

NEW DRUGS

Hyalgan[®] in the Treatment of Osteoarthritis of the Knee

Supanimit Teekachunhatean, Chaichan Sangdee

Department of Pharmacology, Faculty of Medicine, Chiang Mai University, Chiang Mai 50200, Thailand

ABSTRACT

HA is a natural biopolymer made up of repeating sequences of disaccharides (glucuronic acid and N-acetylglucosamine). In patients with osteoarthritis (OA) synovial fluid HA becomes depolymerized, resulting in a decrease in molecular weight and elastoviscosity and increasing susceptibility of cartilage to injury. Intra-articular (IA) injections of HA lead to restoration of elastoviscosity of the synovial fluid. Moreover, these HA preparations are also believed to exert their therapeutic effects in OA via anti-inflammatory and anti-nociceptive effects, normalization of HA synthesis, and chondroprotection. Hyalgan[®] (Fidia S.p.A., Italy) is a viscous solution of highly purified HA of well-defined molecular weight (500-730 kD) extracted from rooster combs. In several clinical studies, 3 to 5 weekly IA injections of Hyalgan[®] in patients with OA of the knee are superior to placebo and generally well tolerated with sustained improvement of pain and functional status. It has also demonstrated that 5 weekly IA injections of Hyalgan[®] are at least as effective as continuous treatment with naproxen for 26 weeks. IA injections of either Hyalgan[®] or methylprednisolone acetate modify a number of structural variables of synovial membrane and cartilage of the osteoarthritic human knee towards the appearance of those obtained from normal subjects. These provide evidence that Hyalgan[®] might possess potential structure-modifying activity. Local reactions such as pain, swelling, effusion, warmth or redness at the injection site have been reported. Usually such symptoms are minor, transient and disappear spontaneously within a few days. Hyalgan[®] should therefore be considered in patients with OA of the knee who present a history of NSAIDs intolerance or lack of efficacy, or in patients with a relative contraindication to use of the NSAIDs, such as the elderly, or patients with a history of or currently active peptic ulcer disease.

Key words : hyaluronan, Hyalgan[®], osteoarthritis of the knee

บทนำ

ก่อนหน้านี้การใช้ยารักษาโรคข้อเข่าเสื่อม (osteoarthritis of knee) มีจุดประสงค์เพื่อบรรเทาอาการปวด และลดความทุพพลภาพโดยใช้ยาบรรเทาอาการ (symptom modifying drugs) ที่ออกฤทธิ์เร็ว ซึ่งได้แก่ ยาแก้ปวด (analgesics) ยาต้านอักเสบที่ไม่ใช่สเตียรอยด์ (nonsteroidal anti-inflammatory drugs, NSAIDs) และยาสเตียรอยด์ชนิดฉีดเข้าข้อ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันได้มีการพัฒนายารักษาโรคข้อเสื่อมอีกอย่างน้อย 2 กลุ่ม ซึ่งได้แก่

1. ยาบรรเทาอาการข้อเสื่อมที่ออกฤทธิ์ช้า (symptomatic slow acting drugs in osteoarthritis, SYSADOA¹) เป็นยาที่ออกฤทธิ์ช้าแต่มีประสิทธิผลดีในระยะยาว และสามารถลดความต้องการหรือหลีกเลี่ยงการรักษาโดยวิธีอื่น เช่น NSAIDs หรือยาสเตียรอยด์ชนิดฉีดเข้าข้อ เป็นต้น

2. ยาที่มีผลเปลี่ยนแปลงการดำเนินโรคของข้อเสื่อม (disease modifying osteoarthritis drugs, DMOAD¹) หรืออาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า ยาที่มีผลปกป้องกระดูกอ่อน (chondroprotective drugs) เป็นยาที่มีผลเพิ่มการซ่อมแซม และ/หรือ ชะลอการทำลายกระดูกอ่อนภายในข้อที่เสื่อม

การศึกษาทั้งในสัตว์ทดลองและในทางคลินิกล้วนสนับสนุนว่า hyaluronan หรือ hyaluronic acid (HA) น่าจะจัดเป็นยาประเภท SYSADOA^{1,2} ซึ่ง HA ที่ใช้รักษาโรคข้อเสื่อมในปัจจุบันมีหลายชนิด³ เช่น Hyalgan[®] (น้ำหนักรโมเลกุล 5-7.3 แสนดาลตัน), Artz[®] (น้ำหนักรโมเลกุล 6 แสน-

1.2 ล้านดาลตัน), Synvisc[®] (น้ำหนักรโมเลกุล 7 ล้านดาลตันและมีส่วนประกอบที่เป็นเจล) เป็นต้น อย่างไรก็ตาม บทความนี้มีจุดประสงค์ที่จะรวมรวมการศึกษาที่เกี่ยวข้องกับกลไกการออกฤทธิ์ของ HA และการศึกษาทางคลินิกที่น่าสนใจเกี่ยวกับการใช้ Hyalgan[®] รักษาโรคข้อเข่าเสื่อมเท่านั้น

กลไกการออกฤทธิ์ของ hyaluronan ในการรักษาโรคข้อเสื่อม

HA เป็นสารมโเลกุลที่เกิดจากน้ำตาลโมเลกุลคู่ (N-acetyl glucosamine และ glucuronic acid) ประมาณ 12,500 คู่ เรียงตัวซ้ำๆ และต่อกันเป็นสาย polysaccharide มีน้ำหนักรโมเลกุลประมาณ 4-5 ล้านดาลตัน HA ในน้ำไขข้อมีความเข้มข้นสูงถึง 2.5-4.0 mg/ml^{3,4} ซึ่งสังเคราะห์จาก synovocytes ของ synovial tissue ในขณะที่ข้อเคลื่อนไหวย่างช้าๆและไม่รุนแรง HA จะทำให้น้ำไขข้อมีคุณสมบัติหนืด (viscous) เพื่อหล่อลื่นข้อ แต่เมื่อข้อเคลื่อนไหวเร็วและรุนแรง HA จะทำให้น้ำไขข้อมีคุณสมบัติยืดหยุ่น (elastic) เพื่อดูดซับแรงที่กระทำต่อข้อ ดังนั้น HA ในน้ำไขข้อจึงเป็นองค์ประกอบสำคัญที่ทำให้น้ำไขข้อมีทั้งคุณสมบัติยืดหยุ่นและหนืด (elastoviscosity)⁴

จากการศึกษาพบว่า น้ำไขข้อจากข้อที่เสื่อม (osteoarthritic joints)⁴⁻⁶ มีความเข้มข้นของ HA ลดลงเหลือ 1-3 mg/ml และน้ำหนักรโมเลกุลลดลงเหลือ 1-4 ล้านดาลตัน ทำให้น้ำไขข้อมี elastoviscosity ลดลงจึงเกื้อหนุนให้เกิดความเสียหายต่อผิวกระดูกอ่อนและ synovial tissue มากขึ้น ดังนั้นการฉีด HA เข้าข้อที่เสื่อมเพื่อปรับ

elastoviscosity ของน้ำไขข้อ จึงทำให้น้ำไขข้อสามารถหล่อลื่นและดูดซับแรงที่กระทำต่อข้อเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ลดอาการปวดข้อและทำให้ข้อเคลื่อนไหวได้ดีขึ้น⁷ อย่างไรก็ตาม ปัจจุบันเชื่อว่า HA สามารถบรรเทาอาการของโรคข้อเสื่อมโดยอาศัยกลไกต่างๆ ที่นอกเหนือจากการปรับ elastoviscosity ซึ่งพอสรุปได้ดังนี้

