

## Artículo de revisión

## Reparación del cartílago articular: Técnicas basadas en cultivos celulares

J. Clemente Ibarra-Ponce de León,\* M. Cristina Velasquillo-Martínez,\*\* Aldo Izaguirre,\*\*\* Enrique Villalobos-Córdova,\*\*\*\* María Masri,\*\*\*\*\* Luis Guillermo Ibarra-Ibarra\*\*\*\*\*

Instituto Nacional de Rehabilitación

**RESUMEN.** *Introducción:* El campo de la reparación del cartílago articular sigue avanzando después del advenimiento de las tecnologías basadas en células y del implante de condrocitos en una etapa. Este tipo de estrategias se ha difundido ampliamente en países desarrollados, y es de especial interés los resultados clínicos, histológicos y funcionales que ofrecen. *Objetivo:* Describir la evidencia literaria acerca de las técnicas de reparación del cartílago articular a través de una revisión de la literatura. *Resultados y discusión:* Se ha probado la utilidad de la reparación del cartílago articular a través de técnicas de primera generación como estimulación de la médula ósea, trasplantes osteocondrales autólogos y de cadáver, así como el implante de condrocitos autólogos. Sin embargo, nuevas técnicas de segunda y tercera generación basadas en células se desarrollan actualmente, y son utilizadas clínicamente con los objetivos de disminuir la morbilidad operatoria, la capacidad de un abordaje en una sola etapa, y para mejorar la viabilidad y la durabilidad de tejido de reparación del cartílago. Estas técnicas podrán ser usadas para el tratamiento de lesiones condrales grandes en pacientes jóvenes y en deportistas de alto rendimiento, pero se requieren estudios clínicos sorteados controlados para confirmar la utilidad de estos procedimientos.

**Palabras clave:** cartílago, articulación, cultivo, modelo experimental.

**ABSTRACT.** *Introduction:* The field of cartilage repair continues to advance after cell based and single-stage chondrocyte transplantation technologies. These strategies have been widely used in developed countries, and clinical, histologic and functional outcomes are of special interest. *Objective:* To describe evidence of cartilage repair techniques by means of a literature review. *Results and discussion:* Cartilage restoration through osteochondral allografting or autologous chondrocyte implantation (ACI) had proven efficacy, but technical and biologic limitations to these procedures exist. However, newer second-generation and third-generation cell-based technologies are being developed and tested clinically with purposes of decreasing operative morbidity, the ability to use a single-stage approach, and improve the viability and durability of cartilage repair tissue. These techniques can be used for treatment of important chondral defects in young patients and elite athletes, but well-designed randomized clinical trials should be done to confirm the value of these procedures.

**Key words:** cartilage, joint, cultivate tissue, experimental model.

\* Médico Especialista, Jefe del Servicio de Ortopedia del Deporte y Artroscopia y de la Unidad de Ingeniería de Tejidos, Terapia Celular y Medicina Regenerativa.

\*\* Maestra en Ciencias, Investigadora Principal y Coordinadora de la Unidad de Ingeniería de Tejidos, Terapia Celular y Medicina Regenerativa.

\*\*\* Residente de Ortopedia INR y Coordinador Médico de la Edición en Inglés. Acta Ortopédica Mexicana.

\*\*\*\* Adscrito del Servicio de Ortopedia del Deporte y Artroscopia del Instituto Nacional de Rehabilitación.

\*\*\*\*\* MVZ, MSc, PhD, DACVIM, Profesor de tiempo completo de FMVZ, UNAM.

\*\*\*\*\* Médico Especialista, Director General del Instituto Nacional de Rehabilitación.

Los Dres. Ibarra y Velasquillo, comparten la autoría corresponsal

Dirección para correspondencia:

Dr. J. Clemente Ibarra-Ponce de León. Instituto Nacional de Rehabilitación. Torre de Investigación 5° piso. Av. México-Xochimilco Núm. 289, Col. Arenal de Guadalupe. CP 14389. Tel: 5999-0955, Fax. 5603-9015

Correo: cibarra@inr.gob.mx; clementebarra@yahoo.com; mvelasquillo@gmail.com

El campo de la reparación del cartílago articular sigue avanzando después del advenimiento de las tecnologías basadas en células y del implante de condrocitos en una etapa. Se ha probado la utilidad de la reparación del cartílago articular a través de técnicas de primera generación como estimulación de la médula ósea, trasplantes osteocondrales autólogos y de cadáver, así como el implante de condrocitos autólogos. Sin embargo, nuevas técnicas de segunda y tercera generación basadas en células se desarrollan actualmente y son utilizadas clínicamente con objeto de disminuir la morbilidad operatoria, la capacidad de un abordaje en una sola etapa y para mejorar la viabilidad y la durabilidad de tejido de reparación del cartílago.

