

Nitecka-Buchta A., Walczynska-Dragon K., Batko-Kapustecka J., Wieckiewicz M.

Confronto di efficacia tra iniezioni intramuscolari di Collagene e di Lidocaina nella diminuzione del dolore miofasciale del muscolo massetere: studio randomizzato, monocieco, controllato

-Pain Research and Management, Vol. 2018, Article ID 8261090, 10 pagine.
Pubblicazione: 3 Giugno 2018.

Background e obiettivi

Un'opzione innovativa nella gestione del dolore miofasciale (**MFP**) e nella rigenerazione muscolare è fornita dalle iniezioni a base di Collagene.

Scopo dello studio è la valutazione dell'efficacia delle iniezioni intramuscolari di Collagene e di Lidocaina nella diminuzione del MFP del muscolo massetere.

Metodi

il dolore miofasciale del muscolo massetere è stato diagnosticato secondo i *Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders* (Criteri Diagnostici per i Disturbi Temporo-mandibolari) (II.1.A. 2 e 3). Nello studio sono stati arruolati **43** pazienti (17 M e 26 F, età 40 ± 3.8) con diagnosi di MFP del muscolo massetere, suddivisi in modo casuale (*random*) in **3 Gruppi**. Al **Gruppo I** sono state somministrate iniezioni di **Guna Collagen MD-Muscle**, 2 ml; al **Gruppo II** è stata somministrata **Lidocaina 2%**, 2 ml, senza vasocostrittore; al **Gruppo III** è stata somministrata **Soluzione fisiologica** (0.9% NaCl) come Controllo. In tutti i pazienti le iniezioni sono state ripetute ad intervallo di una settimana (giorni 0 e 7). È stata utilizzata la scala *Visual Analogue Scale* (VAS) per determinare le variazioni dell'intensità del dolore ad ogni visita di *follow-up* (giorni 0, 7 e 14) in ciascun Gruppo. L'attività del muscolo massetere è stata misurata ad ogni visita (giorni 0, 7 e 14) con elettromiografia di superficie (EMGs) (Neurobit Optima 4, Neurobit Systems).

Risultati

È stato rilevato che l'attività EMGs del muscolo massetere è diminuita in modo significativo nel **Gruppo I (-59.2%)**, meno nel **Gruppo II (-39.3%)**, e ancor meno nel **Gruppo III (-14%)**.

La riduzione dell'intensità del dolore è stata: **-53.75%** nel **Gruppo I**, **-25%** nel **Gruppo II**, e **-20.1%** nel **Gruppo III**.

Conclusioni

-Lo studio ha dimostrato che l'iniezione intramuscolare di Collagene è più efficace nella riduzione del dolore miofasciale del muscolo massetere rispetto all'iniezione intramuscolare di Lidocaina.

1. Introduzione

Il dolore miofasciale dei muscoli masticatori è molto diffuso tra i pazienti che afferiscono alle cure odontoiatriche (1-3). La tensione psichica ed il bruxismo possono esitare in eccessivo sforzo muscolare e sviluppo del dolore muscolare (4-7). La causa principale del dolore miofasciale è rappresentata da *trigger point*, noduli duri, palpabili, localizzati, dolenti alla digitopressione media (8). Il dolore miofasciale è sintomo di danneggiamento muscolare.

Le lesioni muscolari possono verificarsi per malattia (distrofia), contatto con miotossine, trauma, contusione, ischemia, temperatura ed eccesso di contrazione muscolare (9).

La contrazione muscolare eccentrica provoca danni muscolari ed infiammazione, dando luogo ad accumulo di Collagene muscolare. Si verifica durante il processo di riparazione della lesione muscolare indotta da esercizio fisico (10). Lo stress meccanico e termico producono accumulo e sintesi di Collagene. Durante il danno meccanico ai muscoli, i filamenti del sarcomero vengono frazionati, il sarcolemma è danneggiato e le fibre si rompono (9). Dopo il danno muscolare, viene rilasciata l'interleuchina-6; questa citochina stimola i fibroblasti alla produzione di Collagene (11, 12). Durante la rigenerazione muscolare, le cellule staminali proliferano e si differenziano in mioblasti (13). L'ipotesi integrata di Simons postula un deficit energetico come causa dell'iniziale contrattura del sarcomero che porta ad aumento del metabolismo ed alla diminuzione della circolazione capillare (14). Ne risulta ipossia locale, danno muscolare e produzione di mediatori pro-infiammatori che rilasciano, tra gli altri, catecolamine, neuropeptidi e citochine. Si avvia, quindi, l'infiammazione muscolare, dolore persistente ed indolenzimento miofasciale. Si formano noduli di contrazione, effetto delle lesioni locali, ischemia e blocco funzionale della fibra muscolare. Il flusso sanguigno intorno e all'interno del *trigger point* diminuisce. Nel *trigger point* sono stati rilevati flusso

ematico diastolico retrogrado ed alta resistenza (14). La resistenza vascolare è causata dalla contrattura muscolare e dalla compressione dei vasi. Ne risulta dolore, indolenzimento e formazione di noduli nel tessuto muscolare.

Järvholm *et Al.* hanno rilevato che la pressione intramuscolare nei *trigger point* causa diminuzione del flusso ematico locale ed ischemia (15). Molti *trigger point* ravvicinati si aggregano in aree di miogelosi in cui il livello di ossigeno è estremamente basso con diminuzione di ATP. L'ATP è necessaria per scindere i legami tra i filamenti muscolari dopo contrattura muscolare. Un basso livello di ossigeno è un fattore determinante il rilascio di bradichinina (14). Attualmente gli approcci per la gestione dei *trigger point* sono il *needling*, le iniezioni ed il massaggio profondo.

Stiramenti muscolari o esercizi di resistenza possono provocare danni ai muscoli scheletrici, soprattutto alla matrice extracellulare (ECM) ed alle fibre muscolari. Dopo l'insulto, la sintesi collagenica nel tessuto muscolare è elevata per 3 giorni (16). Il Procollagene è sintetizzato nel reticolo endoplasmatico dei tenociti e liberato nell'ECM. Il Collagene immaturo (Tropocollagene) viene – quindi – integrato nel Collagene maturo. L'ECM è essenziale per lo sviluppo e la rigenerazione delle cellule muscolari; è il *milieu* importante che circonda le cellule e che coordina il comportamento e la comunicazione cellulare (17). Le interazioni tra le cellule muscolari e l'ECM costruiscono un elemento molto importante nei tessuti sottoposti a stress meccanico. La carenza di Collagene nella ECM è una delle cause di inadeguata rigenerazione muscolare e di distrofie muscolari. Più basso è il numero di microfibrille formate, minore è il numero di connessioni trasversali e minore sarà la massa muscolare prodotta (18). Il Collagene è strettamente necessario per la corretta rigenerazione muscolare. Il Collagene diminuisce l'apoptosi ed aumenta la proliferazione dei mioblasti (18). La ECM è necessaria anche per i fattori di crescita (PDGF e TGFβs), che regolano il processo di proliferazione e di differenziazione delle cellule staminali. Durante la guarigione che segue il danno, l'ECM viene rimodellata; si verificano effetti indesiderati quando il tessuto connettivo e fibrotico sostituiscono le cellule muscolari. La produzione eccessiva di fibrille Collagene può esitare in una cicatrice in luogo di tessuto muscolare di nuova formazione. All'inizio del processo di guarigione, si forma una rete fitta di Collagene per allocare le cellule miogeniche (18). Nei disturbi temporo-mandibolari cronici si osserva una riorganizzazione dell'attività muscolare con conseguente scarsa funzionalità muscolare (19).

