

LAVORO ORIGINALE

Influenza delle infiltrazioni intra-articolari con acido ialuronico sugli indici clinici e sui livelli di ossido nitrico nell'artrosi temporomandibolare

Influence of intra-articular injections of sodium hyaluronate on clinical features and synovial fluid nitric oxide levels of temporomandibular osteoarthritis

L. Guarda Nardini¹, F. Oliviero², R. Ramonda², G. Ferronato¹

¹Cattedra e Divisione di Chirurgia Maxillo-facciale, Azienda Università di Padova;

²Cattedra e Divisione di Reumatologia, Università di Padova

SUMMARY

Objective: *This study was designed to assess the effect of intra-articular injection of sodium hyaluronate (SH) on clinical findings of temporomandibular osteoarthritis (OA) and on synovial fluid (SF) levels of nitric oxide (NO).*

Methods: *Twenty seven patients (7 men, 20 women, mean (SD) age 53.9 (11.8) years) with OA of the temporomandibular joint were randomly allocated to receive an injection of either SH (2ml, Hyalgan®, Fidia SpA, Abano T., P.M. 500-700.000, 20mg/2ml; once a week for 5 weeks) or a Ringer's lactate solution (once a week for 3 weeks).*

Clinical evaluation was done before each procedure, and at 1 week, 1, 3 and 6 months post-injection. Intensity of temporomandibular joint pain, jaw function, maximal mouth opening and lateral jaw movements were recorded at each visit. NO was measured on SF collected by rinsing the joint with saline 1 ml before the treatment.

Results: *Injection of SH caused significant improvement in the main clinical symptoms until the last follow-up which was carried out 6 months after last injection. Among patients who received SH injection, those who reached a good outcome showed the lowest basal levels of NO.*

Conclusions: *The results of this study showed that intra-articular injections of SH lead to a lasting improvement in the clinical symptoms of temporomandibular OA. Furthermore, our findings suggest that low NO levels in SF are related to a better outcome of temporomandibular OA among patients treated with SH intra-articular injection.*

Reumatismo, 2004; 56(4):272-277

INTRODUZIONE

L'artrosi od osteoartrosi (OA) rappresenta l'artropatia più comune dell'articolazione temporo-mandibolare (ATM) (1). Come per le altre localizzazioni, anche l'OA dell'ATM riconosce una patogenesi multifattoriale, caratterizzata dalla degradazione progressiva della cartilagine articolare e da alterazioni dell'osso subcondrale. A differen-

za di altre articolazioni, le manifestazioni degenerative a carico dell'ATM si riscontrano prevalentemente nel sesso femminile (2). La sintomatologia è frequentemente caratterizzata da dolorabilità alla palpazione, rumori articolari, in particolare crepitii, riduzione della motilità mandibolare e dolore nell'esecuzione dei normali movimenti.

La terapia dell'OA dell'ATM è tutt'oggi controversa soprattutto quando la gravità della malattia non è tale da giustificare interventi aggressivi. Fra le terapie locali più efficaci, soprattutto quando vi è un interessamento monoarticolare, vi sono le infiltrazioni intra-articolari. I farmaci più comunemente utilizzati a tale scopo sono i cortisonici che, tuttavia, non sempre sono efficaci e, secondo alcuni (3), possono essere condrolesivi nel tempo. La

Indirizzo per la corrispondenza:

Dott. Luca Guarda Nardini
Cattedra e Divisione di Chirurgia Maxillo-facciale
Azienda Università di Padova
Via Giustiniani 2, 35128 Padova
E-mail: luca.guarda@unipd.it

terapia intra-articolare con acido ialuronico (AI) ha suscitato negli ultimi anni notevole interesse nell'OA del ginocchio (4). L'AI, che rappresenta il principale componente del liquido sinoviale (LS), possiede un ruolo importante nell'omeostasi articolare, sia per le importanti proprietà visco-elastiche che conferisce al LS, sia per il suo effetto analgesico ed antinfiammatorio (5-7). L'AI, infatti, è in grado di ridurre la produzione di sostanze pro-infiammatorie (8) e la permeabilità vascolare (9), di inibire la migrazione di cellule infiammatorie e di proteggere dal danno cellulare mediato dai radicali liberi (10). Nel LS di pazienti affetti da patologie articolari degenerative vi è una diminuzione della concentrazione e del peso molecolare dell'AI che porta ad una ridotta viscosità del liquido stesso (11). È stato ipotizzato che questa diminuzione possa essere dovuta alla ridotta espressione della ialuronato sintetasi-1 e 2 nella membrana sinoviale di pazienti con OA e artrite reumatoide, insieme all'aumento dell'espressione della ialuronidasi-2, enzimi coinvolti nella regolazione del volume totale dell'AI (12).