El objetivo de esta revisión de la literatura es mencionar los avances en las técnicas que aplican condrocitos autólogos a los defectos condrales sintomáticos y describir el nivel de evidencia que compare dichas técnicas con otros tipos de tratamiento para la reparación del cartílago articular.

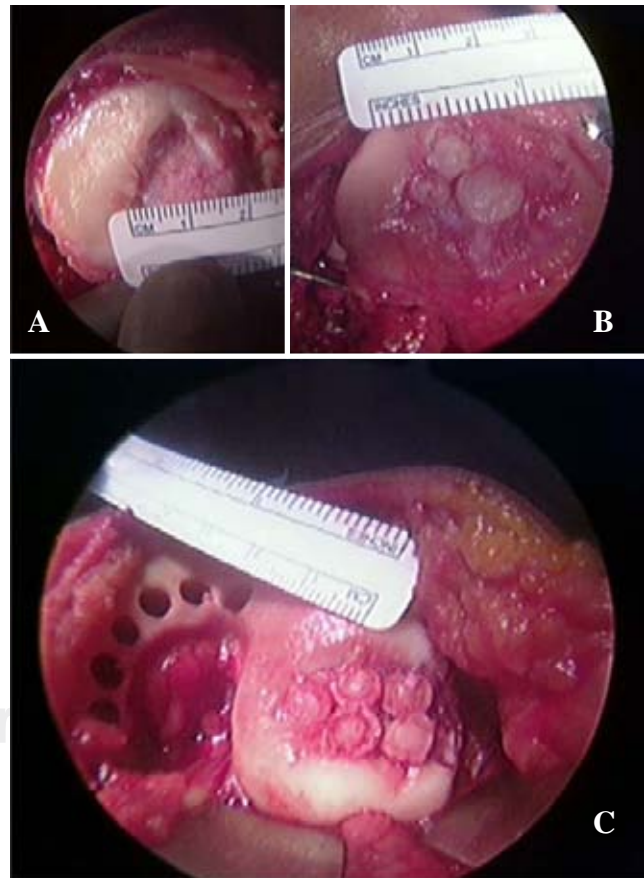
#### Tratamiento de los defectos del cartílago articular: 1era, 2da y 3era generación

Las lesiones del cartílago articular han sido encontradas hasta en un 63% de los pacientes que se han sometido a artroscopía de la rodilla.<sup>1-3</sup> Aun cuando la mayoría de las lesiones son silentes, las lesiones sintomáticas representan un escenario de morbilidad significativa y de difícil tratamiento. La toma de decisiones en el contexto de una lesión condral con base en la geometría del defecto y las características del paciente, han cambiado en los últimos años de manera lineal; de medidas paliativas (desbridamiento) a reparativas (fibrocartílago por estimulación de la médula ósea) o restauradoras.<sup>4</sup> La reparación del cartílago articular, al utilizar técnicas como el trasplante osteocondral o implante de condrocitos autólogos (ACI por sus siglas en inglés), ha probado ser eficaz, pero existen limitaciones técnicas y biológicas en cada uno de estos procedimientos. Una plétora de técnicas emergentes han sido descritas para avanzar de la primera generación de reparación del cartílago articular y de las técnicas de restauración para ayudar a minimizar las complicaciones con diferentes objetivos en mente: resultados clínicos y funcionales predecibles, técnicas quirúrgicas eficientes, tecnología costo-efectiva, baja morbilidad, procedimientos en una etapa y la creación de tejido de reparación duradero.

La primera generación de las técnicas de restauración del cartílago articular se enfoca en el uso de injertos de cadáver y implante de células en procedimientos de 2 etapas. El ACI utiliza 2 aspectos importantes de la estrategia del implante de condrocitos: el uso de células autólogas y el potencial de regenerar tejido similar al cartílago articular normal.<sup>5</sup> La mejoría en los síntomas y la durabilidad del ACI han sido demostradas en múltiples estudios que investigan su aplicación en la rodilla, con infrecuentes aplicaciones a la cabeza humeral y el astrágalo.<sup>6,7</sup> El potencial

de crear cartílago similar al hialino ha sido puesto en duda por diversas publicaciones que revelan fibrocartílago o combinaciones de tejido hialino y fibrocartilaginoso. Las limitantes del ACI, incluyen la necesidad de 2 procedimientos, períodos relativamente largos para la recuperación y la lenta maduración del tejido derivado de los condrocitos implantados.<sup>8,9</sup> Los eventos adversos reportados por la FDA son la falla, delaminación, hipertrofia, que han resultado en una frecuencia de reintervención del 15 al 30% de los pacientes.<sup>10</sup> Además de los síntomas mecánicos, la morbilidad del sitio de donación perióstica de la tibia, ocasionalmente puede ser problemática.

