

Universidad Cardenal Herrera CEU

Departamento de Medicina y Cirugía Animal



**EFICACIA DE HYAL-JOINT® EN
SINOVITIS CANINA: ENSAYO CLÍNICO
EN PERROS CON ROTURA DE
LIGAMENTO CRUZADO CRANEAL
TRAS TRATAMIENTO POR AVANCE DE
LA TUBEROSIDAD TIBIAL (TTA)**

TESIS DOCTORAL

Presentada por:

Juan José Ramos Plá

Dirigida por:

Claudio Iván Serra Aguado

Fernando Iste Burillo

VALENCIA

2015



Fernando Liste Burillo, Profesor Agregado del Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad CEU-Cardenal Herrera, y Claudio Iván Serra Aguado, Profesor Agregado de la Universidad Católica San Vicente Mártir,

INFORMAN: que el trabajo titulado *“Eficacia de Hyal-joint® en sinovitis canina: ensayo clínico en perros con rotura de ligamento cruzado craneal tras tratamiento por avance de la tuberosidad tibial (TTA)”* ha sido realizado bajo su dirección en el Departamento de Medicina y Cirugía Animal de la Universidad CEU-Cardenal Herrera por **Juan José Ramos Plá**, Licenciado en Veterinaria.

Consideramos que este trabajo se encuentra terminado y reúne los requisitos necesarios para que el interesado pueda optar al Título de Doctor por la Universidad CEU-Cardenal Herrera.

Valencia, 9 de Diciembre de 2014

Fernando Liste Burillo

Claudio Iván Serra Aguado

A ti, Arancha, por ser mi compañera de viaje desde hace muchos años y nunca reprocharme que el trabajo nos robara tiempo de estar juntos.

A Juan José y Rebeca. Quizá algún día entendáis que este trabajo es, básicamente, por vosotros.

A mis padres, Juan José y Manola, por ayudarme siempre más allá de lo que, sin duda, me merezco. Gracias por basar todas vuestras enseñanzas en darme siempre un ejemplo intachable.

A Freddy, por cojear.

AGRADECIMIENTOS

A Iván Serra y Fernando Liste. Y a Fernando Liste e Iván Serra. Dos directores de tesis a quien también considero amigos. Por su profesionalidad, dedicación y ayuda desinteresada para que mi sueño se haga realidad. Al fin.

A Bioibérica y, en concreto, a Alfonso Velasco y Sergi Segarra por su seriedad y apoyo para que este proyecto pudiera llevarse a cabo.

A Nacho Redondo por su tiempo y ayuda. Con paciencia consiguió que la estadística no me resultara demasiado ardua.

A los veterinarios que han ayudado en la realización de las intervenciones quirúrgicas: Julio Soriano, Cristóbal Frías y José Luís Martínez.

A los veterinarios que han ayudado con los diagnósticos y evaluaciones ecográficas y radiológicas: Sergio Monteagudo y José Antonio Santiago.

A todas las clínicas que han aportado casos para permitir que este proyecto haya podido concluirse: Hospital Veterinario Massamagrell (Valencia), Clínica Veterinaria Lepanto (Sevilla), Clínica Veterinaria Reyes Magos (Madrid), Clínica Veterinaria Sagrada Familia (Castellón), Clínica Veterinaria Bolta (Valencia), Hospital Veterinario de la UAX (Madrid), Clínica Veterinaria Asis (Gandía) y L'Hospital Veterinary (Xátiva).

Al equipo de la Universidad de Murcia, dirigido por el Dr. José Joaquín Cerón, por su ayuda en el procesamiento de las muestras y asesoramiento técnico.

A Carmen y Maite, por haber comprendido y aceptado que Iván y Fernando hayan pasado algunos días más tiempo conmigo que con ellas. Claro que, a lo mejor, influye que también son veterinarias...

A Toni Campos y Lamberto Viadel, porque han escuchado mis quejas y lamentos durante estos años. Son mis amigos, y se alegrarán de que haya acabado mi proyecto.

A todos los que, de un modo u otro, me han dado un pequeño empujón para que siguiera adelante y acabase el proyecto.

A los (pocos) que me dijeron que era imposible. No saben la fuerza que me dieron.

“Do or do not. There is no try”
-YODA-

ÍNDICE

| | |
|--|-------------|
| ÍNDICE GENERAL | I |
| ÍNDICE DE ABREVIATURAS | IX |
| ÍNDICE DE TABLAS | XIII |
| ÍNDICE DE FIGURAS Y GRÁFICAS | XVII |
| | |
| 1.- INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS | 1 |
| 2.- REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA | 9 |
| <u>2.1.- ENFERMEDAD DEGENERATIVA ARTICULAR Y SINOVITIS</u> | 11 |
| 2.1.1.- Fisiología y fisiopatología | 11 |
| 2.1.2.- Aspectos bioquímicos | 12 |
| 2.1.2.1.- Mediadores inflamatorios | 12 |
| 2.1.2.2.- Procesos degradativos | 23 |
| 2.1.3.- Aspectos histológicos | 25 |
| 2.1.4.- Aspectos inmunohistoquímicos | 26 |
| 2.1.4.1.- Papel de los anticuerpos anti colágeno tipo I y II | 26 |
| 2.1.4.2.- Papel de la respuesta inmune de la sinovia en la sinovitis | 28 |
| <u>2.2.- FISIOPATOLOGÍA DE LA ROTURA DEL LIGAMENTO CRUZADO CRANEAL</u> | 31 |
| 2.2.1- Anatomía del ligamento cruzado craneal | 31 |
| 2.2.2.- Epidemiología y patogénesis | 35 |
| 2.2.3.- Biomecánica de la rodilla | 37 |
| <u>2.3.- DIAGNÓSTICO DE LA ROTURA DEL LIGAMENTO CRUZADO CRANEAL</u> | 38 |
| 2.3.1.- Historial clínico | 38 |
| 2.3.2.- Examen ortopédico | 39 |
| 2.3.3.- Evaluación radiológica | 40 |

| | |
|--|-----------|
| 2.3.4.- Evaluación ecográfica | 40 |
| 2.3.5.- Tomografía axial computerizada | 41 |
| 2.3.6.- Resonancia magnética | 42 |
| <u>2.4.- TRATAMIENTO DE LA ROTURA DEL LIGAMENTO CRUZADO CRANEAL</u> | 42 |
| 2.4.1.- Tratamiento quirúrgico | 43 |
| 2.4.1.1.- Técnicas extracapsulares | 43 |
| 2.4.1.2.- Técnicas intracapsulares | 43 |
| 2.4.1.3.- Técnicas modificadoras de la biomecánica de la rodilla | 44 |
| 2.4.2.- Terapia médica de la osteoartritis | 45 |
| 2.4.2.1.- Antiinflamatorios | 45 |
| 2.4.2.2.- Analgésicos | 46 |
| 2.4.2.3.- Suplementos nutricionales | 46 |
| 2.4.2.4.- Viscosuplementos. Ácido Hialurónico | 47 |
| 2.4.2.5.- Terapia multimodal | 50 |
| 2.4.2.6.- Otras terapias | 50 |
| <u>3.- MATERIAL Y MÉTODOS</u> | 51 |
| 3.1.- <u>PROTOCOLO DEL ESTUDIO</u> | 53 |
| 3.1.1.- Selección de los pacientes | 53 |
| 3.1.2.- Protocolo experimental | 55 |
| 3.1.2.1.- Evaluación funcional del veterinario | 57 |
| 3.1.2.2.- Evaluación funcional del propietario | 57 |
| 3.1.2.3.- Evaluación ecográfica | 57 |
| 3.1.2.4.- Extracción y procesado de la sangre | 61 |
| 3.1.2.5.- Extracción y procesado del líquido sinovial | 62 |

| | |
|--|-----------|
| 3.1.2.6.- Procedimiento quirúrgico | 64 |
| 3.1.2.7.- Evaluación postquirúrgica. Terapia y seguimiento | 66 |
| 3.2.- <u>ANÁLISIS ESTADÍSTICO</u> | 66 |
| 4.- <u>RESULTADOS</u> | 69 |
| 4.1.- <u>EXPLORACIÓN CLÍNICA</u> | 71 |
| 4.1.1.- Evaluación del veterinario | 71 |
| 4.1.1.1.- Grado de cojera (VASC) y dolor (VASD) | 71 |
| 4.1.1.2.- Grado de cojera (VCOJ) | 73 |
| 4.1.1.3.- Evaluación ortopédica | 74 |
| 4.1.1.3.1.- Cajón directo (CD) | 74 |
| 4.1.1.3.2.- Cajón indirecto (CI) | 76 |
| 4.1.1.3.3.- Dolor a la hiperextensión (DH) | 77 |
| 4.1.1.3.4.- Efusión sinovial (ESV) | 79 |
| 4.1.2.- Impresión del propietario | 80 |
| 4.1.2.1.- Evaluación general del animal (EVAP) | 80 |
| 4.1.2.2.- Evolución de la cojera (EPCOJ) | 81 |
| 4.1.2.3.- Dificultad para levantarse desde sentado (EPLEV) | 83 |
| 4.2.- <u>HALLAZGOS INTRAQUIRÚRGICOS</u> | 84 |
| 4.2.1.- Lesiones meniscales | 84 |
| 4.2.2.- Meniscectomías | 86 |
| 4.3.- <u>ECOGRAFÍA DE LA RODILLA</u> | 87 |
| 4.3.1.- Irregularidad de la superficie rotuliana (ROT) | 87 |
| 4.3.2.- Tendón del músculo cuádriceps femoral | 89 |
| 4.3.2.1.- Dimensión (TC) | 89 |

| | |
|---|-----|
| 4.3.2.2.- Textura (TCH) | 90 |
| 4.3.3.- Distensión capsular | 91 |
| 4.3.3.1.- Receso suprarrotuliano (RSS) | 91 |
| 4.3.3.2.- Distensión capsular infrarrotuliana (DCI) | 92 |
| 4.3.4.- Ligamento rotuliano | 93 |
| 4.3.4.1.- Grosor en origen (LRO), central (LRC) e inserción tibial (LRI) | 93 |
| 4.3.4.2.- Textura (LRH) | 97 |
| 4.3.5.- Cartílago articular condilar femoral | 98 |
| 4.3.5.1.- Grosor del cartílago lateral (CCL) | 98 |
| 4.3.5.2.- Grosor del cartílago medial (CCM) | 99 |
| 4.3.6.- Ligamento colateral | 100 |
| 4.3.6.1.- Grosor de los ligamentos colaterales lateral (LCL) y medial (LCM) | 100 |
| 4.3.6.2.- Textura ligamentosa colateral lateral (LCLH) y medial (LCMH) | 102 |
| 4.3.7.- Menisco: textura lateral (ML) y medial (MM) | 105 |
| 4.4.- <u>ANÁLISIS SANGUÍNEO</u> | 109 |
| 4.4.1.- Factor de necrosis tumoral- α (SUETNF) | 109 |
| 4.4.2.- Óxido nítrico (SUENO) | 110 |
| 4.4.3.- Proteína C reactiva (SUECRP) | 111 |
| 4.4.4.- Amiloide sérico A (SUESAA) | 113 |
| 4.4.5.- Haptoglobina (SUEHAP) | 114 |
| 4.5.- <u>ANÁLISIS DE LÍQUIDO SINOVIAL</u> | 115 |
| 4.5.1.- Factor de necrosis tumoral- α (LISITNF) | 115 |
| 4.5.2.- Óxido nítrico (LISINO) | 117 |

| | |
|--|------------|
| 4.5.3.- Proteína C reactiva (LISICRP) | 118 |
| 4.5.4.- Amiloide sérico A (LISISAA) | 119 |
| 4.5.5.- Haptoglobina (LISIHAP) | 121 |
| 4.5.6.- Ácido hialurónico (LISIAH) | 122 |
| <u>5.- DISCUSIÓN</u> | 123 |
| <u>5.1.- METODOLOGÍA</u> | 125 |
| <u>5.2.- RESULTADOS CLÍNICOS</u> | 129 |
| 5.2.1.- Examen clínico por el veterinario | 129 |
| 5.2.2.- Evaluación de la progresión por el propietario | 132 |
| <u>5.3.- OBSERVACIONES QUIRÚRGICAS</u> | 133 |
| <u>5.4.- EXAMEN ECOGRÁFICO</u> | 133 |
| <u>5.5.- ANALÍTICA SEROLÓGICA</u> | 138 |
| <u>5.6.- ANALÍTICA SINOVIAL</u> | 141 |
| <u>5.7.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO</u> | 147 |
| <u>6.- CONCLUSIONES</u> | 149 |
| <u>7.- RESUMEN</u> | 153 |
| <u>8.- SUMMARY</u> | 159 |
| <u>9.- BIBLIOGRAFÍA</u> | 165 |
| <u>10.- ANEXOS</u> | 187 |

**ÍNDICE DE
ABREVIATURAS**

| | |
|----------------|---|
| AH | ÁCIDO HIALURÓNICO |
| CCL | GROSOR DEL CARTÍLAGO EN CÓNDILO FEMORAL LATERAL |
| CCM | GROSOR DEL CARTÍLAGO EN CÓNDILO FEMORAL MEDIAL |
| CD | CAJÓN DIRECTO |
| CI | CAJÓN INDIRECTO |
| CRP | PROTEINA C REACTIVA |
| DCI | DISTENSIÓN CAPSULAR INFRAROTULIANA |
| DH | DOLOR A LA HIPEREXTENSIÓN |
| EPCOJ | EVALUACIÓN FUNCIONAL DEL PROPIETARIO (COJERA DURANTE LA MARCHA) |
| EPLEV | EVALUACIÓN FUNCIONAL DEL PROPIETARIO (LEVANTARSE) |
| ESV | EFUSIÓN SINOVIAL EN LA EXPLORACIÓN FÍSICA |
| EVAP | EVALUACIÓN PROPIETARIO |
| HAP | HAPTOGLOBINA |
| LCL | LIGAMENTO COLATERAL LATERAL – GROSOR |
| LCLH | TEXTURA DEL LIGAMENTO COLATERAL LATERAL |
| LCM | LIGAMENTO COLATERAL MEDIAL – GROSOR |
| LCMH | TEXTURA DEL LIGAMENTO COLATERAL MEDIAL |
| LISIAH | CONCENTRACIÓN DE ÁCIDO HIALURÓNICO EN LÍQUIDO SINOVIAL |
| LISICRP | CONCENTRACIÓN DE PROTEINA C REACTIVA EN LÍQUIDO SINOVIAL |
| LISIHAP | CONCENTRACIÓN DE HAPTOGLOBINA EN LÍQUIDO SINOVIAL |
| LISINO | CONCENTRACIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO EN LÍQUIDO SINOVIAL |
| LISISAA | CONCENTRACIÓN DE AMILOIDE SÉRICO A EN LÍQUIDO SINOVIAL |
| LISITNF | CONCENTRACIÓN DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL EN LÍQUIDO SINOVIAL |
| LRC | LIGAMENTO ROTULIANO – ESPESOR CENTRAL |
| LRH | LIGAMENTO ROTULINAO – TEXTURA |
| LRI | LIGAMENTO ROTULIANO – ESPESOR EN INSERCIÓN |
| LRO | LIGAMENTO ROTULIANO – ESPESOR EN ORIGEN |
| ML | MENISCO LATERAL – TEXTURA |
| MLL | VALORACIÓN MENISCO LATERAL – LESIÓN |
| MM | MENISCO MEDIAL – TEXTURA |
| MML | VALORACIÓN DE MENISCO MEDIAL – LESIÓN |
| MQL | MENISQUECTOMÍA LATERAL |
| MQM | MENISQUECTOMÍA MEDIAL |
| NO | ÓXIDO NÍTRICO |
| ROT | IRREGULARIDADES EN LA SUPERFICIE ROTULIANA |
| RSS | RECESO SINOVIAL SUPRAROTULIANO |
| SAA | AMILOIDE SÉRICO A |
| SUECRP | CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE PROTEINA C REACTIVA |
| SUEHAP | CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE HAPTOGLOBINA |

| | |
|--------------------------------|--|
| SUENO | CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE ÓXIDO NÍTRICO |
| SUESAA | CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE AMILOSIDE SÉRICO A |
| SUETNF | CONCENTRACIÓN SANGUÍNEA DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA |
| TC | TENDÓN DEL MÚSCULO CUÁDRICEPS FEMORAL – GROSOR |
| TCH | TENDÓN DEL MÚSCULO CUÁDRICEPS FEMORAL – TEXTURA |
| TNF-α | FACTOR DE NECROSIS TUMORAL ALFA |
| V | VISITA |
| VASC | ESCALA VISUAL ANALÓGICA DE LA COJERA |
| VASD | ESCALA VISUAL ANALÓGICA DEL DOLOR |
| VCOJ | FICHA FUNCIONAL DEL VETERINARIO – COJERA |

**ÍNDICE
DE TABLAS**

| | | |
|-----------------|---|------------|
| Tabla 1 | Metodología del protocolo experimental | 56 |
| Tabla 2 | Rangos de los diferentes parámetros séricos no continuos | 67 |
| Tabla 3 | Rango de los diferentes parámetros sinoviales no continuos | 67 |
| Tabla 4 | Grado de cojera (VASC) evaluado por el veterinario | 71 |
| Tabla 5 | Grado de dolor (VASD) evaluado por el veterinario | 72 |
| Tabla 6 | Grado de cojera (VCOJ) evaluada por el veterinario | 73 |
| Tabla 7 | Prueba del cajón directo (CD) | 74 |
| Tabla 8 | Prueba del cajón indirecto (CI) | 76 |
| Tabla 9 | Prueba del dolor a la hiperextensión (DH) | 77 |
| Tabla 10 | Evaluación de efusión sinovial (ESV) | 79 |
| Tabla 11 | Evaluación general del animal (EVAP) por parte del propietario | 80 |
| Tabla 12 | Evaluación de la cojera (EPCOJ) por parte del propietario | 81 |
| Tabla 13 | Evaluación de la facilidad para levantarse (EPLEV) | 83 |
| Tabla 14 | Presencia de lesiones meniscales laterales y mediales (MLL y MML) | 84 |
| Tabla 15 | Realización de meniscectomía lateral y medial (MQL Y MQM) | 86 |
| Tabla 16 | Evaluación de la irregularidad de la superficie rotuliana (ROT) | 87 |
| Tabla 17 | Evaluación del grosor del tendón del músculo cuádriceps femoral (TC) | 89 |
| Tabla 18 | Evaluación de la textura del tendón del músculo cuádriceps femoral | 90 |
| Tabla 19 | Evaluación del diámetro del receso sinovial suprarrotuliano (RSS) | 91 |
| Tabla 20 | Evolución del diámetro de la distensión capsular infrarrotuliana (DCI) | 92 |
| Tabla 21 | Evaluación del grosor del ligamento rotuliano en el origen (LRO) | 93 |
| Tabla 22 | Evaluación del grosor del ligamento rotuliano en el centro (LRC) | 94 |
| Tabla 23 | Evaluación del grosor del ligamento rotuliano en la inserción tibial (LRI) | 95 |
| Tabla 24 | Evaluación de la textura del ligamento rotuliano (LRH) | 97 |
| Tabla 25 | Evaluación del grosor del cartílago en el cóndilo femoral lateral (CCL) | 98 |
| Tabla 26 | Evaluación del grosor del cartílago en el cóndilo femoral medial (CCM) | 99 |
| Tabla 27 | Evaluación del grosor del ligamento colateral lateral (LCL) | 100 |
| Tabla 28 | Evaluación del grosor del ligamento colateral medial (LCM) | 101 |
| Tabla 29 | Evaluación de la textura del ligamento colateral lateral (LCLH) | 102 |
| Tabla 30 | Evaluación de la textura del ligamento colateral medial (LCMH) | 104 |
| Tabla 31 | Evaluación de la textura del menisco lateral (ML) | 105 |
| Tabla 32 | Evaluación de la textura del menisco medial (MM) | 107 |
| Tabla 33 | Evaluación de la concentración sérica del factor de necrosis tumoral (SUETNF) | 109 |
| Tabla 34 | Evaluación de la concentración sérica de óxido nítrico (SUENO) | 110 |
| Tabla 35 | Evaluación de la concentración sérica de proteína C reactiva (SUECRP) | 111 |
| Tabla 36 | Evaluación de la concentración sérica de amiloide sérico A (SUESAA) | 113 |
| Tabla 37 | Evaluación de la concentración sérica de haptoglobina (SUEHAP) | 114 |

| | | |
|-----------------|---|------------|
| Tabla 38 | Evaluación de la concentración sinovial de factor de necrosis tumoral (LISITNF) | 115 |
| Tabla 39 | Evaluación de la concentración sinovial de óxido nítrico (LISINO) | 117 |
| Tabla 40 | Evaluación de la concentración sinovial de proteína C reactiva (LISICRP) | 118 |
| Tabla 41 | Evaluación de la concentración sinovial de amiloide sérico A (LISISAA) | 119 |
| Tabla 42 | Evaluación de la concentración sinovial de haptoglobina (LISIHAP) | 121 |
| Tabla 43 | Evaluación de la concentración sinovial de ácido hialurónico (AH) | 122 |
| Tabla 44 | Concentraciones de ácido hialurónico en diversos estudios publicados hasta la fecha | 146 |

ÍNDICE
DE FIGURAS Y GRÁFICAS

| | | |
|------------------|--|-----------|
| Figura 1 | Funciones del óxido nítrico (NO) | 16 |
| Figura 2 | Bioquímica del óxido nítrico (NO) | 17 |
| Figura 3 | Acciones catabólicas del óxido nítrico (NO) y las metaloproteinasas de matriz (MMPs) | 19 |
| Figura 4 | Mecanismos de producción de las proteínas de fase aguda (APPs) | 21 |
| Figura 5 | Esquema de la respuesta inmunomediada en el perro con lesión del ligamento cruzado craneal (LCC) | 27 |
| Figura 6 | Ilustración de la organización de los ligamentos | 32 |
| Figura 7 | Fuerzas que actúan en la extremidad posterior durante la carga (I) | 37 |
| Figura 8 | Fuerzas que actúan en la extremidad posterior durante la carga (II) | 38 |
| Figura 9 | Fuerzas que actúan en la rodilla tras el avance de la tuberosidad tibial (TTA) | 38 |
| Figura 10 | Imagen ecográfica del ligamento rotuliano en un paciente canino | 41 |
| Figura 11 | Imagen sagital de una resonancia magnética en la rodilla canina | 42 |
| Figura 12 | Posicionamiento de la sonda para evaluación del ligamento rotuliano | 58 |
| Figura 13 | Posicionamiento de la sonda para evaluación del tendón del músculo cuádriceps femoral | 59 |
| Figura 14 | Posicionamiento de la sonda para evaluación de la distensión capsular infrarrotuliana | 59 |
| Figura 15 | Posicionamiento de la sonda para evaluación de los cóndilos femorales | 60 |
| Figura 16 | Posicionamiento de la sonda para evaluación de los ligamentos colaterales y los meniscos | 60 |
| Figura 17 | Esquema del procedimiento de gestión de las muestras sanguíneas | 62 |
| Figura 18 | Esquema del procedimiento de gestión de las muestras de líquido sinovial | 63 |
| Figura 19 | Imagen postquirúrgica tras finalizar el avance de la tuberosidad tibial | 65 |
| Figura 20 | Grado de cojera (VASC) evaluada por el veterinario | 71 |
| Figura 21 | Grado de dolor (VASD) evaluado por el veterinario | 72 |
| Figura 22 | Evaluación de la cojera (VCOJ) – Protocolo A | 73 |
| Figura 23 | Evaluación de la cojera (VCOJ) – Protocolo B | 74 |
| Figura 24 | Evaluación del cajón directo (CD) – Protocolo A | 75 |
| Figura 25 | Evaluación del cajón directo (CD) – Protocolo B | 75 |
| Figura 26 | Evaluación del cajón indirecto (CI) – Protocolo A | 76 |
| Figura 27 | Evaluación del cajón indirecto (CI) – Protocolo B | 77 |
| Figura 28 | Evaluación del dolor a la hiperextensión (DH) – Protocolo A | 78 |
| Figura 29 | Evaluación del dolor a la hiperextensión (DH) – Protocolo B | 78 |
| Figura 30 | Evaluación de la efusión sinovial (ESV) – Protocolo A | 79 |
| Figura 31 | Evaluación de la efusión sinovial (ESV) – Protocolo B | 80 |
| Figura 32 | Evaluación de la evolución del animal por parte del propietario (EVAP) | 81 |

| | | |
|------------------|---|------------|
| Figura 33 | Evolución de la cojera (EPCOJ) – Protocolo A | 82 |
| Figura 34 | Evolución de la cojera (EPCOJ) – Protocolo B | 82 |
| Figura 35 | Evaluación de la facilidad para levantarse (EPLEV) – Protocolo A | 73 |
| Figura 36 | Evaluación de la facilidad para levantarse (EPLEV) – Protocolo B | 84 |
| Figura 37 | Presencia de lesión meniscal lateral y medial (MLL Y MML) – Protocolo A | 85 |
| Figura 38 | Presencia de lesión meniscal lateral y medial (MLL Y MML) – Protocolo B | 86 |
| Figura 39 | Realización de meniscectomía lateral y medial (MQL y MQM) – Protocolo A | 86 |
| Figura 40 | Realización de meniscectomía lateral y medial (MQL y MQM) – Protocolo B | 87 |
| Figura 41 | Evaluación de la irregularidad de la superficie rotuliana (ROT) – Protocolo A | 88 |
| Figura 42 | Evaluación de la irregularidad de la superficie rotuliana (ROT) – Protocolo B | 88 |
| Figura 43 | Evaluación del grosor del tendón del músculo cuádriceps femoral (TC) | 89 |
| Figura 44 | Evaluación de la textura del tendón del músculo cuádriceps femoral (TCH) – Protocolo A | 90 |
| Figura 45 | Evaluación de la textura del tendón del músculo cuádriceps femoral (TCH) – Protocolo B | 91 |
| Figura 46 | Evaluación del diámetro del receso suprarrotuliano (RSS) | 92 |
| Figura 47 | Evaluación del diámetro de la distensión infrarrotuliana (DCI) | 93 |
| Figura 48 | Evaluación del grosor del ligamento rotuliano en su origen (LRO) | 94 |
| Figura 49 | Evaluación del grosor del ligamento rotuliano en su centro (LRC) | 95 |
| Figura 50 | Evaluación del grosor del ligamento rotuliano en su inserción tibial (LRI) | 96 |
| Figura 51 | Evaluación de la textura del ligamento rotuliano (LRH) – Protocolo A | 97 |
| Figura 52 | Evaluación de la textura del ligamento rotuliano (LRH) – Protocolo B | 98 |
| Figura 53 | Evaluación del grosor del cartílago en el cóndilo femoral lateral (CCL) | 99 |
| Figura 54 | Evaluación del grosor del cartílago en el cóndilo femoral medial (CCM) | 100 |
| Figura 55 | Evaluación del grosor del ligamento colateral lateral (LCL) | 101 |
| Figura 56 | Evaluación del grosor del ligamento colateral medial (LCM) | 102 |
| Figura 57 | Evaluación de la textura del ligamento colateral lateral (LCLH) – Protocolo A | 103 |
| Figura 58 | Evaluación de la textura del ligamento colateral lateral (LCLH) – Protocolo B | 103 |
| Figura 59 | Evaluación de la textura del ligamento colateral medial (LCMH) – Protocolo A | 104 |
| Figura 60 | Evaluación de la textura del ligamento colateral medial (LCMH) – Protocolo B | 105 |
| Figura 61 | Evolución de la textura del menisco lateral (ML) – Protocolo A | 106 |
| Figura 62 | Evolución de la textura del menisco lateral (ML) – Protocolo B | 106 |
| Figura 63 | Evolución de la textura del menisco medial (MM) – Protocolo A | 107 |

| | | |
|------------------|--|------------|
| Figura 64 | Evolución de la textura del menisco medial (MM) – Protocolo B | 108 |
| Figura 65 | Evolución de la concentración sérica de factor de necrosis tumoral (SUETNF) – Protocolo A | 109 |
| Figura 66 | Evolución de la concentración sérica de factor de necrosis tumoral (SUETNF) – Protocolo B | 110 |
| Figura 67 | Evolución de la concentración sérica de óxido nítrico (SUENO) | 111 |
| Figura 68 | Evolución de la concentración sérica de proteína C reactiva (SUECRP) – Protocolo A | 112 |
| Figura 69 | Evolución de la concentración sérica de proteína C reactiva (SUECRP) – Protocolo B | 112 |
| Figura 70 | Evolución de la concentración sérica de amiloide sérico A (SUESAA) – Protocolo A | 113 |
| Figura 71 | Evolución de la concentración sérica de amiloide sérico A (SUESAA) – Protocolo B | 114 |
| Figura 72 | Evolución de la concentración sérica de haptoglobina (SUEHAP) | 115 |
| Figura 73 | Evolución de la concentración sinovial de factor de necrosis tumoral (LISITNF) – Protocolo A | 116 |
| Figura 74 | Evolución de la concentración sinovial de factor de necrosis tumoral (LISITNF) – Protocolo B | 116 |
| Figura 75 | Evolución de la concentración sinovial de óxido nítrico (LISINO) | 117 |
| Figura 76 | Evolución de la concentración sinovial de proteína C reactiva (LISCRP) – Protocolo A | 118 |
| Figura 77 | Evolución de la concentración sinovial de proteína C reactiva (LISCRP) – Protocolo B | 119 |
| Figura 78 | Evolución de la concentración sinovial de amiloide sérico A (LISISAA) – Protocolo A | 120 |
| Figura 79 | Evolución de la concentración sinovial de amiloide sérico A (LISISAA) – Protocolo B | 120 |
| Figura 80 | Evolución de la concentración sinovial de haptoglobina (LISIHAP) | 121 |
| Figura 81 | Evolución de la concentración sinovial de ácido hialurónico (AH) | 122 |
| Figura 82 | Gráfica de la evolución de la concentración de ácido hialurónico (AH) | 145 |
| Figura 83 | Correlación entre la dosis administrada y la concentración sinovial de ácido hialurónico en la visita 4 (a las 10 semanas) | 148 |
| Figura 84 | Esquema del diseño experimental | 156 |
| Figura 85 | Diagram of experimental design | 162 |

INTRODUCCIÓN Y OBJETIVOS

La osteoartritis es una patología compleja con definiciones diferentes según el punto de vista desde el que se enfoque su estudio. Etimológicamente, el término osteoartritis ha sustituido al anteriormente usado osteoartrosis, a pesar de que hace referencia a un proceso degenerativo y no a un proceso inflamatorio. Según el Diccionario Médico Mosby (Mosby's Medical Dictionary, 2009), la osteoartritis puede definirse como "una forma de artritis en la que una o varias articulaciones sufren cambios degenerativos, incluyendo esclerosis ósea subcondral, pérdida de cartílago articular y proliferación de osteofitos y cartílago en la articulación. La inflamación de la membrana sinovial en la articulación es común en las fases más avanzadas de la enfermedad". Más extensamente, Bennet, en 2010, definió en términos patológicos la osteoartritis como un desorden inherentemente no inflamatorio de las articulaciones sinoviales caracterizado por el deterioro del cartílago articular y por la formación de nuevo tejido óseo en los márgenes de las superficies articulares; desde el punto de vista de su etiopatogénesis, se trata de un conjunto de procesos interactivos de reparación y degradación en el cartílago, el hueso y la sinovia con componentes inflamatorios secundarios, y clínicamente se trata de una enfermedad articular de evolución lenta caracterizada por el desarrollo gradual de dolor articular, rigidez y limitación del movimiento (*Bennett, 2010*). Esta destrucción del cartílago articular es el resultado de complejos procesos biológicos y mecánicos y discurre acompañado de inflamación sinovial que, si bien no es la causa primaria de la enfermedad, está entre los cambios significativos que suceden durante el desarrollo del proceso patológico (*Martel-Pelletier y cols, 2007*).

La incidencia de la esta patología es elevada, constatándose en hasta al 20% de los perros con más de un año de edad (*Innes y cols, 2004*). La etiología es multifactorial y está caracterizada por un cierto número de cambios estructurales articulares, incluyendo destrucción del cartílago y alteraciones en la membrana sinovial y el hueso subcondral, lo que dificulta el movimiento y causa dolor (*Martel-Pelletier y cols, 2007*). Etiológicamente, la osteoartritis en la rodilla puede ser primaria (más habitual en el ser humano) o secundaria (más habitual en los pequeños animales): En la patología primaria, aunque la causa exacta puede no

estar claramente definida, el comienzo del desgaste del cartílago articular parece estar más asociado con una biomecánica anormal de la articulación. En la osteoartritis secundaria, los procesos patológicos que afectan a la articulación influyen en el metabolismo tisular de la articulación y pueden iniciar la degradación del cartílago (*Buckwalter y cols, 1998*). En este último caso, entre los factores predisponentes más frecuentes, encontramos la condición corporal (obesidad), factores hereditarios, traumatismos (fracturas óseas o articulares), inmunomediadas, infecciosas, alteraciones o cambios en la composición del líquido sinovial y también por inestabilidades articulares (rotura de ligamentos) crónicas o agudas; dentro de las últimas, la ruptura del ligamento cruzado craneal (LCC) es la causa más habitual de patología articular degenerativa (*Lodato y cols, 2013*) y de cojera de rodilla en el perro adulto (*Johnson y cols, 1993*).

La primera alteración histopatológica que sucede en el cartílago es la depleción de las principales macromoléculas de la matriz (incluyendo el colágeno y el agregan) como resultado de un incremento de los niveles de enzimas proteolíticas sintetizadas por los condrocitos. A pesar de que no está claramente establecido el papel de cada una de las citoquinas en el desarrollo de la osteoartritis (*Martel-Pelletier y cols, 2007*), existen considerables evidencias que indican que son cruciales en los procesos de mediación inflamatorios, así como en los de destrucción articular en la osteoartritis (*Pelletier y cols, 1989; Pelletier y cols, 1993; Van den Berg, 2001*).

Debido a su complejidad, y apoyado por el hecho de que las lesiones osteoartíticas suelen ser irreversibles y progresivas, el tratamiento de la patología debe enfocarse de forma paliativa multimodal, estableciendo como objetivos aliviar el malestar del animal, minimizar el dolor, prevenir o retardar cambios degenerativos venideros e intentar devolver a las articulaciones afectadas una función lo más próxima posible a la normalidad (*Todhunter y cols, 1994*).

Obviamente, un factor clave es intentar resolver en primera instancia la causa predisponente (sobrepeso, lesión del ligamento cruzado anterior, fracturas, patologías hereditarias, infecciones, etc.) y, posteriormente, acompañar esta resolución con unos

tratamientos de soporte (antiinflamatorios no esteroideos, condroprotectores, ácido hialurónico, etc.) cuyo objetivo será ralentizar la progresión del proceso degenerativo.

Aunque la degeneración del cartílago articular se considera una circunstancia principal en la osteoartritis, también está asociada con alteraciones en estructuras adyacentes como el hueso, ligamentos, cápsula articular, membrana sinovial y líquido sinovial que parecen formar parte de la patogénesis general de la enfermedad (*Hay y cols, 1997*). El líquido sinovial de las articulaciones osteoartrosíticas puede tener una cantidad incrementada de proteínas de fase aguda (haptoglobina, proteína C-reactiva y amiloide sérico A, entre otros), metaloproteinasas de matriz (MMP-1, MMP-2, MMP-3, MMP-9, etc.), citoquinas (interleucina-1 [IL-1], interleucina 6 [IL-6] y factor de necrosis tumoral alfa [TNF- α]) y mediadores inflamatorios gaseosos, sobre todo el óxido nítrico (NO) (*Woesner, 1994; Bertalozzo y cols, 1994; Remick y cols, 1992*).

El ácido hialurónico (AH), componente fundamental del líquido sinovial y del cartílago articular, es un glucosaminoglicano de alto peso molecular consistente en unidades repetidas del disacárido N-acetilglucosamina y glucuronato (*Bucci y cols, 2004; Girish y cols, 2009; Nganvongpanit y cols, 2013*). Asimismo, el AH proporciona un fluido hidrodinámico con propiedades viscoelásticas que permiten movimientos eficientes a las articulaciones y está sintetizado fundamentalmente por los sinoviocitos (*Girish y cols, 2009*). La viscosidad del líquido sinovial está generalmente reducida cuando existe una artropatía, lo que lleva a una insuficiente lubricación de la misma y a la aparición de dolor (*Bennet, 2010*). Una disminución en la concentración de AH en el líquido sinovial, reduce sus propiedades viscoelásticas y facilitan el desarrollo de la osteoartritis (*Moreland y cols, 2003*).

Si bien su uso en medicina humana y en el perro no está exento de controversia (*Printz y cols, 2013; Smith y cols, 2005; Muir y cols, 2011*), hay estudios que revelan que las inyecciones intraarticulares de AH son clínicamente efectivas a la hora de aliviar el dolor y ralentizar la degeneración del cartílago articular (*Echigo y cols, 2006; Nganvongpanit y cols, 2013*).

Clásicamente, la vía inyectable era la usada para la administración de ácido hialurónico como tratamiento y la prevención de la osteoartritis porque se pensaba que, debido a su elevado peso molecular y tamaño de las moléculas (de 1 MDa o más) así como a una

metabolización hepática rápida, existía baja absorción y/o utilidad clínica administrado vía oral (*Smith y cols, 1998*). Sin embargo, estudios en medicina humana indicaron que el AH administrado vía oral de forma diaria es efectivo en individuos con osteoartritis de rodilla a la hora de disminuir su dolor y mejorar la funcionalidad de la articulación y otros aspectos de su calidad de vida (*Kalman y cols, 2008*). Como es particularmente necesario disponer de una vía de administración fácil y efectiva en el paciente canino, se realizaron estudios que demostraron una buena absorción y biodisponibilidad del AH administrado vía oral (*Balogh y cols, 2008*). Este hecho, abrió nuevos horizontes terapéuticos y profilácticos que permiten tratar pacientes crónicos de forma fácil y segura.

De estos hallazgos se podría esperar que la administración oral de AH podría ser efectiva en el tratamiento de la osteoartritis (*Echigo y cols, 2006*). Sin embargo, la utilización del AH para la investigación de la osteoartritis y su evolución está en controversia. Mientras algunos estudios indican que el AH tiene efectos beneficiosos en el tratamiento de la osteoartritis canina tras la rotura del ligamento cruzado anterior (*Canapp y cols, 2005; Echigo y cols, 2006; Kuroki y cols, 2002*), otros dudan de su valor como elemento evaluador y de pronóstico de este proceso degenerativo (*Plickert y cols, 2013*).

Por lo tanto, es necesario profundizar más en el estudio de los efectos de la administración oral de estos glucosaminoglicanos de alto peso molecular en la prevención y ralentización en pacientes con sinovitis u osteoartritis.

Por todo lo anteriormente descrito, se ha elegido como modelo de osteoartritis la rodilla canina tras la rotura del LCC. Nuestra hipótesis se basa en que la administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular en pacientes caninos con lesión del ligamento cruzado anterior comporta un efecto beneficioso en la evolución del paciente tras la resolución quirúrgica de dicha patología.

De esta forma, se planteó como objetivo principal del estudio la valoración de la influencia de la administración oral de AH de elevado peso molecular, en la progresión de la sinovitis de la rodilla en el perro, tras someterse a una cirugía de avance de la tuberosidad tibial (TTA) para resolver una lesión del ligamento cruzado anterior.

Por ello se establecieron los siguientes objetivos parciales:

- 1.- Determinar clínicamente la evolución de los pacientes tratados tras la administración oral de un AH de elevado peso molecular.
- 2.- Estudiar ecográficamente la influencia de la administración oral de un AH de elevado peso molecular en las principales estructuras de la rodilla.
- 3.- Evaluar la influencia de la administración oral de un AH de elevado peso molecular en la concentración sérica y sinovial de diferentes mediadores inflamatorios (factor de necrosis tumoral alfa, proteína C reactiva, haptoglobina, amiloide sérico A y óxido nítrico).
- 4.- Evaluar la influencia de la administración oral de un AH de elevado peso molecular en la concentración sinovial de AH.

**REVISIÓN
BIBLIOGRÁFICA**

2.1.- ENFERMEDAD DEGENERATIVA ARTICULAR Y SINOVITIS

2.1.1.- FISIOLÓGÍA Y FISIOPATOLOGÍA

La osteoartritis (OA) es una enfermedad degenerativa que involucra los condrocitos, el cartílago y otros tejidos articulares y que tiene un número importante de causas subyacentes, incluyendo factores tanto bioquímicos como mecánicos (*Abramson, 2008*). Está caracterizada por una erosión progresiva del cartílago articular y por la remodelación del hueso subcondral, ambas causas íntimamente relacionadas entre sí (*Hilal y cols, 1998; Westacott y cols, 1997; Pelletier y cols, 2001*). Los cambios estructurales de esta enfermedad incluyen, además de los ya citados, la formación de osteofitos y, según la fase de la enfermedad, un grado variable de inflamación sinovial (*Pelletier y cols, 2001*). Se cree que la significativa remodelación del hueso subcondral es debida, fundamentalmente, a la reabsorción ósea predominante en los estadios iniciales de la enfermedad, seguida de un exceso de formación de hueso, de esclerosis ósea y de un engrosamiento excesivo del hueso subcondral (*Brandt, 1991; Dedrick y cols, 1993; Brandt y cols, 1994*). Esto, a su vez, explica el aumento de densidad observado en pacientes con OA en las diferentes fases de la enfermedad. Sin embargo, estudios recientes indican que el tejido óseo subcondral en animales con OA se compone de un exceso de matriz osteoide extracelular desmineralizada (*Mansell y cols, 1997; Li y cols, 1997*) compuesta de heterotrímeros anormales de colágeno tipo I con una predominancia de cadenas de colágeno tipo I a-1 sobre cadenas de tipo a-2 (*Bailey y cols, 2002*).

En la osteoartritis hay una alteración del equilibrio entre la síntesis y la degradación de los proteoglicanos de la matriz cartilaginosa y del colágeno por parte de los condrocitos, lo que induce la pérdida de resistencia a las fuerzas de compresión y cizalladura y, finalmente, la fibrilación del cartílago (*Ratcliffe y cols, 1992*). Las vías exactas involucradas en la fisiopatología de la enfermedad permanecen todavía, en general, desconocidas. Más concretamente, si los cambios del hueso subcondral en la OA en seres humanos preceden o son simultáneos a las lesiones cartilaginosas es una pregunta que permanece sin respuesta aunque, en los modelos animales en los que la OA se desarrolla de forma espontánea, los cambios óseos preceden a las lesiones cartilaginosas (*Radin, 1986; Hulth, 1993*). La hipótesis que vincula los cambios en el hueso subcondral con las lesiones del cartílago también implica que factores locales producidos y/o modificados por las células óseas puedan alterar la función del condrocito (*Westacott y cols, 1997*). Existen estudios que indican que hay modificaciones significativas en la actividad metabólica de los osteoblastos tanto en cultivos primarios de células de OA de humana (*Hilal y cols, 1998; Hilal y cols, 1999*) como en el perro (*Pelletier, 2000*). Diversos factores producidos por los osteoblastos podrían potencialmente afectar a los condrocitos del cartílago (*Paredes y cols, 2002; Massicote y cols, 2002*). La producción en el

tejido óseo local de factor de crecimiento insulínico tipo I (IGF-I), uroquinasa activadora del plasminógeno (uAP) y prostaglandinas E2 (PGE₂) pueden jugar un papel en el intento del cartílago de promover la formación de nueva matriz cartilaginosa como la observada en la OA. Las citoquinas/factores de crecimiento/prostaglandinas producidas por las células del hueso subcondral pueden filtrarse a través de la interfase cartílago-hueso (a través de canales y fisuras entre el hueso y el cartílago) y acabar estimulando la destrucción del cartílago (*Sokoloff, 1993; Imhoff y cols, 1999*).

2.1.2.- ASPECTOS BIOQUÍMICOS

2.1.2.1.- MEDIADORES INFLAMATORIOS

a.- Aminas vasoactivas: histamina y serotonina

Los signos clásicos de inflamación aguda son cuatro: rubor, calor, dolor y tumor. Estos signos son la manifestación del incremento del flujo sanguíneo local que tiene lugar en un espacio de tiempo corto tras la exposición a un estímulo inflamatorio. Este incremento del flujo por vasodilatación es el resultado de una respuesta vascular aguda que promueve la reparación del daño tisular y que está regulada por un conjunto muy complejo de mediadores inflamatorios (*Nemzek y cols, 2012*). La vasodilatación inicial da paso a un aumento de la permeabilidad vascular (por un aumento del número y el tamaño de los espacios entre las células del endotelio) mediado por unas sustancias llamadas aminas vasoactivas: la histamina y la serotonina (*Feng y cols, 1996*). La **histamina** se produce en los mastocitos e interactúa con los receptores H1. Su acción directa produce vasodilatación arteriolar, aumento de la permeabilidad venular y constricción de las arterias mayores (*Thurmond y cols, 2008*). También aumenta la vasodilatación indirectamente por la síntesis de prostaglandinas, jugando un papel importante en los procesos inflamatorios alérgicos porque atrae a los eosinófilos y estimula los nociceptores que inducen el prurito (*Lawrence, 1998*).

La **serotonina** tiene un efecto parecido a la histamina, aunque no es un mediador principal en la respuesta de inflamación aguda en humanos y otras especies animales, excepto los roedores (*Spiller, 2008*).

b.- Citoquinas: factor de necrosis tumoral (TNF- α) e interleucinas

Los mastocitos, distribuidos por todo el organismo, degranulan como respuesta a un estímulo inflamatorio (traumatismos, microorganismos, neuropéptidos, etc.). Son la primera fuente de histamina durante la fase aguda de la inflamación, aunque también liberan otros mediadores proinflamatorios como la serotonina, leucotrienos, heparina y citoquinas (*Artuc y cols, 1999; Sherwood y cols, 2004*).

El término citoquina hace referencia a un grupo variado de pequeñas proteínas que actúan como mensajeros intercelulares en ciertos procesos fisiológicos. Entre ellas podemos nombrar el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), las interleucinas, interferones, etc. Las citoquinas interactúan con receptores de la superficie celular que inician vías metabólicas intracelulares y que, a su vez, modifican funciones celulares y estimulan la producción de más citoquinas. Son difíciles de categorizar y clasificar debido a su gran diversidad. En base a su funcionalidad se pueden clasificar como citoquinas proinflamatorias, que incrementan la respuesta inmune innata (TNF- α , IL-1, IL-6) y citoquinas antiinflamatorias, que la disminuyen (IL-10, IL-1ra) (Nemzeck y cols, 2012).

El **factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)** es una de las más estudiadas y fue descrita por primera vez por su marcada actividad antitumoral y asociación con estados de enfermedad crónica (Kruglov y cols, 2008). Aunque se creía que estaba involucrado primeramente en la fase aguda de la inflamación articular (Joosten y cols, 1996; Cameron y cols, 1997; Bolon y cols, 2004), se ha evidenciado que también presenta una función importante en la fase crónica (Emshoff y cols, 2000; Sudekai y cols, 2004). Los macrófagos activados son la fuente principal de TNF- α (Kruglov y cols, 2008). Como respuesta a un estímulo, la concentración de TNF- α crece rápidamente (Sabiston y cols, 2008). Tras su liberación, la TNF- α estimula la producción de más citoquinas proinflamatorias (p.ej.: IL-6), mediadores gaseosos (Narni-Mancielly y cols, 2007), quimiotaxinas, y moléculas que se adhieren al endotelio, lo que lleva a una invasión de células en el punto de inflamación (Eriksson y cols, 2000; Cavaillon y cols, 2002). Otros efectos producidos por la TNF- α son la activación de las células NK (Wherry y cols, 1991), la proliferación de linfocitos T-citotóxicos (Kasahara y cols, 2003) y la apoptosis de células T (Vinay y cols, 2009).

Su liberación puede tener efectos tanto beneficiosos como perjudiciales (Grivennikov y cols, 2009) aunque administrado de forma experimental produce síntomas clásicos de shock endotóxico: hipotensión, acidosis metabólica y muerte (Tracey y cols, 1986). Diferentes estudios sobre su función y efectos ofrecen resultados aparentemente contradictorios. Por ejemplo, Beutler y cols, en 1985, publicaron que la inhibición de la actividad TNF- α tiene efecto protector en el shock endotóxico mientras que Fisher y cols en 1996 descubrieron que si bloqueamos la actividad de la TNF- α , la mortalidad aumenta en pacientes humanos con sepsis. En cambio, la TNF- α es necesaria para la protección frente a infección por mycobacterium tuberculosis (Flynn y cols, 1995).

El término **interleucina 1 (IL-1)** realmente determina varias interleucinas producidas por los macrófagos y otros tipos de células (Sabiston y cols, 2008). Las funciones proinflamatorias de la IL-1 son las mismas que las de la TNF- α y suelen actuar sinérgicamente para incrementar la intensidad de la inflamación (Okusava y cols, 1988; Narni-Mancielli y cols, 2007). Como respuesta a un estímulo inflamatorio, la IL-1 incrementa la producción de citoquinas proinflamatorias, prostaglandinas y óxido nítrico. Estos cambios se manifiestan en la respuesta del paciente, que incluye hipotensión, fiebre, leucopenia, hemorragia y edema

pulmonar (*Goldblum y cols, 1988; Okusawa y cols, 1988*). La inhibición competitiva de los receptores de la IL-1 mejora la supervivencia tras la administración de ciertas endotoxinas (*Nemzeck y cols, 2012*).

La **interleucina 6 (IL-6)** se incrementa en, prácticamente, todos los procesos inflamatorios. Se produce en macrófagos, células T, células epiteliales y enterocitos. Juega un papel esencial en el comienzo de la producción hepática de las proteínas de fase aguda, además de facilitar la proliferación linfocitaria (*Page, 2005; Sabiston y cols, 2008*). En estados inflamatorios, la IL-6 plasmática aumenta proporcionalmente a la duración y la severidad de la patología (*Shenkin y cols, 1989*). Tras procedimientos quirúrgicos, sus niveles plasmáticos son más altos con procedimientos invasivos (*Cruickshank y cols, 1990; Franke y cols, 2005*) que con cirugía laparoscópica (*Kloosterman y cols, 1994; Ueo y cols, 1994*). Los niveles plasmáticos de IL-6 se han usado para predecir infecciones postquirúrgicas (*Mokart y cols, 2002*) y la mortalidad asociada con sepsis (*Remick y cols, 2002*). Por todo ello se considera la IL-6 no sólo un mediador, sino un biomarcador importante del diagnóstico y pronóstico de la inflamación (*Nemzeck y cols, 2012*).

Aunque las citoquinas antiinflamatorias son numerosas, la **interleucina 10 (IL-10)** es el arquetipo. Es producida primariamente por las células CD4+ Th-2, monocitos y células B (*Opal y cols, 2000*). Disminuye la producción de varias citoquinas proinflamatorias y quimioquinas, incluyendo la TNF- α , IL-1, IL-6 e IL-8. La IL-10 también inhiben las citoquinas Th-1, que protegen frente a infecciones microbianas (*Asadullah y cols, 2003*) y juegan un papel importante limitando la respuesta inflamatoria frente a las bacterias habituales del sistema digestivo (*Opal y cols, 2000*). Además, promueve el paso de los receptores de factor de necrosis tumoral hacia circulación sistémica (*Joyce y cols, 1994*). El exceso de IL-10 puede incrementar la susceptibilidad a infecciones microbianas, afectando a la supervivencia (*Lehman y cols, 1995*).

c.- Mediadores derivados de lípidos de la membrana celular

Eicosanoides

Son mediadores lipídicos sintetizados rápidamente a partir de los fosfolípidos de la membrana celular y que muestran sus efectos localmente. Sus precursores son los ácidos grasos, en concreto el ácido araquidónico, que se almacena en las membranas de las células endoteliales, leucocitos y otras células. El ácido araquidónico es liberado por la fosfolipasa A₂ activada y rápidamente metabolizado en la vía de la ciclooxigenasa o lipooxigenasa (*Boothe y cols, 1993; Henderson, 1994*).

Los glucocorticoides suprimen la inflamación disminuyendo la expresión de la fosfolipasa A₂, lo que disminuye la producción de ácido araquidónico. También aumentan la

expresión de los genes que codifican las proteínas antiinflamatorias que inhiben la liberación del ácido araquidónico a partir de los fosfolípidos (*Buchingham y cols, 1997; Czock y cols, 2005*). Los eicosanoides más importantes son las prostaglandinas y los leucotrienos.

Las **prostaglandinas** se producen en la vía de la ciclooxigenasa, donde el metabolismo del ácido araquidónico se cataboliza por las enzimas ciclooxigenasas 1 y 2 (COX-1 y COX-2). LA COX-1 es una enzima involucrada en la homeostasis y está presente en la mayoría de células maduras. La expresión de la COX-2 es inducida por traumatismos, factores de crecimiento, citoquinas proinflamatorias y otros mediadores (*Funk, 2001; Rajakariar y cols, 2006*). Son agentes quimiotácticos que reclutan leucocitos, inducen vasodilatación y contribuyen a la patogénesis del dolor y la fiebre durante la inflamación (*Williams y cols, 1997*).

Los **leucotrienos** son producidos en la vía de la lipooxigenasa, donde estas enzimas actúan sobre el ácido araquidónico para formar los principales tipos de leucotrienos, LTB₄, y los peptidoleucotrienos (LTC₄, LTD₄ y LTE₄), que son moduladores proinflamatorios del tráfico de leucocitos y del flujo sanguíneo. Son primariamente secretados por los leucocitos, aunque también lo son por las plaquetas y células endoteliales (*Boothe, 1993*). El LTB₄ es un potente agente quimiotáctico y activador de neutrófilos que potencia su extravasación, degranulación y producción de radicales libres (*Papayianni y cols, 1996*). Además, los peptidoleucotrienos provocan vasoconstricción, broncoconstricción e incremento de la permeabilidad de las vénulas (*Henderson, 1994; Papayianni y cols, 1996*). En general, los leucotrienos tienen una acción vasoactiva más potente que la histamina (*Henderson y cols, 1994*).

Factor activador de plaquetas (FAP)

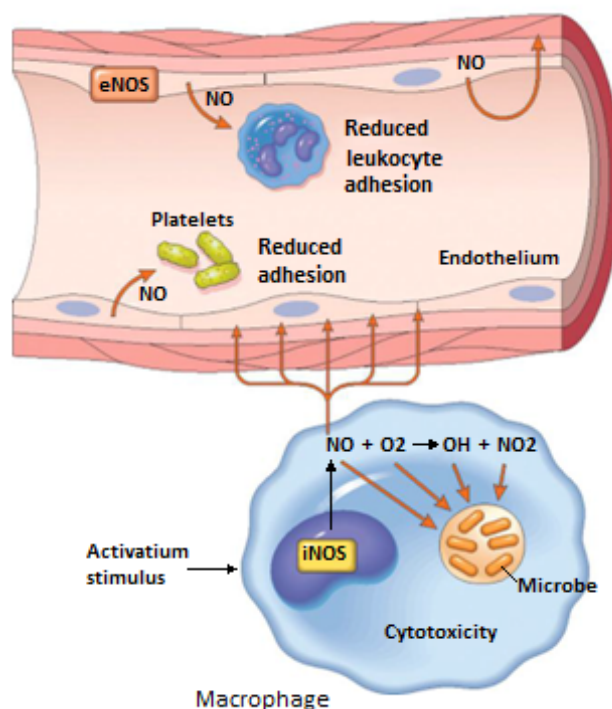
Similar a los eicosanoides, el factor activador de plaquetas (FAP) se metaboliza a partir de los fosfolípidos de la membrana celular por la fosfolipasa A₂. Se produce en numerosas células, incluyendo las endoteliales, neutrófilos, plaquetas, macrófagos y eosinófilos (*Chao y cols, 1993*). Su aumento se debe a la acción de numerosos mediadores inflamatorios, incluyendo mediadores gaseosos, histamina y citoquinas. El FAP se une a los receptores de proteína G, que se encuentran en diversos tipos de células (*Chao y cols, 1993; Stafforini y cols, 2003*). Tiene efectos pro-inflamatorios directos sobre los neutrófilos incrementando la afinidad y avidéz de sus integrinas de superficie, lo que incrementa su adhesividad. Otras acciones inducidas por el FAP son incrementar la motilidad y degranulación de los neutrófilos (*Prescott y cols, 2000*), la agregación y degranulación de plaquetas (*Chao y cols, 1993*), degranulación y producción de oxígeno reactivo por parte de los eosinófilos (*Tachibana y cols, 2002*), aumentar la permeabilidad vascular e inducir broncoconstricción y vasoconstricción pulmonar (*Harris, 1999*).

d.- Mediadores gaseosos

De todos los mediadores gaseosos, el óxido nítrico es el que presenta principales efectos vasculares e inmunológicos. Recientemente, el monóxido de carbono endógeno (CO) y el sulfuro de hidrógeno (H₂S), conocido por su efecto tóxico y letal, también han sido investigados por su contribución a la respuesta inflamatoria (Nemzeck y cols, 2012).

El **óxido nítrico (NO)** se sintetiza a partir del aminoácido L-arginina por la enzima óxido nítrico sintetasa, NOS. Se conocen tres formas de óxido nítrico sintetasa. Las derivadas del endotelio (eNOS) y neuronal (nNOS) se producen de manera constitutiva, mientras que la inducible (iNOS) se produce como respuesta a la presencia de citoquinas y otros mediadores inflamatorios (Moncada y cols, 1991) (Fig. 1). La iNOS puede producirse en una variedad de tipos celulares, incluyendo hepatocitos, keratinocitos, macrófagos, epitelio respiratorio y neutrófilos (Huang y cols, 1998; Nathan y cols, 1994). Ciertos procesos inflamatorios como la sepsis puede llevar a la producción de óxido nítrico sintetasa (Schwentker y cols, 2003). La regulación del tono vascular es la principal función fisiológica del NO y sirve como principal vasodilatador endógeno. Induce la vasodilatación porque se difunde en las células del músculo liso e inicia los mecanismos de relajación muscular de forma indirecta (Bredt y cols, 1994). Además, antagoniza los efectos vasoconstrictores de la angiotensina II y endotelinas (Pechanova y cols, 2007), convirtiéndose en el principal contribuyente a las fases iniciales de la vasodilatación (Schwentker y cols, 2003).

FIG. 1: FUNCIONES DEL ÓXIDO NÍTRICO (NO)

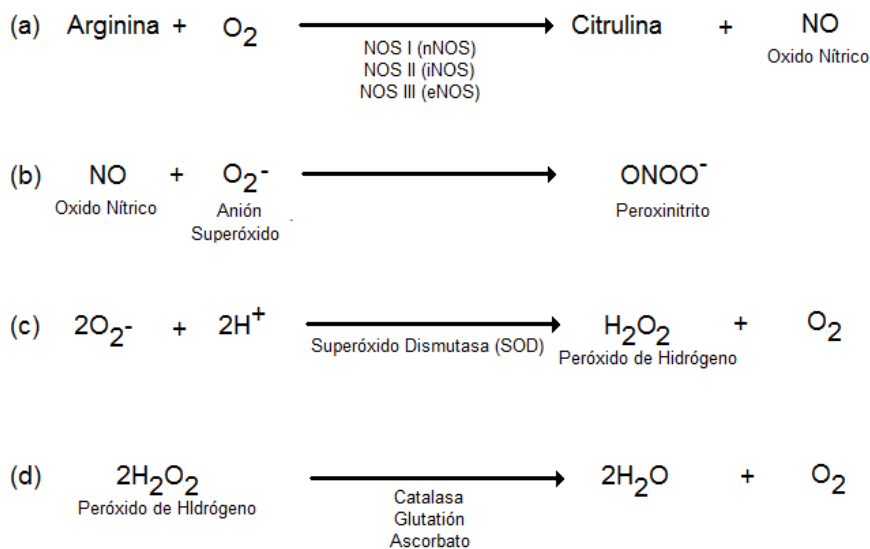


Funciones del óxido nítrico (NO) (Kumar V y cols, 2009)

El óxido nítrico presenta, dependiendo de la concentración y el modo de producción, efectos tanto proinflamatorios como antiinflamatorios, (Miller, 1993; Pfeilschifter y cols, 1996). Disminuye la agregación plaquetaria y la adhesión de los leucocitos. Los niveles basales de óxido nítrico también tienen efectos antiinflamatorios sobre el tracto gastrointestinal (Miller, 1993). En un estado inflamatorio, las citoquinas proinflamatorias y los metabolitos bacterianos disminuyen la producción de las óxido nítrico sintetetas constitutivas, lo que lleva a incrementar la oxido nítrico sintetasa inducible en los monocitos, macrófagos y neutrófilos (Sharma y cols, 2007). El óxido nítrico incrementa la destrucción de agentes infecciosos por los macrófagos (Liew y cols, 1990; Tsai y cols, 1997) e incrementa la producción de citoquinas proinflamatorias (Brieland y cols, 1995). Tiene una influencia sobre la respuesta de los linfocitos T-helper 1 (Th-1) que depende de la concentración; a dosis bajas induce la respuesta y la disminuye a dosis altas. También afecta a la cura de las heridas. Niveles bajos de NO asociados a enfermedades como diabetes, malnutrición o a niveles altos de glucocorticoides se asocian con disminución del colágeno en los tejidos y de la fuerza de tensión en los mismos.

Sin embargo, un nivel alto de NO también puede dificultar la cicatrización (Niedbala y cols, 1999), presentando efectos perjudiciales sobre los tejidos locales y perpetuando el ciclo inflamatorio. Estos efectos son el resultado de las especies reactivas de nitrógeno (ERN), derivadas del óxido nítrico. En ciertas patologías inflamatorias crónicas, la enzima superóxido dismutasa puede ser incapaz de controlar los niveles de superóxido, lo que permite una reacción entre el óxido nítrico y el superóxido que produce un oxidante muy potente, el peroxinitrito (Fig. 2) que tiene efectos citotóxicos directos que interrumpen las funciones vitales celulares como la glicolisis y el ciclo del ácido tricarbóxico (Pfeilschifter y cols, 1996). El peroxinitrito también contribuye a la apoptosis de los condrocitos (Del Carlo y cols, 2002).

FIG. 2: BIOQUÍMICA DEL ÓXIDO NÍTRICO (NO)



Bioquímica del Óxido Nítrico (Abramson, 2008)

El NO, iNOS, eNOS, nNOS y el peroxinitrito han sido detectados en tejidos tanto de articulaciones sanas como osteoarthriticas (*Amin y cols, 1995; Pelletier y cols, 2000; Di Mauro y cols, 2006*) existiendo evidencias de que la producción articular de NO deriva de la producción de iNOS en los condrocitos. La producción de NO en la membrana sinovial es generalmente baja en articulaciones normales y osteoarthriticas. La valoración de la producción de NO en tejido ligamentoso, especialmente en el LCC roto total o parcialmente, es dificultosa porque las muestras de LCC naturalmente lesionado se obtienen durante la reparación quirúrgica. Por esta razón, tenemos que examinar tejido altamente traumatizado sin conocer si la producción de NO y sus metabolitos ha sido desencadenado por la patología original del LCC o si es una consecuencia del trauma mecánico de la lesión del ligamento. La inhibición de la producción de NO en el LCC por medio de un inhibidor específico de la iNOS demuestra que el NO en el ligamento se deriva principalmente de la vía inducible del NOS (*Spreng y cols, 2000*). La liberación crónica y sostenida de NO aparece en desórdenes crónicos, tanto de origen articular (reumatoides y osteoarthrititis) como gastrointestinal (*Sharma y cols, 2007; McKenzie y cols, 2008*).

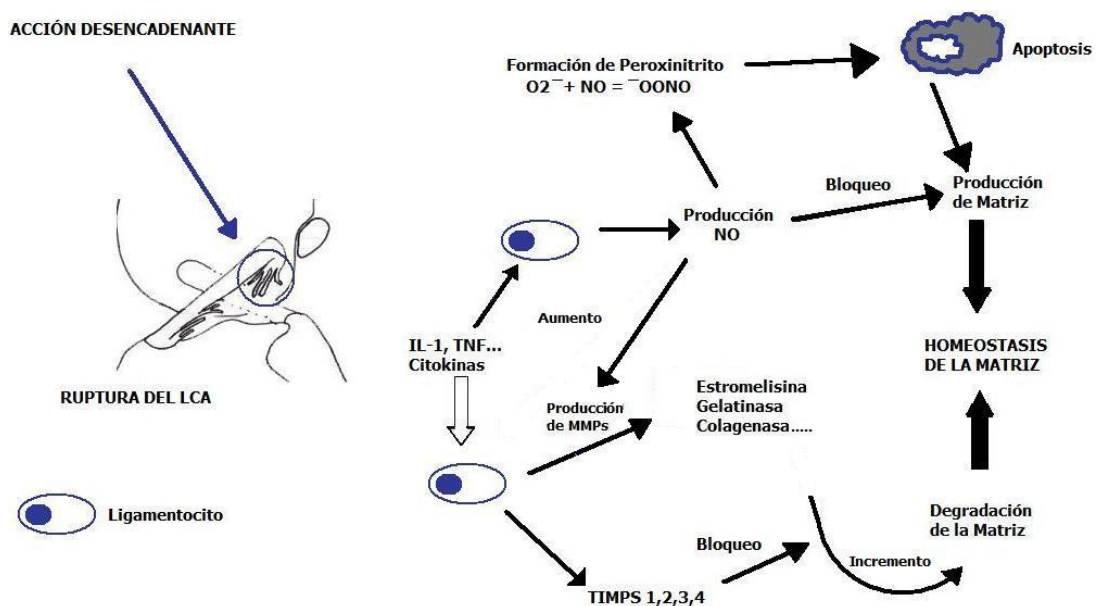
Los condrocitos de pacientes con OA expresan iNOS en la zona superficial del cartílago articular, reflejando un aumento del NO durante la OA (*Häuselmann y cols, 1998*). El NO inhibe la síntesis de proteoglicanos y colágeno en los cultivos de cartílago y regula la síntesis de metaloproteinasas (MMP), contribuyendo ambos a la destrucción de la matriz extracelular. Además de estas acciones, el NO también media en la apoptosis de los tejidos articulares aunque se ha demostrado que no puede hacerlo por sí solo. Sin embargo, si se incuban condrocitos con NO donante y peroxinitrito (compuesto nitrogenado), sí se induce la muerte celular apoptótica (*Del Carlo y cols, 2002*) demostrando la acción catabólica del NO en las articulaciones. A pesar de ello, recientemente se ha visto que esta aproximación es demasiado simplista ya que los condrocitos pueden responder de forma diferente al NO en base a su localización en el cartílago, y también pueden actuar de diversas maneras dependiendo de la forma de activación (*Xia y cols, 2006; Shi y cols, 2007; Hancock y cols, 2008*). Existen estudios recientes que demuestran efectos beneficiosos del NO en otros tipos de células, incluyendo tendones y osteoblastos, y que potencialmente podrían estar presentes en los condrocitos. De la misma manera, el NO y sus derivados juegan también un papel crítico en la producción y reducción de la nocicepción y el dolor, que es la primera causa de problemas en los casos de osteoarthrititis (*Abramson, 2008*).

Se ha demostrado que el LCC produce más NO que otros ligamentos (*Cao y cols, 2000; Spreng y cols, 2000*). Tras la estimulación de los ligamentocitos, los niveles de NO inducida por la iNOS se aumentan e inhiben la síntesis normal de colágeno (*Cao y cols, 2000*), pudiendo concluir que las concentraciones altas de NO inhiben la homeostasis normal de la matriz y producen debilidad intrínseca del ligamento (*Spreng, 2010*). Pero el NO, por sí sólo, no es responsable de los niveles incrementados de apoptosis en el LCC. Hay estudios que

demuestran que solo la combinación del NO y las especies de oxígeno reactivo (ROS) inducen la apoptosis en los condrocitos (*Del Carlo y cols, 2002*). De todo ello podría deducirse que el incremento de la producción de NO puede ser un primer paso en la rotura del LCC, contribuyendo a la muerte celular secundaria al desequilibrio de la homeostasis del ligamento (*Spreng, 2010*).

Todas estas observaciones se corresponden con la teoría de que un incidente inicial lleva a la inflamación del LCC (*Hayashi y cols, 2004*). Los ligamentocitos desarrollan un desequilibrio en la homeostasis de la matriz como reacción al estímulo inflamatorio, incluyendo elevación de las enzimas reguladoras de la degradación de la matriz y reducción de la producción de matriz y muerte prematura de los ligamentocitos inducida por el peroxinitrito (Fig. 3). EL papel del NO, sin embargo, no parece tan simple. Extrapolando los datos de los experimentos realizados con cartílago, parece que la inhibición de la producción de la NOS puede disminuir la inflamación, pero posee poco efecto a la hora de evitar la pérdida de cartílago articular. Por otro lado, la inhibición de peroxinitrito mediante la aplicación de ácido úrico reduce la inflamación intra-articular y la pérdida de cartílago articular (*Bezzera y cols, 2004*). Otros estudios, sin embargo han mostrado datos contrarios: Perros con OA tratados con un inhibidor específico de la iNOS mostraron una reducción en la formación de osteofitos, disminución de la severidad de las lesiones histológicas en el cartílago y menores niveles de apoptosis cartilaginosa comparada con los perros no tratados (*Pelletier y cols, 2000*). Resultados recientes muestran evidencias de efectos protectores del NO en tenocitos y en OA crónica humana (*Xia y cols, 2006; Hancock y cols, 2008; Wallace y cols, 2009*).

FIG. 3: ACCIONES CATABÓLICAS DEL ÓXIDO NÍTRICO (NO) Y LAS METALOPROTEINASAS DE MATRIZ (MMPs)



Acciones catabólicas del NO y las MMPs en la homeostasis de la matriz del LCC (*Muir, 2010*).

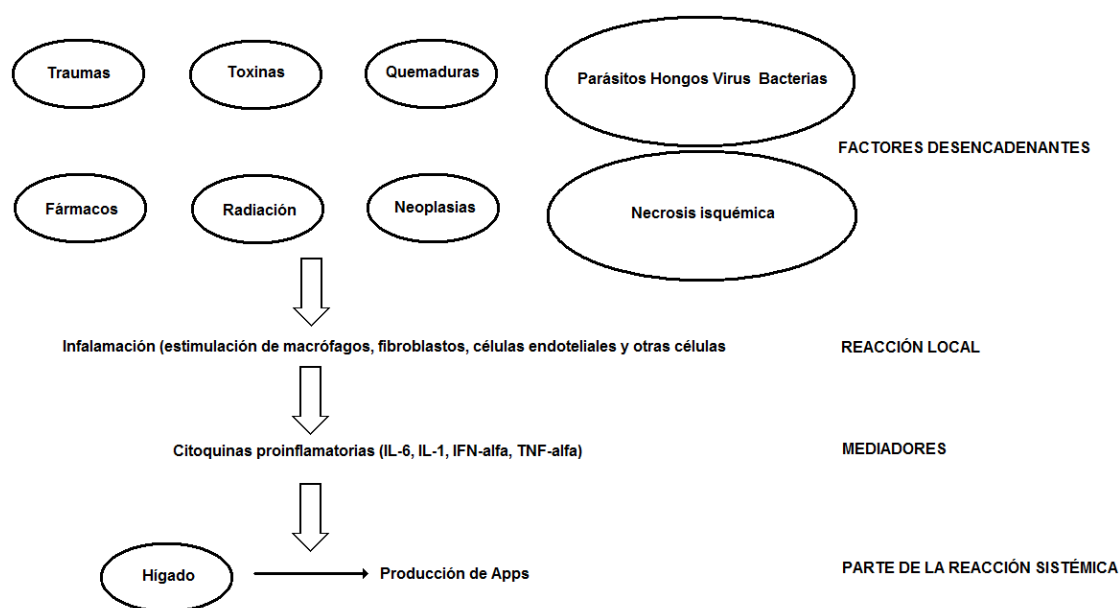
El **sulfuro de hidrógeno (SH₂)** se produce durante el metabolismo de la cisteína. Regula la presión sanguínea e induce analgesia visceral. En modelos animales de inflamación y sepsis, parece promover la inflamación (*Li y cols, 2005*), mientras que los inhibidores de la síntesis de SH₂ disminuyen los niveles de varias citoquinas proinflamatorias (*Zhang y cols, 2007*). Además, el SH₂ suprime la interacción entre los leucocitos y las células endoteliales, disminuyendo el reclutamiento de leucocitos (*Zanardo y cols, 2006*).

e.- Proteínas de fase aguda

La respuesta de fase aguda (RFA) es parte de la respuesta inmediata e innata del sistema inmune (*Cray y cols, 2009*) y se inicia por diferentes causas: traumáticas, inmunológicas, neoplásicas, infecciosas, etc. (*Cerón y cols, 2005*). Como consecuencia de dicha respuesta inmune, se desencadena una compleja reacción sistémica cuyo último objetivo es promover la homeostasis y eliminar la causa patológica (*Whicher y cols, 1992; Ebersole y cols, 2000*). Esa fase inicial es la respuesta durante los estadios iniciales críticos del ataque y, en términos de desarrollo, anticipa la respuesta inmune adquirida (*Eckersall, 2000*).

