



Ivano Testa<sup>1</sup>, Cesare Bartolucci<sup>2</sup>,  
Italo Capparucci<sup>3</sup>, Ario Federici<sup>4</sup>,  
Manuela Valentini<sup>5</sup>

<sup>1</sup> Ordynator Medycyny Wewnętrznej,  
Uniwersytet degli Studi Aquila

<sup>2</sup> Profesor kontraktowy, Wydział Nauk  
Motorycznych, UNIURB

<sup>3</sup> Profesor kontraktowy, Wydział Nauk  
Motorycznych, UNIURB

<sup>4</sup> Profesor zrzeczony, Wydział Nauk  
Motorycznych, UNIURB

<sup>5</sup> Pracownik naukowy, Wydział Nauk  
Motorycznych, UNIURB

Address for correspondence/  
Adres do korespondencji:  
Prof. Italo Capparucci  
via Tibaldi 17 – 62100 Macerata  
italo.capparucci@libero.it

Received: 26.08.2011  
Accepted: 27.10.2011  
Published: 20.04.2012

#### STATISTIC STATYSTYKA

Word count Liczba słów	790/809
Tables Tabele	0
Figures Ryciny	2
References Piśmiennictwo	72

## The use of hyaluronic acid in chondral disorders of the knee: single-phase system vs. two-phase system

### Zastosowanie kwasu hialuronowego w patologii chrząstki kolana: system monofazowy i dwufazowy analiza porównawcza

Review article/Artykuł poglądowy

© J ORTHOP TRAUMA SURG REL RES 2 (28) 2012

#### Summary

Single and two-phase hyaluronic acid administration is a matter of discussion in specialised Orthopaedics, Rheumatology and Physical Medicine. This study aims at describing the results that can be achieved through the two methods.

**Key words:** Single-phase treatment. Two-phase treatment. Hyaluronic acid. Rheological conditions. Viscosupplementation. Synoviocyte stimulation

#### Streszczenie

Zastosowanie kwasu hialuronowego w terapii jednofazowej i dwufazowej w kolanie jest przedmiotem dyskusji w środowisku specjalistów ortopedów, reumatologów i fizjoterapeutów. Niniejsza praca ma na celu wyjaśnienie uzyskiwanych efektów poprzez porównanie zastosowania obu metod.

**Słowa kluczowe:** Leczenie jednofazowe. Leczenie dwufazowe. Kwas hialuronowy. Warunki reologiczne. Wiskosuplementacja. Stymulacja synowocytów

## INTRODUCTION

Literature has scientifically proven that the presence of collagen hydrolysate and alkaline phosphatase in articular fluid is a clear indication of ongoing cartilage reconstruction. It is also proven that high density hyaluronic acid cannot infiltrate the synovial membrane and, therefore, can only produce viscosupplement, moisturising and buffering effects on the CD44 pain receptor sites (prompt analgesic action) whilst remaining in the articular chamber. It is also proven that low-medium density hyaluronic acid can infiltrate the synovial membrane, thereby converting alkaline phosphatase into acid phosphatase (delayed analgesic action due to the elimination of the chemical pain mediator) as well as stimulating the synovocytes, regulating the activity of macrophages and the synthesis of interleukins and metalloproteinases (reconstructive action)

## MATERIALS AND METHODS

104 patients (44 females and 60 males) were enrolled. Mean age: 49.7 years. Bilateral treatment for 34 patients. Divided into two homogeneous groups by age and sex. No previous trauma. No history or ongoing degenerative disease. No previous intra-articular infiltration treatment. No anti-inflammatory or chondrotrophic treatment during trial nor during the year prior enrollment. All treated chondropathies were classified of 2nd and 3rd degree according to

Kellgren-Lawrence. An MRI was performed upon enrollment and 12 months following treatment. Every patient underwent ESR and CRP blood tests every 3 months to detect inflammation. Every patient underwent synovial fluid draw every 3 months with doses of acid and alkaline phosphatase, endogenous and exogenous hyaluronic acid, metalloproteinases, leukine and collagen hydrolysate. Hyaluronic acid sodium salt was used in 0.8% (Regenflex) and 1.6% (Regenflex Starter) buffered saline solution prepared by fermentation by Regenyal Laboratories with molecular weight stable between 800 and 1200 Kilodalton. Pain and joint mobility was assessed for every patient every 3 months using the Womac index and Primus equipment respectively.