El injerto osteocondral, resuperficializa grandes defectos condrales con cartílago hialino maduro (*Figura 1*). Se han reportado buenos resultados en más de 70% de los trasplantes osteocondrales con seguimiento a largo plazo.<sup>11,12</sup> El uso patelofemoral es limitado, dada la dificultad en adquirir adecuada congruencia de los contornos y de las diferentes técnicas de fijación. Los bordes del injerto no se incorporan habitualmente al tejido nativo y las fisuras entre el sitio receptor y el tejido injertado persisten. Las consideraciones técnicas, que incluyen la preservación del injerto, la manipulación y los procedimientos de impactación, tienen im-



**Figura 1.** Traslante osteocondral. A) Medición del defecto de patela; B) Aplicación de injertos cilíndricos osteocondrales a la patela; C) Aplicación de injertos cilíndricos osteocondrales al cóndilo femoral lateral.

plicaciones graves en la viabilidad del injerto, y la supervivencia de los condrocitos.<sup>13</sup> La preocupación de esterilidad del injerto, restricciones de abastecimiento y los altos costos, son factores que limitan el uso de injertos de cadáver.

Las llamadas técnicas de restauración del cartílago articular de segunda generación son aquellas que agregan a la técnica de Brittberg membranas en vez de periostio o como andamio para depositar condrocitos y que seleccionan los condrocitos para asegurar el cartílago de mejor calidad.<sup>14</sup> La generación de constructos tridimensionales de células-andamios, que permitan la colocación del implante celular por vías mínimamente invasivas y artroscópicas se encuentran en intenso desarrollo; estas técnicas son llamadas de tercera generación.<sup>15</sup>

Actualmente el ACI y el injerto osteocondral establecen un puente entre la cirugía paliativa del cartílago (desbridamiento) y la resuperficialización a través de la artroplastia. Ya que la historia natural de las lesiones del cartílago articular en la ausencia de síntomas es desconocida, el consenso general es que deben ser ignoradas y el paciente se debe educar en la detección de los síntomas asociados a estas lesiones. Así, encontramos ciertos escenarios que se consideran amenazas legítimas a la salud de la articulación de la rodilla. Esto incluye los pacientes que han tenido meniscectomía subtotal (especialmente lateral) y deformidad angular asociada al defecto condral.<sup>16-18</sup>

## Evidencia en técnicas de reparación del cartílago articular.

### Implante autólogo de condrocitos comparado con otras técnicas de reparación del cartílago articular

La forma en que se abordan las lesiones del cartílago articular ha cambiado a partir de los resultados preliminares de 23 pacientes operados con el ACI. Inicialmente la primera serie que reportó éxito con el implante de condrocitos cultivados derivados de una biopsia y posteriormente implantados demostró buenos a excelentes resultados en 14 de 16 con implantes del cóndilo femoral y buenos en 2 de 7 con implantes patelares.<sup>5</sup> Horas realizó un estudio clínico aleatorizado y comparó el trasplante de cilindros osteocondrales y el ACI, y encontró similares resultados clínicos a 2 años de seguimiento.<sup>8</sup>

Bentley realizó un estudio clínico aleatorizado en donde comparó el implante autólogo de condrocitos contra la mosaicoplastia para tratar las lesiones del cartílago en 100 pacientes con 31 años en promedio con un seguimiento promedio de 19 meses (12-26). Los resultados clínicos encontraron 88% de mejoría después del ACI y 69% después de la mosaicoplastia. El 82% de los pacientes intervenidos con ACI reportó resultados buenos o excelentes por artroscopía contra 34% para la mosaicoplastia.<sup>19</sup>

El Dr. Tom Minas, realizó un estudio prospectivo para determinar la efectividad clínica del implante autólogo de

condrocitos con lesiones en la articulación patelo-femoral, en 45 pacientes con por lo menos 2 años de seguimiento. Encontraron resultados buenos o excelentes en 71% y 8 fallas del implante en patela o tróclea.<sup>20</sup>

Se realizó un estudio multicéntrico del resultado clínico obtenido a 5 años de seguimiento con el implante de condrocitos autólogos, en pacientes de 37 años de edad en promedio con lesiones del cartílago articular de 4.9 cm<sup>2</sup> en Estados Unidos de Norteamérica. Reportando mejoría clínica en 62 pacientes de 87, 6 sin mejoría y 19 que empeoraron después del seguimiento.<sup>21</sup>

Dozin y colaboradores realizaron un estudio clínico aleatorio de los resultados clínicos del implante autólogo de condrocitos y mosaicoplastia: no encontraron diferencias estadísticamente significativas, posiblemente debido a la pérdida del 48% de pacientes en el seguimiento.<sup>22</sup>

La juventud, presupone un buen pronóstico en el desenlace de la reparación del cartílago articular con técnicas basadas en células. En este contexto, se realizó el estudio multicéntrico de una cohorte de 37 pacientes menores de 18 años, en donde reportaron mejoría con el implante de condrocitos autólogos por lo menos a 2 años de seguimiento.<sup>23</sup>

