

Sejtterápia a térdízület degeneratív megbetegedéseiben

Dojcsákné Kiss-Tóth Éva, Papp Miklós dr., Juhászné Szalai Adrienn,
Koska Péter, Barkai László dr., Fodor Bertalan dr.

Miskolci Egyetem Egészségügyi Kar Nanobiotechnológiai és Regeneratív Medicina Tanszék, Miskolc; Borsod-Abaúj-Zemplén Megyei Kórház és Egyetemi Oktatókórház, Ortopéd Sebészeti és Képző Diagnosztikai Osztály, Miskolc; Miskolci Egyetem Egészségügyi Kar Elméleti Egészségtudományi Tanszék, Miskolc

Összefoglalás: A degeneratív ízületi betegségek, úgymint az osteoarthritis jelentős egészségügyi probléma az időskorúak, és egyre gyakrabban a fiatalok körében is. A rendelkezésre álló műtéti eljárások azonban csak több szempont figyelembe vételével alkalmazhatóak és nem jelentenek végeleges gyógyulást a beteg számára. Az 1990-es évek óta a körülírt ízületi kopásoknál alkalmazott autológ porcsejt beültetés érvényességét már humán eredmények is igazolják, osteoarthritisban való alkalmazhatósága azonban a mai napig kétséges. Az *in vitro* és *ex vivo* sejtes kísérletek eredményei a degenerált porc sejtjeinek megfelelő regenerációs és porcképző képességéről számolnak be. Emellett humán kísérleti adatok igazolják, hogy az eljárás degeneratív megbetegedés korai stádiumában történő alkalmazásával megelőzhető az ízületek protézisizálása.

CELL-BASED THERAPY IN DEGENERATIVE DISORDERS OF THE KNEE JOINT

Degenerative joint disorders, such as osteoarthritis, represent a substantial health problem for the elderly, and are becoming increasingly significant also among the young. However, the use of currently available surgical procedures requires considering a variety of factors and cannot provide a definite cure for the patient. Although autologous chondrocyte implantation has been shown useful for the treatment of circumscribed, degenerative joint lesions in the human studies conducted since the 1990s, the value of this method is still controversial in osteoarthritis. The findings of cell-based, in vitro and ex vivo experiments confirm the adequate capability of cells present in the degenerated cartilage for regeneration and chondroplasia. Moreover, as demonstrated by experimental data from humans, total joint replacement might be prevented through using this procedure in the early stage of degenerative arthritis.

A mozgásszervi megbetegedések egyik leggyakoribb formája az arthrosis. Az arthrosis a teljes ízületi rendszert érintheti, de nagyobb az előfordulási gyakorisága a térdízületben kialakult osteoarthritisnak a 40 évtől idősebb betegekben, illetve a 60 év feletti korosztály 10%-ában már megfigyelhetőek a betegségre utaló radiológiai jelek (1). Mindezek mellett a fiatalabb korosztály is érintetté válhat, főként, ha olyan hajlamosító tényezők állnak fenn, mint a túlsúly, túlterhelés vagy korábbi porc és meniscus sérülés, melynek ma már bizonyítottan szerepe van az osteoarthritis kialakulásában.

Statisztikai adatok szerit az iparosodott országok lakosságának munkaképtelenségét okozó első 10 betegség közé sorolható – és hasonlóan az elhízáshoz vagy a cukorbetegséghez – hamarosan jelentős gazdasági terhet és közegészségügyi problémát is jelent majd. Az arthrosis kihívást jelent az orvostársadalom számára is, hiszen jelenleg még nem létezik végleges gyógymód a betegségre. A kezelés csupán tüneti, a meglévő fájdalom és diszkomfort enyhítésére összpontosul (2).

A kezelés kiválasztásakor figyelembe kell venni a beteg korát, általános egészségi állapotát, kórtörténetét, a

degeneratív elváltozás kiterjedtségét, illetve a beteg aktivitását és foglalkozását. A kezdeti tünetek enyhítésére a fizioterápiás kezelés, életmód változtatás, orális vagy helyi gyulladáscsökkentő szerek (NSAID, krémek) illetve az intraarticularis steroid injectiók alkalmazása áll rendelkezésre. Alternatív, kezelési kiegészítőként javasolható a glükózamin és kondroitin étrend kiegészítők is. A porc korlátolt regenerációs képessége miatt, azonban ezek a kezelések nem jelentenek végleges megoldást, szükségessé válhatnak a műtéti beavatkozások (3).