Recentemente l'utilizzo dell'AI è stato proposto per il trattamento delle affezioni di sedi articolari diverse dal ginocchio, tra queste l'ATM. Nonostante non vi sia un generale accordo sull'utilità di questa terapia per le patologie dell'ATM, diversi studi hanno dimostrato l'efficacia dell'AI nel miglioramento di sintomi e parametri clinici nei disturbi di questa articolazione, in particolare del dislocamento del disco (13). Pochi autori hanno invece valutato l'effetto dell'AI nell'OA temporomandibolare (14).

Abbiamo pertanto deciso di indagare l'effetto delle iniezioni di AI sui principali sintomi ed indici clinici di pazienti affetti da OA temporo-mandibolare. È stata inoltre valutata l'efficacia del trattamento nella riduzione della componente infiammatoria nel LS di lavaggio raccolto durante le artrocentesi. In particolare sono stati ricercati i nitriti quali metaboliti stabili dell'ossido nitrico (ON), sostanza associata alla presenza di mediatori flogistici (15), ad un'aumentata attività di enzimi proteolitici e alla depolimerizzazione delle macromolecole della matrice cartilaginea (16).

PAZIENTI E METODI

27 pazienti affetti da OA dell'ATM (7 maschi e 20 femmine; età media 53,9±14,6) sono stati randomizzati a ricevere un ciclo di 5 infiltrazioni di AI

(2 ml, Hyalgan®, Fidia SpA, Abano T., P.M. 500-700.000, 20mg/2ml) (19 pazienti, gruppo A) o un ciclo di 3 lavaggi con Ringer lattato (8 pazienti, gruppo B) a cadenza settimanale.

La diagnosi di OA dell'ATM è stata effettuata mediante esame clinico e risonanza magnetica nucleare come descritto da Emshoff e coll. (17). Le modificazioni artrosiche rilevate erano: appiattimento del condilo, sclerosi subcondrale, superfici irregolari, erosioni del condilo o presenza di deformità condilari con lesioni osteofitiche. I criteri di inclusione sono stati: presenza di dolore unilaterale o bilaterale alla ATM specie durante la palpazione articolare, rumori articolari e limitazione dei movimenti mandibolari. Prima del trattamento i pazienti sono stati sottoposti a sedazione cosciente mediante somministrazione di clordimetildiazepam (1mg) per via orale e di diazepam (2 mg) per via endovenosa. L'infiltrazione ed il lavaggio articolare sono stati eseguiti nello spazio articolare superiore dopo anestesia sottocutanea in regione preauricolare e previo individuazione della linea canto laterale-trago secondo la metodica proposta da Holmlund (18). Prima di ogni trattamento il quadro clinico del paziente è stato valutato in base ai seguenti parametri: dolore a riposo, dolore alla masticazione, dolore alla fonazione, capacità masticatoria, rilevati in scala VAS 0-10; limitazione funzionale dell'articolazione alle normali attività di fonazione e masticazione, rilevata secondo un punteggio da 0 a 4 (0=assente, 4=grave); giudizio di efficacia del trattamento e giudizio di tollerabilità al trattamento valutati dal paziente tramite un punteggio da 0 a 4 (0=scarso, 4=ottimo). Oltre a questi indici veniva valutata l'apertura spontanea e forzata della bocca, misurando con un calibro la distanza tra il margine incisale degli incisivi superiori e di quello degli incisivi inferiori, ed i movimenti di lateralità, misurando l'entità dello spostamento della mandibola rispetto alla linea mediana superiore. Il follow up dei pazienti prevedeva la rivalutazione di tutte le misurazioni ad una settimana, ad un mese, a tre mesi e a sei mesi dall'ultima infiltrazione o lavaggio. I pazienti di entrambi i gruppi sono stati poi suddivisi in migliorati, stazionari e peggiorati, sulla base dell'evoluzione del quadro clinico a 6 mesi dall'inizio della terapia. Si sono considerati migliorati i pazienti che presentavano un miglioramento di almeno cinque parametri, peggiorati quelli che presentavano un peggioramento di almeno cinque parametri, stazionari gli altri. Per ottenere il LS 1 ml di soluzione fisiologica è stato iniettato nella cavità articolare. La soluzione è sta-

Tabella 1 - Evoluzione dei parametri clinici del gruppo dei pazienti trattati con acido ialuronico.