La respuesta de fase aguda se caracteriza por diferentes efectos sistémicos, incluyendo fiebre, leucocitosis, aumento del cortisol sérico y disminución de la tiroxina, cambios metabólicos (lipólisis, gluconeogénesis, catabolismo muscular...) y disminución de las concentraciones séricas de hierro y zinc (*Cerón y cols, 2005*). También incluye cambios en las concentraciones de ciertas proteínas plasmáticas, las llamadas proteínas de fase aguda (APPs), que se definen como aquellas cuya concentración cambia significativamente como respuesta a un proceso inflamatorio y son primariamente sintetizadas por los hepatocitos. Algunas de ellas disminuyen su concentración (las denominadas APPs negativas como, por ejemplo, la albúmina o la transferrina) mientras que otras la aumentan (llamadas APPs positivas como, por ejemplo, la proteína C reactiva –CRP-, el amiloide sérico A –SAA-, la haptoglobina –Hp-, la alfa-1 glicoproteína –AGP-, la ceruloplasmina –Cp- y el fibrinógeno) (*Kushner y cols, 1993; Eckersall, 1995*). La mayoría de las APPs positivas son glicoproteínas sintetizadas, principalmente por los hepatocitos bajo estímulo de las citoquinas proinflamatorias, y liberadas en el torrente sanguíneo (Fig. 4).

FIG. 4: MECANISMOS DE PRODUCCIÓN DE LAS PROTEÍNAS DE FASE AGUDA (APPs)



Mecanismos de producción de las proteínas de fase aguda (APPs) por los hepatocitos, indicando los cuatro componentes que se pueden diferenciar: factores desencadenantes, reacción local, mediadores y reacción sistémica (Cerón y cols, 2005)

También pueden ser sintetizadas en otros tejidos además de en los hepatocitos. Se ha demostrado la producción de SAA en tejidos como intestino, riñón, médula ósea, adipocitos (en casos de hiperglicemia) y glándulas mamarias (en casos de mastitis) en diferentes especies animales (Lyn y cols, 2001; Eckersall, 2001). El pulmón, tejido adiposo, bazo y riñón pueden producir Haptoglobina (Dobryszcka, 1997; Ebersole y cols, 2000). En el ser humano, el riñón puede producir CRP, siendo susceptible de usarse como indicador de un posible rechazo tras un trasplante (Jabs y cols, 2003). A pesar de que su papel fisiológico todavía no se comprende completamente, parece que las APPs están involucradas en la regulación de la respuesta inmune, inflamación y protección contra la infección, así como en la recuperación de los tejidos dañados. La misma APP puede tener tanto efecto proinflamatorio como antiinflamatorio, con un equilibrio muy delicado entre ambas funciones (Hochepped y cols, 2003).

Como respuesta a las citoquinas proinflamatorias, las APPs positivas incrementan su concentración durante unas horas, alcanzando un pico a las 24-48 horas y pueden permanecer aumentadas mientras dure el estímulo inflamatorio (Kajikawa y cols, 1999; Dhainaut y cols, 2001; Paltrinieri, 2008). En general, el papel de las APPs es incrementar las funciones protectoras del hospedador, minimizando el daño tisular y mejorando los procesos de reparación tras la infección, trauma o estrés (Cerón y cols, 2005; Crisman y cols, 2008). De manera adicional a estas funciones, las proteínas de fase aguda pueden usarse como marcador de pronóstico o diagnóstico para una pronta identificación de la inflamación y prevención de la evolución (Kajikawa y cols, 1999; Crisman y cols, 2008; Paltrinieri, 2008).

Proteína C-reactiva (CRP)

Es una proteína con un peso molecular de 100 kD, con 5 subunidades de 20 kD cada una, y fue la primera APP en ser descrita. En medicina humana es un marcador sistémico extremadamente sensible de inflamación y daño tisular (*Volanakis, 2001; Pepys y cols, 2003*). Observada con microscopía electrónica, la CRP canina se asemeja mucho a la humana; la principal diferencia radica en que 2 de las 5 subunidades de la CRP canina están glicosiladas (*Caspi y cols, 1984; Eckersall, 1998*). La CRP se une a la fosfocolina, las ribonucleoproteínas y fosfolípidos; es decir se une a bacterias ajenas al organismo así como a células apoptóticas o necróticas (*Cerón y cols, 2005; Ferri y cols, 2007*).

Sus principales funciones biológicas son la inducción de citoquinas, inhibición de la quimiotaxis y modulación de la función de los neutrófilos (que, al unirse a las bacterias, promueven la vinculación con el complemento y facilitan la absorción bacteriana por parte de los fagocitos). Se ha considerado una forma primitiva de anticuerpo que interactúa específicamente con los componentes de las membranas de los microorganismos (*Cerón y cols, 2005*). Activa a los macrófagos para que produzcan IL-1 β , IL-6, TNF- α y factores tisulares lo que activa la cascada de la coagulación extrínseca (*Zhong y cols, 1998*). Esto puede producir coagulación intravascular diseminada y trombosis durante el episodio inflamatorio (*Ferri y cols, 2007*). La fisiopatología de la CRP es compleja, pues induce tanto respuesta proinflamatoria como antiinflamatoria (*Nemzeck y cols, 2012*).

Amiloide sérico A (SAA)

Es una proteína sérica pequeña con un peso molecular de 15 kD. Se cree que es precursor de la proteína amiloide A, la principal proteína del alfa-amiloide, por lo que está potencialmente involucrada en la patogénesis de la amiloidosis y otras enfermedades crónicas inflamatorias como la artritis reumatoide (*Uhlir y cols, 1999*). Los hepatocitos son la principal fuente de SAA circulante, aunque ha sido demostrada la producción extrahepática en una amplia variedad de tejidos, como macrófagos y células endoteliales (*Nemzeck y cols, 2012*) y especies (*Marhaug y cols, 1997; Urieli-Shoval y cols, 1998; McDonald y cols, 2001*). Aunque la concentración puede aumentar hasta 1000 veces en condiciones inflamatorias, la magnitud de la respuesta depende de la especie y la enfermedad (*Cecilian y cols, 2002; Ribeiro y cols, 2003*). Se especula que el SAA ayuda en el aclaramiento del colesterol de los macrófagos tras la fagocitosis de las membranas celulares dañadas (*Lindhorst y cols, 1997*). El amiloide sérico A estimula la producción de citoquinas proinflamatorias (TNF- α , IL-1 β , IL-8) de los leucocitos, particularmente los neutrófilos (*Ribeiro y cols, 2003*).

Sus principales funciones biológicas son actuar como reclutamiento quimiotáctico de las células T, monocitos y neutrófilos hacia los puntos de inflamación, disminución de la respuesta inflamatoria (inhibiendo la liberación de mieloperoxidasa y la proliferación de linfocitos) y estar involucrado en el metabolismo y transporte de los lípidos (*Cerón y cols,*

2005). También disminuye la producción de PGE2 y activación de plaquetas (*Cecilian y cols, 2002*).

Haptoglobina

Es una α -2 glicoproteína, y forma parte de las proteínas de fase aguda en respuesta a estados o enfermedades inflamatorias. En investigación veterinaria, la haptoglobina es particularmente importante (*Murata y cols, 2004*) y es ampliamente usada en la verificación del estado de salud del ganado y, particularmente, de las ovejas debido a una fuerte respuesta a la infección, con aumentos de las concentraciones circulantes de hasta 100 veces el valor normal. En otras especies, como la humana, canina, felina y porcina hay incrementos mucho más moderados (de 2 a 5 veces), aunque estos incrementos pueden proporcionar suficiente información diagnóstica válida (*Eckersall y cols, 1988; Eckersall, 1995*). La haptoglobina es una proteína que se une a la hemoglobina y está presente en el plasma de todos los vertebrados, y se cree que participa en el transporte de hemoglobina desde la sangre al hígado y el posterior reciclado del hierro (*Mominoki y cols, 1995*).

Además de las anteriormente descritas, otras funciones son estar involucrada en la respuesta del hospedador a la infección y la inflamación, actuando como antagonista natural para la activación ligada a los receptores del sistema inmune, unirse a la hemoglobina libre (producto proinflamatorio tóxico resultante de la hemólisis), tener efecto bactericida en heridas infectadas (uniéndose a la hemoglobina y limitando la disponibilidad del hierro de la hemoglobina para el crecimiento bacteriano) e inhibir la quimiotaxis de los granulocitos y la fagocitosis (*Cerón y cols, 2005*).

2.1.2.2.- PROCESOS DEGRADATIVOS

Los procesos de remodelación y síntesis de los tejidos son de extrema importancia en el contexto de la patología del LCC y la artritis de rodilla. El papel que juegan en ello las **metaloproteinasas de matriz (MMPs)** es crucial. Son un grupo de endopeptidasas detectadas en casi cualquier enfermedad en la que exista un componente inflamatorio (*Spreng, 2010*) y tanto ellas como sus inhibidores, los inhibidores tisulares de metaloproteinasas (**TIMPs**), controlan el equilibrio de los procesos de síntesis y remodelación (*Nagase y cols, 2006*). Las concentraciones de TIMPs generalmente exceden con mucho las de MMPs en el tejido, limitando por lo tanto la actividad proteolítica en la matriz pericelular. Las MMPs en el entorno articular están producidas por las células sinoviales, cartílagos, ligamentocitos y leucinas. Pueden dividirse en colagenasas, gelatinasas, estromelisininas y de membrana, basándose en su especificidad de sustrato.

Las MMPs pueden detectarse tanto en tejidos articulares como en líquido sinovial. Tal y como sucede con otros componentes del líquido sinovial, no es posible diferenciar el origen de

la producción de las MMPs encontrado en el líquido sinovial, por lo que únicamente tienen valor para entender las vías fisiopatológicas de una enfermedad específica (*Fujita y cols, 2006; Salinardi y cols, 2006; Tang y cols, 2009*).

Las enfermedades articulares comprenden un componente inflamatorio y otros de degradación de la matriz. Las MMPs juegan un papel importante en ambos aspectos de la enfermedad y muchas de sus acciones son de naturaleza catabólica. Están asociadas con el aumento de la degeneración de la matriz extracelular del cartílago o de los ligamentos, así como con una marcada inflamación del tejido sinovial (*Foos y cols, 2001; Muir y cols, 2005a; Doom y cols, 2008; Tang y cols, 2009*). Sin embargo, algunas MMPs tienen papeles opuestos en el desarrollo de enfermedades específicas. Por ejemplo, MMP-2 y MMP-9 (gelatinasa A y B) tienen una muy similar especificidad de sustrato por las proteínas de la matriz, pero tienen acciones opuestas no relacionadas con la matriz: MMP-2 es importante para la degradación de los factores inflamatorios, mientras que MMP-9 es un productor importante de macrófagos y neutrófilos: Experimentalmente, esto nos lleva a artritis exacerbada por deficiencia de MMP-2 y reducción de artritis por deficiencia de MMP-9 (*Itoh y cols, 2002*). Se han detectado MMPs en tejido del LCC y se han correlacionado con su lesión. La expresión de los genes de MMP-2, MMP-9 y MMP-13 se aumentó significativamente en LCC rotos y también había tendencia a que se elevase la MMP-3 si los comparamos con los LCC sanos (*Spreng y cols, 1997; Muir y cols, 2005a*).

Una de las principales razones del pobre conocimiento que actualmente se tiene sobre la patogénesis de la rotura del LCC en el perro es el hecho de que es muy difícil estudiar la enfermedad en los estadios iniciales. Una de las vías generalmente usadas para explicarla es que un evento desencadenante lleva a procesos que lentamente debilitan la matriz del ligamento hasta que sucede la rotura mecánica de los componentes de la matriz. Este evento viene seguido de manifestaciones clínicas de cojera y rotura total o parcial del ligamento con la formación de artritis (*Spreng, 2010*). Hay buenas evidencias de que NO y MMPs modulan las consecuencias de la rotura del LCC, por ejemplo, la OA (*Abramson, 2008*).

El tejido del LCC responde a un evento traumático liberando MMP-2 (*Tang y cols, 2009*). La sinoviectomía de la membrana sinovial que cubre el LCC en conejos induce un incremento significativo de la actividad colagenasa dentro del ligamento, demostrando el papel protector de la vaina sinovial en el ligamento intacto. La colagenasa liberada tras la sinoviectomía puede reflejar la reacción del LCC a los mediadores del líquido sinovial liberados durante las artropatías inflamatorias (*Amiel y cols, 1990*). Los cultivos de explantes de LCC, así como los cultivos monocapa fibroblásticos derivados de LCC activados por medio de estímulos inflamatorios, producen, en un periodo de 48 horas, significativamente más NO y MMP que los cultivos sin estímulo inflamatorio (*Riitano y cols, 2002*). El mismo estímulo induce mayor expresión de iNOS en el LCC que en el ligamento colateral medial y en el ligamento de la cabeza del fémur (*Louis y cols, 2006*). Esto podría indicar que el LCC reacciona de forma

diferente a los estímulos inflamatorios que otros ligamentos, produciendo mucho más NO y, por lo tanto, más sustrato disponible para producir peroxinitrito reactivo (*Spreng, 2010*).

2.1.3.- ASPECTOS HISTOLÓGICOS

El LCC en el perro experimenta una transformación parcial fibrocartilaginosa similar a la que sucede en el ser humano, representando una degeneración crónica e irreversible. Esta degeneración idiopática es un hallazgo histológico común en los LCC intactos a pesar de un aspecto macroscópico normal. Un estudio histológico informó que los LCC de perros que pesaban más de 15 kg presentaban evidencias microscópicas relevantes a los 5 años de edad (*Vasseur y cols, 1985*). Estos cambios se caracterizan por pérdida de ligamentocitos, metaplasia de los ligamentocitos supervivientes a condrocitos y pérdida de la capacidad de mantener los paquetes de fibras de colágeno, algo cuya severidad progresa con la edad. El LCC en perros de más de 15 kg tiene, generalmente, lesiones menos severas de las que tienen los perros que pesan más, y la instauración del proceso degenerativo puede retrasarse varios años. La zona interior central del ligamento se deteriora antes que la zona epiligamentosa superficial, y la porción media se deteriora antes que las que están cerca de los anclajes óseos. En los LCC rotos hay cambios más severos, como la hialinización, mineralización y aparición de células similares a condrocitos. Sin embargo, es raro observar respuesta inflamatoria o reparadora (*Hayashi y cols, 2003a*).

En la región central interior del LCC roto hay una pérdida significativa de fibroblastos, aunque la densidad del número de células es similar en la zona epiligamentosa de los LCC rotos y en los intactos. En el LCC roto, el número de fibroblastos típicos (células fusiformes y ovoideas) se encuentra disminuida, y en la región interior central el número de células que exhiben transformación condroide (células esferoideas) está incrementada. En la región interior central, la estructura de la matriz extracelular de colágeno se encuentra ampliamente interrumpida en el LCC roto. Además, la rotura del LCC está asociada también con la falta de la arquitectura de la matriz extracelular de colágeno, con pérdida de la ondulación normal y de la birrefringencia. Un estudio histológico reveló que esa ondulación no era detectable en muchas muestras de ligamento procedentes de perro con rotura del LCC (*Hayashi y cols, 2003a*). Es interesante que en las muestras de LCC roto en las cuales la ondulación era todavía detectable, la longitud de dichas ondulaciones estaba incrementada significativamente y el ángulo de la ondulación tendía a ser menor si lo comparamos con el LCC sano procedentes de perros jóvenes. Estos datos sugieren que, según la rotura del LCC evoluciona con el tiempo, el colágeno organizado restante experimenta una sobrecarga mecánica que alarga la ondulación dentro de las fibras de colágeno. Estos hallazgos también soportan la hipótesis general de que las microlesiones en el ligamento procedentes de la sobrecarga mecánica pueden formar parte importante de los eventos mecánicos iniciales que originan la remodelación del LCC y puede

ser un factor clave en el mecanismo que lleva, a lo largo del tiempo, a producir su rotura (*Hayashi y cols, 2010*).

La viabilidad de los fibroblastos y el metabolismo es diferente en jóvenes con LCC sano, adultos con LCC sano y animales con LCC roto (*Hayashi y cols, 2003b*). Se observaron fibroblastos metabólicamente activos (detectados mediante un marcador metabólico, lactato deshidrogenasa) tanto en LCC intactos como rotos, aunque el número de células no viables en la región interna central del LCC roto fue mayor que en el de LCC intacto de perros jóvenes y adultos (*Hayashi y cols, 2010*).

Los LCC rotos tienen mayores cantidades de uniones cruzadas de colágeno inmaduro, GAGs totales y con sulfuro y contenido de agua (material parecido al cartílago), y concentraciones de pro-MMP-2 (gelatinasa), que los LCC intactos (*Comerford y cols, 2004*). Estos hallazgos sugieren que la matriz extracelular del LCC roto ha incrementado la renovación de la matriz. El tejido parecido a cartílago es más vulnerable a la rotura bajo una carga normal, por lo que la degeneración del LCC con transformación fibrocartilaginosa puede predisponer a la rotura patológica del LCC (*Comerford y cols, 2006*).

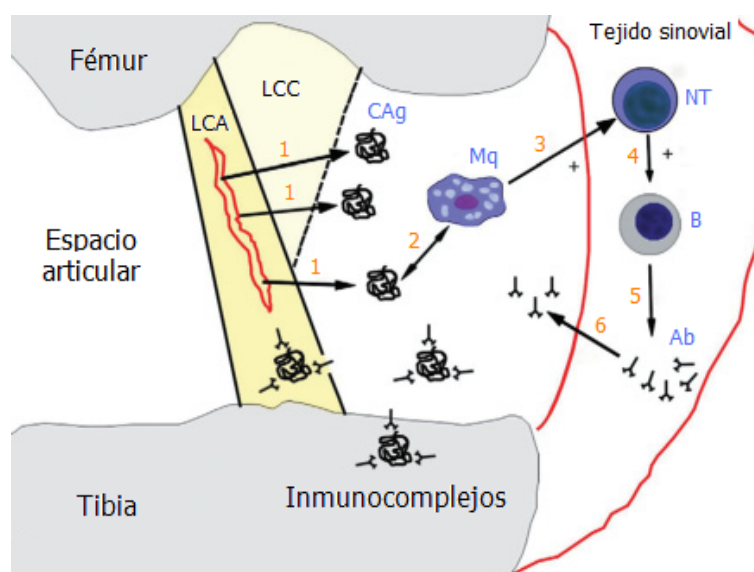
2.1.4.- ASPECTOS INMUNOHISTOQUÍMICOS

2.1.4.1.- PAPEL DE LOS ANTICUERPOS ANTI COLÁGENO TIPO I Y II

Una de las principales limitaciones en las diversas investigaciones que la etiopatogénesis de la rotura del LCC en perros es que la mayoría de ellos se han focalizado en la rodilla afectada tras la rotura, lo que representa el final del proceso. Recientemente, se han realizado estudios sobre los mecanismos inmunopatológicos celulares y humorales en perros predispuestos antes de la rotura (*de Bruin y cols, 2007a,b*).

El ligamento cruzado presenta una microestructura de haces de colágeno de diversos tipos, pero la mayoría son de tipo I. Los meniscos también están compuestos mayoritariamente de colágeno tipo I, mientras que el cartílago articular lo está por colágeno tipo II (*van Sickle y cols, 1993*). Los ligamentos cruzados van envueltos por una cubierta de membrana sinovial y son extrasinoviales, aunque su localización es intraarticular (*Alm y cols, 1974b; Arnoczky y cols, 1979a*). Usando la microscopía electrónica se ha verificado la presencia de numerosos pequeños orificios en esa membrana, lo que permite que los ligamentos se infiltren de fluido sinovial (*Kobayashi y cols, 2006*). Los procesos inflamatorios y/o los traumas pueden conducir a una exposición a macromoléculas como el colágeno que disparen las respuestas inflamatorias inmunomediadas (Fig. 5). Una vez producidos los autoanticuerpos, el colágeno tipo I liberado puede aumentar la inflamación articular formando inmunocomplejos con estos anticuerpos, derivando en una activación del complemento y de las células fagocitarias (*Bari y cols, 1989; Carter y cols, 1999*).

FIG. 5: ESQUEMA DE LA RESPUESTA INMUNOMEDIADA EN EL PERRO CON LESIÓN DEL LIGAMENTO CRUZADO CRANEAL (LCA)



Esquema de la respuesta inflamatoria inmunomediada en el perro con lesión del ligamento cruzado craneal (LCA). Fase 1: LCA dañado con liberación de colágeno tipo I (CAG); Fase 2: Fagocitación de colágeno por el macrófago (Mq); Fase 3: presentación del antígeno a la célula naive NT; Fase 4: activación/diferenciación de las células B con producción de anticuerpos (Ab); Fase 5: liberación de anticuerpos en el tejido sinovial; Fase 6: liberación de anticuerpos en el líquido sinovial y formación de inmunocomplejos con colágeno tipo I. LCA: ligamento cruzado craneal. LCC: ligamento cruzado caudal (Peter Muir, 2010)

Se han detectado anticuerpos anticolágeno tipo I y II en perros con rotura del LCC, estando presentes tanto en suero como en líquido sinovial aspirado de la articulación afectada (Niebauer y cols, 1982; Niebauer col, 1987; Bari y cols, 1989; de Rooster y cols, 2000). Esta mayor incidencia en el líquido sinovial indica una producción local de anticuerpos (Niebauer y cols, 1982; Niebauer cols, 1987; Bari y cols, 1989). Esto está fundamentado en estudios histológicos de tejido sinovial procedente de rodillas de perros con rotura del LCC (Tirgari, 1977; Galloway y cols, 1995; Lawrence y cols, 1998; Hewicker y cols, 1999). Las principales células detectadas en los tejidos sinoviales son los macrófagos, linfocitos T, linfocitos B y células plasmáticas predominantemente del isotipo IgG (Tirgari, 1977; Galloway y cols, 1995; Lawrence y cols, 1998; Hewicker y cols, 1999; Lemburg y cols, 2004). Es más, se han detectado incrementos significativos de IgG e IgM en el tejido sinovial de la rodilla de perros con rotura del LCC en comparación con rodillas normales (Lawrence y cols, 1998). Un estudio indicó que el 67% de los perros tenía varios nódulos linfoplasmacíticos dentro del tejido sinovial (Galloway y cols, 1995). Estudios de los mecanismos de inmunidad celular sugieren que existe un proceso inflamatorio en la articulación contralateral de los perros predispuestos antes de que la inestabilidad articular sea detectable (de Bruin y cols, 2007b). Tras medir de forma secuencial los anticuerpos anticolágeno tipo I en el líquido sinovial aspirado de diversas articulaciones, se evidenció que los títulos de anticolágeno tipo I en la rodilla de perros predispuestos que habían sufrido rotura del LCC, eran más elevados que los títulos del resto de las articulaciones (de Bruin y cols, 2007a).

No está claro si los anticuerpos juegan un papel activo en la iniciación de la rotura del LCC. Estudios prospectivos en perros que se presentaron con rotura del LCC no proporcionaron evidencias de que sea así, ya que no todos los perros con anticuerpos desarrollaron rotura del LCC contralateral (*de Bruin y cols, 2007a*). Sin embargo, es posible que los anticuerpos anticolágeno perpetúen la inflamación articular crónica en algunos perros con degeneración del LCC, incluso si el colágeno no es el principal agente artritogénico. El hallazgo de títulos más elevados de anticolágeno tipo I en una rodilla que todavía no tiene una rotura del LCC detectable clínicamente en el momento de la medida, comparado con los títulos de otras articulaciones, sugiere que existe un proceso inflamatorio con producción de anticuerpos específicos de colágeno en esa articulación contralateral (*de Bruin y cols 2007a*).

Los anticuerpos anticolágeno tipo I y II también se han detectado en el líquido sinovial de rodillas con artritis secundaria a artropatías cuyo origen no es la rotura del LCC (*Niebauer y cols, 1987; Bari y cols, 1989*), sugiriendo que estos anticuerpos no son específicos de este tipo de desorden (*de Rooster y cols, 2000*). Sin embargo, se encontraron títulos de anticuerpos anticolágeno tipo I inesperadamente bajos o incluso no detectables en líquido sinovial de algunos perros con rotura completa de LCC (*de Bruin y cols, 2007a*). Esto puede sugerir, bien que la respuesta autoinmune se detiene tras la rotura o bien que los anticuerpos no pueden detectarse porque están presentes en los inmunocomplejos de estos anticuerpos y el colágeno (*de Rooster y cols, 2010*).

2.1.4.2.- PAPEL DE LA RESPUESTA INMUNE DE LA SINOVIA EN LA SINOVITIS

Hace unos años, se identificó la formación de inmunocomplejos y anticuerpos anticolágeno en el líquido sinovial y suero de los perros con rotura natural del LCC, desarrollando la hipótesis de que un mecanismo inmunológico podía promover cambios que llevasen a la rotura del LCC (*Niebauer, 1982*). De forma similar, se identificaron rasgos histológicos de sinovitis linfoplasmocítica en las membranas sinoviales de dos tercios de los perros con rotura del LCC en el momento de la cirugía para estabilizar la rodilla (*Galloway y cols, 1995*). Investigaciones posteriores han detectado la elevación de algunos biomarcadores de inflamación articular asociados a la artropatía por rotura del LCC en perros (*Doom y cols, 2008*). Por lo tanto, existen evidencias recientes que apoyan el argumento de que la sinovitis persistente y el desarrollo de artritis inflamatoria es, probablemente, un factor significativo que promueve la rotura degenerativa del LCC (*Fujita y cols, 2006*). Pueden hallarse evidencias clínicas, radiográficas y artroscópicas de artritis y sinovitis de similar severidad en ambas rodillas de perros, en las que una de ellas es perfectamente estable y la contralateral presenta rotura del LCC. (*Bleedorn y cols, 2009*). Estos hallazgos pueden poner en duda el dogma histórico sobre la degeneración y la rotura del LCC: ¿qué aparece primero, la sinovitis o la inestabilidad articular? (*Bleedorn y cols, 2010*).

La membrana sinovial es un tejido colágeno especializado que recubre el interior de las articulaciones sinoviales y las estructuras que se encuentran dentro de ellas. La sinovia tiene dos capas: una íntima, más interna, que contiene una red linfática, vascular y nerviosa con protecciones vilosas, y una más externa de soporte que se continua con la cápsula articular fibrosa (*Sutton y cols, 2009*). Los sinoviocitos se encuentran dentro de la membrana y son los responsables de la producción de los componentes del líquido sinovial tanto por absorción desde la cavidad articular como por intercambio a través de sangre/sinovia (*Iwanaga y cols, 2000*). La sinovitis se caracteriza por infiltración de la membrana sinovial con células inflamatorias, lo que produce la vascularización e hiperplasia de la sinovia. La distribución celular es típicamente un infiltrado leucocítico mononuclear, con predominancia de células T (*Sutton y cols, 2009*).

Las citoquinas pro-inflamatorias sintetizadas en la sinovia potencian la cascada de sustancias biológicamente activas que contribuyen a la degradación de la articulación (*Doom y cols, 2008*). La sinovitis contribuye al desarrollo del dolor, inflamación articular y progresión de la osteoartritis (*Sutton y cols, 2009*). La inducción de una sinovitis inmune se ha revelado como causante de una reducción significativa de la fuerza del LCC que lleva a fallo estructural y rotura del mismo en animales de experimentación (*Goldberg y cols, 1982*). La evaluación objetiva de la membrana sinovial de la rodilla del perro no es algo que se realice de manera rutinaria en la clínica diaria. La ecografía y la resonancia magnética se han usado para evaluar la patología de la membrana sinovial y la severidad de la efusión articular en el ser humano, pero existe falta de validación en el caso del perro (*Tarhan y cols, 2003*). La artroscopia de la rodilla mejora la evaluación macroscópica de la membrana sinovial con un mejor acceso y magnificación y se considera el mejor sistema para valorar el cartílago articular y la sinovia en el ser humano (*Ayral, 1996*), siendo útil para evaluar objetivamente la severidad de la enfermedad y correlacionándose positivamente con las pruebas no invasivas, así como con las características histológicas de la enfermedad, particularmente en pacientes humanos con artritis reumatoide (*Fernández-Madrid y cols, 1995; Tarhan y cols, 2003; Karim y cols, 2004; Lindblad y cols, 1985*). Pueden identificarse rasgos artroscópicos similares en las rodillas de perros con artropatía por la rotura del LCC. La vascularización está aumentada y hay proliferación de la sinovia con alguna variación global dentro de las articulaciones afectadas (*Bleedorn y cols, 2009*).

Aunque está claro que la sección experimental del LCC lleva a inestabilidad y sinovitis en el perro, recientes estudios indican que es común desarrollar inflamación articular previa a la rotura del LCC y la inestabilidad articular (*Gardner y cols, 1984; Lipowitz y cols, 1985; Myers y cols, 1990*). La presencia de efusión articular visible radiográficamente y de diferentes grados de osteofitosis, proporciona soporte para el desarrollo de la artritis articular y de una degeneración temprana de la rodilla. En rodillas estables con evidencias radiográficas tempranas de artritis, la sinovia también se encuentra inflamada (*Bleedorn y cols, 2009*). Estudios recientes sugieren que la sinovitis de la rodilla precede al desarrollo de la rotura del

LCC en perros afectados por artropatía del LCC (*Bleedorn y cols, 2010*). Las células inflamatorias son típicamente una población de células mononucleares e incluyen macrófagos fosfatasa-ácida positivos resistentes al ácido tartárico (TRAP), linfocitos T y B, células plasmáticas y complejos mayores de histocompatibilidad (CMH) tipo II (*Faldyna y cols, 2004; Lemburg y cols, 2004, Muir y cols, 2005b, 2007a,b, 2009*). En perros con artritis de la rodilla, la proporción de linfocitos T dentro de los tejidos sinoviales está aumentada en los que tienen roto el LCC (*Faldyna y cols, 2004*). Mientras que los linfocitos juegan un papel clave en la inmunidad mediada por antígenos, los macrófagos activados y sus productos inflamatorios juegan un papel clave en la inmunidad innata y en la patogénesis de la inflamación tisular (*Muir 2010*).

La llegada y proliferación de linfocitos T en el interior de los tejidos articulares es un hecho proinflamatorio clave en la artritis, incluyendo las artropatías que tradicionalmente se han considerado asociadas a una pequeña inflamación articular (*Sakkas y cols, 2007*). Este hecho sugiere que la activación de la respuesta inmune antígeno-específica es un componente del mecanismo de la artropatía de la rotura del LCC. Existe una susceptibilidad genética en muchas artritis inmunomediadas en el ser humano, habiendo estudios que sugieren una susceptibilidad genética similar en perros (*Ollier y cols, 2001*).

En el presente, la principal pregunta sin respuesta es la identidad del mecanismo inmunológico que induce y promueve la sinovitis crónica de la rodilla. La traslocación de material bacteriano a la rodilla es algo común en el perro (*Muir y cols, 2007c*). Podemos encontrar habitualmente poblaciones polimicrobiales de bacterias que no son reconocidos patógenos articulares, particularmente organismos Gram – negativo (*Muir y cols, 2010*), lo que plantea la posibilidad de que el mecanismo antigénico primario desencadenante en la artropatía de la rotura del LCC pueda derivarse de las pequeñas cantidades de material bacteriano traslocadas desde la circulación hasta la sinovia de la rodilla (*Muir, 2010*).

Aunque está cada vez más claro que la activación de la respuesta inmune específica de antígeno en el interior de la rodilla es importante para el desarrollo de la inflamación sinovial, la activación de la respuesta inmune individual es también muy importante. Los receptores de patrón de reconocimiento (RPR) se expresan por medio de leucocitos y células epiteliales y son usados por el sistema inmune del individuo para detectar la presencia de infección (*Akira y cols, 2006*). La activación de los RPR también parecen contribuir a la patología de la enfermedad en condiciones antiinflamatorias y autoinmunes (*Bryant y cols, 2009*). La activación de los RPR, como los receptores “tipo toll” (TLR) y las proteínas de dominio de oligomerización unidas a nucleótidos (NOD), llevan a la activación del factor nuclear kappa B (NF κ B) y a sobreexpresión de los genes de la respuesta inmune y de las citoquinas proinflamatorias. La respuesta inmune del individuo a los RPR también regulan la consiguiente respuesta inmune adaptativa por medio de las células dendríticas (*Iwasaki y cols, 2010*). El defecto en el funcionamiento de los RPR se ha vinculado a diferentes patologías inflamatorias crónicas, como el síndrome de Crohn en humana y las fístulas perianales en el perro (*House y cols,*

2008). El análisis de células procedentes de líquido sinovial de rodillas de perro con artritis y rotura degenerativa del LCC sugiere que la expresión de la fosfatasa ácida tartrato resistente (TRAP) está incrementada con respecto a perros sanos y perros con osteoartritis. También se ha encontrado una mayor expresión de los receptores tipo toll 2 (TLR-2) en las articulaciones artríticas, hallazgos que sugieren que la activación de los macrófagos es un factor de riesgo importante en el desarrollo de la sinovitis crónica en la artropatía de la rotura del LCC (Muir y cols, 2007_b; Muir, 2010).

2.2.- FISIOPATOLOGÍA DE LA ROTURA DEL LIGAMENTO CRUZADO CRANEAL

2.2.1- ANATOMÍA DEL LIGAMENTO CRUZADO CRANEAL

El ligamento cruzado craneal (LCC) es la principal estructura estabilizadora de la rodilla en el perro. Su función es la limitación del movimiento de cajón craneal y evitar la hiperextensión de la rodilla (Arnoczky y cols, 1977a; Heffron y cols, 1978). También limita la rotación interna de la tibia, así como valgus o varus excesivo de la tibia en la rodilla flexionada (Monahan cols, 1984).

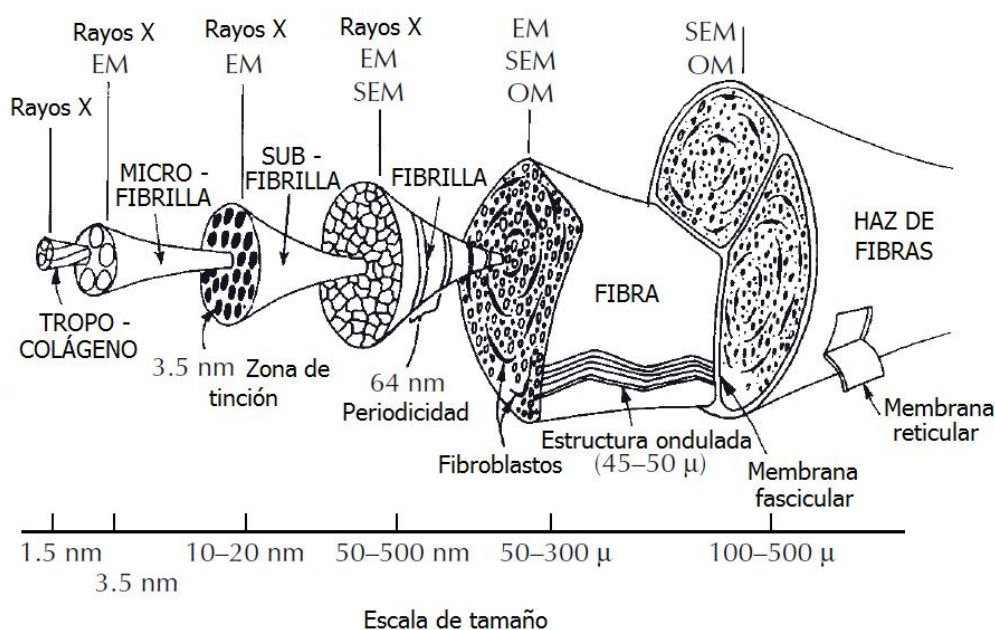
Macroanatomía

EL ligamento cruzado craneal se origina en el aspecto caudomedial del cóndilo lateral del fémur y se prolonga diagonalmente a través de la fosa intercondilar femoral hasta la zona intercondílea craneal de la meseta tibial, siendo más estrecho en su región media y más ancho tanto proximal como distalmente (Arnoczky y cols, 1977a; Heffron y cols, 1978; Vasseur, 1993). El anclaje tibial está bordeado cranealmente por el ligamento meniscotibial craneal del menisco lateral (Rudy, 1974; Heffron y cols, 1978). La longitud del LCC está positivamente correlacionada con el peso corporal; tomando como referencia los bordes craneal y caudal del LCC, los investigadores han revelado una longitud media de 13,50 – 18,77 mm (Vasseur y cols, 1985; Wingfield y cols, 2000). Está dividido en dos componentes funcionales, denominados banda craneomedial y banda caudolateral en función de sus anclajes relativos a la meseta tibial. La parte craneomedial es la más espiral, la de mayor longitud y menor grosor, originándose más proximal desde el fémur e insertándose más craneal en la zona de anclaje de la tibia que la banda caudolateral. Las fibras del componente caudolateral se originan desde la zona más lateral y distal del área de anclaje del cóndilo femoral lateral, tienen una parte más recta, y se insertan en la región más caudal de la zona de anclaje de la tibia (Arnoczky y cols, 1977a; Heffron y cols, 1978). Cada uno de los dos componentes posee unas características biomecánicas diferentes. La banda craneomedial proporciona una mayor resistencia al movimiento del cajón con una flexión de 30° y 60° y se encuentra tensa durante todo el rango de movimiento, mientras que la porción caudolateral está tensa en extensión pero laxa en flexión. (Guan y cols, 1991; Butler, 1992).

Microanatomía

El ligamento cruzado craneal es una estructura multifascicular compuesta por numerosos paquetes de fibras de colágeno de unos 20 μm de diámetro separadas por columnas de células agrupadas en cápsulas fibrosas (Alm y cols, 1974b; Heffron y cols, 1978; Vasseur y cols, 1985; Clark y cols, 1990) (Fig. 6). Estos paquetes se agrupan, a su vez, en fascículos de diferentes tamaños conjuntados por hojas membranosas delgadas que forman capas simples o múltiples entre fascículos (Yahia y cols, 1989; Clark y cols, 1990). Esta arquitectura es una combinación de redes helicoidales, planares, paralelas o retorcidas. Las fibrillas localizadas centralmente son casi rectas, mientras que las periféricas están organizadas en patrones helicoidales (Zahm, 1965; Alm y cols, 1974a; Yahia y cols, 1989). Los vasos sanguíneos y nervios se encuentran dentro de estas membranas, presumiblemente para protegerlas del estrés y los estiramientos que tienen lugar durante el movimiento fisiológico (Kennedy y cols, 1976; Clark y cols, 1990). Los fascículos generalmente se extienden desde el origen hasta la inserción sin cruzarse ni entretorse (Clark y cols, 1990). En la zona del anclaje óseo del LCC, las fibras de colágeno no se encuentran paralelas al eje longitudinal del ligamento y, especialmente en animales jóvenes, se observan columnas de células condroides que penetran en el ligamento (Zahm, 1965; Alm y cols, 1974b). En el punto donde ambos ligamentos cruzados están en contacto, las fibras de colágeno se encuentran más densamente empaquetadas y orientadas tangencialmente a la superficie, en lugar de paralelas al eje longitudinal (Vasseur y cols, 1985).

FIG. 6: ILUSTRACIÓN DE LA ORGANIZACIÓN DE LOS LIGAMENTOS



El ligamento presenta estructura jerarquizada, comenzando con los fibroblastos. Estas células se disponen para crear estructuras llamadas fibrillas que, posteriormente, formarán fibras. Los haces de fibras o fascículos se combinan para formar el ligamento propiamente dicho. EM: microscopía electrónica; SEM: microscopía electrónica de barrido; OM: microscopía óptica. Reproducido del XXXIV Symposium SEB 1980, *The mechanical properties of biological tissues*.

Envoltura sinovial

Tanto el LCC como el ligamento cruzado caudal (LCCd) están recubiertos de un pliegue uniforme de membrana sinovial, que divide la articulación de la rodilla en un plano sagital (*Arnoczky y cols, 1979a*). Estas membranas envolventes consisten básicamente en tejido conectivo denso, pequeños fibroblastos y algunos adipocitos; también se pueden distinguir una capa íntima y una delgada capa subíntima (*Heffron y cols, 1978*). La íntima, es una capa de sinoviocitos y la subíntima es tejido areolar que contiene estructuras vasculares pequeñas (*Vasseur y cols, 1985*). Comparados con los ligamentos cruzados, la membrana sinovial envolvente es relativamente celular (*Heffron y cols, 1978*). La sinovia subyacente no está presente en la superficie de los ligamentos cruzados que están en contacto directo entre sí (*Vasseur y cols, 1985*). Observado en microscopía electrónica, se observan muchos orificios pequeños en la membrana sinovial que cubre los ligamentos cruzados, sugiriendo que éstos reciben nutrientes también a través del líquido sinovial (*Kobayashi y cols, 2006*).

Vascularización

La principal contribución vascular al centro de la articulación proviene de las ramas de la arteria genicular media, que surge de la arteria poplítea, penetra en la cápsula articular caudalmente, y pasa craneodistalmente a la fosa intercondilar, discurriendo cranealmente entre los ligamentos cruzados (*Tirgari, 1978*). Las estructuras vasculares de la parte proximal del LCC son más numerosas y tienen mayor diámetro que los del lado tibial (*Zahm, 1965; Alm y cols, 1974b*).

El suministro sanguíneo de los ligamentos cruzados se origina sobre todo en los tejidos blandos; la contribución desde las estructuras óseas es insignificante (*Arnoczky y cols, 1979; Kobayashi y cols, 2006*). La grasa infrarotuliana y la bien vascularizada membrana sinovial que forman una envoltura alrededor de los ligamentos cruzados son la mayor fuente de vasos sanguíneos (*Alm y cols, 1974b; Tirgari, 1978; Arnoczky y cols, 1979a; Kobayashi y cols, 2006*). Los vasos sinoviales se ramifican en una red de vasos epiligamentosos, que recubren los ligamentos cruzados en toda su longitud. En general, la disposición de la red vascular es similar en ambos ligamentos cruzados. Una red vascular endoligamentosa discurre por el tejido conectivo de sostén por la parte interna del LCC, alrededor y a lo largo de los paquetes de las fibras de colágeno, (*Alm y cols, 1974b; Arnoczky y cols, 1979*). Los vasos mayores, generalmente una arteria acompañada de dos venas, discurren longitudinalmente en sentido proximal y distal y de forma paralela a los fascículos de colágeno, siguiendo algunos un camino tortuoso en el tejido fascicular interalveolar (*Alm y cols, 1974*). El centro de la porción media del LCC está menos vascularizado que el resto del ligamento (*Zahm, 1965; Tirgari, 1978; Arnoczky y cols, 1979; Vasseur y cols, 1985*). Existen anastomosis entre las redes vasculares extra e intraligamentosas (*Alm y cols, 1974; Arnoczky y cols, 1979; Kobayashi y cols, 2006*). Los vasos epiligamentosos penetran transversalmente en el ligamento cruzado y sus ramificaciones se anastomosan con los vasos endoligamentosos. Hay muchos vasos endosteales en la unión

ligamento-hueso, aunque la comunicación con los vasos endoligamentosos intrínsecos es muy pobre, sobre todo en la unión tibial, donde la mayoría de los vasos endosteales terminan en circunvoluciones subcondrales en lugar de cruzar la unión ligamento-hueso (*Alm y cols, 1974; Arnoczky y cols, 1979; Kobayashi y cols, 2006*).

Inervación

Los tejidos periarticulares de la articulación de la rodilla en el perro están inervados por tres nervios principales que surgen del nervio safeno, tibial y peroneo común. El principal tronco nervioso se encuentra en el borde femoral de los ligamentos cruzados. Otros nervios pueden suministrar fibras aferentes en proporción variable a los ligamentos cruzados. En perros, el nervio medial articular, cuyas ramas emergen desde el nervio safeno en la zona media del muslo, es el que proporciona mayor inervación a la rodilla. Algunas de estas ramas discurren a través de la grasa infrarotuliana para terminar dentro de los anclajes proximal o distal de los ligamentos cruzados o dentro de los cuernos de los meniscos y otras discurren cranealmente a través de la cápsula articular para inervar extensamente el anclaje femoral del LCC. El nervio articular caudal no siempre está presente en perros (*O'Connor y cols, 1982*). Sus ramas surgen tanto directamente desde el nervio tibial como desde rama muscular del nervio tibial. El nervio articular caudal discurre por el aspecto caudal de la cápsula articular, donde se puede comunicar con las ramas del nervio articular medial. Las ramas laterales del nervio articular procedentes del peroneo común a nivel de la cabeza del peroné, entran en el músculo bíceps femoral, inervando el aspecto lateral de la articulación (*O'Connor y cols, 1982*).

Nervios de diferentes tamaños se localizan en el tejido sinovial ricamente vascularizado que recubre los ligamentos cruzados. Desde la sinovia periférica hay axones que se ramifican hacia el centro de los ligamentos (*Yahia y cols, 1992*). Dentro de los ligamentos cruzados la mayoría de los nervios discurren a lo largo de los vasos sanguíneos epi y endoligamentosos en los espacios areolares interfasciculares. Estudios histológicos identifican diferentes tipos de terminaciones nerviosas sensoras en la zona media de los ligamentos cruzados, debajo de la vaina sinovial (*Yahia y cols, 1992*). El mayor número de mecanorreceptores se encontró en el tercio proximal del LCC y el menor en el tercio distal (*Arcand y cols, 2000*).

Anatomía funcional

Todo el ligamento gira longitudinalmente alrededor de 90° entre los dos lugares de anclaje (origen e inserción). Este giro nos ofrece la apariencia a simple vista de dos bandas claramente diferenciables, especialmente en flexión. Si el ligamento no tiene este giro longitudinal, presenta un aspecto más uniforme. Durante el movimiento de la articulación suceden de forma secuencial el estiramiento de unos fascículos y la relajación de otros, manteniendo constante la estabilidad articular durante todo el rango de movimiento (*Welsh, 1980*). En los puntos de anclaje óseo, una zona transicional de fibrocartílago y cartílago mineralizado minimiza la concentración del estrés permitiendo un cambio gradual de rigidez (*Arnoczky, 1980*).

Al flexionarse la rodilla, los ligamentos cruzados no sólo están enrollados uno sobre el otro, sino que también están enrollados sobre sí mismos (*Singleton, 1957; Arnoczky y cols, 1977a; Harari, 1993*). La mayor tensión en los ligamentos también limita la cantidad de rotación interna normal de la tibia con respecto al fémur (*Zahm, 1965; Arnoczky y cols, 1977; Harari, 1993*). En la extensión, los ligamentos colaterales lateral y medial son la primera limitación a la rotación, y los ligamentos cruzados proporcionan únicamente un segundo freno de la tensión en ambos ligamentos (*Singleton, 1957; Zahm, 1965; Vasseur y cols, 1985*).

Los ligamentos cruzados resisten fuerzas que hacen que la tibia se desplace cranealmente con respecto al fémur y, en menor medida, que ésta rote (*Arnoczky y cols, 1977b*). Los dos componentes del LCC no son isométricos; la principal diferencia es la elongación de la parte craneomedial y el acortamiento del componente caudolateral durante la flexión (*Arnoczky y cols, 1977; Heffron y cols, 1978*). El primer componente ejerce la principal contribución a la estabilidad craneocaudal durante la flexión y el segundo solo actúa cuando la banda craneomedial está dañada o bajo tensión severa (*Wingfield y cols, 2000*). Con la rodilla en extensión, ambos componentes están tensos y limitan la traslación craneal de la tibia con respecto al fémur (*Arnoczky y cols, 1977b; Heffron y cols, 1978*). Ambos ligamentos cruzados representan importantes limitaciones secundarias contra el varus y el valgus, y suponen la primera limitación si hay pérdida del soporte de los ligamentos colaterales (*Vasseur y cols, 1981*). La sobreextensión de la rodilla se previene gracias a la tensión de los ligamentos cruzados, donde el LCC actúa como factor limitante primario (*Arnoczky y cols, 1977a; Heffron y cols, 1978*).

2.2.2.- EPIDEMIOLOGÍA Y PATOGÉNESIS

La rotura del ligamento cruzado craneal puede ser exclusivamente traumática y estar asociada a un historial clínico agudo. Un pequeño porcentaje de estos perros sufren una avulsión de la zona ósea de inserción del ligamento en lugar de una rotura puramente interna del mismo; la inserción tibial falla más amenudo que la femoral (*Hulse y cols, 1985*). La mayoría de perros con rotura del ligamento cruzado craneal presentan un desarrollo crónico sin historia de trauma evidente. El primer síntoma puede ser una cojera aguda, pero una anamnesis más profunda suele revelar que la cojera ha sido episódica y relacionada con rachas de ejercicio intenso. El examen físico y radiológico suele revelar cambios degenerativos en la rodilla de la extremidad afectada (*Vasseur, 1993*).

La rotura del ligamento cruzado craneal sucede en razas grandes de perros más habitualmente que en razas pequeñas, aunque el índice de razas afectadas oscila según los estudios (*Whitehair y cols, 1993; Duval y cols, 1999; Powers y cols, 2005*). La prevalencia de la rotura del LCC aumenta con la edad, con un pico entre los 7 y los 10 años (*Whitehair y cols, 1993*) si bien, cuando es traumática, ocurre con mayor frecuencia en perros menores de 4 años (*Bennet y cols, 1988*). Los perros de razas pequeñas (< 15 kg) sufren rotura del ligamento

cruzado más tarde (> 7 años) que los de razas grandes (*Vasseur, 1984; Whitehair y cols, 1993*). Numerosos estudios informan de mayor incidencia en hembras que en machos, así como también mayor incidencia en hembras esterilizadas que enteras (*Gambardella y cols, 1981, Smith y cols, 1985; Whitehair y cols, 1993*).

La resistencia del LCC se deteriora con la edad, correlacionándose con la pérdida de la organización de fibras del mismo y con cambios metaplásicos de elementos celulares (*Arnoczky y cols, 1981; Vasseur y cols, 1985*). Estos cambios son más pronunciados y ocurren a edades más tempranas en animales de razas grandes, lo que ayuda a explicar que en estas razas la edad de rotura sea menor que en los de razas pequeñas (*Vasseur y cols, 1985*). El deterioro es mayor en la zona central del ligamento, y está relacionada con un deficiente aporte sanguíneo (*Alm y cols, 1974a; Arnoczky y cols, 1981; Vasseur y cols, 1985*).

Estos cambios degenerativos ocurren de manera natural conforme el animal envejece; además, hay otros factores que pueden verse envueltos en la rotura del LCC. A veces, la rotura puede ser meramente traumática en perros con ligamentos aparentemente normales. En estos casos, una condición física pobre puede ser determinante (*Bennet y cols, 1988; Hulse y cols, 1985*), en el sentido de que una musculatura potente y bien formada protege a la articulación de un estrés excesivo (*Renstrom y cols, 1986; Solomonow y cols, 1987*). Una conformación anormal de la extremidad puede estar implicada como causa de enfermedad degenerativa articular (artrosis postural), produciendo un excesivo estrés dentro de la articulación, un deterioro crónico y la rotura eventual del ligamento (*Rudy, 1974; Arnoczky y cols, 1981*). Una conformación anormal de la tibia, así como la hiperextensión de la rodilla se asocian con la rotura del LCC en el perro (*Read y cols, 1982*).

La obesidad causa mayor carga de la que el ligamento cruzado debería soportar y puede ser un factor contribuyente a la patología en muchos perros. La falta de movilidad relacionada con los animales de edad media o avanzada, especialmente los obesos, afecta a los ligamentos, músculos y tendones de la rodilla, pudiendo disminuir la resistencia mecánica del LCC y predisponerlo a su rotura (*Vasseur, 1993*).

Las roturas parciales del LCC se diagnostican cada vez con mayor frecuencia (*Brinker y cols, 1990; Scavelli y cols, 1990; Strom, 1990*). Suelen evolucionar a completas, habitualmente dentro del primer año del comienzo de la cojera y también están asociadas con gran inflamación articular, encontrando mayor cantidad de células sanguíneas de la serie blanca en el líquido sinovial de la rodilla (*Bennet y cols, 1988; Griffin y cols, 1992*). La inestabilidad puede no ser palpable en los estadios iniciales, pero se muestra más aparente conforme el ligamento se va degenerando. Las roturas parciales son, por lo tanto, no una entidad diferente sino un signo temprano de una enfermedad que eventualmente deriva en una rotura y fallo del ligamento (*Bennet y cols, 1988*).

2.2.3.- BIOMECÁNICA DE LA RODILLA

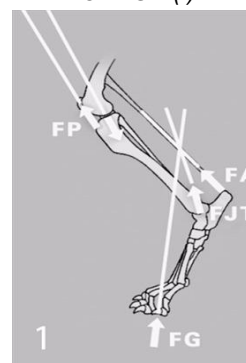
El estudio de la biomecánica de la rodilla es esencial para entender las fuerzas que actúan sobre ella, así como los cambios que hay que llevar a cabo para reestablecer el desequilibrio biomecánico originado tras la rotura del LCC. Cuando el animal apoya la extremidad se crea una fuerza activa resultante que se refleja en un intento de desplazamiento craneal de la tibia, llamada empuje tibial. Esta fuerza es compensada por la acción activa de los músculos del muslo, y pasiva del LCC y del cuerno caudal del menisco medial. Para que la rodilla mantenga un ángulo de flexión casi constante durante el apoyo y toda la fase del paso, los momentos de flexión y extensión alrededor del centro de movimiento de la rodilla deben sumar cero, es decir, la rodilla debe estar en equilibrio (*Tepic y cols, 2002*).

La magnitud del empuje craneal de la tibia depende de la fuerza de compresión creada entre el fémur y la tibia y de la inclinación de la meseta tibial. Por esta razón hay autores que plantearon modificar la inclinación de la meseta tibial para que fuese perpendicular al eje de la tibia y eliminar así las fuerzas de cizallamiento que producen la rotura del LCC. Ésta es la explicación biomecánica que permitió el desarrollo de la técnica de la TPLO o Tibial Plateau Leveling Osteotomy (*Slocum y cols, 1993*). Posteriormente, *Tepic y cols*, en 2002, demostraron que las fuerzas totales que actúan en la rodilla son casi paralelas al ligamento rotuliano. Si el ángulo de la articulación femorotibial es de 90° , únicamente habrá fuerzas compresivas y si es mayor a 90° habrá fuerzas de compresión y de cizalladura. Las fuerzas de cizalladura son neutralizadas por el LCC. Durante la fase de apoyo de la extremidad, el ángulo es mayor a 90° - 110° , sobrecargando el LCC y pudiendo contribuir a su rotura (*Guerrero y cols, 2008*). El ángulo entre la meseta tibial y el ligamento rotuliano depende también de la conformación de la tuberosidad tibial. Una tuberosidad menos desarrollada influirá en un ángulo mayor y en una carga del LCC mayor (*Schwandt y cols, 2006; Guerrero y cols, 2007; Inauen y cols, 2008*).

El ángulo se reduce avanzando la tuberosidad tibial hasta conseguir 90° entre el ligamento rotuliano y la meseta tibial y eliminar las fuerzas de cizalladura que sobrecargan el LCC (*Tepic y cols, 2002*).

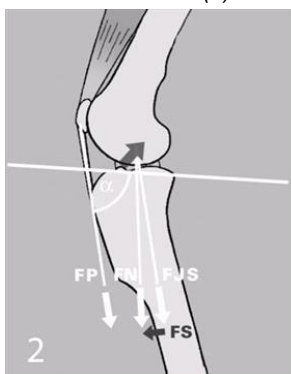
FG es la fuerza resultante cuando el animal carga peso en la pierna (Fig. 7). El tendón de Aquiles reacciona con una fuerza FA que se traduce en una fuerza neta en la articulación del tarso (FJT). El tendón rotuliano reacciona con una fuerza FP para estabilizar la rodilla. En consecuencia la rodilla reacciona con una fuerza FJS casi paralela al tendón patelar.

Fig. 7: FUERZAS QUE ACTÚAN EN LA EXTREMIDAD POSTERIOR DURANTE LA CARGA (I)



(extraído de Guerrero y cols, 2003)

FIG. 8: FUERZAS QUE ACTÚAN EN LA EXTREMIDAD POSTERIOR DURANTE LA CARGA (II)

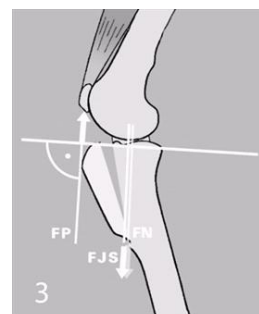


(extraído de Guerrero y cols, 2003)

Desplazando la tuberosidad tibial cranealmente hasta un punto en que el ligamento patelar sea perpendicular a la meseta tibial, se consigue un ángulo entre el tendón rotuliano y la meseta tibial igual o menor a 90° , por lo que nunca alcanzará un ángulo que se traduciría en el desplazamiento craneal de la zona proximal de la tibia (Guerrero y cols, 2008).

Si la meseta tibial no es perpendicular a la fuerza FP, la fuerza FJS no se superpone a la fuerza de compresión normal de la rodilla (FN), induciendo una fuerza de cizallamiento tibiofemoral (FS). Esta fuerza sobrecarga el LCC, dando lugar al empuje tibial craneal cuando el ligamento está roto (Fig. 8). El adelantamiento de la tuberosidad tibial (TTA) posiciona la fuerza FP perpendicular a la meseta tibial con la rodilla en extensión, eliminando la fuerza FS mediante la superposición de FJS sobre FN (Fig. 9).

Fig. 9: FUERZAS QUE ACTÚAN EN LA RODILLA TRAS EL AVANCE DE LA TUBEROSIDAD TIBIAL (TTA)



El ligamento rotuliano se posiciona perpendicular a la meseta tibial (extraído de Guerrero y cols, 2003)

2.3.- DIAGNÓSTICO DE LA ROTURA DEL LIGAMENTO CRUZADO CRANEAL

2.3.1.- HISTORIAL CLÍNICO

El diagnóstico de la rotura del LCC se basa en un historial de cojera y en unos hallazgos clínicos obtenidos durante un examen físico. Los perros con rotura traumática aguda presentan una cojera severa, pudiendo no apoyar la extremidad afectada. La cojera gradualmente puede remitir y, entre las 3 y 5 semanas del evento traumático, el animal puede presentar una cojera de leve a moderada. La atrofia muscular no es muy marcada, pero evoluciona a más con el tiempo. La extremidad no es reactiva a la manipulación rutinaria, pero el movimiento del cajón provoca dolor. La clave para diagnosticar las roturas traumáticas es verificar un inicio agudo de la cojera, generalmente con un episodio de lesión concreto y, dentro de las primeras semanas, la ausencia (o presencia mínima) de enfermedad degenerativa articular de la rodilla afectada (Vasseur, 1993).

Los animales con enfermedad crónica del LCC presentan un inicio de la cojera más insidioso, amenudo intermitente y que aumenta cuando el animal hace ejercicio. La articulación está engrosada, especialmente en su aspecto medial y con evidencia radiológica de enfermedad articular degenerativa. La frecuencia de enfermedad bilateral con respecto al total de casos es del 31 % (*Bennet y cols, 1988*). La inestabilidad craneal puede ser difícil de evaluar debido a la fibrosis periarticular, especialmente si el ligamento está parcialmente desgarrado. La presencia de efusión es variable (*Vasseur, 1993*).

2.3.2.- EXAMEN ORTOPÉDICO

Debe observarse el paciente en reposo y durante la marcha y sospecharse de rotura del LCC si encontramos una extremidad curvada con rotación interna de la tibia o con la rodilla envarada. También evaluar la masa muscular de la extremidad y puntos de dolor comparados con la extremidad contralateral. Es importante observar la forma y tamaño del aspecto medial de la rodilla, pues los animales con rotura del LCC suelen presentar engrosamiento del aspecto medial de la cápsula articular (evidenciable directamente por palpación). La efusión articular se evalúa por palpación a cada lado del tendón rotuliano, comparándolo con el contralateral (una cantidad importante de animales tienen afectados ambos lados). En una articulación normal, los bordes del tendón patelar son marcados y bien definidos; si hay efusión articular, la cápsula protuye a ambos lados del tendón y los márgenes del tendón están poco claros y definidos (*Vasseur, 1993*). La rodilla debe moverse de manera suave en todo su rango de flexión, evaluando posibles alteraciones en la flexión, extensión, rotación interna o rotación externa, así como crepitaciones o dolor durante el movimiento. En caso de rotura del LCC, se observa un exceso de rotación interna durante la flexión y crepitaciones si existe daño concomitante en el menisco o enfermedad articular importante (*Paatsama, 1953; Dueland, 1966; Arnoczky, 1986*).

El desplazamiento craneal de la tibia con respecto al fémur puede evidenciarse mediante un test directo (test del cajón craneal) o indirecto (test de la compresión tibial). El **test del cajón craneal** se realiza con el animal en decúbito lateral (*Dueland, 1966*) y sedado o anestesiado si es nervioso o presenta mucho dolor. Mientras una mano sujeta el fémur, la otra mano desliza la tibia craneal y caudalmente con respecto al fémur (*Paatsama, 1953*). Un desplazamiento craneal de la tibia significa un cajón positivo e indica rotura del LCC (*Dueland, 1966; Arnoczky, 1986*). Los animales jóvenes deben evaluarse con cautela, pues presentan un mayor grado de laxitud articular (*Bennet y cols, 1988*). Realizando el test del cajón craneal tanto en extensión como en flexión, se pueden diagnosticar roturas totales, que afectan a todo el ligamento, o parciales, que afectan a una sola de las bandas del LCC (*Tarvin y cols, 1981; Arnoczky, 1986; Scavelli y cols, 1990; Strom, 1990; Vasseur, 1993*).

La **prueba de la compresión tibial** se realiza posicionando el dedo índice de una mano a lo largo de la cresta tibial mientras el pulgar y el resto de los dedos sujetan el fémur distal. El dedo índice se usa para aplicar presión en la cresta tibial en dirección caudal mientras la mano opuesta sujeta la zona distal de la extremidad y flexiona y extiende el tarso. La contracción del músculo gastrocnemio provocada por la flexión del tarso inicia el mecanismo de compresión tibial y desplazando cranealmente la tibia con respecto al fémur si hay rotura del LCC. Es útil cuando la prueba del cajón craneal no es concluyente y es más fácil de realizar en animales de raza grande o gigante (*Henderson y cols, 1978*).

2.3.3.- EVALUACIÓN RADIOLÓGICA

En una vista neutra (sin estrés) de una radiografía canina a 90° de flexión, la perpendicular del eje femoral que discurre justo craneal al sesamoideo, debe ser casi tangencial a la proyección caudal del cóndilo lateral de la tibia (*Meinen y cols, 1980*). El desplazamiento craneal de la tibia proximal puede observarse en radiografías estándar, sin aplicar estrés sobre la extremidad (*Singelton, 1957; Pond y cols, 1972; Park, 1979; Kirby, 1993*). Este desplazamiento se denomina signo del cajón y siempre indica la rotura del LCC (*Meinen y cols, 1990*). La segunda posibilidad de diagnóstico es el test de la compresión tibial. Para realizarlo, el animal se posiciona en decúbito lateral, obteniéndose una primera radiografía estándar con 90° de flexión. Posteriormente, manteniendo la angulación de la rodilla, se flexiona manualmente al máximo la articulación tarsal y se obtiene una segunda radiografía. Si existe compresión tibial positiva, la tibia proximal se desplazará cranealmente en relación al fémur distal. Este test radiográfico es objetivo y fiable para roturas parciales y totales, con una alta sensibilidad y un 100% de especificidad (*De Rooster y cols, 1998; De Rooster y cols, 1999a*). La localización de los sesamoideos del músculo poplíteo en las radiografías de estrés también son útiles y fáciles de evaluar. El desplazamiento distal del sesamoideo del poplíteo confirma la rotura del LCC (*De Rooster y cols, 1999b*).

2.3.4.- EVALUACIÓN ECOGRÁFICA

La anatomía ecográfica de la rodilla canina fue descrita por Reed y cols, y Kramer y cols sistematizaron el abordaje para el examen de la rodilla en perros (*Reed y cols, 1995; Kramer y cols, 1999*) (Fig. 10). Realizado de forma ordenada, proporciona una forma fiable de evaluar ciertas estructuras como los meniscos, tendones superficiales (tendón del músculo cuádriceps femoral, del músculo extensor digital largo, etc.) y ligamentos superficiales (colaterales y rotuliano), además de cambios osteoartroticos y lesiones como la osteocondritis disecans (*Samii y cols, 2002; Soler y cols, 2007; Arnault y cols, 2009*).

FIG. 10: IMAGEN ECOGRÁFICA DEL LIGAMENTO ROTULIANO EN UN PACIENTE CANINO



Imagen ecográfica en sección longitudinal de la articulación de la rodilla de un perro, en la que la posición de la sonda permite la visualización y medición de la textura y grosor respectivamente del ligamento rotuliano (indicado con flechas blancas en su inserción tibial).

En casos agudos de rotura del LCC, puede haber efusión sinovial moderada o severa. En lesiones crónicas, puede observarse engrosamiento de la capsula sinovial, una efusión mínima (salvo que esté complicada con rotura de menisco) y una superficie ósea irregular secundaria a la formación de osteofitos (Cook, 2010), pero el porcentaje de diagnóstico de rotura del LCC usando la ecografía es relativamente bajo, variando desde un 15,4% (Arnault y cols, 2009) hasta un 19,6% (Gnudi y cols, 2001).

Las lesiones meniscales también pueden evaluarse ecográficamente, presentando una sensibilidad y especificidad de un 90,0% y un 92,9% respectivamente (Mahn y cols, 2005). Suelen ser secundarias a la rotura del LCC, variando su incidencia entre un 20% y un 77% de los casos (Mahn y cols, 2005; Thieman y cols, 2006). Cuando hay lesión, el menisco aparece hipoeoico (Kramer y cols, 1999), desplazado, con un contorno anormal y con aumento de fluido en zonas adyacentes (Mahn y cols, 2005). Las anomalías del tendón rotuliano son las más habitualmente asociadas a la rotura del LCC, incluyendo hiperecogenicidad, engrosamiento (Kramer y cols, 1999), posible mineralización distrófica intratendinosa y entesiofitos en zona de la cresta tibial (Cook, 2010).

2.3.5.- TOMOGRAFÍA AXIAL COMPUTERIZADA

Los sistemas de imagen como la tomografía axial computerizada permiten identificar las estructuras internas de las articulaciones sin superimposiciones de tejidos y se ha mostrado muy sensible a la hora de mostrar estructuras óseas o calcificadas, permitiendo identificar tejidos blandos seleccionando las ventanas adecuadas (Soler y cols, 2007). Es un recurso válido para diagnosticar la inestabilidad de la rodilla canina por rotura del LCC, especialmente cuando no hay signo del cajón en el examen clínico. Aunque no se mostró útil para evaluar la integridad del LCC ni de los meniscos, sí lo es para detectar avulsiones de diferentes estructuras intra-articulares (incluyendo el LCC y el LCCd) y lesiones de los músculos extensor digital largo y poplíteo (Gielen y cols, 2010).

2.3.6.- RESONANCIA MAGNÉTICA

El diagnóstico por medio de la resonancia magnética se basa en alteraciones de la intensidad de la señal y ciertos cambios morfológicos. En las lesiones más leves, es necesario recurrir a imágenes obtenidas con contraste y resolución espacial (Rubin, 2005). Durante la degeneración de tendones o en el caso de un esguince ligamentoso, solemos encontrar una intensidad de imagen aumentada, generalmente un aumento de tamaño y unos márgenes irregulares o una forma anormal. Si hay una rotura completa del ligamento, puede observarse la falta de continuidad del mismo (Fig. 11). Si la rotura es crónica, puede haber una ausencia completa del ligamento o restos del mismo sin la morfología habitual (Rubin, 2005). La resonancia magnética ofrece la posibilidad de disponer de un diagnóstico muy precoz en lesiones del hueso subcondral, cartílago articular o meniscos (Scrivani, 2010), aunque el elevado coste de la técnica y la necesidad de una anestesia general relevan su uso a casos de diagnóstico complejo.

FIG. 11: IMAGEN SAGITAL DE UNA RESONANCIA MAGNÉTICA DE LA RODILLA CANINA

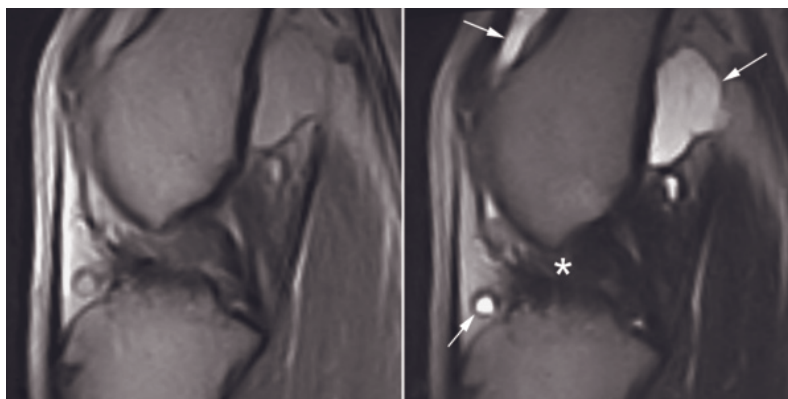


Imagen sagital de una resonancia magnética de una hembra esterilizada de 2 años de edad de raza mastiff con una rotura completa del ligamento cruzado craneal. Existe un incremento de líquido sinovial en la articulación de la rodilla. Comparar la imagen del líquido sinovial "limpio" (flechas) con el "sucio" (asterisco) en ambas imágenes (Muir, 2010)

2.4.- TRATAMIENTO DE LA ROTURA DEL LIGAMENTO CRUZADO CRANEAL

En un principio, existió cierta controversia con respecto a cuál era el mejor tratamiento para la rotura del LCC (Piermattei y cols, 2003). El tratamiento conservador con vendaje y reducción severa de ejercicio durante 4 - 8 semanas fue defendido por algunos autores en razas medianas, presentando una funcionalidad satisfactoria tras varios meses de sufrir la lesión (Pond y cols, 1972; Vasseur, 1984). Los perros de mayor tamaño evolucionaban, generalmente, peor (Vasseur, 1984). Sin embargo este planteamiento se mostró poco efectivo, pues todos los animales estudiados tuvieron síntomas de enfermedad degenerativa articular. Con el tiempo se ha evidenciado que el tratamiento ideal es la estabilización quirúrgica de la

rodilla (*Piermattei y cols, 2003*), acompañado del uso de terapia farmacológica con el objetivo de controlar y eliminar la inflamación y ralentizar la progresión de la enfermedad.

2.4.1.- TRATAMIENTO QUIRÚRGICO

Se han descrito gran variedad de técnicas quirúrgicas para restaurar la inestabilidad producida por la deficiencia del ligamento cruzado craneal en la rodilla del perro. Las técnicas iniciales compensaban la falta de LCC con algún tipo de reparación estática extra o intraarticular (prótesis extra-articulares, tejido periarticular o injertos intraarticulares) que fuese capaz de resistir las fuerzas de estiramiento (subluxación tibial craneal, o movimiento del cajón) en la rodilla dañada (*Boudrieau, 2006*). Posteriormente se impusieron las técnicas que, con el objetivo de modificar la geometría del aspecto proximal de la tibia, requerían una o varias osteotomías para restituir la estabilidad dinámica de la rodilla y prevenir el deterioro del menisco medial y minimizar el desarrollo de la osteoartritis secundaria en la rodilla (*Slocum y cols, 1993; Tepic y cols, 2002; Montavon y cols, 2004; Lazar y cols, 2005; Kim y cols, 2009*).

En general, las técnicas quirúrgicas para resolución de la deficiencia del LCC pueden dividirse en tres grandes grupos: técnicas extracapsulares, intracapsulares y técnicas modificadoras de la biomecánica de la rodilla.

