

OSTEOARTROSI

Il meccanismo
di modulazione
immunitaria

Il concetto degli
epitopi attivi

Le evidenze cliniche
sull'artrosi
del ginocchio

Dibattito aperto:
indicazioni elettive,
tipo di collagene,
dosaggio ottimale

➤ **Il ruolo
del collagene nativo
di tipo II
per via orale**

OSTEOARTROSI

➤ **Il ruolo
del collagene nativo
di tipo II
per via orale**

Autore

Alessandro De Ponti

Clinica Ortopedica dell'Università
degli Studi di Milano
Istituto Ortopedico Galeazzi IRCCS
Milano

© 2017 Sinapsis srl Milano



Una iniziativa promossa da **mdm**
a sostegno dell'attività professionale dello Specialista





Introduzione

Anchise era un uomo bellissimo, di lui si innamorò la dea Afrodite. Generarono Enea, forte, bello e glorioso. Anchise, durante una festa bevve un po' troppo e osò vantarsi del suo amore con la dea; Zeus lo punì e lo rese zoppo. O meglio, gli procurò dolore e usura delle giunture tali da costringerlo a camminare piegato dalla sofferenza: in altre parole, lo rese artrosico.

Non si sa quando e come sono nate le comuni malattie, ma di certo l'artrosi è una delle più antiche poiché colpiva gli uomini che faticavano nei campi e negli opifici. Da allora la degenerazione articolare ha condizionato l'esistenza del genere umano con democratica diffusione: ricchi e poveri, intelligenti e sempliciotti, istruiti e ignoranti.

Forse anche per questo si è consolidata una concezione quasi rassegnata dell'artrosi, attribuendola al destino fisiologico dell'umana usura che colpì Anchise allora, così come milioni di persone oggi.

In realtà è venuto il momento di considerare il fenomeno artrosico in modo più moderno, liberi dalla visione ineluttabile della degenerazione. Molti meccanismi patogenetici sono stati evidenziati come elementi di novità, altri sono correntemente in corso di valutazione per determinarne il ruolo effettivo.

Oggi è doveroso considerare l'artrosi non soltanto un fenomeno degenerativo, ma anche legato ad alterazioni immunologiche, biochimiche, infiammatorie, genetiche del tutto indipendenti dal sovraccarico fisico.

Ciò implica anche un approccio preventivo e terapeutico mirato a tutti i meccanismi responsabili della genesi e del mantenimento del fenomeno artrosico.

Alessandro De Ponti

Il circolo vizioso della degradazione strutturale della cartilagine

“ *Il condrocita ha un ruolo cruciale nel controllo della matrice e della funzione cartilaginea* ”
(Akkiraju 2015)

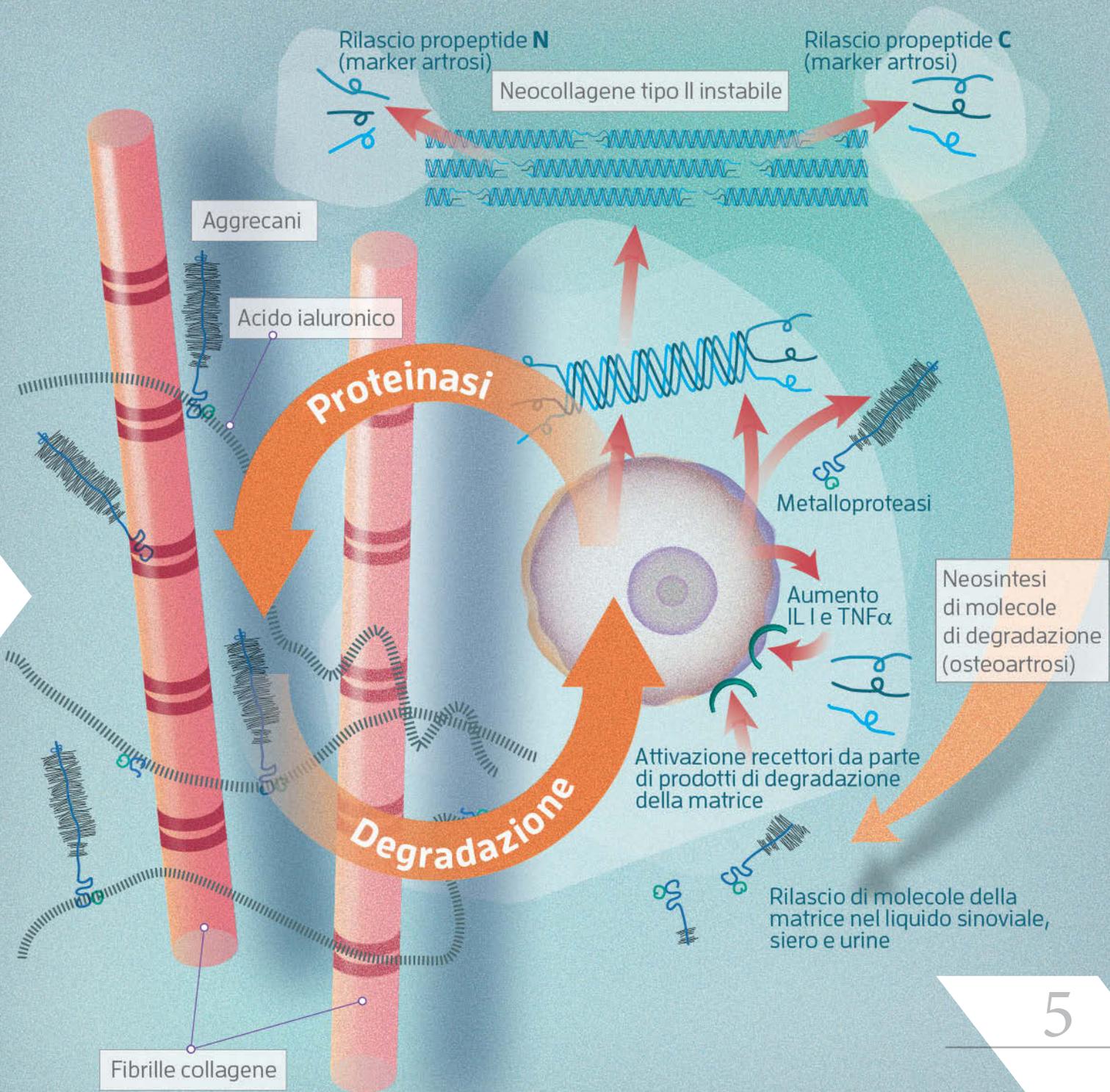
La struttura cartilaginea è formata dalle fibre collagene in cui si intrecciano i complessi (aggregati) composti da proteoglicani e acido ialuronico.