	Trattamento					Follow-Up			
	BASALE	I settimana	II settimana	III settimana	IV settimana	1 settimana	1 mese	3 mesi	6 mesi
DAR	4,63±2,93	3,00±3,14*	2,88±2,87*	3,11±2,56*	3,11±3,03	2,89±2,38*	2,63±2,39*	2,53±2,80*	3,21±3,39
DAM	4,68±2,82	4,58±2,71	4,00±3,13	4,05±2,76	4,05±2,57	3,11±2,77*	3,00±3,02*	3,21±3,03*	3,05±3,39**
DAF	3,32±3,48	3,57±2,91	2,84±2,99	2,57±2,95	2,79±2,97	2,05±2,46	2,16±2,54	2,42±2,78	3,05±3,69
CM	6,26±2,02	5,84±2,57	6,00±2,51	6,32±2,38	6,57±2,43	6,84±2,24	7,42±2,04**	7,21±2,44**	7,11±2,81*
LF	2,16±0,76	1,95±0,91	2,00±1,05	1,74±0,73*	1,79±0,85	1,47±0,77**	1,53±0,84**	1,47±0,96**	1,47±1,17*
AS	34,26±11,9	34,40±10,60	36,10±8,03	37,20±7,17	36,30±7,31	39,42±5,18	39,47±5,35	38,47±6,79	38,58±6,53
GE	-	1,05±1,08	1,32±1,16	1,89±1,10**	2,00±1,00**	2,37±1,21**	2,32±1,11**	2,32±1,06**	2,32±1,20**

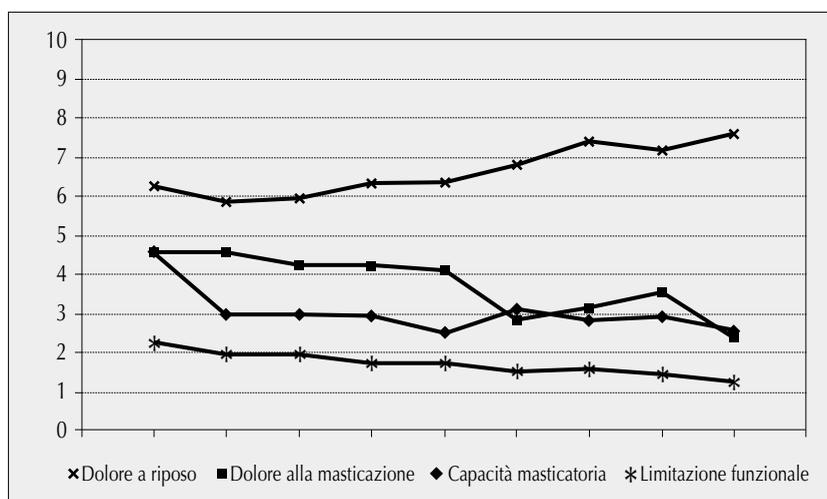
*p<0,05, **p<0,01 vs basale. Analisi della varianza per misure ripetute e test post hoc di Dunnett.
DAR: dolore a riposo, DAM: dolore alla masticazione, DAF: dolore alla fonazione, CM: capacità masticatoria, LF: limitazione funzionale, AS: apertura spontanea della bocca, GE: giudizio di efficacia

ta quindi aspirata e reiniettata ripetutamente (5 volte). La quantità media di LS diluito così recuperato è stata di 0,80 ml (range 0,4-1 ml). I campioni sono stati quindi centrifugati per rimuovere le cellule e immediatamente conservati a -20°C. I livelli di ON sono stati determinati mediante la reazione colorimetrica di Griess (19) prima del trattamento (basale), dopo la prima e la seconda infiltrazione o lavaggio.

Alla raccolta del LS faceva seguito un lavaggio con 20 ml di Ringer lattato cui seguiva, solo per il gruppo A, l'iniezione di 1 ml di AI. Per l'analisi statistica è stato utilizzato il test della varianza per misure ripetute per valutare l'effetto del trattamento sui vari indici clinici nel tempo. Il test di Mann-Whitney è stato usato per il confronto dei livelli di ON nei 2 gruppi, mentre il test di Spearman per l'analisi delle correlazioni.