Dolgozatunk célja az irodalmi adatok alapján rövid áttekintést nyújtani a degeneratív megbetegedésben szenvedők számára jelenleg elérhető beavatkozási lehetőségekről, illetve bemutatni egy új eljárásban, az autológ porcsejt beültetésben (Autologus Chondrocyte Implantation, későbbiekben ACI) rejlő lehetőségeket és az eddig elért eredményeket.

MŰTÉTI LEHETŐSÉGEK ARTHROSISOS TÉRDÍZÜLETTEL RENDELKEZŐ BETEGEKNÉL

Legelterjedtebb beavatkozások az arthroszkópos műtéti eljárások degeneratív elváltozások kezelésében. Ennek ellenére a lavage és debridement eredményei ellentmondásosak. Az öblítéses eljárás során eltávolítható az ízületi törmelék, a gyulladásért felelős faktorok és enzimek, ezáltal csökkenthető a synovitis és a fájdalom mértéke. Hosszabbtávú eredményeket viszont csak kortikosteroid együttes adása mellett tapasztaltak (4). Mivel az eljárás hatása csak korai degeneratív elváltozás esetében, rövidtávon érvényesül, és nem hoz változást a kórfolyamat progressziójában, nem javasolják rutinszerű műtéti alkalmazásra (3).

A csontvelő stimulációs technológiákat eleinte csak körülírt porcsérülések kezelésében alkalmazták, később megjelent az arthrosisos térd műtéti eljárásaként is. Fúrás, mikrofraktúra vagy abrasios ízületplasztika révén sérüléseket hoznak létre a subchondralis csontfelszínen, melyen át a velőürből nem-differenciálódott mesenchymalis őssejtek vándorolnak a sérülés helyére. Ezeknek a sejteknek porcsejtté történő differenciálódása során teljes vastagságú, fibrinben gazdag rostos porc keletkezik, ám ez nem rendelkezik kielégítő mechanikai tulajdonságokkal és élettartammal a hyalin porccal szemben. Az eljárás jó eredményeket mutatott kisméretű léziók, enyhe osteoarthrosis esetében, de ez sem jár együtt a kórfolyamat megváltozásával.

Az osteotómia az 1960-as évek óta alkalmazott eljárás az egyoldali arthrosisos térdműtétekben (5). A korai eredmények biztatónak bizonyultak 50 év alatti fiatal, aktív emberekben, enyhe fokú izolált osteoarthrosisban, de az ízületpótló műtétek terjedésével a háttérbe szorultak. Kimenetele időben lassabb és kevésbé prediktálható (3).

Ezekkel párhuzamosan jelentek meg a teljes vagy részleges ízület protézis eljárások, amelyek biztonsá-

gos és költséghatékony módszernek bizonyultak még előrehaladott osteoarthrosisban is. Visszafordíthatatlan természetéből adódóan azonban csak azoknak a betegeknek ajánlható a műtét, akiknél minden más eljárás elégtelennek bizonyult. Az eddigi eredmények alapján alkalmazása leginkább idősebb korban (50 év fölött) kevésbé aktív betegeknek ajánlott biztos radiológiai diagnózist követően.

Az időskorú (70 év feletti) végstádiumú osteoarthrosisban szenvedő betegeknek az ízület protézis jelenti az egyetlen elfogadható műtéti lehetőséget (6).

Autológ Porcsejt Beültetés (ACI)

Az 1990-es évek elején jelent meg egy új technológia a körülírt ízületi sérülések kezelésére, amely sejt szintű terápiás lehetőséget kínált. A beteg saját sejtjeit in vitro körülmények között felszaporító, majd a porcsérülés helyét lefedő periostealis hártya által határolt üregbe történő visszaültetés jelentette (7). Az eljárás hosszú távon jó eredményeket mutatott, és a betegek után követése szerint megszűntek a fájdalmaik, és javultak a mozgás-funkcióik. Néhány esetben a periostealis hártya és az általa határolt üreg találkozásánál szöveti hipertrófiát és elcsontosodást mutattak ki. Ezt a folyamatot kiküszöbölve jelentek meg a második generációs ACI eljárások, melyeknél már I-III kollagénből álló mesterségesen előállított kettős rétegű hártyt alkalmaztak a periosteum helyett. A membrán felső rétege megakadályozza a sejtek pórusból való kivándorlását, míg a belső réteg felszint biztosít a beinjektált sejtek megtapadására és növekedésére. Az eljárás előnye, hogy viszonylag nagy sérülések (2-10 cm²) esetében is alkalmazható. A regeneráció során nagyobb teherbírású hyalin porc keletkezik, és a betegek 7.5 éves után követésében is 84%-ban jó eredményekről számoltak be (8).