The single-phase administration method was performed with one vial of Regenflex

Starter and one of Regenflex, injected sequentially at the same time, on the first and 180th day of the trial. The two-phase administration method was performed with one Regenflex Starter vial on the first day of the trial and one Regenflex vial after a week, followed by a third vial of Regenflex one week later; the three separate administrations were repeated in the same intervals on the 180th day of the trial.

## WPROWADZENIE

Literatura naukowa potwierdza niezbicie, że obecność zhydrolizowanego kolagenu i zasadowych fosfatów w płynie maziowym jest dowodem na toczący się proces rekonstrukcji chrząstki. Został udowodniony naukowo również fakt, że kwas hialuronowy dużej gęstości nie jest w stanie filtrować przez błonę maziową, a zatem jego działanie sprowadza się wyłącznie do efektu wiskosuplementacji, nawilżenia i blokady u źródła receptorów bólowych CD44 (silne działanie przeciwbólowe), ten gęsty kwas hialuronowy pozostaje w komorze stawu. Badania naukowe dowodzą, że natomiast kwas hialuronowy o niskiej-średniej gęstości jest w stanie filtrować przez błonę maziową przekształcając fosfatazy kwaśne w zasadowe (późne działanie przeciwbólowe poprzez eliminację przekźnika chemicznego bólu) poza tym stymuluje synowocyty regulując działanie makrofagów syntezy interleukin oraz metalloproteinaz (działanie odbudowujące).

## MATERIAŁY I METODY

Zakwalifikowano 100 pacjentów (44 kobiety i 60 mężczyzn). Średni wiek: 49,7 lat. Zabieg obustronny u 34 pacjentów. Pacjenci zostali podzieleni na dwie grupy ze względu na wiek i płeć. Nie odnotowano żadnych wcześniejszych urazów, żadnej choroby zwyrodnieniowej w toku czy w wywiadzie. U żadnego z pacjentów nie wykonywano wcześniej żadnych zabiegów infiltracji dostawowych, ani nie stosowano leczenia przeciwzapalnego czy chondrotroficznego podczas udziału w badaniu i na rok przed przystąpieniem do badania.

Wszystkie chondropatie były zaklasyfikowane jako 2° i 3° według Kellgrena-Lawrence'a. Zostało wykonane badanie rezonansem magnetycznym przy kwalifikacji i 12 miesięcy po badaniu wszystkich kolan poddawanych iniekcjom dostawowym w badaniu.

Każdemu pacjentowi co 3 miesiące badano krew na VES i PRC jako wskaźniki procesu zapalnego. U każdego pacjenta co 3 miesiące pobierano płyn maziowy na obecność fosfatów zasadowych i kwaśnych, kwasu hialuronowego endogennego i egzogennego (spektrofotometryczna metoda wyodrębniania poprzez rozpoznanie wiązań krzyżowych tzw. cross-link), metalloproteinaz, leukin i zhydrolizowanego kolagenu.

Jako substancja użyty został w badaniu kwas hialuronowy soli sodowej w roztworze fizjologicznym buforowanym w stężeniu 0,8% (Regenflex) i w stężeniu 1,6% (Regenflex Starter). Produkt uzyskiwany w procesie fermentacji bakteryjnej przez Regenyal Laboratories. Masa cząsteczkowa pomiędzy 800 a 1200 Kilodaltonów.

Ocena bólu i ruchomości stawów była przeprowadzana u każdego pacjenta co 3 miesiące według skali Vomic i za pomocą aparatury Primus.

Metodyka podawania jednofazowa polegała na wstrzyknięciu odstawowym jednej ampułki Regenflex i Regenflex Starter w tym samym czasie. Zabieg jednofazowy powtórzono dokładnie za 180 dni.

