

A térdízületi hialinporc keménysége és szövettani degenerációja közötti összefüggés in vivo vizsgálata

Szerb Imre dr., Hangody László dr. és Kárpáti Zoltán dr.

Fővárosi Uzsoki utcai Kórház. Ortopéd-Traumatológiai Osztály

Összefoglalás: Az ízületi hialinporc keménységének csökkenése (felpuhulása) az egyik első jele ezen szövet degenerációjának. A porc keménységének mérésére napjainkban egy, az arthroszkópos vizsgálat során kézben tartható eszközt fejlesztettek ki és alapadatokat szolgáltatottak az egészséges térdízületen belüli porckeményiség megoszlásáról. A mért porcfelület szöveti degenerációjának mértéke azonban nem volt ismert. Ezen tanulmány célja, hogy vizsgálja a lehetséges összefüggést az in vivo mért porckeményiség és a szövettani degeneráció mértéke között.

Vizsgálati terv: Terápiás célból indikált arthroscopia során mértük 37 beteg hialinporcának keménységét standard mérési helyeken. A mérési helyekről származó biopsziák egyidejű Mankin szerinti szövettani értékelését végeztük.

Eredmények: A makroszkóposan ép, vagy I-II. fokú chondropathiát mutató porcfelületekben szövettanilag különböző mértékű degeneratív jelek voltak detektálhatóak. Szignifikáns összefüggés volt kimutatható a trochlea femoris lateralis ízfelületének ($R^2=0,81$), a trochlea femoris medialis ízfelületének ($R^2=0,66$) a femur medialis condylusának ($R^2=0,83$), valamint a femur lateralis condylusának ($R^2=0,71$) porckeményisége és a Mankin pontrendszer között.

Következtetés: A mért porckeményiség és a szövettani degeneráció mértékét jelző Mankin pontrendszer közötti szignifikáns összefüggés alapján a hialinporc degenerációja kvantitatívan értékelhető intraoperatív porckeményiség méréssel.

THE RELATIONSHIP BETWEEN THE STIFFNESS AND THE HISTOLOGICAL DEGENERATION OF ARTICULAR CARTILAGE

Objective: Reduction of the stiffness of articular cartilage has been reported as one of the first signs of cartilage degeneration. For the measurement of in vivo compressive stiffness, a hand-held indentation probe has recently been developed and baseline data for macroscopically normal knee joint cartilage were provided. However the histological stage of degeneration of the measured cartilage was not known. The purpose of this study was to investigate whether there is a relationship between the in vivo measured compressive stiffness and the histological stage of degeneration of articular cartilage.

Design: Instantaneous compressive stiffness was measured for the knee articular cartilage of 37 patients. Additionally histological appearance (according to Mankin score) were assessed for each measurement site.

Results: In virtually normal, or grade I-II. chondropathic surfaces, various histological signs of degeneration were present. A high correlation between Mankin score and cartilage stiffness was observed for the lateral patellar groove ($R^2=0,81$), the medial ($R^2=0,83$) and the lateral femoral condyle ($R^2=0,71$), whereas for the medial patellar groove ($R^2=0,66$).

Conclusion: The high correlation between stiffness and Mankin score suggests that the stage of cartilage degeneration can be assessed quantitatively with the hand-held indentation instrument.

Az ízületi hialinporc egyedi és különleges tulajdonságai teszik lehetővé, hogy betöltse élettani szerepét egy egész életen át, valamint nagyon különböző terhelési körülmények között. A porcszövet fő funkciói a két- vagy többtengelyű ízületekben: a terhelés átvitele a szemközti ízfelszínnek között, a különböző stressz hatások szétszórása a subchondralis csontszövetre, valamint egy alacsony súrlódású ízület létrehozása. A fenti élettani funkciók ellátása elsősorban az extracelluláris matrix szerkezetétől, összetételétől és integritásától függ. Az extracelluláris matrix főleg kollagén hálózatba ágyazott proteoglikánokból és vízből áll. A negatív töltésű proteoglikánok (PG) vizet kötnek meg, megduzzadnak, így fokozott nyomás jön létre, melyet a beágyazó kollagén láncok hálózata ellensúlyoz. Azaz a proteoglikán molekulák megduzzadása egy „pre-stress” állapotot okoz a kollagén hálózaton-külső terhelés hiányában is (28).