In condizioni normali, c'è un **fisiologico turnover** della matrice in cui si trovano i condrociti. Nell'osteoartrosi le molecole strutturali si degradano – sulla spinta di diversi fattori anche di tipo infiammatorio – inducendo i condrociti a proliferare tentando di produrre in compensazione nuovo collagene e nuovi proteoglicani. Questi nuovi prodotti risultano più instabili e più fragili e facilmente a loro volta si degradano. I prodotti della degradazione migrano in circolo dove possono essere anche rilevati come marker di artrosi attiva.

I condrociti così attivati però generano anche elevate quantità di fattori proteolitici, come **metalloproteasi**, interleukina 1 (IL-1), tumour necrosis factor β (TNF β), ossido nitrico (NO), tutti deleteri sulla cartilagine (Adami 2001).

Si tratta quindi di un circolo vizioso che porta alla progressiva degradazione dei costituenti strutturali. L'aggiunta terapeutica di tali costituenti può arrestare il rovinoso **circolo vizioso dell'artrosi**, ripristinando il contenuto normale di acido ialuronico, glicosaminoglicani, condroitinsolfato e collagene, arrestando il fenomeno degenerativo e reintegrando la struttura.

- **I condrociti sono sensibili a diversi stimoli, soprattutto (ma non solo) di tipo meccanico.**
- **I condrociti così sollecitati ipertrofizzano e proliferano, producendo nuove quantità, ma instabili, di collagene e proteoglicani.**
- **Si liberano nuovi fattori proteolitici e infiammatori che mantengono le condizioni lesive, perpetuando il danno.**



Il ruolo delle adipochine nella genesi dell'osteoartrite

“ *Il sovrappeso agisce anche come fattore di rischio biochimico.* ”

Un fattore non trascurabile nella genesi dell'osteoartrite è quello legato alle adipochine, proteine sintetizzate dagli adipociti nel corso della loro maturazione.

Condroblasti, condrociti e adipociti sono strettamente correlati fra loro; infatti condividono gli stessi precursori cellulari mesenchimali.

Una delle principali adipochine, la **leptina**, si riscontra a livelli elevati nel liquido sinoviale, negli osteofiti e nella cartilagine di soggetti artritici.

Si ritiene che la leptina eserciti un'**attività biologica sui condrociti**, svolgendo quindi un ruolo nella patogenesi di malattie infiammatorie e degenerative articolari. Tale adipochina infatti stimola la produzione di mediatori di degradazione cartilaginea (TNF α) e di varie interleuchine; incrementa l'effetto stimolatorio di altre citochine attive sulla produzione di ossido nitrico nei condrociti, partecipando così all'azione degenerativa strutturale del tessuto cartilagineo;

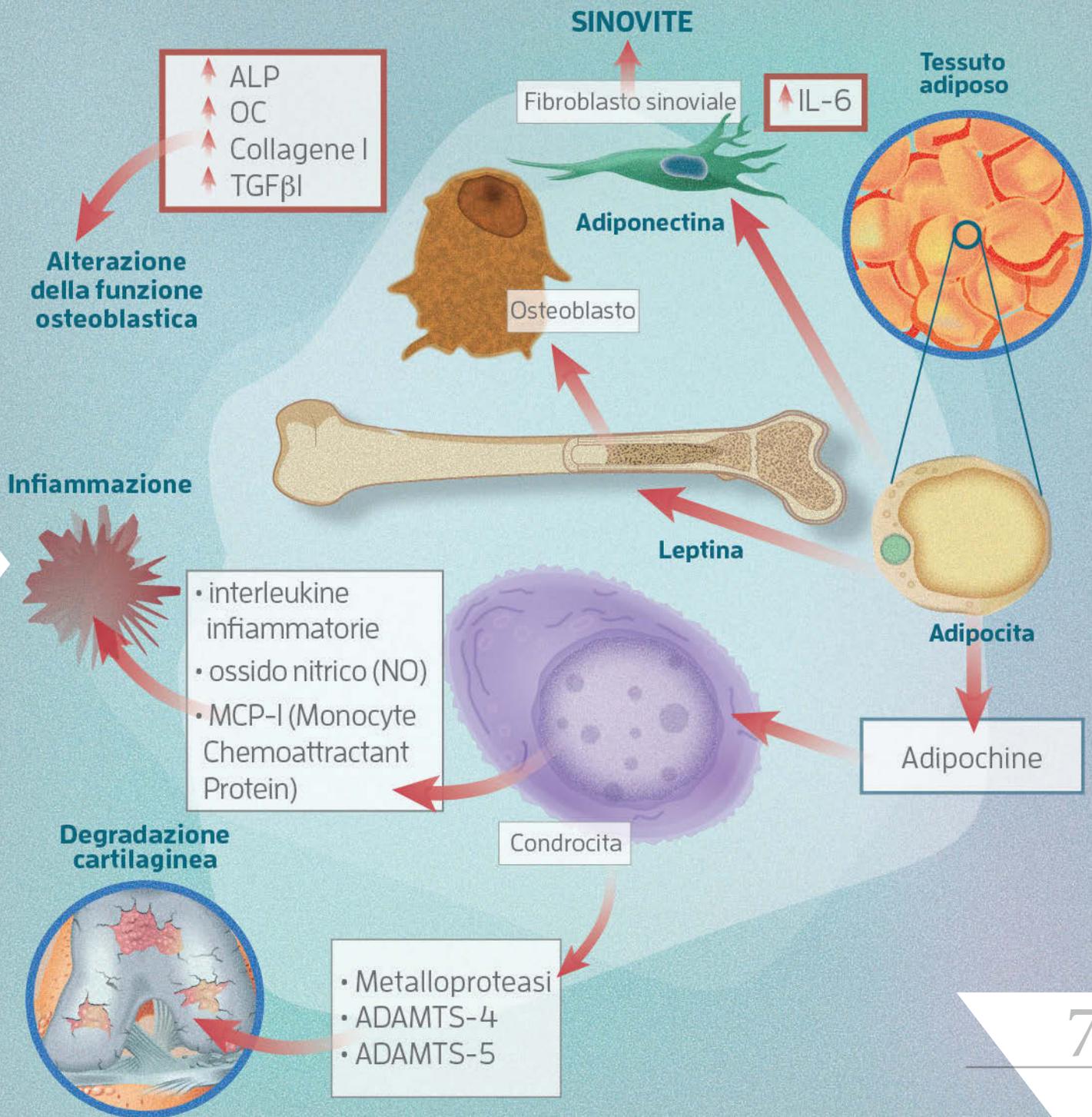
esercita inoltre un'azione antiosteogenica che sembra anche mediata da vie cerebrali.