Metodyka zabiegowa dwufazowa polegała na podaniu jednej ampułki Regenflexu Starter w pierwszym dniu

## RESULTS

The group treated with single-phase method obtained a non-complete recovery of joint mobility, which was permanently lower than that of the other group over all 12 months. In this group, the inflammation and cartilage reconstruction indices showed a significantly lower performance compared to the opposite group; in particular, at the 3rd month draw, neither the collagen hydrolysate, nor the endogenous hyaluronic acid could be dosed; whereas subliminal traces of exogenous (injected) hyaluronic acid remained in only 11 patients, whilst alkaline phosphatase could be dosed in 7 patients. Moreover, at the end of the 6th month, just prior the second intra-articular administration, severe symptoms had reappeared in 41 patients, out of which 9 also reported joint effusion relapse.

The second group, on the other hand, showed a slower but constant improvement of painful symptoms compared to the first group with a much lower number of relapses (with reference to the Womac index, only 4 patients reported slight recurrence at the 6th month assessment prior the second administration cycle and only 1 reported mild joint effusion). In this group, the inflammation index was significantly lower than the opposing group until the end of the trial (mean 23%); the cartilage repair index was much higher compared to the other group over all 12 months (mean 31%).

The final MRIs performed for the single-phase treatment group showed a still disorderly cartilage profile with a much lower thickness compared to the other group, as well as "disconnection" of the newly formed tissue compared to the lower surface. Evidence of inelasticity and unevenness was shown, which was not reported in the group treated with the two-phase system, where, on the other hand, cases of reconstructive hypertrophy were reported.

## CONCLUSIONS

According to our experience, the two-phase system, based on separate administration of high and low density hyaluronic acid, is the only one that guarantees both viscosupplementation and cartilage repair. This therapeutic action cannot be successfully reproduced in a single simultaneous administration of the two fractions; probably because the steric hindrance they cause is what prevents normal rheostasis in the articular chamber.

i następnie po tygodniu jednej ampułki Regenflex, i po kolejnym tygodniu drugiej ampułki preparatu Regenflex. Trzy iniekcje oddzielone od siebie zostały powtórzone dokładnie po takim samym odstępie czasowym jak w poprzedniej metodyce czyli po 180 dniach.

## REZULTATY

W grupie pierwszej poddanej leczeniu jednofazowemu powrót możliwości motorycznych stawów nie był kompletny i przez cały czas niższy w stosunku do drugiej grupy w leczeniu dwufazowym przez cały okres 12 miesięcy. W tej grupie również wskaźniki procesu zapalnego i rekonstrukcji chrząstki okazały się zdecydowanie niższe w stosunku do grupy konkurencyjne, a zwłaszcza w płynie pobranym już w 3 miesiącu nie odnaleziono śladów ani kolagenu zhydrolizowanego, ani kwasu hialuronowego endogennego, natomiast tylko u 11 pacjentów utrzymywały się jeszcze niewielkie ilości egzogenego (wstrzykniętego) kwasu hialuronowego a u 7 pacjentów zidentyfikowany fosfatazy zasadowe. W tej grupie po upływie 6 miesięcy, czyli bezpośrednio po drugim podaniu dostawowym, odnotowano gwałtowne odnowienie się symptomatologii bólowej u 41 pacjentów z czego u 9 zaobserwowano nawroty wysięku stawowego.

W drugiej grupie poddanej leczeniu dwufazowemu, wykazano wolniejsze wygaszanie symptomatologii bólowej przy pierwszym podaniu, ale utrzymywała się ona dłużej z o wiele mniejszą liczbą nawrotów (w skali Womac tylko 4 pacjentów wskazywało na delikatne zaostrożenie bólu w 6 miesiącu przed podaniem drugiej serii iniekcji, i tylko 1 pacjent miał nieduży wysięk stawowy). W tej grupie wskaźniki procesu zapalnego są o wiele niższe niż w grupie konkurencyjnej i utrzymują się aż do końca obserwacji (średnia 23%), wskaźniki odbudowy chrząstki są bardzo wysokie i utrzymują się przez cały okres 12 miesięcy (średnia 31%).

Rezonansy magnetyczne wykonane na koniec badania wykazują w grupie leczonej jednofazowo, że profil chrząstki nie jest spójny i zdecydowanie cieńszy w porównaniu z drugą grupą, poza tym obserwuje się wyraźne „odklejenie” nowej chrząstki od powierzchni znajdującej się poniżej wykazując, że chrząstka jest nieelastyczna i niespójna, czego nie obserwujemy w grupie poddanej leczeniu dwufazowemu, w której wyodrębniono nawet niektóre przypadki przerostu odbudowanej chrząstki.