2.4.1.1.- TÉCNICAS EXTRACAPSULARES

Las técnicas extracapsulares usan suturas de grueso calibre y transposición de tejidos blandos u óseos para disminuir la inestabilidad de la rodilla. La mayoría de artículos publicados referencian entre un 85% y un 90% de funcionalidad excelente tras la cirugía (*Piermattei y cols, 2003*). Las técnicas extraarticulares funcionan bien en razas pequeñas, pero no son satisfactorias en animales atléticos y/o de raza grande (*Piermattei y cols, 2003*).

Existen una amplia variedad de procedimientos extracapsulares, entre las que se pueden destacar la técnica de imbricación (*Childers, 1966*), la del refuerzo del retináculo (*DeAngelis y cols, 1970*) y su modificación posterior (*Flo, 1975*), la transposición de la cabeza del peroné (*Smith y cols, 1985*) y más recientemente, la técnica del botón lateral, la TightRope (*Cook y cols, 2010*) y la transposición del músculo bíceps femoral (*Tamburro y cols, 2012*).

2.4.1.2.- TÉCNICAS INTRACAPSULARES

Consisten en la colocación de un tejido o implante a través de la articulación, en igual dirección que el LCC original para cumplir su función. Normalmente, se emplea fascia lata sola o con ligamento rotuliano para la restitución del ligamento roto. Entre las destacadas se pueden

citar la técnica de la tunelización (*Paatsama, 1952*), la “over the top” (*Arnoczky y cols, 1979b*) y la “under and over” (*Shires y cols, 1984*)

2.4.1.3.- TÉCNICAS MODIFICADORAS DE LA BIOMECÁNICA DE LA RODILLA

En la década de los 90 se impusieron las técnicas que, mediante una o varias osteotomías, restituían la estabilidad dinámica de la rodilla con el objetivo de prevenir el deterioro del menisco medial y minimizar el desarrollo de la osteoartritis secundaria en la rodilla (*Slocum y cols, 1993; Tepic y cols, 2002; Montavon y cols, 2004; Lazar y cols, 2005; Kim y cols, 2009*). Estas técnicas neutralizan la translación dinámica de la tibia aparecida en la rodilla inestable como consecuencia de la rotura del LCC (*Lafaver y cols, 2007; Boudrieau y cols, 2009*). En la primera descrita, denominada osteotomía en cuña (**TWO**), se elimina una porción en forma de cuña del segmento proximal de la tibia con el objetivo de reducir el ángulo de la meseta tibial y se fija posteriormente con una placa de osteosíntesis (*Slocum y cols, 1983*). Esta técnica fue mejorada por el mismo autor unos años después mediante una técnica denominada osteotomía niveladora de la meseta tibial (**TPLO**) en la que una osteotomía curva de la porción proximal de la tibia permite la reorientación de la meseta tibial al ángulo deseado sin, teóricamente, incrementar el estrés sobre el ligamento rotuliano (*Slocum y cols, 1993*). Una tercera técnica relativamente nueva es la osteotomía triple de la tibia (**TTO**) en la que se realizan tres osteotomías en la tibia proximal para crear una osteotomía parcial en cuña caudalmente a otra osteotomía parcial de la cresta tibial (*Bruce y cols, 2007*).

Por último, la técnica del avance de la tuberosidad tibial (**TTA**) es un procedimiento quirúrgico desarrollado en la universidad de Zürich, que se basa en el análisis de la mecánica de todas las fuerzas articulares que actúan en la rodilla (*Montavon y cols 2002; Tepic y cols 2002*). Este modelo asume que todas las fuerzas que actúan cuando el animal apoya la extremidad resultan en una fuerza total que es, aproximadamente, paralela al ligamento patelar (*Nisell y cols, 1986*). La técnica quirúrgica está basada en el desplazamiento craneal de la inserción del tendón rotuliano junto con la cresta tibial, reduciendo el ángulo formado entre el tendón patelar y la meseta tibial hasta un máximo de 90° con una extensión de la articulación de 135°. Para ello, se realiza una osteotomía de la cresta tibial, que se avanza usando una caja de titanio (que actúa como expansor óseo), y posteriormente se estabiliza con una placa específicamente diseñada para esta técnica que actúa como una banda de tensión (*Montavon y cols, 2002; Tepic y cols, 2002*). Es importante destacar que la osteotomía se realiza en una porción de la tibia que no soporta peso. Asimismo, se logra una relación perpendicular entre la meseta tibial y el tendón patelar y el conjunto resultante se muestra estable (*Damur y cols, 2003*).

2.4.2.- TERAPIA MÉDICA DE LA OSTEOARTRITIS

La terapia médica de la osteoartritis secundaria a la rotura del LCC debe enfocarse como complementaria al tratamiento quirúrgico. La cirugía, en la mejor de las situaciones posibles, solo ralentiza la evolución del proceso degenerativo, pero no lo detiene. Esta progresión degenerativa dará lugar a la instauración de procesos bioquímicos inflamatorios que autoperpetuarán la degeneración y, junto con la aparición del dolor, afectará a la evolución clínica y la calidad de vida del paciente. El éxito del manejo médico es, por lo tanto, minimizar los signos clínicos de la OA, mantener una mejora en el uso de la extremidad y, si es posible, ralentizar la progresión de la enfermedad. La terapia multimodal puede dar paso a una mejor respuesta al tratamiento de la OA a través del sinergismo de diferentes terapias que actúan de forma complementaria, permitiendo la administración de menores dosis de cada uno de los fármacos y disminuyendo los posibles efectos secundarios de cualquier tratamiento prescrito de forma individual (*Altman y cols, 2000*).

2.4.2.1.- ANTIINFLAMATORIOS

Los antiinflamatorios no esteroideos (**AINEs**) son los fármacos más comúnmente prescritos para aliviar los síntomas de la OA. Reducen la formación de prostaglandinas infecciosas y la producción de tromboxano por medio de la inhibición de la enzima ciclooxigenasa (COX) en la vía metabólica del ácido araquidónico, disminuyendo por lo tanto la sinovitis y limitando la degradación de la matriz del cartílago asociada a la OA (*Jaeger y cols, 2010*). Con la inhibición de las isoenzimas COX, los AINEs tienen efecto local en el punto de la lesión así como a nivel central minimizando la nocicepción espinal y la sensibilización central. Los AINEs también sensibilizan los receptores a los efectos de los opioides, explicando el sinergismo entre esas dos medicaciones. Presentan posibles efectos secundarios, incluyendo ulceración gastrointestinal, disfunción renal y hepatotoxicosis transitoria si se suprimen las formas constitutivas de la COX, tanto la COX-1 como COX-2 (*Cullison, 1984*). Existen varios AINEs en el mercado para su uso a largo plazo. Una revisión sistemática reciente del manejo, indicó que había una gran evidencia en la eficacia del carprofeno, firocoxib y meloxicam, entre otros (*Sanderson y cols, 2009*).

Los **corticoides** pueden ser administrados sistémica o intraarticularmente, con un efecto antiinflamatorio muy potente y mejoran mucho los síntomas. La prednisolona oral a dosis baja (2-5 mg diarios para un perro del tamaño de un labrador) es la más habitualmente usada. Los efectos secundarios asociados normalmente a estas dosis son mínimas, aunque pueden aparecer si el tratamiento se alarga en el tiempo (*Bennet, 2010*). El acetato de metilprednisolona y la triamcinolona también pueden usarse y, en general, las articulaciones infiltradas mostraron menor erosión del cartílago, menor producción de osteofitos, menor actividad de estromelisinina y menor proliferación de condrocitos a corto plazo (*Pelletier y cols,*

1995). Están indicados si hay un componente inflamatorio muy importante en la articulación o si los AINEs se muestran poco efectivos o con efectos secundarios inadecuados (*Bennet, 2010*).

2.4.2.2.- ANALGÉSICOS

Aunque los AINEs son tradicionalmente la primera elección para el tratamiento de la OA, suprimen de manera incompleta el proceso inflamatorio debido a un mecanismo de acción limitado y, por lo tanto, no son completamente efectivos en el tratamiento de la OA. Amenudo está indicada la incorporación de **analgésicos** que permita mejorar el control del dolor al mismo tiempo que disminuye la dosis de cada uno de ellos (*Lascelles y cols, 2008*). El tramadol y el amantadine han sido usados y se han mostrado efectivos para el manejo de la osteoartritis tanto solos, como asociados a diferentes AINEs (*Raffa y cols, 1992; Lambert y cols, 2004; Lascelles y cols, 2008*). También se ha demostrado la acción del ácido gamma-aminobutírico (GABA) como analgésico de acción central (*Davies y cols, 2007*).

2.4.2.3.- SUPLEMENTOS NUTRICIONALES

Es cualquier sustancia eficaz que es alimento o forma parte de él, y que proporciona beneficios médicos o para la salud, incluidos la prevención o tratamiento de enfermedades. Hay evidencia laboratorial y clínica emergente que sugiere que estos compuestos pueden ser beneficiosos para el tratamiento de la OA. Algunos ejemplos de nutracéuticos incluyen el condroitin sulfato, sulfato de glucosamina, hidrocloruro de glucosamina, ácidos grasos esenciales y azúcares antioxidantes, como la vitamina C (*Beale, 2011*). El efecto beneficioso propuesto de los fármacos modificadores de la osteoartritis es el resultado de la regulación ascendente de los condrocitos y sinoviocitos y la provisión de sustrato, así como la inhibición de las enzimas degradantes presentes dentro de la matriz del cartílago y el líquido sinovial (*Scott, 2007*). El uso en seres humanos y pacientes caninos presenta una controversia importante, con ensayos que afirman que el uso de glucosamina y condritis sulfato es útil para aliviar el dolor en pacientes con OA (*Leeb y cols, 2000; McAlindon y cols, 2000; Reginster y cols, 2001; Pavelka y cols, 2002; McCarthy y cols, 2007; Kahan y cols, 2009*), mientras que otros afirman que, sin existir contraindicación en ofrecer tratamientos a largo plazo, no hay una reducción relevante del dolor articular ni afectan al estrechamiento del espacio articular (*Moreau y cols, 2003; Wandel y cols, 2010, McKenzie, 2010*).

Los aceites no saponificables de soja y aguacate (ASUs) y los ácidos grasos omega-3 también han sido propuestos como terapia de apoyo para el manejo de la OA. Comparados con el grupo placebo, los perros tratados con ASUs tienen lesiones histológicas menores en la meseta tibial y menor severidad en las lesiones histológicas del cartílago del fémur y la tibia, menor sinovitis y menor pérdida de hueso subcondral comparados con el grupo placebo

(Boileau y cols, 2009). Los ácidos grasos omega-3 reducen, pudiendo inhibir, la respuesta inflamatoria y degradativa de la matriz producida por los condrocitos durante la progresión de la OA (Curtis y cols, 2002).

2.4.2.4.- VISCOSUPLEMENTOS: ÁCIDO HIALURÓNICO

El líquido sinovial es un fluido presente en algunas articulaciones cuyas funciones principales son actuar como lubricante durante los movimientos y absorber las cargas a las que se somete a las articulaciones. En un líquido sinovial normal, el responsable fundamental de ambas funciones es el ácido hialurónico (AH), de cuya concentración y peso molecular depende, en gran medida, la efectividad de la realización de estas funciones. El ácido hialurónico es un glicosaminoglicano integrado por unidades repetidas de N-acetilglucosamina y glucuronato (Bucci y cols, 2004; Kogan y cols, 2007) que es sintetizado por los condrocitos y los fibroblastos sinoviales (Iwanaga y cols, 2000; Archer y cols, 2003) y se encuentra involucrado en diferentes procesos biológicos que estimulan la migración, proliferación y diferenciación de las células, además de regular la organización y el metabolismo de la matriz extracelular (MEC) (Olczyk y cols, 2008). Se encuentra en diferentes tejidos dentro del organismo, aunque lo hace en grandes cantidades en líquido sinovial, humor vítreo y piel (Laurent y cols, 1992). La homeostasis y modulación del metabolismo del cartílago se mantiene gracias a la interacción del ácido hialurónico con un receptor de los condrocitos denominado CD44, sugiriendo que la ruptura de estas interacciones puede promover la remodelación de la matriz (Salter y cols, 1996; Knudson y cols, 2004). La unión al receptor CD44 juega un papel clave en la embriogénesis (Toole, 1997), así como en el desarrollo de los tejidos adultos (Fedarko y cols, 1992; Pavasant y cols, 1996). El ácido hialurónico está relacionado con la invasividad del cáncer y las metástasis (Kogan y cols, 2008) y, en la articulación, es un componente muy importante del líquido sinovial y la matriz del cartílago extracelular (Fraser y cols, 1997).

A mayor concentración de ácido hialurónico en el líquido sinovial y mayor peso molecular de éste (se considera ácido hialurónico de elevado peso molecular alrededor de 1 millón de Daltons) mayor efectividad en la lubricación articular y en la absorción de las compresiones y cargas. El comportamiento viscoelástico también depende del tipo de fuerza aplicada. Si la fuerza es de cizalladura, actúa como un lubricante, permitiendo hacer movimientos con libertad y facilidad, mientras que si la fuerza aplicada es compresiva, el ácido hialurónico ayuda a absorber las cargas, previniendo las lesiones articulares. Asimismo, también proporciona una nueva fuente ácido hialurónico para los tejidos, restaurando sus niveles normales (Volpi y cols, 2009). Su concentración en el líquido sinovial de la rodilla disminuye significativamente tanto en casos de osteoartrosis natural (Arican y cols, 1994; Venable y cols, 2008), como inducida por la transección experimental del LCC (Budsberg y cols, 2006) si lo comparamos con la del líquido sinovial normal. Esta disminución de las

concentraciones fue atribuida en un principio a la fragmentación del ácido hialurónico, alteración de su síntesis y dilución por la efusión sinovial (*Henderson y cols, 1991; Kuroki y cols, 2002*), aunque posteriormente, Budsberg y cols, en 2006, demostraron que la dilución que se podía producir en la articulación no era suficiente como para disminuir la concentración de AH. En la osteoartritis también hay disminución del peso molecular del ácido hialurónico, lo que lleva a reducir su viscosidad, comprometiendo sus funciones de lubricación y absorción de cargas y llevando al deterioro del movimiento articular y a dolor. Por el contrario, las concentraciones séricas de ácido hialurónico pueden estar elevadas en patologías hepáticas o renales (*Engström-Laurent, 1989; Arican y cols, 1994*) y en animales menores de 8 meses (*Leipold y cols, 1989*).

Otras funciones del ácido hialurónico incluyen la inhibición de la migración de células inflamatorias (*Forrester y cols, 1981; Partsch y cols, 1989*), la producción de metaloproteinasas de matriz inducida por citoquinas y otros mediadores inflamatorios (*Wang y cols, 2006; Santangelo y cols, 2007; Waddell y cols, 2007*) y la acción analgésica gracias a la acción sobre los receptores intraarticulares del dolor (*Pozo y cols, 1997; Gomis y cols, 2007*). Es el único glucosaminoglicano que no se une a la cadena peptídica. Facilita la hidratación de los tejidos, debido a la gran cantidad de radicales libres, que se ligan a las moléculas de agua, por lo que la hidratación de los tejidos circundantes depende de la concentración y el estado fisiológico del ácido hialurónico (*Comper y cols, 1978; Toole, 1991*). En articulaciones osteoarthriticas, la concentración y el peso molecular del AH están disminuidos (*Simon, 1999*). Estas observaciones se han relacionado con fragmentación y síntesis alterada del AH (*Prehm, 1990; Henderson y cols, 1991; Kuroki y cols, 2002*).

Existe una gran variedad de estudios experimentales que evalúan la eficacia del AH, aunque ofrecen resultados contradictorios en cuanto a la capacidad de éste para ralentizar la progresión de OA en la rodilla (*Schiavinato y cols, 1989; Marshall y cols, 2000; Smith y cols, 2001, 2005; Hellström y cols, 2003; Canapp y cols, 2005*). Estudios en humanos y animales sugieren que el peso molecular del ácido hialurónico pueden afectar al dolor y a los mecanismos inflamatorios subyacentes de la osteoartritis (*Lajeunesse y cols, 2003; Gomis y cols, 2004*). De la misma manera, existe variedad de opiniones en cuanto al peso molecular del ácido hialurónico a usar; mientras unos estudios mostraron que el ácido hialurónico de mayor peso molecular presentaban mucho mayor efecto -pero también mayor heterogeneidad- (*Lo y cols, 2003*), otros no encontraron asociación entre el peso molecular y el efecto de ácido hialurónico tanto por el método informal (cuantificando el efecto) como por el formal de comparación indirecta o análisis de meta-regresión (*Arrich y cols, 2005*). Si comparamos el uso de ácido hialurónico con el de corticoides, ambos vía intraarticular, en pacientes con osteoartritis sintomática de la rodilla, es interesante concluir que el primero actúa más lentamente, pero su efecto es considerablemente más duradero (*American College of Rheumatology Subcommittee on Osteoarthritis Guidelines, 2000*).

Tradicionalmente las vías de administración del ácido hialurónico han sido la intravenosa y la intraarticular. Sin embargo, la necesidad de múltiples inyecciones repetidas representa un inconveniente, porque los pacientes deben visitar la clínica con cierta frecuencia y soportar las molestias y los riesgos asociados a las inyecciones reiteradas, como posibles infecciones (*Adams y cols, 2000*). Considerando las posibles complicaciones, la administración oral es mucho más deseable y actualmente tiene amplia difusión en medicina humana (*Kalman y cols, 2008*).

El uso intraarticular del AH se cree que puede compensar la deficiencia de componentes del cartílago articular y se ha evidenciado clínicamente efectiva para aliviar el dolor, pudiendo ralentizar la degeneración del cartílago articular (*Frizziero y cols, 1998; Echigo y cols, 2006*). Además, se ha demostrado que también tiene efectos bioquímicos como la inhibición de la producción de oxígeno reactivo (*Dougados, 2000*), el recubrimiento de los receptores del dolor (*Peyron, 1993*), e inhibición de la producción de prostaglandinas E2 (*Punzi y cols, 1989*). A partir de estos hallazgos, es de esperar que la administración oral, intraarticular o intravenosa de AH pueda ser también efectiva en el tratamiento de la osteoartritis. De hecho, la administración intravenosa de AH mejora los signos clínicos de fragmentación osteocondral en caballos (*Kawcak y cols, 1997*). Un estudio demostró que la administración de AH intraarticular e intravenosa disminuyó la apoptosis existente en los condrocitos de los animales con rotura inducida del LCC (*Echigo y cols, 2006*).

Existe amplia bibliografía en medicina humana, pero escasa en el caso de la especie canina, sobre la efectividad de la administración oral de ácido hialurónico para el tratamiento de la osteoartritis. En el ser humano, la administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular se ha mostrado muy efectivo en el tratamiento de la osteoartritis de la rodilla a corto plazo, tanto a dosis de 240 mg durante 8 (*Iwasa y cols, 2009*) y 12 semanas (*Sato y cols, 2008*), de 200 mg durante 8 semanas (*Sato y cols, 2009*) e incluso 60 mg durante 16 semanas (*Nagaoka y cols, 2010*). Estos estudios presentan buenos resultados, aunque los periodos de tratamiento son relativamente cortos. Un estudio reciente ha mostrado los mismos resultados en un periodo de tiempo más prolongado, de 12 meses (*Tashiro y cols, 2012*). Uno de los puntos clave en el tratamiento oral de estos pacientes es evidenciar la absorción del ácido hialurónico administrado oralmente. Y un estudio llevado a cabo en pacientes caninos con ácido hialurónico marcado radioactivamente demostró que había absorción y biodisponibilidad del principio activo marcado en piel, hueso y articulaciones (incluida la rodilla), además de mantenerse en estos tejidos durante periodos de tiempo prolongados (*Balogh y cols, 2008*). Además, el patrón de distribución dentro del organismo y el tiempo de aclaramiento indicó que una parte importante del AH administrado oralmente fue absorbido sin sufrir una degradación importante. En pruebas en medicina humana los resultados han evidenciado conclusiones similares (*Kajimoto, y cols, 2001; Sato, 2002*).

Solo unos pocos estudios han investigado el uso de las concentraciones de AH en líquido sinovial como biomarcador de la osteoartritis canina. Los perros con osteoartritis canina

naturalmente inducida mostraron menor concentración de AH en el líquido sinovial que los perros control (*Arican y cols, 1994; Venable y cols, 2008*). Sin embargo, en un estudio de la concentración de AH en el líquido sinovial de animales con osteoartritis natural secundaria bajo condiciones clínicas, no se pudo vincular la concentración de AH en líquido sinovial con la gravedad de los síntomas de la osteoartritis (*Plickert y cols, 2013*). Los resultados también fueron variables en casos de osteoartritis inducida experimentalmente: comparándolos con los valores basales, las concentraciones de AH disminuyeron significativamente a lo largo de 3 meses (*Budsberg y cols, 2006*).

2.4.2.5.- TERAPIA MULTIMODAL

Existe ahora una tendencia creciente a usar diversos fármacos de forma conjunta para proporcionar mayor alivio del dolor en animales con osteoartritis (*Lascelles y cols, 2002; Lascelles, 2007*). Esto se basa en la hipótesis de que la transmisión del dolor involucra múltiples vías, mecanismos y sistemas de transmisión y, por lo tanto, es poco probable que un solo tipo de analgésico, independientemente de la dosis que usemos, elimine completamente el dolor. La combinación de dos o más tipos de analgésicos es probable que sea más efectivo y, puesto que el efecto analgésico suele ser sinérgico, podemos usar menores dosis de cada uno de los fármacos disminuyendo la posibilidad de aparición de efectos secundarios. A pesar de ello no existen evidencias científicas publicadas de que la terapia multimodal sea más beneficiosa que la terapia monomodal en animales con osteoartritis. La terapia multimodal incluye, además de los AINEs, opioides, receptores antagonistas, antidepresivos tricíclicos, anticolvulsionantes y bloqueantes de canales del calcio y bloqueantes de canales del sodio. Las preparaciones de glucosamina/condroitin sulfato y polisulfato de glucosaminoglicanos también pueden incluirse como productos adyacentes, pues existen ciertas evidencias de que tienen efectos antiinflamatorios y analgésicos (*Bennet, 2010*).

2.4.2.6.- OTRAS TERAPIAS

Existen otras muchas formas descritas para abordar el control del dolor crónico en animales e incluyen acupuntura, electroacupuntura, estimulación transcutánea de nervios, terapia láser, etc. Casi todas las evidencias de su funcionamiento son anecdóticas (*Bennet, 2010*). Más recientemente, hay un estudio publicado con 60 perros con osteoartritis en el que se referencia que la terapia de pulsos eléctricos mejora la percepción del propietario de la evolución de su mascota en el grupo de recibe dicha terapia al compararlo con el grupo placebo que no la recibe (*Sullivan y cols, 2013*).

**MATERIAL
Y MÉTODOS**

3.1.- PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Se trata de un estudio clínico, prospectivo, aleatorio y doble ciego, en el que participaron dos grupos de pacientes: grupo A, que recibió un placebo y grupo B, que recibió un tratamiento con ácido hialurónico de alto peso molecular, ambos vía oral. El estudio se llevó a cabo en diferentes centros de Valencia, Madrid y Sevilla y con distintos cirujanos con experiencia superior a los 5 años en traumatología.

Todos los pacientes fueron atendidos en consulta privada presentando sintomatología característica y compatible con lesión del LCC.

El estudio fue aprobado por el Comité Ético de Bienestar Animal de la Universidad CEU – Cardenal Herrera, cumpliendo con las directrices europeas 2010/63/EU.

3.1.1.- SELECCIÓN DE LOS PACIENTES

Para nuestro estudio se utilizaron animales de la especie canina siguiendo los siguientes criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de inclusión

- 1.- Especie canina
- 2.- Animales de una edad comprendida entre 1 y 10 años
- 3.- Animales con un peso entre 15 y 45 kg
- 4.- Animales con lesión del LCC

Criterios de exclusión

- 1.- Animales con enfermedad metabólica sistémica que afecte a cualquier proceso de reparación tisular (diabetes, síndrome de cushing, obesidad, etc.)
- 2.- Animales con patologías osteoartriticas inmunomediadas o idiopáticas (lupus eritematoso sistémico, etc.)
- 3.- Animales que estén o hayan estado (2 meses previos al estudio), recibiendo terapia inmunosupresora (azatioprina, ciclosporina, glucocorticoides, ciclofosfamida, etc.)
- 4.- Animales con lesiones adicionales en la rodilla (luxaciones rotulianas, roturas de

ligamentos colaterales, fracturas articulares, roturas tendinosas...)

- 5.- Animales en los que, tras la cirugía, siga persistiendo inestabilidad manifiesta de la rodilla a la prueba de la flexión tarsiana o cajón indirecto.
- 6.- Animales que, en el periodo postquirúrgico, sufran complicaciones graves tales como artritis séptica, fractura ósea en la tibia, pérdida prematura de implantes, infección en la zona de la herida quirúrgica, trauma postquirúrgico en la zona de los implantes, y cualquier otra que pueda comprometer la evolución del paciente.

Los animales excluidos por padecer patologías sistémicas, lo fueron tras ser diagnosticados mediante sintomatología y pruebas complementarias (analíticas sanguíneas) o por exploración física basándonos en la puntuación de la condición corporal, como en el caso de la obesidad (*German y cols, 2006*). En nuestro estudio no se excluyeron los animales con lesiones meniscales. Las alteraciones encontradas en los meniscos durante el procedimiento quirúrgico, se anotaron en el apartado de incidencias, junto con una descripción de la misma y se trataron adecuadamente si se consideró necesario (meniscectomía total o parcial, según el caso).

En la primera visita, a los propietarios de los candidatos a participar en el estudio se les entregó un documento de consentimiento (Anexo 1) en el que se les informaba de las condiciones del mismo.

Consentimiento del propietario

El documento de consentimiento entregado al propietario, contenía información relativa a en qué consistía el estudio, de qué modo iba a llevarse a cabo, cuál era su finalidad, la identidad del promotor (Laboratorio Bioibérica), los beneficios que implicaba para el animal y el propietario participar en el estudio, información sobre la voluntariedad de su participación y la posibilidad de abandonarlo en cualquier momento, las incomodidades o riesgos que su participación acarrearía y la identidad del revisor ético del proyecto.

Al propietario que aceptó que su animal participase en el estudio, se le entregó un consentimiento de ensayo clínico para firmar, a modo de autorización (anexo 2). Una vez aceptada la participación se obtuvo, a través de una entrevista con el propietario, una detallada historia clínica y se realizó una reseña completa del animal, en la que se registró su nombre, raza, sexo, edad, peso, estatus gonadal, y la extremidad afectada (derecha o izquierda).

3.1.2.- PROTOCOLO EXPERIMENTAL

Una vez seleccionados los pacientes e introducidos en el ensayo clínico, se les asignó un número y un grupo (A o B) mediante técnica aleatoria siguiendo el orden marcado por la función RANDOM del programa EXCEL® (Microsoft, WA, USA).

A los animales del grupo A se les administró el placebo, y a los del grupo B se les administró ácido hialurónico de elevado peso molecular. La dosis administrada de AH fue 27 mg (1 cápsula) si el animal pesaba entre 15 y 25 kg y 54 mg (2 cápsulas) si el animal pesaba entre 25 y 45 kg. Al tratarse de un estudio clínico a doble ciego, ni el equipo clínico participante, ni los investigadores que analizaron las muestras fueron informados hasta el final del estudio de la identificación de los grupos. En ambos casos se utilizó la vía oral comenzando a las 24 horas siguientes a la cirugía y, posteriormente, con una frecuencia de administración de 24 horas durante un periodo de 10 semanas.

Las evaluaciones de los pacientes se llevaron a cabo en 5 momentos diferentes: V0, momento prequirúrgico; V1, procedimiento quirúrgico; V2, evaluación a las 2 semanas de la cirugía; V3, evaluación a las 4 semanas; V4, evaluación a las 10 semanas. Para ello, se analizaron distintos aspectos mediante formularios específicos detallados a continuación:

ANEXO 1: Formulario de información al propietario

ANEXO 2: Documento de consentimiento del propietario

ANEXO 3: Historia médica, criterios inclusión/exclusión, demografía, evaluación funcional por parte del veterinario

ANEXO 4: Evaluación funcional del propietario

ANEXO 5: Evaluación ecográfica de la rodilla

ANEXO 6: Procedimiento quirúrgico (descripción de lesiones meniscales, tipo y tamaño de los implantes)

En la tabla 1 se muestra la cronología de evaluación del paciente:

TABLA 1: METODOLOGÍA DEL PROTOCOLO EXPERIMENTAL

| Visita | 0 | 1 | 2 | 3 | 4 |
|---|----------|----------|----------|----------|----------|
| Consentimiento informado | X | | | | |
| Revisión criterios I/E | X | | | | |
| Historia clínica | X | | | | |
| Demografía: raza, sexo,... | X | | | | |
| Evaluación funcional del veterinario | X | | X | X | X |
| Evaluación funcional del propietario | X | | X | X | X |
| Cirugía | | X | | | |
| Radiografía | X | | | X | X |
| Ecografía | X | | X | X | X |
| Comprobación medicación previa | X | | | | |
| Toma líquido sinovial | | X | | X | X |
| Toma muestra sangre | X | | | X | X |
| Distribución del producto | | X | | | |
| Explicación de la toma del producto | | X | | | |
| Escala Visual Analógica (EVA) | X | | X | X | X |
| Tratamiento concomitante (incluido el rescate) | X | | X | X | X |
| Programación próxima visita | X | X | X | X | |
| Acontecimientos adversos | | | X | X | X |
| Comprobación cumplimiento | | | X | X | X |
| Formulario aceptación del producto | | | | | X |

(Visita 0: el día de la cirugía o, como máximo 5 días antes de ella; visita1: intervención quirúrgica; visita 2: a las 2 semanas de la intervención quirúrgica; vista 3: a las 4 semanas de la intervención quirúrgica; visita 4: a las 10 semanas de la intervención quirúrgica)

3.1.2.1.- EVALUACIÓN FUNCIONAL DEL VETERINARIO

En las visitas V0, V2, V3 y V4, el veterinario examinó la marcha del paciente al paso y sujeto con correa con el objetivo de determinar, empleando una escala semicuantitativa mostrada en el anexo 3 (*Jandi y cols, 2007*), el grado de cojera que manifestaba el animal (EPCOJ). En la estación, se evaluó la posible presencia de efusión sinovial (ESV) en el aspecto medial de la articulación de la rodilla, y se comparó con la contralateral, no afectada. Se evaluó el posible dolor a la hiperextensión (DH) de la rodilla y, en una escala visual analógica de 0 a 100, también el grado de dolor (VASC) y el de cojera (VASD) (*Welsh y cols, 1993*). Posteriormente se sedaron los animales y, posicionados en decúbito lateral con la extremidad afectada en la parte superior, se verificó la presencia o ausencia de signo del cajón directo (CD) y la prueba de la flexión tarsiana o cajón indirecto (CI).

A los animales sedados se les realizó el estudio radiológico de la articulación afectada con el doble objetivo de evaluar el grado de osteoartritis presente en la rodilla y de realizar las medidas adecuadas para la planificación de la intervención quirúrgica y determinar el tamaño de los implantes a utilizar (peine y caja).

3.1.2.2.- EVALUACIÓN FUNCIONAL DEL PROPIETARIO

En todas las visitas se pidió al propietario que evaluase el dolor de la mascota en una escala visual analógica de 0 a 100 puntos (EVAP). De la misma manera, el propietario determinó (anexo 4) el grado de cojera del animal tras 10 minutos de marcha (EPCOJ) y el grado de dificultad para levantarse desde la posición de sentado (EPLEV). Ambas escalas semicuantitativas fueron modificadas para este estudio a partir de la de Jandi y cols, 2007.

3.1.2.3.- EVALUACIÓN ECOGRÁFICA

El estudio ecográfico se realizó con un ecógrafo portátil (*LOGIQe[®], General Electric Company[®], Fairfield, EEUU*) y una sonda de alta frecuencia (*12L-RS; 5-13Mhz, General Electric Company[®], Fairfield, EEUU*). Los animales fueron sedados siguiendo el protocolo descrito en el apartado 3.2.1.7. Una vez sedados, fueron posicionados en decúbito lateral, con la extremidad afectada en la parte superior. Se rasuró la zona 10 centímetros proximal y distal a la rótula y en toda la circunferencia de la extremidad. Se aplicó alcohol en la zona rasurada para eliminar de la piel restos de grasa y se usó gel ecográfico (*Transonic Gel[®], Telic SA[®], Bigues, España*) con el objetivo de mejorar la transmisión de la señal ultrasónica que permitiese obtener una mejor calidad de las imágenes.

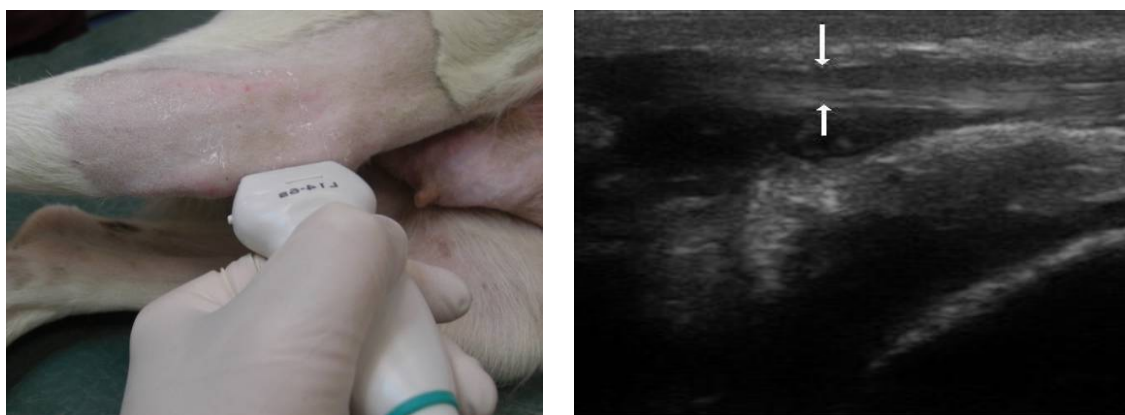
Las estructuras evaluadas ecográficamente fueron (anexo 5): irregularidad de la superficie rotuliana (ROT), grosor (TC) y textura (TCH) del tendón del músculo cuádriceps femoral, receso sinovial suprarrotuliano (RSS), distensión capsular infrarrotuliana (DCI), textura (LRH) y grosor del ligamento rotuliano en su origen (LRO), punto medio o central (LRC) e inserción tibial (LRI), grosor de los cartílagos en cóndilos femorales lateral (CCL) y medial (CCM), textura (LCLH) y grosor (LCL) del ligamento colateral lateral, textura (LCMH) y grosor (LCM) del ligamento colateral medial y textura del menisco lateral (ML) y medial (MM). Las medidas ecográficas se tomaron siguiendo las directrices de Reed y colaboradores, en 1995.

Los datos cualitativos (ROT, TCH, LRH, LCLH, LCMH, ML y MM) se puntuaron de 0 a 3 según escala modificada de Innes, en la que 0 representa textura completamente homogénea y 3 completamente heterogénea (*Innes y otros, 2004*).

En primer lugar se evaluó la irregularidad de la superficie rotuliana, variando ésta desde 0 (perfectamente redondeada y con un perfil ecográfico correspondiente a la normalidad) hasta 3 (superficie rotuliana extremadamente irregular, con graves signos de degeneración).

En el ligamento rotuliano se evaluó la textura y el grosor del mismo a tres niveles (origen, punto medio e inserción tibial). En cuanto al grosor del ligamento, se midió perpendicularmente a su eje longitudinal en el origen (zona de unión del ligamento con la rótula), zona central (en su punto medio) e inserción tibial (zona de unión del ligamento con la parte proximal de la cresta tibial)(Fig. 12).

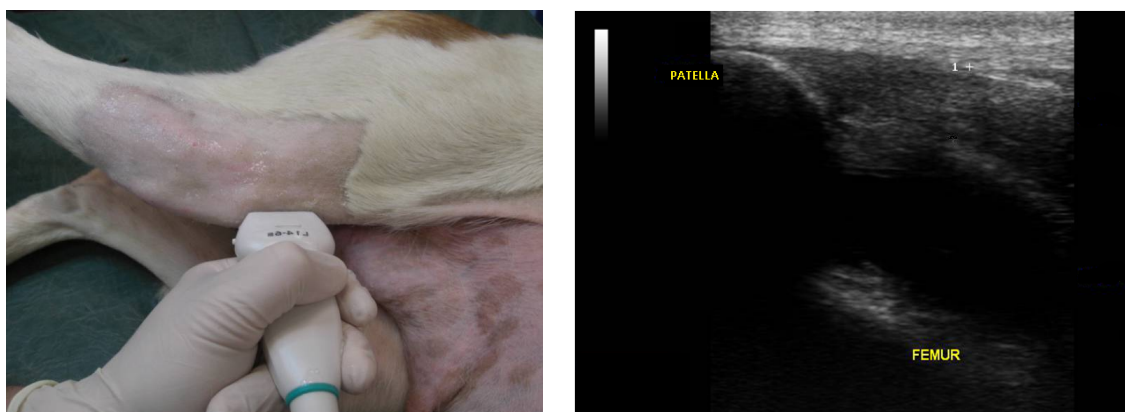
FIG. 12: POSICIONAMIENTO DE LA SONDA PARA EVALUACIÓN DEL LIGAMENTO ROTULIANO



Posicionamiento de la sonda para medición del grosor y textura del ligamento rotuliano en sección longitudinal e imagen obtenida

Posicionando la sonda proximalmente a la rótula, se evaluaron la textura, el grosor del músculo cuádriceps femoral y el tamaño del receso sinovial suprarrotuliano. La textura y el grosor del tendón del músculo cuádriceps femoral se midieron sobre el plano sagital. El grosor se midió a una distancia de 10 mm de la inserción ventral del tendón con la rótula (Fig. 13). El receso sinovial suprarrotuliano se encuentra en profundidad al tendón del músculo cuádriceps femoral; se midió la distancia máxima entre el fémur y el límite del receso.

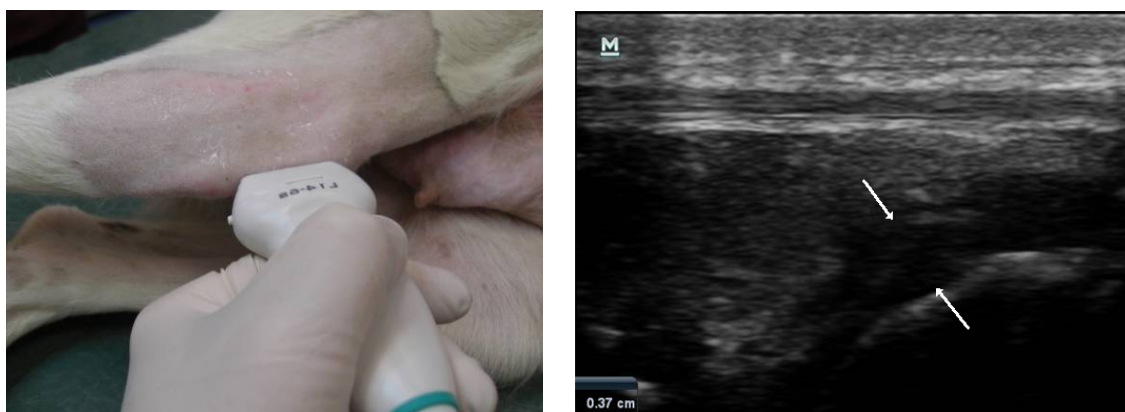
Fig. 13: POSICIONAMIENTO DE LA SONDA PARA EVALUACIÓN DEL TENDÓN DEL MÚSCULO CUADRICEPS FEMORAL



Posicionamiento de la sonda para medición de la textura y grosor del tendón del músculo cuádriceps femoral y el receso sinovial suprarrotuliano e imagen ecográfica obtenida

En el caso de la distensión capsular infrarrotuliana, la sonda se coloca sobre el aspecto proximal del tendón rotuliano y, en profundidad a éste se realiza la medición entre el borde distal del fémur y el límite máximo del receso (Fig. 14)

FIG. 14: POSICIONAMIENTO DE LA SONDA PARA EVALUACIÓN DE LA DISTENSIÓN CAPSULAR INFRARROTULIANA

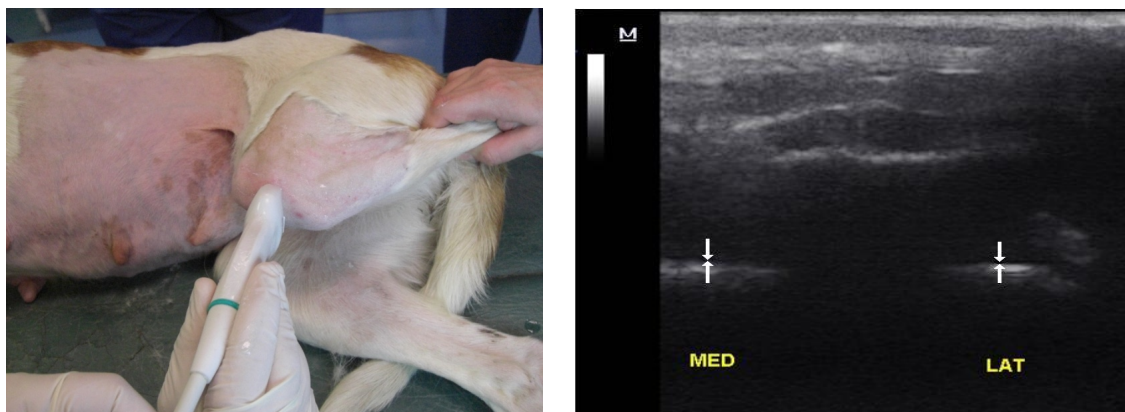


Posicionamiento de la sonda para medición de la distensión capsular infrarrotuliana en sección longitudinal del tendón del músculo cuádriceps femoral e imagen obtenida

El grosor del cartílago en los cóndilos lateral y medial del fémur se midió con la rodilla en flexión completa y posicionando la sonda de forma transversa al eje longitudinal de la misma. Desde ahí, y orientando la sonda ligeramente hacia proximal, se visualizaron ambos cóndilos, uno a cada lado (Fig. 15). Desplazando la sonda hacia lateral, se midió el punto de

grosor máximo del cartílago en el cóndilo femoral lateral y, posteriormente, desplazándolo medialmente, se obtuvo la medida correspondiente en el cóndilo femoral medial.

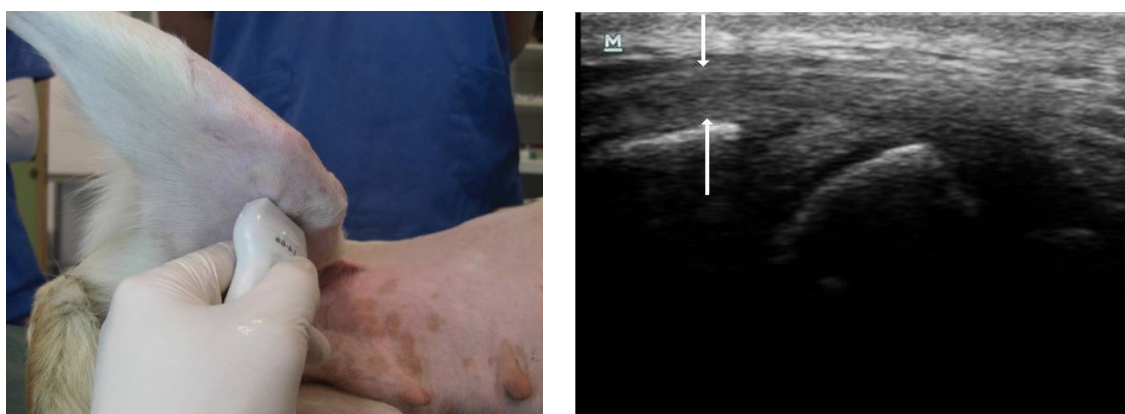
FIG. 15: POSICIONAMIENTO DE LA SONDA PARA EVALUACIÓN DE LOS CÓNDILOS FEMORALES



Posicionamiento de la sonda para medición del grosor de los cartílagos articulares en cóndilos femorales lateral y medial e imagen ecográfica obtenida

Se midió la textura y el grosor de los ligamentos colaterales lateral y medial. Para ello se posicionó la sonda paralelamente a su eje longitudinal, primero en el aspecto lateral y después en el medial de la rodilla, midiendo la máxima anchura en el punto medio, perpendicularmente al eje longitudinal de la extremidad (Fig. 16).

FIG. 16: POSICIONAMIENTO DE LA SONDA PARA EVALUACIÓN DE LOS LIGAMENTOS COLATERALES Y LOS MENISCOS



Posicionamiento de la sonda para medición del grosor y la textura del ligamento colateral medial y evaluación del menisco medial e imagen obtenida. Para la medición del ligamento colateral lateral y evaluación del menisco lateral, el posicionamiento es análogo pero sobre el aspecto lateral de la articulación.

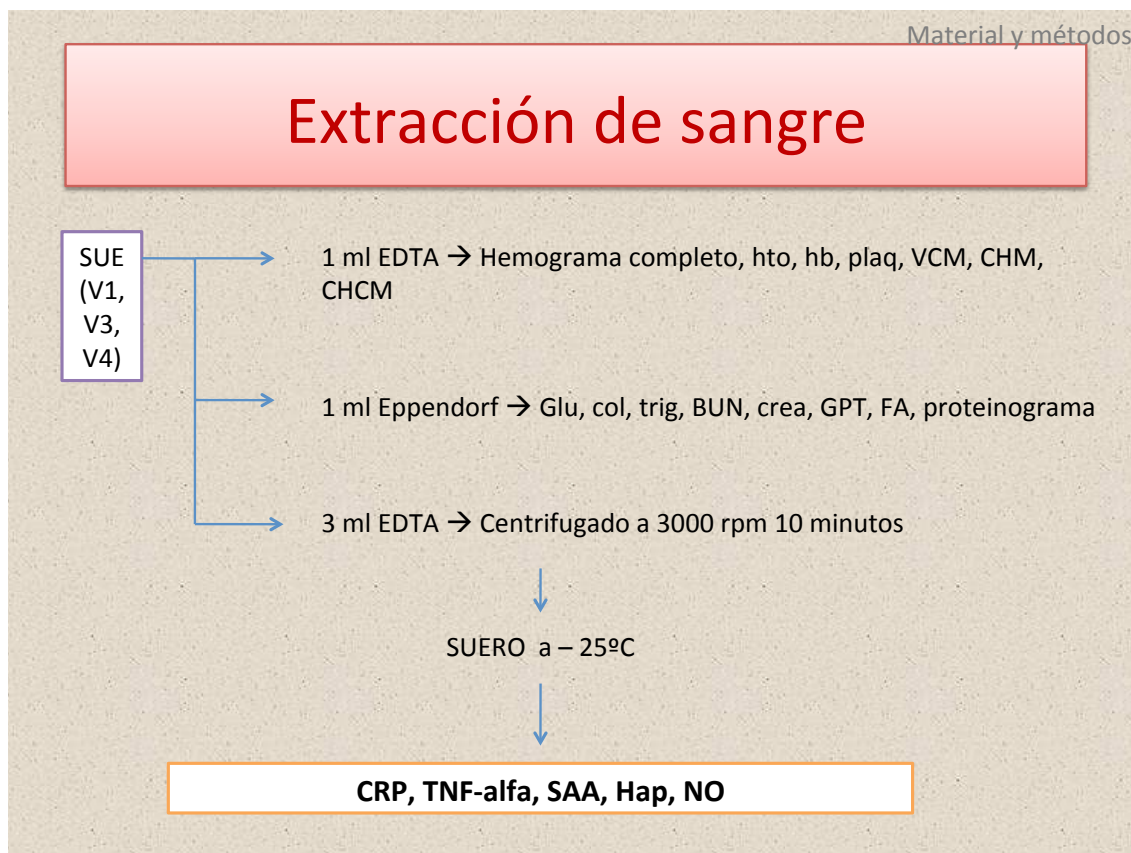
En el caso de los meniscos lateral y medial, se evaluó únicamente su textura. Para ello, se posicionó la sonda primero en el aspecto lateral y después en el aspecto medial de la rodilla, paralelamente al eje longitudinal de la extremidad. Los meniscos se visualizaron y evaluaron en profundidad a los ligamentos colaterales (Fig. 16).

3.1.2.4.- EXTRACCIÓN Y PROCESADO DE LA SANGRE

Se rasuró la zona ventrolateral del cuello, paralelamente a la zona de la tráquea previa desinfección con clorhexidina (*Lifo – Scrub*[®], *Braun Melsungen AG*[®], *Melsungen, Alemania*), y se extrajeron 5 ml de sangre de la vena yugular usando una aguja de 20G (*Microlance*[®] 3, *Beckton Dickinson and Company*[®], *Franklin Lakes, USA*) y jeringa de 5 ml (*Injekt*[®], *Braun Melsungen AG*[®], *Melsungen, Alemania*). Un mililitro se depositó en un tubo con anticoagulante (*AquiseI*[®] *EDTA 3K*[®], *Abbrera, España*) y con esta muestra se realizó un hemograma completo (recuento de hematíes, fórmula leucocitaria, hematocrito, hemoglobina, plaquetas, volumen corpuscular medio (VCM), hemoglobina corpuscular media (CHM) y concentración de hemoglobina corpuscular media (CHCM). Otro mililitro se depositó en un tubo de Eppendorf (*Deltalab*[®] *S.L., Rubi, España*) y se realizó un panel de bioquímica general (glucosa, colesterol, triglicéridos, BUN, creatinina, GPT, FA y proteinograma), así como un test para descartar leishmaniosis y ehrlichiosis (*DFV Test LEA*[®], *Divasa-Farmavic S.A.*[®], *Gurb-Vich, España*), con el fin de certificar el adecuado estado de salud del paciente que lo hiciese apto para el estudio.

Los 3 ml restantes, se introdujeron en tubo con anticoagulante (*AquiseI*[®] *EDTA 3K*[®], *Abbrera, España*) y se centrifugaron a 3000 rpm durante 10 minutos (*Cencom II*[®], *JP Selecta*[®], *Abbrera, España*). Tras el centrifugado, se extrajo el suero con pipeta Pasteur (*Deltalab*[®] *S.L., Rubi, España*), se depositó en un tubo de Eppendorf y se congelaron inmediatamente a -25°C (Fig. 17). Posteriormente, se procedió a la determinación sérica de factor de necrosis tumoral alfa (SUETNF), proteína C-reactiva (SUECRP), amiloide sérico A (SUESAA), haptoglobina (SUEHAP) y óxido nítrico (SUENO) (Fig. 21). Para la medición de la CRP se usó un método de humana validado para especie canina (CRP OSR 6147 Olympus Life and Material Science Europe GmbH, O'Callaghan's Mills, Ireland). Para la HAP y la SAA se usaron dos métodos comercialmente disponibles validados previamente para el perro: *Tridelta Phase range haptoglobin kit*[®], y *The Tridelta PhaseTM Serum Amyloid A Assay (SAA)* respectivamente (*Tridelta Development Ltd*[®], *Brey, Ireland*). La TNF- α se determinó mediante ELISA (*Canine TNF-alpha Quantikine ELISA Kit*[®], *R&D Systems Inc, Minneapolis, USA*) y para el NO se usó el reactivo de Griess según el protocolo modificado de Miranda (*Miranda y cols, 2001*). Para la determinación del ácido hialurónico, se usó un método de Elisa (*TECO Hyaluronic Acid*[®], *TECOmedical Group, Sissach, Switerland*).

FIG. 17: ESQUEMA DEL PROCESADO DE LAS MUESTRAS SANGUÍNEAS



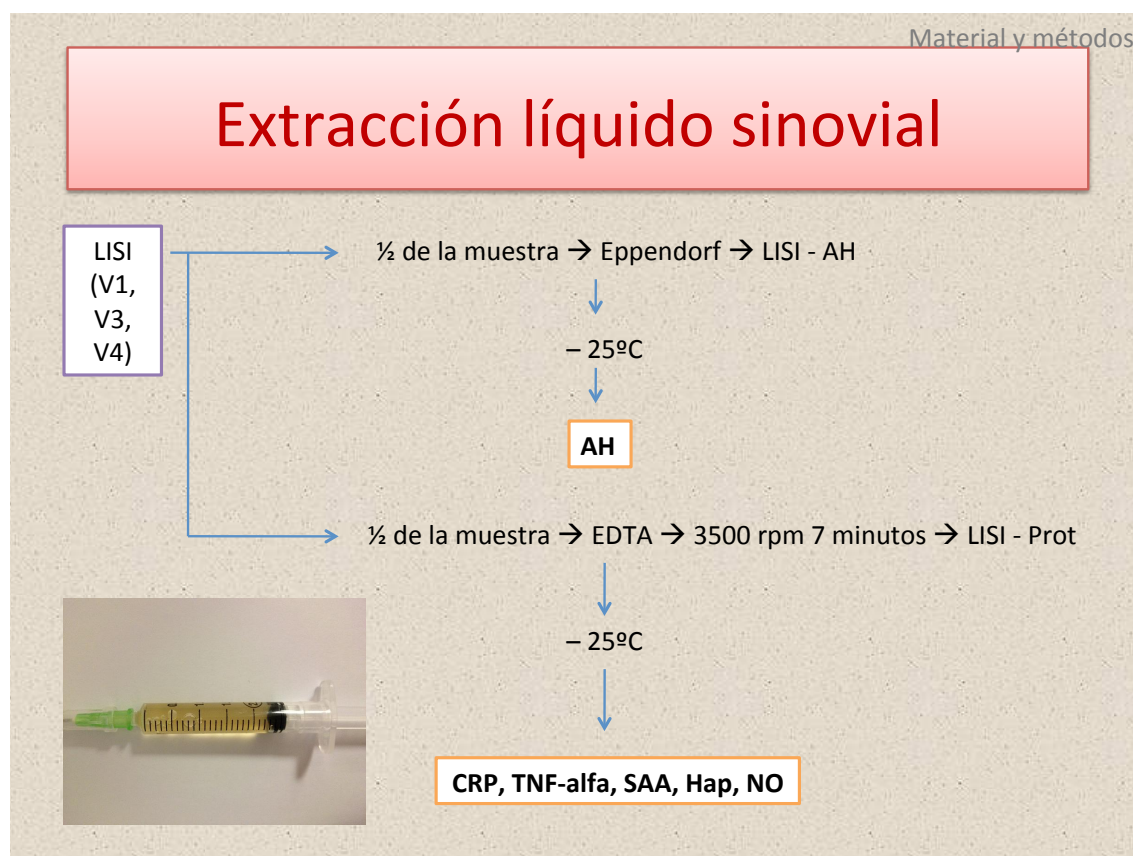
3.1.2.5.- EXTRACCIÓN Y PROCESADO DEL LÍQUIDO SINOVIAL

Para la obtención de la muestra de líquido sinovial se usó una jeringuilla de 2 ml (*Injekt® 2ml/Luer Solo, Braun Melsungen AG®, Melsungen, Alemania*) y una aguja 20G (*Microlance® 3, Beckton Dickinson and Company®, Frankin Lakes, USA*). Se posicionó el paciente en decúbito lateral contrario a la extremidad afectada y, flexionando parcialmente la articulación, se presionó con el dedo medialmente al ligamento rotuliano y en la zona caudal de la articulación para favorecer la distensión capsular en el lado a puncionar. Con la aguja de 20G se accedió al aspecto craneal de la articulación inmediatamente lateral al ligamento rotuliano y en el punto medio entre la rótula y la tuberosidad tibial, intraquirúrgicamente en la V1 y usando guía ecográfica en V3 y V4. La aguja se dirigió proximalmente y hacia el interior del espacio articular a través del cuerpo adiposo infrarrotuliano y en dirección al espacio intercondilar. Aspirando suavemente se obtuvo la muestra de líquido sinovial. El volumen de líquido sinovial fue variable dependiendo de las circunstancias individuales y del tiempo de extracción.

Posteriormente, se depositó la mitad de la cantidad de líquido sinovial restante en un tubo de Eppendorf. La otra mitad se introdujo en un tubo con anticoagulante de 0,5 ml (*Aquise!*[®] EDTA 3K[®], *Abrera, España*) y se centrifugaron a 3500 rpm durante 7 minutos (*Cencom II*[®], *JP Selecta*[®], *Abrera, España*). Tras la centrifugación, se extrajo el sobrenadante con una pipeta (referencia) y se depositó en un tubo de Eppendorf. Las dos muestras obtenidas en los Eppendorf, se congelaron inmediatamente a -25°C. Posteriormente, se procedió a la determinación sinovial de factor de necrosis tumoral alfa (LISITNF), proteína C-reactiva (LISICRP), amiloide sérico A (LISISAA), haptoglobina (LISIHAP) y óxido nítrico (LISINO) (Fig.22).

Los métodos analíticos usados para la evaluación de los mediadores en líquido sinovial fueron los mismos que para sangre, ya descritos en el apartado 3.1.2.4. Para la evaluación del AH, realizada únicamente en líquido sinovial, se usó un test ELISA (TECO[®] Hyaluronic Acid, TECOmedical[®] AG, Sissach, Switzerland).

FIG. 18: ESQUEMA DEL PROCESADO DE LAS MUESTRAS DE LÍQUIDO SINOVIAL



3.1.2.6.- PROCEDIMIENTO QUIRÚRGICO (TTA)

Para el procedimiento quirúrgico primero se procedió a la sedación de los animales. Con tal fin, se rasuró la zona dorsal del antebrazo del animal, aproximadamente en su punto medio y, tras desinfectar la zona con alcohol, se cateterizó la vena cefálica con un catéter endovenoso (*Insyte-W[®]20GA*, *Beckton Dickinson & Company, New Jersey, USA*). Se utilizó como protocolo preanestésico una combinación de dexmedetomidina (*Dexdomitor[®]*, *Pfizer Animal Health, NY, USA*) endovenosa a dosis de 5 µg /kg y morfina (*Morfina Braun 1%[®]*, *BBraun Medical, Melsungen, Alemania*) intramuscular a dosis de 0,2 mg/kg. El procedimiento anestésico fue común a todos los animales por trabajar en todos los casos con animales sanos que únicamente sufrían una patología local (lesión del LCC). La misma combinación fue la usada para realizar los estudios radiológicos, ecográficos y las extracciones de líquido sinovial.

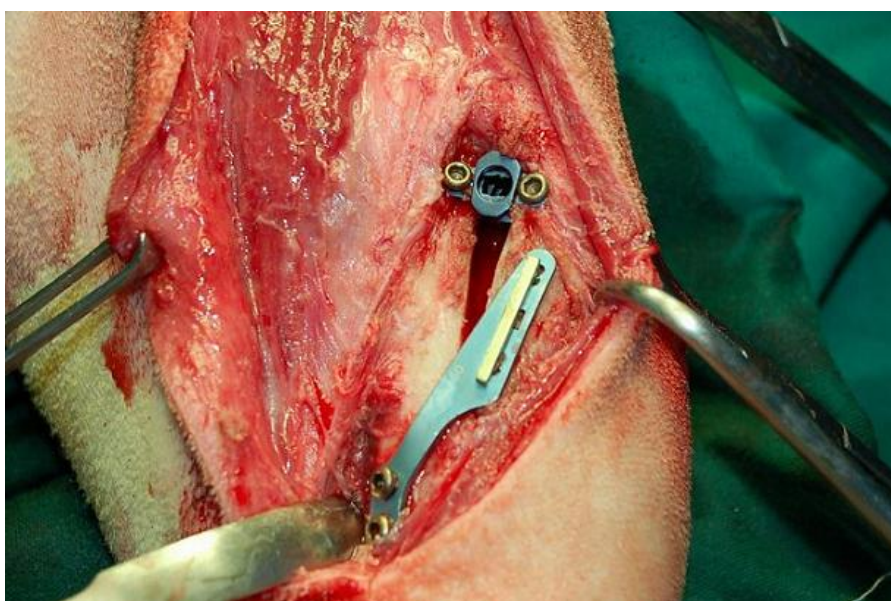
Se rasuró toda la circunferencia de la extremidad afectada desde la zona media del muslo hasta los metatarsianos, distalmente al calcáneo, y limpiada en primer lugar con clorhexidina (*Lifo – Scrub[®]*, *Braun Melsungen AG[®]*, *Melsungen, Alemania*). Posteriormente fueron eliminados los restos de antiséptico con gasas estériles y lavado de nuevo con clorhexidina. A los 30 minutos se indujo la anestesia general a los animales con propofol endovenoso en bolo (*Propofol Lipuro[®]*, *BBraun Medical, Melsungen, Alemania*) a dosis de 3 mg/kg y, posteriormente se les intubó manteniéndose la anestesia con isoflurano (*Isoba[®]vet*, *Schering-Plough Ltd, UK*). Se posicionó al paciente en decúbito dorsal con la extremidad afectada estirada y la extremidad sana lateralizada. Posteriormente, se preparó el campo quirúrgico con paños estériles (*Cover line[®]*, *Cardiva Integral Solutions, Málaga España*) y una vez delimitado el campo quirúrgico, se extendió por encima un campo de incisión autoadhesivo y antimicrobiano (*Ioban[®]2*, *3M, St. Paul, USA*) que permitiese una esterilidad óptima.

Usando un bisturí (*sterile surgical blade #22*, *BBraun, Melsungen, Alemania*), se realizó una incisión cutánea en el aspecto medial de la rodilla comenzando aproximadamente a nivel de la rótula y se extendió la incisión en sentido distal, paralelamente al ligamento rotuliano y medialmente a la tuberosidad tibial, llegando al tercio proximal de la tibia. Se disecó la fascia subcutánea y la grasa para exponer el retináculo medial y el ligamento rotuliano, así como el aspecto proximal de la tuberosidad tibial. Se reflejó cranealmente el periostio medial para

exponer el aspecto medial de la tuberosidad tibial, usando una combinación de bisturí (*sterile surgical blade #11, BBraun, Melsungen, Alemania*) y elevador perióstico. En el aspecto medial de la tibia, se continuó la elevación del periostio distalmente a lo largo de la diáfisis proximal de la tibia con el objetivo de eliminarlo del lugar anatómico en el que iba a ir posicionada la placa.

Se incidió la cápsula articular con un bisturí del nº 11 (*sterile surgical blade #11, BBraun, Melsungen, Alemania*), extendiendo la incisión parapatelariamente a lo largo del retináculo, unos milímetros lateral al ligamento rotuliano. La incisión, se prolongó con tijeras desde el polo distal de la rótula hasta la tibia proximal, en donde se unió con el aspecto proximal de la tuberosidad tibial previamente expuesta. Con unos distractores de rodilla se inspeccionó cuidadosamente el interior de la articulación de la rodilla, buscando lesiones en ligamentos cruzados craneal y caudal, posibles erosiones del cartílago articular de ambos cóndilos femorales, estado de ambos meniscos y presencia de osteofitos periarticulares). Todo ello, junto con el tamaño de los implantes a usar se reflejó en el anexo 6. Tras eliminar los restos de ligamento cruzado craneal, se cerró la cápsula articular usando sutura monofilamento absorbible de poli-d-dioxanona (*Monoplus® 0 - 2/0, BBraun, Melsungen, Alemania*). La técnica quirúrgica empleada para estabilizar la rodilla fue la del avance de la tuberosidad tibial (TTA) y el procedimiento se realizó tal y como fue descrito en 2002 por Montavon y cols (Fig. 19).

FIG. 19: IMAGEN POSTQUIRÚRGICA TRAS FINALIZAR EL AVANCE DE LA TUBEROSIDAD TIBIAL



Se suturaron los tejidos subcutáneos con puntos simples con sutura monofilamento absorbible (*Monosyn*® 2/0 – 3/0, *BBraun, Melsungen, Alemania*) y la piel con una sutura continua (*Miralene*® 2/0, *BBraun, Melsungen, Alemania*).

3.1.2.7.- EVALUACIÓN POSTQUIRÚRGICA. TERAPIA Y SEGUIMIENTO

Inmediatamente tras la cirugía se realizó un vendaje compresivo de Robert-Jones en la extremidad que se mantuvo durante 3 días. Los animales recibieron tratamiento antibiótico durante 6 días a dosis de 10 mg /kg de amoxicilina y 2,5 mg/kg de ácido clavulánico cada 12 horas (*Synulox*®, *Zoetis Inc., Madison, USA*), y antiinflamatorio durante 1 semana (*Metacam*®, *Boehringer Ingelheim GmbH, Ingelheim, Alemania*) a dosis de 0,1 mg/kg cada 24 horas. La primera dosis de antiinflamatorio se inyectó vía intravenosa durante el procedimiento quirúrgico, después de haber extraído el líquido sinovial. A las 2 semanas, junto con la primera revisión del estudio, se eliminaron los puntos de la sutura de la herida.

3.2.- ANÁLISIS ESTADÍSTICO

A los pacientes seleccionados para el estudio se les asignó un número y un grupo (A o B) mediante técnica aleatoria siguiendo el orden marcado por la función RANDOM del programa informático EXCEL® (Microsoft®, WA, USA)

El análisis estadístico se realizó en dos fases, usando en cada una de ellas un programa diferente. Para el análisis comparativo de los dos protocolos (A y B) en una misma visita, se aplicó el test de U de Mann-Whitney usando el programa STATISTICA® (Statsoft® Inc., Tulsa, EEUU). Para comparar diferentes visitas dentro de un mismo protocolo se realizó el test de Wilcoxon si las muestras no seguían una distribución normal y una ANOVA si la distribución de las muestras era normal, ambas usando el programa SPSS® (IBM® Corporation, Armonk, EEUU). Se consideraron diferencias significativas si $p \leq 0,05$.

Los datos correspondientes a la evaluación clínica por parte del propietario y veterinario se dividieron en datos continuos: VASC, VASD y EVAP, que se expresaron en forma de media \pm desviación estándar, y no continuos que se expresaron en número de individuos por puntuaciones: VCOJ se valoró de 0 a 4, CD, CI, DH y ESV se valoraron como 0 (no) o 1 (si) y EPCOJ y EPLEV fueron valorados de 0 a 3. El análisis estadístico se llevó a cabo de forma independiente para cada uno de los protocolos.

Los datos correspondientes al estudio ecográfico se dividieron en datos continuos (TC, RSS, DCI, LRI, LRC, LRO, CCL, CCM, LCL y LCM, que se expresaron en forma de media \pm desviación estándar) y no continuos (ROT, TCH, LRH, LCLH, ML, LCMH y MM, expresados en número de individuos por puntuaciones –valorados de 0 a 3–). El análisis estadístico se llevó a cabo de forma independiente para cada uno de los protocolos.

Los datos de la analítica sanguínea se dividieron en continuos (SUEHAP y SUENO que se expresaron en forma de media \pm desviación estándar) y no continuos (SUECRP, SUESAA, SUETNF, expresados en número de individuos por rangos). Los rangos de los parámetros no continuos se establecieron en función de las referencias consideradas normales y alteradas en la bibliografía consultada (*Spreng y cols, 2001; Martínez-Subiela y cols, 2004*) (Tabla 2).

TABLA 2: RANGOS DE LOS DIFERENTES PARÁMETROS SÉRICOS NO CONTÍNUOS

| | RANGO | | |
|-----------------------------|-------|---------|-----|
| | 0 | 1 | 2 |
| SUECRP ($\mu\text{g/ml}$) | <5 | 5-10 | >10 |
| SUESAA ($\mu\text{g/ml}$) | <2,19 | 2,19-10 | >10 |
| SUETNF (pg/ml) | <5 | 5-10 | >10 |

Rangos de los diferentes parámetros séricos no continuos (SUECRP: concentración sérica de proteína C reactiva, SUESAA: concentración sérica de amiloide sérico A, SUETNF: concentración sérica de factor de necrosis tumoral alfa)

Los datos de la analítica del líquido sinovial se dividieron en continuos (SUEHAP, SUENO y AH, que se expresaron en forma de media \pm desviación estándar) y no continuos (SUECRP, SUESAA, SUETNF, expresados en número de individuos por rangos). Los rangos de los parámetros no continuos se establecieron en función de las referencias consideradas normales y alteradas en la bibliografía consultada (*Hay y otros, 1997*) (Tabla 3).

TABLA 3: RANGO DE LOS DIFERENTES PARÁMETROS SINOVIALES NO CONTÍNUOS

| | RANGO | | |
|------------------------------|-------|---------|-----|
| | 0 | 1 | 2 |
| LISICRP ($\mu\text{g/ml}$) | <5 | 5-10 | >10 |
| LISISAA ($\mu\text{g/ml}$) | <2,19 | 2,19-10 | >10 |
| LISITNF (pg/ml) | <5 | 5-10 | >10 |

Rangos de los diferentes parámetros sinoviales no continuos (LISICRP: concentración sinovial de proteína C reactiva, LISISAA: concentración sinovial de amiloide sérico A, LISITNF: concentración sinovial de factor de necrosis tumoral alfa)

RESULTADOS

El estudio fue llevado a cabo con 48 animales de la especie canina con lesión unilateral del LCC, 25 machos y 23 hembras. El peso medio fue 29,9 kg y la edad media 4,69 años. Las razas fueron: mestizo (16), labrador retriever (8), bóxer (7), american staffordshire terrier (5), perro de aguas (2), bulldog inglés (1), eurasier (1), mastín (1), cocker spaniel inglés (1), cocker spaniel americano (1), dálmata (1), golden retriever (1), pachón navarro (1), pointer (1) y Staffordshire pit bull terrier (1).

4.1.- EXPLORACIÓN CLÍNICA

4.1.1.- EVALUACIÓN DEL VETERINARIO

4.1.1.1.- GRADO DE COJERA (VASC) Y DOLOR (VASD)

En la tabla 4 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, del grado de cojera (**VASC**) evaluado por el veterinario en ambos protocolos.

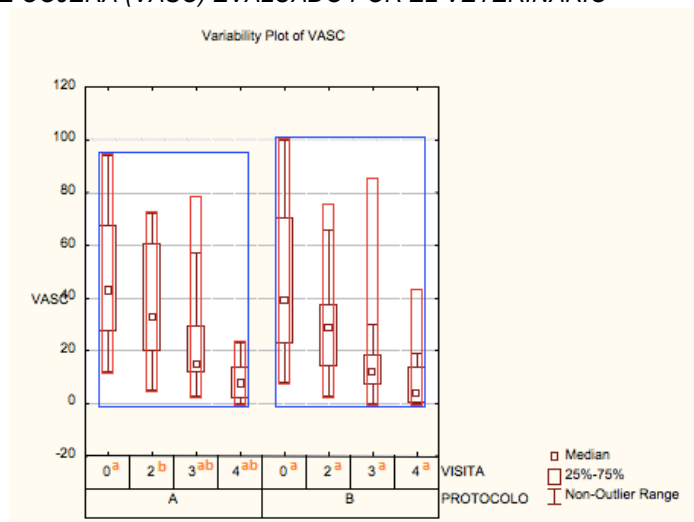
TABLA 4: GRADO DE COJERA (VASC) EVALUADO POR EL VETERINARIO

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|-----------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| PROTOCOLO | A ^a | B ^a | A ^b | B ^a | A ^{ab} | B ^a | A ^{ab} | B ^a |
| VASC | 47 ± 25 | 46 ± 29 | 39 ± 22 | 30 ± 20 | 25 ± 21 | 17 ± 18 | 8 ± 7 | 9 ± 12 |

Datos estadísticos en milímetros (expresados en media ± desviación estándar) del grado de cojera (VASC) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario de las visitas V0, V2, V3 y V4. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 20 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, del grado de cojera (VASC) evaluado por el veterinario en ambos protocolos.

FIG. 20: GRADO DE COJERA (VASC) EVALUADO POR EL VETERINARIO



Escala visual analógica de la cojera (VASC), expresada en media ± desviación estándar, evaluada durante la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0, V2, V3 y V4 de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la valoración del grado de cojera (**VASC**), al analizar estadísticamente ambos protocolos (A vs B) dentro de cada una de las visitas (V0, V2, V3 y V4) comprobamos que no existen diferencias significativas entre ellos. Cuando analizamos estadísticamente las diferentes visitas (V0 vs V2, V0 vs V3, V0 vs V4, V2 vs V3, V2 vs V4 y V3 vs V4) dentro de cada uno de los protocolos (A y B), encontramos que, en el protocolo A, existen diferencias significativas entre todas las visitas con excepción de V0 vs V2, y en el protocolo B hay diferencias significativas entre todas las visitas.