1. จากการศึกษาในเซลล์เพาะเลี้ยงพบว่า HA มีฤทธิ์ด้านการอักเสบโดยมีผลยับยั้ง phagocytosis⁸⁻¹⁰, cell migration^{8,10,12}, การกระตุ้น lymphocyte^{12,13} และการหลั่ง prostaglandin¹⁴ กลไกเหล่านี้เป็นกลไกทางกายภาพและเคมี (physicochemical mechanism) ที่ไม่จำเพาะและไม่เกี่ยวข้องกับกลไกทางเภสัชวิทยา^{8,15,16}

2. HA มีฤทธิ์ระงับปวดซึ่งเป็นผลทางอ้อมจากฤทธิ์ด้านอักเสบ นอกจากนี้ ยังสามารถลดความเข้มข้นของ pain mediators (เช่น bradykinin และ prostaglandin E₂) ในน้ำไขข้อของข้อที่ถูกเหนี่ยวนำให้อักเสบ¹⁷ และสามารถกักเก็บ (entrap) สารเคมีที่เกี่ยวข้องกับความปวด (pain substances) ไว้ในโมเลกุลของ HA เอง¹⁸ รวมถึงสามารถเคลือบพื้นที่ผิวภายในข้อ ทำให้ตัวรับรู้สีกเจ็บ (pain receptors) ถูกกระตุ้นได้ยากขึ้น¹⁹⁻²⁰

3. จากการศึกษาในหลอดทดลอง (in vitro) พบว่า HA สามารถกระตุ้น synoviocytes ของข้อที่เสื่อมให้สังเคราะห์ HA เพิ่มขึ้น²¹

4. จากการศึกษาในหลอดทดลองพบว่า HA มีฤทธิ์ป้องกันการทำลายกระดูกอ่อน (chondroprotective effects) โดย

กระตุ้นการสร้าง tissue inhibitors of metalloproteinases (TIMP-1)²² และยับยั้งการทำลายกระดูกอ่อนของเม็ดเลือดขาวนิวโตรฟิล (neutrophil-mediated cartilage degradation)²³ นอกจากนี้ยังสามารถลดการทำลายกระดูกอ่อนที่เกิดจาก interleukin-1, degradative enzyme และ oxygen-derived free radicals²⁴ จากการศึกษาในสัตว์ทดลองที่ถูกเหนี่ยวนำให้เกิดโรคข้อเสื่อม^{25,26} พบว่า HA ยังมีผลชะลอการเกิดโรค ลดจนลดการเปลี่ยนแปลงทางพยาธิสภาพที่เกิดกับกระดูกอ่อนและชั้นกระดูกใต้กระดูกอ่อน (subchondral bone)

เภสัชจลนศาสตร์ (pharmacokinetics)

ของ hyaluronan

จากการศึกษาในสัตว์ทดลองโดยฉีด HA เข้าข้อครั้งเดียวหรือฉีดซ้ำหลายครั้ง พบว่า HA สามารถกระจายตัวเข้าสู่เนื้อเยื่อของข้อได้อย่างรวดเร็ว โดยพบความเข้มข้นสูงสุดในน้ำไขข้อ ตามด้วยแคปซูลหุ้มข้อ (joint capsule) เส้นเอ็น (ligaments) และกล้ามเนื้อที่อยู่รอบข้อตามลำดับ HA ถูกกำจัดออกจากน้ำไขข้อได้ภายใน 2-3 วัน (มีครึ่งชีวิตประมาณ 10.2-13.2 ชั่วโมง แล้วแต่น้ำหนักโมเลกุล)²⁷ แต่ HA ที่อยู่ในเยื่อหุ้มข้อนั้นสามารถคงอยู่ได้นาน 7 วัน HA ที่อยู่ในข้อจะกระจายตัวเข้าสู่ระบบน้ำเหลืองและถูกทำลายที่ต่อมน้ำเหลือง ส่วนที่เหลือจะกระจายตัวเข้าสู่กระแสเลือดและถูกขจัดออกจากร่างกายได้อย่างรวดเร็วโดยอาศัยกลไกการจับเก็บ (uptake) จากรีเซพเตอร์ของเอนโดทีเรียลเซลล์ (endothelial cell) ที่อยู่ในตับ²⁸ นอกจากนี้ยังพบการจับเก็บส่วน

น้อย (minor uptake) ที่ม้ามและไขกระดูก อย่างไรก็ตาม ยังมี HA ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุลต่ำอีกส่วนหนึ่งที่ถูกขับออกจากร่างกายทางไตโดยผ่านกระบวนการกรอง (glomerular filtration)²⁹

ประสิทธิผลทางคลินิกของ Hyalgan[®] ในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อม

Hyalgan[®] (Fidia S.p.A., ประเทศอิตาลี) อ่านออกเสียงว่า “ยัลแกน” เป็นสารละลายชนิดของ HA ที่บริสุทธิ์อย่างยิ่งยวด (highly purified HA) สกัดจากหงอนไก่ตัวผู้ (rooster comb) มีน้ำหนักโมเลกุล 5-7.3 แสนดาลตัน และมีความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร²

ก. การศึกษาเปรียบเทียบระหว่าง Hyalgan[®] กับการรักษาหลอก

จากการศึกษาแบบ double blind randomized placebo and arthrocentesis controlled study³⁰ ซึ่งแบ่งผู้ป่วยข้อเข่าเสื่อมที่มีน้ำในข้อเข่าอย่างน้อย 3 มิลลิลิตร จำนวน 100 ราย ออกเป็น 5 กลุ่มเท่าๆกัน โดยแต่ละกลุ่มได้รับการรักษาดังแสดงไว้ในตารางที่ 1 และได้รับการประเมินตัวแปรต่างๆ เมื่อเริ่มต้นรักษา และวันที่ 14, 28, 35, และ 60 ตามลำดับ พบว่า 60 วันหลังจากฉีดยาครั้งแรก อาการปวดขณะเคลื่อนไหว และ Lequesne's functional index ของทุกกลุ่มลดลงจากค่าเริ่มต้น แต่กลุ่มที่ได้รับ

ตารางที่ 1 วิธีการรักษาของแต่ละกลุ่ม (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 30)

วิธีการรักษา ของแต่ละกลุ่ม	วันที่				
	เริ่มต้น	7	14	21	28
การรักษาหลอก	A+ P	P	P	P	P
การเจาะข้อเข่า	A	A ¹	A ¹	A ¹	A ¹
HA-1	A + HA	A ¹	A ¹	A ¹	A ¹
HA-3	A + HA	HA	HA	A ¹	A ¹
HA-5	A + HA	HA	HA	HA	HA