È stato anche osservato che la leptina agisce con modalità regolatorie sul tessuto osseo.

Queste osservazioni servono a ricordare che il sovrappeso è un fattore di rischio dell'osteoartrite non soltanto come agente meccanico da sovraccarico, ma anche per un ben determinato e riconosciuto meccanismo biochimico.

Sulla base di queste evidenze, le adipochine sono state definite il **link metabolico** che lega l'obesità all'osteoartrite (Luzzi, 2014).

- **Condroblasti, condrociti e adipociti condividono gli stessi precursori cellulari mesenchimali.**
- **Alti livelli di leptina sono correlati con un aumentato rischio di artrosi del ginocchio.**
- **Le adipochine sono state definite il link metabolico che lega l'obesità all'osteoartrite.**



Il meccanismo con cui il collagene nativo condiziona l'immunità locale

“ Il GALT, gut associated lymphoid tissue, sede cruciale per il condizionamento dei linfociti T ”

L'autoimmunità verso il collagene è uno dei meccanismi patologici che contribuiscono al determinismo e alla cronicizzazione dell'**artrite reumatoide** [Wei, 2009] e che si ritiene sia applicabile anche nel caso dell'osteoartrite.

Questa osservazione ha indotto a esplorare la possibilità di condizionare tale autoimmunità, inducendo una **tolleranza orale** al collagene nativo, ossia rendendo il collagene accettabile e bloccando quindi il processo autodegenerativo autoimmune. Questo si può ottenere mettendo a contatto quantità adeguate di antigeni (il collagene tipo II) con le cellule dei tessuti linfoidei intestinali.

Nell'intestino, il tessuto linfoide viene anche definito GALT, gut associated lymphoid tissue, ed è rappresentato da noduli linfatici isolati o aggregati in placche (**placche di Peyer**), situate fra lamina propria e sottomucosa dell'ileo.

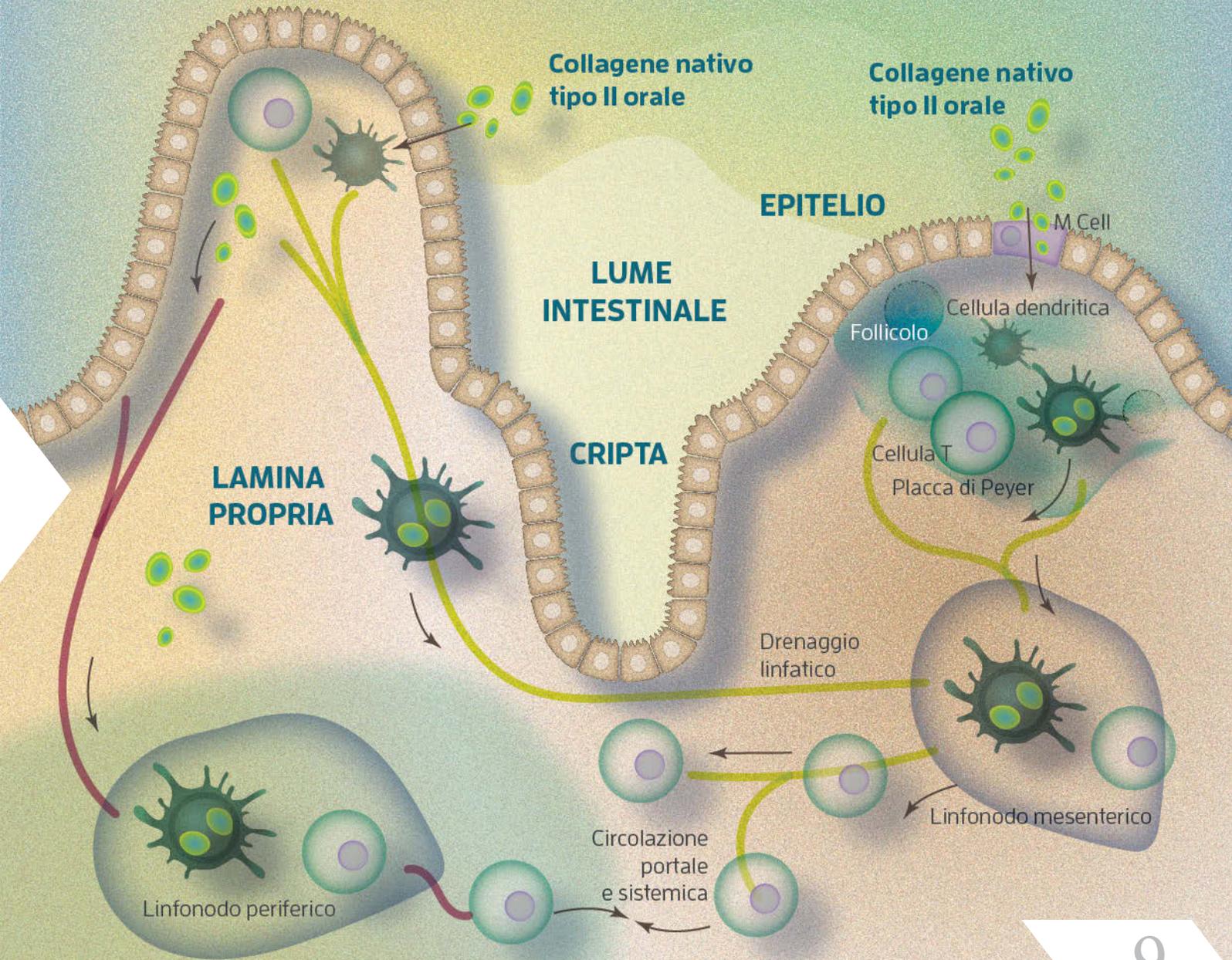
Ma l'azione cruciale è svolta dalle **cellule M**: sono cellule specializzate, iperattive, disposte sull'epitelio intestinale. Il loro compito è quello

di processare gli antigeni e presentarli alle cellule dendritiche delle placche di Peyer, che sono subito sottostanti.