Mithöfer realizó un estudio en 45 jugadores de fútbol soccer a 41 meses de seguimiento después de trasplante de condrocitos autólogos y evaluó la actividad deportiva y el regreso al deporte. El 72% de estos jugadores reportaron resultados buenos o excelentes al seguimiento; el 33% regresó al deporte (83% jugadores competitivos y 16% de los jugadores recreacionales). De los que regresaron a jugar, el 80% regresó al mismo nivel de juego y el 87% permanecieron jugando a 52 meses de seguimiento postoperatorio. Encontraron mejores resultados en pacientes jóvenes con períodos preoperatorios cortos.<sup>24</sup>

El Dr. Knutsen y colaboradores, compararon los resultados obtenidos a 2 y 5 años, de dos grupos sometidos aleatoriamente a implante de condrocitos autólogos o microfracturas y midieron los aspectos clínicos con el sistema ICRS, Lysholm, SF-36 y Tegner, las radiografías fueron medidas utilizando la escala de Kellgren y Lawrence. A dos y cinco años, ambos grupos mejoraron en relación al estado preoperatorio y presentaron un resultado clínico satisfactorio a cinco años del 77%. Radiográficamente encontraron osteoartritis en 1/3 de los pacientes intervenidos y no encontraron diferencias significativas entre ambas técnicas.<sup>25,26</sup>

Los Dres. Saris y Vanlauwe, dirigieron un estudio multicéntrico aleatorio para comparar los resultados clínicos e histológicos de un procedimiento denominado CCI (Characterized Chondrocyte Implantation) y de microfracturas en lesiones condrales III y IV de los cóndilos femorales y midieron el desenlace con criterios histológicos y clínicos. La reparación histológica fue mejor en el tratamiento con CCI, que en las microfracturas a 2 años de seguimiento; sin embargo el resultado clínico fue similar para los dos grupos intervenidos.<sup>27</sup>



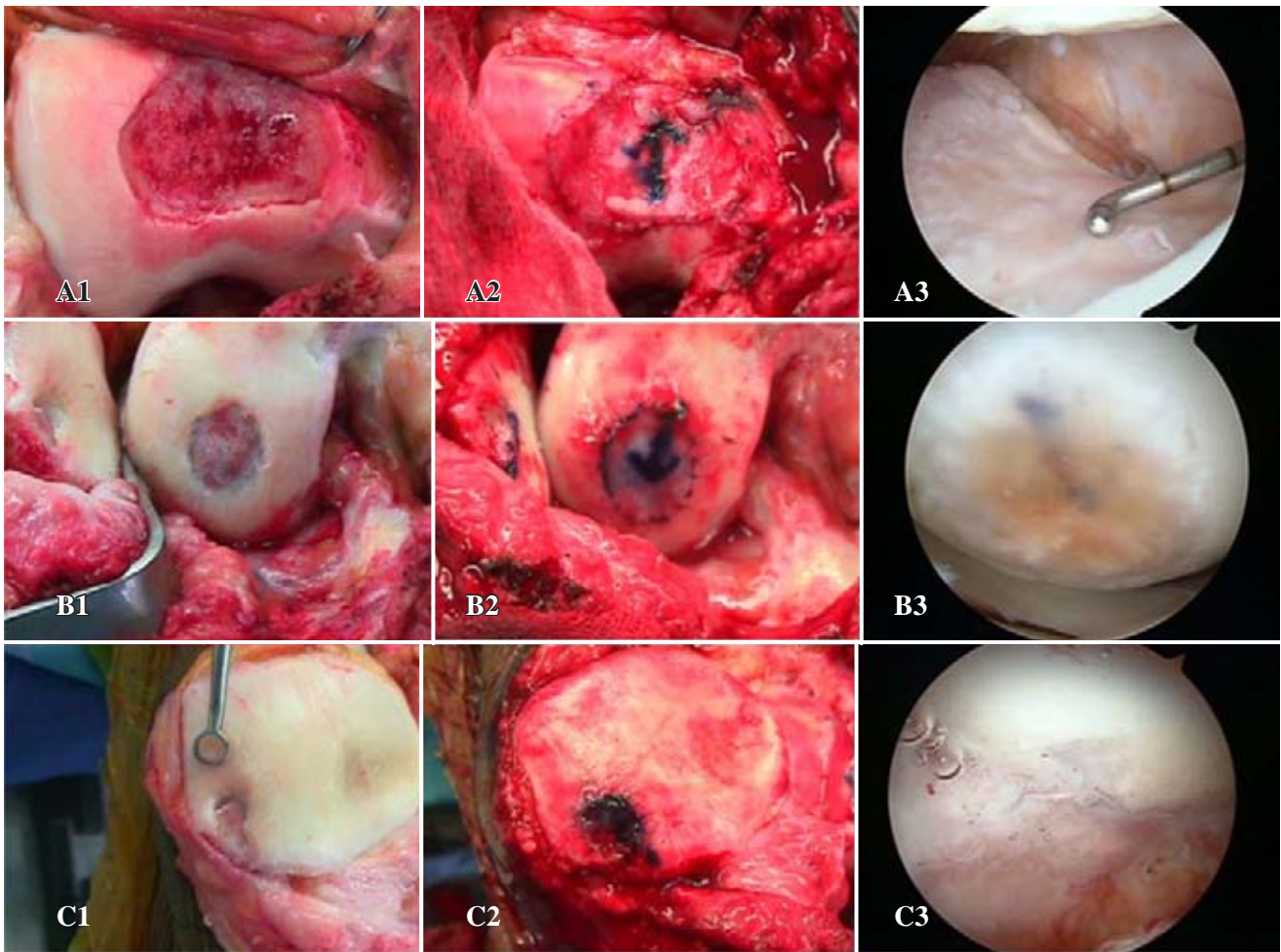
**Implante autólogo de condrocitos auxiliado con matrices**