HA = Hyalgan[®] ความเข้มข้น 10 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ปริมาตร 2 มิลลิลิตร

HA-1 = การฉีด Hyalgan[®] เข้าข้อเข่า เพียงครั้งเดียว

HA-3, HA-5 = การฉีด Hyalgan[®] เข้าข้อเข่า สัปดาห์ละครั้ง จำนวน 3 และ 5 ครั้ง ตามลำดับ

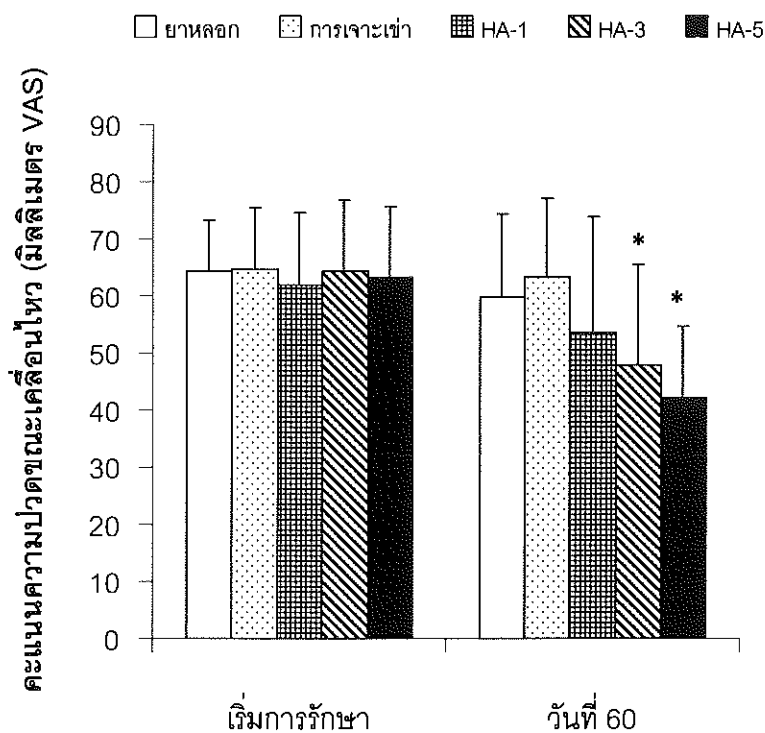
A = การเจาะข้อเข่า (arthrocentesis) แล้วดูดน้ำไขข้อออกให้ได้มากที่สุด

A¹ = การเจาะข้อเข่าแต่ไม่มีการดูดน้ำไขข้อออก

P = ยาหลอก (placebo) ซึ่งได้แก่ สารละลาย buffered saline 2 มิลลิลิตร

Hyalgan® 3 ครั้งและ 5 ครั้ง (HA-3 และ HA-5) มีค่าลดลงมากกว่าและมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับกลุ่มอื่น (รูปที่ 1) แม้จะไม่พบความแตกต่างทางสถิติระหว่างกลุ่ม HA-3 กับ HA-5 แต่กลุ่ม HA-5 มีแนวโน้มของการตอบสนองโดยรวมที่ดีกว่ากลุ่ม HA-3 สรุปว่าการฉีดยา Hyalgan® เข้าข้อเข่าสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 3 หรือ 5 ครั้ง มีประสิทธิภาพในการรักษาโรคข้อเข่าเสื่อมและคงประสิทธิภาพได้นานอย่างน้อย 2 เดือน

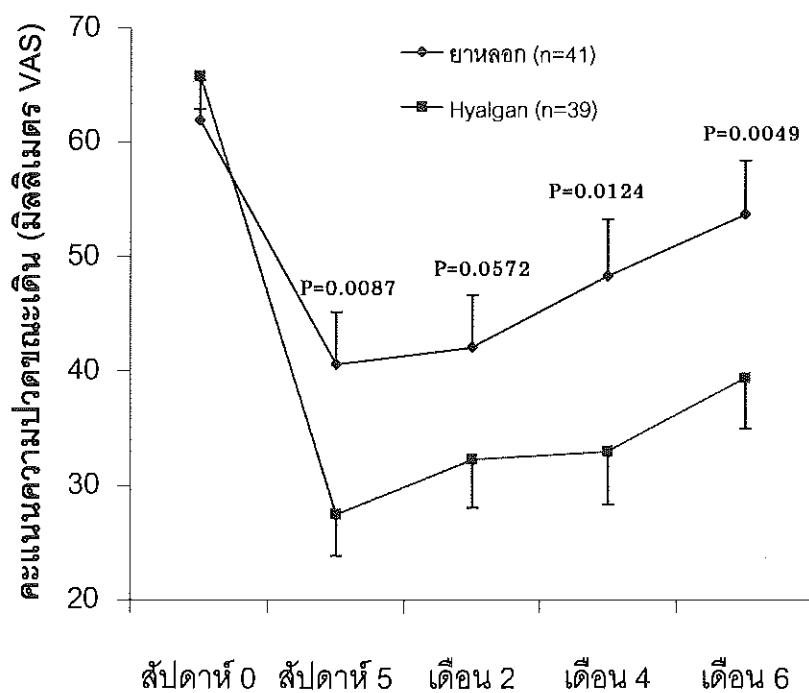
นอกจากนี้ ยังมีการศึกษาแบบ randomized, placebo controlled, blind observer study³¹ ในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมที่มี Kellgren and Lawrence grade II หรือ III (ดูภาคผนวก) โดยเปรียบเทียบระหว่างการฉีดยา Hyalgan® 2 มิลลิลิตรเข้าข้อเข่าสัปดาห์ละครั้งรวม 5 ครั้ง กับการฉีดยาน้ำเกลือเข้าข้อ (ยาหลอก) และติดตามผลหลังฉีดยาครั้งแรกนาน 6 เดือน พบว่ากลุ่มที่ได้รับ Hyalgan® มีคะแนนความปวดขณะเดินต่ำกว่ากลุ่มยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทาง



รูปที่ 1 ค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) ของ visual analogue scale (VAS) ที่ใช้ประเมินความปวดขณะเคลื่อนไหวเมื่อเริ่มรักษาและหลังรักษา 60 วัน ของกลุ่มตัวอย่างทั้งห้ากลุ่ม (n= 20 คน/กลุ่ม) *p<0.005 เมื่อเปรียบเทียบกับยาหลอก การเจาะเข้า และ HA (HA-1 หมายถึงกลุ่มที่ได้รับการฉีดยา Hyalgan® เข้าข้อเข่าเพียงครั้งเดียว ส่วน HA-3, HA-5 หมายถึงกลุ่มที่ได้รับการฉีดยา Hyalgan® เข้าข้อเข่า สัปดาห์ละครั้งจำนวน 3 และ 5 ครั้ง ตามลำดับ) (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 30)