In sintesi, pertanto, il collagene tipo II assunto per via orale raggiunge l'intestino, esercita effetti immunomodulanti sui linfociti T, i quali si differenziano in senso regolatorio limitando il meccanismo autoimmune alla base della degenerazione articolare tipica dell'artrite reumatoide e dell'osteoartrite.

- **Nella fisiopatologia dell'artrite reumatoide e probabilmente anche dell'artrosi si riconosce una autoimmunità verso il collagene.**
- **L'autoimmunità verso il collagene può essere condizionata mediante la somministrazione di collagene nativo esogeno.**
- **Componenti cruciali sono le cellule M dell'epitelio intestinale e le sottostanti placche di Peyer.**

Il GALT, Gut-associated lymphoid tissue



L'anomalia della glicosilazione nella patogenesi dell'osteoartrite

“ Come un errore di configurazione può favorire la degenerazione della cartilagine. ”

Anche l'osteoartrite, oltre al modello paradigmatico dell'artrite reumatoide, ha un substrato eziopatogenetico fondato sull'infiammazione e su un disordine immunologico che porta alla degradazione della cartilagine. Rispetto all'artrite reumatoide, nell'osteoartrite agisce uno **stato infiammatorio lieve ma continuo, distruttore**.

Un aspetto forse trascurato fino a oggi è la possibilità che una scorretta glicosilazione comprometta la **configurazione tridimensionale** di alcune glicoproteine cruciali per la salute della cartilagine, come le IgG e il collagene nativo di tipo II. Il sistema immunitario e la struttura cartilaginea sono composti prevalentemente da strutture glicoproteiche, in cui la sintesi glicoproteica richiede il necessario substrato e un corretto processo di glicosilazione.

Questa alterazione può avere conseguenze molto serie: per esempio un difetto nel riconoscimento e nella risposta immunologica, che porta all'auto-degradazione del tessuto cartilagineo.

Il corrispettivo clinico di questo principio è dato dalle evidenze della somministrazione per via orale di collagene di tipo II non denaturato (**10 mg/die**) per 42 giorni: il dolore articolare soggettivo si riduce del 26 per cento nell'80 per cento dei pazienti studiati (donne di età 58-78 anni). Il collagene di tipo II somministrato presentava epitopi attivi, consistenti in strutture glicosilate tridimensionali, riconosciute dalle placche di Peyer nel GALT, gut associated lymphoid tissue (Bagchi 2002).

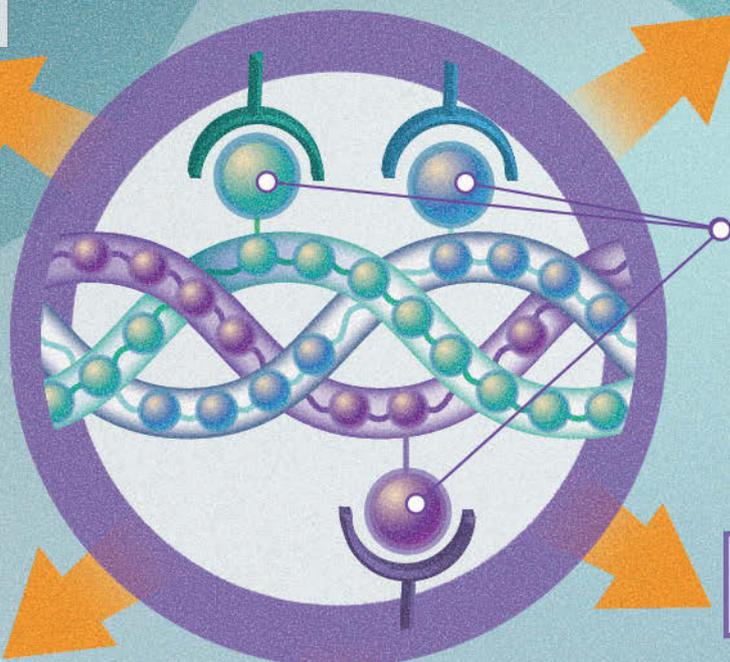
- **Il tessuto cartilagineo è composto in prevalenza da strutture glicoproteiche che richiedono l'efficienza dei processi di glicosilazione.**
- **Se il collagene assunto per via orale contiene epitopi attivi, ossia glicosilati, viene riconosciuto dalle placche di Peyer intestinali.**
- **Gli epitopi adeguatamente glicosilati non stimolano le cellule T, inibendo quindi l'attacco al tessuto cartilagineo.**

Collagene tipo II glicosilato (nativo)

riconosciuto dalle placche di Peyer nel GALT,
Gut Associated Lymphoid Tissue

Iporesponsività
immunologica locale

corretta sintesi
glicoproteine

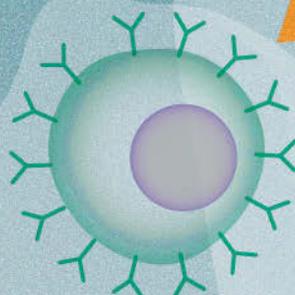


EPITOPPI ATTIVI

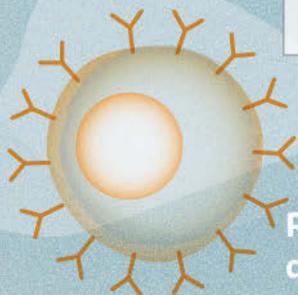
Inibizione
Linfociti T

**Inibizione degradazione
autoimmune cartilagine**

Inibizione **linfociti B**
a produrre anticorpi
anti-cartilagine



Recettori placche
di Peyer



Recettori placche
di Peyer

Gli epitopi corretti, la glicobiologia e le conseguenze sui sintomi articolari

“ *Gli **epitopi** sono regioni antigeniche che interagiscono con gli anticorpi.* ”

Il collagene utilizzato nell'artrite reumatoide e nell'artrosi è di per sé un antigene, utilizzato per la proprietà dimostrata di indurre una tolleranza al collagene nativo.

Ora, il collagene denaturato ha il proprio epitopo incapace di essere riconosciuto dalle placche di Peyer intestinali, per due principali motivi: viene quasi completamente degradato nell'ambiente intestinale, e non ha la conformazione spaziale idonea per il legame antigene-anticorpo.

Soltanto il collagene non-denaturato (nativo di tipo II) dispone di **epitopi attivi glicosilati**.

La glicosilazione (ossia l'attivazione) degli epitopi svolge un ruolo importante nel riconoscimento delle cellule T e nella risposta delle cellule B. Questa risposta consente di ridurre le conseguenze mediate dalle cellule T, ossia l'infiammazione, il dolore e la tumefazione.