RISULTATI

Dopo il ciclo completo di trattamento (5 settimane) i pazienti del gruppo A hanno presentato un miglioramento significativo nella maggior parte degli indici clinici considerati, in particolare per quanto riguarda il dolore alla masticazione ($p<0,05$), la capacità masticatoria ($p<0,01$), la limitazione funzionale ($p<0,01$) e il dolore a riposo ($p<0,05$) (Tab. I, Fig. 1). Quest'ultimo è risultato significativamente ridotto già dopo la prima infiltrazione con AI ($p<0,05$) mentre per gli altri parametri la significatività è stata evidenziata a partire dalla settimana successiva all'ultima infiltrazione. Nel gruppo B nessun indice clinico ha mostrato un miglioramento significativo. L'efficacia della terapia espressa dai pazienti del gruppo A è aumentata

Figura 1 - Miglioramento dei principali indici clinici nel gruppo dei pazienti trattati con acido ialuronico

dopo la prima infiltrazione e si è mantenuta anche ai controlli successivi, beneficio che il gruppo dei controlli non ha manifestato. Il miglioramento degli indici nel gruppo A, persisteva al controllo dei 6 mesi.

Per quanto riguarda il dosaggio dell'ON non è stata evidenziata alcuna differenza significativa tra i due gruppi né al basale, né dopo il primo ed il secondo trattamento. Tuttavia, nel gruppo A, i livelli basali di ON nei pazienti migliorati ($2,44 \pm 1,10 \mu\text{M}$) si sono dimostrati più bassi rispetto a quelli dei pazienti stazionari ($5,21 \pm 3,99 \mu\text{M}$) ($p < 0,05$) (Tab. II). La correlazione fra la concentrazione basale dell'ON ed i parametri clinici basali e a 6 mesi sono risultate statisticamente significative ($r = 0,602$; $p < 0,01$) solo per il "dolore articolare a riposo" (DAR) del gruppo A (Fig. 2), evidenziando come concentrazioni di ON maggiori corrispondano a dolore più elevato. Nel gruppo B non sono state riscontrate correlazioni significative tra i livelli di ON e gli indici clinici.

Tabella II - Confronto tra le concentrazioni basali medie di ON per classe di evoluzione nel gruppo dei pazienti trattati con acido ialuronico.

Classi di evoluzione	ON (μM) Gruppo A	ON (μM) Gruppo B
MIGLIORATI	$2,44 \pm 1,10^*$	$8,44 \pm 7,50$
STAZIONARI	$5,21 \pm 3,99$	$1,36 \pm 1,03$

* $p < 0,05$ vs stazionari (Mann-Whitney test)

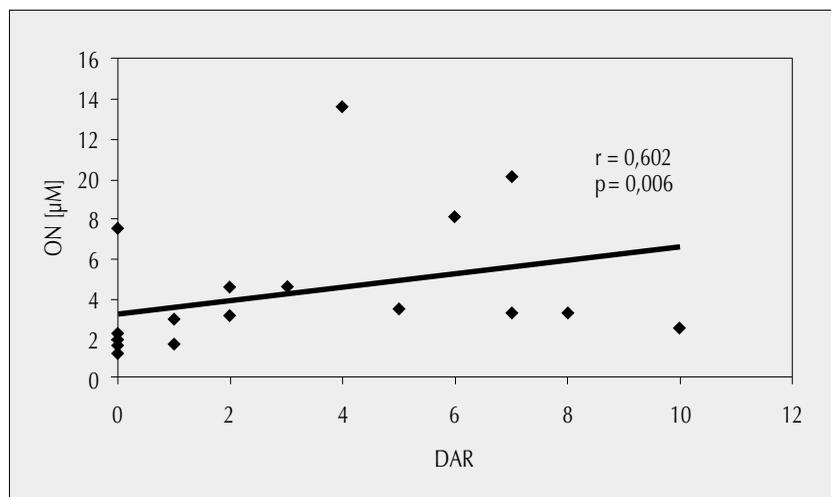


Figura 2 - Correlazione tra ossido nitrico (ON) basale e dolore a riposo (DAR) a 6 mesi nel gruppo dei pazienti trattati con acido ialuronico.