A térben történő sejtenyészési eljárást felhasználva fejlődött ki az autológ porcsejt implantáció harmadik generációja, a mátrix-alapú ACI (MACI). A háromdimenziós teret biztosító hordozóban a sejtek elhelyezkedése, kapcsolatrendszere, az általuk szekretált molekulák a beteg eredeti szövetéhez hasonlóan viselkednek, és nagy kiterjedésű porchiányok pótlására is jól alkalmazható. A könnyű operatív alkalmazás, és a jó eredmények ellenére az eljárást az International Cartilage Repair Society (ICRIS) mai napig ellenjavallja az előrehaladott arthrosisban, reaktív vagy gyulladásszerű arthritisben szenvedő betegek számára (9, 2, 10, 11, 12).

A kontraindikáció hátterében elsősorban a megbízható preklinikai és klinikai bizonyítékok hiánya áll. Másrészt az osteoarthrosis természetrajzából adódik, hogy a porc homeosztázisának katabolikus irányba történő eltolódása, a gyulladásszerű környezet és az ízületi folyadék összetételének megváltozása kedvezőtlen hatással lehet a porc újdonszövődés folyamatára, illetve komplikációkat eredményezhet a műtétet követően (10).

PORCSEJTEK FENOTÍPUS MEGHATÁROZÁSA DEGENERATÍV MEGBETEGEDÉSSEN

A sejtalapú terápia degeneratív megbetegedésben történő sikeres alkalmazásának nélkülözhetetlen feltétele, hogy megértsük a gyulladásos közegben élő sejtek viselkedésének fiziológiai és molekuláris alapjait. Több irodalmi adat is beszámol a porcsejtek fenotípus módosulásáról és metabolikus aktivitásának emelkedéséről degeneratív elváltozásokban. Emiatt zavart szenved a normál proteoglikán metabolizmus is (13).

Stoop és munkatársai génextpressziós vizsgálatokat végeztek normál és arthrosisos porcsejtek közötti fenotípusos különbségek meghatározására. Az izolálást követően egy sejtrétegben *ex vivo* tenyésztett sejtek magas II típusú és alacsonyabb I típusú kollagén (col2a1, col1a2), magas aggrecan expressziót mutattak mindkét mintában, ami a sejtek dedifferenciálódására utal. Eltérés az arthrosisos porcsejtek magas IL-1B termelésében mutatkozott. 12 nap elteltével a degenerált porcsejtek IL-1B termelése lecsökkent, a II típusú kollagén termelés pedig tovább erősödött. Az eredmények azt sugallják, hogy a degenerált porcsejtek fenotípusos állapota elérte a normál donorból származó, beültetésre kész sejteket. Kollagén alapú hordozón az arthrosisos porcsejtek II típusú kollagénben és proteoglikánban gazdag hyalin porcot képeztek (9).

A sejtek fenotípusára azonban nem csak a szövetkörnyezet és a szekretált faktorok, hanem a térbeli elhelyezkedésük is hatással van. Az egy sejtrétegű kultúrákban a dedifferenciálódó sejtek visszatérhetnek a mesenchimalis előalakhoz, melyből hyalinporc mellett rostos elfajulás is képződhet. Tallhelden és munkatársai arthrosisos mintából izolált porcsejteket hasonlított össze 2 és 3 dimenziós (Hyaluronan scaffold) kultúrában. A 3 dimenziós kultúrában tovább emelkedett a II és X típusú kollagén mennyisége, szemben az alacsony mennyiségű I típusú kollagénnel. A hialuronanhoz kitapadva a degenerált porcsejtek redifferenciálódása megindult, nagy mennyiségű proteoglikán és II típusú kollagén termelést mutattak, hasonlóan az egészséges donorokból származó porcsejtekhez. A 2 dimenziós egyrétegű kultúrában a sejtek nagy proliferációs képességgel bírtak, de nem voltak képesek differenciálódni (14).