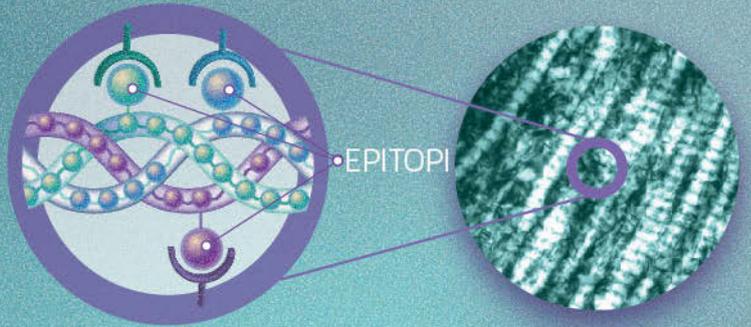
Questo principio di glicobiologia è stato sostenuto dal ricercatore Debasis Bagchi (Creighton University Medical Center,

Nebraska, USA) il quale ne ha confermato la validità anche clinica trattando 42 donne affette da osteoartrosi del ginocchio con collagene nativo di tipo II (non denaturato) **10 mg/die**. Il trattamento ha comportato una riduzione significativa della rigidità mattutina, della rigidità post riposo, del dolore e del range of movement articolare.

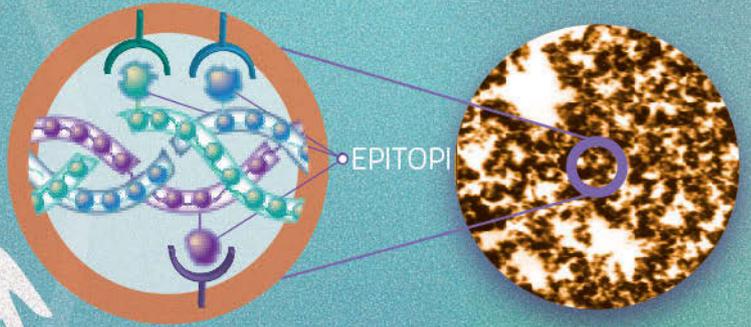
Il miglioramento globale del dolore a 90 giorni risulta significativamente più evidente con 10 mg rispetto al confronto con 1 mg (Deparle 2015).

- **Il collagene nativo di tipo II induce immunotolleranza, riducendo efficacemente il dolore articolare e la tumefazione nell'artrite (Bagchi).**
- **La modulazione della risposta immunitaria verso l'autoantigene del collagene, attraverso la tolleranza orale, è un trattamento efficace e sicuro (Wei 2009)**
- **Il trattamento con collagene nativo di tipo II 10 mg/die riduce efficacemente la sintomatologia artrosica e risulta più efficace rispetto a 1 mg (Deparle 2005).**

Collagene tipo II glicosilato (nativo)



Collagene non glicosilato (denaturato, inattivo)



Questa forma viene degradata, non viene riconosciuta dalle cellule B, non interferisce con i processi autoimmuni

GALT, gut associated lymphoid tissue

Inattivazione cellule T

Inibizione meccanismi autoimmuni condrolesivi

PLACCA DI PEYER

Il tropismo specifico del collagene verso il tessuto cartilagineo

“ *Dimostrato l'assorbimento cartilagineo del collagene marcato dopo 12 ore* ”

L'efficacia della somministrazione orale di collagene sui sintomi e sulla funzionalità articolare non ha soltanto una dimostrazione clinica.

Esiste infatti una vistosa dimostrazione dello **specifico tropismo** del collagene verso la cartilagine articolare: l'ingestione di collagene radiomarcato induce un considerevole aumento della radioattività cartilaginea. L'assorbimento si verifica in modo pressoché completo e in tempi rapidi, circa 12 ore. Inoltre questa radioattività risulta persistente, ammettendo quindi una continuità rilevante dell'effetto terapeutico.

Il riconoscimento del collagene in sede di assorbimento intestinale è legato alla presenza di **epitopi attivi** sul collagene di tipo II: solo in questo modo viene impartito il segnale corretto alle placche di Peyer e prende avvio il condizionamento che protegge la cartilagine dall'autodegenerazione.

Secondo fonti di letteratura, l'ingestione di **10 mg** di collagene al giorno riduce il dolore in

pazienti con artrosi dell'anca e del ginocchio. Contemporaneamente è stato anche osservato un incremento dell'idrossiprolina ematica.

La riduzione del dolore e della tumefazione dopo assunzione orale di collagene è stata dimostrata anche nei pazienti con artrite reumatoide. Infatti il collagene per via orale è efficace sia nell'infiammazione articolare maggiore che in quella continua e di basso grado presente nell'artrosi (Rovetta).

➤ **Studi con collagene radiomarcato evidenziano un considerevole accumulo nei tessuti articolari dopo assunzione orale.**

➤ **L'assorbimento del collagene avviene in tempi rapidi (circa 12 ore) e in misura pressoché completa.**

➤ **L'ingestione di 10 mg di collagene tipo II al giorno riduce il dolore in pazienti con artrosi dell'anca e del ginocchio.**

**Idrolisato
di collagene
marcato**

Intestino tenue

Assorbimento 12 h

Condrocita

**Stimolo sintesi molecole
extracellulari**

Radioattività persistente

**Riduzione
dolore articolare
anca e ginocchio**

10 mg collagene nativo per os

L'impedenzometria cutanea come criterio di valutazione dell'efficacia clinica (da Fujita)

“ *La cute specchio della cartilagine: anche il tessuto condrocitario migliora la sua struttura* ”

Un singolare metodo di valutazione indiretta dell'efficacia terapeutica del collagene è la misurazione dell'**impedenza cutanea**. L'impedenza cutanea è bassa nelle pelli giovani, ben idratate, elastiche e ricche di collagene; aumenta con l'età e l'invecchiamento della pelle. Il passaggio di corrente elettrica – misurato strumentalmente – diminuisce con la perdita di elasticità.

La riduzione dell'impedenza dopo somministrazione di collagene, oltre alla tradizionale misurazione dei sintomi, esprime un effetto fisiologico che agisce non soltanto sul tessuto cartilagineo ma anche sulle caratteristiche chimico-fisiche della pelle.

Si ritiene pertanto che la riduzione dell'impedenza cutanea esprima il corrispondente ripristino del contenuto anatomico della corretta struttura cartilaginea.