La rigenerazione muscolare viene prodotta dalle cellule staminali. Le cellule miogeniche si collocano sotto la lamina basale delle miofibre. Le cellule staminali mio-specifiche, cellule satellitari precursori

delle miofibre mature, sono responsabili della rigenerazione muscolo-scheletrica dopo lesioni ripetute (20). Le cellule staminali sono regolate dal Collagene VI attraverso segnali biochimici, che promuovono la proliferazione e la differenziazione delle cellule muscolari appena formate.

Il Collagene svolge un ruolo importante nella formazione della membrana dell'endomysio della miofibra dei muscoli scheletrici (21). Il Collagene è un'importante proteina della ECM dei muscoli scheletrici ed è presente anche nel Sistema Nervoso (endo-, peri- e epinevrio delle cellule di Schwann) e mantiene un'adeguata mielinizzazione nervina (22, 23). Il Collagene viene fornito ai muscoli dalle cellule fibroblastiche interstiziali. I fibroblasti sintetizzano il Collagene I e III in diverse proporzioni durante la rigenerazione muscolare. I fibroblasti sono i principali produttori di Collagene ed in futuro potrebbero essere un'opzione interessante per la terapia medica.

Il Collagene fornisce anche segnali biochimici per le cellule satelliti e loro proliferazione in miocellule (18). Eccesso di produzione di Collagene può esitare in cicatrizzazione (24). Lehto *and* Järvinen hanno analizzato la sintesi di Collagene nel muscolo gastrocnemio di ratto (25). La prolina C14 è stata somministrata nei gastrocnemi di ratto. La radioattività, attraverso sonde muscolari, è stata misurata mediante Spettrometria a scintillazione liquida. L'assorbimento di Collagene marcato e di Glicosaminoglicani ha evidenziato il periodo esatto di rigenerazione: tra 10 e 14 giorni dopo l'insulto. L'assorbimento è diminuito dopo 21 giorni dall'insulto.

Vi sono tre fasi nella rigenerazione muscolare: rottura e infiammazione delle miofibre; attivazione delle cellule staminali e proliferazione; differenziazione in nuove miofibre (26). La rigenerazione muscolare può formare o un sistema contrattile muscolare funzionalmente efficiente oppure una cicatrice (27, 28). Dopo danneggiamento si verifica necrosi e le miofibre sono interrotte; il livello ematico di proteine muscolari aumenta (creatina chinasi e troponina). Le prime cellule infiammatorie nei muscoli danneggiati sono i neutrofili, già 1-6 ore dopo il danno muscolare (29, 30). Il successivo gruppo di cellule infiammatorie è dato dai macrofagi che compaiono nel tessuto danneggiato dopo 48 ore. Condizione necessaria per la rigenerazione muscolare è l'apporto ematico. La rivascolarizzazione è modulata da molti fattori endocrini, per esempio, il Fattore di Crescita dei Fibroblasti (FGF), che ha proprietà angiogeniche. Il TGF (Fattore di Crescita Trasformante) β stimola la produzione di Collagene, Proteoglicani, Fibronectina, proteine e l'angiogenesi nella ECM (25). Il PDGF (Fattore di Crescita di Derivazione Piastrinica) influenza – anch'esso – l'angiogenesi *in vivo*.

La Lidocaina cloridrato 2% è un comune farmaco analgesico in Odontoiatria e Cardiologia come antiaritmico. Il meccanismo d'azione opera attraverso il blocco dei canali di Sodio, causando un abbassamento del ritmo cardiaco. I neuroni non possono – così – inviare segnali al Sistema Nervoso Centrale. Questo è stato scoperto nel 1946 e da allora la Lidocaina è uno dei farmaci più comuni ed essenziali in medicina. Viene utilizzata per infiltrazioni, analgesia tissutale superficiale, ecc.

La Lidocaina agisce in soli 1,5 minuti ca. È spesso usata in combinazione con un vasocostrittore per prolungare l'effetto analgesico. Nella terapia dei *trigger point*, è usata senza agenti vasocostrittori per il rischio di necrosi ischemica. La durata dell'analgesia è compresa tra 30 minuti e 3 ore.

La Lidocaina può essere anche usata come farmaco inalatorio per la prevenzione della tosse, soprattutto durante l'intubazione. Alcuni pazienti possono non rispondere alla Lidocaina, ad esempio i pazienti affetti da Sindrome di Ehlers-Danlos (31).

-Scopo dello studio è la valutazione dell'efficacia di iniezioni intramuscolari di Collagene e di Lidocaina nella riduzione del MFP del muscolo massetere.

2. Materiali e Metodi

2.1. Partecipanti allo studio.

All'interno di un Gruppo di 102 pazienti caucasici afferenti al Dipartimento Disturbi Temporo-Mandibolari dell'Università di Medicina della Slesia, in Katowice (Polonia) la responsabile della ricerca (ANB) ha individuato 50 pazienti, con MFP del muscolo massetere, e li ha inclusi nel presente studio.

Criteri di inclusione:

- (1) Età ≥ 18 e ≤ 80 ;
- (2) Presenza di dolore miofasciale e dolore miofasciale del muscolo massetere secondo i *Diagnostic Criteria for Temporomandibular Disorders* (Criteri Diagnostici per i Disturbi Temporo-mandibolari) (DC / TMD) (II.1.A. 2 e 3) (32);

(3) Presenza alla palpazione di *trigger point* del muscolo massetere (latente/i o attivo/i);

(4) Consenso dei pazienti alla partecipazione allo studio.

Criteria di esclusione:

(1) Pazienti sottoposti a trattamento ortodontico;

(2) Pazienti in corso di trattamento con o dipendenti da farmaci analgesici e/o farmaci che influenzano la funzione muscolare;

(3) Pazienti che hanno subito traumi in regione cervicale e/o cefalica nei 2 anni precedenti;

(4) Pazienti edentuli e pazienti con contatti occlusali senza supporti delle arcate;

(5) Pazienti trattati da specialista neurologo per disturbi neurologici e/o dolore neuropatico e/o cefalea;

(6) Pazienti dopo radioterapia;

(7) Dolore odontogeno;

(8) Gravidanza o allattamento;

(9) Presenza di neoplasie maligne;

(10) Presenza di gravi disturbi mentali;

(11) Dipendenza da droghe e/o alcol;

(12) Controindicazioni alla terapia iniettiva;

(13) Pazienti agorafobici;

(14) Presenza di ipersensibilità alle sostanze previste nello studio.