Dehne és munkatársai egy összehasonlító génextpressziós microarray vizsgálatot végeztek arthrosisos és egészséges mintákból 2 és 3 dimenziós kultúrákban. A korábbi munkacsoportok eredményeihez hasonlóan a porc képzéssel összefüggésben álló marker gének, II típusú kollagén (Col2a1) aggrecan (ACAN), proteoglikán, és a kollagén termelést szabályozó SOX9 gének magas expressziót mutattak a 3 dimenziós kultúrákban, azt sugallva, hogy a redifferenciálódás és a porc képzése elindult a pathológiás és a normál sejtek esetében is. A mátrix képzésért felelős gének (COMP, FN1, SOX9) alulműködtek arthrosisos sejtek egyrétegű tenyésztésében,

ám ezek az eltérések kiegyenlítődték, ha a sejteket 3 dimenziós hordozón növesztették. A hipertrófiáért felelős gének (COL1A1, MMP13, RUNX2) jelentősen nem változtak a normál és az arthrosisos sejt kultúrák között (5).

Mindhárom munkacsoport egybehangzó eredménye azt mutatja, hogy az arthrosisos porcsejtek 3 dimenziós kultúrája jó hyalin porc irányú differenciálódási képességgel rendelkezik és nem találtak hipertróf hajlamot ezekben a sejtenyésztetekben.

AUTOLOG PORCSEJT BEÜLTETÉS EREDMÉNYEI DEGENERATÍV MEGBETEGEDÉSSEN

A fiatal korban jelentkező degeneratív megbetegedés korai stádiumának kezelésére kevés lehetőség áll a betegek rendelkezésére. Az orális gyulladás gátlók és fájdalomcsillapító szerek nem befolyásolják a betegség további progresszióját. Kezelési lehetőségként a csontvelő stimuláló, porc felszín képző műtéti eljárás (abrasios arthroplastica) jöhet számításba, melynek eredményei az első beavatkozást követően jók, ám a betegek fiatal korából adódóan szükséges az ismételt porcplasztikai beavatkozás, amely már rosszabb eredményeket ígér (16). Ezen eljárások után rostos porc alakul ki, aminek kisebb a teherviselő képessége, mint az üveg (hyalin) porcnak. Ezzel szemben az ACI eljárással teljes vastagságú hyalin porc pótlására van lehetőség a különféle porcdefektusok kezelésében és a hosszú távú eredmények is biztatóak (17).

Egy kiterjedt tanulmányban 153 korai stádiumú degeneratív megbetegedésben szenvedő fiatalok (átlag életkor 38,3 év) beteget kezeltek első generációs autológ porcsejt beültetéssel. A műtétet követő 38 hónapon belül a beavatkozások 8%-a bizonyult sikertelennek. 3 betegnél garft kilökődés, 1 betegnél tartós fájdalom, 8 betegnél pedig a beültetés helyén az arthrosis további progressziója jelentkezett. A műtétet követő 5 év alatt a betegek 92%-a jó eredményekről számolt be. A betegek 61%-ban ismételt műtéti eljárásra volt szükség a periosteum mellett jelentkező szöveti hypertrophia miatt. A szerzők szerint a reoperációk száma csökkenthető, ha a korszerűbb kollagén membránt alkalmazzák a periosteum helyett (16).

Ossendorf és munkatársai 40 degeneratív megbetegedésben szenvedő betegben alkalmazta az ACI harmadik generációs eljárását. A sejtenyésztéshez 3 dimenziós kevert polimer-fibrin hordozót alkalmazott (BioSeed-C). A műtétet követően a garftok jól integrálódtak a szövetkörnyezetbe, nem történt kilökődés, szövődmény nem volt. 12 hónappal a beültetést követően hyalin szövet képződött a graft helyén. Nem tapasztalták jelét fibrin kötőszövet megjelenésének, csontosodásnak vagy egyéb nekrotikus elváltozásoknak. 2 évvel a műtét után a betegeknek csökkent a fájdalomérzete, a betegségre utaló tünetei (18).

Hollander és munkacsoportja Hyaluronan alapú scaffoldot alkalmazott mátrix indukált ACI eljárás során 23 osteoarthrosisos betegben. Egy évvel a beültetést

követően 10 betegben tapasztalta a szövet regenerációját (19). Következtetése szerint az arthrosisos környezet nem gátolja a szövet regenerációját, bizonyos esetekben még kifejezettebb is lehet a degenerált szövet gyógyulási képessége, ha a megfelelő sejtes és környezeti jelek rendelkezésre állnak az egészséges szövet előállításához.