## WNIOSKI

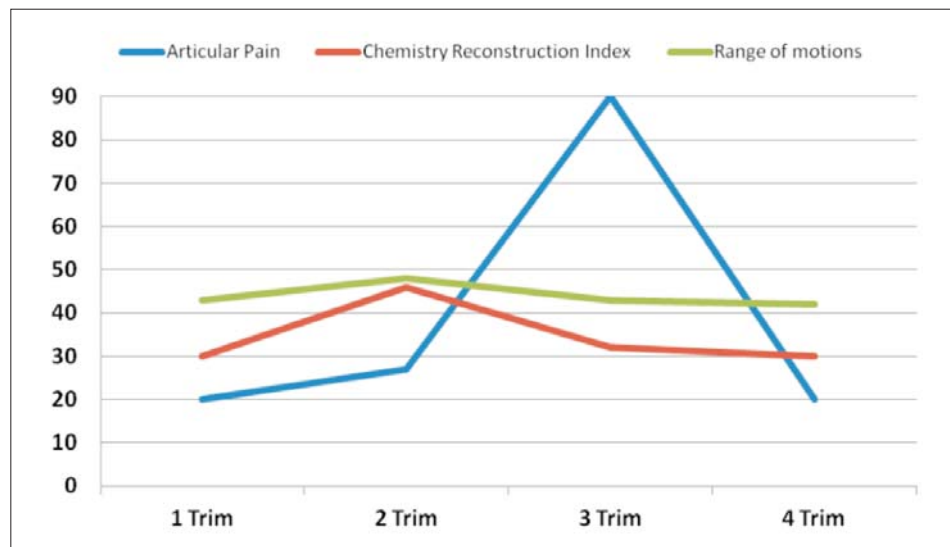
Leczenie dwufazowe, w którym podaje się iniekcje kwasu hialuronowego w ustalonych odstępach czasowych w wysokim i niskim stężeniu, okazuje się według naszego doświadczenia jedyną terapią gwarantującą działanie lecznicze zarówno pod względem wiskosuplementacji jak i odbudowy chrząstki.

Takie działanie nie jest do odtworzenia z pełnym sukcesem przy jednoczesnym podawaniu dwóch frakcji, najprawdopodobniej dlatego, że zajęcie steryczne wywołane przez takie podanie jest negatywnym czynnikiem dla

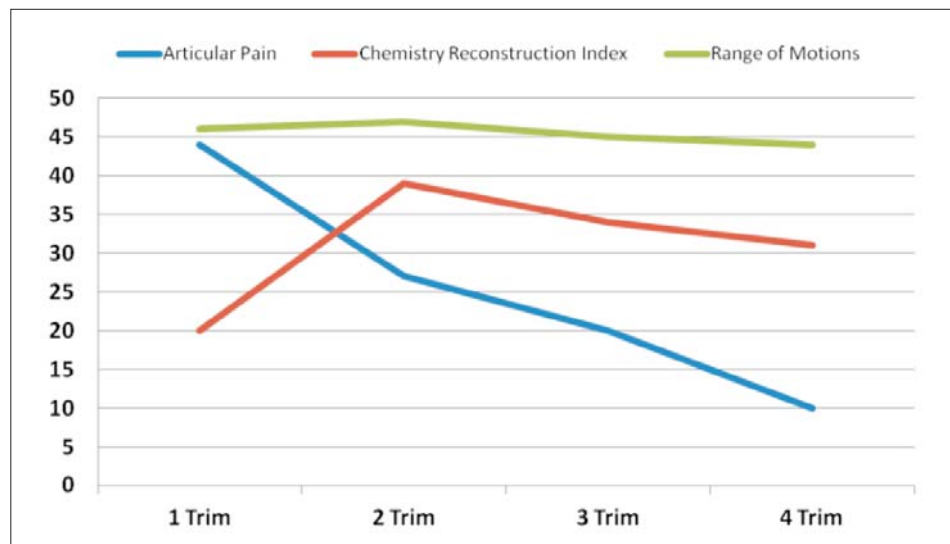
Indeed the complete therapeutic action is dose and time-dependent; in fact, the two-phase cycle includes an interval between the high-density fraction and the others and, more importantly, a higher dose of low-density hyaluronic acid is administered, which is probably the only one that exploits partial permeability of the synovial membrane, thereby promoting production of endogenous by synoviocytes, as well as normalisation of the activity of macrophages and the synthesis of interleukins and metalloproteinases.