La misurazione dell'impedenza cutanea è stata effettuata su 80 pazienti con **osteoartrosi del ginocchio** al tempo zero a riposo, e dopo cinque diverse prove di carico articolare: passaggio in ortostatismo, deambulazione, accovacciamento, salita e discesa delle scale.

Parallelamente il dolore veniva valutato anche con la VAS.

Il collagene in questo studio riduce sensibilmente l'impedenza cutanea rispetto ai soggetti di controllo. Questo corrisponde a un **“eccellente effetto analgesico”**, in evidente parallelismo con la riduzione della VAS.

L'effetto clinico del collagene è stato completato anche dall'aumento della densità ossea rispetto ai controlli (indice di un effetto del collagene sul metabolismo osseo) (Fujita 2002).

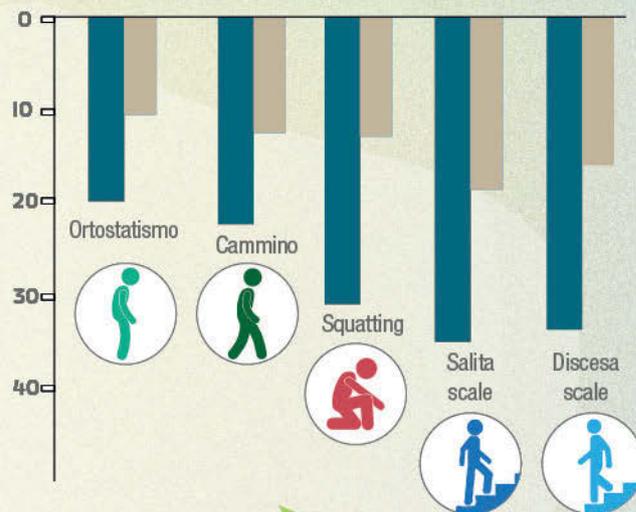
- **L'impedenza cutanea aumenta con l'età e parallelamente con la degradazione cartilaginea a causa della perdita di collagene e altri aminoglicani.**
- **L'impedenza cutanea rappresenta una misurazione indiretta dell'efficacia del collagene somministrato per via orale.**
- **Dopo somministrazione di collagene nativo di tipo II l'impedenza cutanea risulta sensibilmente ridotta rispetto ai controlli.**

Assunzione per bocca di COLLAGENE PER 4 MESI

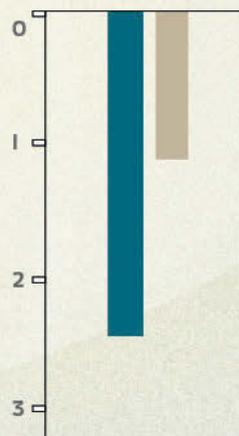
Collagene tipo II glicosilato (nativo)

Prove di carico articolare

% riduzione impedenza cutanea



Riduzione VAS



Placebo
Collagene

Il collagene nativo di tipo II e il beneficio aggiuntivo rispetto a glucosamina+condroitinsolfato

“ *L'effetto disease modifying e il suo corrispettivo sintomatologico* ”

Il collagene nativo di tipo II costituisce una risorsa aggiuntiva determinante al trattamento trofico-conservativo dell'osteoartrosi.

L'associazione **glucosamina più condroitinsolfato** (G+C) è da tempo accreditata nella terapia sintomatica dell'artrosi per l'efficacia clinica.

Parallelamente crescevano le evidenze a favore dell'impiego terapeutico del collagene anche nell'artrite reumatoide.

L'assunzione di collagene nativo di tipo II risulta clinicamente più favorevole rispetto all'associazione G+C, valutata in diversi parametri algofunzionali.

Valutando la terapia a base di glucosamina più condroitinsolfato, rispetto a quella con collagene nativo di tipo II, risulta che la seconda riduce il punteggio **Womac** del 33% (rispetto al 14% dell'associazione G+C). Risultati analoghi sono

emersi anche nel punteggio **VAS dolore** dopo 90 giorni di trattamento: -40% (collagene) rispetto a -15,4% (G+C).

Anche l'indice funzionale di **Lequesne** è migliorato in modo significativo con collagene: -20% rispetto al -6% dell'associazione G+C (Crowley 2009).

- **L'associazione glucosamina+condroitinsolfato è una delle più attuali opzioni accreditate nel trattamento dell'osteoartrosi.**
- **Il collagene ha dimostrato in studi clinici nel modello animale e nell'uomo l'efficacia anche in condizioni avanzate come l'artrite reumatoide.**
- **La somministrazione di collagene nativo tipo II, rispetto all'associazione G+C migliora significativamente l'esito clinico in termini di efficacia sul dolore e sulla funzione.**

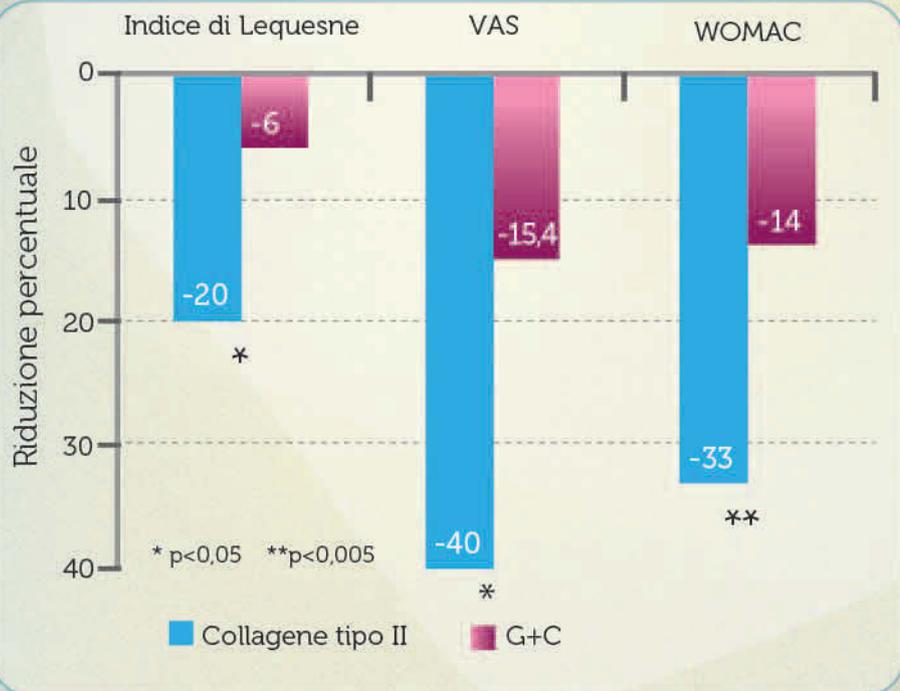
Artrosi del ginocchio



Glucosamina +
condroitinsolfato



Collagene nativo tipo II



WOMAC (Western Ontario and McMaster Universities Osteoarthritis Index) - 24 item

- dolore (5 item): nel cammino, usando le scale, a letto, a riposo, in stazione eretta
- rigidità (2 item): al mattino e a metà giornata
- funzionalità (17 item): uso delle scale, alzarsi da seduto, stazione eretta, deambulazione, salire/scendere dall'auto, fare la spesa, mettere/togliere le calze, alzarsi dal letto, sdraiarsi, entrare/uscire dalla vasca, sedersi/alzarsi sul wc, lavori domestici pesanti, lavori domestici leggeri