Bartlett realizó un estudio en donde el implante de condrocitos autólogos convencional fue comparado con el implante de condrocitos auxiliado de una bicapa de matriz de colágena I y III, en un ensayo clínico aleatorizado de 91 pacientes, y no encontraron diferencias significativas en resultados clínicos, hipertrofia y de número de reintervenciones (Figura 2).<sup>28</sup>

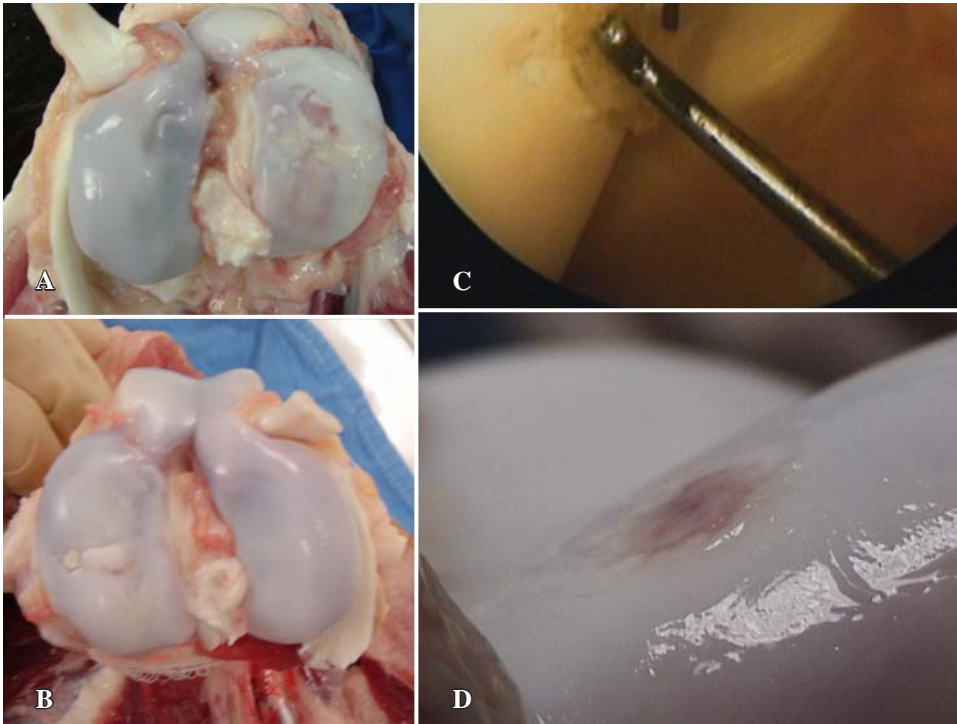
Marcacci reportó los resultados obtenidos con un implante de condrocitos con un injerto de bioingeniería, basado en un derivado del ácido hialurónico, en un estudio multicéntrico de 141 pacientes, en un seguimiento de 2 a 5 años. Encontraron 91% de mejoría con resultados artroscópicos normales o casi normales en 96.4% (no a todos los pacientes se les hizo segunda vista) y con cartílago similar al hialino en los pacientes en quienes se realizó biopsia.<sup>29</sup>

El grupo de colaboradores de Alberto Gobbi, utilizaron un andamio de hialuronato, sembrado con condrocitos autólogos en 32 pacientes con lesiones de la tróclea con un promedio de 4.7 cm<sup>2</sup>. Encontraron mejoría clínica después del implante al seguimiento de 2 años. En la evaluación por resonancia magnética a los 2 años, encontraron cartílago casi normal en el 71% de los pacientes tratados y pudieron realizar biopsias en 6 pacientes y reportaron resultados histológicos casi normales.<sup>30</sup>