Questo studio è stato approvato dal Comitato Bioetico dell'Università Medica della Slesia, in Katowice, Polonia (KNW/0022/KB1/61/I/15), e registrato c/o ClinicalTrials.gov NCT03323567 (27 ottobre 2017). Lo studio è stato eseguito in conformità con la Dichiarazione di Helsinki e la *International Conference on Harmonisation: Guidelines for Good Clinical Practice* (Conferenza internazionale sull'armonizzazione: linee guida per la buona pratica clinica).

Tutti i pazienti hanno fornito il proprio consenso alla partecipazione allo studio ed hanno ricevuto informazioni verbali e scritte illustrative della ricerca.

2.2. *Protocollo di studio.*

Questo studio clinico **randomizzato, controllato, monocieco, a tre bracci**, è stato impostato secondo gli standard consolidati (CONSORT) (33) ed è stato eseguito tra il 10 gennaio 2016 ed il 12 dicembre 2017 c/o il Dipartimento Disordini Temporo-mandibolari presso l'Università Medica della Slesia, in Katowice, Polonia. I pazienti sono stati suddivisi casualmente in 3 Gruppi: **Collagene (Gruppo I, n =18)**, **Lidocaina (Gruppo II, n = 15)** e **Soluzione fisiologica (Gruppo III, n= 17)**. La randomizzazione è stata effettuata da un ricercatore non coinvolto nella ricerca, né nelle varie fasi della stessa nella raccolta dei dati (MW). Dopo l'assegnazione, 7 pazienti hanno rifiutato di partecipare allo studio. Di conseguenza, i Gruppi si sono ridimensionati come segue:

- **Gruppo I**, n = **15**; 5 M, 10 F, età media $37,2 \pm 4,97$ aa;
- **Gruppo II**, n = **13**; 5 M, 8 F, età media $42,8 \pm 0,98$ aa;
- **Gruppo III**, n = **15**; 7 M, 8 F, età media $40,3 \pm 1,18$ aa.

I pazienti non sono stati informati circa quale sostanza sarebbe stata loro iniettata.

Le iniezioni sono state eseguite da un solo clinico (ANB) che era a conoscenza di quale sostanza veniva somministrata.

Lo studio è consistito di 4 visite: **(1) screening** per partecipazione allo studio ed inclusione, **(2)** prima iniezione delle sostanze oggetto di studio (*baseline*), **(3)** 1° *follow-up* e seconda iniezione delle sostanze oggetto di studio, **(4)** 2° *follow-up*.

Il periodo intercorrente tra le visite 2, 3 e 4 era di una settimana (giorni 0, 7 e 14) (Fig. 1).

Le attività svolte dagli sperimentatori durante lo studio sono esposte in Tab. 1.

2.3. *Trattamento.*

Nel/nei *trigger point* del massetere è stato iniettato, alla 2^a e 3^a visita, al **Gruppo I: 2 ml di Collagene MD-Muscle** (Guna, Milano, Italia); al **Gruppo II: 2 ml di Lidocaina 2%** (Lignocainum hydrochloricum WZF, Polfa Varsavia, Polonia) senza vasocostrittore; al **Gruppo III: 2 ml di Soluzione fisiologica** come controllo (NaCl 0,9%).

In tutti i Gruppi sono state utilizzate per le iniezioni siringhe (2 ml) e aghi (0.4 × 19 mm) monouso. I *trigger point* del muscolo massetere sono stati identificati attraverso la palpazione del massetere, e ad ogni Gruppo è stata iniettata la stessa quantità di specifica sostanza (2 ml) nel/nei *trigger point*. L'ago è stato introdotto a 1-1,5 cm circa sotto il piano cutaneo.

In 40 pazienti, le iniezioni sono state monolaterali e in 3 pazienti bilaterali, nei due masseteri con la stessa sostanza (2 pazienti del Gruppo I; 1 paziente del Gruppo II).

2.4. Misurazioni.

Per misurare gli esiti dei trattamenti sono stati utilizzati l'elettromiografia di superficie (**EMGs**) e la Scala analogica visuale (**VAS**) alla 2^a, 3^a e 4^a visita con intervalli di una settimana tra le visite (giorni 0, 7 e 14). Per la valutazione dell'attività del massetere, è stata eseguita una EMG di superficie con Neurobit Optima (Neurobit Systems, Polonia). I valori a riposo del muscolo massetere sono stati misurati in entrambi i lati. L'attività muscolare è stata misurata con 5 elettrodi posizionati bilateralmente: all'origine dell'arco zigomatico e sul processo mascellare dell'osso zigomatico e nella regione di inserzione sulla superficie angolare e laterale del ramo mandibolare. Due elettrodi sono stati posizionati su ciascun lato del capo del paziente ed uno, elettrodo di riferimento, sul collo. Il paziente era seduto comodamente sulla poltrona da dentista, mantenendo la mandibola in posizione di riposo e rilassata, senza contatti dentali.

La valutazione EMG è stata eseguita dopo aver deterso la superficie cutanea con cotone ed una soluzione alcolica (Octenisept, Schulke, Germania). Gli elettrodi sono stati fissati con un gel adesivo sulla cute soprastante il massetere e sul collo. È stato richiesto al paziente di effettuare una contrazione isometrica del massetere per individuare dove posizionare l'elettrodo. La Scala analogica visuale da 0 a 10 [0 = "nessun dolore" e 10 = "dolore peggiore accusato"], è stata utilizzata per valutare l'efficacia delle sostanze oggetto di studio nella riduzione del dolore.

La valutazione del dolore attraverso la VAS e l'EMG di superficie è stata eseguita da due ricercatori (JBK e KWD); le iniezioni sono state eseguite da un'altra investigatrice (ANB).

2.5. Stima della dimensione del campione.

Sono stati presunti i valori normali di VAS. Con la divisione in tre Gruppi, è stata pianificata un'analisi della varianza per misurazioni multiple, con gruppi di uguali dimensioni.

Ulteriori ipotesi erano le seguenti:

(1) Valori VAS attesi nei singoli Gruppi e successive misurazioni (Tab. 2).

(2) Deviazione standard per tutte le misurazioni: $DS = 1.5$.

(3) Per il fattore di correlazione, è stato adottato il modello LEAR [esponente lineare AR (1)], con set di correlazione di base = 0.85 e tasso di decadimento di correlazione = 1.

Considerate le suddette ipotesi, il numero totale di soggetti sarebbe stato 36; quindi, il numero minimo di soggetti per Gruppo era pari a 12. La stima della dimensione del campione è stata eseguita utilizzando SAS, versione 9.4 (SAS Institute Inc., Cary, NC).

