение пограничного слоя, утрачиваемое в суставах с ОА. У лошадей с ОА полиакриламид может защищать поверхность хряща, что допускает качественное заживление связок и хрящей [16]. Лошади с ОА проксимального межфалангового сустава ОА, лошади с рентгенографическими признаками субхондрального заболевания быстро выздоравливали [7]. Было высказано предположение, что полиакриламид может закупоривать кисты и ингибировать поступление синовиальной жидкости, что соответствует увеличению давления на субхондральную кость и последующей хромоте.

Показатели хромоты, как видно из Рис. 2, стойко снижались, независимо от исходного балла хромоты. Полагали, что лошади с более высоким баллом и более распространенным ОА по рентгенографическим данным могут не отвечать на лечение, а также лошади с более низкими значениями, что не рассматривалось в этой статье. Не определили каких-либо переменных, которые возможно использовать для прогнозирования исхода лечения и прямого отбора будущих случаев для терапии полиакриламидом для внутрисуставного применения.

При интерпретации результатов этого полевого исследования существует несколько ограничений. Отдельные исследования отобрали лошадей для включения в исследование, которые удовлетворяли критериям включения, провели обследования с целью последующего наблюдения и были осведомлены о режиме лечения, что могло привести к погрешности в результатах. Более того, для сравнения не включали контрольных лошадей. Исходное ограничение периода физической нагрузки могло привести к улучшению у некоторых лошадей. Помимо этого, объективный механизм оценки изменений выраженности хромоты после проведения терапии могло избавить от субъективности. Однако в полевом исследовании требуются системы субъективной оценки для предоставления ветеринарам механизма оценки этих лошадей в поле. В этом исследовании было решено получить данные

последующего наблюдения через 45 и 90 дней. Из-за легкости передвижения лошадей в США тому же ветеринару сложно предоставить данные последующего наблюдения на протяжении длительных периодов. При 90-дневном последующем наблюдении лошади вернулись к работе на 70 дней, что является практически осуществимым периодом исследования для полиакриламида.

Выражение признательности

Авторы выражают признательность докторам Роберту Барберу, Нан Хаберман, Энди Канепсу, Кейт Мерритт, Мег Муллин, Тимоти Обер, Весу Суттер, Питу Вадену и Мелиссе Веркер за сообщение случаев.

Это исследование финансировалось компанией Nucleus Regenerative Therapies LLC, которая является эксклюзивным дистрибьютором 4% полиакриламида (Нолтрекс) в Северной Америке. Авторы не заявляют о конфликте интересов. С. МакКлур поспособствовал разработке дизайна исследования, анализу и интерпретации данных, и подготовке рукописи. С. Ванг внес вклад в анализ и интерпретацию данных, и подготовку рукописи. Все авторы одобрили итоговую версию рукописи.

Библиография

- [1] Zarini E, Supino R, Pratesi G, Laccabue D, Tortoreto M, Scanziani E, et al. Biocompatibility and tissue interactions of a new filler material for medical use. *Plast Reconstr Surg* 2004;114:934–42.
- [2] Fernández-Cossío S, Castaño-Oreja MT. Biocompatibility of two novel dermal fillers: histological evaluation of implants of a hyaluronic acid filler and a polyacrylamide filler. *Plast Reconstr Surg* 2006;117: 1789–96.
- [3] Lloyd AW, Faragher RG, Denyer SP. Ocular biomaterials and implants. *Biomaterials* 2001;22:769–85.
- [4] Christensen LH, Nielsen J, Mouritsen L, Sørensen M, Lose G. Tissue integration of polyacrylamide hydrogel: an experimental study of periurethral, perivesical, and mammary gland tissue in the pig. *Dermatol Surg* 2008;34:68–77.
- [5] Zar VV, Zagorodniy NV, Martinov DV. Effectiveness and safety of injectable endoprosthetics of synovial fluid by cross-linked polymer Noltrex for treatment OA knee. *Eur J Muscl Dis* 2012; 1:23–32.
- [6] Zar VV, Voloshin VP, Martynov MD. Functional assessment of results of the intra-articular injection of polyacrylamide gel Noltrex in gonarthrosis treatment. *Almanac Clin Med* 2012;27:18–24.
- [7] Janssen I, Koene M, Lischer C. Intraartidulare applicakation von polyacrylamide hydrogel zur behandlung von osteoarthritis des hufgelenkes: Fallserie von 12 pferden. *Pferdeheilkunde* 2012;28: 650–6.
- [8] Tnibar A, Schougaard H, Camitz L, Rasmussen J, Koene M, Jahn W, Markussen B. An international multi-centre prospective study of the efficacy of an intraarticular polyacrylamide hydrogel in horses with osteoarthritis: a 24 months follow-up. *Acta Vet Scand* 2015; 57:1–8.
- [9] Shekhter AB, Zar VV, Voloshin VP, Lopatin VV. Tissue and cell reaction of the synovial media to intraarticular injection of polymer viscoprostheses “Noltrex” in experimental conditions. *Almanac Clin Med* 2013;20–4. <http://dx.doi.org/10.18786/2072-0505-2013-28-20-24>. Published in Russian.
- [10] van Hoogmoed LM, Snyder JR, Thomas HL, Harmon FA. Retrospective evaluation of equine prepurchase examinations performed 1991–2000. *Equine Vet J* 2003;35:375–81.
- [11] Zar VV, Troitsky VM, Stepanov AI, Lopatin VV. Future of viscoelastic behavior of 3-D structure of artificial and natural samples of articular liquids at the pressure 0.1–100 MPa. *Materials of 16th chemical thermodynamics international conference. vol. 1. Suzdal; 2007.*

- [12] Fakari A, Berklund C. Applications and emerging trends of hyaluronic acid in tissue engineering, as a dermal filler and in osteoarthritis treatment. *Acta Biomater* 2013;9:7081–92.
- [13] Elsaid KA, Fleming BC, Oksendahl H, Machan J, Fadale PD, Hulstyn MJ, et al. Decreased lubricin concentrations and markers of joint inflammation in the synovial fluid of patients with anterior cruciate ligament injury. *Arthritis Rheum* 2008;58:1707–15.
- [14] Flannery CR, Zollner R, Corcoran C, Jones AR, Root A, Rivera- Bermúdez MA, et al. Prevention of cartilage degeneration in a rat model of osteoarthritis by intraarticular treatment with recombinant lubricin. *Arthritis Rheum* 2009;60:840–7.
- [15] Jay GD, Elsaid KA, Kelly KA, Anderson S, Zhang L, Teeple E, et al. Prevention of cartilage degeneration and gait asymmetry by lubricin tribosupplementation in the rat following anterior cruciate ligament transection. *Arthritis Rheum* 2012;64:1162–71.
- [16] Slesarenko NA, Shirokova EO. Reparative osseo- and chondrogenesis in the conditions of induced osteoarthrosis in laboratory animals. *Russ Vet J Small Pets Wild Anim* 2012;201:6–8.