odzyskania normalnej reostaty w komorze stawowej. Oczywiście kompletne działanie lecznicze jest uwarunkowane od dawek i odstępów czasowych, i rzeczywiście w cyklu dwufazowym stosuje się przerwy pomiędzy iniekcjami poszczególnych frakcji o dużej gęstości i kolejnymi. Przede wszystkim podaje się większą dawkę kwasu hialuronowego o mniejszej gęstości, który jest najprawdopodobniej jedynym w stanie wykorzystać częściową przepuszczalność błony maziowej i spowodować nową produkcję endogennego kwasu hialuronowego przez synowiocyty oraz normalizację aktywności makrofagów i syntezy metaloproteinaz i interleukin.

#### MONOPHASIC THERAPY LECZENIE JEDNOFAZOWE



#### BIPHASIC THERAPY LECZENIE DWUFAZOWE



## References/Piśmiennictwo:

- Messner K, Maletius W: The long-term prognosis for severe damage to weight-bearing cartilage in the knee: A 14-year clinical and radiographic follow-up in 28 young athletes. *Acta Orthop Scand* 1996;67:165-168.
- Praemer A, Furner S, Rice DP (eds): *Musculoskeletal Conditions in the United States*. Rosemont, Ill: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1999, pp 34-39.
- Noyes FR, Bassett RW, Grood ES, Butler DL: Arthroscopy in acute traumatic hemarthrosis of the knee: Incidence of anterior cruciate tears and other injuries. *J Bone Joint Surg Am* 1980;62:687-695, 757.
- Curl WW, Krome J, Gordon ES, Rushing J, Smith BP, Poehling GG: Cartilage injuries: A review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy* 1997;13:456-460.
- Buckwalter JA, Mankin HJ: Articular cartilage: Tissue design and chondrocyte-matrix interactions. *Instr Course Lect* 1998;47:477-486.
- Martin JA, Buckwalter JA: Articular cartilage aging and degeneration. *Sports Med Arthrosc Rev* 1996;4:263-275.
- Buckwalter JA, Woo SLY, Goldberg VM, et al: Soft-tissue aging and musculoskeletal function. *J Bone Joint Surg Am* 1993;75:1533-1548.
- MacConaill MA: The movements of bones and joints: 4. The mechanical structure of articulating cartilage. *J Bone Joint Surg Br* 1951;33:251-257.
- Buckwalter JA, Hunziker E, Rosenberg L, Coutts R, Adams M, Eyre D: Articular cartilage: Composition and structure, in Woo SLY, Buckwalter JA (eds): *Injury and Repair of the Musculoskeletal Soft Tissues*. Park Ridge, Ill: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1988, pp 405-425.
- Mow VC, Rosenwasser MP: Articular cartilage: Biomechanics, in Woo SLY, Buckwalter JA (eds): *Injury and Repair of the Musculoskeletal Soft Tissues*. Park Ridge, Ill: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1988, pp 427-463.
- Roth V, Mow VC: The intrinsic tensile behavior of the matrix of bovine articular cartilage and its variation with age. *J Bone Joint Surg Am* 1980;62:1102-1117.
- Guilak F, Ratcliffe A, Lane N, Rosenwasser MP, Mow VC: Mechanical and biochemical changes in the superficial zone of articular cartilage in canine experimental osteoarthritis. *J Orthop Res* 1994;12:474-484.
- Goldberg VM, Caplan AI: Biologic restoration of articular surfaces. *Instr Course Lect* 1999;48:623-627.
- Mitchell N, Lee ER, Shepard N: The clones of osteoarthritic cartilage. *J Bone Joint Surg Br* 1992;74:33-38.
- Bullough PG: The pathology of osteoarthritis, in Moskowitz RW, Howell DS, Goldberg VM, Mankin HJ (eds): *Osteoarthritis: Diagnosis and Medical/Surgical Management*, 2nd ed. Philadelphia: WB Saunders, 1992, pp 39-69.
- Hunziker EB, Kapfinger E: Removal of proteoglycans from the surface of defects in articular cartilage transiently enhances coverage by repair cells. *J Bone Joint Surg Br* 1998;80:144-150.
- Hunziker EB, Rosenberg LC: Repair of partial-thickness defects in articular cartilage: Cell recruitment from the synovial membrane. *J Bone Joint Surg Am* 1996;78:721-733.
- Reddi AH: Bone and cartilage differentiation. *Curr Opin Genet Dev* 1994;4:737-744.