En la tabla 5 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, del grado de dolor (**VASD**) evaluado por el veterinario en ambos protocolos.

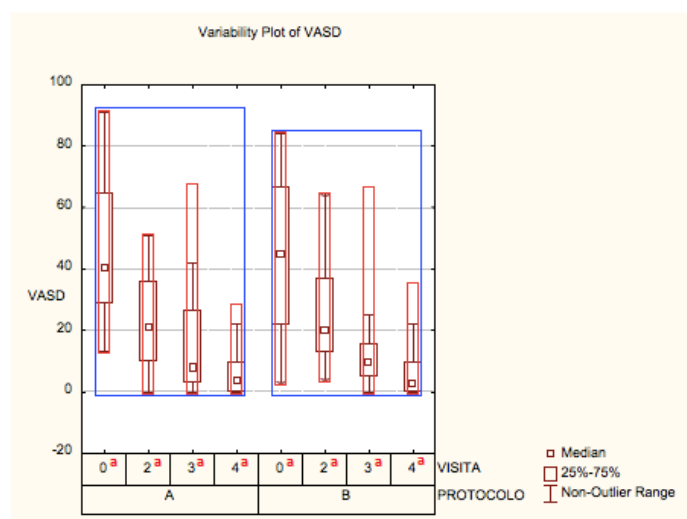
TABLA 5: GRADO DE DOLOR (VASD) EVALUADO POR EL VETERINARIO

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|-------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| PROTOCOLO | A ^a | B ^a | A ^a | B ^a | A ^a | B ^a | A ^a | B ^a |
| VASD | 45 ± 23 | 44 ± 24 | 25 ± 15 | 25 ± 17 | 16 ± 17 | 13 ± 14 | 6 ± 7 | 7 ± 9 |

Datos estadísticos (expresados en media ± desviación estándar) del grado de dolor (VASD) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0, V2, V3 y V4. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 21 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, del grado de dolor (VASD) evaluado por el veterinario en ambos protocolos.

FIG. 21: GRADO DE DOLOR (VASD) EVALUADO POR EL VETERINARIO



Escala visual analógica del dolor (VASD), expresada en media ± desviación estándar, evaluada durante la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0, V2, V3 y V4 de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

Con respecto a **VASD**, al analizar estadísticamente ambos protocolos dentro de cada una de las visitas, comprobamos que no existen diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, encontramos que existen diferencias significativas entre todas ellas en ambos protocolos.

4.1.1.2.- GRADO DE COJERA (VCOJ): EVALUACIÓN NO CONTÍNUA

En la tabla 6 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la cojera del animal (**VCOJ**), evaluada por el veterinario en los animales en ambos protocolos. La puntuación osciló desde 0 (animal sin cojera) hasta 4 (cojera sin apoyo).

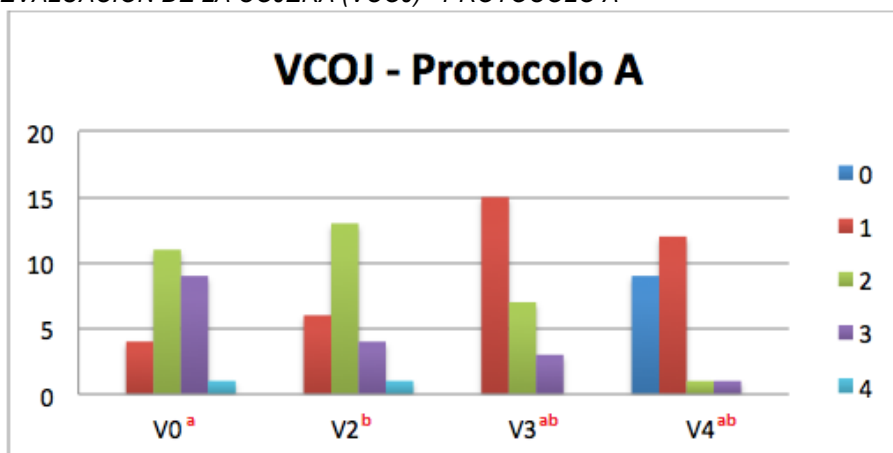
TABLA 6: GRADO DE COJERA (VCOJ) EVALUADA POR EL VETERINARIO

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| PROTOCOLO | A ^a | B ^a | A ^b | B ^b | A ^{ab} | B ^a | A ^{ab} | B ^{ab} |
| VALORACIÓN 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 0 | 2 | 9 | 11 |
| VALORACIÓN 1 | 4 | 4 | 6 | 6 | 15 | 10 | 12 | 6 |
| VALORACIÓN 2 | 11 | 12 | 13 | 12 | 7 | 9 | 1 | 3 |
| VALORACIÓN 3 | 9 | 5 | 4 | 3 | 3 | 0 | 1 | 0 |
| VALORACIÓN 4 | 1 | 2 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la evolución, a lo largo de las visitas V0 (en A n=25, en B n=23), V2 (en A n=24, en B n=23), V3 (en A n=25, en B n=22) y V4 (en A n=23, en B n=20), de la cojera del animal (VCOJ) puntuada de 0 a 4 por el veterinario en los animales de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 22 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la cojera del animal (VCOJ), evaluada por el veterinario en los animales del protocolo A. La puntuación osciló desde 0 (animal sin cojera) hasta 4 (cojera sin apoyo).

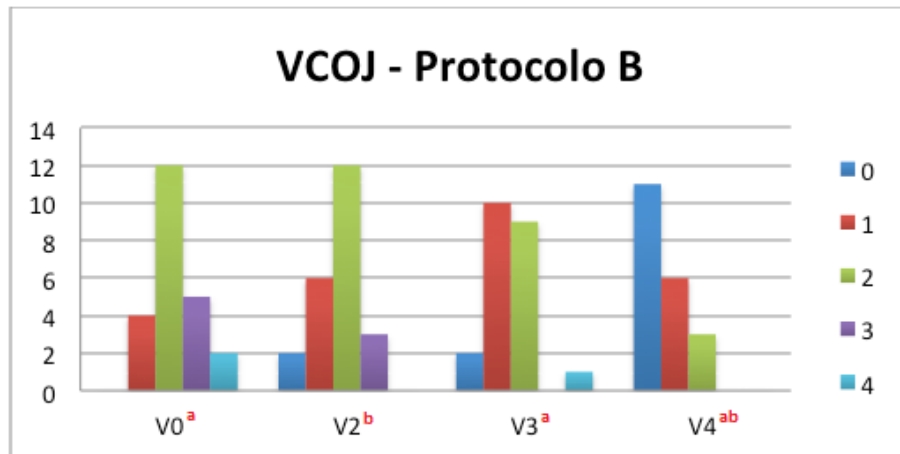
FIG. 22: EVALUACIÓN DE LA COJERA (VCOJ) - PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la cojera del animal (VCOJ) puntuada de 0 a 4 por el veterinario en los animales del protocolo A. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 23 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la cojera del animal (VCOJ), evaluada por el veterinario en los animales del protocolo B. La puntuación osciló desde 0 (animal sin cojera) hasta 4 (cojera sin apoyo).

FIG. 23: EVALUACIÓN DE LA COJERA (VCOJ) - PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la cojera del animal (VCOJ) puntuada de 0 a 4 por el veterinario en los animales del protocolo B. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

Al analizar estadísticamente ambos protocolos de la **VCOJ** dentro de cada una de las visitas, no existen diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada protocolo, observamos que en el protocolo A las diferencias son significativas en V0 vs V3, V0 vs V4, V2 vs V3, V2 vs V4 y V3 vs V4, mientras que en el protocolo B las diferencias son significativas en V0 vs V3, V0 vs V4, V2 vs V4 y V3 vs V4.

4.1.1.3.- EVALUACIÓN ORTOPÉDICA

4.1.1.3.1.- CAJÓN DIRECTO (CD)

En la tabla 7 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia del signo del cajón directo (**CD**) evaluado por el veterinario en ambos protocolos. La valoración se realizó en función de la presencia (si) o ausencia (no) de los síntomas.

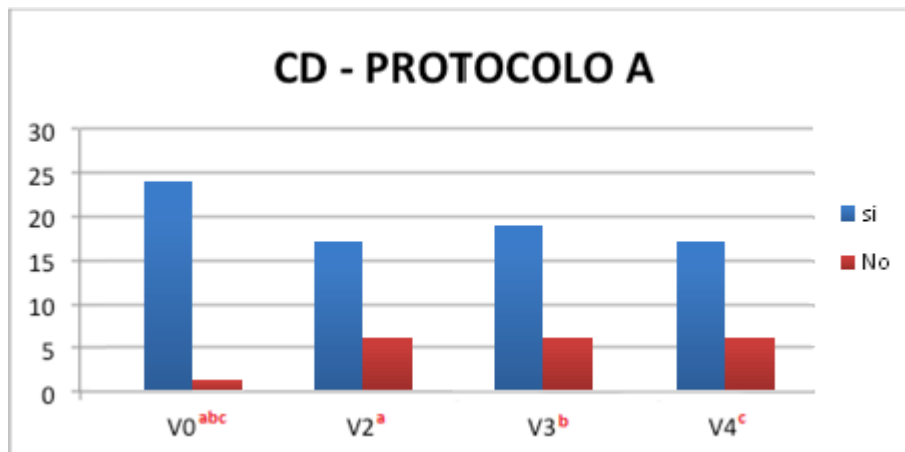
TABLA 7: PRUEBA DEL CAJÓN DIRECTO (CD)

| VISITA | | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|-----------|----|------------------|----|----------------|----|----------------|----|----------------|----|
| PROTOCOLO | | A ^{abc} | B | A ^a | B | A ^b | B | A ^c | B |
| CD | Si | 24 | 19 | 17 | 18 | 19 | 15 | 17 | 14 |
| | No | 1 | 2 | 6 | 5 | 6 | 7 | 6 | 3 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la presencia del signo del cajón directo (CD) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (en A n=25, en B n=21), V2 (en A n=23, en B n=23), V3 (en A n=25, en B n=22) y V4 (en A n=23, en B n=17) y en los animales de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 24 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia del signo del cajón directo (CD) evaluado por el veterinario en los animales del protocolo A.

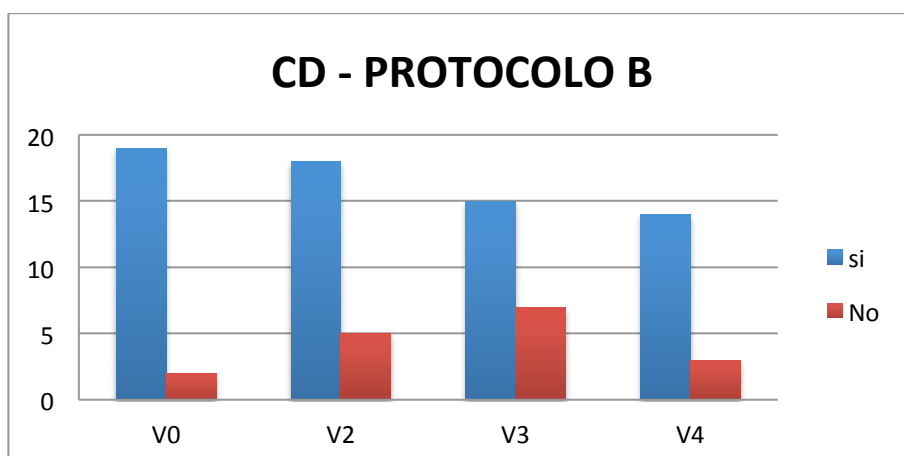
FIG. 24: EVALUACIÓN DEL CAJÓN DIRECTO (CD) - PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la presencia del signo del cajón directo (CD) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (n=25), V2 (n=23), V3 (n=25) y V4 (n=23) de los animales del protocolo A. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 25 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia del signo del cajón directo (CD) evaluado por el veterinario en los animales del protocolo B.

Fig. 25: EVALUACIÓN DEL CAJÓN DIRECTO (CD) - PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la presencia del signo del cajón directo (CD) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (n=19), V2 (n=18), V3 (n=15) y V4 (n=14) de los animales del protocolo B. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

Con respecto a **CD**, al analizar estadísticamente ambos protocolos dentro de cada una de las visitas comprobamos que no existen diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, encontramos que en el protocolo A existen diferencias significativas en V0 vs V2, V0 vs V3 y V0 vs V4, mientras que en el protocolo B no existen diferencias significativas entre ninguna de las visitas.

4.1.1.3.2.- CAJÓN INDIRECTO (CI)

En la tabla 8 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia del signo del cajón indirecto (**CI**) evaluado por el veterinario en ambos protocolos. La valoración se realizó en función de la presencia (si) o ausencia (no) de los síntomas.

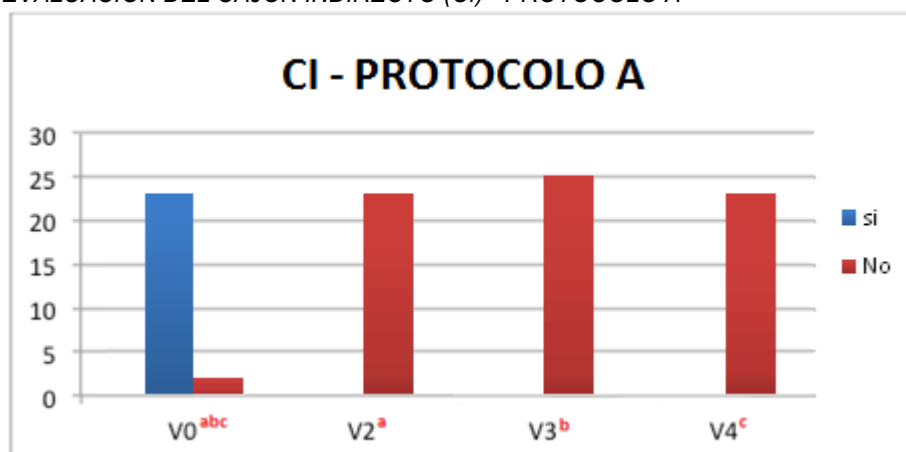
TABLA 8: PRUEBA DEL CAJÓN INDIRECTO (CI)

| VISITA | | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|-----------|----|------------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| PROTOCOLO | | A ^{abc} | B ^{abc} | A ^a | B ^a | A ^b | B ^b | A ^c | B ^c |
| CI | Si | 23 | 19 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| | No | 2 | 2 | 23 | 23 | 25 | 22 | 23 | 18 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la presencia del signo del cajón indirecto (CI) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (en A n=25, en B n=21), V2 (en A n=23, en B n=23), V3 (en A n=25, en B n=22) y V4 (en A n=23, en B n=18) y en los animales de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 26 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia del signo del cajón indirecto (CI) evaluado por el veterinario en los animales del protocolo A.

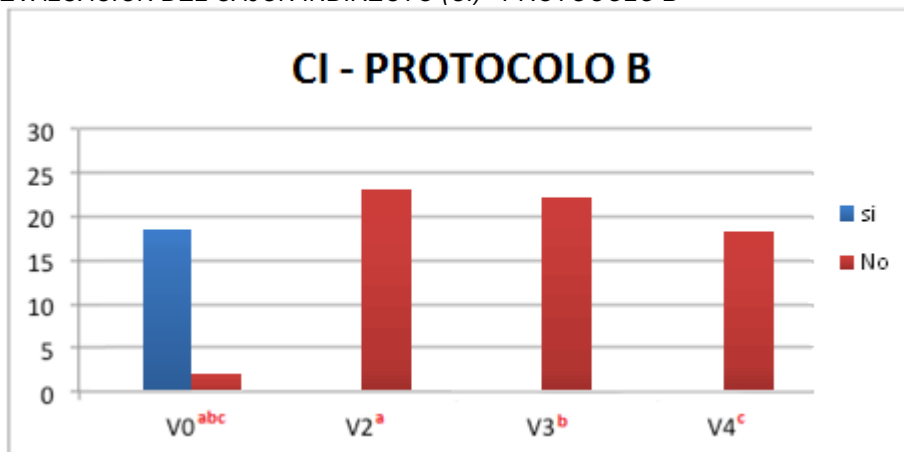
FIG. 26: EVALUACIÓN DEL CAJÓN INDIRECTO (CI) - PROTOCOLO A



Datos estadísticos con resultado positivo (expresados en número de individuos) de la presencia del signo del cajón indirecto (CI) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (n=25), V2 (n=23), V3 (n=25) y V4 (n=23) del los animales del protocolo A. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 27 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia del signo del cajón indirecto (CI) evaluado por el veterinario en los animales del protocolo B.

FIG. 27: EVALUACIÓN DEL CAJÓN INDIRECTO (CI) - PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la presencia del signo del cajón indirecto (CI) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (n=21), V2 (n=23), V3 (n=22) y V4 (n=18) de los animales del protocolo B. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En el caso de **CI**, al analizar estadísticamente ambos protocolos dentro de cada una de las visitas comprobamos que no existen diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, encontramos que en ambos protocolos hay diferencias significativas entre V0 vs V2, V0 vs V3 y V0 vs V4, pero no en las restantes.

4.1.1.3.3.- DOLOR A LA HIPEREXTENSIÓN (DH)

En la tabla 9 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, del dolor a la hiperextensión (DH) evaluado por el veterinario en ambos protocolos. La valoración se realizó en función de la presencia (si) o ausencia (no) de los síntomas.

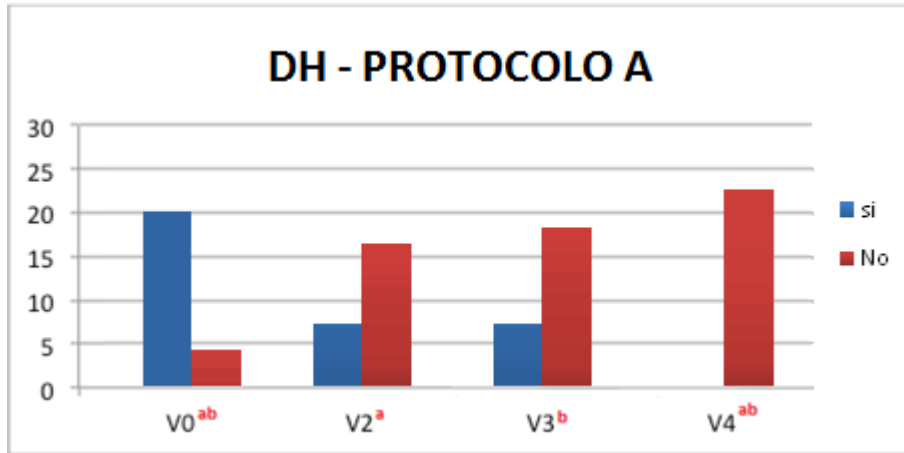
TABLA 9: PRUEBA DEL DOLOR A LA HIPEREXTENSIÓN (DH)

| VISITA | | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|-----------|----|-----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| PROTOCOLO | | A ^{ab} | B ^{ab} | A ^a | B ^a | A ^b | B ^b | A ^{ab} | B ^a |
| DH | Si | 20 | 20 | 7 | 7 | 7 | 5 | 0 | 1 |
| | No | 4 | 2 | 16 | 16 | 18 | 17 | 23 | 19 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la presencia de dolor a la hiperextensión (DH) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (en A n=24, en B n=22), V2 (en A n=23, en B n=23), V3 (en A n=25, en B n=22) y V4 (en A n=23, en B n=20) y en los animales de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 28 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia de dolor a la hiperextensión (DH) evaluado por el veterinario en los animales del protocolo A.

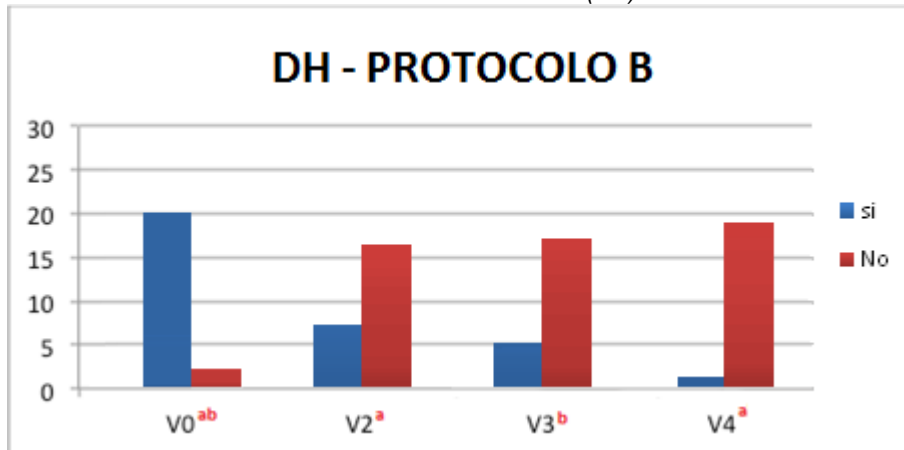
FIG. 28: EVALUACIÓN DEL DOLOR A LA HIPEREXTENSIÓN (DH) - PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la presencia de dolor a la hiperextensión (DH) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (n=24), V2 (n=23), V3 (n=25) y V4 (n=23) del los animales del protocolo A. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 29 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia de dolor a la hiperextensión (DH) evaluado por el veterinario en los animales del protocolo B.

FIG. 29: EVALUACIÓN DEL DOLOR A LA HIPEREXTENSIÓN (DH) - PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la presencia de dolor a la hiperextensión (DH) evaluado en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (n=22), V2 (n=23), V3 (n=22) y V4 (n=20) del los animales del protocolo B. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

El estudio estadístico de ambos protocolos del **DH** dentro de cada una de las visitas no evidenció diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, observamos que en el protocolo A hay diferencias significativas en V0 vs V2, V0 vs V3, V0 vs V4, V2 vs V4 y V3 vs V4, mientras que en el protocolo B, las diferencias eran significativas en V0 vs V2, V0 vs V3, V0 vs V4 y V2 vs V4.

4.1.1.3.4.- EFUSIÓN SINOVIAL (ESV)

En la tabla 10 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia de efusión sinovial (**ESV**) evaluada por el veterinario en ambos protocolos. La valoración se realizó en función de la presencia (si) o ausencia (no) de los síntomas

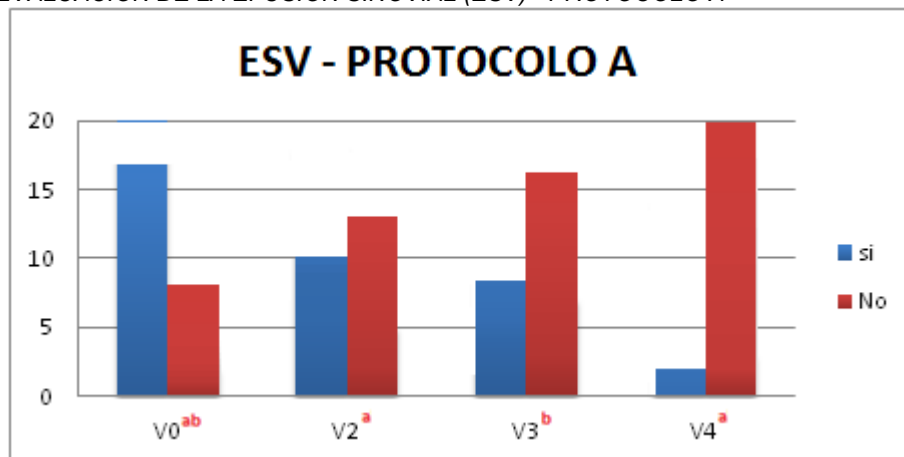
TABLA 10: EVALUACIÓN DE LA EFUSIÓN SINOVIAL (ESV)

| VISITA | | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|-----------|----|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|
| PROTOCOLO | | A ^{ab} | B ^a | A ^a | B ^b | A ^b | B ^a | A ^a | B ^{ab} |
| ESV | Si | 17 | 14 | 10 | 9 | 8 | 5 | 2 | 0 |
| | No | 8 | 8 | 13 | 14 | 16 | 17 | 20 | 19 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la presencia de efusión sinovial (ESV) evaluada en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (en A n=25, en B n=22), V2 (en A n=23, en B n=23), V3 (en A n=24, en B n=22) y V4 (en A n=22, en B n=19) y en los animales de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 30 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia de efusión sinovial (ESV) evaluada por el veterinario en los animales del protocolo A.

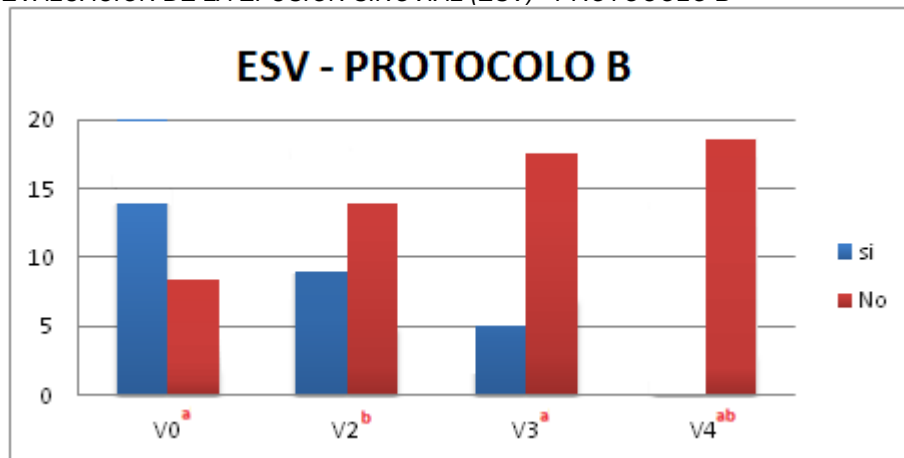
Fig. 30: EVALUACIÓN DE LA EFUSIÓN SINOVIAL (ESV) - PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la presencia de efusión sinovial (ESV) evaluada en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (n=25), V2 (n=23), V3 (n=24) y V4 (n=22) de los animales del protocolo A. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 31 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la presencia de efusión sinovial (ESV) evaluada por el veterinario en los animales del protocolo B.

FIG. 31: EVALUACIÓN DE LA EFUSIÓN SINOVIAL (ESV) - PROTOCOLO B



Datos estadísticos con (expresados en número de individuos) de la presencia de efusión sinovial (ESV) evaluada en la exploración clínica por parte del veterinario en las visitas V0 (n=22), V2 (n=23), V3 (n=22) y V4 (n=19) del los animales del protocolo B. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

Al analizar estadísticamente ambos protocolos de la **ESV** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, observamos que en el protocolo A, las diferencias son significativas en V0 vs V2, V0 vs V3, V0 vs V4 y V2 vs V4, mientras que en el protocolo B, las diferencias significativas lo son en V0 vs V3, V0 vs V4, V2 vs V4 y V3 vs V4.

4.1.2.- IMPRESIÓN DEL PROPIETARIO

4.1.2.1.- EVALUACIÓN GENERAL DEL ANIMAL (EVAP)

En la tabla 11 se detalla la progresión, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la evolución general del animal en milímetros (**EVAP**) evaluada por el propietario en los animales de ambos protocolos.

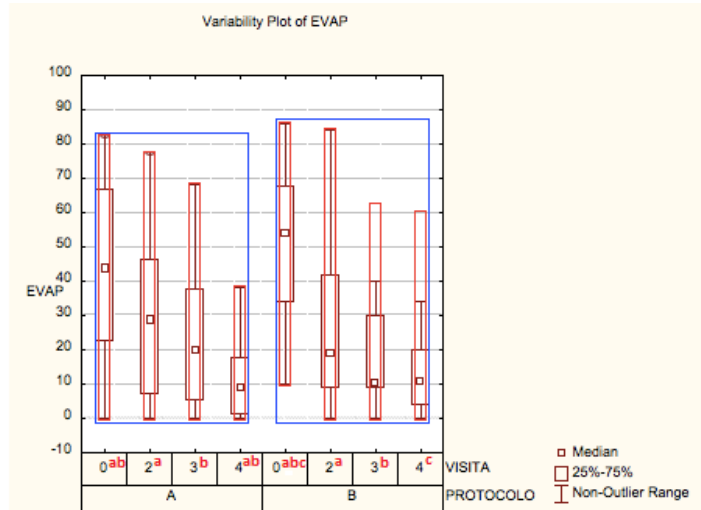
TABLA 11: EVALUACIÓN GENERAL DEL ANIMAL (EVAP) POR PARTE DEL PROPIETARIO

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------|-----------------|------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|
| | A ^{ab} | B ^{abc} | A ^a | B ^a | A ^b | B ^b | A ^{ab} | B ^c |
| EVAP | 44 ± 27 | 53 ± 21 | 29 ± 23 | 26 ± 22 | 25 ± 21 | 18 ± 17 | 10 ± 10 | 16 ± 15 |

Datos estadísticos en milímetros (expresados en media ± desviación estándar) de la evolución general del animal evaluada por el propietario (EVAP) correspondiente a las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 32 se detalla la progresión, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la evolución general del animal (EVAP) evaluada por el propietario en los animales de ambos protocolos.

FIG. 32: EVALUACIÓN DE LA EVOLUCIÓN DEL ANIMAL POR PARTE DEL PROPIETARIO (EVAP)



Evolución general del animal evaluada por el propietario (EVAP) en milímetros, expresada en media \pm desviación estándar, durante las visitas V0, V2, V3 y V4 de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

Al analizar estadísticamente ambos protocolos de la **EVAP** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Cuando analizamos estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada protocolo, observamos que en el protocolo A, las diferencias son significativas en V0 vs V2, V0 vs V3, V0 vs V4, V2 vs V4 y V3 vs V4, mientras que en el protocolo B, lo son en V0 vs V2, V0 vs V3 y V0 vs V4.

4.1.2.2.- EVOLUCIÓN DE LA COJERA (EPCOJ)

En la tabla 12 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la cojera (**EPCOJ**) evaluada por el propietario en los animales de ambos protocolos.

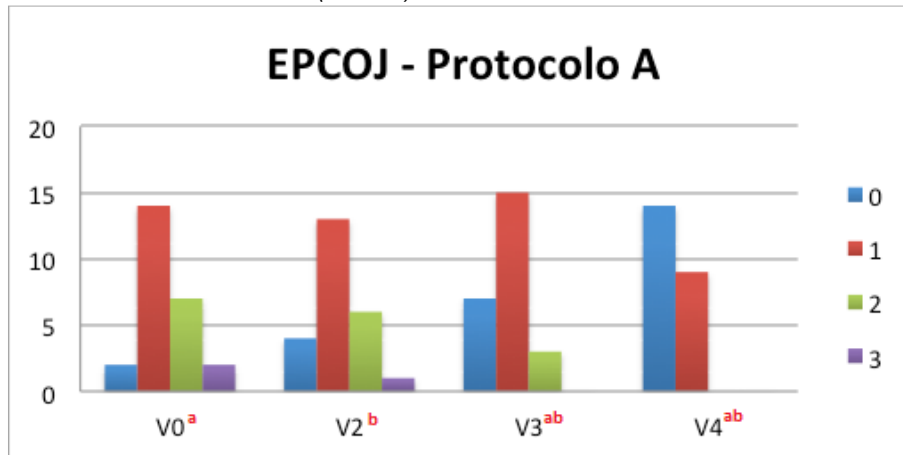
TABLA 12: EVALUACIÓN DE LA COJERA (EPCOJ) POR PARTE DEL PROPIETARIO

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------------|----------------|-----------------|----------------|----------------|-----------------|----------------|-----------------|----------------|
| PROTOCOLO | A ^a | B ^{ab} | A ^b | B ^a | A ^{ab} | B ^b | A ^{ab} | B ^a |
| VALORACIÓN 0 | 2 | 0 | 4 | 3 | 7 | 4 | 14 | 7 |
| VALORACIÓN 1 | 14 | 10 | 13 | 15 | 15 | 15 | 9 | 10 |
| VALORACIÓN 2 | 7 | 10 | 6 | 4 | 3 | 2 | 0 | 2 |
| VALORACIÓN 3 | 2 | 2 | 1 | 1 | 0 | 1 | 0 | 0 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la evolución de la cojera (EPCOJ) evaluada por parte del propietario en las visitas V0 (en A n=25, en B n=22), V2 (en A n=24, en B n=23), V3 (en A n=25, en B n=22) y V4 (en A n=23, en B n=19) en los animales de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 33 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la cojera (EPCOJ) evaluada por el propietario en los animales del protocolo A.

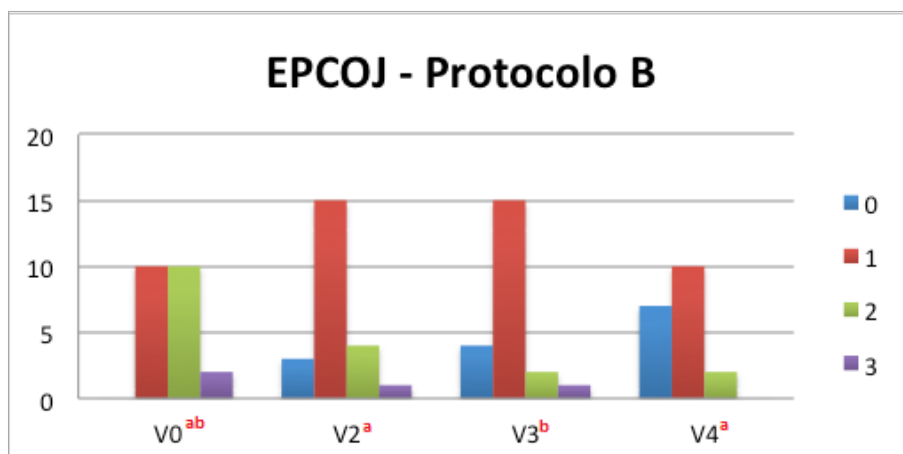
FIG. 33: EVOLUCIÓN DE LA COJERA (EPCOJ) - PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la evolución de la cojera (EPCOJ) evaluada por el propietario en las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 34 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la cojera (EPCOJ) evaluada por el propietario en los animales del protocolo B.

FIG. 34: EVOLUCIÓN DE LA COJERA (EPCOJ) - PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la evolución de la cojera (EPCOJ) evaluada por el propietario en las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo B. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

Al analizar estadísticamente ambos protocolos de la **EPCOJ** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Cuando analizamos estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, observamos que en el protocolo A las diferencias son significativas en V0 vs V3, V0 vs V4, V2 vs V3, V2 vs V4 y V3 vs V4, mientras que en el protocolo B, las diferencias significativas lo son en V0 vs V2, V0 vs V3, V0 vs V4 y V2 vs V4.

4.1.2.3.- DIFICULTAD PARA LEVANTARSE DESDE SENTADO (EPLEV)

En la tabla 13 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de facilidad del animal para levantarse (**EPLEV**) evaluada por el propietario en los animales de ambos protocolos.

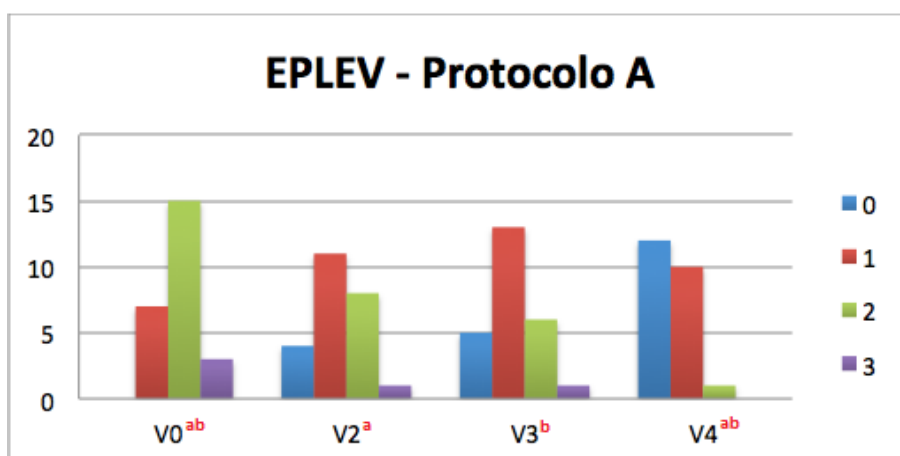
TABLA 13: EVALUACIÓN DE LA FACILIDAD PARA LEVANTARSE (EPLEV)

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------------|-----------------|-----------------|----------------|----------------|----------------|----------------|-----------------|-----------------|
| PROTOCOLO | A ^{ab} | B ^{ab} | A ^a | B ^a | A ^b | B ^b | A ^{ab} | B ^{ab} |
| VALORACIÓN 0 | 0 | 0 | 4 | 3 | 5 | 5 | 12 | 8 |
| VALORACIÓN 1 | 7 | 5 | 11 | 10 | 13 | 9 | 10 | 8 |
| VALORACIÓN 2 | 15 | 14 | 8 | 9 | 6 | 8 | 1 | 3 |
| VALORACIÓN 3 | 3 | 3 | 1 | 1 | 1 | 0 | 0 | 0 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la facilidad para levantarse (EPLEV) evaluada en la exploración clínica por parte del propietario en las visitas V0 (en A n=25, en B n=22), V2 (en A n=24, en B n=23), V3 (en A n=25, en B n=23) y V4 (en A n=23, en B n=19) en los animales de ambos protocolos (EPCOJ). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 35 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de facilidad del animal para levantarse (EPLEV) evaluada por el propietario en los animales del protocolo A.

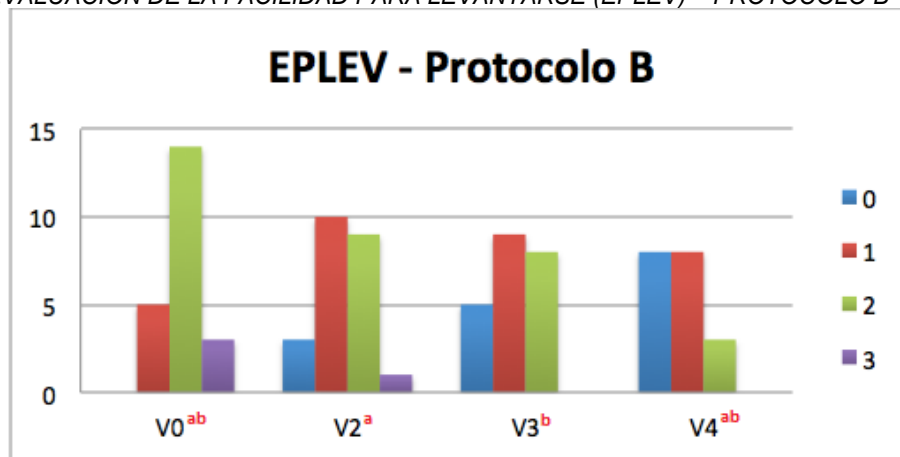
FIG. 35: EVALUACIÓN DE LA FACILIDAD PARA LEVANTARSE (EPLEV) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la evolución clínica de la facilidad del animal para levantarse (EPLEV) evaluada por el propietario en las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 36 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la facilidad del animal para levantarse (EPLEV) evaluada por el propietario en los animales del protocolo B.

FIG. 36: EVALUACIÓN DE LA FACILIDAD PARA LEVANTARSE (EPLEV) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la evolución clínica de la facilidad del animal para levantarse (EPLEV) evaluada por el propietario en las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

Al analizar estadísticamente ambos protocolos de la **EPLEV** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Cuando analizamos estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, observamos que en ambos protocolos las diferencias son significativas en V0 vs V2, V0 vs V3, V0 vs V4, V2 vs V4 y V3 vs V4.

4.2.- HALLAZGOS INTRAQUIRÚRGICOS

4.2.1.- LESIONES MENISCALES

En la tabla 14 se detallan las lesiones meniscales encontradas durante el procedimiento quirúrgico (**MML**: lesión en el menisco medial y **MLL**: lesión en el menisco lateral) correspondiente a los animales de ambos protocolos.

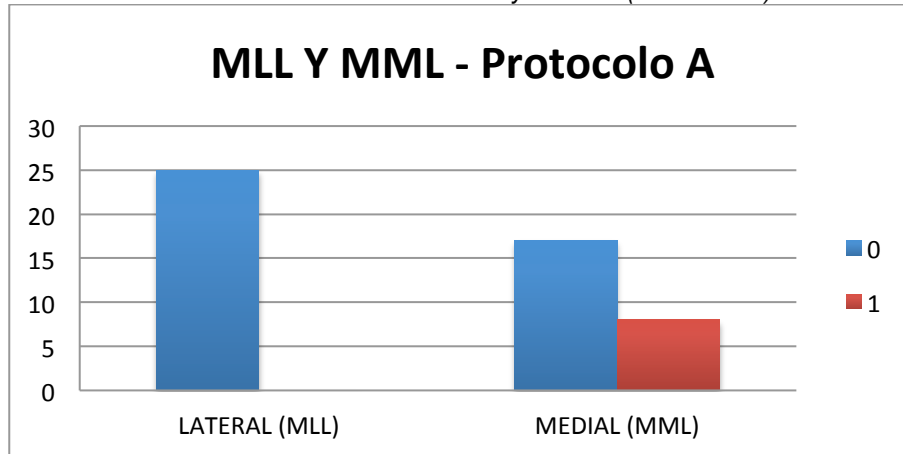
TABLA 14: PRESENCIA DE LESIONES MENISCALES LATERALES Y MEDIALES (MLL Y MML)

| MENISCO | LATERAL (MLL) | | MEDIAL (MML) | |
|--------------|---------------|----|--------------|----|
| | A | B | A | B |
| PROTOCOLO | | | | |
| VALORACIÓN 0 | 25 | 21 | 17 | 14 |
| VALORACIÓN 1 | 0 | 2 | 8 | 9 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de las lesiones meniscales lateral (MLL) y medial (MML) observadas intraquirúrgicamente (0: ausencia de lesión; 1: presencia de lesión meniscal) en los animales de ambos protocolos.

En la figura 37 se detalla, en la V1, la presencia de lesión meniscal (en el menisco lateral y en el menisco medial) correspondiente a los animales del protocolo A.

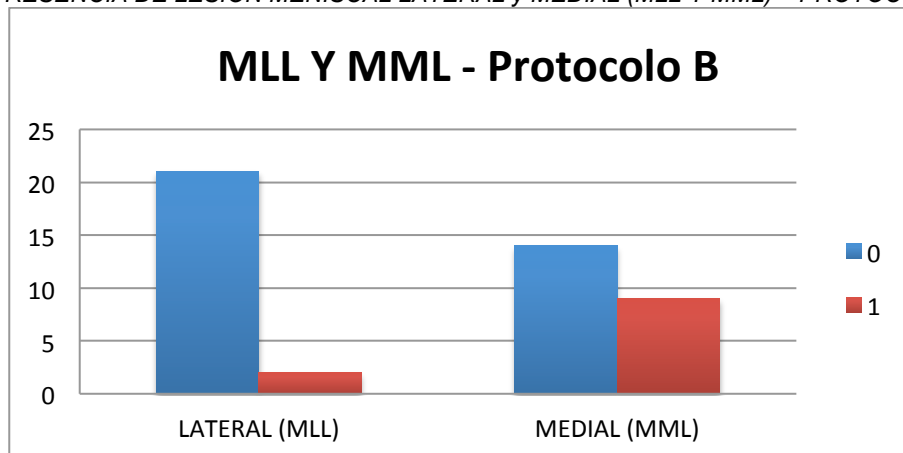
FIG. 37: PRESENCIA DE LESIÓN MENISCAL LATERAL y MEDIAL (MLL Y MML) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de las lesiones meniscales lateral y medial observadas intraquirúrgicamente en los animales del protocolo A.

En la figura 38 se detalla, en la V1, la presencia de lesión meniscal (en el menisco lateral y en el menisco medial) correspondiente a los animales del protocolo B.

FIG. 38: PRESENCIA DE LESION MENISCAL LATERAL y MEDIAL (MLL Y MML) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de las lesiones meniscales lateral y medial observadas intraquirúrgicamente en los animales del protocolo B.

Al analizar estadísticamente las lesiones en el menisco lateral (**MLL**) y medial (**MML**) en ambos protocolos, no se apreciaron diferencias significativas entre ellos.

4.2.2.- MENISCECTOMÍAS

En la tabla 15 se detallan las meniscectomías laterales (**MQL**) y mediales (**MQM**) realizadas durante los procedimientos quirúrgicos (0: no meniscectomía; 1: meniscectomía parcial; 2: meniscectomía total) correspondientes a los animales de ambos protocolos.

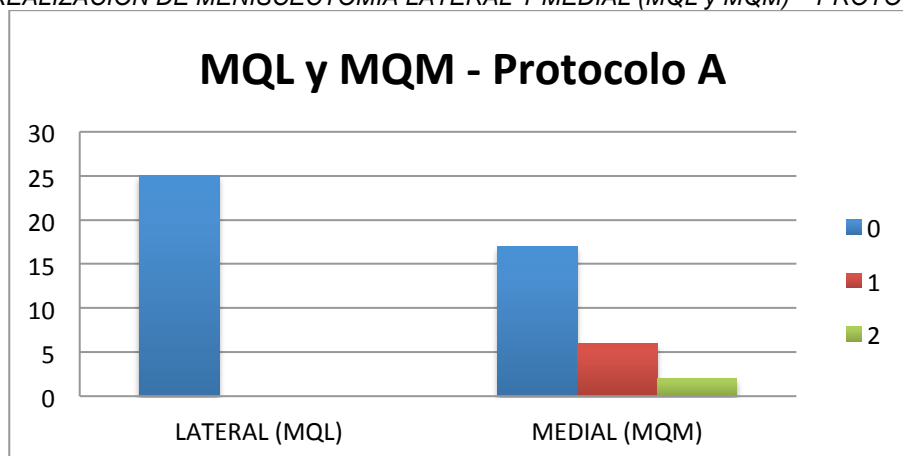
TABLA 15: REALIZACIÓN DE MENISCECTOMÍA LATERAL Y MEDIAL (MQL Y MQM)

| MENISCECTOMÍA | LATERAL (MQL) | | MEDIAL (MQM) | |
|---------------|---------------|----|--------------|----|
| | A | B | A | B |
| VALORACIÓN 0 | 25 | 22 | 17 | 14 |
| VALORACIÓN 1 | 0 | 0 | 6 | 7 |
| VALORACIÓN 2 | 0 | 1 | 2 | 2 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de las meniscectomías lateral (MQL) y medial (MQM) realizadas durante los procedimientos quirúrgicos (0: no meniscectomía; 1: meniscectomía parcial; 2: meniscectomía total) correspondientes a los animales de ambos protocolos.

En la figura 39 se detallan las meniscectomías laterales y mediales realizadas durante el procedimiento quirúrgico (0: no meniscectomía; 1: meniscectomía parcial; 2: meniscectomía total) en los animales del protocolo A.

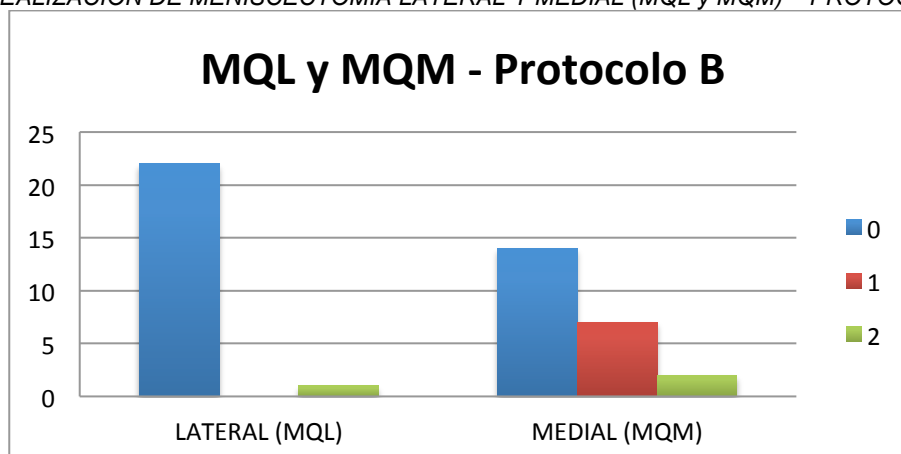
FIG. 39: REALIZACIÓN DE MENISCECTOMÍA LATERAL Y MEDIAL (MQL y MQM) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de las meniscectomías realizadas durante los procedimientos quirúrgicos (0: no meniscectomía; 1: meniscectomía parcial; 2: meniscectomía total) correspondientes a los animales del protocolo A.

En la figura 40 se detallan las meniscectomías laterales y mediales realizadas durante el procedimiento quirúrgico (0: no meniscectomía; 1: meniscectomía parcial; 2: meniscectomía total) en los animales del protocolo B.

Fig. 40: REALIZACIÓN DE MENISCECTOMÍA LATERAL Y MEDIAL (MQL y MQM) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de las meniscectomías realizadas durante los procedimientos quirúrgicos (0: no meniscectomía; 1: meniscectomía parcial; 2: meniscectomía total) correspondientes a los animales del protocolo B.

Al analizar estadísticamente las meniscectomías, totales o parciales, en el menisco lateral (**MQL**) y medial (**MQM**) en ambos protocolos, no se apreciaron diferencias significativas entre ellos.

4.3.- ECOGRAFÍA DE LA RODILLA

4.3.1.- IRREGULARIDAD DE LA SUPERFICIE ROTULIANA (ROT)

En la tabla 16 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la irregularidad de la superficie rotuliana (**ROT**). La puntuación oscila de 0 (superficie normal y sin irregularidades) hasta 3 (superficie con severos signos de degeneración).

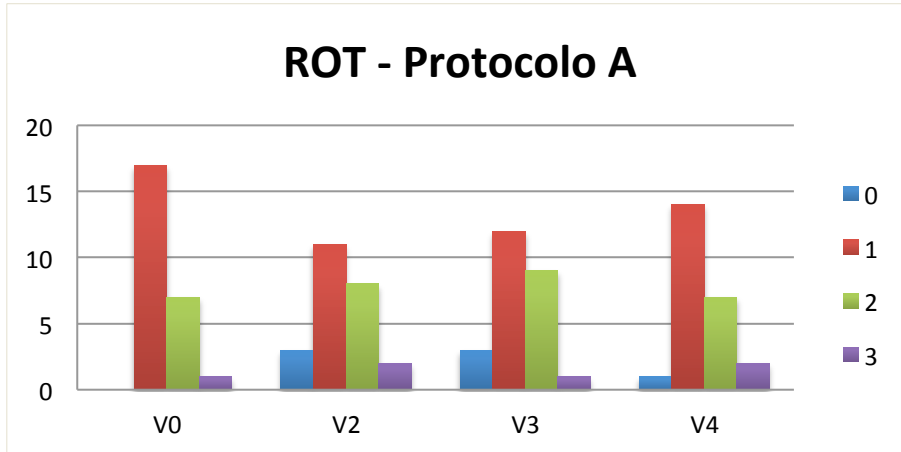
TABLA 16: EVALUACIÓN DE LA IRREGULARIDAD DE LA SUPERFICIE ROTULIANA (ROT)

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------------|----|-----------------|----|----------------|----|----|----|----------------|
| | A | B ^{ab} | A | B ^a | A | B | A | B ^b |
| VALORACIÓN 0 | 0 | 5 | 3 | 2 | 3 | 1 | 1 | 1 |
| VALORACIÓN 1 | 17 | 12 | 11 | 10 | 12 | 13 | 14 | 10 |
| VALORACIÓN 2 | 7 | 6 | 8 | 9 | 9 | 7 | 7 | 9 |
| VALORACIÓN 3 | 1 | 0 | 2 | 2 | 1 | 1 | 2 | 0 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la irregularidad de la superficie rotuliana (ROT) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0 (en A n=25, en B n=23), V2 (en A n=24, en B n=23), V3 (en A n=25, en B n=22) y V4 (en A n=24, en B n=20) en los animales de ambos protocolos. La puntuación oscila desde 0 (superficie normal y sin irregularidades) hasta 3 (superficie con severos signos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 41 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la irregularidad de la superficie rotuliana (ROT) en los animales del protocolo A. La puntuación oscila de 0 (superficie normal y sin irregularidades) hasta 3 (superficie con severos signos de degeneración).

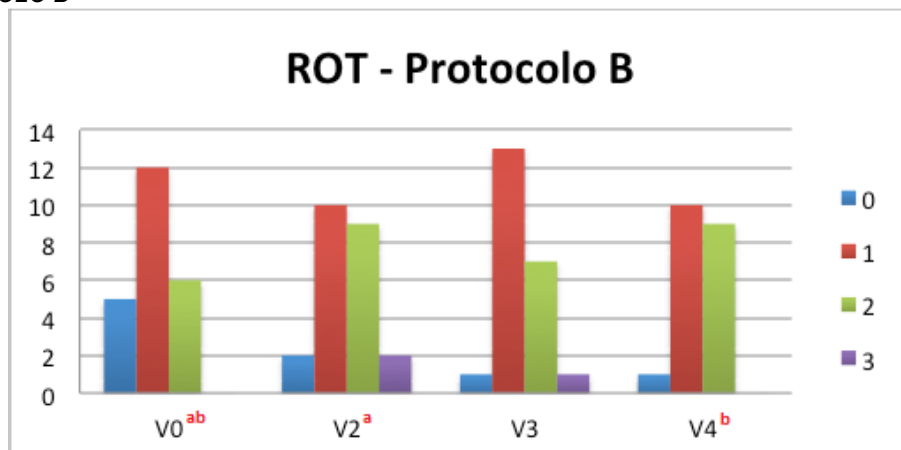
FIG. 41: EVALUACIÓN DE LA IRREGULARIDAD DE LA SUPERFICIE ROTULIANA (ROT) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la irregularidad de la superficie rotuliana (ROT) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. La puntuación oscila desde 0 (superficie normal y sin irregularidades) hasta 3 (superficie con severos signos de degeneración).

En la figura 42 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la irregularidad de la superficie rotuliana (ROT) en los animales del protocolo B. La puntuación oscila de 0 (superficie normal y sin irregularidades) hasta 3 (superficie con severos signos de degeneración).

FIG. 42: EVALUACIÓN DE LA IRREGULARIDAD DE LA SUPERFICIE ROTULIANA (ROT) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la irregularidad de la superficie rotuliana (ROT) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo B. La puntuación oscila desde 0 (superficie normal y sin irregularidades) hasta 3 (superficie con severos signos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **ROT** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. De la misma manera, al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, no encontramos diferencias significativas entre visitas en el grupo A, mientras que en el B hay diferencias significativas en V0 vs V2 y V0 vs V4.

4.3.2.- TENDÓN DEL MÚSCULO FEMORAL

4.3.2.1.- DIMENSIÓN (TC)

En la tabla 17 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del tendón del músculo cuádriceps femoral (**TC**), medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

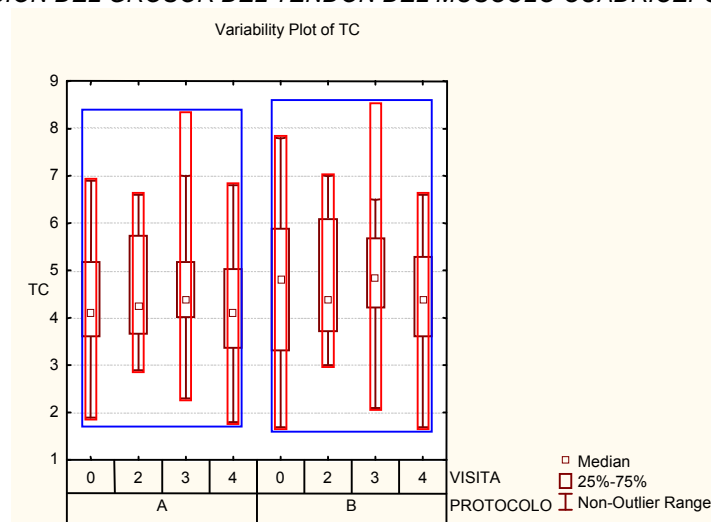
TABLA 17: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL TENDÓN DEL MUSCULO CUÁDRICEPS FEMORAL (TC)

| VISITA | V0 | V2 | V3 | V4 |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| PROTOCOLO A | 4,4 \pm 1,3 | 4,6 \pm 1,2 | 4,6 \pm 1,4 | 4,3 \pm 1,3 |
| PROTOCOLO B | 4,7 \pm 1,6 | 4,8 \pm 1,3 | 5,0 \pm 1,3 | 4,6 \pm 1,3 |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del tendón del músculo cuádriceps femoral (TC) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Datos expresados en milímetros.

En la figura 43 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del tendón del músculo cuádriceps femoral (TC), medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

FIG. 43: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL TENDÓN DEL MÚSCULO CUÁDRICEPS FEMORAL (TC)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del tendón del músculo cuádriceps femoral (TC), medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

Al analizar estadísticamente ambos protocolos del **TC** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Cuando analizamos estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, observamos que no existen diferencias significativas entre visitas en ninguno de los protocolos.

4.3.2.2.- TEXTURA (TCH)

En la tabla 18 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del tendón del músculo cuádriceps femoral (**TCH**). La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

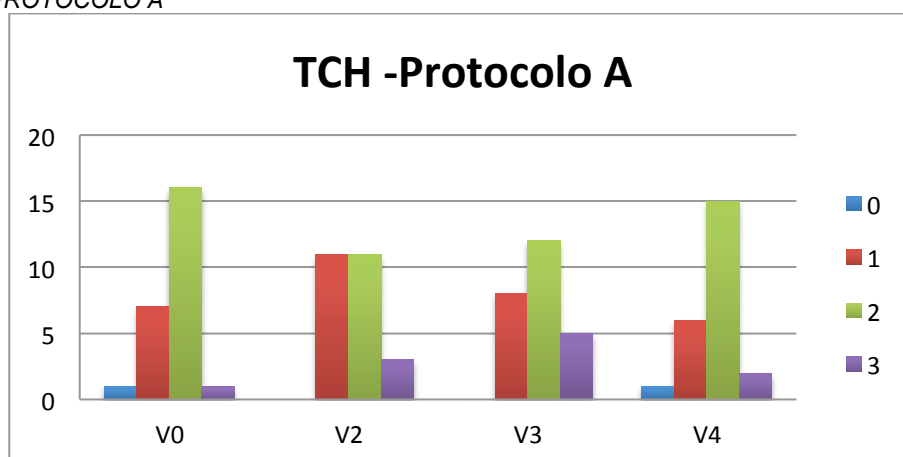
TABLA 18. EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL TENDÓN DEL MÚSCULO CUÁDRICEPS FEMORAL (TCH)

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------------|----|----|----|----|----|----|----|----|
| PROTOCOLO | A | B | A | B | A | B | A | B |
| VALORACIÓN 0 | 1 | 1 | 0 | 3 | 0 | 1 | 1 | 3 |
| VALORACIÓN 1 | 7 | 10 | 11 | 7 | 8 | 9 | 6 | 6 |
| VALORACIÓN 2 | 16 | 11 | 11 | 11 | 12 | 12 | 15 | 11 |
| VALORACIÓN 3 | 1 | 1 | 3 | 2 | 5 | 0 | 2 | 0 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del tendón del músculo cuádriceps femoral (TCH) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0 (en A n=25, en B n=23), V2 (en A n=25, en B n=23), V3 (en A n=25, en B n=22) y V4 (en A n=24, en B n=20) en los animales de ambos protocolos. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración).

En la figura 44 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del tendón del músculo cuádriceps femoral (TCH) en los animales del protocolo A. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

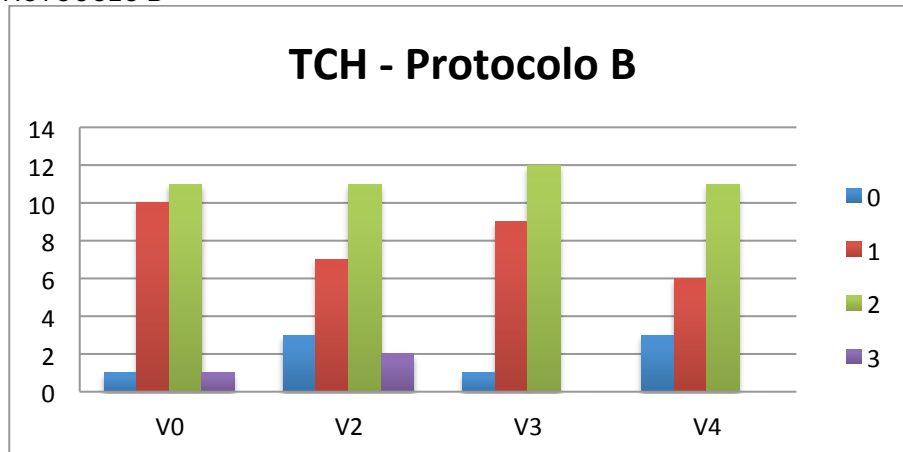
FIG. 44: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL TENDÓN DEL MÚSCULO CUÁDRICEPS FEMORAL (TCH) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del tendón del músculo cuádriceps femoral (TCH) evaluada en exploración ecográfica de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración).

En la figura 45 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del tendón del músculo cuádriceps femoral (TCH) en los animales del protocolo B. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

FIG. 45: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL TENDÓN DEL MÚSCULO CUÁDRICEPS FEMORAL (TCH) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del tendón del músculo cuádriceps femoral (TCH) evaluada en exploración ecográfica de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo B. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración).

En el análisis estadístico de ambos protocolos del **TCH** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. De la misma manera, al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco se encuentran diferencias significativas entre visitas en ninguno de los protocolos.

4.3.3.- DISTENSIÓN CAPSULAR

4.3.3.1.- RECESO SINOVIAL SUPRARROTULIANO (RSS)

En la tabla 19 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al diámetro en milímetros del receso sinovial suprarrotuliano (**RSS**), medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

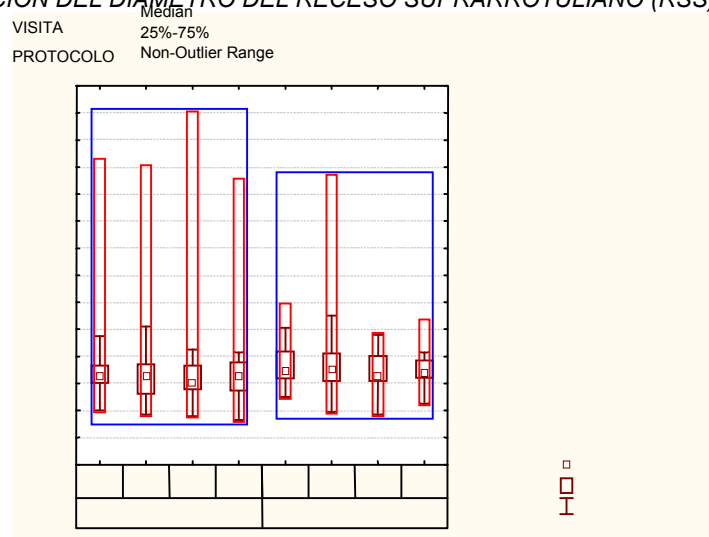
TABLA 19: EVALUACIÓN DEL DIÁMETRO DEL RECESO SINOVIAL SUPRARROTULIANO (RSS)

| VISITA | V0 | V2 | V3 | V4 |
|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| PROTOCOLO A | 5,5 \pm 3,6 | 5,2 \pm 3,6 | 5,3 \pm 4,3 | 5,0 \pm 3,3 |
| PROTOCOLO B | 5,4 \pm 1,7 | 5,8 \pm 3,6 | 5,0 \pm 1,5 | 5,1 \pm 1,4 |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al diámetro en milímetros del receso sinovial suprarrotuliano (RSS) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Datos expresados en milímetros.

En la figura 46 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al diámetro en milímetros del receso sinovial suprarrotuliano (RSS), medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

FIG. 46: EVALUACIÓN DEL DIÁMETRO DEL RECESO SUPRARROTULIANO (RSS)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al diámetro en milímetros del receso sinovial suprarrotuliano (RSS), medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

Al analizar estadísticamente ambos protocolos del **RSS** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Cuando analizamos estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, observamos que no existen diferencias significativas entre visitas en ninguno de los protocolos.

4.3.3.2.- DISTENSIÓN CAPSULAR INFRARROTULIANA (DCI)

En la tabla 20 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al diámetro en milímetros de la distensión capsular infrarrotuliana (DCI), medida en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

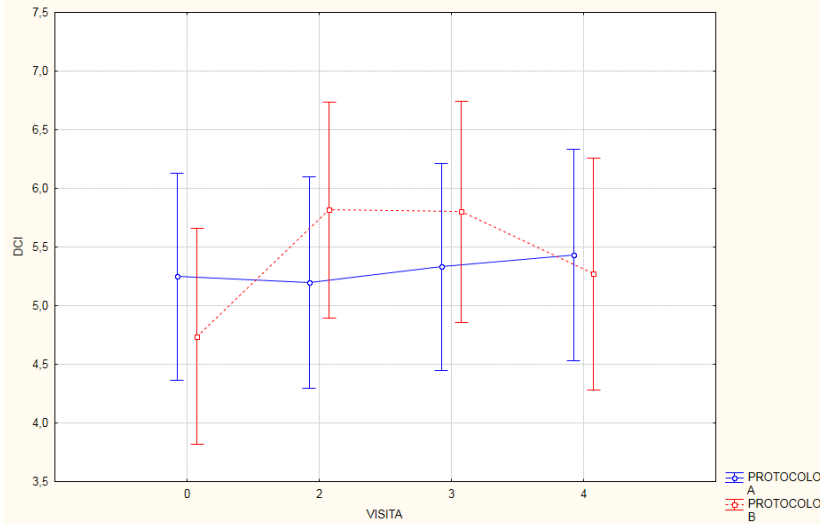
TABLA 20: EVOLUCIÓN DEL DIÁMETRO DE LA DISTENSIÓN CAPSULAR INFRARROTULIANA (DCI)

| VISITA | V0 | V2 | V3 | V4 |
|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| PROTOCOLO A | 5,2 \pm 2,0 | 5,2 \pm 2,1 | 5,3 \pm 2,4 | 5,4 \pm 2,2 |
| PROTOCOLO B | 4,7 \pm 1,5 | 5,8 \pm 2,8 | 5,8 \pm 2,5 | 5,3 \pm 2,1 |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al diámetro en milímetros de la distensión capsular infrarrotuliana (DCI) medida en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

En la figura 47 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al diámetro en milímetros de la distensión capsular infrarrotuliana (DCI), medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

FIG. 47: EVALUACIÓN DEL DIÁMETRO DE LA DISTENSIÓN INFRARROTULIANA (DCI)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al diámetro en milímetros de la distensión capsular infrarrotuliana (DCI) medida en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **DCI** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Cuando analizamos estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, observamos que no existen diferencias significativas entre visitas en ninguno de los protocolos.

4.3.4.- LIGAMENTO ROTULIANO

4.3.4.1.- GROSOR EN ORIGEN (LRO), CENTRAL (LRC), INSERCIÓN TIBIAL (LRI)

En la tabla 21 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del origen del ligamento rotuliano (**LRO**) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

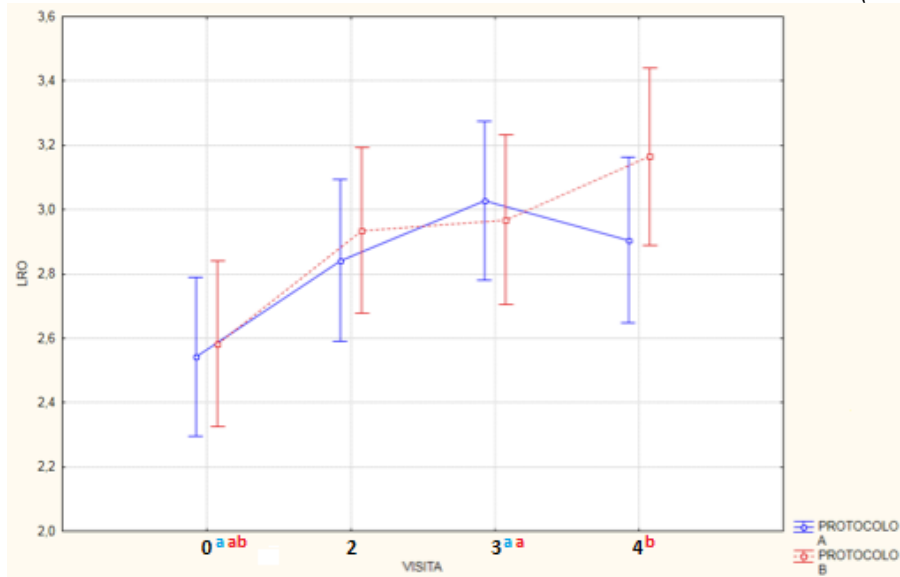
TABLA 21: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL LIGAMENTO ROTULIANO EN EL ORIGEN (LRO)

| VISITA | V0 | V2 | V3 | V4 |
|-------------|-----------------------------|---------------|----------------------------|----------------------------|
| PROTOCOLO A | 2,5 \pm 0,7 ^a | 2,8 \pm 0,4 | 3,0 \pm 0,7 ^a | 2,9 \pm 0,6 |
| PROTOCOLO B | 2,6 \pm 0,7 ^{ab} | 2,9 \pm 0,6 | 3,0 \pm 0,6 ^a | 3,1 \pm 0,7 ^b |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del origen del ligamento rotuliano (LRO) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 48 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del origen del ligamento rotuliano (LRO) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

FIG. 48: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL LIGAMENTO ROTULIANO EN SU ORIGEN (LRO)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del origen del ligamento rotuliano (LRO) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En el análisis estadístico de ambos protocolos del **LRO** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Cuando analizamos estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, en el protocolo A encontramos diferencias significativas en V0 vs V3 y en el protocolo B en V0 vs V3 y V0 vs V4.

En la tabla 22 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros a nivel central del ligamento rotuliano (**LRC**) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

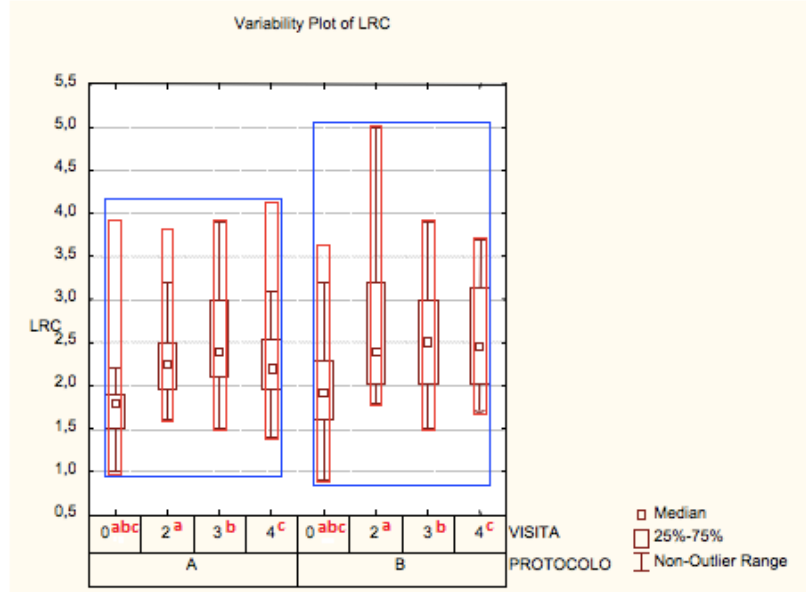
TABLA 22: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL LIGAMENTO ROTULIANO EN EL CENTRO (LRC)

| VISITA | V0 | V2 | V3 | V4 |
|-------------|------------------------------|----------------------------|----------------------------|----------------------------|
| PROTOCOLO A | 1,9 \pm 0,6 ^{abc} | 2,3 \pm 0,5 ^a | 2,5 \pm 0,7 ^b | 2,4 \pm 0,7 ^c |
| PROTOCOLO B | 2,0 \pm 0,6 ^{abc} | 2,6 \pm 0,8 ^a | 2,8 \pm 0,7 ^b | 2,6 \pm 0,7 ^c |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros a nivel central del ligamento rotuliano (LRC) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 49 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros a nivel central del ligamento rotuliano (LRC) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

FIG. 49: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL LIGAMENTO ROTULIANO EN EL CENTRO (LRC)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros a nivel central del ligamento rotuliano (LRC) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En el análisis estadístico de ambos protocolos del **LRC** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Cuando analizamos estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, encontramos diferencias significativas en V0 vs V2, V0 vs V3 y V0 vs V4 en ambos protocolos.