Ossendorf y colaboradores, utilizaron una andamio de un gel reabsorbible para implantar condrocitos autólogos en lesiones condrales traumáticas y degenerativas en 40 pacientes con 2 años de seguimiento y utilizaron el sistema Cincinnati, Lysholm, KOOS, SF-36 así como el análisis histológico de las biopsias tomadas en el seguimiento. Encontraron mejoría significativa en las escalas evaluadas y en la tinción utilizada en las biopsias mostró adecuada integración del injerto y formación de tejido cartilaginoso (Figura 3).<sup>31</sup>



**Figura 2.** A1) Defecto troclear de 3 x 4 cm, desbridamiento abierto y bordes de cartílago estables; A2) Aplicación de parche de colágena I/III de porcino y condrocitos cultivados; A3) Tejido de reparación a los 3 meses; B) defecto en cóndilo; y C) defecto en patela con mismos tratamientos (Cortesía de Joseph Berman M.D., Arlington, Texas).



**Figura 3.** A) Modelo experimental porcino (Grupo Control); B) mismo modelo, grupo experimental, obsérvese formación de cartílago hialino en defecto del cóndilo medial. C) Modelo experimental equino artroscópico, colocación de polímero con condrocitos cultivados; D) Tejido de reparación a los 2 meses.

Selmi y colaboradores lograron resultados clínicos satisfactorios al utilizar condrocitos embebidos en un hidrogel de alginato-agarosa. Aquellos pacientes que tenían lesiones mayores de 3 cm<sup>2</sup> mejoraron más que aquellos con lesiones menores. Los resultados de la escala artroscópica ICRS mejoraron en promedio a 10 (máximo 12). En 8 pacientes (62%) de 13 encontraron cartílago hialino predominante al tomar biopsias en seguimiento.<sup>32</sup>

## Discusión

Las lesiones en el cartílago articular son francamente incapacitantes a causa del dolor intenso que ocasionan. Interesantemente, aún cuando el cartílago articular es aneural y por lo tanto la lesión por sí misma no produce dolor, el hueso subcondral contiene gran cantidad de terminaciones nerviosas y por lo tanto, una vez violada la integridad del cartílago que lo cubre, el contacto sobre la superficie ósea produce dolor intenso. Además la lesión condral activa la liberación de metaloproteinasas y una gran cantidad de sustancias pro-inflamatorias que modifican el medio ambiente local condicionando la inflamación de la membrana sinovial local, altamente vascularizada e innervada, resultando en sinovitis dolorosa y que condiciona el aumento en la producción de líquido sinovial que a su vez limita la cicatrización de la lesión.

Por estas razones, desde hace muchos años la mayoría de los tratamientos médicos y quirúrgicos dirigidos a reparar las lesiones y enfermedades del cartílago articular han ofrecido resultados poco satisfactorios. En la búsqueda de alternativas a un problema creciente e incapacitante, espe-

cialmente cuando afecta a individuos jóvenes en etapas productivas, se propuso el implante de condrocitos autólogos cultivados para tratar lesiones focales limitadas de cartílago articular. El tratamiento de las lesiones de cartílago en las articulaciones mediante el uso de condrocitos autólogos cultivados fue introducido en la práctica clínica por Brittberg y colaboradores en 1994. Desde entonces un gran número de pacientes han recibido el beneficio de este método de terapia celular tanto en Europa como en Estados Unidos y algunos países Asiáticos.

El campo de la reparación del cartílago articular progresa rápidamente y nuevas tecnologías e implantes se crean constantemente. Dichos andamios y técnicas de cultivo celular deben de probar su eficacia contra la técnica estándar de microfactura, ya que sigue siendo lógicamente simple y aplicable en una sola etapa. Las técnicas de segunda generación de reparación del cartílago articular, ofrecen buenos resultados y posiblemente sean más fáciles que las técnicas de primera generación, a pesar de que posiblemente no ofrezcan mejores desenlaces clínicos. La tecnología de tercera generación, es un objetivo ideal en la reparación del cartílago articular (formación de un injerto condral *ex vivo*), que tiene que sortear dificultades técnicas como fijación inicial, integración subcondral y desenlace a largo plazo.

## Limitantes de la factibilidad de las terapias celulares para la reparación del cartílago articular en México

El diagnóstico de una lesión de cartílago articular puede sospecharse clínicamente pero es necesario realizar es-

tudios de resonancia magnética con equipos de alta resolución para poder confirmar el diagnóstico y definir con precisión la localización y tamaño de dicha lesión. Evidentemente esto, de inicio, convierte el diagnóstico en un procedimiento de costo significativo. Ya con el diagnóstico confirmado, el paciente deberá ser sometido a un procedimiento quirúrgico. Es importante señalar que las lesiones de cartílago articular suelen acompañarse de otras lesiones en la articulación que frecuentemente son, de hecho, la causa de la lesión condral. Por ejemplo, la lesión de ligamentos con o sin inestabilidad residual y/o la lesión de uno o ambos meniscos, en el caso de la rodilla. No obstante lo anterior, dada la necesidad de esta cirugía, se puede justificar el procedimiento artroscópico que no solamente permitirá confirmar el diagnóstico de la lesión del cartílago articular, sino que permitirá al cirujano obtener una biopsia de cartílago de una región de la articulación sujeta a menor carga y fricción con los otros componentes de la articulación. Una vez obtenida una biopsia de tejido, éste deberá ser colocado en los envases especiales donde será procesado el tejido. Unas semanas más tarde, las células del paciente serán implantadas quirúrgicamente a la brevedad posible.