สถิติ เมื่อประเมิน ณ สัปดาห์ที่ 5 (ฉีดยาเข้าข้อครบทุกเข็ม) เดือนที่ 4 และเดือนที่ 6 (รูปที่ 2) นอกจากนี้ยังพบว่า กลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] มี Lequesne's functional index (ดูภาคผนวก) ต่ำกว่ากลุ่มยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อประเมิน ณ สัปดาห์ที่ 5 ($p=0.03$) และเดือนที่ 2 ($p=0.04$) แต่เดือนที่ 4 นั้นพบเพียงความแตกต่างแบบก้ำกึ่ง ($p=0.053$) สรุปว่าการฉีด Hyalgan[®] เข้าข้อเข้าที่เสื่อมสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 5 ครั้ง มีประสิทธิภาพเหนือกว่ายาหลอก และสามารถคงประสิทธิภาพการบรรเทาปวดได้นานอย่างน้อย 6 เดือน

จากการศึกษาแบบ prospective, randomized, single blind, placebo controlled trial³² ในผู้ป่วยโรคข้อเสื่อมที่มีน้ำในข้อ 110 ราย โดยใช้ Hyalgan[®] เปรียบเทียบกับ vehicle ของ Hyalgan[®] ฉีดเข้าข้อเข้าสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 4 สัปดาห์ และประเมินผล ณ สัปดาห์ที่ 7 และ 52 (นับจากเริ่มรักษา) การศึกษานี้มีผู้ป่วย 95 รายได้รับการรักษาจนครบกำหนดพบว่า ณ สัปดาห์ที่ 7 (4 สัปดาห์หลังจากฉีดครั้งสุดท้าย) ผู้ป่วยในกลุ่ม Hyalgan[®] มีอาการดีขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม กล่าวคือ visual analogue score (VAS)



รูปที่ 2 ค่าเฉลี่ย (mean ± SEM) ของ visual analogue scale (VAS) ที่ใช้ประเมินความปวดขณะเดินของกลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] และยาหลอก (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 31)

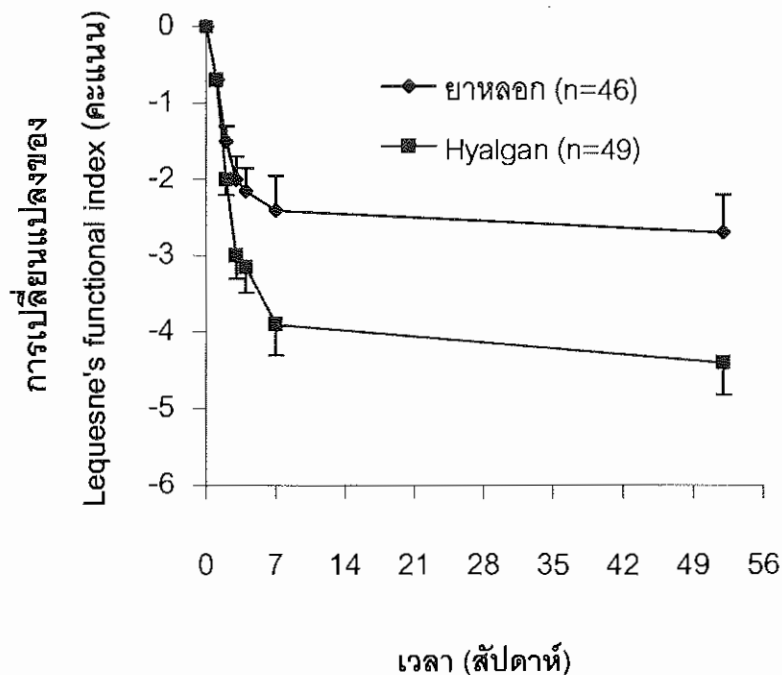
ของอาการปวดลดลง -35.5 ± 26.4 เทียบกับ -25.8 ± 21.4 มิลลิเมตร ($p=0.03$) และ Lequesne's functional index ลดลง -3.8 ± 4.3 เทียบกับ -2.3 ± 3.3 คะแนน ($p=0.03$) และเมื่อประเมินผล ณ สัปดาห์ที่ 52 (1 ปีหลังจากฉีดยาครั้งแรก) พบว่าผู้ป่วยในกลุ่ม Hyalgan[®] ยังมี Lequesne's functional index ต่ำกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (-4.4 ± 5.1 เทียบกับ -2.7 ± 4.1 คะแนน, รูปที่ 3)

จากทั้งสามการศึกษาที่กล่าวมาข้างต้น พอสรุปได้ว่า การฉีด Hyalgan[®] เข้าข้อเข่าที่เสื่อมสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 3-5 ครั้ง มีประสิทธิภาพเหนือกว่ายาหลอก และ

สามารถคงประสิทธิภาพได้นาน (อย่างน้อย 2 เดือนถึง 1 ปี แล้วแต่การศึกษา) ด้วยเหตุนี้ HA จึงจัดเป็นยารักษาโรคข้อเสื่อมประเภท SYSADOA¹ อย่างไรก็ดีตามเพื่อคงประสิทธิภาพการรักษาให้ยาวนานยิ่งขึ้น มีการศึกษาที่แสดงว่าการฉีด Hyalgan[®] 1 ชุด (5 เข็ม) ทุกๆ 6 เดือนมีผลบรรเทาอาการปวดได้ตลอดระยะเวลา 2 ปีที่ติดตามผล³³

ข. ประสิทธิภาพของ Hyalgan[®] เทียบกับ NSAIDs

Altman และ Moskowitz ทำการศึกษาแบบ double blind, double dummy, placebo and naproxen controlled,



รูปที่ 3 ค่าเฉลี่ย (mean $\pm$ SD) ของการเปลี่ยนแปลงของ Lequesne's functional index ณ เวลาต่างๆ เมื่อเทียบกับค่าเริ่มต้นของกลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] และยาหลอก (ดัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 32)

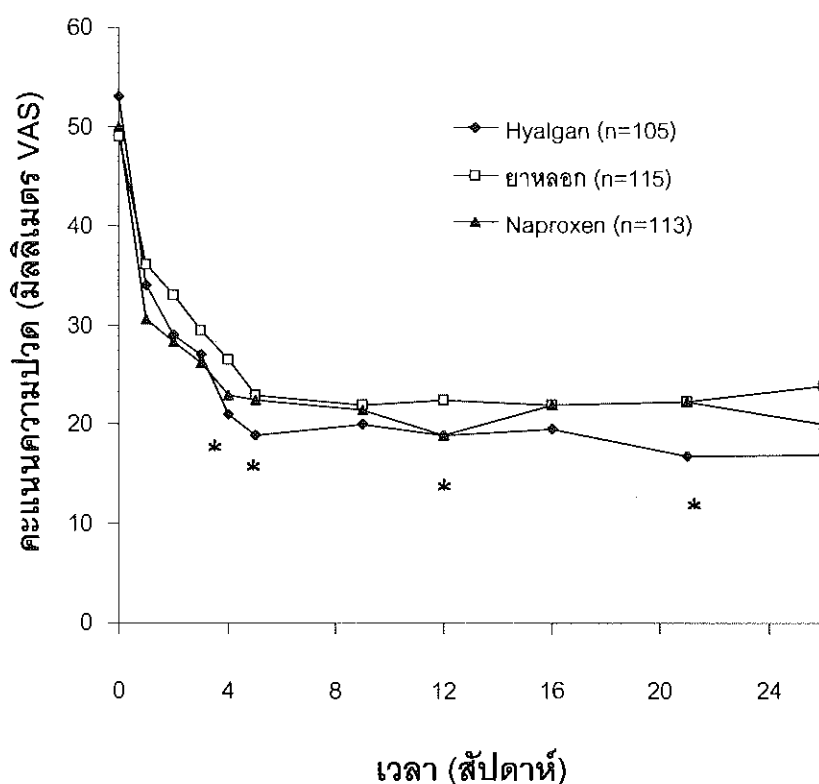
stratified, randomized, multicenter trial³⁴ เป็นระยะเวลา 26 สัปดาห์ ในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมแบบไม่ทราบสาเหตุ (idiopathic OA) 495 รายที่มี Kellgren and Lawrence grade II หรือ III โดยแบ่งผู้ป่วยออกเป็น 3 กลุ่มคือ