DISCUSSIONE

Lo scopo principale del nostro studio è stato quello di osservare gli effetti delle infiltrazioni intra-articolari di AI nell'OA dell'ATM. Per una più completa valutazione ci siamo serviti di numerosi indici clinici e di una sostanza bio-umorale di particolare rilievo per la flogosi articolare quale l'ON. Obiettivo secondario era l'osservazione di eventuali rapporti fra l'ON e gli indici clinici. I risultati del nostro studio dimostrano un'efficacia delle infiltrazioni di AI sulla maggior parte degli indici clinici da noi scelti. In particolare nel gruppo trattato con AI, ma non nel gruppo di controllo, c'è stata una riduzione significativa del dolore alla masticazione dopo una settimana dal termine del ciclo di infiltrazioni e della capacità masticatoria dopo un mese dal termine delle infiltrazioni. Invece molto più rapidi sono stati gli effetti sulla limitazione funzionale, osservabili già alla terza infiltrazione e, in generale, sull'efficacia espressa dal paziente. È molto interessante la constatazione che la maggior parte degli indici migliorati conservano questo miglioramento al controllo a sei mesi. Ciò è infatti stato osservato per il dolore alla masticazione, per la capacità masticatoria, per la limitazione funzionale e, più in generale, per l'efficacia media. Questo tipo di risposta prolungata nel tempo è già stata riscontrata in altri studi con AI e riflette probabilmente la capacità di tutte le sostanze terapeutiche che potenzialmente possono agire sulla struttura, farmaci cosiddetti "structure modifying drugs" o detti anche condroprotettori o, ancora, "slow-acting-drugs in osteoarthritis", in virtù della loro dimostrata azione sintomatica lenta ma

perdurante nel tempo, con un effetto cosiddetto "coda" (20). La natura di quest'effetto potrebbe essere messa in rapporto con modificazioni strutturali che ovviamente, a livello della cartilagine artrosica, caratterizzata da un metabolismo molto lento, sembrano giustificate. Però, l'effetto più rapido osservato in alcuni pazienti, potrebbe essere messo in relazione con l'influenza sull'infiammazione e sul dolore che l'AI potrebbe esercitare. Infatti in alcuni studi è stato dimostrato che l'AI può ridurre i livelli sinoviali di alcune sostanze coinvolte nell'infiammazione articolare, quali le prostaglandine e le metalloproteasi (21, 22). Per quanto riguarda la ricerca di alcuni markers bioumorali specifici per la previsione dell'evoluzione e la valutazione dell'attività della malattia per un corretto approccio terapeutico si è indagato il dosaggio di ON; tale dosaggio è il parametro che più riflette l'attività infiammatoria. Anche se per quanto concerne l'OA nessun marker fra quelli finora proposti può essere ritenuto affidabile in assoluto, in quanto numerose variabili possono influenzarne il dosaggio nel siero (23).

L'ON è una sostanza di recente definizione che si ritiene svolga un ruolo centrale nella patogenesi delle artropatie fra cui anche quelle degenerative come l'OA (24). Abbiamo pertanto pensato che poteva essere utile indagare sull'eventuale valore predittivo di questa sostanza circa il tipo di evoluzione dell'OA dell'ATM. Abbiamo privilegiato la determinazione nel LS, un liquido biologico che si presta ottimamente a riflettere quanto accade nei tessuti articolari principali, quali la cartilagine o la membrana sinoviale. In effetti i risultati del nostro studio sono stati in questo senso confortanti perché

dimostrano da un lato che alla valutazione basale i soggetti che presentavano livelli più elevati di ON avevano un andamento a 6 mesi peggiore rispetto a quelli che avevano in basale livelli di ON più bassi. Non è possibile alla luce delle conoscenze attuali stabilire con esattezza i motivi di questa aumentata produzione di ON nei soggetti che avranno evoluzione peggiore. Una delle interpretazioni possibili è che questi alti livelli siano determinati da una condizione di flogosi locale che viene ritenuta attualmente uno dei fattori di rischio più importanti dell'artrosi. In accordo con questo tipo di interpretazione potrebbe assumere importanza la correlazione riscontrata a 6 mesi fra i livelli di ON basali e un test clinico particolare quale il DAR che probabilmente più riflette l'attività infiammatoria. D'altro canto questa correlazione rivaluta a sua volta il significato di questo indice clinico che va quindi attentamente analizzato nella valutazione dell'attività di malattia. Pertanto si può ipotizzare che per pazienti che in basale abbiano più alti livelli di ON sia necessario un intervento terapeutico più energico.