En la tabla 23 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros de la inserción del ligamento rotuliano (**LRI**), medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

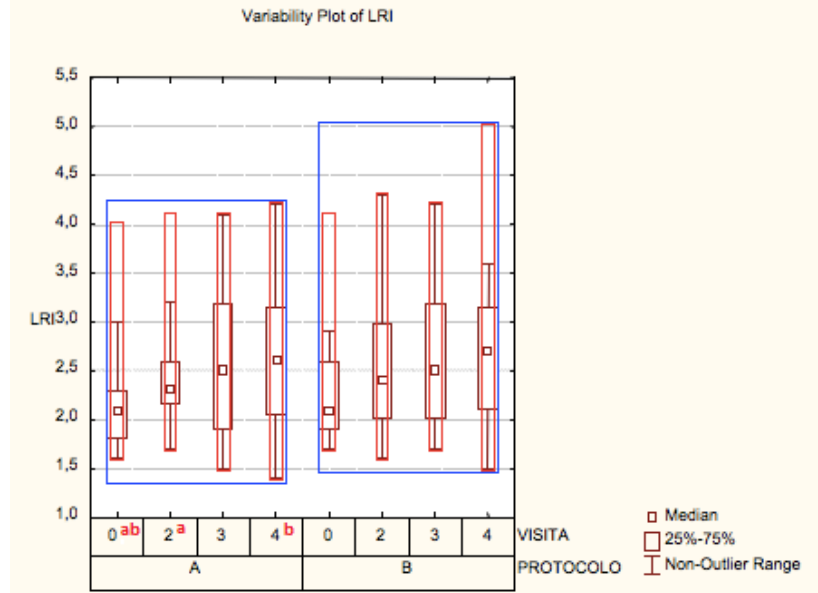
TABLA 23: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL LIGAMENTO ROTULIANO EN LA INSERCIÓN TIBIAL (LRI)

| VISITA | V0 | V2 | V3 | V4 |
|-------------|-----------------------------|----------------------------|---------------|----------------------------|
| PROTOCOLO A | 2,3 \pm 0,6 ^{ab} | 2,4 \pm 0,5 ^a | 2,6 \pm 0,7 | 2,6 \pm 0,7 ^b |
| PROTOCOLO B | 2,3 \pm 0,6 | 2,5 \pm 0,6 | 2,5 \pm 0,7 | 2,7 \pm 0,8 |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros de la inserción del ligamento rotuliano (LRI), medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 50 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros de la inserción del ligamento rotuliano (LRI), medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

FIG. 50: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL LIGAMENTO ROTULIANO EN LA INSERCIÓN TIBIAL (LRI)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del ligamento rotuliano en su origen (LRI), medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En el análisis estadístico de ambos protocolos del **LRI** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Cuando analizamos estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, únicamente encontramos diferencias significativas entre V0 vs V2 y V0 vs V4 en el protocolo A, sin encontrar diferencias significativas entre las diferentes visitas del protocolo B.

4.3.4.2.- TEXTURA (LRH)

En la tabla 24 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del ligamento rotuliano (LRH). La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

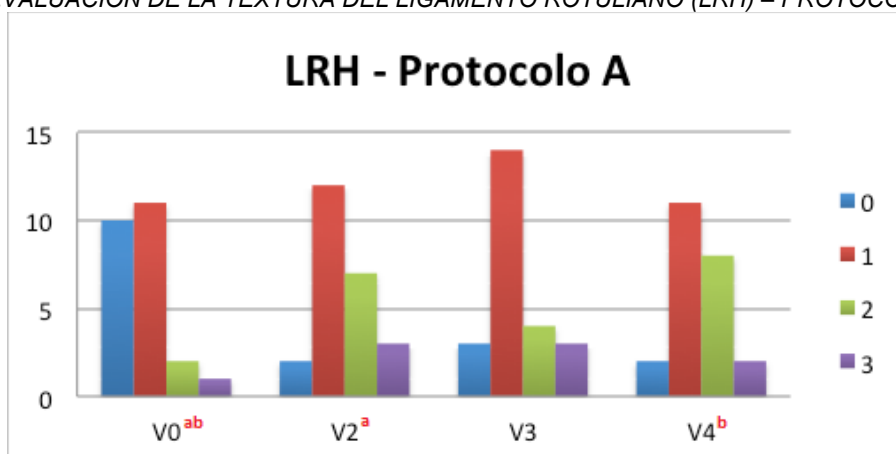
TABLA 24: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL LIGAMENTO ROTULIANO (LRH)

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------------|-----------------|----------------|----------------|---|----|-----------------|----------------|----------------|
| PROTOCOLO | A ^{ab} | B ^a | A ^a | B | A | B ^{ab} | A ^b | B ^b |
| VALORACIÓN 0 | 10 | 4 | 2 | 4 | 3 | 2 | 2 | 4 |
| VALORACIÓN 1 | 11 | 15 | 12 | 9 | 14 | 10 | 11 | 10 |
| VALORACIÓN 2 | 2 | 3 | 7 | 8 | 4 | 7 | 8 | 6 |
| VALORACIÓN 3 | 1 | 1 | 3 | 2 | 3 | 2 | 2 | 0 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del ligamento rotuliano (LRH) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0 (en A n=24, en B n=23), V2 (en A n=24, en B n=23), V3 (en A n=24, en B n=21) y V4 (en A n=23, en B n=20) en los animales de ambos protocolos. La puntuación oscila desde 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 51 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del ligamento rotuliano (LRH) en los animales del protocolo A. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

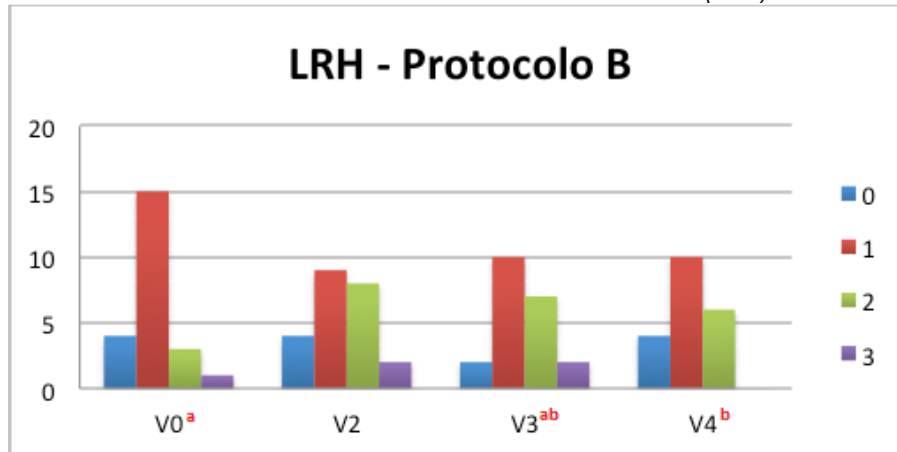
FIG. 51: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL LIGAMENTO ROTULIANO (LRH) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del ligamento rotuliano (LRH) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. La puntuación oscila desde 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p<0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 52 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del ligamento rotuliano (LRH) en los animales del protocolo B. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

FIG. 52: EVALUACIÓN DEL LA TEXTURA DEL LIGAMENTO ROTULIANO (LRH) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del ligamento rotuliano (LRH) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. La puntuación oscila desde 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En el análisis estadístico de ambos protocolos del **LRH** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, en el protocolo A encontramos diferencias significativas en V0 vs V2 y V0 vs V4, mientras que en el protocolo B hay diferencias significativas en V0 vs V3 y V3 vs V4.

4.3.5.- CARTÍLAGO ARTICULAR CONDILAR FEMORAL

4.3.5.1.- GROSOR DEL CARTÍLAGO LATERAL (CCL)

En la tabla 25 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del cartílago en el cóndilo lateral (**CCL**) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

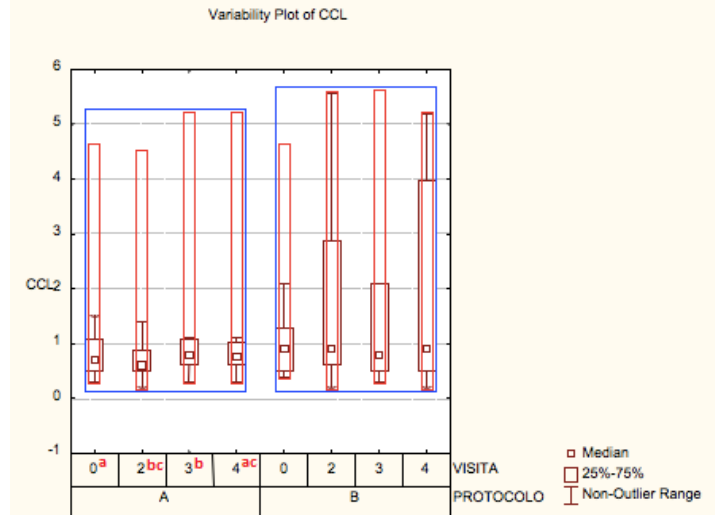
TABLA 25: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL CARTÍLAGO EN EL CÓNDILO FEMORAL LATERAL (CCL)

| VISITA | V0 | V2 | V3 | V4 |
|-------------|----------------------------|-----------------------------|----------------------------|-----------------------------|
| PROTOCOLO A | 1,0 \pm 1,1 ^a | 1,2 \pm 1,3 ^{bc} | 1,4 \pm 1,5 ^b | 1,3 \pm 1,5 ^{ac} |
| PROTOCOLO B | 1,3 \pm 1,3 | 1,6 \pm 1,6 | 1,7 \pm 1,8 | 1,8 \pm 1,7 |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del cartílago en el cóndilo lateral (CCL) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 53 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del cartílago en el cóndilo lateral (CCL) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

FIG. 53: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL CARTÍLAGO EN EL CÓNDILO FEMORAL LATERAL (CCL)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del cartílago en el cóndilo lateral (CCL) en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En el análisis estadístico de ambos protocolos del **CCL** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, en el protocolo A encontramos diferencias significativas en V0 vs V4, V2 vs V3 y V2 vs V4, sin encontrar diferencias significativas entre visitas en el protocolo B.

4.3.5.2.- GROSOR DEL CARTÍLAGO MEDIAL (CCM)

En la tabla 26 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del cartílago en el cóndilo medial (**CCM**) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

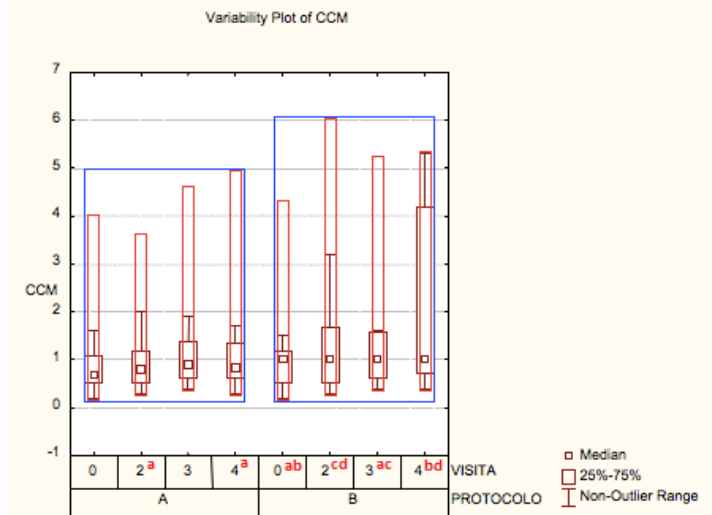
TABLA 26: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL CARTÍLAGO EN EL CÓNDILO FEMORAL MEDIAL (CCM)

| VISITA | V0 | V2 | V3 | V4 |
|-------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|-----------------------------|
| PROTOCOLO A | 1,0 \pm 0,8 | 1,1 \pm 0,9 ^a | 1,5 \pm 1,3 | 1,4 \pm 1,3 ^a |
| PROTOCOLO B | 1,2 \pm 1,1 ^{ab} | 1,5 \pm 1,5 ^{cd} | 1,7 \pm 1,6 ^{ac} | 2,0 \pm 1,8 ^{bd} |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del cartílago en el cóndilo medial (CCM) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 54 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del cartílago en el cóndilo medial (CCM) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

FIG. 54: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL CARTÍLAGO EN EL CÓNDILO FEMORAL MEDIAL (CCM)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del cartílago en el cóndilo medial (CCM) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En el análisis estadístico de ambos protocolos del **CCM** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, en el protocolo A encontramos diferencias significativas en V2 vs V4, mientras que en el protocolo B encontramos diferencias significativas en V0 vs V3, V0 vs V4, V2 vs V3 y V2 vs V4.

4.3.6.- LIGAMENTO COLATERAL

4.3.6.1.- GROSOR DE LOS LIGAMENTOS COLATERALES LATERAL (LCL) Y MEDIAL (LCM)

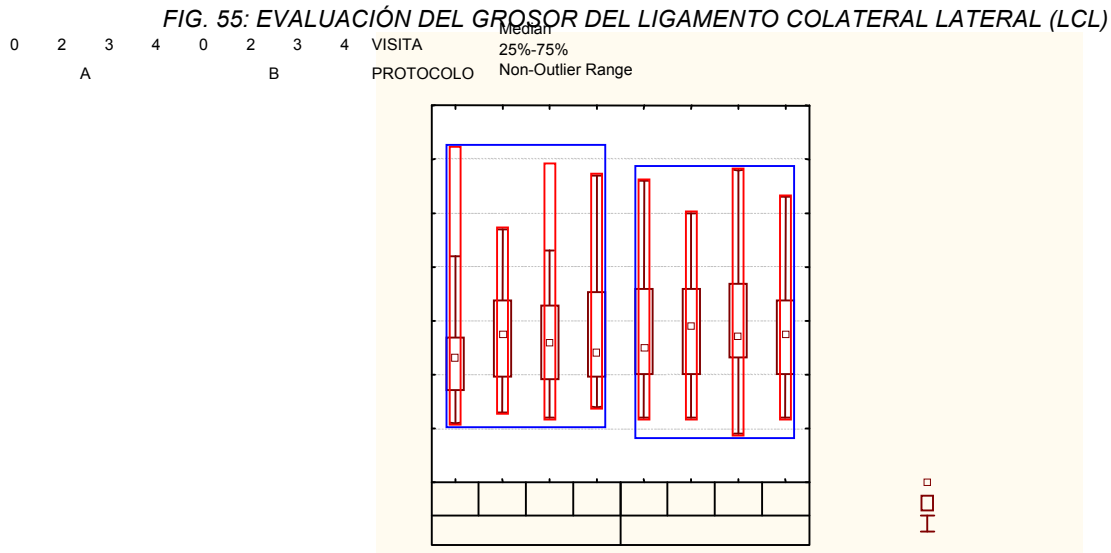
En la tabla 27 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del ligamento colateral lateral (**LCL**) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

TABLA 27: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL LIGAMENTO COLATERAL LATERAL (LCL)

| VISITA | V0 | V2 | V3 | V4 |
|-------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| PROTOCOLO A | 2,6 \pm 1,2 | 2,7 \pm 0,9 | 2,7 \pm 1,1 | 2,8 \pm 1,2 |
| PROTOCOLO B | 2,8 \pm 1,1 | 2,8 \pm 1,1 | 3,1 \pm 1,2 | 2,9 \pm 1,2 |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del ligamento colateral lateral (LCL) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

En la figura 55 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del ligamento colateral lateral (LCL) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del ligamento colateral lateral (LCL) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos

En el análisis estadístico de ambos protocolos del **LCL** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. De la misma manera, al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco se encuentran diferencias significativas entre visitas en ninguno de los protocolos.

En la tabla 28 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del ligamento colateral medial (**LCM**) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

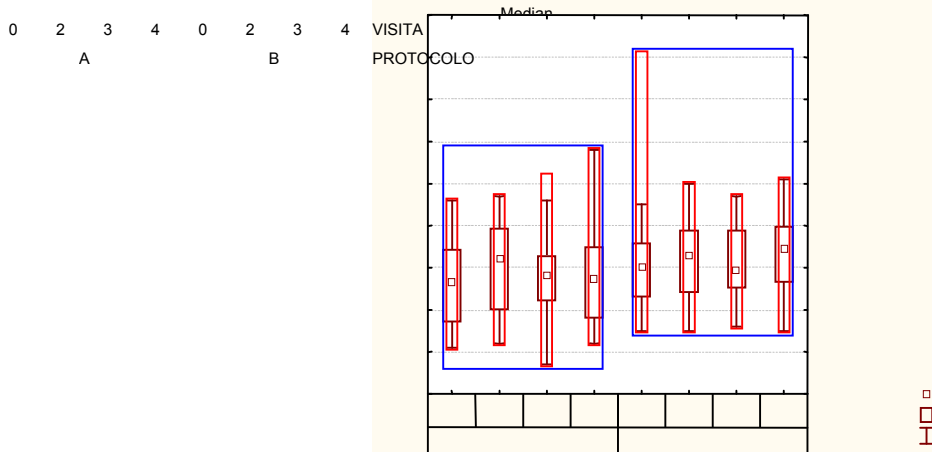
TABLA 28: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL LIGAMENTO COLATERAL MEDIAL (LCM)

| VISITA | V0 | V2 | V3 | V4 |
|--------------------|---------------|---------------|---------------|---------------|
| PROTOCOLO A | 2,7 \pm 1,1 | 3,0 \pm 1,1 | 2,8 \pm 1,0 | 2,9 \pm 1,2 |
| PROTOCOLO B | 3,1 \pm 1,4 | 3,2 \pm 0,9 | 3,1 \pm 0,9 | 3,3 \pm 1,0 |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del ligamento colateral medial (LCM) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

En la figura 56 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del ligamento colateral medial (LCM) medido en los estudios ecográficos de las visitas V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

FIG. 56: EVALUACIÓN DEL GROSOR DEL LIGAMENTO COLATERAL MEDIAL (LCM)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes al grosor en milímetros del ligamento colateral medial (LCM) medido en los estudios ecográficos de V0, V2, V3 y V4 en ambos protocolos.

En el análisis estadístico de ambos protocolos del **LCM** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. De la misma manera, al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco se encuentran diferencias significativas entre visitas en ninguno de los protocolos.

4.3.6.2.- TEXTURA LIGAMENTOSA COLATERAL LATERAL (LCLH) Y MEDIAL (LCMH)

En la tabla 29 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del ligamento colateral lateral (**LCLH**). La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

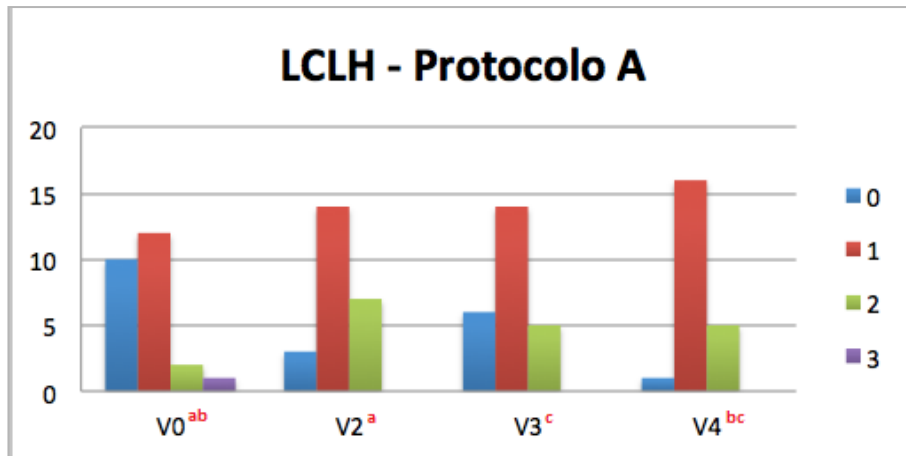
TABLA 29: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL LIGAMENTO COLATERAL LATERAL (LCLH)

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------------|-----------------|----|----------------|----|----------------|----|-----------------|----|
| PROTOCOLO | A ^{ab} | B | A ^a | B | A ^c | B | A ^{bc} | B |
| VALORACIÓN 0 | 10 | 5 | 3 | 2 | 6 | 4 | 1 | 4 |
| VALORACIÓN 1 | 12 | 14 | 14 | 15 | 14 | 13 | 16 | 10 |
| VALORACIÓN 2 | 2 | 3 | 7 | 3 | 5 | 4 | 7 | 6 |
| VALORACIÓN 3 | 1 | 1 | 0 | 3 | 0 | 1 | 0 | 0 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del ligamento colateral lateral (LCLH) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0 (en A n=25, en B=23), V2 (en A n=24, en B=23), V3 (en A n=25, en B=22) y V4 (en A n=24, en B=20) en los animales de ambos protocolos. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 57 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del ligamento colateral lateral (LCLH) en los animales del protocolo A. La puntuación oscila de 0 (ligamento homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (ligamento muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

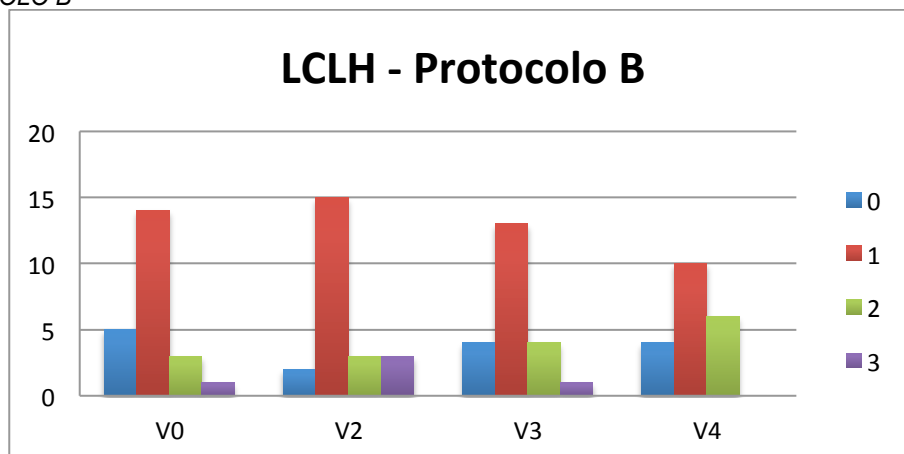
FIG. 57: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL LIGAMENTO COLATERAL LATERAL (LCLH) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del ligamento colateral lateral (LCLH) evaluada en la exploración ecográfica de V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. La puntuación oscila de 0 (ligamento homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (ligamento muy heterogéneo con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 58 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del ligamento colateral lateral (LCLH) en los animales del protocolo B. La puntuación oscila de 0 (ligamento homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (ligamento muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

FIG. 58: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL LIGAMENTO COLATERAL MEDIAL (LCLH) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del ligamento colateral lateral (LCLH) evaluada en la exploración ecográfica de V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo B. La puntuación oscila de 0 (ligamento homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (ligamento muy heterogéneo con signos severos de degeneración).

En el análisis estadístico de ambos protocolos del **LCLH** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, en el protocolo A encontramos diferencias significativas en V0 vs V2, V0 vs V4 y V3 vs V4, mientras que en el protocolo B no hay diferencias significativas en ninguna de las visitas.

En la tabla 30 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del ligamento colateral medial (**LCMH**). La puntuación oscila de 0 (ligamento homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (ligamento muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

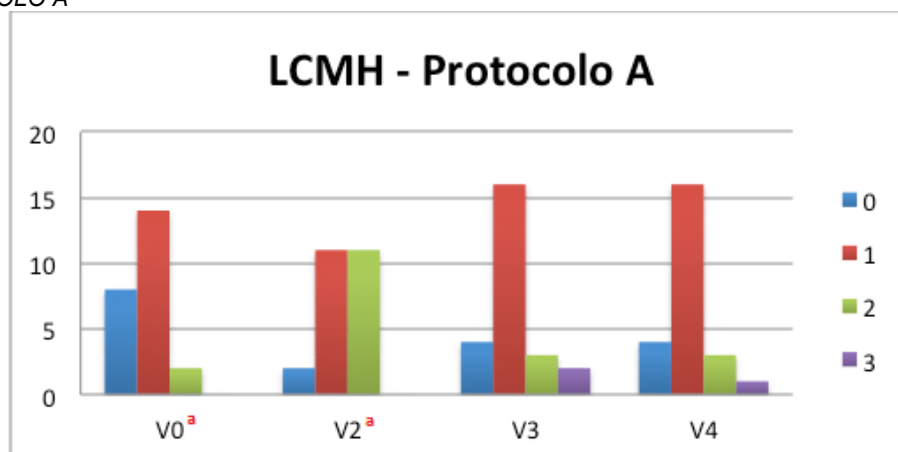
TABLA 30: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL LIGAMENTO COLATERAL MEDIAL (LCMH)

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------------|----------------|----|----------------|----|----|---|----|----|
| PROTOCOLO | A ^a | B | A ^a | B | A | B | A | B |
| VALORACIÓN 0 | 8 | 6 | 2 | 2 | 4 | 7 | 4 | 4 |
| VALORACIÓN 1 | 14 | 14 | 11 | 15 | 16 | 9 | 16 | 14 |
| VALORACIÓN 2 | 2 | 3 | 11 | 6 | 3 | 5 | 3 | 2 |
| VALORACIÓN 3 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2 | 1 | 1 | 0 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del ligamento colateral medial (LCMH) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0 (en A n=24, en B n=23), V2 (en A n=24, en B n=23), V3 (en A n=25, en B n=23) y V4 (en A n=24, en B n=20) en los animales de ambos protocolos. La puntuación oscila desde 0 (ligamento homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (ligamento muy heterogéneo con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 59 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del ligamento colateral medial (LCMH) en los animales del protocolo A. La puntuación oscila de 0 (ligamento homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (ligamento muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

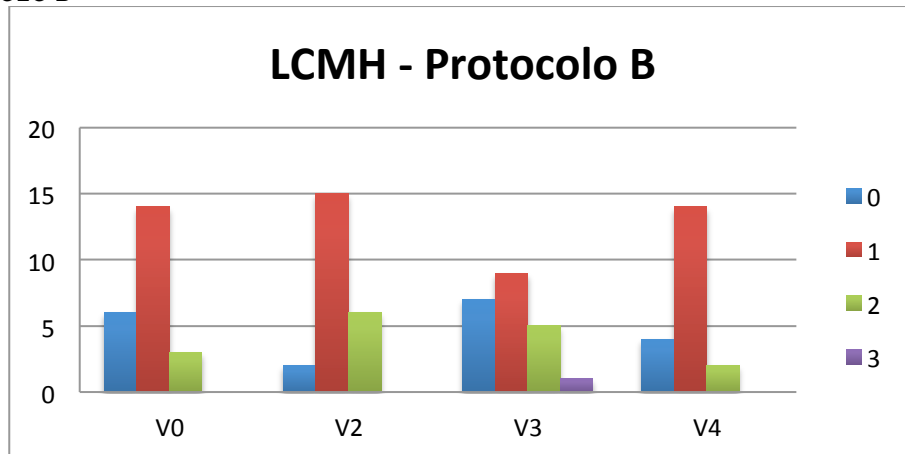
FIG. 59: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL LIGAMENTO COLATERAL MEDIAL (LCMH) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del ligamento colateral lateral (LCLH) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. La puntuación oscila desde 0 (ligamento homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (ligamento muy heterogéneo con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 60 se detalla la evolución en las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del ligamento colateral medial (LCMH) en los animales del protocolo B. La puntuación oscila de 0 (ligamento homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (ligamento muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

FIG. 60: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL LIGAMENTO COLATERAL MEDIAL (LCMH) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del ligamento colateral lateral (LCLH) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. La puntuación oscila desde 0 (ligamento homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (ligamento muy heterogéneo con signos severos de degeneración).

En el análisis estadístico de ambos protocolos de **LCMH** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, en el protocolo A se encontraron diferencias significativas en V0 vs V2, mientras que en el protocolo B no se encontraron diferencias significativas.

4.3.7.- MENISCO: TEXTURA LATERAL (ML) Y MEDIAL (MM)

En la tabla 31 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del menisco lateral (**ML**). La puntuación oscila de 0 (menisco homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (menisco muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

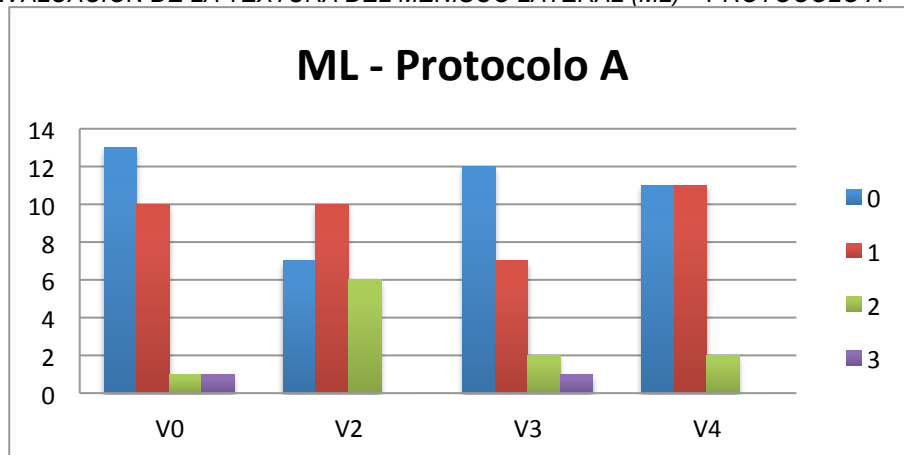
TABLA 31: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL MENISCO LATERAL (ML)

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------------|----|-----------------|----|----|----|----------------|----|----------------|
| | A | B ^{ab} | A | B | A | B ^a | A | B ^b |
| VALORACIÓN 0 | 13 | 8 | 7 | 11 | 12 | 16 | 11 | 11 |
| VALORACIÓN 1 | 10 | 12 | 10 | 5 | 7 | 3 | 11 | 8 |
| VALORACIÓN 2 | 1 | 2 | 6 | 5 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| VALORACIÓN 3 | 1 | 1 | 0 | 0 | 1 | 0 | 0 | 0 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del menisco lateral (ML) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0 (en A n=25, en B n=23), V2 (en A n=23, en B n=21), V3 (en A n=22, en B n=20) y V4 (en A n=24, en B n=20) en los animales de ambos protocolos. La puntuación oscila desde 0 (menisco homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (menisco muy heterogéneo, con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 61 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del menisco lateral (ML) en los animales del protocolo A. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

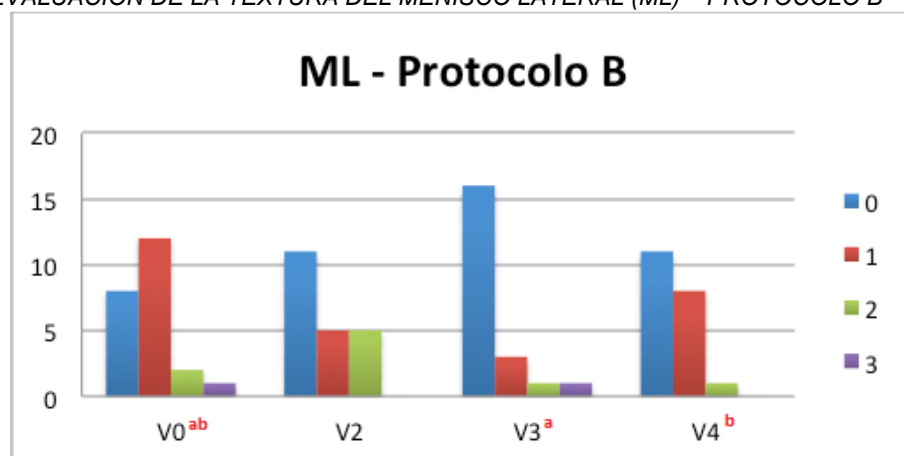
FIG. 61: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL MENISCO LATERAL (ML) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del menisco lateral (ML) evaluada en la ecografía de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo A. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración).

En la figura 62 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del menisco lateral (ML) en los animales del protocolo B. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

FIG. 62: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL MENISCO LATERAL (ML) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del menisco lateral (ML) evaluada en la ecografía de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo B. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) a 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **ML** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, en el protocolo A no encontramos diferencias significativas, mientras que en el protocolo B encontramos diferencias significativas en V0 vs V3 y V0 vs V4.

En la tabla 32 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del menisco medial (**MM**). La puntuación oscila de 0 (menisco homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (menisco muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

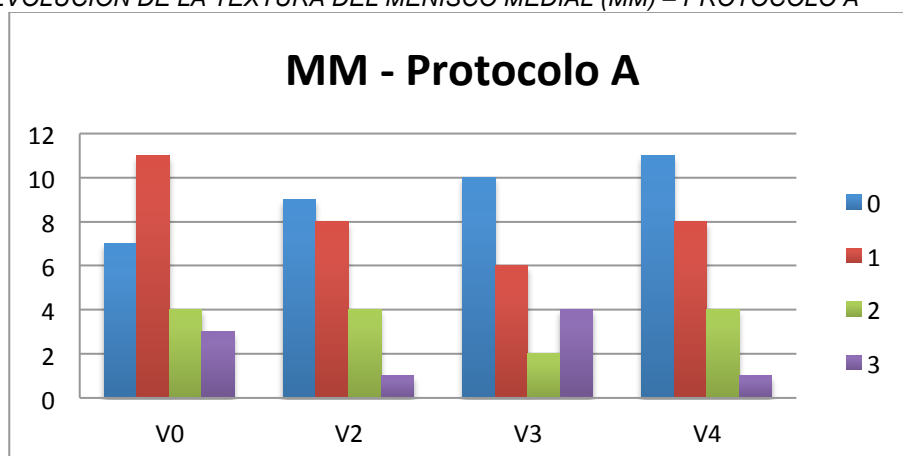
TABLA 32: EVALUACIÓN DE LA TEXTURA DEL MENISCO MEDIAL (MM)

| VISITA | V0 | | V2 | | V3 | | V4 | |
|--------------|----|----------------|----|---|----|----|----|----------------|
| PROTOCOLO | A | B ^a | A | B | A | B | A | B ^a |
| VALORACIÓN 0 | 7 | 5 | 9 | 8 | 10 | 10 | 11 | 11 |
| VALORACIÓN 1 | 11 | 14 | 8 | 9 | 6 | 7 | 8 | 7 |
| VALORACIÓN 2 | 4 | 2 | 4 | 4 | 2 | 3 | 4 | 1 |
| VALORACIÓN 3 | 3 | 2 | 1 | 0 | 4 | 1 | 1 | 1 |

Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del menisco medial (MM) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0 (en A n=25, en B n=23), V2 (en A n=22, en B n=21), V3 (en A n=22, en B n=21) y V4 (en A n=14, en B n=20) en los animales de ambos protocolos. La puntuación oscila desde 0 (menisco homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (menisco muy heterogéneo, con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 63 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del menisco medial (MM) en los animales del protocolo A. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

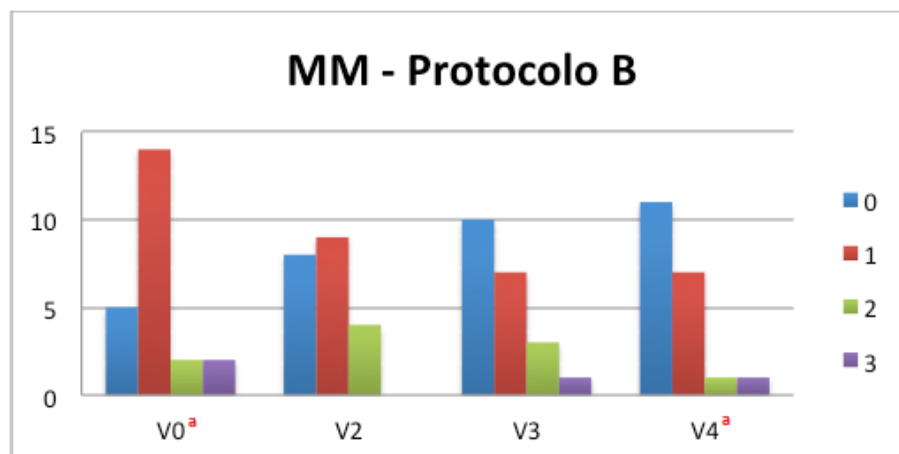
FIG. 63: EVOLUCIÓN DE LA TEXTURA DEL MENISCO MEDIAL (MM) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del menisco medial (MM) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo . La puntuación oscila desde 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración).

En la figura 64 se detalla la evolución a lo largo de las visitas V0, V2, V3 y V4, de la textura del menisco medial (MM) en los animales del protocolo B. La puntuación oscila de 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo, con signos severos de degeneración).

FIG. 64: EVOLUCIÓN DE LA TEXTURA DEL MENISCO MEDIAL (MM) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la textura del menisco medial (MM) evaluada en la exploración ecográfica de las visitas V0, V2, V3 y V4 en los animales del protocolo B. La puntuación oscila desde 0 (tendón homogéneo, sin signos degenerativos) hasta 3 (tendón muy heterogéneo con signos severos de degeneración). Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **MM** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, en el protocolo A no se encontraron diferencias significativas, mientras que en el protocolo B se encontraron diferencias significativas en V0 vs V4.

4.4.- ANÁLISIS SANGUÍNEO

4.4.1.- FACTOR DE NECROSIS TUMORAL- α (SUETNF)

En la tabla 33 se detalla, distribuida por rangos, la concentración de factor de necrosis tumoral (SUETNF) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

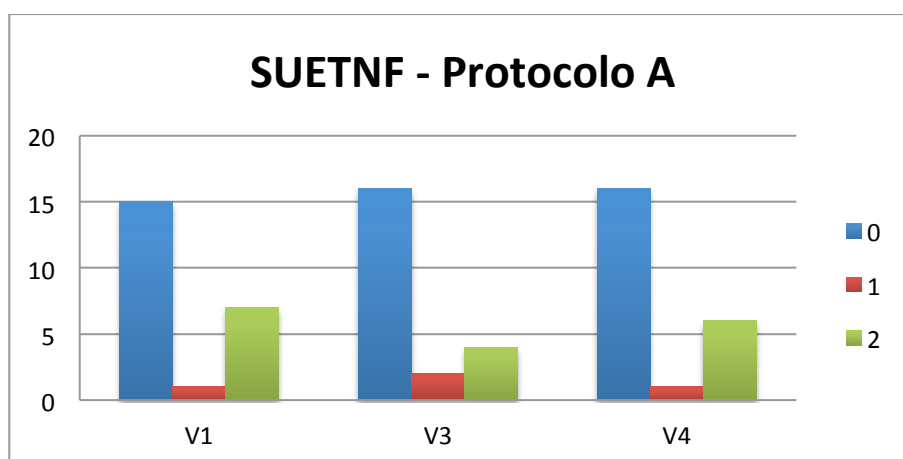
TABLA 33: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (SUETNF)

| VISITA | V1 | | V3 | | V4 | |
|--------------|----|----|----|----|----|----|
| PROTOCOLO | A | B | A | B | A | B |
| < 5 pg/ml | 15 | 18 | 16 | 15 | 16 | 14 |
| 5 – 10 pg/ml | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 | 1 |
| > 10 pg/ml | 7 | 4 | 4 | 5 | 6 | 5 |

Datos estadísticos distribuidos por rangos (expresados en número de individuos) de la concentración de factor de necrosis tumoral (SUETNF) de las visitas V1 (en A n=23, en B n=23), V3 (en A n=22, en B n=22), V4 (en A n=23, en B n=20) en los animales de ambos protocolos.

En la figura 65 se detalla la evolución, distribuida por rangos, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de factor de necrosis tumoral – α en suero (SUETNF) en los animales del protocolo A.

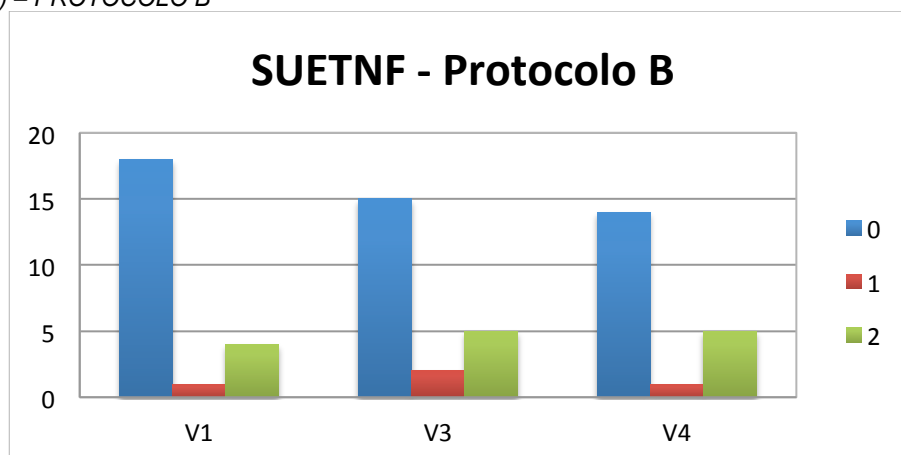
FIG. 65: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (SUETNF) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración del factor de necrosis tumoral- α en suero (SUETNF) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo A (0: < 5 pg/ml, 1: 5-10 pg/ml, 2: > 10 pg/ml)

En la figura 66 se detalla la evolución, distribuida por rangos, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de factor de necrosis tumoral – α en suero (SUETNF) en los animales del protocolo B.

FIG. 66: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SERICA DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (SUETNF) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración del factor de necrosis tumoral- α en suero (SUETNF) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo B (0: < 5 pg/ml, 1: 5-10 pg/ml, 2: > 10 pg/ml).

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **SUETNF** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco existen diferencias significativas entre las visitas en ninguno de ambos protocolos.

4.4.2.- ÓXIDO NÍTRICO (SUENO)

En la tabla 34 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración en $\mu\text{mol/l}$ de óxido nítrico en suero (**SUENO**) en los animales de ambos protocolos.

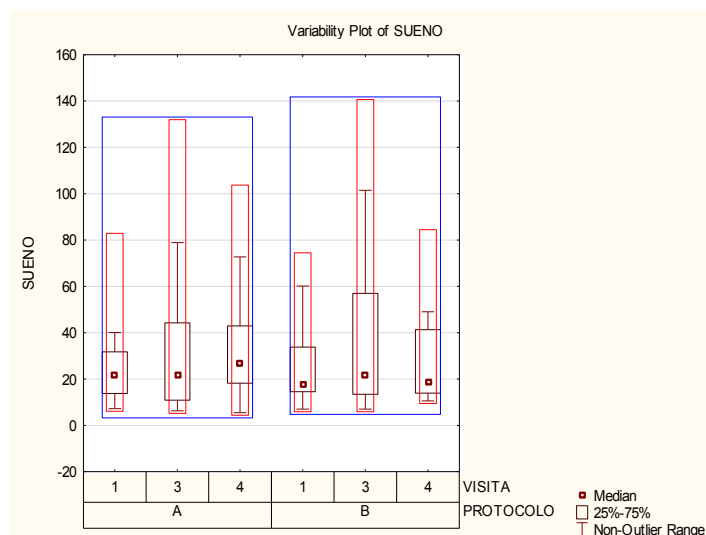
TABLA 34: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE ÓXIDO NÍTRICO (SUENO)

| VISITA | V1 | V3 | V4 |
|-------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| PROTOCOLO A | 24,92 \pm 18,27 | 35,14 \pm 34,32 | 34,60 \pm 25,69 |
| PROTOCOLO B | 27,79 \pm 19,05 | 36,49 \pm 34,02 | 27,64 \pm 18,51 |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) de la concentración en $\mu\text{mol/l}$ de óxido nítrico (SUENO) de las visitas V1, V3, V4 en los animales de ambos protocolos.

En la figura 67 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes a la concentración en $\mu\text{mol/l}$ de óxido nítrico en suero (SUENO) en las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

FIG. 67: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE OXIDO NÍTRICO (SUENO)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes a la concentración de óxido nítrico en suero (SUENO) medido en los estudios ecográficos de V0, V3 y V4 en ambos protocolos.

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **SUENO** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco se aprecian diferencias significativas entre visitas en ninguno de ambos protocolos.

4.4.3.- PROTEÍNA C REACTIVA (SUECRP)

En la tabla 35 se detalla, distribuida por rangos, la concentración de proteína C reactiva en suero (**SUECRP**) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

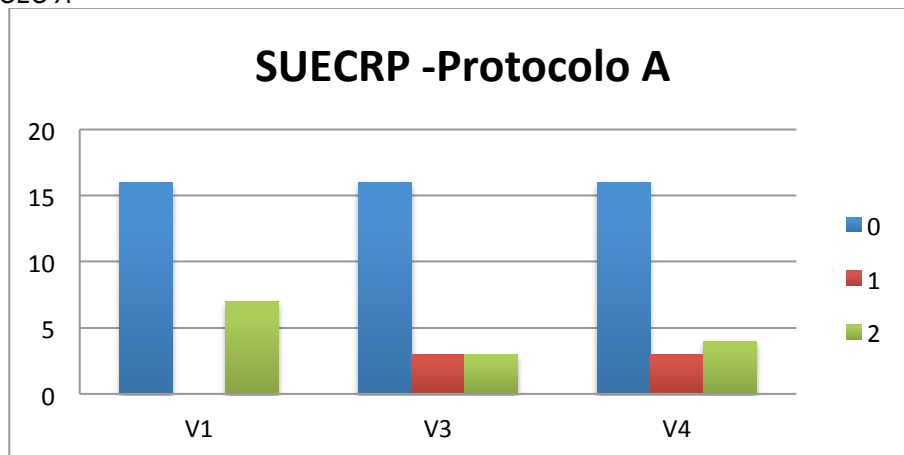
TABLA 35: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROTEÍNA C REACTIVA (SUECRP)

| VISITA | V1 | | V3 | | V4 | |
|-------------------------|----|----|----|----|----|----|
| PROTOCOLO | A | B | A | B | A | B |
| < 5 $\mu\text{g/ml}$ | 16 | 16 | 16 | 15 | 16 | 14 |
| 5 – 10 $\mu\text{g/ml}$ | 0 | 3 | 3 | 2 | 3 | 3 |
| > 10 $\mu\text{g/ml}$ | 7 | 4 | 3 | 5 | 4 | 3 |

Datos estadísticos distribuidos por rangos (expresados en número de individuos) de la concentración de proteína C reactiva (SUECRP) de las visitas V1 (en A $n=23$, en B $n=23$), V3 (en A $n=22$, en B $n=22$), V4 (en A $n=23$, en B $n=20$) en los animales de ambos protocolos.

En la figura 68 se detalla la evolución, distribuida por rangos , a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de proteína C reactiva en suero (SUECRP) en los animales del protocolo A.

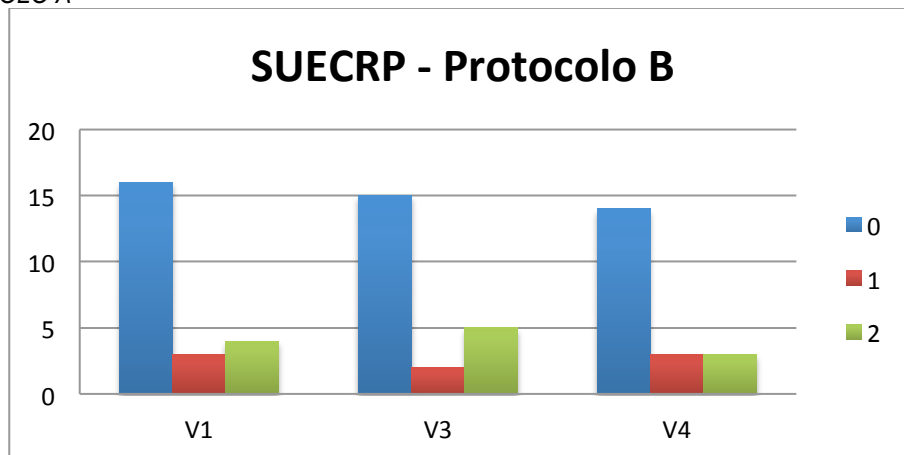
FIG. 68: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROTEÍNA C REACTIVA (SUECRP) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración de proteína C reactiva en suero (SUECRP) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo A (0: < 5 µg/ml, 1: 5-10 µg/ml, 2: > 10 µg/ml).

En la figura 69 se detalla la evolución, distribuida por rangos , a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de proteína C reactiva en suero (SUECRP) en los animales del protocolo B.

FIG. 69: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE PROTEÍNA C REACTIVA (SUECRP) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración de proteína C reactiva en suero (SUECRP) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo B (0: < 5 µg/ml, 1: 5-10 µg/ml, 2: > 10 µg/ml).

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **SUECRP** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ambos protocolos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco se aprecian diferencias significativas entre visitas en ninguno de ambos protocolos.

4.4.4.- AMILOIDE SÉRICO A (SUESAA)

En la tabla 36 se detalla, distribuida por rangos, la concentración de amiloide sérico A (SUESAA) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

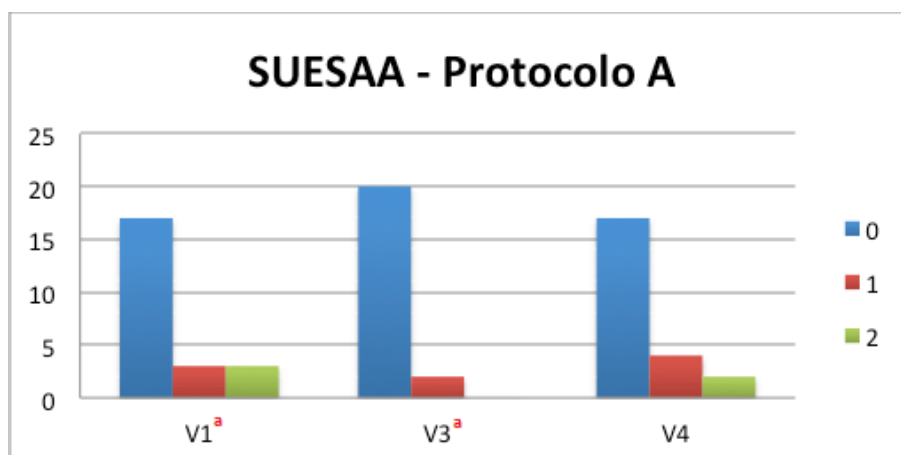
TABLA 36: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE AMILOIDE SÉRICO A (SUESAA)

| VISITA | V1 | | V3 | | V4 | |
|-----------------|----------------|----|----------------|----|----|----|
| PROTOCOLO | A ^a | B | A ^a | B | A | B |
| < 2,19 µg/ml | 17 | 20 | 20 | 18 | 17 | 16 |
| 2,19 – 10 µg/ml | 3 | 1 | 2 | 3 | 4 | 3 |
| > 10 µg/ml | 3 | 2 | 0 | 1 | 2 | 1 |

Datos estadísticos distribuidos por rangos (expresados en número de individuos) de la concentración de amiloide sérico A (SUESAA) de las visitas V1 (en A n=23, en B n=23), V3 (en A n=22, en B n=22) y V4 (en A n=23, en B n=20) en los animales de ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo.

En la figura 70 se detalla la evolución, distribuida por rangos, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de amiloide sérico A en suero (SUESAA) en los animales del protocolo A.

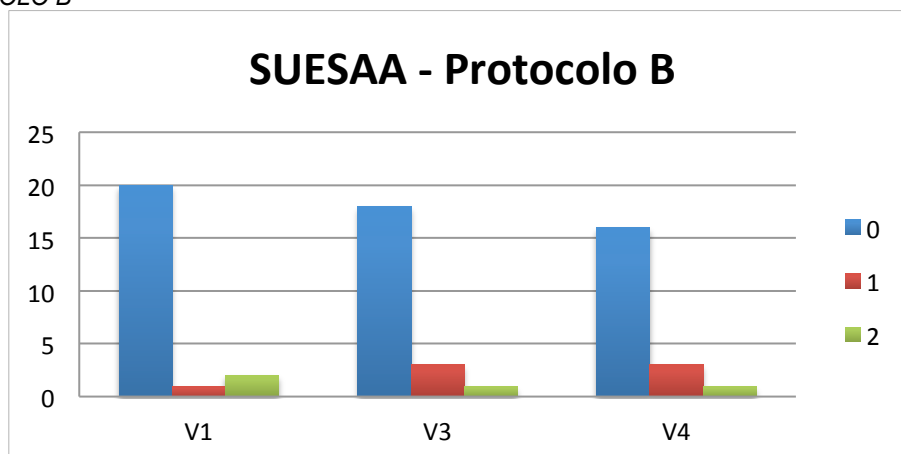
FIG. 70: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE AMILOIDE SÉRICO A (SUESAA) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración de amiloide sérico A en suero (SUESAA) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo A. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo (0: < 2,19 µg/ml, 1: 2,19-10 µg/ml, 2: > 10 µg/ml).

En la figura 71, se detalla la evolución, distribuida por rangos, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de amiloide sérico A en suero (SUESAA) en los animales del protocolo B.

Fig. 71: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE AMILOIDE SÉRICO A (SUESAA) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración de amiloide sérico A en suero (SUESAA) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo B. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre visitas dentro de cada protocolo (0: $< 2,19 \mu\text{g/ml}$, 1: $2,19\text{-}10 \mu\text{g/ml}$, 2: $> 10 \mu\text{g/ml}$).

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **SUESAA** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, en el protocolo A existen diferencias significativas en V1 vs V3, mientras que no existen diferencias significativas entre visitas en el grupo B.

4.4.5.- HAPTOGLOBINA (SUEHAP)

En la tabla 37 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración en g/L de haptoglobina en suero (**SUEHAP**) en los animales de ambos protocolos.

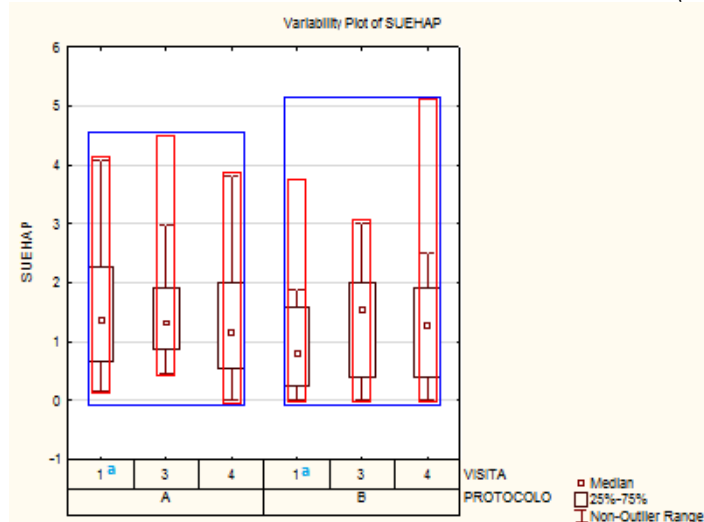
TABLA 37: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE HAPTOGLOBINA (SUEHAP)

| VISITA | V1 | V3 | V4 |
|-------------|--------------------------|-------------|-------------|
| PROTOCOLO A | 1,63 ± 1,18 ^a | 1,56 ± 0,93 | 1,28 ± 0,95 |
| PROTOCOLO B | 0,94 ± 0,87 ^a | 1,33 ± 0,91 | 1,28 ± 1,18 |

Datos estadísticos (expresados en media ± desviación estándar) de la concentración en g/L de haptoglobina (SUEHAP) de las visitas V1, V3, V4 en los animales de ambos protocolos. Los valores en rojo representan diferencias significativas entre protocolos en la visita correspondiente. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre protocolos dentro de cada visita.

En la figura 72 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes a la concentración en g/L de haptoglobina en suero (SUEHAP) en las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

FIG. 72: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE HAPTOGLOBINA (SUEHAP)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes a la concentración de haptoglobina en suero (SUEHAP) medido en los estudios ecográficos de V0, V3 y V4 en ambos protocolos. Superíndices con letras comunes indican diferencias significativas ($p < 0,05$) entre protocolos dentro de cada visita.

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **SUEHAP** dentro de cada una de las visitas (V1, V3 y V4) se aprecian diferencias significativas entre ellos en V1. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas (V1 vs V3, V1 vs V4 y V3 vs V4) dentro de cada uno de los protocolos, no se aprecian diferencias significativas entre visitas en ninguno de ellos.

4.5.- ANÁLISIS DE LÍQUIDO SINOVIAL

4.5.1.- FACTOR DE NECROSIS TUMORAL- α (LISITNF)

En la tabla 38 se detalla, distribuida por rangos, la concentración del factor de necrosis tumoral- α en líquido sinovial (**LISITNF**) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

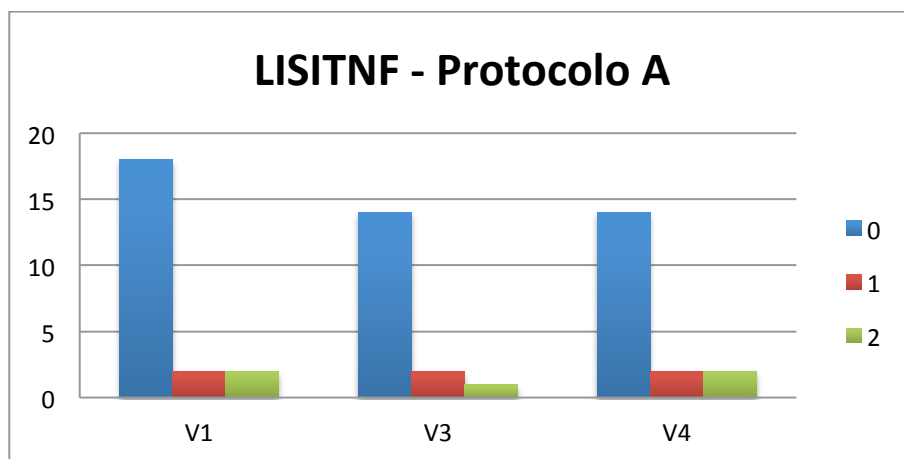
TABLA 38: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (LISITNF)

| VISITA | V1 | | V3 | | V4 | |
|--------------|----|----|----|----|----|----|
| PROTOCOLO | A | B | A | B | A | B |
| < 5 pg/ml | 18 | 18 | 14 | 15 | 14 | 13 |
| 5 – 10 pg/ml | 2 | 2 | 2 | 1 | 2 | 1 |
| > 10 pg/ml | 2 | 1 | 1 | 2 | 2 | 1 |

Datos estadísticos distribuidos por rangos (expresados en número de individuos) de la concentración de factor de necrosis tumoral- α (LISITNF) de las visitas V1 (en A n=22, en B n=21), V3 (en A n=17, en B n=18), V4 (en A n=18, en B n=15) en los animales de ambos protocolos.

En la figura 73 se detalla la evolución, distribuida por rangos a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de factor de necrosis tumoral- α en líquido sinovial (LISITNF) en los animales del protocolo A.

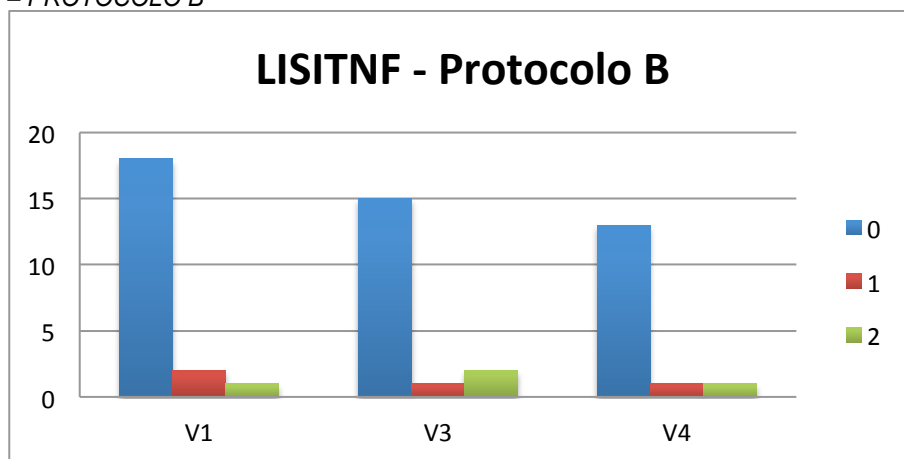
FIG. 73: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (LISITNF) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración de factor de necrosis tumoral- α en líquido sinovial (LISITNF) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo A. (0: < 5 pg/ml, 1: 5-10 pg/ml, 2: > 10 pg/ml).

En la figura 74 se detalla evolución, distribuida por rangos, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de factor de necrosis tumoral- α en líquido sinovial (LISITNF) en los animales del protocolo B.

FIG. 74: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SÉRICA DE FACTOR DE NECROSIS TUMORAL (LISITNF) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración de factor de necrosis tumoral- α en líquido sinovial (LISITNF) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo B (0: < 5 pg/ml, 1: 5-10 pg/ml, 2: > 10 pg/ml).

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la LISITNF dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco existen diferencias significativas entre las visitas en ninguno de ambos protocolos.

4.5.2.- ÓXIDO NÍTRICO (LISINO)

En la tabla 39 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración en $\mu\text{mol/l}$ de óxido nítrico en líquido sinovial (**LISINO**) en los animales de ambos protocolos.

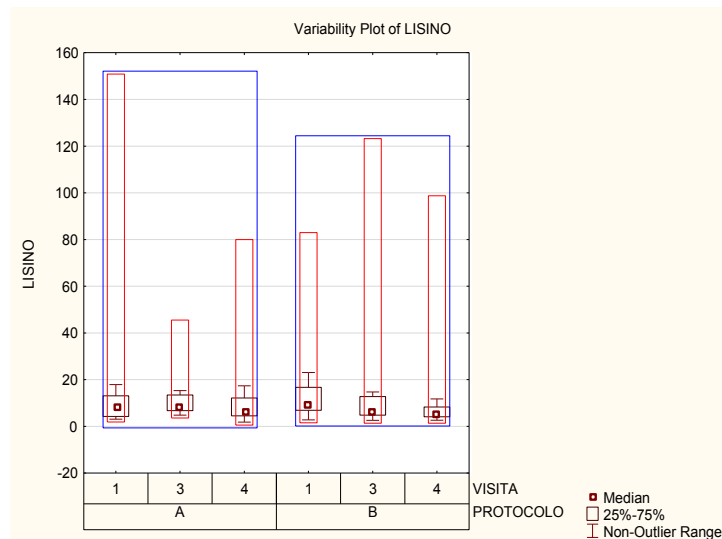
TABLA 39: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE ÓXIDO NÍTRICO (LISINO)

| VISITA | V1 | V3 | V4 |
|-------------|-------------------|-------------------|-------------------|
| PROTOCOLO A | 20,21 \pm 34,66 | 12,80 \pm 10,74 | 13,05 \pm 18,40 |
| PROTOCOLO B | 15,71 \pm 18,20 | 16,62 \pm 27,99 | 12,70 \pm 24,66 |

Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) de la concentración en $\mu\text{mol/l}$ de óxido nítrico (LISINO) de las visitas V1, V3, V4 en los animales de ambos protocolos.

En la figura 75 se detallan los datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes a la concentración en $\mu\text{mol/l}$ de óxido nítrico en líquido sinovial (LISINO) en las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

FIG. 75: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE ÓXIDO NÍTRICO (LISINO)



Datos estadísticos (expresados en media \pm desviación estándar) correspondientes a la concentración de óxido nítrico en líquido sinovial (LISINO) medido en los estudios ecográficos de V0, V3 y V4 en ambos protocolos.

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **LISINO** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ambos protocolos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco existen diferencias significativas entre las visitas en ninguno de ambos protocolos.

4.5.3.- PROTEÍNA C REACTIVA (LISICRP)

En la tabla 40 se detalla, distribuida por rangos, la concentración de proteína C reactiva en líquido sinovial (**LISICRP**) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

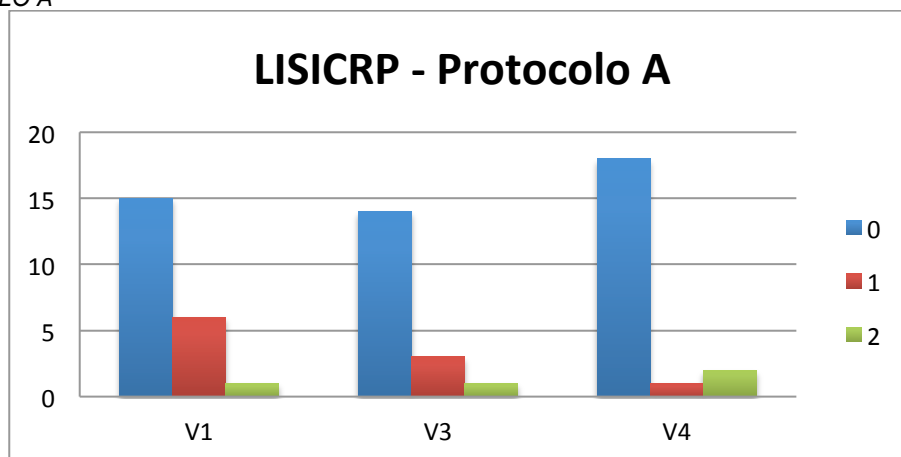
TABLA 40: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE PROTEÍNA C REACTIVA (LISICRP)

| VISITA | V1 | | V3 | | V4 | |
|--------------|----|----|----|----|----|----|
| PROTOCOLO | A | B | A | B | A | B |
| < 5 µg/ml | 15 | 15 | 14 | 15 | 18 | 10 |
| 5 – 10 µg/ml | 6 | 3 | 3 | 2 | 1 | 1 |
| > 10 µg/ml | 1 | 4 | 1 | 1 | 2 | 3 |

Datos estadísticos distribuidos por rangos (expresados en número de individuos) de la concentración de proteína C reactiva (LISICRP) de las visitas V1 (en A n=22, en B n=22), V3 (en A n=18, en B n=18), V4 (en A n=21, en B n=14) en los animales de ambos protocolos.

En la figura 76 se detalla la evolución, distribuida por rangos, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de proteína C reactiva en líquido sinovial (LISICRP) en los animales del protocolo A.

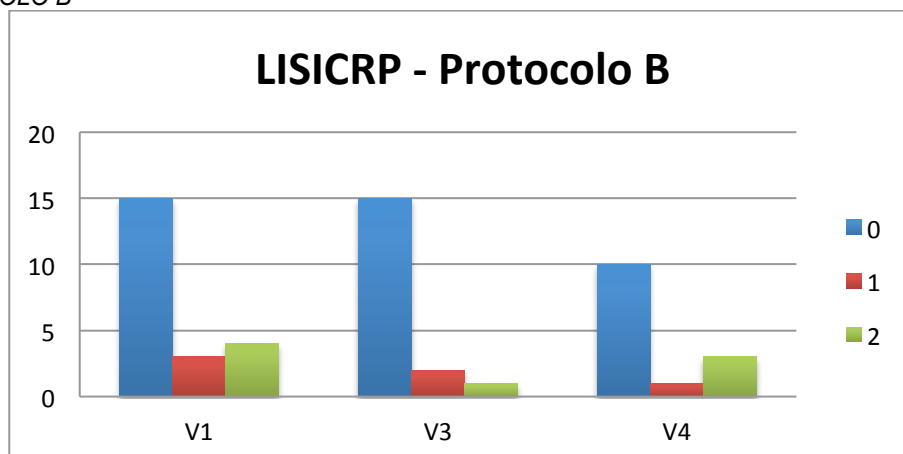
FIG. 76: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE PROTEÍNA C REACTIVA (LISICRP) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración del proteína C reactiva en líquido sinovial (LISICRP) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo A (0: < 5 µg/ml, 1: 5-10 µg/ml, 2: > 10 µg/ml).

En la figura 77 se detalla la evolución, distribuida por rangos, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de proteína C reactiva en líquido sinovial (LISICRP) en los animales del protocolo B.

FIG. 77: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE PROTEÍNA C REACTIVA (LISICRP) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración de proteína C reactiva en líquido sinovial (LISICRP) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo B (0: < 5 µg/ml, 1: 5-10 µg/ml, 2: > 10 µg/ml).

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la LISICRP dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco existen diferencias significativas entre las visitas en ninguno de ambos protocolos.

4.5.4.- AMILOIDE SÉRICO A (LISISAA)

En la tabla 41 se detalla la concentración, distribuida por rangos, del amiloide sérico A en líquido sinovial (LISISAA) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

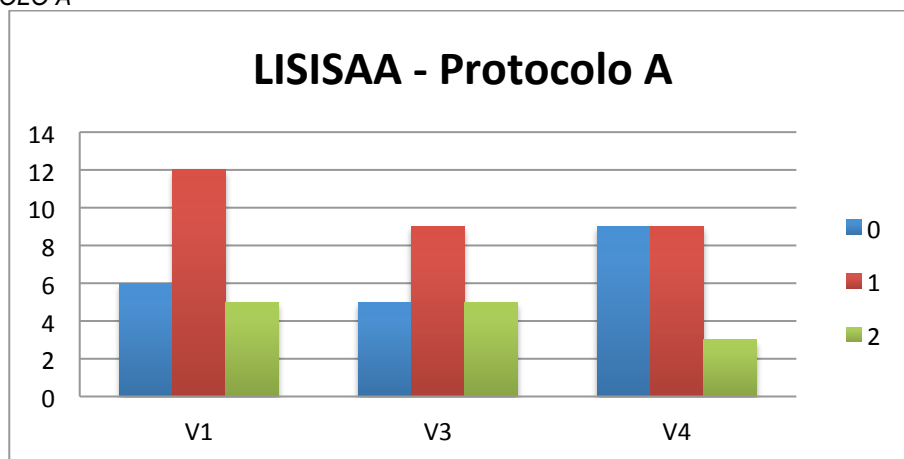
TABLA 41: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE AMILOIDE SÉRICO A (LISISAA)

| VISITA | V1 | | V3 | | V4 | |
|-----------------|----|----|----|---|----|---|
| | A | B | A | B | A | B |
| < 2,19 µg/ml | 6 | 5 | 5 | 6 | 9 | 7 |
| 2,19 – 10 µg/ml | 12 | 10 | 9 | 7 | 9 | 4 |
| > 10 µg/ml | 5 | 7 | 5 | 5 | 3 | 4 |

Datos estadísticos distribuidos por rangos (expresados en número de individuos) de la concentración de amiloide sérico A en líquido sinovial (LISISAA) de las visitas V1 (en A n=23, en B n=22), V3 (en A n=19, en B n=18), V4 (en A n=21, en B n=15) en los animales de ambos protocolos (0: < 2,19 µg/ml, 1: 2,19-10 µg/ml, 2: > 10 µg/ml).

En la figura 78 se detalla la evolución, distribuida por rangos, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de amiloide sérico A en líquido sinovial (LISISAA) en los animales del protocolo A.

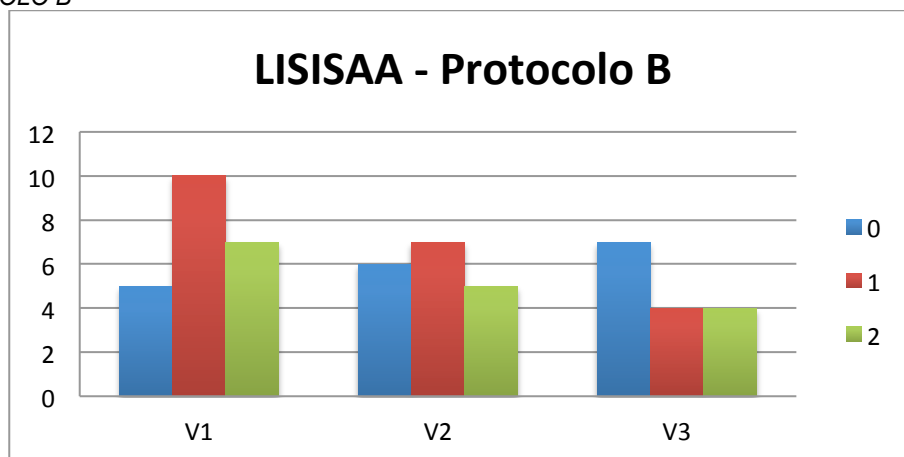
FIG. 78: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIOL DE AMILOIDE SÉRICO A (LISISAA) – PROTOCOLO A



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración de amiloide sérico A en líquido sinovial (LISISAA) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo A (0: < 2,19 $\mu\text{g/ml}$, 1: 2,19-10 $\mu\text{g/ml}$, 2: > 10 $\mu\text{g/ml}$).

En la figura 79 se detalla la evolución, distribuida por rangos, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración de amiloide sérico A en líquido sinovial (LISISAA) en los animales del protocolo B.