1) กลุ่ม Hyalgan[®] ได้รับยาตักกล่าวฉีดเข้าข้อเข่าสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 5 สัปดาห์ ร่วมกับการรับประทานยาหลอก

2) กลุ่มยาหลอก ได้รับการฉีดน้ำเกลือเข้าข้อในลักษณะเดียวกับการฉีด Hyalgan[®] ร่วมกับการรับประทานยาหลอก

3) กลุ่ม naproxen ได้รับการฉีดยาชาเข้าชั้นไขมันใต้ผิวหนัง สัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 5 สัปดาห์ ร่วมกับการรับประทาน naproxen

นอกจากนี้ยังอนุญาตให้ทุกกลุ่มใช้ยาพาราเซตามอลได้เมื่อมีอาการปวด ผลการศึกษาแสดงว่าผู้ป่วยทุกกลุ่มมีคะแนนความปวดลดลงขณะเดินระยะทาง 50 ฟุต (รูปที่ 4) แต่กลุ่ม Hyalgan[®] มีคะแนนต่ำกว่ากลุ่มยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$ ณ สัปดาห์ที่ 4, 5, 12, 21 และ 26; ANCOVA, $p = 0.010$, repeated measure



รูปที่ 4 ค่าเฉลี่ย (mean) ของ visual analogue scale (VAS) ที่ใช้ประเมินความปวดขณะเดินระยะทาง 50 ฟุต ของกลุ่มตัวอย่างทั้งสามกลุ่ม * $p < 0.05$ เมื่อเปรียบเทียบกลุ่ม Hyalgan[®] กับกลุ่มยาหลอก (ตัดแปลงจากเอกสารอ้างอิงหมายเลข 34)

analysis) และเมื่อพิจารณา ณ สัปดาห์ที่ 26 พบว่าสัดส่วนของผู้ป่วยในกลุ่ม Hyalgan[®] (47.6%) ที่ไม่มีอาการปวดหรือปวดน้อยมาก มีมากกว่ากลุ่มยาหลอก (33.1%, $p=0.04$) และกลุ่ม naproxen (36.9%, $p=0.22$) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ผู้ป่วยกลุ่ม Hyalgan[®] ยังมี Western Ontario and McMaster Universities (WOMAC) Osteoarthritis Index (ดูภาคผนวก) ที่ใช้ประเมินความปวด (pain subscale) และการทำงานเชิงกายภาพ (physical function subscale) ดีกว่ากลุ่มยาหลอกอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนผลข้างเคียงนั้น อาการปวด ณ ตำแหน่งที่ฉีดยาพบได้บ่อยในกลุ่ม Hyalgan[®] (38/164 ราย = 23%) เมื่อเทียบกับการฉีดยาหลอก (22/168 ราย = 13%, $p<0.001$) ในขณะที่กลุ่ม naproxen พบผลข้างเคียงต่อระบบทางเดินอาหาร (68/163 ราย = 41%) มากกว่ากลุ่ม Hyalgan[®] (29%) หรือกลุ่มยาหลอก (36%) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปว่าการฉีด Hyalgan[®] 5 เข็มมีผลบรรเทาอาการปวดและทำให้การทำงานของข้อเข่าดีขึ้นในระยะยาว นอกจากนี้ยังมีประสิทธิภาพไม่น้อยไปกว่าการใช้ naproxen ต่อเนื่องกัน 26 สัปดาห์

ผลของ Hyalgan[®] ต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของข้อเข่าที่เสื่อม

จากการศึกษาแบบ prospective, randomized, controlled study³⁵ เป็นระยะเวลา 1 ปี โดยแบ่งผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมออกเป็น 2 กลุ่ม กลุ่มแรก (กลุ่มควบคุม)

ได้รับการรักษาแบบมาตรฐาน และกลุ่มที่สองได้รับ Hyalgan[®] ฉีดเข้าข้อสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 3 ครั้ง (ถือเป็น 1 ชุดการรักษา) และให้ซ้ำทุก 3 เดือน รวมทั้งสิ้น 3 ชุดการรักษา แล้วประเมินการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างโดยการส่องกล้องเข้าไปตรวจสภาพข้อ (arthroscopy) และนำผลในช่วงก่อนมาเปรียบเทียบกับช่วงหลังการรักษา การศึกษานี้มีผู้ป่วยที่ได้รับการรักษาจนครบกำหนด 36 ราย เป็นผู้ป่วยกลุ่ม Hyalgan[®] 19 ราย และกลุ่มควบคุมอีก 17 ราย เมื่อประเมินกลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] เปรียบเทียบกับกลุ่มควบคุม พบว่ามี Society of French Arthroscopy (SFA) scoring system เท่ากับ $+3.7 \pm 7.3$ เปรียบเทียบกับ $+9.0 \pm 11.5$ ($p=0.05$) และการประเมินสภาพกระดูกอ่อนโดยรวม (overall assessment of chondropathy) มีค่าเท่ากับ $+5.1 \pm 12.7$ เปรียบเทียบกับ 16.7 ± 18.3 ($p=0.016$) [หมายเหตุ: ค่าของตัวแปรข้างต้นแปรผันโดยตรงกับความเสื่อมของข้อเข่า] แสดงว่ากลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] มีการเสื่อมเชิงโครงสร้างน้อยกว่ากลุ่มควบคุมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ สรุปว่าการให้ Hyalgan[®] แบบให้ซ้ำ 3 ชุดใน 1 ปีอาจจะมีผลชะลอการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของข้อเข่าที่เสื่อมได้ การทดลองให้ยาแบบเดียวกันในประเทศอังกฤษที่ทำขึ้นจาก 17 ศูนย์ ในผู้ป่วยที่สมัครเข้ารับการรักษาก่อน 408 รายโดย Jubb และคณะ³⁶ ให้ผลที่สนับสนุนการทดลองข้างต้น การฉีด Hyalgan[®] แบบให้ซ้ำ 3 ชุดภายใน 1 ปี

ช่วยชะลอการแคบเข้าของช่องว่างภายในเข่า อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