Az ízületi porc bármely szerkezeti komponensének károsodása befolyásolja ennek a magasan specializált szövetnek a biomechanikai tulajdonságait, az ízületi felszín kopását hozza létre, végül fájdalmat és ízületi mozgásbeszűkülést okozva. A korai degeneratív elváltozások a kollagén láncok szétszakadását jelentik a felszíni és átmeneti szöveti zónában, károsodásokat a proteoglikán molekulák szerkezetében, magukban foglalják továbbá a proteoglikán molekulák eltűnését a felső porc rétegekből, valamint kompenzatorikus PG szintézis fokozódást a mélyebb rétegekben (29). Ezek a kezdeti degeneratív elváltozások a PG molekulák hidratációjából eredő nyomás csökkenését, a szövet hidratációjának növekedését okozva a porcszövet puhulásához vezetnek, következményesen csökkentve a szövet keménységét (15,19,26,31,44). A mechanikai tulajdonságok változása érzékenyebb indikátora a korai porc degenerációnak, mint a hagyományos szövettani vizsgálatok (21). Számos in vivo tanulmány igazolta a térdízület immobilizációja utáni porckeményesség csökkenést, makroszkóposan ép porcszövet mellett (14). A puhulás és a porc kompressziós keménységének csökkenése így az egyik első detektálható jele lehet az ízületi porc degenerációjának.

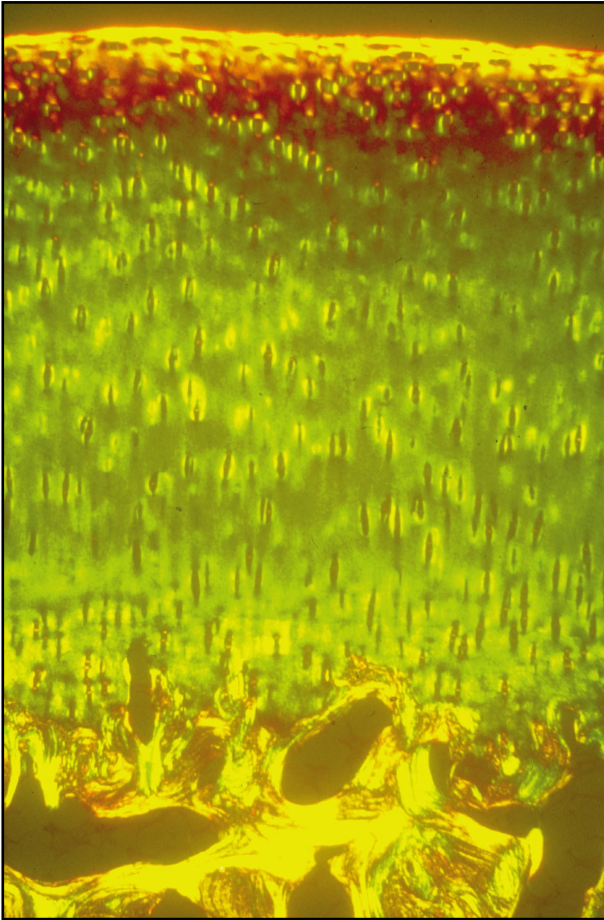
A porcplasztikai sebészi eljárások fejlődésének következtében egyre nagyobb az igény a porcbetegségek korai diagnózisa iránt. Szükséges továbbá a porcplasztikai eljárások hatékonyságának vizsgálatára egy kvantitatív, nem destruktív in vivo módszer, mellyel az ízületi porc tulajdonságait monitorizálni lehet. Napjainkban az orthopéd sebészek különböző beosztásokat használnak az arthroszkóposan detektálható változások osztályozására (7,8,12,35,38.). Ezek a pontrendszerek mindazonáltal kvalitatív értékelések, mivel szubjektív, vizuális értékelésen, illetve a porcfelszín tapintási vizsgálatán alapulnak. Kvantitatív információ az ízületi porc mechanikai tulajdonságairól a napjainkban in vitro tanulmányokban (4,16.) gyakran használt, porc indentációs módszerrel nyerhető. Ennek céljára egy kézben tartható indentációs vizsgálatot fejlesztettek ki (22), mely lehetővé teszi a porcszövet kompressziós keménységének kvantitatív értéke-

lését arthroszkópia során. A Lyyra és munkatársai által kifejlesztett eszköz a kereskedelemben kapható és széles körben tesztelt in vitro és in vivo módszerekkel (23). fiatal betegek intact térdízületi porcának, illetve chondromalacia patellae eseteiben in vivo kompressziós keménységi adatokat már publikáltak az irodalomban (24). A fennálló klinikai tünetek ellenére az ízületi porcot vizuálisan intactnak értékelték. Mindazonáltal nem vizsgálták ebben a tanulmányban, hogy szövettani degeneráció jelen volt-e, s milyen összefüggést mutatott volna a porc keménységével. Jelen tanulmány célja volt vizsgálni, hogy az in vivo mért kompressziós porckeményesség összefüggést mutat-e a szövettani degeneráció mértékével. Vizsgálni akartuk, hogy ezzel az indentációs módszerrel mért porckeményesség információt nyújthat-e a szöveti elfajulás stádiumáról, kvantitatív analizését nyújtva a porc degenerációnak.