- Urist MR: Bone: Formation by autoinduction. *Science* 1965;150:893-899.
- Carrington JL, Chen P, Yanagishita M, Reddi AH: Osteogenin (bone morphogenetic protein-3) stimulates cartilage formation by chick limb bud cells in vitro. *Dev Biol* 1991;146:406-415.
- Chang SC, Hoang B, Thomas JT, et al: Cartilage-derived morphogenetic proteins: New members of the transforming growth factor-beta superfamily predominantly expressed in long bones during human embryonic development. *J Biol Chem* 1994; 269: 28227-28234.
- Ozkaynak E, Rueger DC, Drier EA, et al: OP-1 cDNA encodes an osteogenic protein in the TGF-beta family. *EMBO J* 1990; 9:2085-2093.
- Sampath TK, Coughlin JE, Whetstone RM, et al: Bovine osteogenic protein is composed of dimers of OP-1 and BMP-2A, two members of the transforming growth factor-beta superfamily. *J Biol Chem* 1990;265:13198-13205.
- Storm EE, Huynh TV, Copeland NG, Jenkins NA, Kingsley DM, Lee SJ: Limb alterations in brachypodism mice due to mutations in a new member of the TGF beta-superfamily. *Nature* 1994;368:639-643.
- Lyons KM, Pelton RW, Hogan BL: Organogenesis and pattern formation in the mouse: RNA distribution patterns suggest a role for bone morphogenetic protein-2A (BMP-2A). *Development* 1990;109:833-844.
- Rosen V, Wozney JM, Wang EA, et al: Purification and molecular cloning of a novel group of BMPs and localization of BMP mRNA in developing bone. *Connect Tissue Res* 1989;20:313-319.
- Kawabata M, Chytil A, Moses HL: Cloning of a novel type II serine/threonine kinase receptor through interaction with the type I transforming growth factor-beta receptor. *J Biol Chem* 1995;270:5625-5630.
- Kingsley DM: The TGF-beta superfamily: New members, new receptors, and new genetic tests of function in different organisms. *Genes Dev* 1994;8:133-146.
- Katagiri T, Yamaguchi A, Ikeda T, et al: The non-osteogenic mouse pluripotent cell line, C3H10T1/2, is induced to differentiate into osteoblastic cells by recombinant human bone morphogenetic protein-2. *Biochem Biophys Res Commun* 1990; 172: 295-299.
- Thies RS, Bauduy M, Ashton BA, Kurtzberg L, Wozney JM, Rosen V: Recombinant human bone morphogenetic protein-2 induces osteoblastic differentiation in W-20-17 stromal cells. *Endocrinology* 1992;130:1318-1324.
- Luyten FP, Yu YM, Yanagishita M, Vukicevic S, Hammonds RG, Reddi AH: Natural bovine osteogenin and recombinant human bone morphogenetic protein-2B are equipotent in the maintenance of proteoglycans in bovine articular cartilage explant cultures. *J Biol Chem* 1992;267:3691-3695.
- Sailor LZ, Hewick RM, Morris EA: Recombinant human bone morphogenetic protein-2 maintains the articular chondrocyte phenotype in long-term culture. *J Orthop Res* 1996;14:937-945.
- Sato K, Urist MR: Bone morphogenetic protein-induced cartilage development in tissue culture. *Clin Orthop* 1984;183:180-187.
- Wang EA, Rosen V, D'Alessandro JS, et al: Recombinant human bone morphogenetic protein induces bone formation. *Proc Natl Acad Sci USA* 1990;87:2220-2224.
- Yasko AW, Lane JM, Fellingner EJ, Rosen V, Wozney JM, Wang EA: The healing of segmental bone defects, induced by recombinant human bone morphogenetic protein (rhBMP-2): A radiographic, histological, and biomechanical study in rats. *J Bone Joint Surg Am* 1992;74:659-670.
- Sellers RS, Peluso D, Morris EA: The effect of recombinant human bone morphogenetic protein-2 (rhBMP-2) on the healing of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am* 1997;79:1452-1463.
- Lietman SA, Yanagishita M, Sampath TK, Reddi AH: Stimulation of proteoglycan synthesis in explants of porcine articular cartilage by recombinant osteogenic protein-1 (bone morphogenetic protein-7). *J Bone Joint Surg Am* 1997;79:1132-1137.