2.6. Randomizzazione e blinding.

I pazienti che soddisfacevano i Criteri di Inclusione sono stati randomizzati, secondo un ordine generato dalla randomizzazione semplice computerizzata, in uno dei seguenti Gruppi: Collagene (Gruppo I, $n = 18$), Lidocaina (Gruppo II, $n = 15$) e Soluzione fisiologica (Gruppo III, $n = 17$).

MW ha effettuato la randomizzazione e preparato la lista degli interventi secondo l'elenco d'inclusione. ANB ha somministrato le iniezioni, secondo la lista. I pazienti ed i membri del gruppo di studio (ANB, JBK e KWD) che hanno eseguito il trattamento e raccolto i dati relativi all'intensità del dolore (VAS e EMG di superficie) sono stati assegnati ai trattamenti in cieco.

2.7. Analisi statistica.

È stata effettuata un'analisi della varianza delle misure multiple a senso unico. Per verificare le ipotesi del metodo in tutti i Gruppi, l'analisi della normalità della distribuzione è stata effettuata con Test di Shapiro-Wilk. L'omogeneità della varianza, con test di Hartley, di Cochran-Cox e Chi-quadrato di Bartlett. È stato anche eseguito il test di sfericità di Mauchley. Dall'analisi della varianza, ne consegue che nei Gruppi analizzati sono soddisfatte le ipotesi per l'analisi delle misure multiple a

sensu unico. Al fine di verificare le ipotesi statistiche, è stato ipotizzato il livello di significatività di $\alpha = 0.05$. I calcoli sono stati effettuati da Statistica 12.0 (StatSoft, Polonia).

3. Risultati

3.1. *Demografia e statistica.*

Questo studio ha incluso **43 pazienti** caucasici (17 M e 26 F). L'età media era pari a 39.7 ± 3.78 anni. Le caratteristiche demografiche dei pazienti sono riassunte in Tab. 3.

Non vi erano differenze di età o di genere tra i Gruppi ($p > 0.05$). Sono stati analizzati i dati raccolti utilizzando EMGs e VAS utilizzando statistiche descrittive (Tab. 4). I valori raccolti per l'attività muscolare del massetere con EMGs e l'intensità del dolore sono stati distribuiti normalmente. L'analisi statistica ha mostrato che le **diminuzioni** dei valori medi di EMGs e di VAS nel tempo sono **statisticamente significativi** ($p < 0,001$). I valori medi e gli intervalli di confidenza al 95% sono illustrati in Figg. 2, 3.

3.2. *Endpoint primario*

3.2.1. *Valutazione dell'intensità del dolore muscolare del massetere.*

L'intensità del dolore muscolare del massetere è stata valutata e confrontata prima dell'iniezione di Collagene (VAS.I.1.), Lidocaina (VAS.II.1.) e Soluzione fisiologica (VAS.III.1.); dopo 7 giorni (VAS.I.2., VAS.II.2. e VAS.III.2.); dopo 14 giorni (VAS.I.3., VAS.II.3., VAS.III.3.), alla visita *baseline* ed alle visite di *follow-up*.

La riduzione dell'intensità del dolore è stata osservata in tutti i Gruppi (Tab.5, Fig. 2):

nel **Gruppo I**, la riduzione media dell'intensità del dolore nella VAS era di **4.3 = -53.75%**;

nel **Gruppo II** di **2 = -25%**;

nel **Gruppo III** di **1.63 = -20.1%**.

Dal confronto dei dati tra le misurazioni effettuate nei giorni 7 e 14, gli autori hanno osservato riduzione del dolore statisticamente significativa in tutti i casi, tra *baseline*, prima visita di *follow-up* e seconda visita di *follow-up* (Tab.5).

3.3. *Endpoint secondario*

3.3.1. *Valutazione dell'EMG di superficie.*

L'attività muscolare del massetere è stata valutata e confrontata prima dell'iniezione di Collagene (EMG.I.1.), Lidocaina (EMG.II.1.) e Soluzione fisiologica (EMG.III.1.), dopo 7 giorni (EMG.I.2., EMG.II.2., EMG.III.2.) e dopo 14 giorni (EMG.I.3., EMG.II.3., EMG.III.3.) durante le visite di *follow-up*.

Nel lato dolente è stata misurata l'attività EMG del massetere a riposo.

L'attività EMG del massetere è stata misurata in ciascun Gruppo per tre volte, al *baseline* ed alle visite di *follow-up* (Fig. 3). I valori medi per tutti i risultati EMGs sono presentati in Fig. 3.

La riduzione più significativa dei valori EMGs è stata osservata nel **Gruppo I** (32,9 μ V, **-59.2%**). Nel **Gruppo II**, è stata osservata una riduzione di 23,5 μ V (**-39.3%**). La riduzione minore dei valori di EMGs è stata registrata nel **Gruppo III** (8,9 μ V, **-14%**) (Tab. 6).

In ogni Gruppo è stata osservata una riduzione statisticamente significativa ($p < 0,001$).

3.3.2. *Valutazione dell'EMG di superficie sul lato privo di dolore miofasciale.*

L'attività dei masseteri è stata valutata e confrontata anche nel lato asintomatico (**NP = no pain**) prima delle iniezioni di Collagene (EMG.I.1.**NP**), di Lidocaina (EMG.II.1.**NP**) e di Soluzione fisiologica (EMG.III.1.**NP**), dopo 7 giorni (EMG.I.2.**NP**, EMG.II.2.**NP** e EMG.III.2.**NP**) e dopo 14 giorni (EMG.I.3.**NP**, EMG. II.3.**NP** e EMG.III.3.**NP**) durante le visite di *follow-up* (Tab. 6).

In nessun Gruppo è stato osservato alcun cambiamento statisticamente significativo dell'EMGs ($p > 0,001$).

3.4. *Effetti collaterali.*

Circa 30 minuti dopo l'iniezione di Collagene nel massetere, i pazienti hanno riferito sensazione di dolenzimento all'apertura della bocca, lieve sensazione di rigonfiamento e rigidità muscolare. Dopo circa 1 ora tutti questi sintomi sono scomparsi. In 9 pazienti sono comparsi piccoli ematomi dopo l'iniezione, nei punti di inserimento dell'ago. Questi effetti sono stati temporanei e completamente reversibili. Durante lo studio non si sono verificati effetti collaterali gravi.

4. **Discussione**

Le iniezioni intramuscolari di Collagene, Lidocaina e Soluzione fisiologica nei *trigger point* del massetere nel trattamento per la riduzione del dolore miofasciale del massetere hanno prodotto risultati diversi, in termini di successo, nei 3 Gruppi.

I risultati migliori sono stati raggiunti nel Gruppo I: riduzione dei valori EMGs (-32.9 μ V; -59.2%) e migliori risultati antinocicettivi (riduzione -4.3; -53.75% sulla scala VAS).