FIG. 79: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIOL DE AMILOIDE SÉRICO A (LISISAA) – PROTOCOLO B



Datos estadísticos (expresados en número de individuos) de la concentración de amiloide sérico A en líquido sinovial (LISISAA) a lo largo de las visitas V1, V3 y V4 de los animales del protocolo B (0: < 2,19 $\mu\text{g/ml}$, 1: 2,19-10 $\mu\text{g/ml}$, 2: > 10 $\mu\text{g/ml}$).

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **LISISAA** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco existen diferencias significativas entre las visitas en ninguno de ambos protocolos.

4.5.5.- HAPTOGLOBINA (LISIHAP)

En la tabla 42 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración en g/L de haptoglobina en líquido sinovial (LISIHAP) en los animales de ambos protocolos.

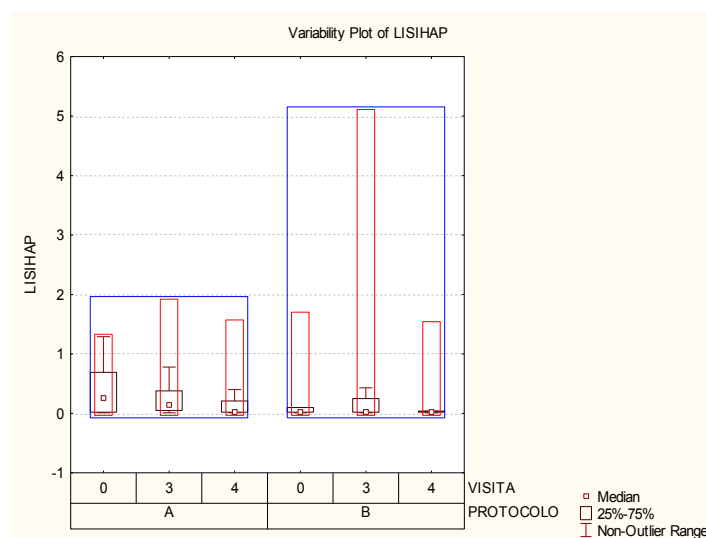
TABLA 42: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE HAPTOGLOBINA (LISIHAP)

| VISITA | V1 | V3 | V4 |
|-------------|-------------|-------------|-------------|
| PROTOCOLO A | 0,30 ± 0,38 | 0,50 ± 0,84 | 0,17 ± 0,34 |
| PROTOCOLO B | 0,18 ± 0,37 | 0,53 ± 1,24 | 0,19 ± 0,40 |

Datos estadísticos (expresados en media ± desviación estándar) de la concentración en g/L de haptoglobina (LISIHAP) de las visitas V1, V3, V4 en los animales de ambos protocolos.

En la figura 80 se detallan los datos estadísticos (expresados en media ± desviación estándar) correspondientes a la concentración en g/L de haptoglobina (LISIHAP) en líquido sinovial en las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

FIG. 80: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE HAPTOGLOBINA (LISISHAP)



Datos estadísticos (expresados en media ± desviación estándar) correspondientes a la concentración en g/L de haptoglobina (LISIHAP) medido en los estudios ecográficos de V0, V3 y V4 en ambos protocolos.

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **LISIHAP** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco existen diferencias significativas entre las visitas en ninguno de ambos protocolos.

4.5.6.- ÁCIDO HIALURÓNICO (LISIAH)

En la tabla 43 se detalla la evolución, a lo largo de las visitas V1, V3 y V4, de la concentración en ng/ml de ácido hialurónico en líquido sinovial (**LISIAH**) en los animales de ambos protocolos.

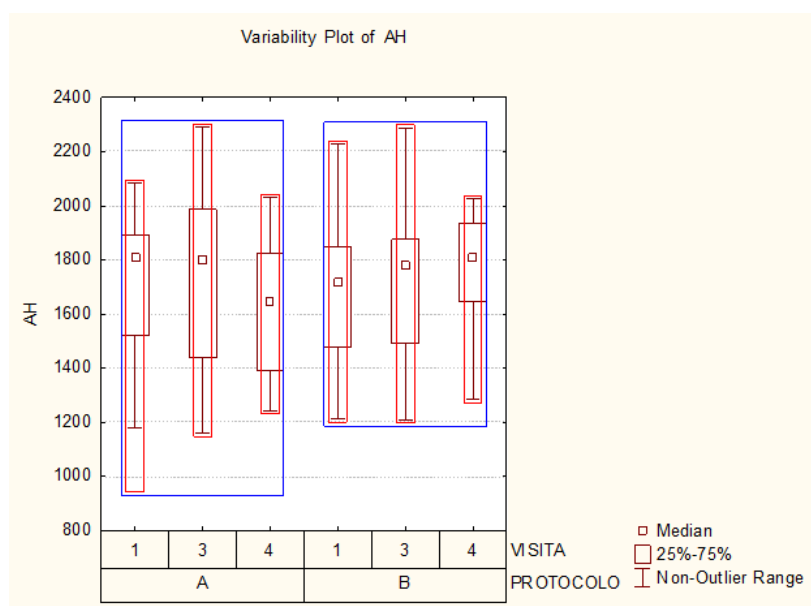
TABLA 43: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE ÁCIDO HIALURÓNICO (AH)

| VISITA | V1 | V3 | V4 |
|--------------------|------------------|------------------|------------------|
| PROTOCOLO A | 1677,16 ± 317,04 | 1749,67 ± 339,61 | 1635,41 ± 265,61 |
| PROTOCOLO B | 1686,54 ± 264,29 | 1723,12 ± 293,42 | 1749,45 ± 244,86 |

Datos estadísticos (expresados en media ± desviación estándar) de la concentración en ng/ml de ácido hialurónico (LISIAH) de las visitas V1, V3, V4 en los animales de ambos protocolos.

En la figura 81 se detallan los datos estadísticos (expresados en media ± desviación estándar) correspondientes a la concentración en ng/ml de ácido hialurónico en líquido sinovial (LISIAH) de las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

FIG. 81: EVALUACIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE ÁCIDO HIALURÓNICO (AH)



Datos estadísticos (expresados en media ± desviación estándar) correspondientes a la concentración en ng/ml de ácido hialurónico en líquido sinovial (AH) de las visitas V1, V3 y V4 en los animales de ambos protocolos.

En el análisis estadístico de ambos protocolos de la **LISIAH** dentro de cada una de las visitas no se aprecian diferencias significativas entre ellos. Al analizar estadísticamente las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, tampoco existen diferencias significativas entre las visitas en ninguno de ambos protocolos.

DISCUSIÓN

5.1.- METODOLOGÍA

En nuestro estudio nos hemos planteado valorar cómo afecta la administración oral de ácido hialurónico (AH) de elevado peso molecular a la progresión temprana de la sinovitis en el perro. El uso del AH como lubricante articular, inhibidor de la producción de metaloproteasas de matriz y otros mediadores inflamatorios inducida por citoquinas (*Wang y cols, 2006; Santangelo y cols, 2007; Waddell y cols, 2007*) y como analgésico (*Pozo y cols, 1997; Gomis y cols, 2007*), ha sido ampliamente demostrado. En este estudio hemos usado ácido hialurónico de elevado peso molecular porque se ha demostrado su efectividad administrado vía oral en el tratamiento de pacientes humanos con osteoartritis avanzada (*Tashiro y cols, 2012*). Por otro lado, la mayoría de estudios en los que se ha usado el ácido hialurónico han intentado evaluar la progresión de la osteoartritis o sinovitis a medio o largo plazo, no existiendo estudios que evalúen la respuesta temprana. La vía tradicionalmente elegida para la administración de ácido hialurónico en perros ha sido la parenteral (intravenosa o intraarticular) aunque tienen desventajas o inconvenientes como la necesidad de repetidas inyecciones (*Day y cols, 2004*), visitas frecuentes al veterinario y posibles infecciones asociadas a las inyecciones intraarticulares (*Adams y cols, 2000*), y un coste económico elevado. Puesto que el ácido hialurónico presenta buena absorción y biodisponibilidad tras su administración vía oral (*Balogh y cols, 2008*) y que podemos evitar las complicaciones asociadas a la vía parenteral, consideramos que es la vía ideal en pequeños animales.

En nuestro estudio el modelo elegido ha sido la sinovitis secundaria a la rotura del ligamento cruzado craneal (LCC). La lesión del LCC es una de las primeras causas de claudicación en el perro, con un impacto anual en la economía de los Estados Unidos de 1,3 billones de dólares (*Wilke y cols, 2005*). Adicionalmente, la artrocentesis con aguja fina presenta un bajo índice de complicaciones, no tiene incidencia negativa en la calidad del líquido sinovial y se puede obtener un volumen de líquido sinovial mayor que en otras articulaciones (*Berg y cols, 2009*).

El rango de edad del estudio fue establecido entre 1 y 10 años. El rango inferior fue seleccionado basándonos en estudios que demuestran que los animales de razas grandes pueden sufrir roturas de LCC a edades tempranas, incluso por debajo de los dos años (*Duval y cols, 1999*). El límite superior fueron los 10 años porque por encima de esa edad los procesos de consolidación ósea y evolución postquirúrgica están ralentizados (*Gruber y cols, 2006*), retrasando los procesos de formación de cartílago y hueso, la resorción cartilaginosa, y el depósito de minerales en callo óseo (*Meyer y cols, 2001; Meyer y cols, 2003*). Todo ello podría interferir de forma negativa en la correcta evaluación de los pacientes.

El rango de peso, entre 15 y 45 kg, fue elegido porque el límite inferior ha sido usado en estudios similares con un elevado número de animales para diferenciar perros pequeños de medianos y grandes en los que realizar una técnica estabilizadora de la biomecánica de la

rodilla para resolver una lesión del LCC (*Harasen, 2008*). Además, en animales cuyo peso es menor de 15 kg la extracción de líquido sinovial es más compleja y el volumen obtenido en cada una de las extracciones es menor que en perros de mayor tamaño. El límite superior se estableció en 45 kg por la existencia de estudios que indican que una de las posibles limitaciones de la técnica del avance de la tuberosidad tibial lo suponen las razas gigantes, a partir de ese peso (*Burns y cols, 2008*).

Los pacientes se seleccionaron evitando animales con patologías o alteraciones que pudiesen afectar a los procesos de reparación tisular. Los obesos fueron excluidos del estudio por las numerosas posibles complicaciones postquirúrgicas asociadas con la obesidad: retrasos en la cicatrización, deficiencias vasculares y alteraciones en los mediadores inmunes (*Pierpont y cols, 2014*). El tejido adiposo en el perro es un órgano endocrino importante que elabora mediadores químicos como citoquinas que pueden ser proinflamatorias y alterar los resultados de nuestro estudio (*Trayhurn y cols, 2006; O'Hara y cols, 2009*). Se evitaron también animales diabéticos por su predisposición a desarrollar infecciones postquirúrgicas (*Nolan y cols, 1978*), prolongación del tiempo de inflamación, disminución de la síntesis de colágeno y aumento de los niveles de proteinasas (*Fahey y cols, 1991; Loots, 1998; Niedbala y cols, 1999*), así como anomalías en la síntesis y secreción de proteínas de la matriz extracelular y citoquinas (*Tredget y cols, 1997*). Asimismo, se evitaron animales con patologías metabólicas como el síndrome de Cushing, porque los corticoides, tanto endógenos como exógenos en niveles elevados, tienen la capacidad de reprimir la transcripción de genes que codifican ciertas citoquinas proinflamatorias y moléculas de adhesión que, a su vez, influyen en el movimiento de las células inmunológicas y las interacciones celulares (*Niedbala, y cols, 1999; Al-Ghazlat, 2009*).

Los animales con tratamiento inmunosupresor 2 meses antes del comienzo del estudio también fueron rechazados puesto que los fármacos inmunosupresores más habitualmente usados (como azatioprina, ciclosporina, glucocorticoides, ciclofosfamida) interfieren con la producción de las citoquinas proinflamatorias y pueden alterar los resultados de nuestro estudio (*Heyman, 2000; Gregory, 2000*).

Los AINEs más habitualmente usados en medicina veterinaria poseen un periodo de acción terapéutica máximo de 74 horas (*Lees, 2009*). Por ello se decidió no incluir en el estudio animales que hubiesen recibido tratamiento con antiinflamatorios 15 días antes del comienzo del mismo. De la misma manera, puesto que el efecto de los condroprotectores puede perdurar en los animales hasta 2 meses después de la supresión del tratamiento (*Vergés, 2001*) estimulando la producción de ácido hialurónico (*Ronca y cols, 1998; Blanco, 2002*) y reduciendo los niveles de NO (*Vergés, 1998*), se eliminaron del estudio aquellos animales que hubiesen recibido tratamiento condroprotector dentro de los 2 meses anteriores al estudio.

El diagnóstico de la lesión del ligamento cruzado craneal en el perro se realizó tras una adecuada exploración física y ortopédica, acompañada de una anamnesis y evaluación completa del historial clínico. EL historial clínico permitió evaluar la antigüedad de la lesión. La exploración física del paciente distinguía entre procesos agudos, en los cuales se identificó un movimiento de pivote brusco en apoyo que hace sobrepasar a la rodilla su límite de rotación interna (*Paatsama, 1953; Arnoczky, 1980*), o bien procesos crónicos, que presentaban claudicaciones con comienzos más insidiosos, intermitentes y que empeoraban con el ejercicio.

La ecografía se usó como método no invasivo de control de la evolución de la sinovitis, permitiendo evaluar estructuras intraarticulares y extraarticulares (*Samii y cols, 2002; Soler y cols, 2007*). Si bien no es un método preciso para la evaluación de la rotura del LCC en el perro, sí es específico para evaluar los cambios patológicos secundarios a la inestabilidad articular en los tejidos blandos adyacentes (*Gnudi y cols, 2001*). La ecografía de la rodilla es útil para poder evaluar la progresión, tanto en tamaño como en estructura, de meniscos y ligamentos (rotuliano, colaterales), las distensiones de la cápsula articular secundaria a las variaciones del volumen de líquido sinovial así como para verificar cambios degenerativos, identificando entesiofitos u osteofitos (*Cook, 2010*). Por último, el grosor de los cartílagos articulares condilares femorales fue también evaluado mediante ecografía ya que, en este caso, presenta ventajas sobre la radiología (*Wick y cols, 2012*).

Existen diversas técnicas para modificar la biomecánica de la rodilla y corregir la lesión del LCC: técnica del avance de la tuberosidad tibial (TTA), técnica niveladora de la meseta tibial (TPLO), triple osteotomía tibial (TTO), y la osteotomía tibial en cuña (TWO). En nuestro caso, elegimos el avance de la tuberosidad tibial (TTA) porque es un procedimiento quirúrgico comparativamente menos invasivo que no cambia la geometría de la rodilla y protege mejor la distribución de la presión sobre el cartílago articular (*Boudrieau, 2009*). Además de lo anteriormente detallado, la TTA es un procedimiento más simple, con menor posibilidad de daño iatrogénico que otros sistemas y con un excelente porcentaje de éxito en manos de cirujanos especializados (*Boudrieau, 2009*).

Con el objetivo de evaluar el efecto que la administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular tenía en la sinovitis posterior a la rotura del LCC y su reparación mediante la técnica de la TTA, se eligieron tres grupos de marcadores: citoquinas, marcadores gaseosos y proteínas de fase aguda. La razón de esta elección fue seguir el proceso fisiológico de la osteoartritis y la sinovitis. En dicho proceso están involucrados los condrocitos, el cartílago y otros tejidos (*Abramson, 2008*), cuya progresiva erosión afecta al hueso subcondral e induce un grado variable de inflamación sinovial (*Pelletier y cols, 2001*). Como consecuencia de lo anterior, las células óseas producen o modifican unos factores locales, llamados citoquinas que alteran la función del condrocito (*Westacott y cols, 1997*). De este primer grupo de factores elegimos la **TNF- α** por desempeñar un papel muy importante en la inflamación articular (*Doom y cols, 2008*) y estar involucradas tanto en procesos articulares agudos

(Joosten y cols, 1996; Cameron y cols, 1997; Bolon y cols, 2004) como crónicos (Emshoff y cols, 2000; Sudekai y cols, 2004).

El aumento de la producción de citoquinas está correlacionado con un estímulo de la producción de **NO**, el principal y más ampliamente estudiado mediador gaseoso inflamatorio (Koch y cols, 2007; Kitasato y cols, 2007). El NO fue elegido por su función reguladora del tono vascular y vasodilatadora endógena (Bredt y cols, 1994), así como por su papel crítico en la producción y reducción de la nocicepción y el dolor (Abramson, 2008).

El aumento de las citoquinas como respuesta a un estímulo inflamatorio induce una reacción de fase aguda en el organismo del animal cuyo objetivo primordial es restaurar la homeostasis normal y eliminar la causa patológica (Whicher y cols, 1992; Ebersole y cols, 2000; Cerón y cols, 2005). Las proteínas de fase aguda que incrementan su concentración como respuesta a un estímulo inflamatorio (llamadas APPs positivas) son glicoproteínas sintetizadas principalmente (aunque no de forma exclusiva) en los hepatocitos. En nuestro caso elegimos la proteína C reactiva (CRP) y la haptoglobina (HAP) como representantes de las proteínas mayores y el amiloide sérico A (SAA) como representante de las proteínas moderadas.

Con respecto a las proteínas mayores, tanto la CRP como la SAA son marcadores específicos y sensibles de inflamación en el perro (Christensen y cols, 2014). La medición rutinaria de la **CRP** con fines de diagnóstico y monitorización ha sido bien documentada en el perro (Nakamura y cols, 2008; Gebhardt y cols, 2009), además de destacar la existencia de ensayos comercialmente disponibles de humana validados para su medición rutinaria en el perro (Klenner y cols, 2010; Kjelgaard-Hansen, 2011). El **SAA**, tanto en medicina humana (Cas/ y cols, 1994; Pizzini y cols, 2000) como en el perro, se ha evidenciado como un marcador muy sensible y específico de inflamación sistémica, con resultados incluso superiores a la CRP (Christensen y cols, 2014). Sus funciones principales son disminuir la respuesta inflamatoria, intervenir en el transporte de lípidos (Cerón y cols, 2005), disminuir la producción de prostaglandinas y activar las plaquetas (Cecilianí y cols, 2002). La **HAP** fue elegida por, entre otras funciones, estar involucrada en la respuesta del hospedador a la infección y la inflamación y actuar como antagonista natural para la activación ligada a los receptores del sistema inmune (Cerón y cols, 2005). Sus incrementos, aunque no tan elevados como los que se dan en ovino y vacuno, son un instrumento de diagnóstico válido (Eckersall y cols, 1988; Eckersall, 1995). También hemos medido estas proteínas de fase aguda por su utilidad como marcadores de pronóstico y diagnóstico para una identificación temprana de la inflamación y para prevención de la evolución del proceso osteoartítico (Kajikawa y cols, 1999; Crisman y cols, 2008).

5.2.- RESULTADOS CLÍNICOS

El examen clínico del paciente fue llevado a cabo con un doble objetivo: constatar la progresión del paciente por parte del veterinario y evaluar la percepción de la misma por parte del propietario.

5.2.1.- EXAMEN CLÍNICO POR EL VETERINARIO

En primer lugar, es importante señalar que tanto los parámetros clínicos evaluados por el veterinario como la percepción que tuvo el propietario de la mejora del animal, pudieron estar condicionados por la gran efectividad de la técnica de la TTA y la excelente evolución postquirúrgica de los pacientes (*Stein y cols, 2008*). Es importante señalar que, en el procedimiento quirúrgico diseñado para nuestro estudio, se incluyó la realización de una artrotomía para explorar los meniscos. Esta incisión de la cápsula articular se cerró mediante una capsulorrafia, técnica que ayuda a evitar la traslación tibial y la rotación interna de la tibia y proporciona una estabilidad adicional a la rodilla (*Hohn y cols, 1975*).

En la evolución de la cojera (**VASC**), aunque no existen diferencias significativas entre grupos, se aprecia una respuesta más temprana en los animales del protocolo B (diferencias significativas entre todas las visitas) que en los del protocolo A (diferencias entre todas menos en V0 vs V2). Esto podría deberse al efecto condroprotector y analgésico del ácido hialurónico sobre el dolor demostrado en medicina humana (*Pozo y cols, 1997; Gomis y cols, 2007*) y en el conejo (*Hashizume y cols, 2010*). En estudios en la especie humana realizados a 6 meses, el ácido hialurónico disminuye la inflamación e incrementa la viscosidad del líquido sinovial (*Waddell y cols, 2007; Vincent y cols, 2013*). En un estudio reciente, el uso de ácido hialurónico en pacientes humanos con osteoartritis ofreció resultados muy parecidos a los expresados en el nuestro (*Tashiro y cols, 2012*). En este estudio, también se evidenció una aparente falta de efecto del ácido hialurónico en la fase tardía del mismo, hipotetizando que podía deberse a que el grupo que recibió tratamiento con ácido hialurónico era menos sintomático en ese periodo (había mejorado más en las primeras semanas) y, por lo tanto, no podía seguir mejorando tanto como el placebo. Si este planteamiento es correcto, podríamos sugerir que la mejoría es más rápida cuanto más sintomático es el paciente y estos parámetros están influenciados positivamente por la administración de ácido hialurónico.

De todas maneras, la evolución positiva de la claudicación del animal parece estar ayudada, tal y como se ha comentado anteriormente, y en una parte muy importante, por la estabilización quirúrgica de la rodilla. Estudios en los que se usó el ácido hialurónico por vía intraarticular en animales cuya rodilla no se estabilizó quirúrgicamente, no hubo mejoría en la carga de peso en la extremidad ni en la progresión de la osteoartritis (*Smith y cols, 2005*).

En la evaluación del dolor (**VASD**), no existen diferencias entre protocolos, pero hay diferencias significativas entre todas las visitas dentro de cada protocolo, por lo que no parece tener influencia la administración de ácido hialurónico en la evolución del dolor entre el momento prequirúrgico y las 2, 4 y 10 semanas postquirúrgicas. Es necesario destacar que, aunque es lógico pensar que el grado de dolor y la claudicación manifestada por el animal deberían estar muy ligadas, fueron evaluadas en circunstancias diferentes. El dolor fue evaluado forzando la flexión y extensión completas, así como la rotación de la rodilla, mientras que la cojera fue evaluada durante la marcha, situación clínica en la que el animal mueve y apoya la extremidad con un ángulo de 130-135° (*Laborda y cols, 2005*).

La valoración semicuantitativa de la cojera (**VCOJ**) tampoco mostró diferencias significativas entre grupos. La gran efectividad de la cirugía, junto con la gran mejora postquirúrgica experimentada por los animales, podría camuflar las pequeñas diferencias entre protocolos (si las hubiera). En este parámetro se evidencia una mejor evolución en el protocolo A que en el B. Sin embargo, al comparar estos resultados con la valoración continua de la cojera (**VASC**), los resultados son diferentes a pesar de que ambos parámetros evalúan el grado de claudicación del animal. Las diferencias entre ambos criterios pueden explicarse porque, como demostró Welsh en 1993, aunque no existían diferencias significativas en ambos criterios de evaluación, tampoco existía un acuerdo completo entre ellos (un VCOJ de 4 - cojera máxima sin apoyo - fue asociado con valores de VASC por encima de 68, indicando que los incrementos de VCOJ no necesariamente reflejan incrementos iguales del grado de VASC). La medición continua (**VASC**) es un método más fiable y preciso que la no continua (**VCOJ**). Perros incluidos dentro de la misma categoría pueden tener diferencias muy apreciables en su cojera (*Waxman y cols, 2008*).

La valoración del cajón directo (**CD**) no evidenció diferencias entre protocolos, lo que puede explicarse por una homogénea distribución de los pacientes en los grupos A y B, una correcta colocación y estabilidad de los implantes y por la ausencia de complicaciones postquirúrgicas en todos los casos. Respecto a diferencias entre visitas dentro del mismo protocolo, en el protocolo A, las diferencias son significativas entre la visita prequirúrgica y las tres postquirúrgicas, pero no en los demás casos, mientras que en el protocolo B no hubo diferencias significativas en ninguna de las visitas. En ninguno de los dos protocolos hay diferencias entre V2 vs V3, V2 vs V4 ni V3 vs V4, evidenciando que, después de la V2, la mejoría del CD no es significativa independientemente del protocolo analizado. Las diferentes evoluciones de las visitas dentro de cada protocolo, más progresiva y menos marcada en el caso del protocolo B, muestran la falta de influencia de la administración de ácido hialurónico en la evolución de este parámetro. Este dato se puede justificar si hubiera habido una diferente cronicidad de la lesión del ligamento cruzado anterior en el T0, ya que en lesiones más antiguas la fibrosis periarticular tiende a estabilizar la rodilla de manera fisiopatológica, haciendo el signo del cajón directo menos evidente (*Jerram y cols, 2003*). En este caso, no

podemos confirmar esta hipótesis debido a que no se emplea como sesgo la cronicidad de la lesión en el T0.

La valoración del cajón indirecto (**CI**) no evidenció diferencias entre protocolos. Las diferencias entre V0 y el resto de visitas en ambos protocolos, junto con la ausencia de diferencias entre todas las demás visitas, es atribuible a que la técnica quirúrgica de la TTA anula el desplazamiento craneal de la tibia durante la flexión del tarso, eliminando el signo del cajón indirecto (*Tepic y cols, 2002*). Esto explica que no existan mejorías estadísticamente significativas a partir de V2 y corrobora la correcta realización de la técnica quirúrgica en todos los animales incluidos.

La aparición de la efusión sinovial en la rodilla es un hallazgo prácticamente constante en los episodios agudos, mientras que en los crónicos es mucho menos habitual y evidente. La valoración del grado de efusión sinovial (**ESV**) no evidenció diferencias entre protocolos. Al comparar la evolución de la efusión sinovial dentro de cada uno de los protocolos, se observó que hubo mejoría estadísticamente significativa en ambos siendo más rápida en el grupo placebo (diferencias entre V0 vs V2) que el que recibió tratamiento con ácido hialurónico, aunque en este segundo grupo la mejoría siguió siendo evidente durante más tiempo (también en V3 vs V4). De hecho, en el protocolo B, ninguno de los animales evidenció efusión sinovial al final del estudio, a las 10 semanas. Nuestro resultado podría parecer entrar en conflicto con el publicado referente a la evolución de la efusión sinovial en la rodilla por Innes (*Innes y cols, 2004*) en el que un porcentaje importante de los animales no evidenciaba mejoría y unos pocos empeoraban en la valoración de este parámetro tras la resolución quirúrgica de una rotura del LCC. Pero hay diferencias que pueden explicarlo: Innes reevaluó la efusión radiológica, no clínica; lo hizo a los 6 y a los 13 meses del procedimiento quirúrgico en lugar de hacerlo de forma temprana; y la resolución quirúrgica se llevó a cabo mediante una técnica que usó un implante de fascia intraarticular, no modificadora de la biomecánica de la rodilla. Otro estudio más reciente en el que se empleó la técnica de la TTA para la resolución quirúrgica (*Morgan y cols, 2010*) también obtuvo resultados similares a los anteriores descritos por Innes. En este caso, la reevaluación de la efusión sinovial también fue radiológica y no clínica y se realizó a los 4 y 6 meses del procedimiento quirúrgico. A diferencia de nuestro estudio, en los casos anteriores, Morgan e Innes evaluaron la efusión sinovial mediante una escala semicuantitativa (0-3 y 0-2 respectivamente) y dentro de un concepto denominado “progresión de la osteoartritis” (evaluado conjuntamente con producción de osteofitos y mineralización intraarticular) y no de forma individualizada. Además, en el estudio de Morgan se realizó la artrotomía únicamente en las rodillas con lesión meniscal (previamente se realizó una artroscopia de evaluación). Nuestra evaluación fue clínica y se categorizó como presente o no presente (si/no), y se realizó tomando la efusión sinovial como un parámetro independiente. Además, y comentado con anterioridad, las diferentes cronicidades iniciales en el T0 (*Jerram y cols, 2003*) podrían afectar a que las conclusiones de nuestro estudio fueran diferentes.

La evaluación del dolor a la hiperextensión de la rodilla (**DH**) no evidenció diferencias entre protocolos, algo atribuible a lo explicado anteriormente. La evolución de las visitas dentro del protocolo A evidencia diferencias entre todas ellas menos V2 vs V3, mientras que en el protocolo B hay en todas menos V2 vs V3 y V3 vs V4. Este resultado está en consonancia con los obtenidos en las otras pruebas del examen clínico llevado a cabo por el veterinario (*Tashiro y cols, 2012*).

5.2.2.- EVALUACIÓN DE LA PROGRASIÓN POR EL VETERINARIO

En la percepción que tuvo el propietario sobre la evolución del animal, los resultados son similares a los encontrados durante el examen clínico del veterinario. La evolución general del animal (**EVAP**) entre visitas del mismo protocolo permite constatar una mejoría igual de rápida en ambos protocolos.

La valoración de la cojera observada por el propietario (**EPCOJ**) evidencia unos resultados similares, en los que la evolución del protocolo B es más temprana que en el caso de los animales del protocolo A, siendo en este grupo la mejoría más prolongada en el tiempo. Tanto en EVAP como en EPCOJ, el efecto condroprotector del ácido hialurónico puede facilitar una mejora más rápida en las primeras visitas en el protocolo B, lo que explicaría que no hubiese mejoría tardía como en el grupo A. Esto estaría en consonancia con lo indicado en la exploración del veterinario en el que se evidenció que, en estudios en humana, los individuos más jóvenes y sintomáticos tratados con ácido hialurónico evolucionan antes y, por lo tanto la mejoría tardía es menor (*Tashiro y cols, 2012*).

Por el contrario, los propietarios de ambos grupos no establecieron diferencias en la facilidad para el animal para levantarse desde la posición de sentado (EPLEV) entre visitas del mismo protocolo ni entre protocolos dentro de cada visita, no evidenciándose alteración de este parámetro por la administración de ácido hialurónico.

Como resumen de la evolución clínica, no existen diferencias entre protocolos en ninguno de los parámetros analizados. Al comparar las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, observamos ambos grupos evolucionan de igual manera en la evolución del dolor (VASD), cajón directo (CD), cajón indirecto (CI), evaluación general del propietario (EVAP) y facilidad para levantarse desde sentado (EPLEV). El grupo B evoluciona de forma más temprana en la valoración continua de la rodilla (VASC), dolor a la hiperextensión (DH) y percepción de la cojera por el propietario (EPCOJ) y de forma más prolongada en la efusión sinovial (ESV). El grupo A evoluciona mejor en la valoración no continua de la cojera (VCOJ). Estos resultados revelan una mejoría ligeramente más rápida en el grupo B (tratamiento), aunque la elevada eficacia de la técnica quirúrgica y la falta de complicaciones postquirúrgicas

pueden enmascarar parcialmente los efectos condroprotectores y analgésicos del ácido hialurónico.

5.3.- OBSERVACIONES QUIRÚRGICAS

Los meniscos son dos estructuras fibrocartilaginosas con forma de C que se encuentran dentro de la articulación de la rodilla y está anclados por diversos ligamentos a la tibia, al fémur y entre sí (*Hulse y cols, 1983; Bennet y cols, 1991; Flo, 1993; Williams y cols, 1994; Briggs, 2004*). En concreto, cada ligamento se encuentra unido a la tibia craneal y caudalmente por medio de ligamentos meniscotibiales que conectan ambos polos. Además, el menisco medial está anclado al aspecto medial de la cápsula articular y a ligamento colateral medial, mientras que el lateral presenta anclajes caudales al fémur y está menos unido al aspecto lateral de la cápsula articular (*Vasseur, 1993*). Entre un 40% y un 60% de los perros con lesión del LCC presentan lesión meniscal concomitante (*Ralphs y cols, 2002; Casale y cols, 2009*). Y como consecuencia de las diferencias en la fijación meniscal dentro de la rodilla, el menisco medial sufre más lesiones porque está firmemente anclado a la tibia y suele desplazarse cranealmente a los cóndilos femorales durante la traslación de la tibia, mientras que el lateral se encuentra más libre y mantiene una posición más neutra durante los episodios de subluxación femorotibial (*Vasseur, 1993*). Nuestro estudio coincide con ambas afirmaciones pues, en nuestro caso, un 4,34% de los animales sufrieron lesión en el menisco medial y un 54,83 lo tuvieron en el medial.

Con respecto a la valoración de los meniscos, el análisis estadístico de la presencia o ausencia de lesiones, así como la realización de meniscectomías totales o parciales cuando fue considerado necesario, no evidenció diferencias significativas entre ambos protocolos, lo que demuestra la homogeneidad de ambos grupos. Esto nos permite afirmar que la existencia o ausencia de lesiones meniscales y su tratamiento no supusieron un sesgo en el análisis de los resultados de nuestro estudio.

5.4.- EXAMEN ECOGRÁFICO

La ecografía es un método válido para evaluar la enfermedad articular. La efusión articular, engrosamiento de la cápsula, defectos del cartílago, destrucción ósea, roturas tendinosas parciales o completas, tendinitis y tendosinovitis son alteraciones identificables ecográficamente (*Kramer y cols, 1997*). De la misma manera, también se pueden evaluar los ligamentos superficiales, tendones y lesiones meniscales asociadas con rotura del LCC (*Arnault y cols, 2009*).

El primer tendón analizado ecográficamente fue el del músculo cuádriceps femoral. En él se evaluó su grosor y su textura. Ninguno de los dos parámetros mostraron diferencias significativas entre protocolos dentro de la misma visita ni entre visitas dentro de cada uno de los dos protocolos, lo que nos permite afirmar que no existe un incremento de la carga sobre ese tendón que induzca su engrosamiento ni su desmitis. Esta afirmación y nuestros hallazgos, están en consonancia con estudios biomecánicos ya descritos (*Boudrieau, 2009*) en los que se afirma que el avance de la tuberosidad tibial disminuye, teóricamente, el esfuerzo que el animal realiza para extender la extremidad. También se evidencia que la administración de ácido hialurónico no influye en la evolución de esta estructura en el tiempo postquirúrgico.

La efusión sinovial palpable en la rodilla es un hallazgo altamente sugerente de lesión del LCC (*Powers y cols, 2005*) y hoy sabemos que las principales técnicas quirúrgicas estabilizadoras de la rodilla frenan, pero no detienen, la progresión de la osteoartritis de la rodilla (*Lazar y cols, 2005; Hoffman y cols, 2006; Morgan y cols, 2010; MacDonald y cols, 2013*) algo, por otro lado, fácil de evaluar radiológicamente (*DeLuke y cols, 2012; MacDonald y cols, 2013*). Uno (*MacDonald y cols, 2013*) o varios (*Bennet y cols, 2013*) parámetros se usan en la mayoría de estudios para evaluar la progresión radiológica de la osteoartritis en la rodilla: presencia de osteofitos, incremento de la efusión sinovial e incremento de la radiopacidad del fémur distal son los más habituales. En estos estudios, los parámetros se evalúan por separado y la puntuación final determina una mayor o menor progresión de la osteoartritis. En nuestro estudio se ha evaluado ecográficamente la progresión en el tiempo de la efusión sinovial tras la realización de una TTA. La ecografía nos permite ver, de una manera más precisa que la radiología convencional, el tamaño del receso sinovial suprarrotuliano y la distensión capsular infrarrotuliana, pudiendo medir su amplitud en cada una de las visitas de control y evaluar su progresión. En nuestro estudio no hemos encontrado diferencias significativas entre los diferentes protocolos ni entre visitas en cada uno de los protocolos, pudiendo afirmar que ambos recesos no se modifican a lo largo de las 10 semanas. Al no existir estudios en animales con osteoartrosis secundaria a la lesión del LCC que evalúen radiológicamente solo la efusión sinovial, no podemos establecer una correlación entre los datos existentes y nuestros hallazgos ecográficos.

La evolución del ligamento rotuliano tras la realización del avance de la tuberosidad tibial ha ofrecido históricamente resultados contradictorios. La teoría del procedimiento quirúrgico indica que la TTA aumenta la distancia entre la zona de contacto femorotibial y la nueva inserción del ligamento rotuliano (*Guerrero y cols, 2011*), incrementando el brazo de palanca y reduciendo el esfuerzo para extender la extremidad y el estrés sobre el ligamento rotuliano – (*Boudrieau, 2009*). Pero la realidad es que hay estudios que demuestran radiológica y ecográficamente que existe un incremento en el grosor de dicho ligamento tras la cirugía (*Kuhn y cols, 2011*). Este incremento del grosor también está demostrado usando otra técnica modificadora de la biomecánica de la rodilla, la nivelación de la meseta tibial (TPLO) (*Mattern y*

cols, 2006). Nuestros hallazgos son concordantes con los estudios de Kuhn y Mattern, pues hemos observado incrementos en el grosor en el tiempo del ligamento rotuliano en los tres niveles de medición (origen – **LRO** –, central – **LRC** – e inserción tibial – **LRI** –). En el incremento del grosor pueden influir diferentes factores: la magnitud del avance tras la osteotomía, la anatomía de la cresta tibial, la realización o no de artrotomía y la actividad física postquirúrgica (*Pacchiana y cols, 2003; Mattern y cols, 2006; Kuhn y cols, 2011*). En el caso concreto de la TTA, cuanto mayor sea la magnitud del avance de la cresta tibial mayor será el cambio en el ángulo de unión entre el ligamento y la tibia y la modificación del área de contacto entre ellos (sobre todo en flexión). Esta nueva zona de contacto no está cubierta por la bolsa sinovial, lo que puede inducir cambios en el ligamento (*Kuhn y cols, 2011*) y, con el tiempo, cambiar la morfología local induciendo una cierta remodelación ósea (*Botte, 2010*). Este incremento de la zona de contacto entre el ligamento y el hueso también se puede ver influenciado por la posición de la cresta tibial: cuanto más distal sea, mayor será la zona de contacto y mayor será la posibilidad de que aparezcan cambios en el ligamento (*Kuhn y cols, 2011*). Por último, la artrotomía pararrotuliana también parece tener efecto sobre el ligamento rotuliano, ya que en aquellos casos en los que la TTA no se acompañó de la misma, el ligamento evidenció menos cambios ecográficos (*Kuhn y cols, 2011*).

En el caso concreto de nuestro estudio, no encontramos diferencias significativas en el grosor del ligamento rotuliano entre ambos protocolos. Al comparar las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, observamos que el grosor del ligamento se incrementa en los tres puntos de control establecidos, aunque no por igual en ambos grupos. En el origen, el grupo placebo (protocolo A) presenta una progresión de engrosamiento menor que el del grupo del ácido hialurónico (protocolo B), en el punto central ambos evolucionan de igual manera y en la inserción tibial hay incremento del grosor en el grupo placebo pero no en el del ácido hialurónico. La textura del ligamento rotuliano experimentó una evolución similar en ambos protocolos, siendo tendente a la heterogeneidad moderada. Con respecto a la textura del ligamento rotuliano (**LRH**), si comparamos ambos protocolos tampoco se evidencian diferencias significativas entre ambos, hallazgo coincidente con los datos publicados por Kuhn y cols, en 2011. Si comparamos las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, la progresión de la heterogeneidad es más rápida en el grupo placebo.

En los animales que presentan inestabilidad articular secundaria a la sección experimental del ligamento cruzado craneal, el cartílago condilar femoral se ve afectado porque debe soportar una carga mayor. Este incremento de la carga daña los condrocitos, pudiendo inducir apoptosis de los mismos (*D'Lima y cols, 2001; Loening y cols, 2001*). Las alteraciones inducidas incluyen modificaciones en la morfología de los condrocitos (asociadas con aumento de la síntesis de matriz cartilaginosa) y de la matriz, que aparece desorganizada y con fibras de colágeno separadas, desorientadas y de menor diámetro (*Orford y cols, 1983*). La administración de ácido hialurónico intraarticular ha mostrado una evidente capacidad para

regenerar cartílago en la rodilla en la especie humana (*Chareancholvanich y cols, 2014*). Sin embargo, la mayoría de estudios son proyectados con un periodo de tiempo de revisión de, como mínimo 1 año, siendo deseables incluso tiempos de control más prolongados para poder evaluar la producción o regeneración del cartílago articular de la rodilla tras un procedimiento quirúrgico (*Chareancholvanich y cols, 2014*). Estudios en la especie canina durante periodos de tiempo más cortos (12 semanas) demostraron que los animales a los que se les había seccionado experimentalmente el LCC y recibieron tratamiento de ácido hialurónico vía endovenosa o intraarticular, sufrieron menos apoptosis que aquellos que no recibieron tratamiento (*Echigo y cols, 2006*). Sin embargo, a diferencia de nuestro estudio, en este caso la rodilla no fue estabilizada posteriormente, por lo que el daño soportado por el cartílago como consecuencia de la inestabilidad articular siguió manteniéndose en el tiempo durante todo el estudio.

La ecografía es un sistema seguro, no invasivo, de bajo coste, bien tolerado por los pacientes, que puede realizarse con el animal consciente o bajo ligera sedación (*Kramer y cols, 1999*) y clínicamente aplicable en la evaluación de la mayoría de estructuras intraarticulares (*Reed y cols, 1995; Kramer y cols, 1999*). Sin embargo, y con respecto a la evaluación de los cartílagos condilares femorales, hay que tener en cuenta la limitación en la precisión diagnóstica que la ecografía presenta si la comparamos con técnicas de mayor resolución como la resonancia magnética. En la inspección ecográfica de los cóndilos femorales, el abordaje permite evaluar principalmente el cartílago articular en las porciones centrales del cóndilo, con lo que pueden obviarse zonas de adelgazamiento o lesiones en las áreas periféricas (*Kramer y cols, 1999; Soler y cols, 2007*).

En cualquier caso, no se observan diferencias significativas entre protocolos ni en el cóndilo lateral (**CCL**) ni en el medial (**CCM**). En el cóndilo lateral, observamos engrosamiento entre visitas en el grupo A, mientras que no lo apreciamos en el grupo B. Sin embargo, en el caso del cóndilo medial existen más diferencias significativas en el protocolo B (que es el que generalmente sufre más cuando está lesionado el LCC) que en el A. Esta disparidad de resultados puede atribuirse a las diferentes cronicidades iniciales, la influencia del peso del animal en el grosor del cartílago y a la ya mencionada limitación diagnóstica de la ecografía (*Soler y cols, 2007*).

En cuanto a los ligamentos colaterales lateral y medial se midieron sus grosores (**LCL** y **LCM**) y evaluaron sus texturas (**LCLH** y **LCMH**). La medición de los grosores en ambos ligamentos, no evidenciaron diferencias significativas entre protocolos dentro de cada visita ni entre visitas dentro de cada protocolo. El mismo razonamiento descrito para el caso del tendón del músculo cuádriceps femoral es, probablemente, válido en este caso: modificar la biomecánica de la rodilla mediante la TTA, aumenta el brazo de palanca y, por lo tanto, disminuye la fuerza necesaria para extender la extremidad y la fuerza que deben soportar los

ligamentos (*Boudrieau, 2009*). La ausencia de engrosamiento de los ligamentos colaterales evidenciada en nuestro estudio, está en consonancia con los estudios antes descritos.

Sin embargo, aunque las texturas no presentaron diferencias significativas entre protocolos, si hubo diferencias entre la evolución dentro de cada uno de los mismos. En el grupo placebo, la textura empeoró entre visitas tanto en el ligamento colateral como en el medial, mientras que no hubo diferencias entre visitas dentro del protocolo B. Teóricamente, varios factores podrían influenciar este hecho: la diferente textura inicial influenciada por la distinta cronicidad de los pacientes, las diferentes lesiones meniscales y el tratamiento quirúrgico de las mismas y la administración de ácido hialurónico. Puesto que no existen diferencias significativas en las texturas iniciales ni en las lesiones meniscales y no es evaluable en nuestro estudio la cronicidad inicial de los pacientes, la única variable existente es la administración de ácido hialurónico. Serían necesarios más estudios en profundidad para vincular la administración de ácido hialurónico con el no empeoramiento de la textura de los ligamentos tras la realización de la TTA, algo que no podemos afirmar categóricamente solo con los resultados de nuestro estudio.

La irregularidad de la superficie rotuliana (**ROT**) se tomó como un factor en la progresión de la osteoartritis y se evaluó identificando, fundamentalmente, osteofitos en el ápex rotuliano. No se apreciaron diferencias significativas al comparar protocolos, aunque al comparar la evolución de las visitas dentro de cada uno de los protocolos, nos encontramos con que en el grupo A el parámetro se mantiene constante y en el grupo B hay un empeoramiento entre la visita prequirúrgica y las realizadas a las 2 y a las 10 semanas. Estos resultados concuerdan con otros en los que se evaluó la presencia de osteofitos en la rótula de animales con lesión de LCC antes y después de realizar una TTA y en el que un 55% de los animales mostró progresión de la osteoartritis, aunque la duración del estudio fue más prolongada (4 y 16 meses tras la cirugía) y se evaluó la progresión de la osteoartritis de forma conjunta con otros factores (meniscos, lesiones cartilaginosas, etc.) (*Morgan y cols, 2010*).

La ecografía es un método válido para evaluar los meniscos, tanto el lateral (**ML**) como el medial (**MM**) (*Arnault y cols, 2009*). En nuestro estudio no hemos encontrado diferencias significativas entre protocolos. Sin embargo, en el protocolo B se observaron mejoras significativas en ambos meniscos entre la primera y la última de las visitas. En este sentido, el ácido hialurónico podría influir en la mejora de la textura del menisco, ya que ha demostrado su eficacia en modelos experimentales en el conejo (*Kobayashi y cols, 2000*).

Por lo tanto, no existen diferencias significativas entre protocolos en ninguno de los parámetros ecográficos medidos en nuestro estudio. No obstante, si consideramos las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos, observamos un incremento del grosor del ligamento rotuliano en ambos protocolos y una mejora de la heterogeneidad en ambos meniscos en el grupo tratamiento. Los cambios en la biomecánica de la rodilla, la realización de

la artrotomía como parte del protocolo quirúrgico y el incremento del estrés que, tras la cirugía, sufren estas estructuras, pueden estar detrás de los cambios observados.

5.5.- ANALÍTICA SEROLÓGICA

Las citoquinas son un grupo variado de pequeñas proteínas que actúan como mensajeros intracelulares durante un cierto número de procesos fisiológicos (Nemzeck y cols, 2012). En medicina humana, el **factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α)** es una de las citoquinas más estudiadas en procesos inflamatorios debido a su actividad proinflamatoria, que se encuentra involucrada tanto en la fase aguda (Joosten y cols, 1996; Cameron y cols, 1997; Bolon y cols, 2004), como en la crónica de la inflamación articular (Emshoff y cols, 2000; Sudekai y cols, 2004). Entre las funciones ligadas a la osteoartritis, bloquea la síntesis de componentes de los proteoglicanos en los condrocitos (Saklatvala, 1986; Séguin y cols, 2003). Los condrocitos activados producen metaloproteinasas de matriz, como la MMP-1, MMP-3 y MMP-13, y esto induce la muerte del condrocito y altera la migración de las células progenitoras de condrocitos e impide la regeneración del cartilago (Lefebvre y cols, 1990; Xue y cols, 2013). Además, incrementa la concentración de otras citoquinas como la IL-6, la IL-8 y mediadores gaseosos como el iNOS (El Mansouri y cols, 2011).

Los perros sanos presentan unas concentraciones de TNF- α menores que los límites de detección muchos de los kits más habitualmente utilizados. Así, Cho y cols, en 2014 referencian concentraciones menores de 6 pg/ml, que es el límite de detección del kit usado en ese caso (*Milliplex Canine Kit – Cytokine/ Chemokine MAGNETIC kit[®]*). Nosotros hemos usado los mismos rangos de referencia que en el caso del líquido sinovial, cuyo límite de detección en nuestro kit (*Canine TNF-alpha Quantikine ELISA Kit[®]*) es parecido al descrito anteriormente y se encuentra en 5 pg/ml. La mayoría de referencias bibliográficas consultadas ofrecen valores séricos de TNF- α en animales afectados por diversas patologías como babesiosis (Zygner y cols, 2014) sepsis (Yang y cols, 2014) leishmaniosis (Do Nascimento y cols, 2013), etc., no habiendo encontrado valores de referencia para la concentración de TNF- α en perros con rotura del ligamento cruzado craneal. Esto impide la comparación directa con nuestros resultados. De cualquier manera, en nuestro caso, la mayoría de las medidas en ambos protocolos mostraron valores por debajo del límite de detección (< 5 pg/ml), sin apreciar diferencias significativas entre protocolos para una misma visita ni entre visitas dentro de cada uno de los protocolos.

Según Bennet, en 2013, existen pocos estudios que evalúen la utilidad de las proteínas de fase aguda como marcadores de la osteoartritis en el perro (Caspi y cols, 1987; Ohno y cols, 2006) aunque sí ha sido ampliamente estudiada en medicina humana como marcador de, por ejemplo, la artritis reumatoide (Caspi y cols, 1987; Blackburn, 1994). Existen diferencias entre especies y, aunque hay resultados contradictorios según diferentes autores, se acepta que la CRP podría ser la proteína de fase aguda más útil en el perro (Bennet y cols, 2013). Por otro

lado, estos pocos estudios evalúan las concentraciones séricas, afirmando unos que la CRP en suero puede ser un marcador útil de patologías inflamatorias porque está más elevada en perros con poliartritis inmunitaria que en perros con enfermedad inactiva (*Caspi y cols, 1987*), mientras que otros concluyen que no es un buen marcador de osteoartritis porque en un estudio con 29 animales clínicamente afectados, los valores medidos estaban dentro de los fisiológicos de referencia (*Hurter y cols, 2005*).

Las concentraciones de proteína C reactiva en suero (**SUECRP**) en perros sanos son muy variables, con una rangos, según autores, de 0,07 – 24,7µg/ml (*Christensen y cols, 2014*) o 0,8 – 22,6µg/ml (*Otabe y cols, 1998*), y valores medios de 3,65 ± 1,40 µg/ml (*Otabe y cols, 1998*). Otros reportan valores medios de < 6,3 µg/ml con rangos de < 6,3 – 13,7 µg/ml (*Foster y cols, 2014*). En un estudio reciente con 34 perros con rotura natural de LCC, se midieron valores séricos medios de CRP de 1,49 µg/ml, con rangos de 0,56 – 4,24µg/ml (*Bennet y cols., 2013*). En caso de patologías generalizadas, como la poliartritis, los valores pueden incrementarse hasta rangos de 0,4 – 907,4µg/ml (*Christensen y cols, 2014*). Los niveles de CRP sérica no se incrementan si la sinovitis es secundaria a la lesión inducida en el LCC (*Boland y cols, 2014*).

Los resultados de nuestro estudio revelan que un porcentaje aproximado de un 70% de los animales de ambos grupos y durante todo el estudio presentan unas concentraciones séricas de CRP < 5 µg/ml. Estos resultados son acordes con valores medios descritos por *Otabe y cols en 1998* y *Foster y cols, en 2014* para animales sin patología inflamatoria, y consistentes con estudios previos que comparan perros osteoarthríticos y normales (*Hurter y cols, 2005; Fujiki y cols, 2007; Boland y cols, 2014*). No hemos constatado diferencias significativas entre protocolos ni entre visitas dentro de cada uno de los grupos constatando que, en concordancia con *Boland y cols, en 2014*, los cambios inflamatorios articulares asociados a la rotura o lesión del LCC no son suficientemente agudos para incrementar las concentraciones séricas de CRP durante el periodo de evolución del estudio.

Con respecto a la haptoglobina sérica (**SUEHAP**), existen diferentes estudios que referencian los valores séricos en perros sanos. Éstos oscilan desde 0,60 ± 0,55 g/L (*Eckersall y cols, 1999*) hasta 0,3 – 1,8 g/L (*Martínez-Subiela y cols, 2004*). Los niveles de haptoglobina se elevan hasta 11,6 ± 3,2 g/L en casos de poliartritis (*Eckersall y cols, 1999*). Algunos autores han descrito disminución de la concentración de haptoglobina sérica tras la transección experimental del LCC (*Gharbi y cols, 2013*). Los valores obtenidos en nuestro estudio para animales con lesión natural del LCC han sido 1,28 ± 1,09 g/L y están en concordancia con los referenciados por *Martínez-Subiela* y ligeramente por encima de los aportados por *Eckersall* para animales sanos. Asimismo, los valores son claramente inferiores a expresados por *Eckersall* en 1999 para casos de poliartritis, algo lógico si consideramos que los animales con poliartritis presentan inflamación en varias articulaciones y los animales de nuestro estudio lo presentan únicamente en la rodilla. Tras el estudio estadístico de nuestros resultados, encontramos diferencias significativas entre protocolos únicamente en la V1 pero no en las

siguientes ni entre visitas dentro de cada uno de los protocolos. Los niveles encontrados de haptoglobina sérica en nuestro estudio no difieren de los encontrados en la bibliografía para animales sanos.

Las concentraciones séricas de amiloide sérico A (**SAA**) consideradas fisiológicas en el perro varían mucho entre las diferentes fuentes bibliográficas consultadas. *Martínez-Subiela*, en 2004, apuntó un valor normal por debajo de 2,19 mg/L, el mínimo detectable en perros sanos con su método. *Yule y cols*, en 1997, describe un valor medio de $1,15 \pm 2,53$ mg/L, muy similar al de *Martínez-Subiela*. Por último, *Christensen y cols*, en 2014 presentan un rango muy amplio de normalidad (1,06 – 56,4 mg/L) en perros sanos. Al pertenecer al grupo de las proteínas de fase aguda mayores, su concentración en suero de perros con poliartritis puede elevarse mucho, llegando a rangos de 48.75 - > 2700 mg/L (*Christensen y cols*, 2014).

En los dos grupos, la mayoría de los animales (entre el 65% y el 90%) mostraron concentraciones de SAA dentro de los rangos considerados normales (< 2,19 mg/L) para animales sin patologías inflamatorias, aunque algunos animales presentaron incrementos moderados y otros más importantes. Existen varias posibilidades que podrían explicar este hecho. El primero es que las referencias que encontramos en la bibliografía en las que aparecen concentraciones elevadas de SAA en suero están asociados a procesos inflamatorios generalizados como piómetras (*Dabrowsky y cols*, 2013), inflamaciones sistémicas (*Christensen y cols*, 2014) o hipotiroidismo (*Tvarijonaviciute y cols*, 2013) y no en caso de patologías localizadas como la lesión del LCC. Puesto que las concentraciones de SAA se incrementan cuando las citoquinas producidas localmente son transportadas al hígado resultando en una reacción inflamatoria sistémica (*Petersen y cols*, 2004), podría ser esperable que la concentración de SAA no se incremente mientras la inflamación permanezca localizada, como sucede en nuestro estudio o en los pacientes con patología dental (*Buttke y cols*, 2005). En segundo lugar, debemos tener en cuenta que las proteínas de fase aguda positivas incrementan su concentración durante unas horas, con un pico entre las 24 y las 48 horas, pero pueden permanecer aumentadas durante el tiempo que dura dicho estímulo (*Kajikawa y cols*, 1999; *Dahinaut y cols*, 2001; *Paltrinieri*, 2008). Con esta premisa, los diferentes grados de cronicidad de los animales de ambos grupos pueden afectar a las concentraciones iniciales en V1. Además, la inflamación producida por la intervención quirúrgica y el posterior periodo de cicatrización y curación es otro estímulo inflamatorio que puede afectar a los niveles de haptoglobina.

Con respecto al amiloide sérico A, no existen diferencias significativas entre protocolos. En el protocolo A se incrementa de forma significativa de la V1 a la V3 y luego se mantiene hasta V4, mientras que no presenta diferencias significativas durante todo el estudio en los animales de protocolo B. Los animales del protocolo B no sufrieron incremento de la SAA sérica tras la intervención por lo que el ácido hialurónico podría influir en este parámetro durante las primeras 10 semanas tras la intervención quirúrgica.

El óxido nítrico (**NO**) es un mediador de bajo peso molecular implicado en la neurotransmisión (*Hare y cols, 1995*), vasodilatación (*Bredt y cols, 1994*) y regulación de la inmunidad (*Dugas y cols, 1995*). El aumento de su producción se ha documentado en diferentes enfermedades, incluyendo artropatías inflamatorias y osteoartritis en perros (*Spreng y cols, 1997*) y en el ser humano (*Sakurai y cols, 1995; Pelletier y cols, 1996*). Spreng y cols, en 2001, referenciaron los valores medios de óxido nítrico sérico obtenidos en animales sin patología articular (28,9 $\mu\text{mol/L}$), y con rotura del LCC (45,6 $\mu\text{mol/L}$). Estos datos son válidos como referencia, aunque un 46% de los animales con lesión del LCC en el estudio de Spreng presentaba otros problemas ortopédicos adicionales que podían incrementar los niveles séricos de NO. Nuestros resultados basales fueron $26,35 \pm 18,51 \mu\text{mol/L}$, con un valor mínimo de 7,00 $\mu\text{mol/L}$ y máximo de 81,78 $\mu\text{mol/L}$ y se encuentran en un rango cercano a los animales sin patología articular. Las concentraciones séricas de NO se han mantenido constantes durante todo el estudio en ambos protocolos, sin haber diferencias significativas entre diferentes protocolos de una misma visita ni entre diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos. La estabilización de la rodilla mediante la técnica quirúrgica de la TTA podría contribuir al mantenimiento de los niveles séricos de NO en unos rangos constantes y no elevarse a pesar de los procesos de cicatrización y regeneración ósea posteriores.

5.6.- ANALÍTICA SINOVIOL

En medicina humana, hay estudios que referencian concentraciones sinoviales de TNF- α menores en articulaciones osteoartíticas que en otras normales (*Westacott y cols, 1990; Kahle y cols, 1992*). En medicina veterinaria se ofrecen resultados aparentemente contrapuestos. Algunos describen concentraciones incrementadas de TNF- α en la rodilla de pacientes caninos con osteoartritis secundaria a desestabilización inducida por transección experimental del ligamento cruzado craneal, si la comparamos con la rodilla contralateral (*Venn y cols, 1993*). Otros, por el contrario, evidencian que perros con OA natural secundaria a rotura de LCC o a transección experimental del LCC, presentan menor actividad de la TNF- α en líquido sinovial que los perros del grupo control (*Hay y cols, 1997*). Esta diferencia de resultados puede ser atribuible a la forma de recoger las muestras de líquido sinovial. En el estudio de Venn y cols, el líquido sinovial fue recogido después de lavar la rodilla con solución salina (suero fisiológico), mientras que en el caso de Hay y cols la recogida de muestras se llevó a cabo mediante artrocentesis sin ningún tipo de dilución.

El test de ELISA usado para medir las concentraciones de TNF- α en líquido sinovial (**LISITNF**), igual que ha sido indicado en el caso de la medición de la TNF- α en suero, presenta un rango inferior de detección de 5 pg/ml lo que nos llevó, junto con los valores de referencia aportados por Hay y cols en 1997 a clasificar los valores obtenidos por rangos. En el estudio de Hay y cols, las muestras se recogieron directamente por artrocentesis, como en nuestro estudio, y se referenciaron valores de $8,6 \pm 2,3 \text{ pg/ml}$ en animales sin lesión y de $3,0 \pm 0,5 \text{ pg/ml}$ con lesión del LCC. Nuestros valores de TNF- α en líquido sinovial han estado en un

porcentaje muy alto (77,8% - 87,7%) encuadrados en el rango 0 (< 5 µg/ml) y son concordantes con los encontrados por Hay y cols en 1997 para animales con ruptura espontánea del LCC. El análisis estadístico de los resultados no evidencia diferencias significativas entre diferentes protocolos para una misma visita ni entre visitas dentro de cada uno de los protocolos.

A pesar de que un estudio llevado a cabo entre las Universidades de Pisa y Glasgow sugirió que la medición de la CRP en líquido sinovial puede ser un marcador muy útil de osteoartritis en el perro (*Sbrana, 2008*), la bibliografía disponible es muy limitada (*Hurter y cols, 2005; Bennet y cols, 2013; Boland y cols, 2014*). Bennet y cols en 2013, referenciaron valores medios de CRP en líquido sinovial de animales con lesión del LCC de 0,44 µg/ml, con un rango de 0,23 – 1,62µg/ml. En nuestro caso, al utilizar el mismo test para la evaluación de la CRP en líquido sinovial que el usado para la analítica serológica, las limitaciones de rango menor fueron las mismas (no se pudieron cuantificar concentraciones menores de 5µg/ml) y los animales también se clasificaron por rangos. Los rangos establecidos fueron los mismos que en el caso del suero (rango 0: animales con concentración < 5µg/ml; rango 1: concentración moderada de 5-10 µg/ml y grupo 2: concentración > 10µg/ml). Nuestros valores estuvieron mayoritariamente dentro de los esperados para animales con rotura del LCC, con un 70 - 85% de los animales en el grupo 0. No se apreciaron diferencias significativas entre iguales visitas de diferentes protocolos ni entre las diferentes visitas analizadas dentro de cada uno de los protocolos manteniéndose los valores de CRP constantes a pesar de la resolución quirúrgica y cicatrización ósea y de los tejidos blandos.

La haptoglobina es una proteína de fase aguda moderada, por lo que es de esperar un incremento de hasta 10 veces en condiciones de inflamación sobre las consideradas normales para animales sanos (*Cray y cols, 2009*). Aunque en el ser humano es un marcador muy estudiado en pacientes oncológicos (*Smeets y cols, 2003; Nabli y cols, 2010*), no hemos encontrado bibliografía que referencie la concentración de haptoglobina en líquido sinovial de perros con osteoartritis, cualquiera que sea su causa, por lo que es muy difícil poder establecer una comparativa de nuestros resultados con cualquiera de los ya publicados. En nuestro estudio, las concentraciones sinoviales de haptoglobina en líquido sinovial (**LISIHAP**) antes del procedimiento quirúrgico (utilizables como referencia para posteriores estudios) fueron de 0,24 ± 0,38 g/L y se mantuvieron constantes durante toda la duración del mismo. Las concentraciones de haptoglobina en líquido sinovial son claramente menores que concentraciones séricas, y tampoco se evidencian diferencias significativas entre iguales visitas de diferentes protocolos ni entre las diferentes visitas dentro de cada uno de los protocolos.

El amiloide sérico A es una proteína mayor de fase aguda presente en muchas especies, incluido el perro que puede ser usada como marcador de actividad inflamatoria (*Cerón y cols, 2005*). Según la bibliografía consultada, solo hemos encontrado un estudio que evaluase la presencia de SAA en suero y líquido sinovial (**LISISAA**) en el perro en enfermedades inflamatorias y no inflamatorias (*Kjelgaard-Hansen y cols, 2007*). En él, se midieron el número de isoformas presentes en suero y en líquido sinovial, encontrando que el

líquido sinovial de perros con enfermedad inflamatoria articular contenía más isoformas de SAA que el suero. Este hallazgo sugiere una producción de SAA a nivel local en la articulación, además de una variación inter-individual en la presencia de ciertas isoformas (*Kjelgaard-hansen y cols, 2007*). Sin embargo este estudio se llevó a cabo con un número de animales reducido y sin referenciar valores de concentración en cada uno de los casos. Al no disponer en la bibliografía de referencias de las concentraciones de SAA en líquido sinovial presentes en casos de osteoartritis por rotura del LCC, usamos para evaluar las concentraciones, los mismos valores que en el caso del suero, distribuyéndolos en rangos. Los valores de nuestro estudio se encuentran mayoritariamente en el rango 0 (22,7 - 46,5%) y 1 (28,6% - 52,2%), es decir concentraciones mayoritariamente <10 mg/L. En consonancia con lo publicado por Kjelgaard-Hansen en 2007, nuestras concentraciones son mayores en líquido sinovial que en suero, aunque no podemos asegurar que una mayor concentración necesariamente implique mayor variedad de isoformas. A pesar de esto, y dentro de los valores de líquido sinovial, no hay diferencias significativas entre diferentes protocolos para la misma visita ni entre diferentes visitas dentro del mismo protocolo.

Con respecto NO, y aunque su papel en la fisiopatología de la articulación no está completamente entendido, parece útil evaluar su concentración como marcador bioquímico porque en la especie humana hay estudios que demuestran aumentos de su actividad en el interior de articulaciones reumáticas u osteoartíticas (*Farrell y cols, 1992; Grabowsky y cols, 1996;*). Se ha demostrado la producción de NO en articulaciones reumáticas y osteoartíticas. La síntesis de NO mantiene e incrementa la inflamación crónica descrita en la osteoartritis (*Clancy y cols, 1999*) porque los metabolitos del NO producidos en los tejidos articulares son liberados en el líquido sinovial. Posteriormente son transportados vía linfática o sanguínea y eliminados por los riñones (*Zeballos y cols, 1995*).

Existe una variabilidad en la concentración de NO en líquido sinovial (**LISINO**) según diversos estudios en animales con osteoartritis. Spreng y cols, en 2001, reportó concentraciones de NO en líquido sinovial de animales sanos de 13,40 $\mu\text{mol/L}$. En los que presentaban rotura del LCC las concentraciones variaron dependiendo de si el animal tenía, además de la lesión del LCC, otros problemas ortopédicos asociados (12,72 $\mu\text{mol/L}$) o no (6,17 $\mu\text{mol/L}$), o si la rotura del LCC era parcial (4,8 $\mu\text{mol/L}$) o completa (4,1 $\mu\text{mol/L}$). Comparativamente, Hay y cols, en 1997 obtuvieron, utilizando la misma técnica de Griess, unas concentraciones 1000 veces mayor que las mostradas por Spreng ($17 \pm 4 \mu\text{mol/ml}$ en animales sanos y $15 \pm 2 \mu\text{mol/ml}$ en animales con rotura espontánea del LCC) aunque el número de animales del estudio era muy pequeño y no evidenciaron diferencias entre articulaciones osteoartíticas y las de control. Los autores de dicho estudio sugirieron que estas concentraciones tan elevadas podrían deberse a la producción endógena de NO derivada de la ingesta de nitrógeno en la comida, puesto que los animales del estudio de Spreng y cols estuvieron 15 horas en ayunas y los de Hay y cols, no.

Las concentraciones de NO en líquido sinovial en nuestro trabajo son similares a las del suero, con valores de $17,96 \pm 27,42 \mu\text{mol/L}$, encontrándose ligeramente por encima de los referenciados en otros trabajos similares (*Spreng y cols, 2001*). También están elevados con respecto a los que figuran en la bibliografía como valores fisiológicos en animales sanos. Aceptando la explicación citada anteriormente sobre la influencia de la alimentación en los niveles de NO en líquido sinovial, es posible que nuestros valores sean algo más altos porque los periodos de ayuno prequirúrgicos fueron, en algunos casos, menores de 15 horas. Además, el NO producido en el cartílago osteoartítico puede eliminarse por vías diferentes a la del líquido sinovial (p.ej. vía hueso subcondral), por lo que sus concentraciones pueden no estar excesivamente elevadas si se comparan con las concentraciones séricas (*Spreng, 2001*). De cualquier manera, las concentraciones se mantuvieron constantes durante todo el estudio en ambos grupos, sin evidenciar diferencias significativas entre diferentes protocolos para la misma visita ni entre visitas del mismo protocolo.

El ácido hialurónico es un glicosaminoglicano sintetizado por los condrocitos y fibroblasto sinoviales (*Iwanaga y cols, 2000*) y es el componente principal del líquido sinovial y de la matriz cartilaginosa extracelular (*Fraser y cols, 1997*). Su función es servir como lubricante y absorber y distribuir las fuerzas mecánicas que actúan sobre la articulación. También inhibe la producción de metaloproteinasas de matriz estimuladas por citoquinas y otros mediadores inflamatorios (*Wang y cols, 2006; Waddell y cols, 2007*). También tiene efecto analgésico influenciando los receptores intraarticulares del dolor (*Pozo y cols, 1997; Gomis y cols, 2007*). En articulaciones osteoartíticas, la concentración y el peso molecular del ácido hialurónico son menores, debido a su fragmentación y síntesis alterada (*Prehm, 1990; Henderson y cols 1991; Kuroki y cols, 2002*).

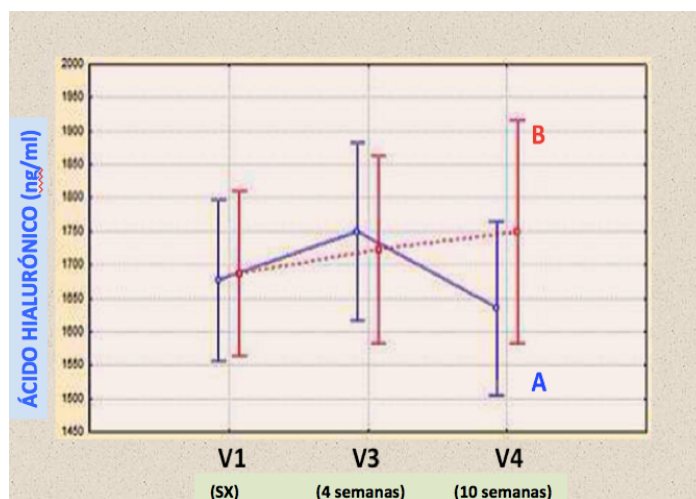
Existen pocos estudios que han investigado las concentraciones de ácido hialurónico en líquido sinovial. Algunos mostraron reducciones significativas de las concentraciones de AH en líquido sinovial de perros con osteoartrosis natural (*Arican y cols, 1994, Venable y cols, 2008*) y tras rotura experimental del LCC (*Budsberg y cols, 2006*) comparado con el de animales sanos. Sin embargo, cuando medimos la concentración en el caso de animales con osteoartrosis inducida, los resultados son variables: algunos estudios reportaron disminución de la concentración a los tres meses (*Budsberg y cols, 2006*), mientras que otro estudio no mostró diferencias significativas a las 12 semanas comparándolas con la rodilla contralateral normal (*Venable y cols, 2008*). Los cambios relacionados con la edad del animal han sido reportados previamente, mostrando concentraciones significativamente más altas en animales menores de 8 meses que en los adultos (*Leipold y cols, 1989*).

En nuestro trabajo, elegimos la opción de realizar un estudio clínico con una rotura natural del LCC porque los resultados son más extrapolables a la situación real que los estudios experimentales bajo condiciones más restrictivas. Además, elegimos animales con

una única lesión y una articulación afectada, de manera que se puedan evaluar mejor los resultados que afectan a la rodilla. Los valores obtenidos en condiciones clínicas antes de la cirugía son concordantes con los datos existentes en la bibliografía para animales con osteoartritis leve. En un estudio, Plickert, en 2013, obtuvo valores medios de 1927 $\mu\text{g/ml}$ con un rango de 1090 $\mu\text{g/ml}$ – 2820 $\mu\text{g/ml}$ para animales sin osteoartritis y valores medios de 1080 $\mu\text{g/ml}$ con rangos de 366 $\mu\text{g/ml}$ – 2001 $\mu\text{g/ml}$ para los animales con osteoartritis leve. En nuestro estudio, la concentración de ácido hialurónico en líquido sinovial fue de 1671,75 \pm 289,17 $\mu\text{g/ml}$, con una concentración inicial en el grupo que recibió tratamiento de 1686,54 \pm 264,29. Con arreglo a estos datos, podemos afirmar que, en general, nuestros grupos de trabajo se encontraban en un estado osteoartrotico leve.

Budsberg y cols, en 2006 evaluaron la concentración de AH en líquido sinovial antes y 1, 2, 3 y 12 meses tras la transección experimental del LCC, observando que en las tres primeras muestras (1, 2 y 3 meses) la concentración de AH disminuía y se incrementaba únicamente al cabo de 12 meses. Esto parece evidenciar la necesidad de un periodo importante de tiempo para recuperar niveles originales de AH. Sin embargo, si examinamos detenidamente nuestros resultados, observaremos que, aparentemente, las concentraciones de ácido hialurónico en la visita 3 (a las 4 semanas de la cirugía) parecen haberse incrementado en ambos grupos. Además, en la visita 4 (a las 10 semanas) parece continuar incrementándose en el grupo tratamiento, mientras que disminuyeron en el grupo placebo. La gráfica de evolución parece mostrar lo mismo, pues el patrón evolutivo del grupo tratamiento parece ser diferente del grupo placebo (Fig. 82). Sin embargo, el estudio estadístico no evidenció diferencias significativas entre ambos grupos, concluyendo que la administración oral de ácido hialurónico en pacientes caninos a las dosis administradas y durante el tiempo del estudio, no modificó significativamente las concentraciones de ácido hialurónico en líquido sinovial de las rodillas afectadas por rotura del ligamento cruzado craneal tras la realización de la TTA.