ANYAG ÉS MÓDSZER

37 beteg (20 nő, 17 férfi) térdében mértük az ízületi porc kompressziós keménységét, terápiás célból indikált arthroszkópia során. 23 jobb és 14 bal térdet vizsgáltunk. A betegek életkora 17 és 69 év között változott, az átlagéletkor 48 év volt. Standard arthroszkópos, anterolaterális behatolást használtunk a műtétek során, nyolc standard helyen végeztünk méréseket: Ezek a standard helyek az ízület leginkább teherviselő részeit foglalják magukban. Nevezetesen a medialis és lateralis femur, illetve tibia condylusokat, a trochlea femoris medialis és lateralis felszíneit, valamint a patella medialis és lateralis felszínét. A felsorolt mérési helyek pontos lokalizációját az ICRS (International Cartilage Repair Society) standard értékelő lapján (49) jelöltük.

Az ízületi hialinporc keménységének mérésére a Lyyra és munkatársai által 1995-ben kifejlesztett Artscan 1000 (Artscan Oy, Helsinki, Finland) elnevezésű kézben tartható, indentációs vizsgálati műszert használtuk (22). A műszer egy 5 mm átmérőjű mérőrúdból áll, melyet egy, a vizsgálati orvos tenyerében elférő fogantyúhoz erősítettek. A mérőrúd distalis vége 20 fokos ferde síkban végződik, ezt a ferde síkú felszín referencia lemeznek nevezzük. A referencia lemez középpontjában helyezkedik el a tömör, henger alakú indenter. Az indenter átmérője 1 mm, magassága 300 µm. Ez a magasság meghatározza az átmeneti deformitást, amelyet a mért szöveten okozunk, hiszen a referencia lemez a porcfelszínhez nyomjuk, ennek során az indenter teljes magasságában a porcba süllyed. Ennek megfelelően az okozott szöveti deformitás 300 µm. Mivel az ízületi hialinporc vastagsága különböző a térdízületben, az eltérő porcvastagság befolyásolhatja a keménységmérés eredményeit. Ennek minimalizálására fejlesztették ki az indenter lehetséges legkisebb átmérőjét, ami jelen esetben 1 mm. Hiszen minél kisebb a vizsgálati eszköz átmérője, annál kevésbé befolyásolja a vizsgált anyag vastagsága a mért eredményeket.



1. ábra. Porckeménységmérővel vizsgált porc felszínből származó biopsia szövettani képe

A vizsgáló eszköz rozsdamentes acélból készült, mosható és 120 Celsius fokon autoklávban sterilizálható.

A mérőrúd belsejében az indenter egy hajlékony karhoz kapcsolódik. Az indenterre ható erőt, ennek a karnak a hajlásával jellemezzük, feszülésmérő átalakítók segítségével. Egy-egy feszülésmérő-átalakító helyezkedik el a hajlékony kar felső és alsó felszínén. A feszülésmérők aktív ellenállásai segítségével mérjük az indenterre ható erőt, míg a passzív ellenállások a hajlékony rúdra ható axialis erők kiküszöbölésére szolgálnak. Így csak a hajlékony rúdra merőleges hajlító erőt mér a műszer. A vizsgáló műszer felépítése folytán eliminálja a hőmérséklet változásból eredő hatásokat a feszülésmérő-átalakítókra, hiszen a hőmérséklet változásai mindkét átalakítón (a hajlékony rúd felső és alsó felszínén elhelyezkedőkön is) azonos feszülést eredményeznek. Hasonló módon a vizsgáló erőt is, mellyel a műszert a vizsgált szövethez nyomjuk, feszülésmérő-átalakítóval mérjük. A mérőműszer egy áramforráshoz és egy erősítőhöz kapcsolódik. Az erősítőből kijövő jeleket egy 12 bites A/D konverter egy PC computerbe juttatja. A computer tárolja a különböző erőt jellemző adatokat, valamint analízálja a mért értékeket. Az Artscan 1000 része még a már említett mérőműszernél, erősítőn, computeren kívül egy

Szövettani degeneráció pontértékelése Mankin szerint

I. Szerkezet

- a) normál 0
- b) felszíni szabálytalanság 1
- c) pannus és felszíni szabálytalanság 2
- d) hasadások az átmeneti zónáig 3
- e) hasadások a radiális zónáig 4
- f) hasadások a calcifikált zónáig 5
- g) teljes dezorganizáció 6