Secondo letteratura, la rigenerazione guidata da biomateriali è un nuovo approccio per la Sindrome del dolore miofasciale, come confermato da Kuraitis *et Al.* (26) che hanno iniettato una matrice di Collagene potenziata con Sialyl LewisX (sLeX) per stimolare la differenziazione e la rigenerazione della muscolatura scheletrica (26). Il tessuto muscolare danneggiato da una sostanza iniettata ha la capacità di produrre miogenesi e rivascolarizzazione. Thorsteinsdóttir *et Al.* hanno dimostrato che le cellule satelliti sono attive nella rigenerazione delle cellule muscolari e che il Collagene IV partecipa all'attivazione delle cellule satelliti (17). La matrice extracellulare fornisce Collagene per nuovi miociti che si formano durante il processo di rigenerazione muscolare. La composizione della ECM è estremamente importante per il corretto processo di rigenerazione, onde evitare la sostituzione con tessuto fibrotico (formazione di cicatrici).

-È probabile che le molecole di Collagene fornite attraverso le iniezioni intramuscolari di MD-Muscle aiutino a produrre una rete extracellulare che mantiene i miociti nelle posizioni corrette. La presenza di cellule satelliti nella matrice extracellulare sono definite "*pool*" di cellule pluripotenti per la formazione dei miociti.

In questo studio gli autori hanno rilevato migliori proprietà del tessuto muscolare e minori sintomi patologici dopo iniezione di Collagene.

In questo studio clinico, abbiamo rilevato miglioramento della funzione muscolare dopo iniezioni di Collagene; Kato *et Al.* hanno rilevato che la sintesi di Collagene muscolare non è regolata da livelli nutrizionali elevati o endovenosi di Collagene, bensì da stress meccanico (34). Lawrence *and* De Luca hanno individuato una correlazione positiva tra i segnali mioelettrici muscolari e la forza muscolare della massima contrazione volontaria (35).

Nel Gruppo II sono state eseguite iniezioni di Lidocaina per via intramuscolare per diminuire il dolore e per eliminare i *trigger point*. McMillan *et Al.* hanno effettuato una ricerca comparativa tra *needling* "a secco" ed iniezione di Procaina nei *trigger point* del massetere in pazienti con disturbi temporo-mandibolari (36). Gli autori hanno concluso che la terapia con *needling* "a secco" e con Procaina è discutibile: non è stata rilevata alcuna differenza negli *endpoint* dello studio tra i gruppi sperimentali. Abbiamo trovato risultati simili nel nostro studio ma, in confronto al Gruppo I, Lidocaina e *needling* "a secco" sono stati molto meno efficaci.

Sono stati osservati effetti antinocicettivi, ma non con lo stesso successo come nei pazienti del Gruppo I. Vi sono alcune pubblicazioni sulla terapia del dolore miofasciale con la Proloterapia, che comporta l'iniezione di una soluzione irritante di Lidocaina + Destrosio nell'articolazione, nel legamento o nel muscolo dolente (37, 38). Sung *et Al.* hanno identificato una correlazione tra concentrazioni di Lidocaina e tempo di esposizione e morte delle cellule tissutali (39).

Sarebbe interessante considerare altri anestetici meno tossici, ad esempio la Ropivacaina.

Nel nostro studio abbiamo osservato diversa efficacia con soluzioni diverse.

Abbiamo rilevato che i migliori risultati rigenerativi sono stati raggiunti con iniezioni di Collagene, ma anche le iniezioni di Lidocaina e di Soluzione fisiologica hanno prodotto una diminuzione del livello del dolore e dell'attività EMGs. Blasco-Bonora *and* Pintado-Zugasti hanno effettuato la tecnica con *needling* "a secco" nei *trigger point* del massetere ed hanno ottenuto un miglioramento nella riduzione del dolore muscolare ed apertura della mandibola nei pazienti con bruxismo notturno (40). Kalichman *and* Vulfsons sostengono che il *needling* "a secco" profondo è più efficace del *needling* "a secco" superficiale nella terapia del dolore muscolo-scheletrico (41). Il massetere si localizza appena sotto la cute; le iniezioni – quindi – non erano molto profonde (circa 1.5 cm, *needling* "bagnato" profondo). A nostro parere l'iniezione di Collagene nei *trigger point* apporta benefici, non solo per lo specifico meccanismo d'azione nella rigenerazione del tessuto muscolare, ma anche come effetto meccanico indotto dall'ago.

Occorre evidenziare che l'effetto statisticamente significativo in termini di riduzione dell'attività muscolare EGMs e dell'intensità del dolore (VAS) è stato ottenuto dopo **2** iniezioni e che durante lo studio non sono stati registrati effetti avversi.

5. Conclusioni

Questo studio ha confermato che per la riduzione del dolore miofasciale del muscolo massetere, l'iniezione intramuscolare di Collagene è più efficace dell'iniezione intramuscolare di Lidocaina.

In considerazione del breve tempo di osservazione, andrebbero condotti ulteriori studi a lungo termine.

Conflitto d'interesse

Gli autori dichiarano assenza di conflitto d'interesse.

NOTA:

Traduzione e revisione del testo tradotto, delle Figure e delle Tabelle sono a cura della

Direzione Medica di Guna Spa – Milano.

Bibliografia

1. Al-Khotani A., Naimi-Akbar A., Albadawi E., Ernberg M., Hedenberg-Magnusson B. *and* Christidis N. - Prevalence of diagnosed temporomandibular disorders among Saudi Arabian children and adolescents. *Journal of Headache and Pain*, vol. 17, no. 1, pp. 17-41; **2016**.
2. Wieckiewicz M., Grychowska N., Wojciechowski K. *et Al.* - Prevalence and correlation between TMD based on RDC/TMD diagnoses, oral parafunctions and psychoemotional stress in Polish university students. *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 472346, 7 pp.; **2014**.
3. Osiewicz M.A., Lobbezoo F., Loster B.W., Loster J.E. *and* Manfredini E. - Frequency of temporomandibular disorders diagnoses based on RDC/TMD in a Polish patient population. *Cranio®*, pp. 1-7; **2017**.
4. Reissmann D.R., John M.T., Aigner A., Schön G., Sierwald I. *and* Schiffman E.L. - Interaction between awake and sleep bruxism is associated with increased presence of painful temporomandibular disorder. *Journal of Oral & Facial Pain and Headache*, vol. 31, no. 4, pp. 299-305; **2017**.
5. Wieckiewicz M., Zietek M., Smardz J., Zenczak-Wieckiewicz D. *and* Grychowska N. - Mental status as a common factor for masticatory muscle pain: a systematic review. *Frontiers in Psychology*, vol. 8, p. 646; **2017**.
6. Al-Khotani A., Naimi-Akbar A., Gjerset M. *et Al.* - The associations between psychosocial aspects and TMD-pain related aspects in children and adolescents. *Journal of Headache and Pain*, vol. 17, no. 1, p. 30; **2016**.
7. Pihut M., Ferendiuk E., Szewczyk M., Kasprzyk K. *and* Wieckiewicz M. - The efficiency of botulinum toxin type A for the treatment of masseter muscle pain in patients with temporomandibular joint dysfunction and tension-type headache. *Journal of Headache and Pain*, vol. 17, no. 1, p. 29; **2016**.
8. Borg-Steina J. *and* Simons D.G. - Myofascial pain. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol. 83, no. 1, pp. S40–S47; **2002**.
9. Karalaki M., Fili S., Philippou A. *and* Koutsilieris M. – Muscle regeneration: cellular and molecular events. *In Vivo*, vol. 23, no. 5, pp. 779-796; **2009**.
10. Myllylä R., Salminen A., Peltonen L., Takala T.E. *and* Vihko V. - Collagen metabolism of mouse skeletal muscle during the repair of exercise injuries, *Pflügers Archiv European Journal of Physiology*, vol. 407, no. 1, pp. 64-70; **1986**.
11. Peake J., Nosaka K. *and* Suzuki K. - Characterization of inflammatory responses to eccentric exercise in humans. *Exercise Immunology Review*, vol. 11, pp. 64-85; **2005**.
12. Duncan M.R. *and* Berman R. - Stimulation of collagen and glycosaminoglycan production in cultured human adult dermal fibroblasts by recombinant human interleukin 6. *Journal of Investigative Dermatology*, vol. 97, no. 4, pp. 686-692; **1991**.