Pasquali Ronchetti และคณะ³⁷ ทำการศึกษาในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมโดยส่องกล้องเข้าไปในข้อ และตรวจเยื่อหุ้มข้อ (synovial membranes) ด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบธรรมดาและแบบอิเล็กตรอน ในช่วงก่อนการรักษา แล้วนำมาเปรียบเทียบกับช่วง 6 เดือนหลังการฉีด Hyalgan[®] เข้าข้อสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 5 สัปดาห์ หรือฉีดยาสเตียรอยด์ (methylprednisolone acetate) เข้าข้อสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 3 สัปดาห์ พบว่าทั้งสองกลุ่มมีคะแนนการอักเสบที่ประเมินจากการส่องกล้อง (พิจารณาจากลักษณะของเนื้อเยื่อ จำนวนเซลล์ และหลอดเลือด) ลดลงจากช่วงก่อนรักษาอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และเมื่อจำแนกลักษณะทางจุลกายวิภาคของเยื่อหุ้มเซลล์ออกเป็น 3 ชั้น คือ

- 1) ชั้น synovial lining ซึ่งเป็นชั้นบนสุดที่อยู่ติดกับช่องว่างภายในข้อ
- 2) ชั้น sublining ซึ่งเป็นชั้นกลาง
- 3) ชั้น subsynovium ซึ่งเป็นชั้นใต้สุด

พบว่ากลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] มีการเปลี่ยนแปลงลักษณะของ synoviocytes ในชั้นบนสุด (lining cells) ไปในทิศทางที่ดีขึ้น (คล้ายคลึงกับเยื่อหุ้มข้อของคนปกติ) กล่าวคือมีการเปลี่ยนการเรียงตัวแบบหลายชั้น (multilayer) มาเป็นแบบชั้นเดียวหรือสองชั้น (mono-/bilayer) และมีการจับตัวกัน (aggregate) ของเซลล์ลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้การซึมผ่านหลอดเลือด

เลือด (vascular permeability) ในชั้น sublining และจำนวนของหลอดเลือดในชั้น subsynovium ยังลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติด้วย ในขณะที่กลุ่ม methylprednisolone acetate มีการลดลงอย่างมีนัยสำคัญของการตาย (necrosis) ของเซลล์ในชั้น lining และ sublining รวมถึงจำนวน mast cell ในชั้น sublining อย่างไรก็ตาม พบว่ายาทั้งสองชนิดมีแนวโน้มที่ก่อให้เกิดผลดี (แต่ไม่พบนัยสำคัญทางสถิติ) คือ มีผลลดจำนวนเซลล์ที่มีขนาดใหญ่ (hypertrophic cells) และเพิ่มจำนวนเซลล์ทรงกระสวย (spindle-shaped cells) ในชั้น lining นอกจากนี้ยังลดจำนวนของเม็ดเลือดขาว (macrophages, lymphocytes) และเซลล์ไขมัน (adipocytes) ตลอดจนลดการบวมของเซลล์ในเยื่อหุ้มข้อชั้นลึกถัดมาด้วย อย่างไรก็ตาม การเปลี่ยนแปลงที่กล่าวมาสามารถเห็นได้ชัดในข้อเสื่อมชนิดปฐมภูมิ (primary OA) มากกว่าชนิดทุติยภูมิ (secondary OA) ซึ่งมีสาเหตุมาจากการบาดเจ็บ ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าการศึกษานี้สนับสนุนผลในระยะเวลาไม่ยาวนาน (medium term) ยาทั้งสองชนิดมีผลทำให้เยื่อหุ้มข้อที่เสื่อมมีการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างไปในทิศทางที่เข้าสู่ปกติมากขึ้น

ในทำนองเดียวกัน มีผู้รายงานผลต่อการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างของกระดูกอ่อน³⁸ ในผู้ป่วยข้อเข่าเสื่อมที่ได้รับ Hyalgan[®] (11 ราย) และ methylprednisolone acetate (13 ราย) โดยมีวิธีการให้ยาและระยะเวลาการศึกษาเหมือนกับการศึกษาข้างต้นทุกประการ พบว่ากลุ่มที่ได้รับ Hyal-

gan[®] มีตัวแปรต่างๆ เช่น ผิวกระดูกอ่อน ความหนาแน่นของเซลล์กระดูกอ่อน (chondrocyte) และสภาพของเมทริกซ์ (matrix) เปลี่ยนแปลงไปในทางที่ดีขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ นอกจากนี้ กลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] ยังมีผลการประเมินที่ดีกว่ากลุ่ม methylprednisolone acetate อย่างมีนัยสำคัญเมื่อพิจารณาจากตัวแปรเกือบทุกตัว ผู้วิจัยวิจารณ์ว่าผลติดังกล่าวในกลุ่ม Hyalgan[®] ไม่น่าจะอธิบายได้จากการปรับ elastoviscosity ของน้ำไขข้อเพียงอย่างเดียว แต่ Hyalgan[®] น่าจะมีผลอย่างใดอย่างหนึ่งที่ทำให้กระดูกอ่อนเกิดการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้าง (structure-modifying activity) ร่วมด้วย

จำนวนครั้งของการฉีดยา

(Dose schedule)

โดยทั่วไปแนะนำให้ฉีด Hyalgan[®] เข้าข้อสัปดาห์ละครั้งต่อเนื่องกัน 5 สัปดาห์ (แม้ว่าจะไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติระหว่างการฉีดยาแบบ 5 ครั้ง และ 3 ครั้ง แต่การฉีดยาแบบ 5 ครั้งมีแนวโน้มของการตอบสนองโดยรวมที่ดีกว่าแบบ 3 ครั้ง³⁰) และสามารถให้การรักษาชุดใหม่ซ้ำได้ทุก 6-12 เดือน หรือตามอาการที่กำเริบ

ผลข้างเคียงของ Hyalgan[®]

Hyalgan[®] อาจทำให้บริเวณที่ฉีดเกิดอาการปวด บวม แดง อุ่น หรือมีน้ำในข้อ อย่างไรก็ตาม ผลข้างเคียงเหล่านี้มักเกิดขึ้นชั่วคราวและหายได้เองภายในระยะเวลาไม่กี่

วันหลังพักการใช้งานข้อหรือประคบด้วยน้ำแข็ง จากการศึกษาแบบ controlled clinical trial ของ Hyalgan[®] study group³⁴ ซึ่งเป็นการศึกษาที่มีผู้ป่วยที่ได้รับ Hyalgan[®] จำนวน 105 ราย และยาหลอก 115 ราย ตามลำดับ พบอาการปวดบริเวณที่ฉีดยาในกลุ่ม Hyalgan[®] และกลุ่มยาหลอกได้ 23% และ 13% ตามลำดับ อย่างไรก็ตาม ยังมีการศึกษาอื่นที่รายงานเกี่ยวกับผลข้างเคียงเฉพาะที่ในกลุ่มที่ได้รับ Hyalgan[®] เทียบกับยาหลอกด้วยอุบัติการณ์ที่ต่างๆ กัน เช่น 37% เทียบกับ 39%³² และ 34% เทียบกับ 28%³¹ เป็นต้น