II. Sejtek

- a) normál 0
- b) diffúz sejtszám növekedés 1
- c) klónképződés 2
- d) sejtszám csökkenés 3

III. Safranin-O festés

- a) normál 0
- b) enyhe csökkenés 1
- c) mérsékelt csökkenés 2
- d) súlyos csökkenés 3
- e) nincs festődés 4

IV. Határvonal integritás

- a) megtartott 0
- b) keresztezett véredényekkel 1

külső monitor is a vizsgáló számára. Ezen ellenőrizheti a vizsgáló erőt, valamint a mért porcellenállási erőt (porckeménységet) is.

A mérés során a referencia lemezt a porc felszínhez nyomjuk, előre meghatározott 10 N erővel, mely a készülék monitorján ellenőrizhető és így kézzel beállítható. Rövid 1 másodperces indentációs (deformitás kontrollált) méréseket végzünk. A porc ellenáll ennek a rövid, konsztans deformitásnak és a majdnem azonnal, a szövetben kialakuló és az indenterre ható válaszerőt mérjük és használjuk a porckeménység indikátoraként.

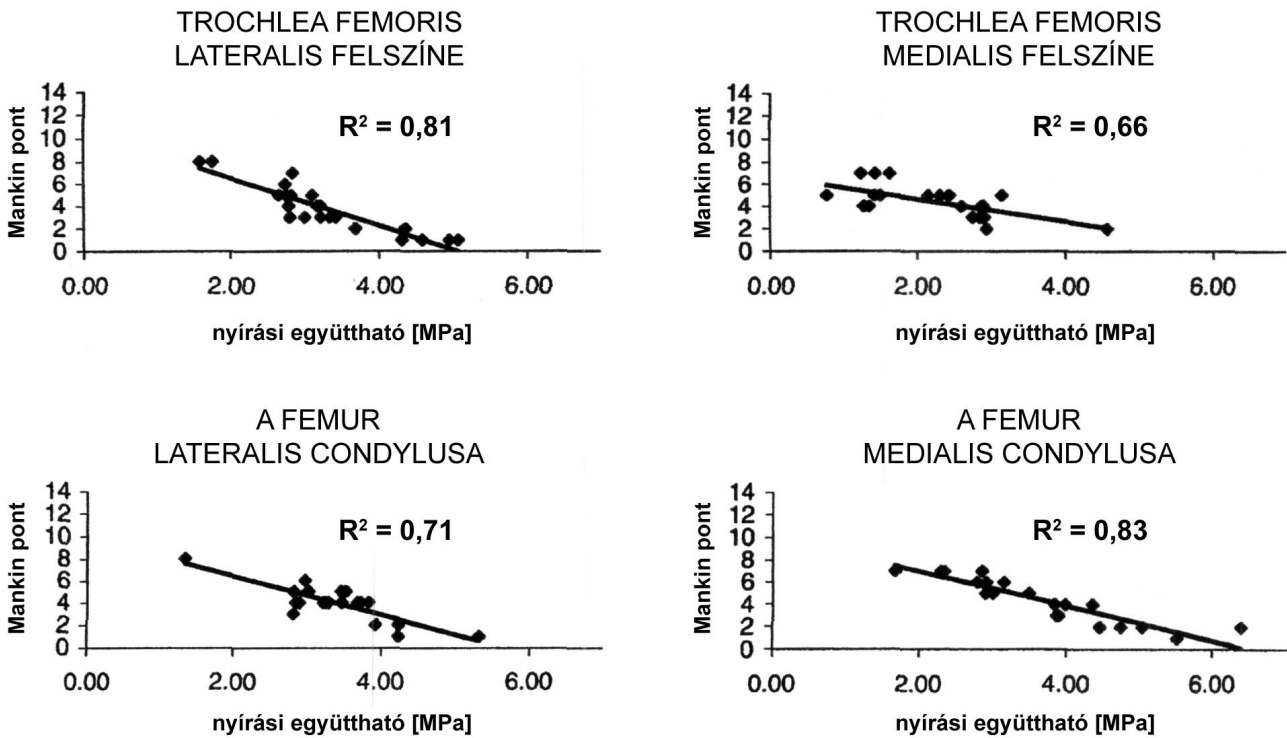
Minden standard mérési helyen három mérést végzünk, s ezekből átlagértéket számolva jellemeztük az adott hely keménységét. A mérések előtt a műszert standard elastomer mintákon kalibráltuk.

A mérési helyekről a mintákat szövettani analízisre a mozaiklasztika műszerkészletének 2,7 mm-es csővésőjével vettük.