13. Tedesco F.S, Dellavalle A., Diaz-Manera J., Messina G. *and* Cossu G. - Repairing skeletal muscle: regenerative potential of skeletal muscle stem cells. *Journal of Clinical Investigation*, vol. 120, no. 1, pp. 11-19; **2010**.
14. Sikdar S., Shah J.P., Gebreab T. *et Al.* - Novel applications of ultrasound technology to visualize and characterize myofascial trigger points and surrounding soft tissue. *Archives of Physical Medicine and Rehabilitation*, vol. 90, no. 11, pp. 1829-1838; **2009**.
15. Järholm U., Styf J., Suurkula M. *and* Herberts P. – Intramuscular pressure and muscle blood flow in supraspinatus. *European Journal of Applied Physiology and Occupational Physiology*, vol. 58, no. 3, pp. 219-224; **1988**.
16. Miller B.F., Olesen J.L., Hansen M. *et Al.* – Coordinated collagen and muscle protein synthesis in human patella tendon and quadriceps muscle after exercise. *Journal of Physiology*, vol. 567, no. 3, pp. 1021-1033; **2005**.
17. Thorsteinsdóttir S., Deries M., Cachaço A.S. *and* Bajanca F. - The extracellular matrix dimension of skeletal muscle development. *Developmental Biology*, vol. 354, no. 2, pp. 191-207; **2011**.
18. Urciuolo A., Quarta M., Morbidoni V. *et Al.* - Collagen VI regulates satellite cell self-renewal and muscle regeneration. *Nature Communications*, vol. 4, no. 1, p. 1964; **2013**.
19. Mapelli A., Zanandrea Machado B.C., Giglio L.D., Sforza C. *and* De Felício C.M. - Reorganization of muscle activity in patients with chronic temporomandibular disorders. *Archives of Oral Biology*, vol. 72, pp. 164-171; **2016**.
20. Pihut M., Szuta M., Ferendiuk E. *and* Zeńczak-Więckiewicz D. - Evaluation of pain regression in patients with temporomandibular dysfunction treated by intra-articular platelet-rich plasma injections: a preliminary report. *BioMed Research International*, vol. 2014, Article ID 132369, 7 pp.; **2014**.
21. Bönnemann C.G. - The collagen VI-related myopathies: muscle meets its matrix. *Nature Reviews Neurology*, vol. 7, no. 7, pp. 379-390; **2011**.
22. Braghetta P., Fabbro C., Piccolo S. *et Al.* - Distinct regions control transcriptional activation of the alpha1 (VI) collagen promoter in different tissues of transgenic mice. *Journal of Cell Biology*, vol. 135, no. 4, pp. 1163-1177; **1996**.
23. Cescon M., Gattazzo F., Chen P. *and* Bonaldo P. – Collagen VI at a glance. *Journal of Cell Science*, vol. 128, no. 19, pp. 3525-3531; **2015**.
24. Sorichter S., Mair J., Koller A. *et Al.* - Skeletal troponin I as a marker of exercise-induced muscle damage. *Journal of Applied Physiology*, vol. 83, no. 4, pp. 1076-1082; **1985**.
25. Lehto M. *and* Järvinen M. - Collagen and glycosaminoglycan synthesis of injured gastrocnemius muscle in rat. *European Surgical Research*, vol. 17, no. 3, pp. 179-185; **1985**.

26. Kuraitis D., Ebadi D., Zhang P. *et Al.* - Injected matrix stimulates myogenesis and regeneration of mouse skeletal muscle after ischaemic injury. *European Cells and Materials*, vol. 24, pp. 175-195; **2012**.
27. Stocum D.L. - *Regenerative Biology and Medicine*. Academic Press, Cambridge, MA (USA); **2012**.
28. Mourkioti F. *and* Rosenthal N. - IGF-1, inflammation and stem cells: interactions during muscle regeneration. *Trends in Immunology*, vol. 26, no. 10, pp. 535-542; **2005**.
29. Prisk V. *and* Huard J. - Muscle injuries and repair: the role of prostaglandins and inflammation. *Histology and Histopathology*, vol. 18, no. 4, pp. 1243-1256; **2003**.
30. McClung J.M., Davis J.M. *and* Carson J.A. – Ovarian hormone status and skeletal muscle inflammation during recovery from disuse in rats. *Experimental Physiology*, vol. 92, no. 1, pp. 219-232; **2007**.
31. Hakim A.J., Grahame R., Norris P. *and* Hopper C. – Local anaesthetic failure in joint hypermobility syndrome. *Journal of the Royal Society of Medicine*, vol. 98, no. 2, pp. 84-85; **2005**.
32. Peck C.C., Goulet J.P., Lobbezoo F. *et Al.* - Expanding the taxonomy of the diagnostic criteria for temporomandibular disorders. *Journal of Oral Rehabilitation*, vol. 41, no. 1, pp. 2-23; **2014**.
33. Pandis N., Chung B., Scherer R.W., Elbourne D. *and* Altman D.G. - CONSORT 2010 statement: extension checklist for reporting within person randomised trials. *BMJ*, vol. 357, p. j2835; **2017**.
34. Kato H., Suzuki H., Inoue Y., Suzuki K. *and* Kobayashi H. - Leucine-enriched essential amino acids augment mixed protein synthesis, but not collagen protein synthesis, in rat skeletal muscle after downhill running. *Nutrients*, vol. 8, no. 7, p. 399; **2016**.
35. Lawrence J.H. *and* De Luca C.J. - Myoelectric signal versus force relationship in different human muscles, *Journal of Applied Physiology*, vol. 54, no. 6, pp. 1653-1659; **1983**.
36. McMillan A.S., Nolan A. *and* Kelly P.J. - The efficacy of dry needling and procaine in the treatment of myofascial pain in the jaw muscles. *Journal of Orofacial Pain*, vol. 11, no. 4, pp. 307-314; **1997**.
37. Rabago D., Yelland M., Patterson J. *and* Zgierska A. – Prolotherapy for chronic musculoskeletal pain. *American Family Physician*, vol. 84, no. 11, pp. 1208-1210; **2011**.
38. Daftary A.R. *and* Karnik A.S. - Perspectives in ultrasound-guided musculoskeletal interventions. *Indian Journal of Radiology and Imaging*, vol. 25, no. 3, pp. 246-260; **2015**.
39. Sung C.M., Hah Y.S., Kim J.S. *et Al.* - Cytotoxic effects of ropivacaine, bupivacaine, and lidocaine on rotator cuff tenofibroblasts. *American Journal of Sports Medicine*, vol. 42, no. 12, pp. 2888-2896; **2014**.