FIG. 82: GRÁFICA DE LA EVOLUCIÓN DE LA CONCENTRACIÓN SINOVIOL DE ÁCIDO HIALURÓNICO EN RODILLAS CON LESIÓN DE LIGAMENTO CRUZADO CRANEAL TRAS REPARACIÓN CON TTA



Comparando nuestro estudio con otros similares en los que se evaluaron concentraciones de ácido hialurónico en líquido sinovial, encontramos que unos evaluaron animales con diferentes patologías, afectando a diferentes articulaciones y con un número muy reducido de pacientes (*Plickert y cols, 2013*). Otros evaluaron la efectividad de ácido hialurónico sobre la degeneración del cartílago articular (*Smith y cols, 1998*) y líquido sinovial (*Smith y cols, 2001*), pero la vía elegida para administrar del ácido hialurónico fue la intraarticular. Estudios más recientes han demostrado su efectividad tras administración oral, aunque la articulación elegida fue el codo, el tiempo de duración fue más prolongado (hasta 20 meses) y se usó en combinación con condroprotectores, que presentan un efecto sinérgico y potencian su acción (*Martí-Angulo y cols, 2014*) (tabla 44).

TABLA 44: CONCENTRACIONES SINOVIALES DE ÁCIDO HIALURÓNICO EN DIVERSOS ESTUDIOS PUBLICADOS HASTA LA FECHA

| AUTOR | VÍA AH | ARTICULACIÓN | CARÁCTER | DURACIÓN | [AH] µg/ml |
|-----------------------|--------|------------------|--------------|------------------------|---|
| Plickert, 2013 | -- | Hombro y rodilla | -- | -- | 1927 (afectadas OA) 927 (no afectadas OA) |
| Smith, 2001 | IA | Rodilla | Experimental | 12 semanas | 2300 ± 100 (antes AH) 1400 ± 300 (después AH) |
| Martí-Angulo, 2014 | Oral | Codo | Natural | 3, 6, 12 y 20 meses | Evaluación clínica y serológica, no de AH |
| Nuestro estudio | Oral | Rodilla (LCC) | Natural | 4 y 10 semanas | 1686,54 ± 264,29 (antes AH) 1749,45 ± 244,86 (después AH) |

Concentración sinovial de ácido hialurónico en diferentes estudios publicados hasta la fecha. (IA: intraarticular, LCC: ligamento cruzado craneal, [AH]: concentración sinovial de ácido hialurónico)

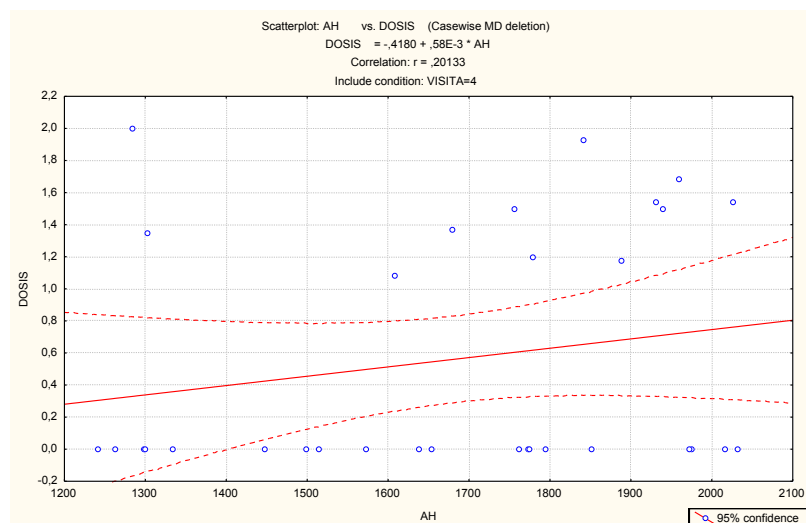
Es importante destacar que nuestros resultados son innovadores porque no hay publicaciones que referencien concentraciones sinoviales de ácido hialurónico en estudios clínicos, a corto plazo, en animales con rotura natural del LCC, tras administración oral del AH y a las 4 y 10 semanas de la estabilización de la rodilla con la técnica de la TTA.

5.7.- LIMITACIONES DEL ESTUDIO

La interpretación de los resultados debe llevarse a cabo observando ciertas limitaciones. Debido a las características clínicas de nuestro estudio, no se han diferenciado animales crónicos de agudos. En los animales con lesión crónica del ligamento cruzado craneal es de esperar un menor peso molecular del ácido hialurónico, así como concentraciones más disminuidas de algunos mediadores inflamatorios. Tampoco se separaron los animales por rangos de edad, aunque los animales más mayores presentan una menor concentración y peso molecular de ácido hialurónico que los jóvenes debido a los procesos degenerativos aparecidos con el envejecimiento del animal. Como consecuencia del menor volumen disponible de líquido sinovial en la última visita y la pérdida de algunos casos durante el estudio, se obtuvo una n en el grupo tratamiento escasamente menor a la estadísticamente necesaria. Posteriormente se ha ampliado el estudio hasta alcanzar la n necesaria, pero los resultados no se han incluido en este trabajo. Por otro lado, el estudio se realizó durante un periodo de tiempo que pudo resultar insuficiente para que el ácido hialurónico mostrase su eficacia en procesos articulares degenerativos.

Las dosis de ácido hialurónico no han sido homogéneas, siendo elegidas porque son las que figuran, habitualmente, en los preparados comerciales. Pero a diferencia de estos, en nuestro caso administramos solamente ácido hialurónico, sin la acción sinérgica de los condroprotectores con los que suele acompañarse. Sin embargo, al tratarse de una presentación experimental no comercialmente disponible, el vehículo de administración fueron cápsulas y no comprimidos y, por lo tanto, eran indivisibles. Esto hizo que los animales de menos de 25 kg recibiesen 27 mg de AH y los de más de 25 kg recibiesen 54 mg. Como parte del estudio, se determinó la correlación entre la dosis administrada de ácido hialurónico y la concentración de ácido hialurónico en líquido sinovial al final del estudio (10 semanas) y se obtuvo una r de 0,2 (Fig. 83). Por todo ello, es necesaria la realización de estudios con dosis de ácido hialurónico más ajustadas al peso del animal y/o durante periodos de tiempo más prolongados para disponer de un criterio más certero sobre su efectividad.

FIG. 83: CORRELACIÓN ENTRE LA DOSIS DE AH ADMINISTRADA Y LA CONCENTRACIÓN SINOVIAL DE ÁCIDO HIALURÓNICO EN LA VISITA 4 (A LAS 10 SEMANAS)



Finalmente, tras analizar las concentraciones séricas y sinoviales de los diferentes parámetros, no encontramos diferencias entre ambos protocolos en ninguno de ellos. Esto nos permite concluir que la administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular a las dosis descritas, durante el periodo de tiempo del estudio (10 semanas) y con las limitaciones propias del mismo, no afecta a las concentraciones séricas y sinoviales de proteína C reactiva, haptoglobina, factor de necrosis tumoral, amiloide sérico A ni óxido nítrico.

Con respecto a las concentraciones de ácido hialurónico en líquido sinovial, tampoco se han evidenciado diferencias entre ninguno de ambos protocolos. Serán necesarios más estudios, con dosis más altas y durante periodos de tiempo más prolongados para poder establecer la efectividad de la administración oral de ácido hialurónico para el tratamiento de la sinovitis de la rodilla canina secundaria a la lesión del LCC resuelta mediante TTA.

CONCLUSIONES

Con respecto al objetivo principal del estudio, realizado en pacientes con lesión del ligamento cruzado craneal en los que se aplicó la técnica quirúrgica del avance de la tuberosidad tibial, y tras administrar por vía oral bien un ácido hialurónico de elevado peso molecular (Hyal-Joint®) o bien un placebo, podemos concluir que:

1.- La administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular (Hyal-Joint®), con la pauta de dosificación estipulada y durante un período de 10 semanas, no ha mostrado diferencias significativas en la progresión de la sinovitis en la rodilla canina tras el avance de la tuberosidad tibial para resolver la inestabilidad secundaria a la lesión del ligamento cruzado craneal.

Con respecto a los objetivos parciales del estudio, podemos afirmar que:

2. La administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular (Hyal-Joint®) no ha evidenciado diferencias significativas en la evolución clínica de los pacientes, ni en la evaluación clínica de los profesionales veterinarios ni en la percepción subjetiva de los propietarios.

3. La administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular (Hyal-Joint®) no influye significativamente en la progresión ecográficamente evaluable de las principales estructuras de la rodilla.

4. La administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular (Hyal-Joint®) no altera significativamente en las concentraciones séricas y sinoviales de TNF-alfa, proteína C reactiva, haptoglobina, amiloide sérico A y óxido nítrico.

5. La administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular (Hyal-Joint®) no afecta significativamente en la concentración sinovial de ácido hialurónico de las rodillas afectadas.

Además, y como consecuencia del análisis estadístico de todas las variables estudiadas, se deducen las siguientes conclusiones adicionales:

6. La cirugía de avance de la tuberosidad tibial con artrotomía para resolver la lesión natural del ligamento cruzado craneal induce un incremento significativo del grosor y la heterogeneidad del ligamento rotuliano en la inspección ecográfica.

7. Las concentraciones sinoviales de haptoglobina y óxido nítrico en la rodilla canina afectada de sinovitis por lesión natural del ligamento cruzado craneal son $0,24 \pm 0,38$ g/L y $17,96 \pm 27,42$ $\mu\text{mol/L}$ respectivamente.

8. Con respecto a las concentraciones sinoviales del factor de necrosis tumoral α , el 83,72% de los animales mostraron una concentración sinovial < 5 pg/ml, el 9,30% un valor entre 5 y 10 pg/ml y el 6,98% $>$ de 10 pg/ml. Las concentraciones sinoviales de proteína C reactiva fueron $<$ de 5 $\mu\text{g/ml}$ en un 68,18% de los animales, entre 5 y 10 $\mu\text{g/ml}$ en un 20,45% de los casos y $>$ 10 $\mu\text{g/ml}$ en un 11,36% de los pacientes. En relación al amiloide sérico A, un 24,44% de los pacientes tuvieron una concentración sinovial $<$ 2,19 $\mu\text{g/ml}$, un 48,88% entre 2,19 y 10 $\mu\text{g/ml}$ y un 26,67% $>$ 10 $\mu\text{g/ml}$.

9. La concentración sinovial de ácido hialurónico de la rodilla canina afectada de sinovitis con lesión natural del ligamento cruzado craneal es de $1671,75 \pm 289,17$ $\mu\text{g/ml}$.

RESUMEN

La lesión del ligamento cruzado craneal es la patología ortopédica más habitual en el perro, con una etiología generalmente degenerativa y un tratamiento de elección quirúrgico. Tras la estabilización quirúrgica, la aparición de la sinovitis y, con el tiempo, de un grado variable de artrosis es algo común en todos los casos. En los últimos años han aparecido diferentes técnicas quirúrgicas que estabilizan biomecánicamente la rodilla y ralentizan la degeneración articular, aunque no detienen los procesos bioquímicos inflamatorios que hacen evolucionar el proceso osteoartrosico. Es por ello que, además del tratamiento quirúrgico, se debe considerar una terapia alternativa basada en la administración de viscosuplementos que ayuden a la función articular y ralenticen la progresión de la osteoartrosis.

El líquido sinovial tiene básicamente como objetivos lubricar las superficies articulares y ayudar a resistir las fuerzas mecánicas articulares y su componente principal es el ácido hialurónico. Con la progresión de la osteoartrosis, la concentración y peso molecular del ácido hialurónico disminuyen, comprometiendo la eficacia del líquido sinovial. La suplementación con ácido hialurónico, tanto vía intraarticular como intravenosa, está ampliamente estudiada en los animales. Sin embargo, aunque la vía oral posee ventajas innegables con respecto a las vías de administración tradicionales, no ha sido estudiada de igual manera en la especie canina, como tampoco lo han sido sus efectos en la progresión de la sinovitis de la rodilla.

La hipótesis del presente trabajo se basa en que la administración oral de ácido hialurónico en pacientes caninos con lesión del ligamento cruzado craneal comporta un efecto beneficioso en la evolución del paciente tras la resolución quirúrgica de dicha patología.

Así, se plantea como objetivo principal del estudio la valoración de la influencia de la administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular, en la progresión de la sinovitis de la rodilla en el perro, tras someterse a una cirugía de avance de la tuberosidad tibial (TTA) para resolver una lesión del ligamento cruzado craneal.

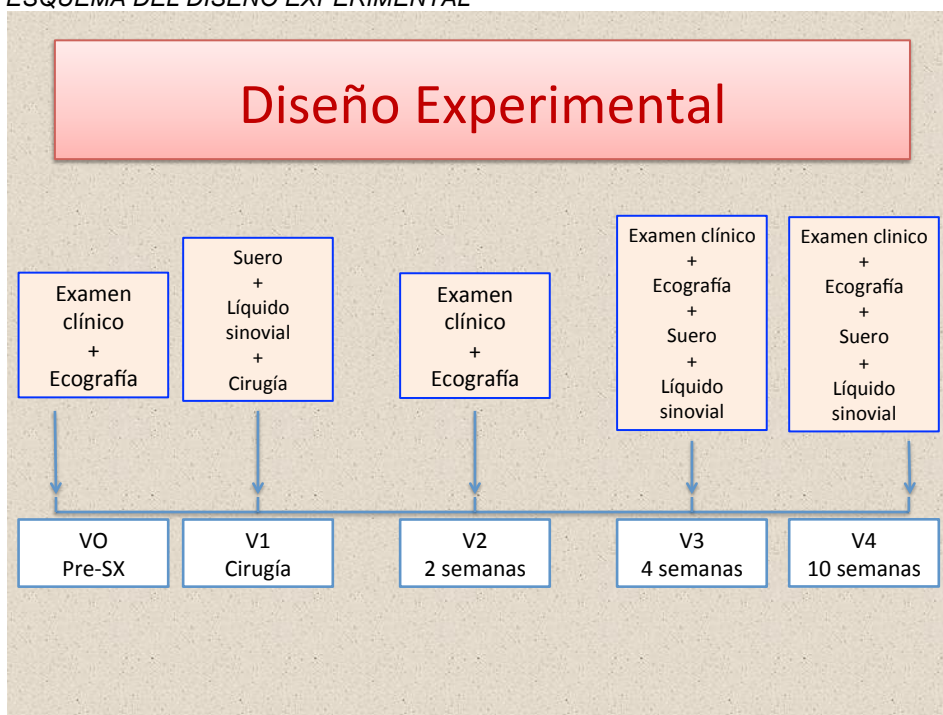
Y para ello se establecieron los siguientes objetivos parciales:

1. Determinar clínicamente la evolución de los pacientes tratados tras la administración de un ácido hialurónico de elevado peso molecular vía oral.
2. Estudiar ecográficamente la influencia de la administración oral de un ácido hialurónico de elevado peso molecular en las principales estructuras de la rodilla.
3. Evaluar la influencia de la administración oral de un ácido hialurónico de elevado peso molecular en la concentración sérica y sinovial de diferentes mediadores inflamatorios (factor de necrosis tumoral alfa, proteína C reactiva, haptoglobina, amiloide sérico A y óxido nítrico).
4. Valorar la influencia de la administración oral de un ácido hialurónico de elevado peso molecular en la concentración sinovial de ácido hialurónico.

Para este estudio se desarrolla un ensayo clínico, prospectivo, aleatorio y a doble ciego en el que se comparan dos grupos de pacientes con lesión del ligamento cruzado craneal resuelta quirúrgicamente mediante TTA. De esta forma, uno recibe una dosis preestablecida de ácido hialurónico de elevado peso molecular, mientras que el otro grupo recibe un placebo.

El seguimiento se lleva a cabo desde diferentes puntos de vista. Se realiza un examen clínico por parte del profesional veterinario que evalúa la presencia de cajón directo, indirecto, efusión sinovial y dolor a la hiperextensión, además del grado de cojera y dolor. El propietario determina la mejora general del animal, y el grado de cojera y la facilidad del paciente para levantarse desde sentado. Se realizan exámenes ecográficos en la articulación de la rodilla un máximo de 5 días antes de la intervención quirúrgica y a las 2, 4 y 10 semanas de la misma, evaluando en cada una de ellas las dimensiones del tendón del músculo cuádriceps femoral, la distensión capsular infrarrotuliana y el receso sinovial infrarrotuliano, el ligamento rotuliano, los ligamentos colaterales y el cartílago de los cóndilos femorales, así como la textura del tendón del músculo cuádriceps femoral, ligamento rotuliano, ligamentos colaterales y meniscos. Inmediatamente antes (suero) o durante el procedimiento quirúrgico (líquido sinovial) y a las 4 y 10 semanas de la cirugía (suero y líquido sinovial) se toman muestras para evaluar las concentraciones séricas y sinoviales de factor de necrosis tumoral α (TNF- α), proteína C reactiva (CRP), amiloide sérico A (SAA), Haptoglobina (Hap), óxido nítrico (NO) y las concentraciones sinoviales de ácido hialurónico (AH) (Fig. 84).

FIG. 84: ESQUEMA DEL DISEÑO EXPERIMENTAL



El examen clínico de los pacientes no evidenció diferencias significativas entre grupos en ninguno de los parámetros, algo esperable debido a la gran eficacia de la técnica del avance de la tuberosidad tibial y a la ausencia de complicaciones postquirúrgicas reseñables. Ecográficamente tampoco se evidenciaron diferencias entre grupos, aunque cabe destacar el engrosamiento y el empeoramiento de la textura del ligamento rotuliano en ambos grupos, resultado que contrasta con ciertos estudios que afirman que al avanzar la tuberosidad tibial disminuye el brazo de palanca y la tensión a soportar por el ligamento rotuliano para extender la extremidad. Los mediadores inflamatorios estudiados no reflejaron una evolución de la sinovitis significativamente diferente entre grupos, algo explicable si se considera que los tiempos aceptados de tratamiento con ácido hialurónico de elevado peso molecular en otras especies son considerablemente mayores. Adicionalmente se han descrito las concentraciones séricas y sinoviales de los principales mediadores inflamatorios en estudio clínico a corto plazo en pacientes caninos, con lesión natural del ligamento cruzado craneal resuelta mediante TTA, y tras 10 semanas de tratamiento oral con ácido hialurónico de elevado peso molecular.

Del análisis de los resultados obtenidos se puede inferir que

1. La administración oral de ácido hialurónico de elevado peso molecular con la pauta de administración estipulada y durante un periodo de 10 semanas no ha mostrado diferencias en la progresión de la sinovitis en la rodilla canina tras el avance de la tuberosidad tibial para resolver la inestabilidad secundaria a la lesión del ligamento cruzado craneal.
2. La evolución clínica de los pacientes no evidencia diferencias significativas entre grupos, ni en los parámetros evaluados por el veterinario ni en la percepción que tiene el propietario.
3. La evaluación ecográfica de las principales estructuras de la rodilla canina no evidencian diferencias significativas entre grupos, si bien el ligamento rotuliano incrementa su grosor y su empeora su textura en ambos grupos.
4. Las concentraciones séricas y sinoviales de los diferentes mediadores inflamatorios evaluados no son estadísticamente diferentes entre ambos grupos.
5. Las concentraciones sinoviales de ácido hialurónico en las articulaciones afectadas de no presencian diferencias significativas entre el grupo que recibió placebo y el que recibió tratamiento con ácido hialurónico de elevado peso molecular.

SUMMARY

The cranial cruciate ligament injury is the most common orthopedic pathology in dogs, with a usually degenerative aethiology and surgery is the treatment of choice. After surgical stabilization, synovitis and a variable degree of osteoarthritis will occur in almost all cases. Recently several surgical techniques that biomechanically stabilize the stifle have been described. They slow down but not stop inflammatory and biochemical processes that will develop the osteoarthrosic process. This is why, in addition to surgical treatment, an alternative therapy based on the administration of viscosupplements should be consider in order to help joint motion and slow down osteoarthritic pgression.

Synovial fluid main functions are to lubricate joint surfaces and to help to resist mechanical joint forces and hyaluronic acid is its main component As osteoarthritis progresses, concentration and molecular weight of hyaluronic acid will decrease, compromising the effectiveness of the synovial fluid. Hyaluronic acid supplementation both intraarticular and intravenous, is widely studied in animals. However, although the oral administration route has undeniable advantages over the traditional ones, there are few studies performed regarding the effects of high molecular weight hyaluronic administration in the progression of synovitis of the canine stifle.

The hypothesis of this study is that oral administration of hyaluronic acid in canine patients with cranial cruciate ligament injury results in a beneficial effect on patient outcome after surgical treatment of this pathology.

Thus, it arises as primary objective to assess the influence of the oral administration of high molecular weight hyaluronic acid, in the progression of stifle synovitis in dogs after tibial tuberosity advancement surgery (TTA) to resolve the instability secondary to cranial cruciate ligament rupture.

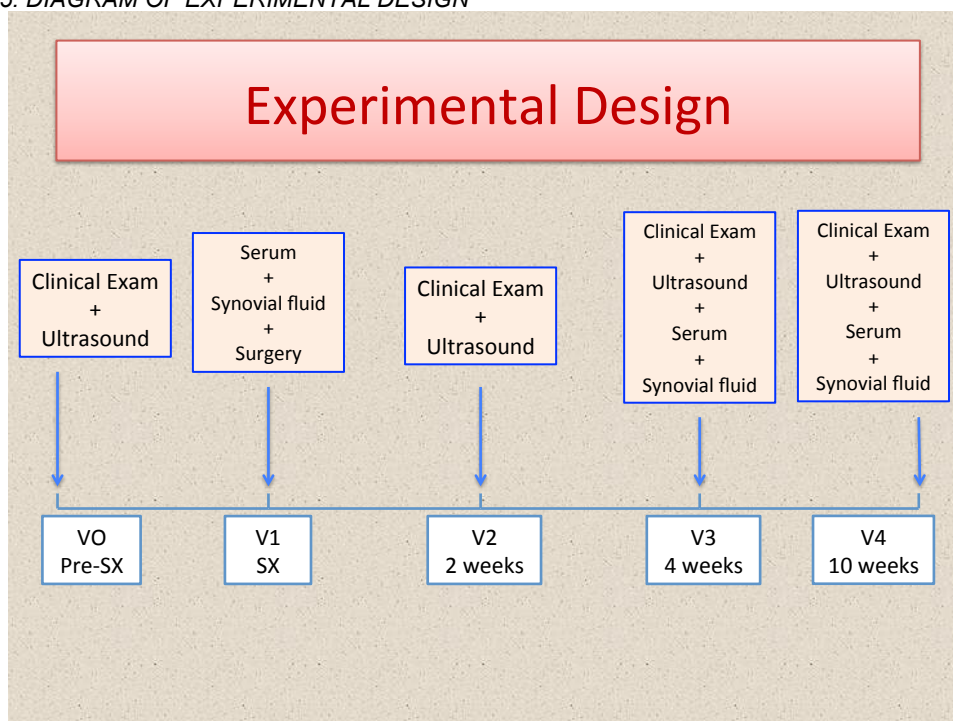
And for this, the following secondary objectives were established:

1. To determine the patients clinical evolution after oral administration of high molecular weight hyaluronic acid.
2. To ultrasonographically evaluate the influence of oral administration of high molecular weight hyaluronic acid on the main structures of the knee.
3. To evaluate the influence of oral administration of high molecular weight hyaluronic acid in serum and synovial fluid concentrations of different inflammatory mediators (tumor necrosis factor alpha, C reactive protein, haptoglobin, serum amyloid A and nitric oxide).
4. To assess the influence of oral administration of high molecular weight hialuronic acid in synovial hyaluronic acid concentration.

For this study a double blinded clinical, prospective, randomised trial was developed, comparing two groups of patients with cranial cruciate ligament injury surgically resolved by TTA. Group A receives a placebo and group B receives predetermined dose of high molecular weight hyaluronic acid.

Clinical examination was performed by the veterinary surgeon, who evaluates the direct drawer motion and tibial compression test, synovial effusion and pain under hyperextension, and the degree of lameness and pain. The owner determines the overall improvement of the animal, and the degree of lameness and ease to get up from sitting position. Ultrasonographic exam was performed a maximum of five days before surgery and at 2, 4 and 10 weeks after surgical procedure, evaluating quadriceps muscle tendon thickness, infrapatellar and infrapatellar capsular distension, patellar ligament, the collateral ligaments and femoral condyle cartilage thickness. Quadriceps muscle tendon, patellar ligament, collateral ligaments and meniscus textures were evaluated too. Samples were taken immediately before (serum) or during the surgical procedure (synovial fluid) and at 4 and 10 weeks after surgery (serum and synovial fluid) to assess serum and synovial fluid concentrations of tumor necrosis factor α (TNF- α), C reactive protein (CRP), serum amyloid A (SAA), haptoglobin (HAP), nitric oxide (NO) and synovial concentrations of hyaluronic acid (HA) (Figure 84).

FIG. 85: DIAGRAM OF EXPERIMENTAL DESIGN



Clinical exam of the patients showed no significant differences between groups in any of the parameters, as expected due to the TTA's high efficacy and the lack of postoperative complications. Ultrasound exam found no differences between groups, although remarkable thickening and texture worsening of the patellar ligament in both groups was observed. This meets in contrast with studies indicating that tibial tuberosity advancement decreases the lever arm and the strain needed to extend the limb. The inflammatory mediators did not show a significantly different evolution of the synovitis between groups. This is explained if one considers that oral high molecular weight hyaluronic acid treatment in other species are significantly longer. Synovial fluid and serum concentrations of major inflammatory mediators in short-term clinical trial in canine patients with natural anterior cruciate ligament injury solved by TTA, and after 10 weeks of oral treatment with hyaluronic acid of high molecular weight, were also obtained.

From the analysis of the obtained data it can be inferred that

1. Oral administration of high molecular weight hyaluronic acid, with the stipulated administration pattern and during a of 10 weeks period has shown no differences in the progression of the stifle synovitis following tibial tuberosity advancement to solve the instability secondary to cranial cruciate ligament rupture..
2. The clinical evolution of patients revealed no significant differences between groups, nor in the parameters evaluated by the veterinarian or the perception of the owner.
3. The ultrasonographic evaluation of the main structures of the canine stifle did not show significant differences between groups, although patellar ligament increases its thickness and worsens its texture in both groups.
4. The serum and synovial concentrations of the assessed inflammatory mediators are not statistically different between groups.
5. The synovial concentrations of hyaluronic acid in the joints affected do not shows significant difference between the placebo group and the group receiving treatment with high molecular weight hyaluronic acid

BIBLIOGRAFÍA

- Abramson SB**, Nitric oxide in inflammation and pain associated with osteoarthritis, *Arthritis Res Ther* 2008; 10:S 2
- Adams ME, Lussier AJ, Peyron JG**, "A risk-benefit assessment of injections of hyaluronan and its derivatives in the treatment of osteoarthritis of the knee," *Drug Safety*, vol 23, no 2, pp 115–130, 2000
- Akira S, Uematus S, Takeuchi O**, Pathogen recognition and innate immunity, *Cell* 2006; 124: 783 – 801
- Al-Ghazlat S**, Immunosuppressive Therapy for Canine Immune-Mediated Hemolytic Anemia, *Compendium: Continuing Education for Veterinarians*, January 2009, 33-44
- Alm A et al**, The anterior cruciate ligament. A clinical and experimental study on tensile strength, morphology and replacement by patellar ligament, *Acta Chir Scand* 445 (suppl): 5, 1974-a-
- Alm A, Strömberg B**, Vascular anatomy of the patellar and cruciate ligaments. A microangiographic and histologic investigation in the dog, *Acta Chir Scand Suppl* 1974-b-; 445: 25 – 35
- Altman RD, Hochberg MC, Moskowitz RW, Schnitzer TJ**, Recommendations for the medical management of osteoarthritis of the hip and knee, *Arthritis Rheum* 2000; 43: 1905 – 1915
- American College of Rheumatology Subcommittee on Osteoarthritis Guidelines**, Recommendations for the medical management of osteoarthritis of the hip and knee: 2000 update, *Arthritis and Rheumatism*, vol 43, no 9, pp 1905–1915, 2000.
- Amiel D, Billings E Jr, Harwood FL**, Collagenase activity in anterior cruciate ligament: protective role of the synovial sheath, *J Appl Physiol* (1985), 1990 Sep; 69(3): 902-6
- Amin AR, Di Cesare PE, Vyas P, et al**, The expression and regulation of nitric oxide synthase in human osteoarthritis - affected chondrocytes: Evidence for up - regulated neuronal nitric oxide synthase, *J Exp Med* 1995; 182: 2097 – 2102
- Arcand MA, Rhalmi S, Rivard**, Quantification of mechanoreceptors in the canine anterior cruciate ligament, *Int Orthop* 2000; 24: 272 – 275
- Archer CW, Francis-West P**, 2003, The Chondrocyte, *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology* 35, 401-404
- Arican M, Carter SD, May C, Bennet D**, Hyaluronan in canine arthropathies, *Journal of Comparative Pathology* 111, 185-195, 1994
- Arnault F, Cauvin E, Viguier E, Kraft E, Sonet J, Carozzo C**, Diagnostic value of ultrasonography to assess stifle lesions in dogs after cranial cruciate ligament rupture: 13 cases, *Vet Comp Orthop Traumatol* 2009; 22: 479–485
- Arnoczky SP**, Stifle surgery: An update, In *Proceedings of The American Animal Hospital Association 53rd Annual Meeting*, 1986, p 508
- Arnoczky SP**, Surgery of the stifle – the cruciate ligaments (part I), *compend Contin Educ Pract Vet* 2: 106, 1980
- Arnoczky SP, Marshall JL**, The cruciate ligaments of the canine stifle: an anatomical and functional analysis, *Am J Vet Res* 38: 1809, 1977a
- Arnoczky SP, Marshall JL**: Pathomechanics of cruciate and meniscal injuries, In *Bojrab MJ (ed): Pathophysiology in Small Animal Surgery*, Lea & Febiger, Philadelphia, 1981, pp 590-603
- Arnoczky SP, Rubin RM, Marshall JL**, Microvasculature of the cruciate ligaments and its response to injury, An experimental study in dogs, *J Bone Joint Surg Am* 1979 (a); 61: 1221 – 1229
- Arnoczky SP, Tarvin GB, Marshall JL, Saltzman B**: The over-the-top procedure, a technique for anterior cruciate ligament substitution in the dog, *J Am Anim Hosp Assoc* 15: 283, 1979 (b)
- Arnoczky SP, Torzilli PA, Marshall JL**, Biomechanical evaluation of anterior cruciate ligament repair in the dog, An analysis of the instant center of motion, *J Am Anim Hosp Assoc* 13: 553, 1977b
- Arrich J, Piribauer F, Mad P, Schmid D, Klaushofer K, Müllner M**, Intra-articular hyaluronic acid for the treatment of osteoarthritis of the knee: systematic review and meta-analysis, *CMAJ*, 2005 Apr 12; 172(8): 1039-43
- Artuc M, Hermes B, Steckelings UM, et al**, Mast cells and their mediators in cutaneous wound healing—active participants or innocent bystanders?, *Exp Dermatol* 8: 1, 1999
- Asadullah K, Sterry W, Volk HD**, Interleukin-10 therapy—review of a new approach, *Pharmacol Rev*, 2003 Jun; 55(2): 241-69
- Ayral X, Dougados M, Llistrat V, Bonvarlet JP, Simonnet J, Amor B**, Arthroscopic evaluation of chondropathy in osteoarthritis of the knee, *J Rheumatol*, 1996 Apr; 23(4): 698-706

- Bailey AJ, Sims TJ, Knott L**, Phenotypic expression of osteoblast collagen in osteoarthritic bone: production of type I homotrimer, *Int J Biochem Cell Biol* 2002; 34: 176–82
- Balogh L, Polyak A, Mathe D, Kiraly R, Thurocz J, Terez M, Janoki G, Ting Y, Bucci LR, Schauss AG**, Absorption, Uptake and Tissue Affinity of High-Molecular-Weight Hyaluronan after Oral Administration in Rats and Dogs *J Agric, Food Chem*, 2008, 56 (22), pp 10582–10593
- Bari AS, Carter SD, Bell SC, et al**, Anti - type II collagen antibody in naturally occurring canine joint diseases, *Br J Rheumatol* 1989; 28: 480 – 486
- Beale B**, Actualizaciones en el tratamiento de la osteoartritis ¿que sirve y que no sirve?, *Proceedings XXVIII Congreso Anual AMVAC* (2011), 293-303
- Bennet D**, Canine and Feline Osteoarthritis, in *Ettinger and Feldman (Eds): Textbook of Veterinary Internal Medicine*, Saunders Missouri, 2010, pp 750-761
- Bennett D, Eckersall PD, Waterston M, Marchetti V, Rota A, McCulloch E, Sbrana S**, The effect of robenacoxib on the concentration of C-reactive protein in synovial fluid from dogs with osteoarthritis, *BMC Vet Res*, 2013 Mar 1;9:42
- Bennett D, May C**, Meniscal damage associated with cruciate disease in the dog, *J Small Anim Pract* 1991; 32(3): 111-117
- Bennet D, Tennant B, Lewis DG**, A reappraisal of anterior cruciate ligament disease in the dog, *J Small Anim Pract* 29; 275, 1988
- Berg RI, Sykes JE, Kass PH, Vernau W**, Effect of repeated arthrocentesis on cytologic analysis of synovial fluid in dogs, *J Vet Intern Med*, 2009 Jul-Aug; 23(4): 814-7
- Bertalozzo N, Punzi L, Stefani MP et al**, Interrelationships between interleukin (IL)-1, IL-6 and IL-8 in synovial fluid of various arthropathies, *Agents Actions* 1994; 41: 90-92
- Beutler B, Milsark IW, Cerami AC**, Passive immunization against cachectin / tumor necrosis factor protects mice from lethal effect of endotoxin, *Science*, 1985 Aug 30; 229(4716): 869-71
- Bezerra MM, Brain SD, Greenacre S, et al**, Reactive nitrogen species scavenging, rather than nitric oxide inhibition, protects from articular cartilage damage in rat zymosan - induced arthritis, *Br J Pharmacol* 2004; 141: 172 – 182
- Blanco F**, Condroitin sulfato, sulfato de glucosamina y ácido hialurónico: mecanismos de acción, *Condroprotección dic* 2002
- Bleedorn JA, Greuel E, Manley PA, et al**, Synovitis precedes development of joint instability in dogs with degenerative cranial cruciate ligament rupture, *Vet Surg* 2009; 38: E26
- Bleedorn J, Muir P**, Synovitis or Stifle Instability, Which Comes First? In *Peter Muir (Ed) Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, ACVS Foundation and Wiley-Blackwell; 81-86 (2010)
- Boileau C, Martel - Pelletier J, Caron J, Msika P, Guillou GB, Baudouin C, Pelletier JP**, Protective effects of total fraction of avocado/soybean unsaponifiables on the structural changes in experimental dog osteoarthritis: Inhibition of nitric oxide synthase and matrix metalloproteinase – 13, *Arthritis Res Ther* 2009; 11: R41
- Boland L, Danger R, Cabon Q, Rabillard M, Brouard S, Bouvy B, Gauthier O**, MMP-2 as an early synovial biomarker for cranial cruciate ligament disease in dogs, *Vet Comp Orthop Traumatol*, 2014;27(3):210-5
- Bolon B, Campagnuolo G, Zhu L, Duryea D, Zack D, Feige U**, 2004, Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha produce distinct, time-dependent patterns of acute arthritis in the rat knee, *Vet Pathol* 41 (3), 235–243
- Boothe DM, Booth HW**, Local tissue response to trauma and surgery, In *Bojrab JM, Smeak DD, Bloomerf SM editors: Disease mechanisms in small animal surgery*, ed 2, Philadelphia, 1993, Lea & Febiger, pp 10
- Botte R**, Planning for TTA surgery-Special considerations: in *KYON Symposium: Innovations in Veterinary Orthopedics and Trauma*, Zurich, Switzerland, 2010
- Boudrieau RJ**, Tibial plateau leveling osteotomy or tibial tuberosity advancement? *Vet Surg* 2009; 38: 1–22
- Boudrieau RJ**, Tibial Tuberosity Advancement (TTA): early results in 63 dogs, *Abstracts of the 13th ESVOT Congress*, Munich; 2006: 21-22
- Briggs K**, The canine meniscus: injury and treatment, *Compend Contin Educ Pract Vet* 2004; 26(9): 687-697
- Bucci LR, Turpin AA**, Will the real hyaluronan please stand up? *J Appl Nutr*, 2004, 54, 10–33
- Brandt KD**, Insights into the natural history of osteoarthritis provided by the cruciate-deficient dog, An animal model of osteoarthritis [review], *Ann NY Acad Sci* 1994; 732: 199–205
- Brandt KD, Myers SL, Burr D, Albrecht M**, Osteoarthritic changes in canine articular cartilage, subchondral bone, and synovium fifty-four months after transection of the anterior cruciate ligament, *Arthritis Rheum* 1991; 34: 1560–70
- Bredt DS, Snyder SH**, Nitric oxide-a physiological messenger molecule, *Annu Rev Biochem* 63:175, 1994
- Brieland JK, Remick DG, Freeman PT, Hurley MC, Fantone JC, Engleberg NC**, In vivo regulation of replicative *Legionella pneumophila* lung infection by endogenous tumor necrosis

- factor alpha and nitric oxide, *Infect Immun*, 1995 Sep; 63(9): 3253-8
- Brinker WO, Piermattei DL, Flo G**, Diagnosis and treatment of orthopaedic conditions of the hindlimb, In Brinker WO et al (eds): *Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Treatment*, WB Saunders, Philadelphia, 1990, pp 341-470
- Bruce WJ, Rose A, Tuke J, Robins GM**, Evaluation of the triple tibial osteotomy. A new technique for the management of the canine cruciate-deficient stifle, *Vet Comp Orthop Traumatol* 2007; 20: 159-168
- Bryant C, Fitzgerald KA**, Molecular mechanisms involved in inflammasome activation, *Trends Cell Biol* 2009; 19: 455 – 464
- Bucci LR, Turpin AA**, Will the real hyaluronan please stand up? *J Appl Nutr* 2004, 54, 10 – 33
- Buckingham JC, Flower RJ**, Lipocortin 1: a second messenger of glucocorticoid action in the hypothalamo-pituitary-adrenocortical axis, *Mol Med Today*, 1997 Jul; 3(7): 296-302
- Buckwalter JA, Mankin HJ**, Articular cartilage: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation, *Instr Course Lect*, 1998; 47: 487-504
- Budenberg SC, Lenz ME, Thonar EJ**, 2006, Serum and synovial fluid concentrations of keratan sulphate and hyaluronan in dogs with induced stifle joint osteoarthritis following cranial cruciate ligament transections, *American Journal of Veterinary Research* 67, 429-432
- Burns CG, Boudrieau RJ**: Modified tibial tuberosity advancement procedure with tibial tuberosity advancement in excess of 12 mm in four large breed dogs with cranial cruciate ligament-deficient joints, *Vet Comp Orthop Traumatol* 21:250–255, 2008
- Butler DL, Guan Y, Kay MD, Cummings JF, Feder SM, Levy MS**, Location-dependent variations in the material properties of the anterior cruciate ligament, *J Biomech*, 1992 May; 25(5): 511-8
- Buttke T M, Shipper G, Delano E, Trope M**, 2005, C-reactive protein and serum amyloid A in a canine model of chronic apical periodontitis, *J Endod* 31: 728–732
- Cameron M, Buchgraber A, Passler H, Vogt M, Thonar E, Fu F, Evans CH**, 1997, The natural history of the anterior cruciate ligament-deficient knee, Changes in synovial fluid cytokine and keratan sulfate concentrations, *Am J Sports Med* 25 (6), 751–754
- Canapp SO, Cross AR, Brown MP, et al**, Examination of synovial fluid and serum following intravenous injections of hyaluronan for the treatment of osteoarthritis in dogs, *Vet Comp Orthop Traumatol* 2005; 18: 169 – 174
- Cao M, Stefanovic - Racic M, Georgescu HI, Fu FH, Evans CH**, Does nitric oxide help explain the differential healing capacity of the anterior cruciate, posterior cruciate, and medial collateral ligaments? *Am J Sports Med* 2000; 28: 176 – 182
- Caspi D, Baltz ML, Snel F et al**, Isolation and characterisation of C-reactive protein from the dog, *Immunology*, 1984; 53: 307-313
- Caspi D, Snel FW, Batt RM, et al**, C-reactive protein in dogs, *Am J Vet Res* 1987; 48: 919–921
- Carter SD, Barnes A, Gilmore WH**, Canine rheumatoid arthritis and inflammatory cytokines, *Vet Immunol Immunopathol* 1999; 69: 201 – 214
- Casale SA, McCarthy RJ**, Complications associated with lateral fabellotibial suture surgery for cranial cruciate ligament injury in dogs: 363 cases (1997-2005), *J Am Vet Med Assoc*, 2009 Jan 15; 234(2): 229-35
- Casl M, Rogina B, Glojnaricspasic I, Minigo H, Planincperaica A, Jaksic B**, The differential diagnostic capacity of serum amyloid a protein between infectious and noninfectious febrile episodes of neutropenic patients with acute-leukemia, *Leuk Res* 1994; 18: 665–670
- Cavillon J, Adib-Conquy M**, The pro-inflammatory cytokine cascade, In Marsahll J, Cohen J editors: *immune responses in the critically ill*, New York, 2002, Springer - Verlag, pp 37
- Ceciliani F, Giordano A, SpagnooV**, The systemic reaction during inflammation: the acute phase proteins, *Protein Pept Lett*, 2002; 9:211-223
- Cerón JJ, Eckersall PD, Martínez-Subiela, S**, Acute phase proteins in dogs and cats: current knowledge and future perspectives, *Vet Clin Pathol*, 2005 34:85-99
- Chao W, Olson MS**, Platelet activating factor: receptors and signal transduction, *Biochem J*, 292 (pt 3): 617, 1993
- Chareancholvanich K, Pornrattanamaneewong C, Narkbunnam R**, Increased cartilage volume after injection of hyaluronic acid in osteoarthritis knee patients who underwent high tibial osteotomy, *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc*, 2014; 22: 1415–1423
- Childers HE**, New method for cruciate repair, *Mod Vet Pract* 47: 59-60, 1966
- Cho KD, Paek J, Kang JH, Chang D, Na KJ, Yang MP**, Serum adipokine concentrations in dogs with naturally occurring pituitary-dependent hyperadrenocorticism, *J Vet Intern Med*, 2014 Mar-Apr; 28(2): 429-36
- Christensen MB, Langhorn R, Goddard A, Andreasen EB, Moldal E, Tvarijonaviciute A, Kirpensteijn J, Jakobsen S**,

- Persson F, Kjølgaard-Hansen M**, Comparison of serum amyloid A and C-reactive protein as diagnostic markers of systemic inflammation in dogs, *Can Vet J* 2014 Feb; 55(2): 161-8
- Clancy RM, Abramson SB**, Nitric oxide: A novel mediator of inflammation, *J Exp Med* 210: 93-101, 1995
- Clark JM, Sidles JA**, The interrelation of fiber bundles in the anterior cruciate ligament, *J Orthop Res* 8: 180, 1990
- Comerford EJ, Innes JF, Tarlton JF, Bailey AJ**, Investigation of the composition, turnover, and thermal properties of rupture cranial cruciate ligaments of dogs, *Am J Vet Res* 2004; 65: 1136 – 1141
- Comerford EJ, Tarlton JF, Wales A, Bailey AJ, Innes JF**, Ultrastructural differences in cranial cruciate ligaments from dogs of two breeds with a differing predisposition to ligament degeneration and rupture, *J Comp Pathol* 2006; 134:8 – 16
- Comper WD, Laurent TC**, Physiological function of connective tissue polysaccharides, *Physiol Rev*, 1978 Jan; 58(1): 255-315
- Cook, CR**, Stifle ultrasonography, In Peter Muir (Ed) *Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, ACVS Foundation and Wiley-Blackwell; 117-121 (2010)
- Cook JL, Luther JK, Beetem J, Karnes J, Cook CR**, Clinical comparison of a novel extracapsular stabilization procedure and tibial plateau leveling osteotomy for treatment of cranial cruciate ligament deficiency in dogs, *Vet Surg*, 2010 Apr; 39(3): 315-23
- Cray C, Zaias J, Altman NH**, Acute Phase Response in Animals: A Review, *Comparative Medicine*, 2009, Vol 59, 517-526
- Crisman M, Scarratt WK, Zimmerman K**, Blood proteins and inflammation in the horse, *Vet Clin North Am Equine Pract*, 24: 285, 2008
- Cruickshank AM, Fraser WD, Burns HJ, Van Damme J, Shenkin A**, Response of serum interleukin-6 in patients undergoing elective surgery of varying severity, *Clin Sci (Lond)*, 1990 Aug; 79(2): 161-5
- Cullison RF**, Acetaminophen toxicosis in small animals: Clinical signs, mode of action, and treatment, *Compend Cont Ed Pract Vet* 1984; 4: 173 – 178
- Curtis CL, Rees SG, Cramp J, Flannery CR, Hughes CE, Little CB, Williams R, Wilson C, Dent CM, Harwood JL, Caterson B**, Effects of n-3 fatty acids on cartilage metabolism, *Proc Nutr Soc* 2002 Aug; 61(3): 381-9
- Czock D, Keller F, Rasche FM, Häussler U**, Pharmacokinetics and pharmacodynamics of systemically administered glucocorticoids, *Clin Pharmacokinet*. 2005; 44(1): 61-98
- D'Lima DD, Hashimoto S, Chen PC, Colwell CW Jr, Lotz MK**, Human chondrocyte apoptosis in response to mechanical injury, *Osteoarthritis Cartilage*, 2001 Nov; 9(8): 712-9
- Dabrowski R, Kostro K, Szczubial M**, Concentrations of C-reactive protein, serum amyloid A, and haptoglobin in uterine arterial and peripheral blood in bitches with pyometra, *Theriogenology*, 2013 Sep 15; 80 (5): 494-7
- Damur DM, Tepic S, Montavon PM** (2003): Proximal tibial osteotomy for the repair of cranial cruciate deficient stifle joints in dogs, *Vet Comp Orthop Traumatol*, 16: 211-216
- Davies A, Hendrich J, Van Minh AT, et al**, Functional biology of the alpha(2)delta subunits of voltage – gated calcium channels, *Trends Pharmacol Sci* 2007; 28: 220 – 228
- Day R, Brooks P, Conaghan PG, Petersen M**, “A double blind, randomized, multicenter, parallel group study of the effectiveness and tolerance of intraarticular hyaluronan in osteoarthritis of the knee,” *Journal of Rheumatology*, vol. 31, no 4, pp 775–782, 2004
- De Bruin T, de Rooster H, van Bree H, Cox E**, Evaluation of anticollagen type I antibody titers in synovial fluid of both stifles and the left shoulder of dogs with unilateral cranial cruciate disease, *Am J Vet Res* 2007a; 68: 283 – 289
- De Bruin T, de Rooster H, van Bree H, Waelbers T, Cox E**, Lymphocyte proliferation to collagen type I in dogs, *J Vet Med A Physiol Pathol Clin Med* 2007b; 54: 292 – 296
- De Rooster H, Cox E, van Bree H**, Prevalence and relevance of antibodies to type - I and - II collagen in synovial fluid of dogs with cranial cruciate ligament damage, *Am J Vet Res* 2000; 61: 1456 – 1461
- De Rooster H, de Bruin T, Cox E**, Role of Antibodies to Type I and II Collagen, In Peter Muir (Ed) *Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, ACVS Foundation and Wiley-Blackwell; 87-91 (2010)
- De Rooster H, van Bree H**, Popliteal sesamoid displacement associated with cruciate rupture in the dog, *J Small Anim Pract* 1999b; 40: 316 – 318
- De Rooster H, van Bree H**, Use of compression stress radiography for the detection of partial tears of the canine cranial cruciate ligament, *J Small Anim Pract* 1999a; 40: 573 – 576
- De Rooster H, Van Ryssen B, van Bree H**, Diagnosis of cranial cruciate ligament injuries in dogs by tibial compression radiography, *Vet Rec* 1998; 142: 366 – 368

- Del Carlo M Jr, Loeser RF**, Nitric oxide – mediated chondrocyte cell death requires the generation of additional reactive oxygen species, *Arthritis Rheum* 2002; 46: 394 – 403
- DeAngelis M, Lau RE**, A lateral retinacular imbrication technique for the surgical correction of anterior cruciate ligament rupture in dogs, *J Am Vet Med Assoc* 157: 79-84, 1970
- DeDriick DK, Goldstein SA, Brandt KD, O'Connor BL, Goulet RW, Albrecht M**, A longitudinal study of subchondral plate and trabecular bone in cruciate deficient dogs with osteoarthritis followed up for 54 months, *Arthritis Rheum* 1993; 36:1460–7
- DeLuke AM, Allen DA, Wilson ER, Lineberger JA, Lehenbauer TW, Fabiani M, Poteet BA**, Comparison of radiographic osteoarthritis scores in dogs less than 24 months or greater than 24 months following tibial plateau leveling osteotomy, *Can Vet J*, 2012 Oct; 53(10): 1095-9
- Di Mauro D, Bitto L, D'Andrea L, Favaloro A, Giacobbe O, Magaouda L, Rizzo G, Trimarchi F**, Behaviour of nitric oxide synthase isoforms in inflammatory human joint diseases: An immunohistochemical study, *Ital J Anat Embryol*, 2006; 111 : 111 – 123
- Dhainaut JF, Marin N, Mignon A, et al**, Hepatic response to sepsis: interaction between coagulation and inflammatory processes, *Crit Care Med*, 29: S42; 2001
- Dobryszczycka W**, Biological functions of haptoglobin – new pieces to an old puzzle, *Eur J Clin Chem Clin Biochem*, 1997; 35:647-654
- Do Nascimento PR, Martins DR, Monteiro GR, Queiroz PV, Freire-Neto FP, Queiroz JW, Morais Lima AL, Jeronimo SM**, Association of pro-inflammatory cytokines and iron regulatory protein 2 (IRP2) with Leishmania burden in canine visceral leishmaniasis, *PLoS One*, 2013 Oct 11; 8(10)
- Doom M, de Bruin T, de Rooster H, van Bree H, Cox E**, Immunopathological mechanisms in dogs with rupture of the cranial cruciate ligament, *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 125: 143 – 161
- Dougados M**, Sodium hyaluronate therapy in osteoarthritis: arguments for a potential beneficial structural effect, *Semin Arthritis Rheum*, 2000 Oct; 30(2 Suppl 1): 19-25
- Dueland R**, A Recent technique for reconstruction of the anterior cruciate ligament, *J Am Anim Hosp Assoc* 2:1, 1966
- Dugas B, Debré P, Moncada S**, Nitric oxide, a vital poison inside the immune and inflammatory network, *Res Immunol* 146: 664-670, 1995
- Duval JM, Budsberg SC, Flo GL, Sammarco JL**, Breed, sex, and body weight as risk factors for rupture of the cranial cruciate ligament in young dogs, *J Am Vet Med Assoc*. 1999 Sep 15; 215(6): 811-4
- Ebersole J, Capelli D**, Acute phase reactants in infectious and inflammatory diseases, *Periodontology*, 2000; 23:19-49
- Echigo R, Mochizuki M, Nishimura R, Sasaki N**, Suppressive effect of hyaluronan on chondrocyte apoptosis in experimentally induced acute osteoarthritis in dogs, *J Vet Med Sci*. 2006 Aug; 68(8): 899-902
- Eckersall PD**, Acute phase proteins as markers of infection and inflammation: monitoring animal health, animal welfare and food safety, *Irish Vet J*, 2000; 53: 307-311
- Eckersall PD**, Acute phase proteins as markers of inflammatory lesions, *Comp Haematol Int*, 1995; 5:93-97
- Eckersall PD, Conner JG**, Bovine and canine acute phase proteins, *Vet Res Commun*, 1988; 12:169-178
- Eckersall PD, Duthie S, Safi S, et al**, An automated biochemical assay for haptoglobin: prevention of interference from albumin, *Comp Haematol Int*, 1999; 5: 117–124
- Eckersall PD, Young FJ, McComb C et al**, Acute phase proteins in serum and milk from dairy cows with clinical mastitis, *Vet Rec*, 2001; 148: 35-41
- El Mansouri FE, Chabane N, Zayed N, et al**, "Contribution of H3K4 methylation by SET-1A to interleukin-1-induced cyclooxygenase 2 and inducible nitric oxide synthase expression in human osteoarthritis chondrocytes," *Arthritis and Rheumatism*, vol 63, no 1, pp 168–179, 2011
- Emshoff R, Puffer P, Rudisch A, Gassner R**, 2000, Temporomandibular joint pain: relationship to internal derangement type, osteoarthrosis, and synovial fluid mediator level of tumor necrosis factor-alpha, *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod* 90 (4), 442–449
- Engström-Laurent A**, Changes in hyaluronan concentration in tissues and body fluids in disease states, *Ciba Found Symp*, 1989; 143:233-40; discussion 240-7, 281-5
- Eriksson EE, Werr J, Guo Y, Thoren P, Lindbom L**, Direct observations in vivo on the role of endothelial selectins and alpha (4) integrin in cytokine-induced leukocyte-endothelium interactions in the mouse aorta, *Circ Res*. 2000 Mar 17; 86(5): 526-33
- Fahey TJ III, Sadaty A, Jones WG II, Barber A, Smoller B, Shires GT**, Diabetes impairs the late inflammatory response to wound healing, *J Surg Res* 1991; 50:308-13
- Faldyna M, Zatloukal J, Leva L, Kohout P, et al**, Lymphocyte subsets in stifle joint synovial fluid of dogs with spontaneous rupture of the cranial cruciate ligament, *Acta Vet Br* no 2004; 73: 79 – 84

- Farrell AJ, Blake DR, Palmer RM, et al**, Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases, *Ann Rheum Dis* 51:1219-1221, 1992
- Fedarko NS, Vetter UK, Weinstein S, Robey PG**, Age-related changes in hyaluronan, proteoglycan, collagen, and osteonectin synthesis by human bone cells, *J Cell Physiol*, 1992 May; 151(2): 215-27
- Feng D, Nagy JA, Hipp J, Dvorak HF, Dvorak AM**, Vesiculo-vacuolar organelles and the regulation of venule permeability to macromolecules by vascular permeability factor, histamine, and serotonin, *J Exp Med*. 1996 May 1; 183(5): 1981-6
- Fernández – Madrid F, Karvonen RL, Teitge RA, Miller PR, An T, Negendank WG**, Synovial thickening detected by MR imaging in osteoarthritis of the knee confirmed by biopsy as synovitis, *Magn Reson Imaging* 1995; 13: 177 – 183
- Ferri C, groce G, Cofini V et al**, C-reactive protein interaction with the vascular endothelium and possible role in human atherosclerosis, *Curr Pharm Des* 13:1631, 2007
- Fisher CJ Jr, Agosti JM, Opal SM, Lowry SF, Balk RA, Sadoff JC, Abraham E, Schein RM, Benjamin E**, Treatment of septic shock with the tumor necrosis factor receptor: Fc fusion protein, *The Soluble TNF Receptor Sepsis Study Group*, *N Engl J Med*, 1996 Jun 27; 334(26):1697-702
- Flo G**, Modification of the lateral retinacular imbrication technique for stabilizing cruciate ligament injuries, *J Am Anim Hosp Assoc* 11:570, 1975
- Flo G**, Meniscal injuries, *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1993; 23(4): 831- 843
- Flynn JL, Goldstein MM, Chan J, Triebold KJ, Pfeffer K, Lowenstein CJ, Schreiber R, Mak TW, Bloom BR**, Tumor necrosis factor-alpha is required in the protective immune response against *Mycobacterium tuberculosis* in mice, *Immunity*, 1995 Jun; 2(6): 561-72
- Foos MJ, Hickox JR, Mansour PG, Slaughterbeck JR, Hardy DM**, Expression of matrix metalloprotease and tissue inhibitor of metalloprotease genes in human anterior cruciate ligament, *J Orthop Res* 2001; 19: 642 – 649
- Foster JD, Sample S, Kohler R, Watson K, Muir P, Trepanier LA**, Serum biomarkers of clinical and cytologic response in dogs with idiopathic immune-mediated polyarthropathy, *J Vet Intern Med* 2014 May-Jun; 28(3): 905-11
- Forrester JV, Wilkinson PC, 1981**, Inhibition of leukocyte locomotion by hyaluronic acid, *Journal of Cell Science* 48, 315-331
- Franke A, Lante W, Fackeldey V, Becker HP, Kurig E, Zöller LG, Weinhold C, Markewitz A**, Pro-inflammatory cytokines after different kinds of cardio-thoracic surgical procedures: is what we see what we know?, *Eur J Cardiothorac Surg*. 2005 Oct; 28(4): 569-75
- Fraser JR, Laurent TC, Laurent UB**, 1997, Hyaluronan: its nature distribution, functions and turnover, *Journal of Internal Medicine* 242, 27-33
- Frizziero L, Govoni E, Bacchini P**, Intra-articular hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis of the knee: clinical and morphological study, *Clin Exp Rheumatol*, 1998 Jul-Aug; 16(4): 441-9
- Fujiki M, Shineha J, Yamanokucki K, Misumi K, Sakamoto H**, Effects of treatment of polysulfated glycosaminoglycan on serum cartilage oligomeric matrix protein and C - reactive protein concentrations, serum matrix metalloproteinase - 2 and - 9 activities, and lameness in dogs with osteoarthritis, *Am J Vet Res* 2007; 68: 827 – 833
- Fujita Y, Hara Y, Nezu Y, Schulz KS, Tagawa M**, Pro - inflammatory cytokine activities, matrix metalloproteinase - 3 activity, and sulfated glycosaminoglycan content in synovial fluid of dogs with naturally acquired cranial cruciate ligament rupture, *Vet Surg* 2006; 35: 369 – 376
- Funk CD**, Prostaglandins and leukotrienes: advances in eicosanoid biology, *Science*, 2001 Nov 30; 294(5548): 1871-5
- Galloway RH, Lester SJ**, Histopathological evaluation of canine stifle joint synovial membrane collected at the time of repair of cranial cruciate ligament rupture, *J Am Anim Hosp Assoc* 1995; 31: 289 – 294
- Gambardella PC et al**, Lateral suture technique for management of anterior cruciate ligament rupture in dogs: A retrospective study, *J Am Anim Hosp Assoc* 17: 33, 1981
- Gardner DL, Bradley WA, O ' Connor P, Orford CR, Brereton JD**, Synovitis after surgical division of the anterior cruciate ligament of the dog, *Clin Exp Rheumatol* 1984; 2: 11 – 15
- Gebhardt C, Hirschberger J, Rau S, et al**, Use of C-reactive protein to predict outcome in dogs with systemic inflammatory response syndrome or sepsis, *J Vet Emerg Crit Care* 2009; 19: 450-458
- Gharbi M, Sanchez C, Mazzucchelli G, De Pauw E, Henrotin Y**, Identification of differential pattern of protein expression in canine osteoarthritis serum after anterior cruciate ligament transection: a proteomic analysis, *Vet J*, 2013 Sep; 197(3): 848-53
- Gielen I, Saunders J, Van Ryssen B, Van Bree H**, Computed tomography of the stifle, In Peter Muir (Ed) *Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, ACVS Foundation and Wiley-Blackwell; 123-133 (2010)

- Girish KS, Kemparaju K, Nagaraju S**, Hyaluronidase inhibitors: a biological and therapeutic perspective, *Curr Med Chem*, 2009; 16 (18): 2261-88
- Gnudi G, Bertoni G**, Echographic examination of the stifle joint affected by cranial cruciate ligament rupture in the dog, *Vet Radiol Ultrasound*, 2001 May-Jun; 42(3): 266-70
- Goldberg VM, Burstein A, Dawson M**, The influence of an experimental immune synovitis on the failure mode and strength of the rabbit anterior cruciate ligament, *J Bone Joint Surg Am* 1982; 64: 900 – 906
- Goldblum SE, Yoneda K, Cohen DA, et al**, Provocation of pulmonary vascular endothelial injury in rabbits by human recombinant interleukin-1 beta, *Infect Immun* 56:2255, 1988
- Gomis A, Miralles A, Schmidt RF, Belmonte C**, 2007, Nociceptive nerve activity in a experimental model of knee joint osteoarthritis of the guinea pig: effect of intra-articular hyaluronan application, *Pain*, 130, 126-136
- Gomis A, Pawlak M, Balazs EA, Schmidt RF, Belmonte C**, Effects of different molecular weight elastoviscous hyaluronan solutions on articular nociceptive afferents, *Arthritis Rheum* 2004; 50: 314-26
- Grabowski PS, Macpherson H, Ralston SH**, Nitric oxide production in cells derived from the human joint, *Br J Rheumatol* 35: 207-212, 1996
- Gregory CR**, Immunosuppressive agents. In: Kirk RW, Bonagura JD, eds, *Kirk's Current Veterinary Therapy XIII*, Philadelphia: Saunders; 2000:509-513
- Griffin DW, Vasseur PB**, Synovial fluid analysis in dogs with cranial cruciate ligament rupture, *J Am Anim Hosp Assoc* 28:277, 1992
- Grivennikov SI, Tumanov AV, Liepinsh DJ, et al**, Distinct and redundant in vivo functions of TNF produced by T cells and macrophages/neutrophils: protective and deleterious effects, *Immunity*, 2005 Jan; 22(1): 93-104
- Gruber R, Koch H, Doll BA, et al**, Fracture healing in the elderly patient, *Exp Gerontol* 2006; 41: 1080-93
- Guan Y et al**, Contribution of anterior cruciate ligament subunits during anterior drawer in the human knee, *Proc Orthop Res Soc* 37: 589, 1991
- Guerrero TG, Geyer H, Hässig M, Montavon PM**, Effect of conformation of the distal portion of the femur and proximal portion of the tibia on the pathogenesis of cranial cruciate ligament disease in dogs, *Am J Vet Res*. 2007 Dec; 68(12): 1332-7
- Guerrero T, Pozzi A, Dunbar N, Kipfer N, Haessig M, Beth Horodyski M, Montavon PM**, Effect of tibial tuberosity advancement on the contact mechanics and the alignment of the patellofemoral and femorotibial joints, *Vet Surg* 2011 Oct; 40 (7): 839-48
- Guerrero TG, Rodríguez J**, (2008) *Biomecánica de la técnica, en Adelantamiento de la Tuberosidad Tibial, Canis et felis* 95 (42-49)
- Guerrero TG, Tepic S, Baviera B, Weber W, Montavon PM** (2003), Advancement of the tibial tuberosity for the treatment of cranial cruciate deficient stifle: materials, principles and surgical procedure, *Ed Clinic for Small Surgery, Vetsuisse Faculty University of Zurich, Zurich* (Video)
- Hancock CM, Riegger - Krugh C**, Modulation of pain in osteoarthritis: The role of nitric oxide *Clin J Pain* 2008; 24: 353 – 365
- Harari J**, Caudal cruciate ligament injury, *Vet Clin North Am Small Anim Pract* 1993; 23: 821 – 829
- Hare JM, Keaney JFJ, Balligand J, et al**, Role of nitric oxide in parasympathetic modulation of b-adrenergic myocardial contractility in normal dogs, *J Clin Invest* 95: 360-366, 1995
- Harris NR, First GA, Specian RD**, Influence of arterio-venular pairing of PAF-induced capillary filtration, *Am J Physiol* 276:H107, 1999
- Hashizume M, Koike N, Yoshida H, Suzuki M, Mihara M**, High molecular weight hyaluronic acid relieved joint pain and prevented the progression of cartilage degeneration in a rabbit osteoarthritis model after onset of arthritis, *Mod Rheumatol*, 2010 Oct; 20(5): 432-8
- Häuselmann HJ, Stefanovic-Racic M, Michel BA, Evans CH**, Differences in nitric oxide production by superficial and deep human articular chondrocytes: implications for proteoglycan turnover in inflammatory joint diseases, *J Immunol*. 1998 Feb 1; 160(3): 1444-8
- Hay CW, Chu Q, Budsberg SC, Clayton MK, Johnson KA**, Synovial fluid interleukin 6, tumor necrosis factor, and nitric oxide values in dogs with osteoarthritis secondary to cranial cruciate ligament rupture, *Am J Vet Res*; 58 (1997): 1027-1032
- Hayashi K, Frank JD, Dubinsky C, Zhengling H, Markel MD, Manley PA, Muir P**, Histologic changes in ruptured canine cranial cruciate ligament, *Vet Surg* 2003a; 32 : 269 – 277
- Hayashi K, Frank JD, Hao Z, Schamberger GM, Markel MD, Manley PA, Muir P**, Evaluation of ligament fibroblast viability in ruptured cranial cruciate ligament of dogs, *Am J Vet Res* 2003b ; 64 : 1010 – 1016
- Hayashi K1, Manley PA, Muir P**, Cranial cruciate ligament pathophysiology in dogs with cruciate disease: a review, *J Am Anim Hosp Assoc*, 2004 Sep-Oct; 40(5): 385-90

- Hayashi K, Muir P**, *Histology of Cranial Cruciate Ligament Rupture*, In Peter Muir (Ed) *Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, ACVS Foundation and Wiley-Blackwell; 45-51 (2010)
- Heffron LE, Campbell JR**: Morphology, histology and functional anatomy of the cranial cruciate ligament, *Vet Rec* 102: 280, 1978)
- Hellström LE, Carlsson C, Boucher JF, Michanek P**, Intra-articular injections with high molecular weight sodium hyaluronate as a therapy for canine arthritis, *Vet Rec* 2003; 153: 89 – 90
- Henderson EB, Grootveld M, Farrell A, Smith EC, Thompson PW, Blake DR**, 1991, A pathological role for damaged hyaluronan in synovitis, *Annals of the Rheumatic Diseases*, 50, 196-200
- Henderson LM, Figueroa CD, Mulleresterl W et al**, Assembly of contact-phase factors on the surface of the human neutrophil membrane, *Blood* 84:474, 1994
- Hewicker TM, Carter SD, Bennett D**, Immunocytochemical demonstration of lymphocyte subsets and MHC class II antigen expression in synovial membranes from dogs with rheumatoid arthritis and degenerative joint disease, *Vet Immunol Immunopathol* 1999; 67: 341 – 357
- Heyman B**, Regulation of antibody responses via antibodies, complement and Fc receptors, *Ann Rev Immunol* 2000; 18:709-737
- Hilal G, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Ranger P, Lajeunesse D**, Osteoblast-like cells from human subchondral osteoarthritic bone demonstrate an altered phenotype in vitro: possible role in subchondral bone sclerosis, *Arthritis Rheum* 1998; 41: 891–9
- Hilal G, Martel-Pelletier J, Pelletier JP, Duval N, Lajeunesse D**, Abnormal regulation of urokinase plasminogen activator by insulin-like growth factor 1 in human osteoarthritic subchondral osteoblasts, *Arthritis Rheum* 1999; 42: 2112–22
- Hocheppied T, Berger FG, Baumann H et al**, Alfa-1 acid glycoprotein: an acute phase protein with inflammatory and immunomodulating properties, *Cytokine Growth Factor Rev* 2003; 14:25-34
- Hoffman DE, Miller JM, Ober CP, Lanz OI, Martin RA, Shires PK**, Tibial tuberosity advancement in 65 canine stifles, *Vet Comp Orthop Traumatol* 2006; 19: 219–227
- Hohn RB, Newton CD**, Surgical repair of ligamentous structures of the stifle joint, In: Bojrab MJ, ed *Current Techniques in Small Animal Surgery*, Philadelphia: Lea & Febiger, 1975
- House AK, Gregory SP, Catchpole B**, Pattern - recognition receptor mRNA expression and function in canine monocyte/macrophages and relevance to canine anal furunculosis, *Vet Immunol Immunopathol* 2008; 124: 230 – 240
- Huang FP, Niedbala W, Wei XQ et al**, Nitric oxide regulates Th 1 cell development through the inhibition of IL-12 synthesis by macrophages, *Eur J Immunol* 28: 4062, 1998
- Hulse DA, Shires PK**, The meniscus: anatomy, function, and treatment. *Compend Contin Educ Pract Vet* 1983; 5(9): 765-774.
- Hulse DA, Shires PK**, The stifle joint, In Slatter DH (ed): *Textbook of Small Animal Surgery*, WD Saunders, Philadelphia, 1985, pp 2193-2235
- Hulth A**, Does osteoarthritis depend on growth of the mineralized layer of cartilage? *Clin Orthop* 1993; 287:19–24
- Hurter K, Spreng D, Rytz U, Schawalder P, Ott-Knüsel F, Schmökel H**, Measurements of C-reactive protein in serum and lactate dehydrogenase in serum and synovial fluid of patients with osteoarthritis, *Vet J* 2005 Mar; 169(2): 281-5
- Imhof H, Breitenseher M, Kainberger F, Rand T, Trattnig S**, Importance of subchondral bone to articular cartilage in health and disease, *Top Magn Reson Imaging* 1999; 10: 180–92
- Inauen R, Koch D, Bass M, Haessig M**, Tibial tuberosity conformation as a risk factor for cranial cruciate ligament rupture in the dog, *Vet Comp Orthop Traumatol*, 2009; 22(1): 16-20
- Innes JF, Costello M, Barr FJ, Rudolf H, Barr AR**, Radiographic progression of osteoarthritis of the canine stifle joint: a prospective study, *Vet Radiol Ultrasound*, 2004 Mar-Apr; 45(2): 143-8
- Itoh T, Matsuda H, Tanioka M, et al**, The role of matrix metalloproteinase - 2 and matrix metalloproteinase - 9 in antibody - induced arthritis, *J Immunol* 2002; 169: 2643 – 2647
- Iwanaga T, Shikichi M, Kitamura H, Yanase H, Nozawa-Inoue K**, Morphology and functional roles of synoviocytes in the joint, *Arch Histol Cytol* 2000; 63: 17 – 31
- Iwasaki A, Medzhitov R**, Regulation of adaptive immunity by the innate immune system, *Science* 2010; 327: 291 – 295
- Iwaso H, Sato T**, Examination of the efficacy and safety of oral administration of Hyabest J, highly pure hyaluronic acid, for knee joint pain, *Journal of Japanese Society of Clinical Sports Medicine*, vol 17, no 3, pp 566–572, 2009
- Jabs WJ, Logering BA, Gerke P et al**, The kidney as a second site of human C-reactive protein formation in vivo, *Eur J Immunol*, 2003; 33:152-161
- Jaeger GH, Budsberg SC**, Medical Therapy for Stifle Arthritis, In Peter Muir (Ed) *Advances in the Canine Cranial Cruciate*