จากประสบการณ์การใช้ยาภายหลังที่จำหน่ายในท้องตลาด (post-marketing experience) ซึ่งประมาณว่าน่าจะมีการฉีดยามากกว่า 1 ล้านชุดการรักษา (ประมาณ 5 ล้านเข็ม) พบผู้ป่วยจำนวน 2 รายที่เกิด anaphylactic-like reaction ซึ่งเป็นผลข้างเคียงที่รุนแรง แต่ผู้ป่วยทั้งสองรายก็ได้เกิดอันตรายจนถึงแก่ชีวิต (จากแฟ้มข้อมูลของ Fidia S.p.A., ประเทศอิตาลี) อย่างไรก็ตาม ไม่มีรายงานผลข้างเคียงที่ร้ายแรงดังกล่าวจากการศึกษาทางคลินิก

ข้อบ่งชี้ของ Hyalgan[®]

Hyalgan[®] เป็น HA preparation ที่น่าจะนำมาพิจารณาใช้ในผู้ป่วยโรคข้อเข่าเสื่อมซึ่งไม่สามารถทนต่อยาในกลุ่ม NSAIDs (NSAIDs intolerance) หรือกรณีที่ใช้ NSAIDs แล้วแต่ไม่ได้ผล รวมถึงกรณีที่มีข้อห้ามสัมพัทธ์ (relative contraindication) ต่อการใช้ NSAIDs เช่น ผู้ป่วยสูงอายุ ผู้ที่มี

หรือมีประวัติโรคแผลกระเพาะอาหาร
เป็นต้น

ภาคผนวก

1. Kellgren and Lawrence grade³⁹ เป็นการให้ลำดับชั้น (grade) เพื่อประเมินความรุนแรงของข้อเข่าเสื่อมโดยใช้หลักฐานจากภาพถ่ายเอกเรย์

ขั้นที่ 1 (ข้อเข่าที่อาจจะเสื่อม) หมายถึง มีกระดูกงอก (osteophyte) เพียงเล็กน้อย และไม่จำเป็นที่สำคัญ

ขั้นที่ 2 (ข้อเข่าเสื่อมเล็กน้อย) หมายถึง มีกระดูกงอกอย่างชัดเจน แต่ช่องว่างภายในข้อ (joint space) ยังไม่แคบ

ขั้นที่ 3 (ข้อเข่าเสื่อมขั้นปานกลาง) หมายถึง ช่องว่างภายในข้อแคบลงปานกลาง

ขั้นที่ 4 (ข้อเข่าเสื่อมขั้นรุนแรง) หมายถึง ช่องว่างภายในข้อแคบลงอย่างมาก และมีการหนาตัว (sclerosis) ของชั้นกระดูกใต้กระดูกอ่อน (subchondral bone)

2. Lequesne's functional index⁴⁰ เป็นดัชนี (แบบสอบถาม) ที่ใช้ประเมินอาการและการทำงานของข้อเข่า โดยพิจารณาจากตัวแปรต่างๆ เช่น อาการปวดขณะนอนพักตอนกลางคืน อาการขัดหรือปวดเข่าหลังจากตื่นนอน อาการปวดหลังจากยืนนาน 30 นาที อาการปวดขณะเคลื่อนไหว อาการปวดขณะลุกจากที่นั่งโดยไม่ใช้มือช่วยพยุง ระยะทางไกลที่สุดที่สามารถเดินได้ การใช้อุปกรณ์ช่วยเดิน และการทำกิจวัตรประจำวัน (การขึ้น-ลงบันได การนั่งยอง การเดินบนพื้นขรุขระ) เป็นต้น

3. Western Ontario and McMaster Universities (WOMAC) Osteoarthritis Index⁴¹ เป็นดัชนี (แบบสอบถาม) ที่ใช้ประเมินอาการและการทำงานของข้อเข่า โดยแบ่งเป็น

ก. สเกลย่อยที่ใช้ประเมินความปวด (pain subscale) พิจารณาจากอาการปวดขณะเดินบนทางราบ เดินขึ้นหรือลงบันได นั่งบนเก้าอี้หรือนอนราบ ยืน หรือตอนกลางคืนหลังเข้านอนแล้ว

ข. สเกลย่อยที่ใช้ประเมินอาการขัด/ตึง (stiffness subscale) พิจารณาจากอาการขัด/ตึงหลังตื่นนอน หลังจากนั่ง นอน หรือพักการใช้งาน

ค. สเกลย่อยที่ใช้ประเมินการทำงานเชิงกายภาพ (physical function subscale) พิจารณาจากความยากลำบากเมื่อลงบันได ขึ้นบันได ลุกจากที่นั่ง นั่ง ยืน ก้ม เดินทางราบ ขึ้นลงรถ ทำงานบ้าน และอื่นๆ รวม 17 ตัวแปร

ง. คะแนนรวม (total score) หาได้จากนำคะแนนใน 3 ข้อข้างต้นมารวมกัน

เอกสารอ้างอิง

1. Lequesne M. Symptomatic slow acting drugs for osteoarthritis: A novel therapeutic concept? *Rev Rheum* 1994; 61(2): 69-73.
2. Maheu E. Hyaluronan in knee osteoarthritis: A review of the clinical trials with Hyalgan®. *Eur J Rheum Inflamm* 1995; 15(1): 17-24.
3. Balazs EA, Gibbs DA. The rheological properties and biological function of hyaluronic acid. In: Balazs EA, ed. *Chemistry and Molecular Biology of the Intercellular Matrix*. London/New York: Academic Press, 1970: 1241-54.