Kreuz munkacsoportja 19 arthrosisos betegen alkalmazta a már korábban említett BioSeed-C alapú harmadik generációs ACI eljárást. A betegek átlag életkora 35 év volt, testtömeg indexük középértéke 25, a kezelni kívánt defektus területének középértéke 4 cm². 1 évvel a transzplantáció után az eredményeket többféle pontozási rendszer szerint értékelték ki (Lystholm, ICRIS, KOOS). Az eredmények 30-50% közötti javulást mutattak a preoperatív állapothoz képest. 4 évvel a műtét után MRI vizsgálatnak vetették alá a betegeket. 2 beteg esetében az implantált szövet nem tapadt meg, ők térd protézis műtéten estek át. Esetükben a defektus területét részben (<50%) gyors ütemben progrediáló hegszövet töltötte ki, mellette mérsékelt subchondrális ödéma jelei mutatkoztak. A 17 betegből 16 normál porcodosásra utaló jeleket mutatott. 11 betegben nem vagy csak kismértékű ödémát figyeltek meg. 5 beteg esetében tapasztaltak mérsékelt vagy erős arthritiszre utaló jeleket (2,10). Ez a tanulmány hosszútávon is igazolta az ACI eljárás érvényességét degeneratív ízületi elváltozások kezelésében, mely segítségével megakadályozhatóak az ízület vagy teljes térd protetizáló eljárások.

MEGBESZÉLÉS

A degeneratív ízületi betegségek egyre nagyobb egészségügyi problémát jelentenek. Nemcsak a betegek munkaképességét és életminőségét rontják, hanem az orvosok szempontjából is nehézséget jelent ezek megfelelő kezelése. Az autológ porcsejt beültetés biztató eredményeket mutatott a chondropathiák esetében, ennek ellenére megosztja a véleményt az osteoarthrosisban való alkalmazhatóságáról. Ennek legfőbb oka a kevés és részben ellentmondásos eredményekben rejlik.

Az eddigi kutatások azonban felhívják a figyelmet pár szempont megfontolására az eljárás arthrosisos betegekben való alkalmazása esetében. *In vitro* vizsgálatok igazolták, hogy az autológ sejtek izolálásakor célszerű olyan helyről venni a biopsziát, mely intakt. Az itt található sejtek szebb morfológiát és több proteoglikánt tartalmaztak, mint a pathológiás porc régióban (10, 20). Több szerző egybehangzó véleménye szerint célszerű lehet nagyobb sejtsűrűségből kiindulni a tenyésztés kezdetén, mint az egészséges autológ sejteknél, hogy a megfelelő mennyiségű mátrixtermelés és porcképzés végbemenjen (10, 15). Az arthrosisos sejteket 3 dimenzióban (hyaluronan alapú vagy kevert polimer-fibrin hordozón) felszaporítva nagyobb fenotípusos hasonlóságot mutattak az egészséges porcsejtekkel, és jobb redifferenciációs képességgel rendelkeztek, mint a letapadó sejt kultúrák sejtjei.

Problémát jelent azonban, hogy az osteoarthrosisos betegből kinyert porcsejtek *in vitro/ex vivo* szaporítása során továbbra is IL-1B termelők. Az IL-1B-nak szerepe van a porcsejt mediált ízületi porc degradációban és a II típusú kollagén termelés csökkentésében. Ezzel egyetértésben valószínűleg szerepe lehet a garft katabolikus folyamataiban is az ACI eljárást követően. Ez egy lehetséges magyarázata annak, hogy a beültetett graftok egy része nem funkcionál, illetve környezetükben rendelkeznek sejt hypertrophia indul el. Érdemes lenne tehát fontolórra venni a beteg vagy a kezelni kívánt ízület pathológiás folyamatainak gátlását a kezelést megelőzően és azt követően (9, 15).

Az autológ porcsejt (ACI) vagy mátrix indukálta porcsejt implantáció (MACI) humán vonatkozású alkalmazása osteoarthrosisos betegekben még csak kísérletes fázisban van, és bár az eljárás igényel további vizsgálatokat a biztonságos alkalmazhatóság érdekében, valós lehetőséget jelent a fiatalkori degeneratív ízületi betegek kezelésére (10, 16,21) és a protetizáló műtétek elkerülésére.

Köszönetnyilvánítás

Jelen munka a TÁMOP-4. 2. 1. B-10/2/KONV-2010-0001 jelű projekt részeként – az Új Magyarország Fejlesztési Terv keretében – az Európai Unió rész támogatásával, az Európai Szociális Alap társfinanszírozásával valósult meg.