In conclusione il nostro studio dimostra un'efficacia dell'AI intra-articolare nelle artropatie temporomandibolari che perdura nel tempo. Questo effetto terapeutico non è riscontrato nel gruppo di controllo, così escludendo la possibilità che tali effetti siano attribuibili al placebo. Il dosaggio dell'ON non ci permette di valutare adeguatamente l'efficacia osservabile clinicamente. Pertanto si può ipotizzare che per pazienti che in basale abbiano più alti livelli di ON sia necessario un intervento terapeutico più energico.

Probabilmente una valutazione più fedele del com-

RIASSUNTO

In questo studio è stata valutata l'efficacia delle infiltrazioni intra-articolari di acido ialuronico (AI) nel trattamento di pazienti affetti da osteoartrosi (OA) dell'articolazione temporomandibolare. 27 soggetti sono stati randomizzati a ricevere un ciclo di 5 infiltrazioni di AI (PM 500-700.000) o un ciclo di 3 lavaggi con Ringer lattato a cadenza settimanale. Prima di ciascun trattamento sono stati valutati il dolore, la capacità masticatoria e la funzionalità articolare. Il liquido sinoviale ottenuto dal lavaggio dello spazio articolare è stato utilizzato per dosare l'ossido nitrico (ON), sostanza pro-flogogena coinvolta nella degradazione dell'AI.

I pazienti trattati con AI hanno presentato, rispetto al gruppo di controllo, un miglioramento significativo della maggior parte dei parametri clinici considerati, miglioramento che è persistito al controllo dei 6 mesi. Nel gruppo dei pazienti trattati con AI, i livelli basali di ON nei pazienti migliorati si sono dimostrati più bassi rispetto a quelli dei pazienti stazionari. Il nostro studio ha dimostrato che l'efficacia dell'AI intra-articolare nell'OA temporomandibolare persiste per almeno 6 mesi dal termine del trattamento. Inoltre, ha evidenziato il possibile valore predittivo dell'ON nei confronti della risposta terapeutica alla terapia intra-articolare con AI.

Parole chiave - Articolazione temporomandibolare, acido ialuronico, osteoartrosi, ossido nitrico.

Key words - Temporomandibular joint, hyaluronic acid, osteoarthritis, nitric oxide.

portamento di questo indice potrebbe avvenire con osservazioni più a lungo termine, come è stato dimostrato in passato per l'interleuchina-1 β . Riteniamo che, dato il rilievo che questo tipo di terapia sta dimostrando in maniera crescente, approfondimenti di questo tipo siano auspicabili.