4. Balazs EA. Viscoelastic properties of hyaluronic acid and biological lubrication. *Univ Mich Med Cent J* 1968; S 255-9.
5. Balazs E, Briller S and Denlinger J. N-hyaluronate molecular size variations in equine arthritis and human arthritic synovial fluids and the effect on phagocytic cells. In: Talbott J, ed. *Seminars in Arthritis and Rheumatism*. New York: Grune & Stratton, 1981: 141-3.
6. Balazs E. The physical properties of synovial fluid and the special role of hyaluronic acid. In: Helfet A, ed. *Disorders of the Knee*, 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1982: 61-74.
7. Balazs EA, Denlinger JL. Viscosupplementation: a new concept in the treatment of osteoarthritis. *J Rheumatol* 1993; 20: 3-9.
8. Balazs EA, Darzynkiewicz Z. The effect of hyaluronic acid on fibroblasts, mononuclear phagocytes and lymphocytes. In: Kulonen E, Pikkarainen J, eds. *Biology of the Fibroblast*. London: Academic Press, 1973: 237-52.
9. Forrester JV, Balazs EA. Inhibition of phagocytosis by high molecular weight hyaluronate. *Immunology* 1980; 40(3): 435-46.
10. Pisko EJ, Turner RA, Soderstrom LP, Panetti M, Foster SL, Treadway WJ. Inhibition of neutrophil phagocytosis and enzyme release by hyaluronic acid. *Clin Exp Rheumatol* 1983; 1(1): 41-4.
11. Partsch G, Schwarzer C, Neumuller J, Dunky A, Petera P, Broll H, Ittner G, Jantsch S. Modulation of the migration and chemotaxis of PMN cells by hyaluronic acid. *Z Rheumatol* 1989; 48 (3): 123-8.
12. Peluso G, Perbellini A, Tajana G. The effect of high and low molecular weight hyaluronic acid on mitogen-induced lymphocyte proliferation. *Curr Ther Res* 1990; 47: 437-43.
13. Darzynkiewicz Z, Balazs EA. Effect of connective tissue intercellular matrix on lymphocyte stimulation. 1. Suppression of lymphocyte stimulation by hyaluronic acid. *Exp Cell Res* 1971; 66: 113-23.
14. Yasui T, 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(1-2): 155-6.
15. Ghosh P. The role of hyaluronic acid (hyaluronan) in health and disease: interactions with cells, cartilage and components of synovial fluid. *Clin Exp Rheumatol* 1994; 12(1): 75-82.
16. Goa KL, Benfield P. Hyaluronic acid. A review of its pharmacology and use as a surgical aid in ophthalmology, and its therapeutic potential in joint disease and wound healing. *Drugs* 1994; 47(3): 536-66.
17. Aihara S, Murakami N, Ishii R, Kariya K, Azuma Y, Hamada K, Umemoto J, Maeda S. Effects of sodium hyaluronate on the nociceptive response of rats with experimentally induced arthritis. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1992; 100(4): 359-65.
18. Gotoh S, Miyazaki K, Onaya J, Sakamoto T, Tokuyasu K, Namiki O. Experimental knee pain model in rats and analgesic effect of sodium hyaluronate. *Nippon Yakurigaku Zasshi* 1988; 92(1): 17-27.
19. Pozo MA, Balazs EA, Belmonte C. Reduction of sensory responses to passive movements of inflamed knee joints by hylan, a hyaluronan derivative. *Exp Brain Res* 1997; 116(1): 3-9.
20. Schaible HG, Schmidt RF. Effects of an experimental arthritis on the sensory properties of fine articular afferent units. *J Neurophysiol* 1985; 54(5): 1109-22.
21. Vuorio E, Einola S, Hakkarainen S, Penttinen R. Synthesis of under-polymerized hyaluronic acid by fibroblasts cultured from rheumatoid and non-rheumatoid synovitis. *Rheumatol Int* 1982; 2(3): 97-102.
22. Yasui T, Akatsuka M, Tobetto K. Effects of hyaluronan on the production of stromelysin and tissue inhibitor of metalloproteinase-1 (TIMP-1) in bovine articular chondrocytes. *Biomed Res* 1992; 13: 343-8.
23. Tobetto K, Nakai K, Akatsuka M, Yasui T, Ando T, Hirano S. Inhibitory effects of hyaluronan on neutrophil-mediated cartilage degradation. *Connect Tissue Res* 1993; 29(3): 181-90.
24. Larsen NE, Lombard KM, Parent EG, Balazs EA. Effect of hyalagan on cartilage and chondrocyte cultures. *J Orthop Res* 1992; 10(1): 23-32.
25. Armstrong S, Read R, Ghosh P. The effects of intraarticular hyaluronan on cartilage and subchondral bone changes in an ovine model of early osteoarthritis. *J Rheumatol* 1994; 21(4): 680-8.

26. Abatangelo G, Botti P, Del Bue M, Gei G, Samson JC, Cortivo R, De Galateo A, Martelli M. Intraarticular sodium hyaluronate injections in the Pond-Nuki experimental model of osteoarthritis in dogs. I. Biochemical results. *Clin Orthop* 1989; (241): 278-85.
27. Brown TJ, Laurent UB, Fraser JR. Turnover of hyaluronan in synovial joints: elimination of labelled hyaluronan from the knee joint of the rabbit. *Exp Physiol* 1991; 76(1): 125-34.
28. Fraser JR, Appelgren LE, Laurent TC. Tissue uptake of circulating hyaluronic acid. A whole body autoradiographic study. *Cell Tissue Res* 1983; 233: 285-93.
29. Laurent TC, Lilja K, Brunnberg L, Engstrom-Laurent A, Laurent UB, Lindqvist U, Murata K, Ytterberg D. Urinary excretion of hyaluronan in man. *Scand J Clin Lab Invest* 1987; 47(8): 793-9.
30. Carrabba M, Paresce E, Angelini M, RE KA, Torchiana EEM, Perbellini A. The safety and efficacy of different dose schedules of hyaluronic acid in the treatment of painful osteoarthritis of the knee with joint effusion. *Eur J Rheum Inflamm* 1995; 15(1): 25-31.
31. Huskisson EC, Donnelly S. Hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis of the knee. *Rheumatol* 1999; 38(7): 602-7.
32. Dougados M, Nguyen M, Listrat V, Amor B. High molecular weight sodium hyaluronate (hyalectin) in osteoarthritis of the knee: A 1 year placebo-controlled trial. *Osteoarthr Cartil* 1993; 1(2): 97-103.
33. Scali JJ. Intra-articular hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis of the knee: A long term study. *Eur J Rheum Inflamm* 1995; 15(1): 57-62.
34. Altman RD, Moskowitz R. Intraarticular sodium hyaluronate (Hyalgan) in the treatment of patients with osteoarthritis of the knee: a randomized clinical trial. *J Rheumatol* 1998; 25(11): 2203-12.
35. Listrat V, Ayral X, Patarnello F, Bonvarlet JP, Simonnet J, Amor B, Dougados M. Arthroscopic evaluation of potential structure modifying activity of hyaluronan (Hyalgan) in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthr Cartil* 1997; 5(3): 153-60.
36. Jubb RW, Piva S, Beinat L, Dacre J, Gishen P. Structure modifying study of hyaluronan (500-730 KDa, Hyalgan) on osteoarthritis of the knee. *Osteoarthr Cartil* 2001; 9 (S): S16.
37. Pasquali Ronchetti I, Guerra D, Taparelli F, Boraldi F, Bergamini G, Mori G, Zizzi F, Frizziero L. Morphological analysis of knee synovial membrane biopsies from a randomized controlled clinical study comparing the effects of sodium hyaluronate (Hyalgan) and methylprednisolone acetate (Depomedrol) in osteoarthritis. *Rheumatol* 2001; 40 (2):158-69.
38. Guidolin DD, Ronchetti IP, Lini E, Guerra D, Frizziero L. Morphological analysis of articular cartilage biopsies from a randomized, clinical study comparing the effects of 500-730 kDa sodium hyaluronate (Hyalgan) and methylprednisolone acetate on primary osteoarthritis of the knee. *Osteoarthr Cartil* 2001; 9(4): 371-81.
39. Kellgren JH, Lawrence JS. Radiological assessment of osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1957; 16: 494-502.
40. Lequesne MG, Mery C, Samson M, Gerard P. Indexes of severity for osteoarthritis of the hip and knee validation-value in comparison with other assessment tests. *Scand J Rheumatology* 1987; 65(S): 85-9.
41. Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stitt LW: Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. *J Rheumatol* 1988; 15: 1833-40.