38. Lewandowska K, Choi HU, Rosenberg LC, Zardi L, Culp LA: Fibronectin-mediated adhesion of fibroblasts: Inhibition by dermatan sulfate proteoglycan and evidence for a cryptic glycosaminoglycan-binding domain. *J Cell Biol* 1987;105:1443-1454.
39. Rosenberg L, Hunziker EB: Cartilage repair in osteoarthritis: The role of dermatan sulfate proteoglycans, in Kuettner KE, Goldberg VM (eds): *Osteoarthritic Disorders*. Rosemont, Ill: American Academy of Orthopaedic Surgeons, 1995, pp 341-356.
40. Schmidt G, Robenek H, Harrach B, et al: Interaction of small dermatan sulfate proteoglycan from fibroblasts with fibronectin. *J Cell Biol* 1987;104:1683-1691.
41. Singh G: Recent considerations in non-steroidal anti-inflammatory drug gastropathy. *Am J Med* 1998; 105:31S-38S.
42. Balazs EA, Denlinger JL: Viscosupplementation: A new concept in the treatment of osteoarthritis. *J Rheumatol Suppl* 1993;39:3-9.
43. Balazs EA: The physical properties of synovial fluid and the special role of hyaluronic acid, in Helfet AJ (ed): *Disorders of the Knee*, 2nd ed. Philadelphia: JB Lippincott, 1982, pp 61-74.
44. Smith MM, Ghosh P: The synthesis of hyaluronic acid by human synovial fibroblasts is influenced by the nature of the hyaluronate in the extracellular environment. *Rheumatol Int* 1987;7:113-122.
45. Yasui T, Akatsuka M, Tobetto K, Hayaishi M, Ando T: The effect of hyaluronan on interleukin-1 alpha-induced prostaglandin E 2 production in human osteoarthritic synovial cells. *Agents Actions* 1992;37:155-156.
46. Lussier A, Cividino AA, McFarlane CA, Olszynski WP, Potashner WJ, De Medicis R: Viscosupplementation with hylan for the treatment of osteoarthritis: Findings from clinical practice in Canada. *J Rheumatol* 1996;23:1579-1585.
47. Altman RD, Moskowitz R: Intraarticular sodium hyaluronate (Hyalgan) in the treatment of patients with osteoarthritis of the knee: A randomized clinical trial - Hyalgan Study Group. *J Rheumatol* 1998;25:2203-2212.
48. Huskisson EC, Donnelly S: Hyaluronic acid in the treatment of osteoarthritis of the knee. *Rheumatology (Oxford)* 1999;38:602-607.
49. Listrat V, Ayral X, Patarnello F, et al: Arthroscopic evaluation of potential structure modifying activity of hyaluronan (Hyalgan) in osteoarthritis of the knee. *Osteoarthritis Cartilage* 1997;5:153-160.
50. Lohmander LS, Dalen N, Englund G, et al: Intra-articular hyaluronan injections in the treatment of osteoarthritis of the knee: A randomised, double blind, placebo controlled multicentre trial - Hyaluronan Multicentre Trial Group. *Ann Rheum Dis* 1996;55:424-431.
51. Adams ME, Atkinson MH, Lussier AJ, et al: The role of viscosupplementation with hylan G-F 20 (Synvisc) in the treatment of osteoarthritis of the knee: A Canadian multicenter trial comparing hylan G-F 20 alone, hylan G-F 20 with non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) and NSAIDs alone. *Osteoarthritis Cartilage* 1995;3:213-225.
52. Gabriel SE, Crowson CS, O'Fallon WM: Costs of osteoarthritis: Estimates from a geographically defined population. *J Rheumatol Suppl* 1995;43:23-25.
53. Jackson RW: Arthroscopic treatment of degenerative arthritis, in McGinty JB, Caspari RB, Jackson RW, Poehling GG (eds): *Operative Arthroscopy*. New York: Raven Press, 1991, pp 319-323.