- Ligament, ACVS Foundation and Wiley-Blackwell; 241-247 (2010)
- Jerram RM, Walker AM**, Cranial cruciate ligament injury in the dog: pathophysiology, diagnosis and treatment, *N Z Vet J*, 2003 Aug; 51(4): 149-58
- Johnson JM, Johnson AL**, Cranial cruciate ligament rupture: Pathogenesis, diagnosis and postoperative rehabilitation, *In Stifle Surgery, The Veterinary Clinics Of North America Small Animal Practice*, WB Saunders, Philadelphia, pp 717-735, 1993
- Joosten LA, Helsen MM, van de Loo FA, van den Berg WB**, 1996, Anticytokine treatment of established type II collageninduced arthritis in DBA/1 mice. A comparative study using anti-TNF alpha, anti-IL-1 alpha/beta, and IL-1Ra, *Arthritis Rheum* 39, 797-809
- Joyce DA1, Gibbons DP, Green P, Steer JH, Feldmann M, Brennan FM**, Two inhibitors of pro-inflammatory cytokine release, interleukin-10 and interleukin-4, have contrasting effects on release of soluble p75 tumor necrosis factor receptor by cultured monocytes, *Eur J Immunol*. 1994 Nov; 24 (11): 2699-705.
- Kahan A, Uebelhart D, De Vathaire F, Delmas PD, Reginster JY**, Long-term effects of chondroitins 4 and 6 sulfate on knee osteoarthritis: the study on osteoarthritis progression prevention, a two-year, randomized, double-blind, placebo-controlled trial, *Arthritis Rheum* 2009, 60:524-533
- Kajikawa T, Furuta A, Onishi T, Tajima T, Sugii S**, Changes in concentrations of serum amyloid A protein, alpha 1-acid glycoprotein, haptoglobin, and C-reactive protein in feline sera due to induced inflammation and surgery, *Vet Immunol Immunopathol*, 1999 Mar 29; 68(1): 91-8
- Kajimoto O, Odanaka Y, Sakamoto W, Yoshida K, Takahashi T**, Clinical effects of dietary hyaluronic acid on dry skin, *Journal of New Remedies and Clinics*, vol 50, no 4, pp 548-560, 2001
- Kalman, D. S.; Heimer, M.; Valdeon, A.; Schwartz, H.; Sheldon, E**, Effect of a natural extract of chicken combs with a high content of hyaluronic acid (Hyal-Joint®) on pain relief and quality of life in subjects with knee osteoarthritis: a pilot randomized double-blind placebo-controlled trial *Nutr J* 2008, 7 (3) 1- 9
- Karim Z, Wakefi eld RJ, Quinn M, Conaghan PG, Brown AK, Veale DJ, O'Connor P, Reece R, Emery P**, Validation and reproducibility of ultrasonography in the detection of synovitis in the knee: A comparison with arthroscopy and clinical examination, *Arthritis Rheum* 2004; 50: 387 - 394
- Kasahara S, Ando K, Saito K, Sekikawa K, Ito H, Ishikawa T, Ohnishi H, Seishima M, Kakumu S, Moriwaki H**, Lack of tumor necrosis factor alpha induces impaired proliferation of hepatitis B virus-specific cytotoxic T lymphocytes, *J Virol*, 2003 Feb; 77 (4): 2469-76
- Kawcak CE, Frisbie DD, Trotter GW, McIlwraith CW, Gillette SM, Powers BE, Walton RM**, Effects of intravenous administration of sodium hyaluronate on carpal joints in exercising horses after arthroscopic surgery and osteochondral fragmentation, *Am J Vet Res*. 1997 Oct; 58(10): 1132-40
- Kennedy JC et al**: Tension studies of human knee ligaments, *J Bone Joint Surg (Am)* 58A: 350, 1976
- Khale P, Saal JG, Schaudt K, et al**, Determination of cytokines in synovial fluids: correlation with diagnosis and histomorphological characteristics of synovial tissue, *Ann Rheum Dis*, 1992; 1992; 51: 731-737
- Kim SE, Pozzi A, Banks SA, Conrad BP, Lewis DD**, Effect of tibial tuberosity advancement on femorotibial contact mechanics and stifle kinematics, *Vet Surg*, 2009; 38: 33-39
- Kirby BM**. Decision - making in cranial cruciate ligament ruptures, *Vet Clin North Am Small Anim Pract*, 1993; 23: 797 - 819
- Kitasato A, Tajima Y, Kuroki T, Tsutsumi R, Adachi T, Mishima T, Kanematsu T**, Inflammatory cytokines promote inducible nitric oxide synthase-mediated DNA damage in hamster gallbladder epithelial cells, *World J Gastroenterol*, 2007 Dec 21; 13(47): 6379-84
- Kjelgaard-Hansen M, Christensen MB, Lee MH, Jensen AL, Jacobsen S**, Serum amyloid A isoforms in serum and synovial fluid from spontaneously diseased dogs with joint diseases or other conditions, *Vet Immunol Immunopathol*, 2007 Jun 15; 117 (3-4): 296-301
- Kjelgaard-Hansen M, Jacobsen S**, Assay validation and diagnostic applications of major acute-phase protein testing in companion animals, *Clin Lab Med* 2011; 31: 51-70
- Klenner S, Bauer N, Moritz A**, Evaluation of three automated human immunoturbidimetric assays for the detection of C-reactive protein in dogs, *J Vet Diagn Invest* 2010; 22: 544-552.
- Kloosterman T, Von Blomberg BM, Borgstein P, et al**, Unimpaired immune functions after laparoscopic cholecystectomy, *Surgey* 115:424, 1994
- Kobayashi K, Amiel M, Harwood FL, Healey RM, Sonoda M, Moriya H, Amiel D**, The long-term effects of hyaluronan during development of osteoarthritis following partial meniscectomy in a rabbit model, *Osteoarthritis Cartilage* 2000, 8:359-365
- Kobayashi S, Baba H, Uchida K**, Microvascular system of anterior cruciate ligament in dogs, *J Orthop Res* 2006; 24: 1509 - 1520

- Koch A, Zacharowski K, Boehm O, Stevens M, Lipfert P, von Giesen HJ, Wolf A, Freynhagen R**, Nitric oxide and pro-inflammatory cytokines correlate with pain intensity in chronic pain patients, *Inflamm Res* 2007 Jan; 56(1): 32-7
- Kogan G, Soltes L, Stern R, Gemeiner P**, Hyaluronic acid: a natural biopolymer with a broad range of biomedical and industrial applications, *Biotechnol Lett*, 2007, 29, 17–25
- Knudson CB, Knudson W**, Hyaluronan and CD44: modulators of chondrocyte metabolism, *Clin Orthop Relat Res*, 2004; pp S152–62
- Kramer M, Gerwing M, Hach V, Schimke E**, Sonography of the musculoskeletal system in dogs and cats, *Vet Radiol Ultrasound*, 1997 Mar-Apr; 38(2): 139-49
- Kramer M, Stengel H, Gerwing M, et al**, Sonography of the canine stifle, *Vet Radiol Ultrasound* 1999; 40: 282 – 293
- Kruglov AA, Kuchmiy A, Grivennikov SI, Tumanov AV, Kuprash DV, Nedospasov SA**, Physiological functions of tumor necrosis factor and the consequences of its pathologic overexpression or blockade: mouse models, *Cytokine Growth Factor Rev* 2008 Jun-Aug; 19 (3-4): 231-44
- Kuhn K, Ohlerth S, Makara M, Hässig M, Guerrero T**, Radiographic and ultrasonographic evaluation of the patellar ligament following tibial tuberosity advancement, *Veterinary Radiology and Ultrasound*, 2011
- Kumar V, Abbas A, Fausto N, Aster J**, Nitric Oxide in Robbins and Cotran pathologic basis of disease, ed. 8, Philadelphia, 2009, Saunders/Elsevier
- Kuroki K, Cook JL, Kregger JM**, 2002, Mechanisms of action and potential uses of hyaluronan in dogs with osteoarthritis, *Journal of the American Veterinary Medical Association* 221, 944-950
- Kushner I, MacLewitz A**, The acute phase response: an overview, In Mackiewicz A, Kushner I, Baumann H, eds, *Acute Phase Proteins: Molecular Biology, Biochemistry and Clinical Applications*, London CRC Press; 1993:3-19
- Laborda J, Gil J, Gimeno M, Unzueta A**, Ángulos y articulaciones, en *Atlas de Artrología del Perro*, Editorial Servet, Zaragoza, 2005, pg 5
- Lafaver S, Miller NA, Stubbs WP, Taylor RA, Boudrieau RJ**, Tibial tuberosity advancement for stabilization of the canine cranial cruciate ligament-deficient stifle joint: Surgical technique, early results, and complications in 101 dogs, *Vet Surg* 2007; 36: 573–586
- Lajeunesse D, Delalandre A, Martel-Pelletier J, Pelletier JP**, Hyaluronic acid reverses the abnormal synthetic activity of human osteoarthritic subchondral bone osteoblasts, *Bone* 2003; 33: 703-10
- Lambert C, Bianchi E, Keroack S, et al**, Reduced dosage of ketoprofen alone or with tramadol for long – term treatment of osteoarthritis in dogs (abstract), *Vet Anaesth Analg* 2004; 31: 23.
- Lascelles BDX**: Beyond NSAIDs for canine osteoarthritis patients; multimodal drug therapy, *Proceedings BVOA Scientific Meeting, Austin Court, Birmingham, United Kingdom, April 11, 2007*, pp 18-23
- Lascelles BDX, Gaynor JS, Smith ES, et al**, Amantidine in a multimodal analgesic regimen for alleviation of refractory osteoarthritis pain in dogs, *J Vet Intern Med* 2008; 22: 53 – 59
- Lascelles BDX, Main DC**: Surgical trauma and chronically painful conditions—within our comfort zone but beyond theirs, *J Am Vet Med Assoc* 2002; 221: 215-222
- Laurent TC, Fraser JRE**, Hyaluronan, *FASEB J*, 1992, 6, 2397–2404
- Lawrence D, Bao S, Canfield PJ, Allanson M, Husband AJ**, Elevation of immunoglobulin deposition in the synovial membrane of dogs with cranial cruciate ligament rupture, *Vet Immunol Immunopathol* 1998; 65: 89 – 96
- Lawrence WT**, Physiology of the acute wound, *Clin Plast Surg*, 1998 Jul; 25(3): 321-40
- Lazar TP, Berry CR, Dehaan JJ, Peck JN, Correa M**. Long-term radiographic comparison of tibial plateau leveling osteotomy versus extracapsular stabilization for cranial cruciate ligament rupture in the dog, *Vet Surg* 2005; 34: 133–141
- Leeb BF, Schweitzer H, Montag K, Smolen JS**, A metaanalysis of chondroitin sulfate in the treatment of osteoarthritis, *J Rheumatol* 2000, 27:205-211
- Lees P**, Analgesic, Antiinflammatory, Antipyretic drugs, In *Veterinary Pharmacology & Therapeutics*, 9th Ed, Riviere and Papich Eds, Wiley-Blackwell, Iowa, 2009, Chapter 19, 457 - 492
- Lefebvre V, Peeters-Joris C, Vaes G**, Modulation by interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha of production of collagenase, tissue inhibitor of metalloproteinases and collagen types in differentiated and dedifferentiated articular chondrocytes, *Biochim Biophys Acta*, 1990 May 22; 1052(3): 366-78
- Leipold HR, Goldberg RL, Lust G**, Canine serum keratan sulfate and hyaluronate concentrations, Relationship to age and osteoarthritis, *Arthritis Rheum*, 1989 Mar; 32(3): 312-21
- Lehmann AK, Haltensen A, Sornes S, et al**, High levels of interleukin-10 in serum are associated with fatality in meningococcal disease, *Infect Immun* 63:2109, 1995

- Lemburg AK, Meyer - Linenberg A, Hewicker – Trautwein M**, Immunohistochemical characterization of inflammatory cell populations and adhesion molecule expression in synovial membranes from dogs with spontaneous cranial cruciate ligament rupture, *Vet Immunol Immunopathol* 2004; 97: 231 – 240
- Li B, Aspden RM**, Composition and mechanical properties of cancellous bone from the femoral head of patients with osteoporosis or osteoarthritis, *J Bone Miner Res* 1997; 12: 641–51
- Li L, Bathia M, Zhu YZ et al**, Hydrogen sulfide is a novel mediator of lipopolysaccharide-induced inflammation in the mouse, *FASEB J*, 19:1196, 2005
- Liew FY, Millott S, Parkinson C et al**, Macrophage killing of *Leishmania* parasite in vivo is mediated by nitric-oxide from L-arginine, *J Immunol* 144:4794, 1990
- Lindblad S, Hedfors E**, Intraarticular variation in synovitis. Local macroscopic and microscopic signs of inflammatory activity are significantly correlated, *Arthritis Rheum* 1985; 28: 977 – 986
- Lindhorst E, Young D, Bagshaw W, Hyland M, Kisilevsky R**, Acute inflammation, acute phase serum amyloid A and cholesterol metabolism in the mouse, *Biochim Biophys Acta*, 1997 Apr 25; 1339(1): 143-54
- Lipowitz AJ, Wong PL, Stevens JB**, Synovial membrane changes after experimental transection of the cranial cruciate ligament in dog, *Am J Vet Res* 1985; 46: 1166 – 1170
- Lo GH, LaValley M, McAlindon T, Felson DT**, Intra-articular hyaluronic acid in treatment of knee osteoarthritis: a meta-analysis. *JAMA* 2003; 290: 3115-21.
- Lodato D, Wardlaw J, Rowe D**, Retrospective study comparing two materials commonly used in the LFS technique for CCLR, *J Am Anim Hosp Assoc*. 2013 Mar-Apr; 49(2): 108-14
- Loening AM, James IE, Levenston ME, Badger AM, Frank EH, Kurz B, Nuttall ME, Hung HH, Blake SM, Grodzinsky AJ, Lark MW**, Injurious mechanical compression of bovine articular cartilage induces chondrocyte apoptosis, *Arch Biochem Biophys*, 2000 Sep 15; 381(2): 205-12
- Loots MA**, Differences in cellular infiltrate and extracellular matrix of chronic diabetic and venous ulcers versus acute wounds. *J Invest Dermatol* 1998; 111:850-7
- Louis E, Remer KA, Doherr MG, Neumann U, Jungi T, Schawalder P, Spreng D**, Nitric oxide and metalloproteinases in canine articular ligaments: A comparison between the cranial cruciate, the medial genual collateral and the femoral head ligament, *Vet J* 2006; 172: 466 – 472
- Lyn Y, Rajala MW, Berger JP et al**, Hyperglycemia-induced production of acute phase reactants in adipose tissue, *J Biol Chem*, 2001; 276: 42077-42083
- MacDonald TL, Allen DA, Monteith GJ**, Clinical assessment following tibial tuberosity advancement in 28 stifles at 6 months and 1 year after surgery, *Can Vet J*, 2013 Mar; 54(3): 249-54
- Mahn MM, Cook JL, Cook CR, Balke MT**, Arthroscopic verification of ultrasonographic diagnosis of meniscal pathology in dogs, *Vet Surg* 2005; 34: 318 – 323
- Mansell JP, Tarlton JF, Bailey AJ**, Biochemical evidence for altered subchondral bone collagen metabolism in osteoarthritis of the hip, *Br J Rheumatol* 1997; 36: 16–19
- Marhaug G, Hackett B, Downton SB, 1997**, Serum Amyloid A gene expression in rabbit, mink and mouse, *Clin Exp Immunol*, 107: 425-434
- Marshall KW, Manolopoulos V, Mancer K, et al**, Amelioration of disease severity by intraarticular hylan therapy in bilateral canine osteoarthritis, *J Orthop Res* 2000; 18: 416 – 425
- Martel-Pelletier J, Pelletier JP**, Osteoarthritis, Inflammation and Degradation: A Continuum, *J Buckwalter et al (Eds) IOS Press*, 2007
- Martínez-Subiela S, Ginel PJ, Ceron JJ**, Effects of different glucocorticoid treatments on serum acute phase proteins in dogs, *Vet Rec* 2004; 154: 814–817
- Martí-Angulo S, García-López N, Díaz-Ramos A**, Efficacy of an oral hyaluronate and collagen supplement in the preventive treatment of elbow dysplasia, *J Vet Sci* 2014 Sep 17 (ahead of print)
- Massicotte F, Lajeunesse D, BENDERDOUR M, Pelletier J-P, HILAL G, Duval N, Martel-Pelletier J**, Can altered production of interleukin 1b, interleukin-6, transforming growth factor-b and prostaglandin E2 by isolated human subchondral osteoblasts identify two subgroups of osteoarthritic patients, *Osteoarthritis Cartilage* 2002; 10: 491–500
- Mattern KL, Berry CR, Peck JN, et al**, Radiographic and ultrasonographic evaluation of the patellar ligament following tibial plateau leveling Osteotomy, *Vet Radiol Ultrasound* 2006; 47: 185–191
- McAlindon TE, LaValley MP, Gulin JP, Felson DT**, Glucosamine and chondroitin for treatment of osteoarthritis: a systematic quality assessment and meta-analysis, *JAMA* 2000, 283: 1469-1475

- McCarthy G, O'Donovan J, Jones B, McAllister H, Seed M, Mooney C**, Randomized double - blind, positive - controlled trial to assess the efficacy of glucosamine/chondroitin sulfate for the treatment of dogs with osteoarthritis, *Vet J* 2007; 174: 54 – 61
- McDonald TL, Larson MA, Mack DR, Weber A**, 2001, Elevated extrahepatic expression and secretion of mammary - associated serum amiloid A 3 (M-SAA3) into colostrums, *Vet Immunol Immunopathol*, 83:203-211
- McKenzie BA**, What is the evidence? There is only very weak clinical trial evidence to support the use of glucosamine and chondroitin supplements for osteoarthritis in dogs, *J Am Vet Med Assoc*, 2010 Dec 15; 237(12): 1382-3
- Meinen JJ, Verbeek M**, Voorste kruisbandlaesies bij de hond: een evaluatie van therapie, klinisch en röntgenologisch verloop bij 215 patiënten, *Referaat Geneeskunde van het Kleine Huisdier, Vakgroep Radiologie, Rijksuniversiteit te Utrecht* 1980
- Meyer RA Jr, Meyer MH, Tenholder M, et al**, Gene expression in older rats with delayed union of femoral fractures, *J Bone Joint Surg [Am]* 2003; 85-A: 1243-54
- Meyer RA Jr, Tzahakis PJ, Martin DF, et al**, Age and ovariectomy impair both the normalization of mechanical properties and the accretion of mineral by the fracture callus in rats, *J Orthop Res* 2001; 19: 428-35
- Miller MSJ, Chotinaruemol S, Sadowskakrowicka H, et al**, Nitric oxide-the Jekyll and Hyde of gut inflammation, *Agents Actions* 39: C180, 1993
- Miranda y cols, 2001**, Nitric Oxide: *Biology and Chemistry*, Vol 5, pp 62-71.
- Mokart D, Capoc C, Blache JL et al**, Early postoperative compensatory anti-inflammatory response syndrome is associated with septic complications after major surgical trauma in patients with cancer, *Br J Surg* 89:1450, 2002
- Mominoki K, Nakagawa-Tosa N, Morimatsu M, Syuto B, Saito M**, Haptoglobin in Carnivora: a unique molecular structure in bear, cat and dog haptoglobins, *Comp Biochem Physiol*, B110 (1995) 785–789
- Monahan JJ et al**, In vivo strain patterns in the four major canine knee ligaments, *J Orthop Res* 2: 408, 1984
- Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA**, Nitric-oxide-physiology, pathophysiology and pharmacology, *Pharmacol Rev* 43:109, 1991
- Montavon PM, Damur DM, Tepic S**, Advancement of the tibial tuberosity for the treatment of cranial cruciate deficient canine stifle. Abstracts of the 1st World Orthopaedic Veterinary Congress; Munich 2002: 152
- Montavon PM, Damur DM, Tepic S**, Tibial tuberosity advancement (TTA) for the treatment of cranial cruciate disease in dogs: Evidences, technique and initial clinical results, 12th ESVOT Congress; Munich, Germany, 2004, pp 254–255
- Moreau M, Dupuis J, Bonneau NH, Desnoyers M**, Clinical evaluation of a nutraceutical, carprofen and meloxicam for the treatment of dogs with osteoarthritis, *Vet Rec*, 2003 Mar 15; 152(11): 323-9
- Moreland LW**, Intra-articular hyaluronan (hyaluronic acid) and hylans for the treatment of osteoarthritis: mechanisms of action, *Arthritis Res Ther*, 2003; 5(2): 54-67
- Morgan JP, Voss K, Damur DM, Guerrero T, Haessig M, Montavon PM**, Correlation of radiographic changes after tibial tuberosity advancement in dogs with cranial cruciate-deficient stifles with functional outcome, *Vet Surg* 2010: 1–8
- Mosby Medical Dictionary**, 8th Edition, 2009, Elsevier, Saunders, Missouri
- Muir P**, Role of Synovial Immune Responses in Stifle Synovitis, In Peter Muir (Ed) *Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, ACVS Foundation and Wiley-Blackwell; 87-91 (2010)
- Muir P, Danova NA, Argyle DJ, Manley PA, Hao Z**, Collagenolytic protease expression in cranial cruciate ligament and stifle synovial fluid in dogs with cranial cruciate ligament rupture, *Vet Surg* 2005a; 34: 482 – 490
- Muir P, Kelly JL, Suresh M, et al**, Synovium and ruptured ligament contain activated CD4 + and CD8 + T lymphocytes in dogs with chronic knee synovitis and degenerative anterior cruciate ligament rupture, *Trans Orthop Res Soc* 2007a; 53: 718
- Muir P, Oldenhoff WE, Hudson AP, Manley PA, Schaefer SL, Markel MD, Hao Z**, Detection of DNA from a range of bacterial species in the knee joints of dogs with inflammatory knee arthritis and associated degenerative anterior cruciate ligament rupture, *Microb Pathog* 2007c; 42 : 47 – 55
- Muir P, Rox R, Wu Q, Hudson AP, et a**, Seasonal variation in detection of bacterial DNA in the stifle joints of dogs with inflammatory arthritis and degenerative cranial cruciate ligament rupture, *Vet Microbiol* 2010 ; 141 : 127 – 133
- Muir P, Schaefer SL, Manley PA, et al** T Lymphocyte antigen receptor expression in dogs with inflammatory stifle arthritis and degenerative cranial cruciate ligament rupture, *Vet Surg* 2009; 38: E40
- Muir P, Schaefer SL, Manley PA, Svaren JP, Oldenhoff WE, Hao Z**, Expression of immune response genes in the stifle joint of dogs with oligoarthritis and degenerative cranial cruciate ligament rupture, *Vet Immunol Immunopathol* 2007b; 119 : 214 – 221

- Muir P, Schamberger GM, Manley PA, Hao Z.** Localization of cathepsin K and tartrate - resistant acid phosphatase in synovium and cranial cruciate ligament in dogs with cruciate disease, *Vet Surg* 2005b; 34: 239 – 246
- Muir P, Schwartz Z, Malek S, Kreines A, Cabrera SY, Buote NJ, Bleedorn JA, Schaefer SL, Holzman G, Hao Z.** Contralateral cruciate survival in dogs with unilateral non-contact cranial cruciate ligament rupture, *PLoS One*, 2011;6 (10)
- Murata H, Shimada N, Yoshioka M.** Current research on acute phase proteins in veterinary diagnosis: an overview, *Vet J*, 168 (2004) 28–40
- Myers SL, Brandt KD, O' Connor BL, Visco DM, Albrecht ME.** Synovitis and osteoarthritic changes in canine articular cartilage after anterior cruciate ligament transection, *Effect of surgical hemostasis*, *Arthritis Rheum* 1990; 33: 1406 – 1415
- Nabli H, Tuller E, Sharpe-Timms KL.** Haptoglobin expression in endometrioid adenocarcinoma of the uterus, *Reprod Sci* 2010 Jan; 17(1): 47-55
- Nagaoka I, Nabeshima K, Murakami S, et al.** Evaluation of the effects of a supplementary diet containing chicken comb extract on symptoms and cartilage metabolism in patients with knee osteoarthritis, *Experimental and Therapeutic Medicine*, vol 1, no 5, pp 817–827, 2010
- Nagase H, Visse R, Murphy G.** Structure and function of matrix metalloproteinases and TIMPs, *Cardiovasc Res* 2006; 69:562 – 573
- Nakamura M, Takahashi M, Ohno K, et al.** C-reactive protein concentration in dogs with various diseases, *J Vet Med Sci* 2008; 70: 127–131
- Narni-Mancinelli E, Campisi L, Bassand D, Cazareth J, Gounon P, Glaichenhaus N, Lauvau G.** Memory CD8+ T cells mediate antibacterial immunity via CCL3 activation of TNF/ROI+ phagocytes. *J Exp Med*. 2007 Sep 3; 204(9): 2075
- Nathan C, Xie QW.** Regulation of biosynthesis of nitric-oxide, *J Biol Chem* 269; 13725, 1994
- Nemzek JA, Cotroneo T, Hampton AL.** Inflammatory response, in *Veterinary Surgery: Small Animal Vol 2*, pg 1-14, Karen Tobias (Eds), 2012, Elsevier, Saunders, Missouri
- Nganvongpanit K, Burin Boonsri B, Sripratak T, Markmee P.** Effects of one-time and two-time intra-articular injection of hyaluronic acid sodium salt after joint surgery in dogs *Vet Sci Jun* 2013; 14(2): 215–222
- Niebauer GW, Menzel EJ.** Immunological changes in canine cruciate ligament rupture, *Res Vet Sci* 1982; 32: 235 – 241
- Niebauer GW, Wolf B, Bashey RI, Newton CD.** Antibodies to canine collagen types I and II in dogs with spontaneous cruciate ligament rupture and osteoarthritis, *Arthritis Rheum* 1987; 30: 319 – 327
- Niedbala W, Wei XQ, Piedrafita D, et al.** Effects of nitric oxide on the reduction and differentiation of Th1 cells, *Eur J Immunol* 29:2498, 1999
- Nisell R.** Mechanics of the knee. A study of joint and muscle load with clinical applications, *Acta Orthop Scand Suppl* 1985; 216: 1-42
- Nisell R, Németh G, Ohlsén H.** Joint forces in the extension of the knee: Analysis of a mechanical model, *Acta Orthop Scand* 1986; 57: 41-46
- Nolan CM, Beaty HN, Bagdade JD.** Further characterization of the impaired bactericidal function of granulocytes in patients with poorly controlled diabetes, *Diabetes* 1978;27:889-94
- O'Connor BL, Woodbury P.** The primary articular nerves to the dogs knee, *J Anat* 1982; 134 : 563 – 572
- O'Hara A, Lim FL, Mazzatti DJ, et al.** Microarray analysis identifies matrix metalloproteinases (MMPs) as key genes whose expression is up-regulated in human adipocytes by macrophage-conditioned medium, *Pflugers Arch* 2009; 458: 1103–1114.
- Ohno K, Yokoyama Y, Nakashima K, Setoguchi A, Fujino Y, Tsujimoto H.** C-reactive protein concentration in canine idiopathic polyarthritis, *J Vet Med Sci* 2006, 68:1275–1279
- Okusawa S, Gelfand JA, Ikejima T, et al.** Interleukin 1 induces a shock-like state in rabbits: synergism with tumor necrosis factor and the effect in cyclooxygenase inhibition, *J Clin Invest* 81; 1162, 1988
- Olczyk P, Komosińska-Vashev K, Winsz-Szczotka K, Kuźnik-Trocha K, Olczyk K.** Hyaluronan: structure, metabolism, functions, and role in wound healing, *Postepy Hig Med Dosw (Online)*, 2008 Dec 2; 62(): 651-9
- Olgos GR, Siddiqui J et al.** Six at six: Interleukin-6 measured 6 h after the initiation of sepsis predicts mortality over 3 days, *Shock* 17:463, 2002
- Ollier WER, Kennedy LJ, Thomson W, et al.** Dog MHC alleles containing the human RA shared epitope confer susceptibility to canine rheumatoid arthritis *Immunogenetics* 2001; 53:669 – 673.
- Opal SM, DePalo VA.** Anti-inflammatory cytokines, *Chest* 117; 1162, 2000
- Orford CR, Gardner DL, O'Connor P.** Ultrastructural changes in dog femoral condylar cartilage following anterior cruciate ligament section, *J Anat* Dec 1983; 137(Pt 4): 653–663

- Otobe K, Sugimoto T, Jinbo T, et al**, Physiological levels of C-reactive protein in normal canine sera, *Vet Res Commun*, 1998; 22: 77–85
- Paatsama S**, Ligament injuries in the canine stifle joint, A clinical and experimental study, Thesis. Royal Veterinary College, Stockholm, 1952
- Paatsama S**, Ligament injuries in the canine stifle joint, *J Small Anim Med* 1:329, 1953
- Pacchiana PD, Morris E, Gillings SL, et al**, Surgical and postoperative complications associated with tibial plateau leveling osteotomy in dogs with cranial cruciate ligament rupture: 397 cases (1998–2001), *J Am Vet Med Assoc* 2003; 222: 184–193
- Page GG**, Surgery-induced immunosuppression and postoperative pain management, *AACN Clin Issues* 16:302, 2005
- Paltrinieri S**, The Feline Acute Phase Reaction, *Vet J* 177: 26, 2008
- Papayianni A, Serhan CN, Brady HR**, Lipoxygenase (4) and b-4 inhibit leukotriene-stimulated interactions of human neutrophils and endothelial cells, *J Immunol* 156:2264, 1996
- Paredes Y, Massicotte F, Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Laufer S, Lajeunesse D**, Study of role of leukotriene B4 in abnormal function of human subchondral bone, *Lajeunesse, Martel-Pelletier, Fernandes, et al osteoarthritis osteoblasts, Effects of cyclooxygenase and/or 5-lipoxygenase inhibition, Arthritis Rheum* 2002;46:1804–12
- Park RD**, Radiographic evaluation of the canine stifle joint, *Comp Cont Ed* 1979; 1: 833 – 841
- Partsch G, Schwarzer C, Neumüller J, Dunky A, Petera P, Broll H, Ittner G, Jantsch S**, 1989, Modulation of the migration and chemotaxis of PNM cells by hyaluronic acid, *Zeitschrift für Rheumatologie* 48, 123-128
- Pavasant P, Shizari T, Underhill CB**, Hyaluronan contributes to the enlargement of hypertrophic lacunae in the growth plate, *J Cell Sci*, 1996 Feb; 109 (Pt 2): 327-34
- Pavelka K, Gatterova J, Olejarova M, Machacek S, Giacomelli G, Rovati LC**, Glucosamine sulfate use and delay of progression of knee osteoarthritis: a 3-year, randomized, placebo-controlled, double-blind study, *Arch Intern Med* 2002; 162:2113-2123
- Pechanova O, Simko F**, The role of nitric oxide in the maintenance of vasoactive balance, *Physiol Res* 56:S7, 2007
- Pelletier JP, DiBattista JA, Raynauld JP, et al**: The in vivo effects of intraarticular corticosteroids on cartilage lesions, stromelysin, interleukin-1 and oncogene protein synthesis in experimental osteoarthritis, *Lab Invest* 1995; 72:578-586
- Pelletier JP, Lajeunesse D, Jovanovic DV, Lascau-Coman V, Jolicoeur FC, Hilal G, Fernandes JC, Martel-Pelletier J**, Carprofen simultaneously reduces progression of morphological changes in cartilage and subchondral bone in experimental dog osteoarthritis, *J Rheumatol* 2000; 27: 2893–902
- Pelletier JP, Faure MP, DiBattista JA, Wilhelm S, Visco D, Martel-Pelletier J**, Coordinate synthesis of stromelysin, interleukin-1, and oncogene proteins in experimental osteoarthritis, An immunohistochemical study, *Am J Pathol* 1993, 142, 95-105
- Pelletier JP, Martel-Pelletier J**, Evidence for the involvement of interleukin-1 in human osteoarthritic cartilage degradation: protective effect of NSAIDs, *J Rheumatol* 1989; 16:19-27
- Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Howell DS**, Etiopathogenesis of osteoarthritis, In: Koopman WJ ed, *Arthritis and allied conditions, A textbook of rheumatology*, Baltimore: Williams & Wilkins, 2001: 2195–245
- Pelletier J, Mineau F, Ranger P, et al**, The increased synthesis of inducible nitric oxide inhibits IL-1 α synthesis by human articular chondrocytes: Possible role in osteoarthritic cartilage degradation, *Osteoarthritis Cartilage* 4: 77-84, 1996
- Pepys MB, Hirschfield GM**, C-reactive protein: a critical update, *J Clin Invest*, 2003; 111:1805-1812
- Petersen, H H, Nielsen, J, Heegaard P**, 2004, Application of acute phase protein measurements in veterinary clinic chemistry, *Vet Res* 35: 163–187
- Peyron JG**, Intraarticular hyaluronan injections in the treatment of osteoarthritis: state-of-the-art review, *J Rheumatol Suppl.* 1993 Aug; 39: 10-5
- Pfeilschifter J, Eberhardt W, Hummel R et al**, Therapeutic strategies for the inhibition of inducible nitric oxide synthase – potential for a novel class of anti-inflammatory agents, *Cell Biol Int* 20:51, 1996
- Piermattei DL, Flo GL**, (2003): *Brinker, Piermattei, and Flo's Handbook of Small Animal Orthopedics and Fracture Treatment*. 3^a Edición, Saunders Elsevier, Philadelphia: 534-553
- Pierpont YN, Dinh TP, Salas RE, Johnson EL, Wright TG, Robson MC, Payne WG**, Obesity and Surgical Wound Healing: A Current Review, *ISRN Obes*, 2014 Feb 20;2014
- Pizzini C, Mussap M, Plebani M, Fanos V**, C-reactive protein and serum amyloid A protein in neonatal infections, *Scand J Infect Dis* 2000; 32: 229–235
- Plickert HD, Bondzio A, Einspanier R, Tichy A, Brunnberg L**, 2013, Hyaluronic acid concentration in synovial fluid of dogs

- with different stages of osteoarthritis, *Research in Veterinary Science* 94 (2013), 728-734
- Pond MJ, Campbell JR**, The canine stifle joint I, Rupture of the anterior cruciate ligament, An assessment of conservative and surgical management, *J Small Anim Pract* 13: 1, 1972
- Powers MY, Martinez SA, Lincoln JD, Temple CJ, Arnaiz A**, Prevalence of cranial cruciate ligament rupture in a population of dogs with lameness previously attributed to hip dysplasia: 369 cases (1994-2003), *J Am Vet Med Assoc*, 2005 Oct 1; 227(7): 1109-11
- Pozo MA, Balazs EA, Belmonte C**, 1997, Reduction of sensory responses to passive movements of inflamed knee joints by hylan, a hyaluronan derivative, *Experimental Brain Research*, 116, 3-9
- Prehm P**, 1990, Release of hyaluronate from eukariotic cells, *The Biochemical Journal* 267, 185-189
- Prescott SM, Zimmerman GA, Stafforini DM, et al**, Platelet-activating factor and related lipid mediators, *Annu Rev Biochem* 69; 419, 2000
- Printz JO, Lee JJ, Knesek M, Urquhart AG**, Conflict of interest in the assessment of hyaluronic acid injections for osteoarthritis of the knee: an updated systematic review, *J Arthroplasty*, 2013 Sep; 28 (8 Suppl): 30-33
- Punzi L, Schiavon F, Cavasin F, Ramonda R, Gambari PF, Todesco S**, The influence of intra-articular hyaluronic acid on PGE2 and cAMP of synovial fluid, *Clin Exp Rheumatol*. 1989 May-Jun; 7(3): 247-50
- Radin EL, Rose RM**, Role of subchondral bone in the initiation and progression of cartilage damage, *Clin Orthop* 1986; 213:34-40
- Raffa RB, Friderichs E, Reimann W, et al**, Opioid and nonopioid components independently contribute to the mechanism of action of tramadol, an " atypical " opioid analgesic, *J Pharmacol Exp Ther* 1992; 260: 275 – 285
- Rajakariar R, Yaqoob M, Gilroy D**, COX-2 in inflammation and resolution, *MOI Interv* 6: 199, 2006
- Ralphs SC, Whitney WO**, Arthroscopic evaluation of menisci in dogs with cranial cruciate ligament injuries: 100 cases (1999-2000), *J Am Vet Med Assoc*, 2002 Dec 1; 221(11): 1601-4
- Ratcliffe A, Billingham ME, Fatemeh S-N et al**, Increased release of matrix components from articular cartilage in experimental canine osteoarthritis, *J Orthop Res* 1992; 10:350-358
- Read RA, Cullis-Hill D, Jones MP**, Systemic use of pentosan polysulphate in the treatment of osteoarthritis, *J Small Anim Pract* 1996; 37: 108-114
- Read RA, Robins GM**, Deformity of the proximal tibia in dogs. *Vet Rec* 1982 Sep 25; 111(13): 295-8
- Reed AL, Payne JT, Costantinescu GM**, Ultrasonic anatomy of the normal canine stifle, *Vet Rad*, 1995; 36: 315-321
- Reginster JY, Deroisy R, Rovati LC, Lee RL, Lejeune E, Bruyere O, Giacovelli G, Henrotin Y, Dacre JE, Gossett C**, Long-term effects of glucosamine sulphate on osteoarthritis progression: a randomised, placebocontrolled clinical trial, *Lancet* 2001, 357:251-256
- Reif U, Probst CW**, Comparison of tibial plateau angles in normal and cranial cruciate deficient stifles of Labrador retrievers, *Vet Surg* 2003 Jul-Aug; 32(4): 385-9
- Remick D, De Forge LE, Sullivan JF et al**, Profile of cytokines in synovial fluid specimens from patients with arthritis. Interleukin-8 (IL-8) correlates with inflammatory arthritides, *Immunol Invest* 1992; 21: 321-327.
- Renström P, Arms SW, Stanwyck TS, Johnson RJ, Pope MH**, *Am J Sports Med*, 1986 Jan-Feb; 14(1):83-7
- Ribeiro F, Furlaneto C, Hatanaka E, et al**, MRNA expresion and release of interleukin-8 induced by serum amiloid A in neutrophils and monocytes, *Mediators Inflamm* 12: 173, 2003
- Riitano MC, Pfister H, Engelhardt P, Neumann U, Reist M, Zurbriggen A, Stoffel M, Peel J, Jungi T, Schawalder P, Spreng DE**, Effects of stimulus with pro - inflammatory mediators on nitric oxide production and matrix metalloproteinase activity in explants of cranial cruciate ligaments obtained from dogs . *Am J Vet Res* 2002; 63: 1423 – 1428
- Rodríguez J, Jiménez A, San Román F, Guerrero T**, Rotura ligamento cruzado anterior en el perro: signos clínicos, diagnóstico y tratamiento en Canis et Felis: adelantamiento de la tuberosidad tibial, pag 6-26 (dic 2008)
- Ronca F, Palmieri L, Panicucci P, Ronca G**, Anti-inflammatory activity of chondroitin sulfate, *Osteoarthritis and Cartilage* (1998) 6, (Supplement A), 14-21
- Rubin DA**, Magnetic resonance imaging: practical considerations, In: *Bone and Joint Imaging*, Resnick D, Kransdorf MJ (eds), third edition, Philadelphia, Elsevier Saunders, 2005 , pp 118 - 132
- Rudy RL**, Joints of the hindlimb (cruciate ligament injuries) In Archibald J (ed): *Canine Surgery*, American Veterinary Publications, Santa Barbara, 1974, pp 1142-1152
- Sabiston DC, Townsend CM**, Sabiston textbook of surgery: the biological basis of modern surgical practice, Philadelphia 2008 Saunders/Elsevier

- Sakkas LI, Platsoucas CD**, *The role of T cells in the pathogenesis of osteoarthritis*, *Arthritis Rheum* 2007; 56: 409 – 424
- Saklatvala J**, *Tumour necrosis factor alpha stimulates resorption and inhibits synthesis of proteoglycan in cartilage*, *Nature*, 1986 Aug 7-13; 322 (6079): 547-9
- Sakurai H, Hohsaka H, Liu M, et al**, *Nitric oxide production and inducible nitric oxide synthase expression in inflammatory arthritides*, *J Clin Invest* 96: 2357-2363, 1995
- Salinardi BJ, Roush JK, Schermerhorn T, Mitchell KE**, *Matrix metalloproteinase and tissue inhibitor of metalloproteinase in serum and synovial fluid of osteoarthritic dogs*, *Vet Comp Orthop Traumatol* 2006; 19: 49 – 55
- Salter DM, Godolphin JL, Gourlay MS, Lawson MF, Hughes DE, Dunne E**, *Analysis of human articular chondrocyte CD44 isoform expression and function in health and disease*, *J Pathol*, 1996 Aug; 179(4): 396-402
- Samii VF, Long CD**. *Musculoskeletal system*, In: *Small Animal Diagnostic Ultrasound*, Nyland TG, Mattoon JS (eds), second edition, Philadelphia: WB Saunders, 2002, pp. 267 – 284
- Sanderson R, Beata C, Flipo RM, Genevois JP, Macías C, Tacke S, Vezzoni A, Innes J**, *Systematic review of the management of canine osteoarthritis*, *Vet Rec* 2009 Apr 4; 164(14): 418-24
- Santangelo KS, Johnson AL, Ruppert AS, Bertone AI**, 2007, *Effects of Hyaluronan treatment on lipopolysaccharide-challenged fibroblast-like synovial cells*, *Arthritis Research & Therapy*, 9, R1
- Sato T, and Iwaso H**, *An effectiveness study of hyaluronic acid (Hyabest J) in the treatment of osteoarthritis of the knee*, *Journal of New Remedies and Clinics*, vol 57, no 2, pp 260–269, 2008
- Sato T, Iwaso H**, *An effectiveness study of hyaluronic acid (Hyabest J) in the treatment of osteoarthritis of the knee on the patient in the United States*, *Journal of New Remedies and Clinics*, vol 58, no 3, pp 551–558, 2009
- Sato T, Sakamoto W, Odanaka W, Yoshida K, Urushibara O**, *Clinical effects of dietary hyaluronic acid on dry, rough skin*, *Aesthetic Dermatology*, vol 12, pp 109–120, 2002
- Sbrana S**, *Joint damage and inflammation in canine arthritis*, *University of Pisa: Doctor of Veterinary Medicine*; 2008
- Scavelli TD, Schrader SC, Matthiesen DT, Skorup DE**, *Partial rupture of the cranial cruciate ligament of the stifle in dogs: 25 cases (1982-1988)*, *J Am Vet Med Assoc*. 1990 Apr 1; 196(7): 1135-8
- Schwentker A, Billiar TR**, *Nitric oxide and wound repair*, *Surg Clin North Am* 83: 521, 2003
- Schiavinato A, Lini E, Guidolin D, et al**, *Intraarticular sodium hyaluronate injections in the Pong – Nuki experimental model of osteoarthritis in dogs, II, Morphological findings*, *Clin Orthop Relat Res* 1989; 241: 286 – 299
- Schwandt CS, Bohorquez-Vanelli A, Tepic S, Hassig M, Dennler R, Vezzoni A, Montavon PM** (2006), *Angle between the patellar ligament and tibial plateau in dogs with partial rupture of the cranial cruciate ligament*, *Amn J Vet Res*, 67(11): 1855-1860
- Scott H**, *Current medical therapies for canine and feline osteoarthritis*, *Veterinary Focus*, 17 (3); 18-23 (2007)
- Scrivani PV**, *Magnetic resonance imaging of the stifle*, In *Peter Muir (Ed) Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, ACVS Foundation and Wiley-Blackwell; 135-142 (2010)
- Séguin CA, Bernier SM**, *TNF α suppresses link protein and type II collagen expression in chondrocytes: Role of MEK1/2 and NF-kappaB signaling pathways*, *J Cell Physiol*, 2003 Dec; 197(3): 356-69
- Sharma JN, Al-Omran A, Parvathy SS**, *Role of nitric oxide in inflammatory diseases*, *Inflammopharmacology* 15:252, 2007
- Shenkin A, Fraser W, Series J et al**, *The serum interleukin 6 response to elective surgery*, *Lymphokine Res*, 8: 123, 1989
- Sherwood ER, Toliver-Kinsky T**, *Mechanisms of the inflammatory response*, *Best Pract Res Clin Anaesthesiol* 18:385, 2004
- Shi HP, Wang SM, Zhang GX, Zhang YJ, Barbul A**, *Supplemental L - arginine enhances wound healing following trauma/hemorrhagic shock*; *Wound Repair Regen* 2007; 15: 66 – 70
- Shires PK, Hulse DA, Liu W**: *The under-and-over fascial replacement technique for anterior cruciate ligament rupture in dogs: A retrospective study*, *J Am Anim Hosp Assoc* 20: 69-77, 1984
- Simon LS**, *Viscosupplementation therapy with intra-articular hyaluronic acid. Fact or fantasy?* *Rheum Dis Clin North Am*, 1999 May; 25(2): 345-57
- Singleton WB**. *The diagnosis and surgical treatment of some abnormal stifle conditions in the dog*, *Vet Rec* 1957; 69: 1387 – 1394
- Slocum B, Slocum TD**, *Tibial plateau leveling osteotomy for repair of cranial cruciate ligament rupture in the canine*, 1993 Jul; 23(4): 777-95

- Slocum B, Devine T**, Croneal tibial thrust: A primary force in the canine stifle, *J Am Vet Med Assoc* 183: 456, 1983
- Smeets MB, Fontijn J, Kavelaars A, Pasterkamp G, De Kleijn DP**, The acute phase protein haptoglobin is locally expressed in arthritic and oncological tissues, *Int J Exp Pathol*, 2003 Apr; 84(2): 69-74
- Smith GK, Torg JS**: Fibular head transposition for repair of cruciate-deficient stifle in the dog, *J Am Vet Med Assoc* 187: 375, 1985
- Smith GN Jr, Mickler EA, Myers SL, Brandt KD**, Effect of intraarticular hyaluronan injection on synovial fluid hyaluronan in the early stage of canine post-traumatic osteoarthritis, *J Rheumatol* 2001; 28: 1341 – 1346
- Smith GN Jr, Myers SL, Brandt KD, et al**, Effect of intraarticular hyaluronan injection on vertical ground reaction force and progression of osteoarthritis after anterior cruciate ligament transection, *J Rheumatol* 2005; 32: 325 – 334
- Smith GN, Myers SL, Brandt KD, Mickler EA**, Effect of intraarticular hyaluronan injection in experimental canine osteoarthritis, *Arthritis & Rheumatism*, Vol 41, No 6, June 1998, pp 976-985
- Sokoloff L**, Microcracks in the calcified layer of articular cartilage, *Arch Pathol Lab Med* 1993; 117: 191–5
- Soler M, Murciano J, Latorre R, Belda E, Rodríguez MJ, Agut A**, Ultrasonographic, computed tomographic and magnetic resonance imaging anatomy of the normal canine stifle joint, *Vet J*, 2007 Sep; 174(2): 351-61
- Solomonow M, Baratta R, Zhou BH, Shoji H, Bose W, Beck C, D'Ambrosia R**, The synergistic action of the anterior cruciate ligament and thigh muscles in maintaining joint stability, *Am J Sports Med*, 1987 May-Jun; 15(3): 207-13
- Spiller R**, Serotonin and GI clinical disorders, *Neuropharmacology*, 2008 Nov; 55(6): 1072-80
- Spreng D**, Role of Nitric Oxide Production and Matrix Protease Activity in Cruciate Ligament Degeneration, In Peter Muir (Ed) *Advances in the Canine Cranial Cruciate Ligament*, ACVS Foundation and Wiley-Blackwell; 71-76 (2010)
- Spreng D, Jungi TW, Brcic M, et al**, Nitric oxide determination in canine osteoarthritis, *Vet Surg* 26: 255, 1997
- Spreng D, Sigrist N, Jungi T, et al**, Nitric oxide metabolite production in the cranial cruciate ligament, synovial membrane, and articular cartilage of dogs with cranial cruciate ligament rupture, *Am J Vet Res* 2000; 61: 530 – 536
- Spreng D, Sigrist N, Schweighauser A, Busato A, Schawalder P**, Endogenous nitric oxide production in canine osteoarthritis: Detection in urine, serum, and synovial fluid specimens, *Vet Surg* 2001 Mar-Apr; 30(2): 191-9
- Stafforini D, McIntyre T, Zimmerman G, et al**, Platelet-activating factor, a pleiotrophic mediator of physiological and pathological processes, *Crit Rev Clin Lab Sci* 40:643, 2003
- Stein S, Schmoekel H**, Short-term and eight to 12 months results of a tibial tuberosity advancement as treatment of canine cranial cruciate ligament damage, *J Small Anim Pract* 2008; 49: 398–404
- Strom H**, Partial rupture of cranial cruciate ligament in dogs, *J Small Anim Pract* 31, 137, 1990
- Sukedai M, Tominaga K, Habu M, Matsukawa A, Nishihara T, Fukuda J**, 2004, Involvement of tumor necrosis factor-alpha and interleukin-8 in antigen-induced arthritis of the rabbit temporomandibular joint, *J Oral Pathol Med* 33 (2), 102–110
- Sullivan MO, Gordon-Evans WJ, Knap KE, et al**: Randomized, Controlled Clinical Trial Evaluating the Efficacy of Pulsed Signal Therapy in Dogs with Osteoarthritis, *Vet Surg* 2013; 42:250-254
- Sutton S, Clutterbuck A, Harris P, Gent T, Freeman S, Foster N, Barrett-Jolley R, Mobasher A**, The contribution of the synovium, synovial derived inflammatory cytokines anduropeptides to the pathogenesis of osteoarthritis, *Vet J* 2009; 179: 10 – 24
- Tachibana A, Kimura H, Kato M et al**, Respiratory syncytial virus enhances the expression of CD11b molecules and the generation of superoxide anion by human eosinophils primed with platelet-activating factor, *Intervirology* 45:43, 2002
- Tamburro R, Pinna S, Tribuiani AM, Panacea A, Carli F, Venturini A**, Biceps femoris muscle transposition for treatment of cranial cruciate ligament rupture in small breed dogs, *J Vet Sci*, 2012 Mar; 13(1): 93-8
- Tang Z, Yang L, Wang Y, et al**, Contributions of different intraarticular tissues to the acute phase elevation of synovial fluid MMP - 2 following rat ACL rupture, *J Orthop Res* 2009; 27: 243 – 248
- Tarhan S, Unlu Z**, Magnetic resonance imaging and ultrasonographic evaluation of the patients with knee osteoarthritis: A comparative study, *Clin Rheumatol* 2003; 22 : 181 – 188
- Tarvin GB, Arnoczky SP**, Incomplete rupture of the cranial cruciate ligament in a dog, *Vet Surg* 10: 94, 1981
- Tashiro T, Seino S, Sato T, Matsuoka R, Masuda Y, Fukui N**, Oral Administration of Polymer Hyaluronic Acid Alleviates Symptoms of Knee Osteoarthritis: A Double-Blind, Placebo-Controlled Study over a 12-Month Period, *The Scientific World Journal* Volume 2012, Article ID 167928, 8 pages
- Tepic S, Damur D, Montavon PM**, Biomechanics of the stifle joint, *Abstracts of the 1st World Orthopaedic Veterinary Congress, Munich; 2002: 189-190*

- Thieman KM, Tomlinson JL, Fox DB, et al.** Effect of meniscal release on rate of subsequent meniscal tears and owner - assessed outcome in dogs with cruciate disease treated with tibial plateau leveling osteotomy, *Vet Surg* 2006; 35: 705 – 710
- Thurmond RL, Gelfand EW, Dunford PJ.** The role of histamine H1 and H4 receptors in allergic inflammation: the search for new antihistamines, *Nat Rev Drug Discov.* 2008 Jan; 7(1): 41-53
- Tirgari M,** The surgical significance of the blood supply of the canine stifle joint, *J Small Anim Pract* 1978; 19 : 451 – 462
- Tirgari M,** Changes in the canine stifle joint following rupture of the anterior cruciate ligament, *J Small Anim Pract* 1977; 19: 17 – 26
- Todhunter RJ, Lust G,** Polysulfated glycosaminoglycan in the treatment of osteoarthritis, *J Am Vet Med Assoc* 1994; 8: 1245 – 1251
- Toole BP,** Hyaluronan in morphogenesis, *J Intern Med.* 1997 Jul; 242(1): 35-40
- Toole B,** Proteoglycans and hyalurozan in morphogenesis and differentiation, In Elizabeth D. Hay (Ed), *Cel Biology of Extracellular Matrix*, 2ª Ed New York: acad Press, 1991, 305-341
- Tracey KJ, Beutler B, Lowry SF, et al,** Shock and tissue injury induced by recombinant human cachectin, *Science*, 1986 Oct 24; 234(4775): 470-4
- Trayhurn P, Bing C, Wood IS,** Adipose tissue and adipokines-energy regulation from the human perspective, *J Nutr* 2006; 136: 1935S-1939S
- Tredget EF, Nedelec B, Scott PG, Ghahary A,** Hypertrophic scars, keloids, and contractures: the cellular and molecular basis for therapy, *Surg Clin North Am* 1997; 77: 701-30
- Tsai WC, Strieter RM, Zisman DA, et al,** Nitric oxide is required for effective innate immunity against *Klebsiella pneumoniae*, *Infect Immun* 65:1870, 1997
- Tvarijonaviciute A, Jaillardon L, Cerón JJ, Siliart B,** Effects of thyroxin therapy on different analytes related to obesity and inflammation in dogs with hypothyroidism, *Vet J* 2013 Apr; 196 (1): 71-5
- Ueo H, Honda M, Adachi M et al,** Minimal increase in serum interleukine-6 levels during laparoscopic cholecystectomy, *Am J Sur* 168:358, 1994
- Uhlar CM, Whitehead A,** Serum Amiloid A, the major vertebrate acute phase reactant, *Eur J Biochem*, 1999; 265:501-523
- Urieli-Shoval S, Cohen P, Eisenberg S, Matzner Y,** 1998, Wide-spread expression of serum amiloid A in histologically normal human tissues, Predominant localization to the epithelium, *J Histochem.mCytochem*, 46, 1377-1384
- Van Sickle DC, Delleman DH, Brown EM,** Connective and supportive tissues, In: *Textbook of Veterinary Histology*, Dellmann H, van Sickle DC, Brown EM (eds); Philadelphia : Lea & Febiger, 1993 , pp. 29 – 53
- Van den Berg WB,** Uncoupling of immflamatory and destructive mechanisms in arthritis, *Semin Arthritis Rheum* 2001; 30:7-16
- Van Sickle DC, Delleman DH, Brown EM,** 1993, Connective and supportive tissues. In *Textbook of Veterinary histology*, Delleman DH, Van Sickle DC, Brown EM (Eds), Philadelphia, Lea & Febiger, 1993, pp 29 - 53
- Vasseur PB,** Clinical results following conservative management for rupture of the cranial cruciate ligament in dogs, *Vet Surg* 13:243, 1984
- Vasseur PB,** Stifle Joint in *Slatter's Textbook of Small Animal Surgery*, 2nd edition (1993), WB Saunders, Philadelphia: 1817-1865
- Vasseur PB, Arnoczky SP,** Collateral ligaments of the canine stifle joint: Anatomical and functional analysis, *Am J Vet Res* 42: 1133, 1981
- Vasseur PB, Pool RR, Arnoczky SP, Lau RE,** Correlative biomechanical and histologic study of the cranial cruciate ligament in dogs, *Am J Vet Res.* 1985 Sep; 46(9): 1842-54
- Venable RO, Stoker AM, Cook CR, Cockrell MK, Cook JL,** 2008, Examination of synovial fluid hyaluronan quantity and quality in stifle joints of dogs with with osteoarthritis, *American Journal of Veterinary Research* 69, 1569-1573
- Venn G, Nietfeld JJ, Duits AJ, et al,** Elevated synovial fluid levels of interleukin-6 and tumor necrosis factor associated with early experimental canine osteoarthritis, *Arthritis Rheum* 1993; 36: 819-826
- Venzin C, Howard J, Rytz U, Spreng D, Schawalder P, Doherr M, Schmökel H,** (2004) Tibial plateau angles with and without cranial cruciate ligament rupture – comparison between different dog populations and a wolf population, *Vet Comp Orthop and Traumatol*, 17(4): 232-236
- Vergés J,** *Condroprotección: de la utopía a la realidad*, *Aparato Locomotor* 1998, 59: 13-20
- Vergés J,** Ventajas de la utilización clínica de las moléculas denominadas SYSADOA en pacientes artrósicos, *Rheuma* 2001, 5: 43-44
- Vinay DS, Kwon BS,** TNF superfamily: costimulation and clinical applications, *Cell Biol Int*, 2009 Apr; 33(4):453-6

- Vincent HK, Percival SS, Conrad BP, Seay AN, Montero C, Vincent KR**, Hyaluronic Acid (HA) Viscosupplementation on Synovial Fluid Inflammation in Knee Osteoarthritis: A Pilot Study, *Open Orthop J*, 2013 Sep 20; 7: 378-84
- Volanakis JE**, Human C-reactive protein: expression, structure and function, *Mol Immunol*, 2001; 38:189-197
- Volpi N, Schiller J, Stern R, Soltés L, Role**, Metabolism, chemical modifications and applications of hyaluronan, *Curr Med Chem*, 2009; 16(14): 1718-45
- Waddell DD, Kolomytkin OV, Dunn S, Marino AA**, 2007, Hyaluronan suppresses IL-1 β -induced metalloproteinase activity from synovial tissue, *Clinical Orthopaedics and Related Research* 465, 241-248
- Wallace JL, Viappiani S, Bolla M**, Cyclooxygenase - inhibiting nitric oxide donors for osteoarthritis, *Trends Pharmacol Sci* 2009; 30: 112 – 117
- Wandel S, Jüni P, Tendal B, Nüesch E, Villiger PM, Welton NJ, Reichenbach S, Trelle S**, Effects of glucosamine, chondroitin, or placebo in patients with osteoarthritis of hip or knee: network meta-analysis, *BMJ*, 2010 Sep 16; 341: c4675
- Wang CT, Lin YT, Chiang BL, Lin YH, Hou SM**, 2006, High molecular weight hyaluronic acid down-regulates the gene expression of osteoarthritis-associated cytokines and enzymes in fibroblast-like synoviocytes from patients with early osteoarthritis, *Osteoarthritis and Cartilage*, 14, 1237-1247
- Waxman AW, Robinson DA, Evans R, et al**, Relationship between objective and subjective assessment of limb function in normal dogs with an experimentally induced lameness, *Vet Surg* 2008; 37: 241 – 246
- Welsh RP**, Knee joint structure and function, *Clin Orthop* 147:7, 1980
- Welsh EM, Gettinby G, Nolan AM**, Comparison of a visual analogue scale and a numerical rating scale for assessment of lameness, using sheep as a model, *Am J Vet Res*. 1993 Jun; 54(6): 976-83
- Westacott CI, Webb GR, Warnock MG, Sims JV, Elson CJ**, Alteration of cartilage metabolism by cells from osteoarthritic bone, *Arthritis Rheum* 1997; 40: 1282–91
- Westacott CI, Whicher JT, Barnes IC, et al**, Synovial fluid concentrations of five different cytokines in rheumatic diseases, *Ann Rheum Dis*, 1990; 49: 676-681
- Wherry JC, Schreiber RD, Unanue ER**, Regulation of gamma interferon production by natural killer cells in scid mice: roles of tumor necrosis factor and bacterial stimuli. *Infect Immun*, 1991 May;59(5):1709-15
- Whicher JT, Westacott CI**, The Acute Phase Response, In: Whicher JT, Evans SW, eds, *Biochemistry of Inflammation*, London: Kluwer Academic; 1992: 243-272
- Whitehair JG, Vasseur PB, Willits NH**, Epidemiology of cranial cruciate ligament rupture in dogs, *J Am Vet Med Assoc*. 1993 Oct 1; 203(7): 1016-9
- Wick MC, Jaschke W, Klauser AS**, Radiological imaging of osteoarthritis of the knee, *Radiologe*, 2012 Nov; 52(11): 994-1002
- Wilke VL, Robinson DA, Evans RB, et al**: Estimate of the annual economic impact of treatment of cranial cruciate ligament injury in dogs in the United States, *J Am Vet Med Assoc* 2005; 227: 1604–1607
- Williams J, Tomlinson J, Constantinescu GM**, Diagnosing and treating meniscal injuries in the dog, *Vet Med* 1994; 89(1):42-47
- Williams TJ, Peck MJ**, Role of prostaglandin-mediated vasodilatation in inflammation, *Nature* 270:530, 1997
- Wingfield C, Amis AA, Stead AC, y otros**, Cranial cruciate stability in the Rottweiler and racing Greyhound: An in vitro study, *J Small Anim Pract* 2000; 41: 193 – 197
- Woessner JF**, Imbalance of proteinases and their inhibitors in osteoarthritis, In: Kuettner KE, Goldberg VM Eds, *Osteoarthritic disorders*, Rosemont, American Academy of Orthopedic Surgeons, 1994; 281-290
- Xia W, Szomor Z, Wang Y, Murrell GA**, Nitric oxide enhances collagen synthesis in cultured human tendon cells, *J Orthop Res* 2006; 24 : 159 – 172
- Xue J, Wang J, Liu Q, Luo A**, Tumor necrosis factor- α induces ADAMTS-4 expression in human osteoarthritic chondrocytes, *Mol Med Rep*, 2013 Dec; 8(6): 1755-60
- Yahia LH, Drouin G**, Microscopical investigation of canine anterior cruciate ligament and patellar tendon: Collagen fascicle morphology and architecture, *J Orthop Res* 7: 243, 1989
- Yang H, Song Z, Jin H, Cui Y, Hou M, Gao Y**, Protective effect of rhBNP on intestinal injury in the canine models of sepsis, *Int Immunopharmacol*, 2014 Apr; 19(2): 262-6
- Yule TD, Roth MB, Dreier K, et al**, Canine parvovirus vaccine elicits protection from the inflammatory and clinical consequences of the disease, *Vaccine*, 1997; 15: 720–729
- Zahm H**, Die Ligamenta decussata in gesunden und arthrotischen Kniegelenk des Hundes, *Kleintierprax* 1965; 10: 38 – 47
- Zanardo RC1, Brancaleone V, Distrutti E, Fiorucci S, Cirino G, Wallace JL**, Hydrogen sulfide is an endogenous modulator of leukocyte-mediated inflammation, *FASEB J*, 2006 Oct; 20(12): 2118-20

Zeballos GA, Bernstein RD, Thompson CI, et al. Pharmacodynamics of plasma nitrate/nitrite as an indication of nitric oxide formation in conscious dogs, *Circulation* 91: 2982-

Zhang H, Zhi L, Moochhala S, Moore PK, Bhatia M. Hydrogen sulfide acts as an inflammatory mediator in cecal ligation and puncture-induced sepsis in mice by upregulating the production of cytokines and chemokines via NF-kappaB, *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*, 2007 Apr; 292(4): L960-71

Zhong WJ, Zen Q, Tebo J et al. Effect of human C-reactive protein on chemokine and chemotactic factor induced neutrophil chemotaxis and signaling, *J Immunol* 161:2533, 1998

Zygner W, Gójska-Zygner O, Baska P, Dlugosz E. Increased concentration of serum TNF alpha and its correlations with arterial blood pressure and indices of renal damage in dogs infected with *Babesia canis*, *Parasitol Res*, 2014 Apr; 113(4): 1499-503

ANEXOS

ANEXO 1: DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL PROPIETARIO

Título del estudio:

“Eficacia de la administración vía oral de un extracto natural rico en ácido hialurónico (Hyal-joint[®], Bioibérica) en el tratamiento de la inflamación de la membrana sinovial en perros con osteoartritis secundaria a la rotura del LCC tratados con la técnica quirúrgica de avance de la tuberosidad tibial (TTA)”

Investigador principal:

Dr. Claudio Iván Serra Aguado

Profesor Asociado Dpto. Medicina y Cirugía Animal

Universidad CEU Cardenal Herrera de Valencia

Estimado propietario

Usted ha sido invitado a participar en un estudio de investigación que está realizando este centro. Antes de que usted tome una decisión, es importante que entienda porqué se está haciendo este estudio y qué implicaciones tiene para usted y su mascota. Por favor, tómese el tiempo necesario para leer la siguiente información detenidamente y pregunte al veterinario responsable del estudio si hay algo que no comprende o si desea más información.

¿En qué consiste el estudio y cómo se va a llevar a cabo?

Este estudio es un ensayo clínico, es decir, seguirá el mismo protocolo terapéutico que se realiza para este tipo de patología. Dependiendo del grupo en el que esté asignado, podrá recibir o no la administración oral de un comprimido compuesto de un extracto rico en ácido hialurónico (Hyal-joint[®], Bioibérica). La asignación del grupo se realizará de forma aleatoria, y no se conocerá si se administra o no hasta el final del estudio. Tras el diagnóstico y tratamiento, se seguirán unos controles establecidos a unos tiempos concretos, que coinciden con las revisiones realizadas habitualmente. En estos controles se realizarán evaluaciones funcionales, radiológicas, ecográficas y análisis sanguíneos y de líquido sinovial. Dichas pruebas se realizarán con fines de estudio en el ensayo clínico y los datos que se obtengan serán tratados y analizados informáticamente. Los resultados de este estudio serán comunicados una vez finalizado el mismo.

¿Cuál es la finalidad del estudio?

La finalidad del estudio es determinar cuáles son los beneficios que puede aportar el tratamiento con un extracto rico en ácido hialurónico en pacientes operados de una rotura del ligamento cruzado mediante una cirugía de avance de la tuberosidad tibial (TTA). Los beneficios deberían mostrarse en aspectos como disminución de la sinovitis articular, efusión sinovial, progresión de la degeneración articular,... y como consecuencia, una mejora en la calidad de vida del paciente.

¿Quién es el promotor de este estudio?

El estudio es promovido por una empresa farmacéutica, con sede en Barcelona, que se denomina Bioibérica, S.A. Es una empresa de reconocido prestigio internacional, que lleva trabajando en productos destinados a regular la evolución de la enfermedad articular durante los últimos años.

¿Tengo que participar?

Usted decide sobre la participación de su mascota en el estudio, es decir, su participación es completamente voluntaria y no supone deterioro de la calidad de la asistencia y tratamiento de su lesión. Usted podrá retirarse en cualquier momento del estudio, comentando al equipo veterinario los motivos de su decisión, y sin que ello repercuta en los cuidados médicos que recibe. Su veterinario también podrá decidir, por alguna consideración médica o por cualquier otro motivo, retirar a su mascota del estudio si lo creyera conveniente.

¿Qué beneficios puedo esperar por el hecho de participar en el estudio?

Existe un beneficio económico directo para usted, ya que el estudio sufraga el valor de los implantes quirúrgicos empleados, siendo éstos valorados en un total de 200 euros. Esto repercute en que una cirugía que conlleva un coste de 1000 euros para el propietario, se reduzca a un total de 800 euros.

Al mismo tiempo, la información que se obtenga de este trabajo, permitirá mejorar el conocimiento que se tiene sobre los tratamientos disponibles para el tipo de lesión que su mascota ha sufrido, y esto puede mejorar, por tanto las posibilidades de tratamiento de otros animales que sufran dicha lesión

¿Qué incomodidades o riesgos pueden suponer mi participación en el estudio?

El hecho de participar en este estudio no modifica en ningún aspecto el tratamiento que tenía previsto recibir de antemano.

Deberá someter a su mascota a dos pruebas diagnósticas no invasivas, denominadas ecografía y radiografía, y otra invasiva, la artrocentesis. Con ellas se podrán obtener datos medibles del seguimiento y evolución de la sinovitis articular.

La ecografía se realizará en el momento prequirúrgico y a las 2, 4 y 10 semanas de la intervención. Las radiografías se realizarán también en el momento prequirúrgico y a las 4 y 10 semanas de la intervención. La artrocentesis se realizará de forma intraquirúrgica y a las 4 y 10 semanas de modo ecoguiado, con el fin de minimizar complicaciones potenciales

¿Quién ha revisado este estudio?

Los doctores que están participando en la realización del estudio han revisado la planificación del mismo. También el protocolo de trabajo ha sido revisado por el Comité de Ética de la Universidad CEU Cardenal Herrera de Valencia.

Muchas gracias por leer esta información. Si tiene algún comentario, no dude en formularse a su veterinario.

ANEXO 2: CONSENTIMIENTO INFORMADO DE ENSAYO CLÍNICO

Una vez que he sido informado de la lesión de ligamento cruzado craneal que padece mi mascota y de la necesidad de la cirugía de avance de la tuberosidad tibial (TTA) como técnica de elección en el tratamiento de esta patología, he sido informado de la posibilidad de participar en un ensayo clínico. Dicho ensayo constituye un estudio en el cual se valora el resultado de la administración de un extracto rico en ácido hialurónico vía oral.

Dicha participación es totalmente voluntaria, entendiendo que la participación en dicho estudio comporta la introducción de caso de mi mascota en un proceso aleatorio, asignándole un grupo que puede recibir, aparte de la cirugía habitual, la administración de este extracto rico en ácido hialurónico, o por el contrario no recibirlo. Este criterio dependerá de un sorteo de cuyo resultado yo no tendré conocimiento hasta el final del proceso. Entiendo que la participación de mi mascota en dicho estudio es totalmente voluntaria, que no comporta mayor riesgo respecto a la pauta habitual de tratamiento postoperatorio y que ha sido previamente probada en diversos estudios con resultados favorables.

La participación en dicho estudio puede ser revocada en cualquier momento del proceso sin dar ningún tipo de explicación y sin detrimento de la atención necesaria por parte del equipo veterinario habitual, así como los tratamientos que requiera durante el proceso, estén incluidos o no en el protocolo de seguimiento del ensayo clínico. Por ello doy mi consentimiento, como propietario y responsable legal de mi mascota, para la participación del caso de mi mascota en el estudio mediante ensayo clínico a fecha de hoy, sin detrimento de la posibilidad de revocar dicha decisión.

De este modo doy fe de:

- **Haber leído la hoja de información que se me ha entregado.**
- **Haber podido hacer las preguntas necesarias sobre el estudio**
- **Haber recibido suficiente información sobre el estudio**
- **Haber hablado con el Dr. comprendiendo que mi participación es voluntaria y puedo retirarme del estudio**
 - **Cuando quiera**
 - **Sin tener que dar explicaciones**
 - **Sin que esto repercuta en mis cuidados médicos**

Así, autorizo el uso y la divulgación de la información de salud de mi mascota a las entidades mencionadas para los propósitos del estudio; prestando libremente mi conformidad para participar en el estudio

Firma del Propietario

Firma del Clínico Responsable

ANEXO 3: EVALUACIÓN FUNCIONAL DEL VETERINARIO**Escala semicuantitativa**

(Jandi and Schulman; Veterinary Surgery 2007)

| | | |
|--|----------|------------------------------------|
| | 0 | Sin cojera clínica |
| | 1 | Cojera sutil, casi imperceptible |
| | 2 | Cojera moderada en todos los pasos |
| | 3 | Cojera severa en todos los pasos |
| | 4 | Cojera sin apoyo |

| | | | | | |
|------------------------|---|---|-----------------------------|----|----|
| Cajón directo | + | - | Dolor hiperextensión | SI | NO |
| Cajón indirecto | + | - | Efusión Sinovial | SI | NO |
| VAS Cojera | | | VAS Dolor | | |

ANEXO 4: EVALUACIÓN FUNCIONAL DEL PROPIETARIO**a) Valoración del dolor:**

Escala Visual Analógica

¿Cuánto dolor ha notado en la rodilla de su mascota durante los últimos días?
(marque con una línea perpendicular donde situaría el dolor de su mascota)

Ningún dolor

Máximo dolor

Escala analógica VAS (0-100 mm)

Valor de la escala visual analógica (EVA) mm**b) Limitación funcional de la rodilla:**

1.- GRADO DE COJERA DURANTE LA MARCHA (tras más de 10 minutos de marcha):

0= No cojera

1= Cojera leve

2= Cojera intensa

3= No apoya la extremidad afectada

PUNTUACIÓN

2.- LEVANTARSE DE UNA POSICIÓN SENTADA O TUMBADA:

0= Se levanta con total normalidad

1= Se levanta bien, pero no con total normalidad

2= Se levanta con alguna dificultad intentando no hacer fuerza con la extremidad afectada

3= Tiene gran dificultad para levantarse, incluso no llegando a apoyarse en la extremidad afectada

PUNTUACIÓN

ANEXO 5: VALORACIÓN ECOGRÁFICA DE LA RODILLA CANINA

| Identificación /Peso en Kg / Fecha | Irregularidad de la superficie rotuliana | Tendón cuadricipital (espesor en mm/Heterogeneidad) | Receso sinovial suprarrotuliano /distensión capsular infrarrotuliana (espesor en mm) | Ligamento rotuliano (espesor en inserción tibial – central – origen rotuliano en mm) / Heterogeneidad | Espesor del cartílago en cóndilo lateral (mm) | Espesor del cartílago en cóndilo medial (mm) | Ligamento colateral lateral (espesor mm / Heterogeneidad) | Menisco lateral (Heterogeneidad) | Ligamento colateral lateral (espesor mm / Heterogeneidad) | Menisco lateral (Heterogeneidad) |
|------------------------------------|--|---|--|---|---|--|---|----------------------------------|---|----------------------------------|
| | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |
| | | | | | | | | | | |

ANEXO 6: FICHA DE EVALUACIÓN QUIRÚRGICA

1.- Valoración Menisco

| MEDIAL | | | | LATERAL | | | |
|-----------------------|----|----|----|-----------------------|----|----|----|
| Lesión | SI | NO | | Lesión | SI | NO | |
| Menisquectomía | P | T | No | Menisquectomía | P | T | No |

2.- Lesiones articulares

| | |
|-----------|-----------|
| Si | No |
|-----------|-----------|

3.- Implantes

| PEINE | | | | | | CAJA | | | | | | | | |
|--------------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------|----|----|----------|----|----|-----------|----|----|
| 3 | 4 | 5 | 6 | 7 | 8 | 6 | | | 9 | | | 12 | | |
| | | | | | | 6 | 19 | 22 | 19 | 22 | 25 | 22 | 25 | 28 |