Szövettani metszeteinket Safranin-O-val, s hematoxilinnel eosinnal festettük meg. Különleges hangsúlyt fektetve a Safranin-O-val történő festés eredményeire, a porcdegeneráció stádiumát a Mankin szerinti szövettani pontrendszer szerint értékeltük (26).

Ezt a rendszert használva, a felszín integritását, szerkezeti és cellularis eltéréseket, a matrix festődését, valamint a porc-csont határvonal (tidemark) integritását értékeltük.

A porckeménység és a Mankin pontrendszer közötti összefüggés vizsgálatára lineris regressziós analízist



2.ábra. Összefüggés a Mankin pontok és a nyírási együtthatóval jellemzett porckeményesség között

használtunk. A Mankin pontrendszer és a mért ízületi porckeményesség közötti összefüggés mértékét a korrelációs együtthatóval határoztuk meg, R^2 .

EREDMÉNYEK

Az átlagos porckeményesség a femuron nagyobb volt, mint a patellán vagy a tibián. A femuron a condylusokat borító porc keményebb volt, mint a patellaris felszínt képező. A térdízületben mért porckeményesség a lateralis femur condyluson volt a legnagyobb, míg a legkisebb a medialis tibia condyluson. A femur medialis condyluson ez az érték 5,5 N volt, míg a lateralis condyluson az érték 4,8 N volt, a legnagyobb a térdízületben belül. A trochlea femorison, medialisán mért érték 4,2 N, míg lateralisán 4,9 N volt. A tibia medialis condyluson 2,4 N, míg a lateralis condyluson 3,2 N adódott. A térdkalács átlagos porckeményessége medialisán 3,3 N, lateralisán 3,1 N. A Mankin pontértékek 1 és 8 között változtak az adott mérési helyek szövettani mintáiban. Degenerációs jel volt a Safranin-O-val történő festődés csökkenése, cellularis irregularitás, a tidemark integritásának hiánya. Szignifikáns összefüggést találtunk a mért porckeményesség és a Mankin pontrendszer között négy standard mérési helyen: a trochlea femoris medialis és lateralis felszínén, a lateralis femur condyluson, valamint a medialis femur condyluson. A korrelációs koefficiens 0,66-0,83 között volt a fenti mérési helyekre vonatkozóan, mely azt jelzi,

hogy például a lateralis femur condylusból származó biopsziák Mankin pontértékeinek 71%-a szoros összefüggést mutatott az ugyanitt mért porckeményesség értékekkel. Ugyanezek az értékek a trochlea femoris lateralis felszínén 81%-nak, a medialis femur condyluson 83%-nak adódtak. A trochlea femoris medialis felszínén a korrelációs együttható $R^2=0,66$ volt.

Nem találtunk összefüggést a Mankin pontrendszer egyes, kiválasztott kategóriái (felszíni integritás, szerkezeti és cellularis eltérések, a matrix festődése, tidemark integritás) és a mért ízületi porckeményesség között.

MEGBESZÉLÉS

Az emberi ízületi porcszövet kompresszióval szembeni viselkedését különböző kísérleti körülmények között gyakran vizsgálták (2,5,18,20.). Az indentáció (deformitáció kontrollált módszer) az egyik leggyakrabban használt eljárás az ízületi porc biomechanikai tulajdonságainak meghatározására. Indentációs technikán alapuló méréseket végeztek normál (32), degeneratív (1,19,21.), valamint reparatív porcszöveten (45). Mivel az indentációs porckeményesség mérések in vivo végrehajthatóak, nagy előnyük más mérésekhez viszonyítva, hogy a vizsgálati anyagok preparációja nem szükséges, így a porcszövet esetleges mérés előtti károsodása kizárható. Bizonyított továbbá a porc teljes regenerációja az indentációs mérések után, így a módszer non destruktívnek tekinthető (17).

Ezek a tulajdonságok klinikai és diagnosztikai alkalmazásokra predesztinálják az indentációs méréseket. A napjainkban kifejlesztett arthroszkópos, indentációs vizsgálok segítségével porckeményiség szempontjából már feltérképezték a makroszkóposan ép, fiatal, elülső térdfájdalomról panaszkodó betegek ízületét (22,24). Azonban ezeknél a méréseknél nem vizsgálták a már esetlegesen jelenlévő szövettani degenerációs folyamatokat. Ezért a mi vizsgálataink célja az volt, hogy párhuzamos adatokat szolgáltatassunk ugyanazon standard térdízületi mérési helyek porckeményiségéről és szövettani statusáról.