IRODALOMJEGYZÉK

1. Merx H, Dreinhofer KE, Gunther KP: Socioeconomic relevance of osteoarthritis in Germany. *Z. Orthop. Unfall.* 2007. 145. 421-429.
2. Henrotin Y, Dubuc JE: Cartilage repair in osteoarthritic patients: utopia or real opportunity? *Med. Reports,* 2009. 1.88.
3. Lützner J, Kasten P, Günther KP: Surgical options for patients with osteoarthritis of the knee. *Nat. Rev. Rheumatol.* 2009. 5. 309-316.
4. van Oosterhout M, Sont JK, Bajema M: Comparison of efficacy of arthroscopic lavage plus administration of corticosteroids, arthroscopic lavage plus administration of placebo, and joint aspiration plus administration of corticosteroids in arthritis of the knee: A randomized controlled trial. *Arth. Rheum.* 2006. 55. 964-970.
5. Coventry MB. Osteotomy of the upper portion of the tibia for degenerative arthritis of the knee. A preliminary report. *J. Bone Joint Surg. Am.* 1965. 47. 984-990.
6. NiH Consensus Panel. NiH Consensus statement on total knee replacement. *J. Bone Joint Surg. Am.* 2004. 86-a. 1328-1335.
7. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A: Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med.* 1994. 331.889-95.
8. Peterson L, Brittberg M, Kiviranta I: Autologous chondrocyte transplantation. Biomechanics and long-term durability. *Am. J. Sports. Med.* 2002. 30. 2-12.
9. Stoop R, Albrecht D, Gaismaier C: Comparison of marker gene expression in chondrocytes from patients receiving

- autologous chondrocyte transplantation versus osteoarthritis patients. *Arth. Res. Ther.* 2007. 9. R60 (doi:10.1186/ar2218).
10. *Kreuz PC, Müller S, Ossendorf C*: Treatment of focal degenerative cartilage defects with polymer-based autologous chondrocyte grafts: four-year clinical results. *Arth. Res. Ther.* 2009. 11. R33 (doi:10.1186/ar2638).
11. *Nehrer S, Dorotka R, Domayer S*: Treatment of fullthickness chondral defects with hyalograft C in the knee: a prospective clinical case series with 2 to 7 years' follow-up. *Am J Sports Med*, 2009. 37.81-87.
12. *Kuroda T, Matsumoto T, Mifune Y*: Therapeutic strategy of third-generation autologous chondrocyte implantation for osteoarthritis. *Upsala J. Med Sci.* 2011. 116. 107-114.
13. *Sandell LJ, Aigner T*: Articular cartilage and changes in arthritis. An introduction: cell biology of osteoarthritis. *Arth. Res.* 2001. 3.107-113.
14. *Tallheden T, Bengtsson C, Brantsing C*: Proliferation and differentiation potential of chondrocytes from osteoarthritic patients. *Arth. Res. Ther.* 2005. 7. R560-R568 (DOI 10.1186/ar1709).
15. *Dehne T, Karlsson C, Ringe J*: Chondrogenic differentiation potential of osteoarthritic chondrocytes and their possible use in matrix-associated autologous chondrocyte transplantation. *Arth. Res. Ther.* 2009. 11. R133 (doi:10.1186/ar2800).
16. *Minas T, Gomoll AH, Solhpour S*: Autologous Chondrocyte Implantation for Joint Preservation in Patients with Early Osteoarthritis. *Clin Orthop Relat Res.* 2010. 468.147-157.
17. *Peterson L, Minas T, Brittberg M*: Two- to 9-year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clin Orthop Relat Res.* 2000. 374. 212-234.
18. *Ossendorf C, Kaps C, Kreuz PC*: Treatment of posttraumatic and focal osteoarthritic cartilage defects of the knee with autologous polymer-based three-dimensional chondrocyte grafts: 2-year clinical results. *Arth. Res. Ther.* 2007. 9.R41 (doi:10.1186/ar2180).
19. *Hollander AP, Dickinson SC, Sims TJ*: Maturation of tissue engineered cartilage implanted in injured and osteoarthritic human knees. *Tissue Eng.* 2006. 12.1787-1798.
20. *Yang KG, Saris DB, Geuze RE*: Altered in vitro chondrogenic properties of chondrocytes harvested from unaffected cartilage in osteoarthritic joints. *Osteoarthr. Cartilage* 2006. 14.561-570.
21. *Ossendorf C, Steinwachs MR, Kreuz PC*: Autologous chondrocyte implantation (ACI) for the treatment of large and complex cartilage lesions of the knee. *Sports Med Arth Rehab Ther Tech.* 2011. 3.11.