BIBLIOGRAFIA

- Hansson TL. Pathological aspects of arthritides and derangements. In: Sarnat, Laskin. The temporomandibular joint. A biological basis for clinical practice. Saunders, 1992.
- Keith DA. Malattie degenerative dell'articolazione temporomandibolare. In: Keith DA. Chirurgia dell'articolazione temporomandibolare. Salerno, Momento Medico ed, 1991.
- Adams ME, Atkinson MH, Lussier AJ, Schulz JI, Siminovitch KA, Wade JP, et al. The role of viscosupplementation with hylan G-F-20 (Synvisc) in the treatment of osteoarthritis of the knee: a Canadian multicentric trial comparino hylan G-F-20 alone, hylan G-F-20 with non-steroidal-antiinflammatory drugs (NSAIDs) and NSAIDs alone. *Osteoarthritis Cartilage* 1995; 3: 213-25.
- Altman R. Status of hyaluronan supplementation therapy in osteoarthritis. *Curr Rheumatol Rep* 2003; 5: 7-14.
- Punzi L. The complexity of the mechanisms of action of hyaluronan in joint diseases. *Clin Exp Rheumatol* 2001; 19: 242-6.
- Kawai N, Tanaka E, Takata T, Miyauchi M, Tanaka M, Todoh M, et al. Influence of additive hyaluronic acid on the lubricating ability in the temporomandibular joint. *J Biomed Mater Res* 2004; 70A: 149-53.
- Balazs EA. Analgesic effect of elastoviscous hyaluronan solutions and the treatment of arthritic pain. *Cells Tissues Organs* 2003; 174: 49-62.
- Yasui Y, Akatsuka M, Tobetto K, Hayaishi M, Ando T. The effect of hyaluronan on interleukin-1 alpha-induced prostaglandin E2 production in human osteoarthritic synovial cells. *Agents Actions* 1992; 37: 155-6.
- Sabaratham S, Coleman PJ, Badrick E, Mason RM, Levick JR. Interactive effect of chondroitin sulphate C and hyaluronan on fluid movement across rabbit synovium. *J Physiol* 2002; 540: 271-84.
- Campo GM, Avenoso A, Campo S, D'Ascola A, Ferlazzo AM, Calatroni A. Reduction of DNA fragmentation and hydroxyl radical production by hyaluronic acid and chondroitin-4-sulphate in iron plus ascorbate-induced oxidative stress in fibroblast cultures. *Free Radic Res* 2004; 38: 601-11.
- Takahashi T, Tominaga K, Takano H, Ariyoshi W, Habu M, Fukuda J, et al. A decrease in the molecular weight of hyaluronic acid in synovial fluid from patients with temporomandibular disorders. *J Oral Pathol Med* 2004; 33: 224-9.
- Yoshida M, Sai S, Marumo K, Tanaka T, Itano N, Kimata K, et al. Expression analysis of three isoforms of hyaluronan synthase and hyaluronidase in the synovium of knees in osteoarthritis and rheumatoid arthritis by quantitative real-time reverse transcriptase polymerase chain reaction. *Arthritis Res Ther* 2004; 6: R514-20
- Sato S, Goto S, Kasahara T, Kawamura H, Motegi K. Effect of pumping with injection of sodium hyaluronate and the other factors related to outcome in patients with non-reducing disk displacement of the temporomandibular joint. *Int. J. Oral Maxillofac Surg* 2001; 30: 194-8.
- Bertolami CN, Gay T, Clark GT, Rendell J, Shetty V, Liu C, et al. Use of sodium hyaluronate in treating temporomandibular joint disorders: a randomised double blind placebo-controlled double clinical trial. *J Oral Maxillofac Surg* 1993; 51: 232-42.
- Farrell AJ, Blake DR, Palmer RM, Moncada S. Increased concentrations of nitrite in synovial fluid and serum samples suggest increased nitric oxide synthesis in rheumatic diseases. *Ann Rheum Dis* 1992; 51: 1219-22.
- Vilar RE, Ghael D, Li M, Bhagat DD, Arrigo LM, Cowman MK, et al. Nitric oxide degradation of heparin and heparan sulphate. *Biochem J* 1997; 324: 473-9.
- Emshoff R, Innerhofer K, Rudisch A, Bertram S. The biological concept of "internal derangement and osteoarthrosis": a diagnostic approach in patients with temporomandibular Joint pain? *Oral Surg, Oral Med, Oral Pathol Radiol Endod* 2002; 93: 39-44.
- Holmund A. TMJ arthroscopy. In: *Arthroscopic surgery*. Ed. Parisien. Mc Graw-Hill Book Company, 1988.
- Green LC, Wagner DA, Glogowski J, Skipper PL, Wishnok JS, Tannenbaum SR. Analysis of nitrate, nitrite, and [15N]nitrate in biological fluids. *Anal Biochem* 1982; 126: 131-8.
- Huskisson EC, Donnelly S. Hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis of the knee. *Reumatology (Oxford)* 1999; 38: 602-7.
- Punzi L, Pianon M, Salvati GP, Bertazzolo N, Pozzuoli A, Oliviero F. Influence of intra-articular sodium hyaluronate on synovial fluid levels of metalloproteinases in osteoarthritis of the knee. *Ann Rheum Dis* 2000; 59: 141.
- Hirota W. Intra-articular injection of hyaluronic acid reduces total amounts of leukotriene C4, 6-keto-prostaglandin F1alpha, prostaglandin F2alpha and interleukin-1beta in synovial fluid of patients with internal derangement in disorders of the temporomandibular joint. *Br J Oral Maxillofac Surg* 1998; 36: 35-8.
- Punzi L, Oliviero F, Ramonda R, Sfriso P, Todesco S. Laboratory findings in osteoarthritis. *Semin Arthritis Rheum* in press.
- Pelletier JP, Haraoui B, Fernandes JC. New and future therapies for Osteoarthritis. In: Reginster JY, Pelletier JP, Martel-Pelletier J, Heurotin Y. *Osteoarthritis. Clinical and Experimental Aspects*. Springer Ed., 1999.