Számos kísérletes tanulmány demonstrálta különböző állatfajok térdízületi porckeményiségének topográfiai variációit (4). Az emberi térdízület porcának biomechanikai tulajdonságait indentációs mérésekkel jellemezték (4). Swan és Seedhom (42), valamint Yao és Seedhom (46) számoltak be arról, hogy a legkeményebb hialinporcot a lateralis femur condyluson találták. A trochlea femoris porca puhább volt, míg a legpuhább porc a tibia medialis condylusának meniscusok által fedett részén volt található. Athanasiou és munkatársai (4) bifázisos indentációs módszerrel mérték az emberi térdízület femoralis porcának tulajdonságait, s azt találták, hogy a legkeményebb porcszövet a trochlea femorison volt található. Froimson és munkatársai (9) a patellaris porcfelszín indentációs tulajdonságait vizsgálva, a lateralis felszín keményebbnek mérték, mint a medialisat.

A porcvastagság keménységre gyakorolt hatását nem vizsgáltuk, hiszen az indentációs vizsgáló 1 mm-es átmérője a fejlesztők szerint kiküszöböli ezen hatásokat.

Az ellentmondó értékelések (36,37,43) ellenére a Mankin és munkatársai (26) által kifejlesztett pontrendszer a leggyakrabban használt a porcszöveti degeneráció jellemzésére. Ezt a kombinált rendszert alkalmazva, a felszín integritása, szerkezeti és cellularis eltérések, a matrix festődése, valamint a tidemark integritása értékelhető. Így ez a rendszer informál az ízületi porc felszíni és mélyebb rétegeiről, jellemezve a proteoglikán-kollagén matrix integritását. Mindazonáltal a chondropathia patellae szövettani jeleit (a felszíni matrix duzzanata, függőleges matrix hasadások a határvonalon (30)) ez a pontrendszer nem teljesen veszi figyelembe. Továbbá a szöveti degeneráció fokozódásával párhuzamosan a Mankin-féle rendszer nem nyújt progresszív pontérték növekedést.

Vizsgálataink során szignifikáns összefüggést találtunk az ízületi hialinporc keménysége és a porcdegeneráció szövettani stádiuma között a trochlea femoris medialis és lateralis felszínén, valamint a medialis és lateralis femur condyluson. Jelen tanulmányunkban csak az Outerbridge (38) szerint makroszkóposan intact, illetve I-II-es fokban degenerált porcfelszíneket vizsgáltuk. Tapasztalataink szerint a Mankin-féle pontrendszer segítségével lehetséges különbséget tenni a normál és korai degenerációs stádiumban lévő porcszövet között.

Eredményeink korrelálnak azon eredményekkel, me-

lyek szerint a rövid idejű kompressziós keménységmérések (amikor nincs idő az intersticiális folyadék áramlására) esetén az ízületi porc válasza elsődlegesen a kollagén rosthálózat integritásán alapul (16). Mivel az indentációs mérés során okozott konstans deformitás a felszíni kollagén rostok feszülését okozza, a tenziós keménység, melyet a felszíni kollagén rostok hoznak létre, fontos szerepet játszik az eredmények alakításában. A proteoglikánok szerepe indirekt, mivel ozmotikus nyomásuk segítségével ugyancsak a kollagén hálózat keménységét modulálják. Több tanulmány is bizonyítja ezt, amelyekben enzimatis proteoglikán emésztés után, a porc puhulása a kollagén hálózat abnormális szerkezeti válaszána volt köszönhető (5). Ezt bizonyítja továbbá, hogy a proteoglikán emésztés önmagában nem befolyásolta a porc keménységét. Ezzel szemben a kollagén rosthálózat kísérletes lebontása a porckeményiség csökkenését okozta (5). Állatkísérletek, melyekben mesterséges porcdegenerációt hoztak létre, segítettek megérteni az összefüggést a degeneráció mértéke és a biomechanikai tulajdonságok között. Az elülső keresztszalag átvágásával létrehozott ízületi instabilitás és a korai porckopás közötti lehetséges összefüggés a leggyakrabban használt modell az ízületi porc degeneratív elváltozásainak tanulmányozására (1,40). A porcdegeneráció precíz kvantitatív értékelése, valamint ennek viszonya a biomechanikai tulajdonságok változásaihoz-további kihívás a kutatók számára (40).

Eredményeinket összegezve megállapíthatjuk, hogy a makroszkóposan ép vagy I-II. fokban degenerált porcszövetben mért keménység értékek négy standard mérési helyen szignifikáns összefüggést mutattak a szövettani degeneráció mértékével. Tapasztalataink szerint a méréseknek csak a porcdegeneráció korai stádiumában van konzekvenciája, hiszen ilyenkor hozzájárulhatnak egy korai diagnózis felállításához, illetve preventív műtétek indikációjának részét képezhetik.