Indice di Lequesne

- Indice di gravità dell'osteoartrosi del ginocchio
1. dolore o discomfort
 2. massima distanza percorsa alla deambulazione
 3. attività della vita quotidiana

Evidenza clinica: collagene nativo tipo II superiore a CG e placebo

“ Si riducono le citochine proinfiammatorie e aumenta la sintesi condrocitaria ”

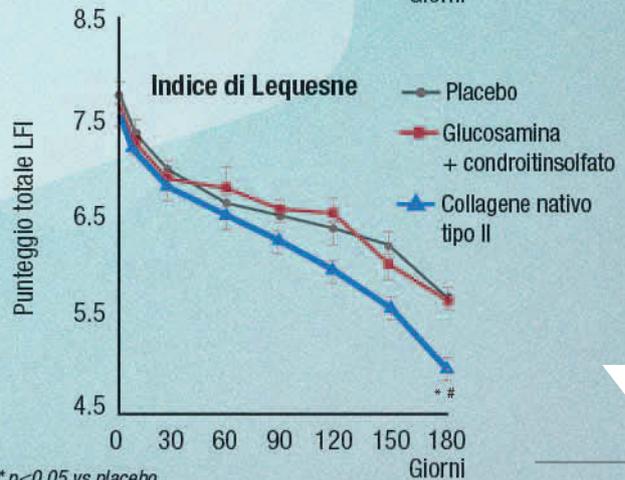
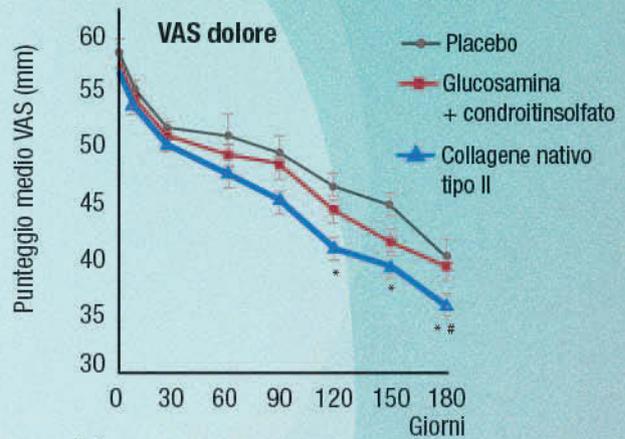
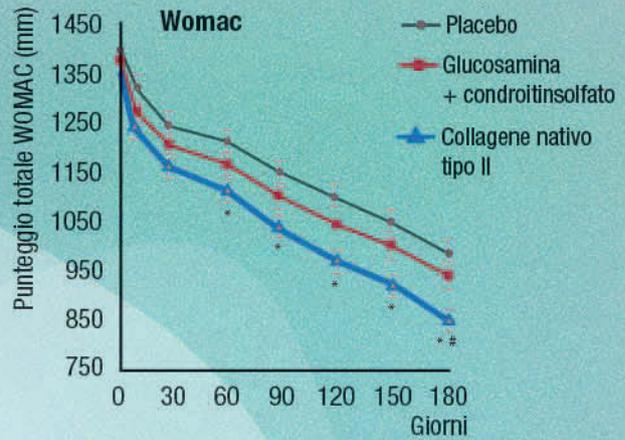
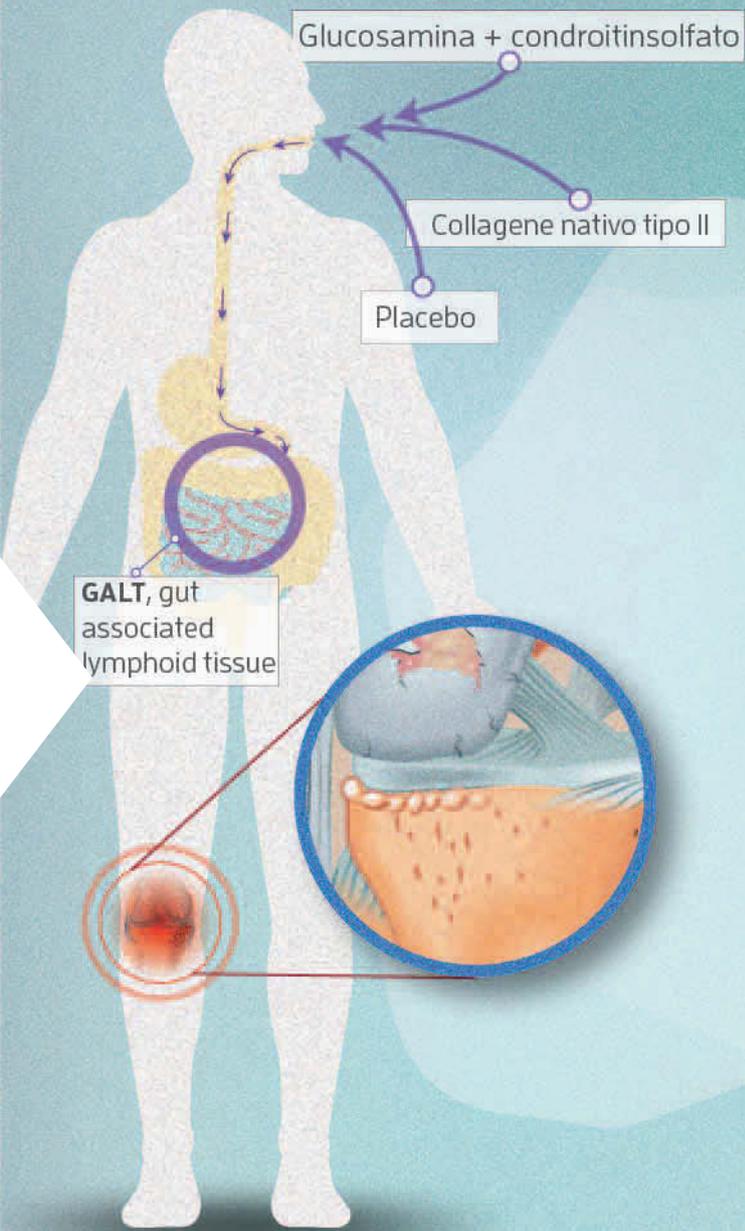
Il collagene nativo di tipo II (non denaturato) assunto per via orale migliora in misura significativa, rispetto a glicosaminoglicani e rispetto a placebo, la funzionalità del ginocchio nelle forme di osteoartrosi da lievi a moderate.