40. Blasco-Bonora P.M. *and* Pintado-Zugasti A.M. - Effects of myofascial trigger point dry needling in patients with sleep bruxism and temporomandibular disorders a prospective case series. *Acupuncture in Medicine*, vol. 35, no. 1, pp. 69-74; **2017**.

41. Kalichman L. *and* Vulfsons S. - Dry needling in the management of musculoskeletal pain. *Journal of the American Board of Family Medicine*, vol. 23, no. 5, pp. 640-646; **2010**.

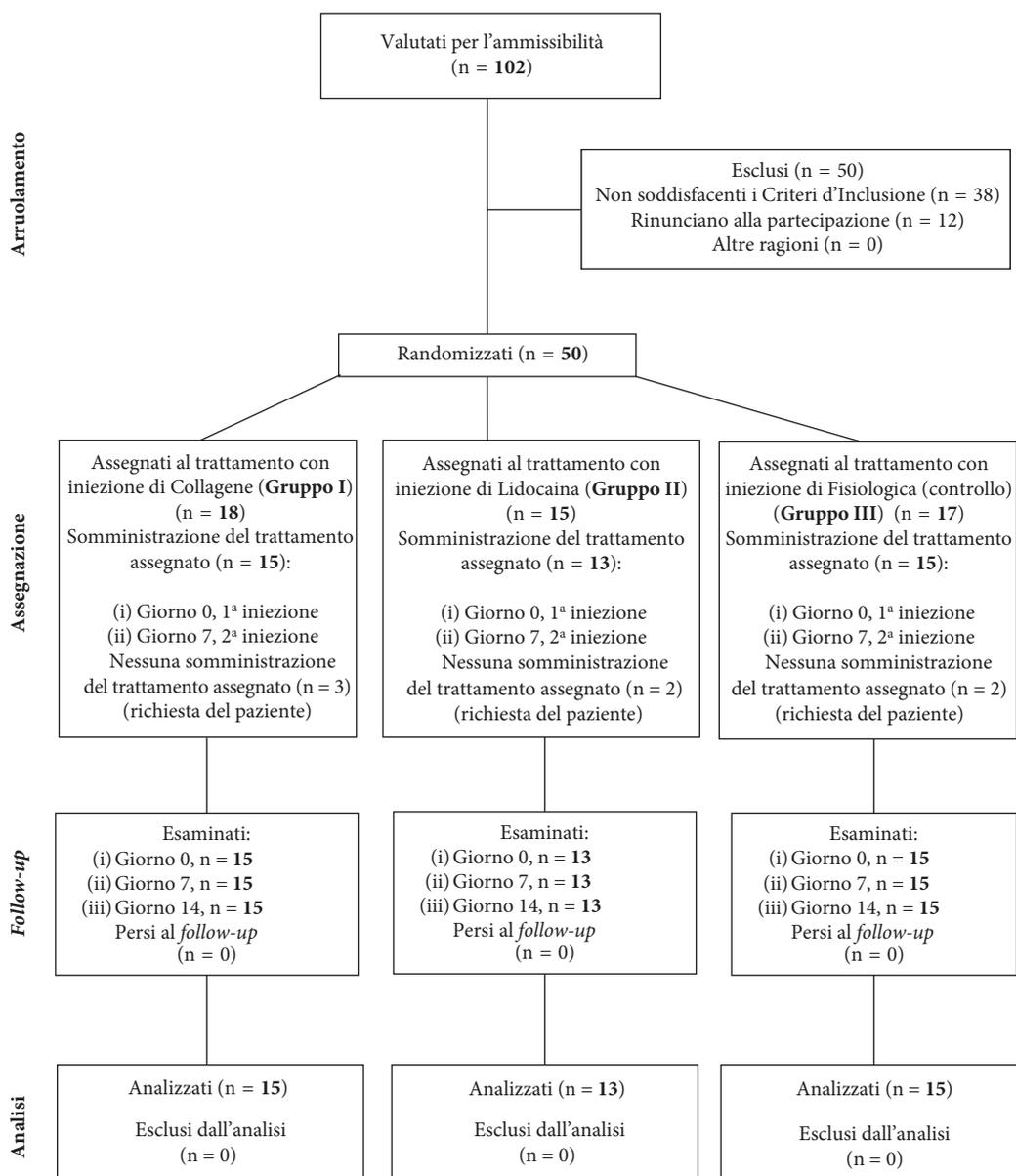


Fig. 1 – Diagramma a 3 bracci CONSORT. Analisi del flusso dei partecipanti in ogni fase dello studio randomizzato controllato.

Tab. 1 – Attività degli sperimentatori durante lo studio.

Visita	1 (screening e inclusione)	2 (baseline)	3 (1° follow-up)	4 (2° follow-up)
Giorno dello studio	–	Giorno 0	Giorno 7	Giorno 14
Iniezione	–	+	+	–
Misurazione EMG	–	EMG.I.1. EMG.II.1. EMG.III.1.	EMG.I.2. EMG.II.2. EMG.III.2.	EMG.I.3. EMG.II.3. EMG.III.3.
	–	EMG.I.1.NP EMG.II.1.NP EMG.III.1.NP	EMG.I.2.NP EMG.II.2.NP EMG.III.2.NP	EMG.I.3.NP EMG.II.3.NP EMG.III.3.NP
	–	VAS.I.1. VAS.II.1. VAS.III.1.	VAS.I.2. VAS.II.2. VAS.III.2.	VAS.I.3. VAS.II.3. VAS.III.3.

EMG.I.1. = EMG, Gruppo I, prima misurazione; NP = no pain (= lato non dolente)

Tab. 2 – Valori VAS.