Como puede hacerse evidente son varios los factores limitantes del uso de estas técnicas en México y otros países en desarrollo. Por un lado, sería prácticamente imposible y prohibitivamente costoso enviar tejido y células a través de la frontera con Estados Unidos o algún país Europeo para llevar a cabo el procedimiento como se realiza en estos países. En este caso, si existieran compañías o laboratorios similares con las condiciones de bioseguridad adecuadas y certificadas por los organismos reguladores correspondientes y siguiendo los procedimientos realizados por su contraparte en EUA o Europa, la logística se podría simplificar, pero no así el costo.

Por otro lado, en el caso de las Universidades donde actualmente se realiza investigación sobre cultivo de células en nuestros países, generalmente éstas no cuentan con instalaciones apropiadas para llevar a cabo cultivos celulares en condiciones adecuadas de bio-seguridad para el trasplante en pacientes. Además, es necesario tener experiencia en el caso particular del cultivo de las células de cartílago y contar con experiencia experimental en modelos animales, demostrando de igual forma la ausencia de infecciones en los sujetos de experimentación y buenos resultados clínicos, histológicos y moleculares con el uso de las células para el tratamiento de esta patología.

#### Aplicación de terapias celulares en México

Es necesario el contar con personal médico y paramédico con la preparación necesaria y la experiencia en las diferentes disciplinas involucradas en todos los procedimientos necesarios para llevar a cabo este tipo de tratamientos. Es fundamental tener la capacidad de formar recursos humanos que participen en los diferentes aspectos

de este tipo de tratamientos. En segundo lugar, es necesario contar con instalaciones adecuadas y con los recursos necesarios para llevar a cabo estos procedimientos de manera idónea. Es indispensable que el personal involucrado demuestre su eficiencia y bioseguridad en modelos experimentales adecuados y finalmente, es fundamental el control de calidad y certificación de los procesos realizados por el grupo, así como la autorización por las organizaciones evaluadoras y reguladoras de nuestro país.

Asimismo, una forma de solucionar los problemas de logística, bioseguridad y costo, es la instalación de por lo menos una Unidad de Biotecnología en el hospital donde se lleve a cabo este tipo de procedimientos y preferentemente en el área de los quirófanos, como es el caso del Instituto Nacional de Rehabilitación que cuenta con una Unidad GMP (Good Manufacturing Practices) en el área de sus quirófanos. Además, cuenta con la autorización y financiamiento para iniciar ensayos clínicos controlados en pacientes, basados en resultados de proyectos previos en modelos experimentales.

Si las autoridades de Salud de nuestro país no se asesoran con los expertos mundiales y nacionales en este campo y regulan la implementación de estas tecnologías en nuestro país, es muy probable que sigan siendo técnicas prohibitivas por costo y logística para la mayoría de nuestros pacientes o que, por otro lado, se convierta en un campo explotado arbitrariamente por oportunistas que quieran convertir la necesidad y demanda de la gente en un gran comercio que al paso de poco tiempo, dé a su vez como resultado un gran número de pacientes con graves complicaciones a causa de iatrogenias fácilmente prevenibles.

#### Bibliografía

1. Curl WW, et al: Cartilage injuries: a review of 31,516 knee arthroscopies. *Arthroscopy* 1997; 13(4): 456-60.
2. Villalobos FEJ, Izaguirre A, Almazán A, Cruz F, Pérez-Jiménez FX, Ibarra JC: Articular cartilage injuries in 1,309 knee arthroscopies, a public health problem in a developing country? *Osteoarthritis and Cartilage*, 2007; 15(Suppl. 2): B102.
3. Widuchowski W, Widuchowski J, Trzaska T: Articular cartilage defects: study of 25,124 knee arthroscopies. *Knee* 2007; 14(3): 177-82.
4. Cole BJ, Lee SJ: Complex knee reconstruction: articular cartilage treatment options. *Arthroscopy* 2003; 19 Suppl 1: 1-10.
5. Brittberg M, et al: Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 1994; 331(14): 889-95.
6. Romeo AA, et al: Autologous chondrocyte repair of an articular defect in the humeral head. *Arthroscopy* 2002; 18(8): 925-9.
7. Giannini S, et al: Arthroscopic autologous chondrocyte implantation in osteochondral lesions of the talus: surgical technique and results. *Am J Sports Med* 2008; 36(5): 873-80.
8. Horas U, et al: Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial. *J Bone Joint Surg Am* 2003; 85-A(2): 185-92.
9. Peterson L, et al: Autologous chondrocyte transplantation. Biomechanics and long-term durability. *Am J Sports Med* 2002; 30(1): 2-12.