KÖSZÖNETNYILVÁNÍTÁS

Ezúton szeretnénk köszönetet mondani Módis László professzor úrnak, a DEOEC Anatómiai Tanszék munkatársának, a szövettani metszetek elkészítésében nyújtott segítségével.

IRODALOM

1. Altman RD, Tenenbaum J, Latta L, et al. Biomechanical and biochemical properties of dog cartilage in experimentally induced osteoarthritis. *Ann Rheum Dis* 1984;43:83-90.
2. Armstrong CG, Mow VC. Variations in the intrinsic mechanical properties of human articular cartilage with age, degeneration, and water content. *J Bone Joint Surg [Am]* 1982;64:88-94.
3. Arokoski J, Jurvelin J, Kiviranta I, Tammi M, Helminen HJ. Softening of the lateral condyle articular cartilage in the canine knee joint after long distance (up to 40 km/day) running training lasting one year. *Int J Sports Med* 1994;15:254-60.

4. Athanasiou KA, Rosenwasser MP, Buckwalter JA, et al. Interspecies comparisons of in situ intrinsic mechanical properties of distal femoral cartilage. *J Orthop Res* 1991 ;9:330-40.
5. Bader DL, Kempson GE. The short-term compressive properties of adult human articular cartilage. *Biomed Mater Eng* 1994;4:245-56.
6. Bonassar LJ, Frank EH, Murray JC, et al. Changes in cartilage composition and physical properties due to stromelysin degradation. *Arthritis Rheum* 1995;38:173-83.
7. Dougados M, Ayral X, Lustrat V, et al. The SFA system for assessing articular cartilage lesions at arthroscopy of the knee. *Arthroscopy* 1994;10:69-77.
8. Ficat RP, Philippe J, Hungerford DS. Chondromalacia patellae: a system of classification. *Clin Orthop* 1979;144:55-62.
9. Froimson MI, Ratcliffe A, Gardner TR, Mow VC. Differences in patellofemoral joint cartilage material properties and their significance to the etiology of cartilage surface fibrillation. *Osteoarthritis Cart* 1997;5:377-86.
10. Harris ED Jr, Parker HG, Radin EL, Krane SM. Effects of proteolytic enzymes on structural and mechanical properties of cartilage. *Arthritis Rheum* 1972;15:497- 503.
11. ICRS. The cartilage standard evaluation form/knee. *ICRS Newsletter*, Issue 1 (Spring 1998) 1998;5-8.
12. Insall J, Falvo KA, Wise DW. Chondromalacia patellae. A prospective study. *J Bone Joint Surg [Am]* 1976;58:1-8.
13. Jurvelin J, Kiviranta I, Arokoski J, et al. Indentation study of the biochemical properties of articular cartilage in the canine knee. *Eng Med* 1987;16:15-22.
14. Jurvelin J, Kiviranta I, Saamanen AM, et al. Partial restoration of immobilization- induced softening of canine articular cartilage after remobilization of the knee (stifle) joint. *J Orthop Res* 1989;7:352-8.
15. Jurvelin J, Kiviranta I, Tammi M, Helminen JH. Softening of canine articular cartilage after immobilization of the knee joint. *Clin Orthop* 1986;207:246-52.
16. Jurvelin J, Saamanen AM, Arokoski J, et al. Biomechanical properties of the canine knee articular cartilage as related to matrix proteoglycans and collagen. *Eng Med* 1988;17:157- 62.
17. Jurvelin J. Biomechanical properties of the knee articular cartilage under various loading conditions. Ph.D. Thesis, University of Kuopio, Finland, 1991 :1-75.
18. Kempson GE, Freeman MA, Swanson SA. The determination of a creep modulus for articular cartilage from indentation tests of the human femoral head. *J Biomech* 1971;4:239-50.
19. Kempson GE, Muir H, Swanson SA, Freeman MA. Correlations between stiffness and the chemical constituents of cartilage on the human femoral head. *Biochim Biophys Acta* 1970;215:70-7.
20. Kempson GE, Spivey CJ, Swanson SA, Freeman MA. Patterns of cartilage stiffness on normal and degenerate human femoral heads. *J Biomech* 1971 ;4:597- 609.
21. Lane JM, Chisena E, Black J. Experimental knee instability: early mechanical property changes in articular cartilage in a rabbit model. *Clin Orthop* 1979; 140:262-5.
22. Lyyra T. Development, validation and clinical application of indentation technique for arthroscopic measurement of cartilage stiffness. Ph. D. Thesis, University of Kuopio, Finland, 1998:1-99.