Osservazione	Gruppo	<i>Baseline</i>	<i>1° follow-up</i>	<i>2° follow-up</i>
1	VAS.I	8	5	3
2	VAS.II	8	6	5
3	VAS.III	8	7	6

Tab. 3 – Caratteristiche dei 43 partecipanti con MFP del muscolo massetere inclusi nello studio.

	Gruppo I	Gruppo II	Gruppo III
M/F (n°)	5/10	5/8	7/8
Età (anni)	37.2 ± 4.97	42.8 ± 0.98	40.3 ± 1.18
Durata del dolore miofasciale (settimane), media (DS)	30.2 ± 31.48	34.3 ± 29.26	38.3 ± 26.47
Coinvolgimento bilaterale del dolore miofasciale	2	1	0

Tab. 4 – Statistiche descrittive dei valori EMGs e VAS.

	N.	Media	Minimo	Massimo	Deviazione standard	Misurazioni ANOVA a una via ripetute
EMG.I.1. (μV)	15	56.67	47	65	5.95	
EMG.I.2. (μV)	15	32.67	28	41	3.85	$p < 0.001$
EMG.I.3. (μV)	15	23.73	20	29	2.81	
EMG.I.1.NP (μV)	15	34.3	27	45	5.17	
EMG.I.2.NP (μV)	15	34.6	27	42	4.35	$p = 0.344$
EMG.I.3.NP (μV)	15	35.2	25	44	5.47	
VAS.I.1.	15	8.07	5	10	1.58	
VAS.I.2.	15	4.67	2	8	1.54	$p < 0.001$
VAS.I.3.	15	3.73	1	7	1.94	
EMG.II.1. (μV)	13	59.07	49	70	4.79	
EMG.II.2. (μV)	13	41.20	37	49	3.36	$p < 0.001$
EMG.II.3. (μV)	13	35.07	29	45	4.40	
EMG.II.1.NP (μV)	13	38.7	29	60	7.3	
EMG.II.2.NP (μV)	13	39.2	31	55	6.8	$p = 0.353$
EMG.II.3.NP (μV)	13	37.7	29	52	6.4	
VAS.II.1.	13	8.33	6	10	1.23	
VAS.II.2.	13	7.40	5	9	1.12	$p < 0.001$
VAS.II.3.	13	6.07	4	9	1.58	
EMG.III.1. (μV)	15	64.13	56	72	5.34	
EMG.III.2. (μV)	15	60.20	54	69	4.41	$p < 0.001$
EMG.III.3. (μV)	15	55.27	50	64	4.83	
EMG.III.1.NP (μV)	15	36.6	26	43	8.3	
EMG.III.2.NP (μV)	15	34	29	41	4.5	$p = 0.138$
EMG.III.3.NP (μV)	15	36.5	29	42	4.3	
VAS.III.1.	15	8.13	6	10	1.19	
VAS.III.2.	15	6.80	4	9	1.57	$p < 0.001$
VAS.III.3.	15	6.53	3	9	2.03	

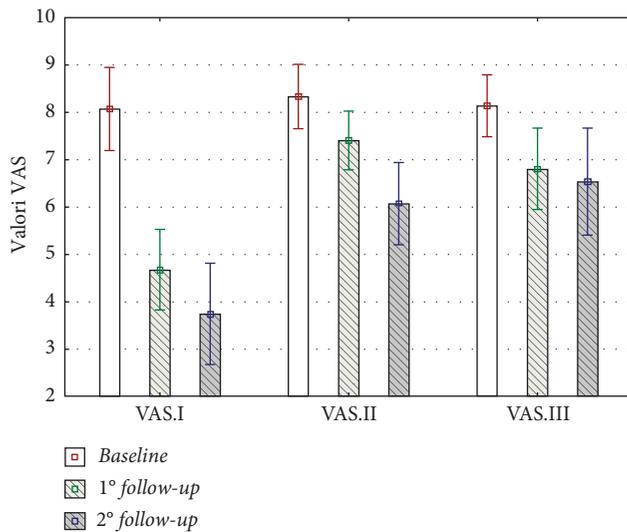


Fig. 2 – Variazioni dei valori medi VAS nel Gruppo I, Gruppo II e Gruppo III durante lo studio (giorni 0, 7, 14)

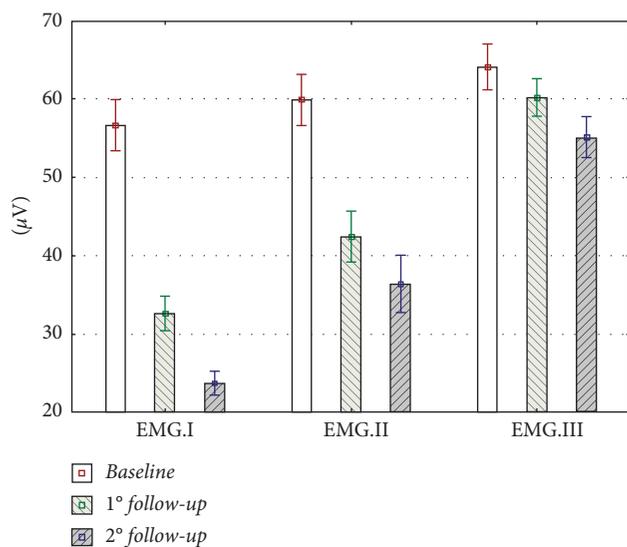


Fig. 3 – Variazioni dei valori medi dell'EMGs del muscolo massetere nel Gruppo I, Gruppo II e Gruppo III durante lo studio (giorni 0, 7, 14)

Tab. 5 – Variazioni dei valori medi di VAS nel Gruppo I, Gruppo II e Gruppo III dopo 14 giorni.

Visita	Gruppo I	Gruppo II	Gruppo III
Baseline	8	8.3	8.13
Visita 1° follow-up	4.6	7.4	6.8
Visita 2° follow-up	3.7	6	6.5
Variazioni VAS	-4.3	-2	-1.63
Percentuali variazioni VAS	-53.75%	-25%	-20.1%

Tab. 6 – Variazioni dei valori medi dell'EMGs nel Gruppo I, Gruppo II e Gruppo III dopo 14 giorni.

Visita	Gruppo I (μV)	Gruppo II (μV)	Gruppo III (μV)
<i>Lato dolente</i>			
Baseline	56.6	59.9	64.1
Visita 1° follow-up	32.6	42.4	60.2
Visita 2° follow-up	23.7	36.4	55.2
Variazioni EMG	-32.9	-23.5	-8.9
Percentuali variazioni VAS	-59.2%	-39.3%	-14%
<i>Lato non dolente (NP)</i>			
Baseline	34.3	38.7	36.6
Visita 1° follow-up	34.6	39.2	34
Visita 2° follow-up	35.2	37.7	36.5
Variazioni EMG	+0.9	-1	-0.1
Percentuali variazioni VAS	+2.6%	-2.5%	-0.3%