10. Wood JJ, et al: Autologous cultured chondrocytes: adverse events reported to the United States Food and Drug Administration. *J Bone Joint Surg Am* 2006; 88(3): 503-7.
11. Emmerson BC, et al: Fresh osteochondral allografting in the treatment of osteochondritis dissecans of the femoral condyle. *Am J Sports Med* 2007; 35(6): 907-14.
12. Karataglis D, Learmonth DJ: Management of big osteochondral defects of the knee using osteochondral allografts with the MEGA-OATS technique. *Knee* 2005; 12(5): 389-93.
13. Pylawka TK, et al: Impaction affects cell viability in osteochondral tissues during transplantation. *J Knee Surg* 2007; 20(2): 105-10.
14. Kon E, et al: Second generation issues in cartilage repair. *Sports Med Arthrosc* 2008; 16(4): 221-9.
15. Hettrich CM, Crawford D, Rodeo SA: Cartilage repair: third-generation cell-based technologies—basic science, surgical techniques, clinical outcomes. *Sports Med Arthrosc* 2008; 16(4): 230-5.
16. Englund M, Lohmander LS: Risk factors for symptomatic knee osteoarthritis fifteen to twenty-two years after meniscectomy. *Arthritis Rheum* 2004; 50(9): 2811-9.
17. Zhai G, et al: Correlates of knee pain in older adults: Tasmanian older adult cohort study. *Arthritis Rheum* 2006; 55(2): 264-71.
18. Sharma L, et al: Relationship of meniscal damage, meniscal extrusion, malalignment and joint laxity to subsequent cartilage loss in osteoarthritic knees. *Arthritis Rheum* 2008; 58(6): 1716-26.
19. Bentley G, et al: A prospective, randomized comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J Bone Joint Surg Br* 2003; 85(2): 223-30.
20. Minas T, Bryant T: The role of autologous chondrocyte implantation in the patellofemoral joint. *Clin Orthop Relat Res* 2005; (436): 30-9.
21. Browne JE, et al: Clinical outcome of autologous chondrocyte implantation at 5 years in US subjects. *Clin Orthop Relat Res* 2005; (436): 237-45.
22. Dozin B, et al: Comparative evaluation of autologous chondrocyte implantation and mosaicplasty: a multicentered randomized clinical trial. *Clin J Sport Med* 2005; 15(4): 220-6.
23. Micheli LJ, et al: Articular cartilage defects of the distal femur in children and adolescents: treatment with autologous chondrocyte implantation. *J Pediatr Orthop* 2006; 26(4): 455-60.
24. Mithofer K, et al: Articular cartilage repair in soccer players with autologous chondrocyte transplantation: functional outcome and return to competition. *Am J Sports Med* 2005; 33(11): 1639-46.
25. Knutsen G, et al: A randomized trial comparing autologous chondrocyte implantation with microfracture. Findings at five years. *J Bone Joint Surg Am* 2007; 89(10): 2105-12.
26. Knutsen G, et al: Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomized trial. *J Bone Joint Surg Am* 2004; 86-A(3): 455-64.
27. Saris DB, et al: Characterized chondrocyte implantation results in better structural repair when treating symptomatic cartilage defects of the knee in a randomized controlled trial versus microfracture. *Am J Sports Med* 2008; 36(2): 235-46.
28. Bartlett W, et al: Autologous chondrocyte implantation versus matrix-induced autologous chondrocyte implantation for osteochondral defects of the knee: a prospective, randomized study. *J Bone Joint Surg Br* 2005; 87(5): 640-5.
29. Marcacci M, et al: Articular cartilage engineering with Hyalograft C: 3-year clinical results. *Clin Orthop Relat Res* 2005; (435): 96-105.
30. Gobbi A, et al: Patellofemoral full-thickness chondral defects treated with Hyalograft-C: a clinical, arthroscopic, and histologic review. *Am J Sports Med* 2006; 34(11): 1763-73.
31. Ossendorf et al: Treatment of posttraumatic and focal osteoarthritic cartilage defects of the knee with autologous polymer-based three-dimensional chondrocyte grafts: 2-year clinical results. *Arthritis Res Ther* 2007; 9(2): R41.
32. Selmi TA, et al: Autologous chondrocyte implantation in a novel alginate-agarose hydrogel: outcome at two years. *J Bone Joint Surg Br* 2008; 90(5): 597-604.