23. Lyyra T, Jurvelin J, Pitkanen P, et al. Indentation instrument for the measurement of cartilage stiffness under arthroscopic control. *Med Eng Phys* 1995;17:395-9.
24. Lyyra T, Kiviranta I, Vaatainen U, Helminen HJ, Jurvelin JS. In vivo characterization of indentation stiffness of articular cartilage in the normal human knee. *J Biomed Mater Res* 1999;48:482-7.
25. Manicourt DH, Thonar EJ, Pita JC, Howell DS. Changes in the sedimentation profile of proteoglycan aggregates in early experimental canine osteoarthritis. *Connect Tissue Res* 1989;23:33-50.
26. Mankin HJ, Dorfman H, Lippiello L, Zarins A. Biochemical and metabolic abnormalities in articular cartilage from osteoarthritic human hips. II. Correlation of morphology with biochemical and metabolic data. *J Bone Joint Surg [Am]* 1971;53:523-37.
27. Mankin HJ, Thrasher AZ. Water content and binding in normal and osteoarthritic human cartilage. *J Bone Joint Surg [Am]* 1975;57:76-80.
28. Maroudas AI. Balance between swelling pressure and collagen tension in normal and degenerate cartilage. *Nature* 1976;260:808-9.
29. McDevitt CA, Muir H. Biochemical changes in the cartilage of the knee in experimental and natural osteoarthritis in the dog. *J Bone Joint Surg [Br]* 1976;58:94-101.
30. Meachim G, Bentley G. Horizontal splitting in patellar articular cartilage. *Arthritis Rheum* 1978;21 :669-74.
31. Meachim G, Sheffield SR. Surface ultrastructure of mature adult human articular cartilage. *J Bone Joint Surg [Br]* 1969;51 :529-39.
32. Mow VC, Holmes MH, Lai WM. Fluid transport and mechanical properties of articular cartilage: a review. *J Biomech* 1984;17:377-94.
33. Mow VC, Ratcliffe A, Rosenwasser MP, Buckwalter JA. Experimental studies on repair of large osteochondral defects at a high weight bearing area of the knee joint: a tissue engineering study. *J Biomech Eng* 1991 ;113:198-207.
34. Myers SL, Dines K, Brandt DA, et al. Experimental assessment by high frequency ultrasound of articular cartilage thickness and osteoarthritic changes. *J Rheumatol* 1995;22: 109-16.
35. Noyes FR, Stabler CL. A system for grading articular cartilage lesions at arthroscopy. *Am J Sports Med* 1989;17:505-13.
36. Ostergaard K, Andersen CB, Petersen J, et al. Validity of histopathological grading of articular cartilage from osteoarthritic knee joints. *Ann Rheum Dis* 1999;58:208-13.
37. Ostergaard K, Petersen J, Andersen CB, et al. Histologic/histochemical grading system for osteoarthritic articular cartilage: reproducibility and validity. *Arthritis Rheum* 1997;40: 1766-71.
38. Outerbridge RE. The etiology of chondromalacia patellae. *J Bone Joint Surg [Br]* 1961 ;43:752-7.
39. Sah RL, Yang AS, Chen AC, et al. Physical properties of rabbit articular cartilage after transection of the anterior cruciate ligament. *J Orthop Res* 1997;15:197-203.
40. Setton LA, Elliott DM, Mow VC. Altered mechanics of cartilage with osteoarthritis: human osteoarthritis and an experimental model of joint degeneration. *Osteoarthritis Cart* 1999;7:2-14.
41. Setton LA, Mow VC, Howell DS. Mechanical behavior of articular cartilage in shear is altered by transection of the anterior cruciate ligament. *J Orthop Res* 1995;13:473-82.
42. Swann AC, Seedhom BB. The stiffness of normal articular cartilage and the predominant acting stress levels: implications for the aetiology of osteoarthritis. *Br J Rheumatol* 1993;32: 16-25.
43. van der Sluijs JA, Geesink RG, van der Linden AJ, et al. The reliability of the Mankin score for osteoarthritis. *J Orthop Res* 1992;10:58-61.
44. Weiss C, Rosenberg L, Helfet AJ. An ultrastructural study of normal young adult human articular cartilage. *J Bone Joint Surg [Am]* 1968;50:663-74.
45. Whipple TL, Caspari R8, Meyers JF. Arthroscopic laser meniscectomy in a gas medium. *Arthroscopy* 1985;1:2-7.
46. Yao JQ, Seedhom BB. Mechanical conditioning of articular cartilage to prevalent stresses. *Br J Rheumatol* 1993;32:956-65.