Questa è la conclusione di uno dei più rilevanti studi clinici che hanno posto a confronto l'assunzione orale di glucosamina-condroitinsolfato oppure collagene nativo di tipo II, contro placebo.

Si è trattato di uno studio di notevole importanza anche per il campione (190 soggetti con **osteoartrosi del ginocchio lieve-moderata**) e per la durata (180 giorni) nonché per il rigore della metodologia (punteggio WOMAC totale come endpoint primario; indice funzionale di Lequesne, visual analog scale, sub-scale Womac come endpoint secondari).

Il collagene nativo di tipo II ha ridotto in misura significativa, dopo 180 giorni di trattamento, il dolore (misurato come punteggio Womac e come VAS), nonché l'indice algofunzionale di Lequesne. Anche in questo caso gli autori attribuiscono l'effetto clinico vantaggioso a un **meccanismo immunomediato** attraverso l'inibizione alla migrazione dei linfociti T nelle zone articolari, riducendo così l'azione di citochine infiammatorie e la successiva lesione condrocitaria (Lugo 2016).

- › **Uno studio di confronto fra collagene nativo di tipo II, glicosaminoglicani, placebo.**
- › **Coinvolti nello studio 190 pazienti con artrosi lieve-moderata del ginocchio.**
- › **Significativo miglioramento della sintomatologia articolare nei pazienti con collagene nativo di tipo II.**



* $p < 0,05$ vs placebo,

$p < 0,05$ vs glucosamina + condroitinsolfato

Tolleranza orale: l'ipotesi immunologica del danno infiammatorio e degenerativo articolare

“ Il collagene di tipo II induce una down regulation della risposta immune ”

L'autoimmunità al collagene di tipo II è considerata un fenomeno capace di alimentare l'infiammazione/degenerazione delle cartilagini. Per questo motivo l'assunzione orale di dosi medio-basse di collagene nativo di tipo II induce una **down regulation** della risposta immune al collagene di tipo II.

La tolleranza orale si attua attraverso la soppressione delle cellule T proinfiammatorie e la parallela induzione di cellule T regolatorie. In questo modo il collagene nativo di tipo II assunto per via orale migliora la funzione articolare anche **a lungo termine** (Wei, 2009).

Da notare che questo meccanismo è stato studiato clinicamente anche nell'artrite reumatoide, dove il collagene di tipo II, oltre a essere efficace, risulta anche sicuro su una serie di parametri di laboratorio (emocromo, enzimi epatici, creatinina, acido urico, esame urine).

I corrispettivi clinici di questa osservazione, nell'animale e nell'uomo, sono numerosi.

La combinazione glucosamina-condroitinsolfato (GC) più collagene nativo di tipo II riduce il dolore artrosico del 62% dopo 120 giorni di trattamento (D'Altilio 2007).

Con la stessa combinazione (GC + collagene tipo II) si osserva una riduzione nel sangue dei marcatori di degradazione della cartilagine, segno evidente di un effetto protettivo sul tessuto cartilagineo (Scarpellini, 2008).

- **La tolleranza orale è un fenomeno capace di mantenere le condizioni proinfiammatorie e degenerative.**
- **Il collagene nativo di tipo II non denaturato migliora significativamente la funzione articolare nell'uomo.**
- **Associato a glucosamina più condroitinsolfato, il collagene di tipo II riduce il dolore artrosico e sopprime i marcatori di catabolismo cartilagineo.**



Bibliografia

Adami S, Viapiana O: Nuove prospettive nella patogenesi dell'artrosi. *Reumatismo*, 2001; 53(1):18-25

Bagchi D et al: Effects of orally administered undenatured type II collage against arthritic inflammatory diseases: a mech-anistic exploration. *Int J Clin Pharmacol Res.* 2002;22(3-4):101-10

Crowley DC et al: Safety and efficacy of undenatured type II collagen in the treatment of osteoarthritis of the knee: a clinical trial. *Int J Med Sci.* 2009 Oct 9;6(6):312-21

Deparle LA et l: Efficacy and safety of glycosylated undenatured type-II collagen (UC-II) in therapy of arthritic. *J. Vet. Pharmacol. Therap.* 28, 385–390, 2005

Fujita T et al: The effect of active absorbable algal calcium (AAA Ca) with collagen and other matrix components on back and joint pain and skin impedance. *Journal of Bone and Mineral Metabolism.* September 2002, Volume 20, Issue 5, pp 298–302

Lugo JP et al: Efficacy and tolerability of an undenatured type II collagen supplement in modulating knee osteoarthritis symptoms: a multicenter randomized, double-blind, placebo-controlled study. *Nutrition Journal* (2016) 15:14

Luzzi R, Belcaro G, Hu S, Dugall M, Hosoi M, Ippolito E et al: Beanblock® (standardized dry extract of *Phaseolus vulgaris*) in mildly overweight subjects: a pilot study. *European Review for Medical and Pharmacological Sciences.* 2014; 18: 3120-3125

Rovetta G, Monteforte P, Molfetta G, Balestra V. Chondroitin sulfate in erosive osteoarthritis of the hands. *Int J Tissue React* 2002;24:29–32

Scarpellini M et al: Biomarkers, type II collagen, glucosamine and chondroitin sulfate in osteoarthritis follow-up: the "Magenta osteoarthritis study". *J Orthopaed Traumatol* (2008) 9:81–87

Wei W et al: A multicenter, double-blind, randomized, controlled phase III clinica trial of chicken type II collagen in rheumatoid arthritis. *Arthritis Res Ther.* 2009;11(6):R180

Akkiraju H, Nohe A: Role of Chondrocytes in Cartilage Formation, Progression of Osteoarthritis and Cartilage Regeneration. *J Dev Biol.*2015 December;3(4):177–192