54. Livesley PJ, Doherty M, Needoff M, Moulton A: Arthroscopic lavage of osteoarthritic knees. *Bone Joint Surg Br* 1991;73:922-926.
55. Gibson JN, White MD, Chapman VM, Strachan RK: Arthroscopic lavage and debridement for osteoarthritis of the knee. *J Bone Joint Surg Br* 1992;74:534-537.
56. Chang RW, Falconer J, Stulberg SD, Arnold WJ, Manheim LM, Dyer AR: A randomized, controlled trial of arthroscopic surgery versus closed-needle joint lavage for patients with osteoarthritis of the knee. *Arthritis Rheum* 1993;36:289-296.
57. Baumgaertner MR, Cannon WD Jr, Vittori JM, Schmidt ES, Maurer RC: Arthroscopic debridement of the arthritic knee. *Clin Orthop* 1990;253:197-202.
58. Sprague NF III: Arthroscopic debridement for degenerative knee joint disease. *Clin Orthop* 1981;160:118-123.
59. Hubbard MJ: Articular debridement versus washout for degeneration of the medial femoral condyle: A five-year study. *J Bone Joint Surg Br* 1996;78:217-219.
60. Steadman JR, Rodkey WG, Singleton SB, Briggs KK: Microfracture technique for full-thickness chondral defects: Technique and clinical results. *Operative Techniques Orthop* 1997;7:300-304.
61. Buckwalter JA, Lohmander S: Operative treatment of osteoarthritis: Current practice and future development. *J Bone Joint Surg Am* 1994;76:1405-1418.
62. Grande DA, Pitman MI, Peterson L, Menche D, Klein M: The repair of experimentally produced defects in rabbit articular cartilage by autologous chondrocyte transplantation. *J Orthop Res* 1989;7:208-218.
63. Brittberg M, Nilsson A, Lindahl A, Ohlsson C, Peterson L: Rabbit articular cartilage defects treated with autologous cultured chondrocytes. *Clin Orthop* 1996;326:270-283.
64. Mandelbaum BR, Browne JE, Fu F, et al: Articular cartilage lesions of the knee. *Am J Sports Med* 1998; 26:853-861.
65. Peterson L, Minas T, Brittberg M, Nilsson A, Sjogren-Jansson E, Lindahl A: Two-to 9-year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clin Orthop* 2000;374:212-234.
66. Convery FR, Akeson WH, Keown GH: The repair of large osteochondral defects: An experimental study in horses. *Clin Orthop* 1972;82:253-262.
67. Hangody L, Kish G, Karpatai Z, Udvarhelyi I, Szigeti I, Bely M: Mosaicplasty for the treatment of articular cartilage defects: Application in clinical practice. *Orthopedics* 1998;21:751-756.
68. Garrett JC: Osteochondral allografts for reconstruction of articular defects of the knee. *Instr Course Lect* 1998;47:517-522.
69. Czitrom AA, Keating S, Gross AE: The viability of articular cartilage in fresh osteochondral allografts after clinical transplantation. *J Bone Joint Surg Am* 1990;72:574-581.
70. Garrett JC: Osteochondritis dissecans. *Clin Sports Med* 1991;10:569-593.
71. Jackson DW, Felt JC, Song Y, Van Sickle DC, Simon TM: Restoration of large femoral trochlear sulcus articular cartilage lesions using a flowable polymer: An experimental study in sheep. *Trans Orthop Res Soc* 2000;25:670.
72. Breinan H, Minas T, Barone L, et al: Histological evaluation of the course of healing of canine articular cartilage defects treated with cultured chondrocytes. *Tissue Eng* 1997;4:101-114