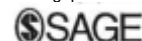


# Leczenie uszkodzeń chrząstki stawowej przy użyciu preparatu BST-CarGel® jest bardziej skuteczne niż metoda mikrozłamań – na podstawie 5-letniego, wieloośrodkowego, randomizowanego badania klinicznego

Cartilage  
2015, Vol. 6(2)62-72  
© Autor(-zy) 2014  
Odbitki i pozwolenia:  
sagepub.com/journalsPermissions.nav  
DOI: 10.1177/1947603514562064  
cart.sagepub.com



Matthew S. Shive<sup>1</sup>, William D. Stanish<sup>2</sup>, Robert McCormack<sup>3</sup>, Francisco Forriol<sup>4</sup>, Nicholas Mohtadi<sup>5</sup>, Stéphane Pelet<sup>6</sup>, Jacques Desnoyers<sup>7</sup>, Stéphane Méthot<sup>1</sup>, Kendra Vehik<sup>8</sup>, and Alberto Restrepo<sup>1</sup>

## Streszczenie

**Cel badania.** Porównywano skuteczność i bezpieczeństwo preparatu BST-CarGel®, szkieletu chitozanowego, przeznaczonego do leczenia uszkodzeń chrząstki stawowej, z metodą mikrozłamań w 1 roku wieloośrodkowego, randomizowanego badania klinicznego z grupą kontrolną, dotyczącego chorób kolana. W niniejszym doniesieniu podjęto próbę opracowania wyników strukturalnych i klinicznych, zebranych w ciągu 5 lat. **Metodyka.** W międzynarodowym badaniu z randomizacją przebadano 80 pacjentów w wieku od 18 do 55 lat, ze zmianami ogniskowymi stopnia III lub IV w obrębie kłykci udowych. Pacjenci zostali losowo przydzieleni do grupy otrzymującej preparat BST-CarGel® lub leczonej wyłącznie metodą mikrozłamań, oraz odbyli standardową 12-tygodniową rehabilitację. Pierwszorzędowe punkty końcowe, dotyczące ilości i jakości tkanki naprawczej, oceniano za pomocą analizy trójwymiarowych obrazów rezonansu magnetycznego (MRI) pod kątem stopnia wypełnienia ubytków (%Fill) oraz czasu relaksacji T2. Drugorzędowymi punktami końcowymi były korzyści kliniczne mierzone za pomocą kwestionariusza WOMAC (Western Ontario i McMaster Universities Osteoarthritis Index) oraz bezpieczeństwo. Analizę longitudinalną otrzymanych danych przeprowadzono za pomocą standardowych testów statystycznych dla powtarzanych pomiarów. **Wyniki.** Analiza MRI, przeprowadzona przez ślepego obserwatora wykazała statystycznie znamienne korzystniejszy efekt terapeutyczny, obserwowany jako wypełnienie ubytków zmian patologicznych, u pacjentów leczonych produktem BST-CarGel® w porównaniu do pacjentów leczonych wyłącznie metodą mikrozłamań ( $P=0,017$ ) w ciągu 5-letniego okresu obserwacji. U pacjentów otrzymujących preparat BST-CarGel® uzyskano także znacznie korzystniejszy czas relaksacji T2 zregenerowanej tkanki w porównaniu do grupy leczonej metodą mikrozłamań ( $P=0,026$ ), a otrzymane wartości dla grupy leczonej BST-CarGel® zbliżone były do parametrów typowych dla zdrowej chrząstki. W ciągu 5-letniego okresu obserwacji, zarówno w grupie otrzymującej badany preparat jak i leczonej metodą mikrozłamań, stwierdzono znaczną poprawę wszystkich parametrów mierzonych za pomocą kwestionariusza WOMAC ( $P < 0,0001$ ) i nie stwierdzono różnic między badanymi grupami w tym zakresie. Profil bezpieczeństwa był porównywalny w obu grupach. **Wnioski.** Wykazano, że preparat BST-CarGel® jest skutecznym środkiem w leczeniu uszkodzeń chrząstki. Podczas 5-letniego okresu stosowania preparatu BST-CarGel® uzyskano korzystniejsze niż w przypadku leczenia wyłącznie metodą mikrozłamań wskaźniki regeneracji tkanki, rozumiane jako trwała poprawa jakości i objętości tkanki. W wyniku stosowania obydwu metod uzyskano poprawę w porównaniu z poziomem wyjściowym.

## Słowa kluczowe:

leczenie chrząstki stawowej, chitozan, badania ilościowe metodą MRI, mikrozłamanie, szkielec

## Wprowadzenie

Terapia skomplikowanych uszkodzeń chrząstki stawowej jest aktualnym kierunkiem poszukiwań w ortopedii, mimo dziesięcioleci doświadczeń w zakresie leczenia stawu kolanowego. Żadna ze stosowanych obecnie procedur naprawczych, takich jak stymulacja szpiku kostnego, terapia oparta na hodowlach komórkowych czy przeszczep, nie została przebadana w wystarczającym stopniu, zwłaszcza w perspektywie średnio- i długoterminowej (5-10 lat), pozwalającym na pełne zrozumienie czynników istotnych dla uzyskania trwałych efektów terapeutycznych w tym kłopotliwym schorzeniu [1,3]. Niemniej jednak podstawowym celem leczenia uszkodzeń chrząstki stawowej jest uniknięcie pogłębiania się stanu prowadzącego do wtórnego zapalenia kości i stawów [4,5], co można osiągnąć przez przywrócenie naturalnej, zbliżonej do zdrowej chrząstki hialinowej, struktury tkanki zapewniając tym samym trwałą poprawę, prawidłowe funkcjonowanie stawu oraz likwidację bólu.

<sup>1</sup>Piramal Healthcare (Kanada) Ltd., Laval, Quebec, Kanada

<sup>2</sup>Department of Surgery (Oddział Chirurgii), Dalhousie University, Halifax, Nowa Szkocja, Kanada

<sup>3</sup>Department of Orthopedic Surgery (Oddział Chirurgii Ortopedycznej), University of British Columbia, Vancouver, British Columbia, Kanada

<sup>4</sup>School of Medicine (Szkoła Medyczna), CEU San Pablo University, Madryt, Hiszpania

<sup>5</sup>University of Calgary Sports Medicine Centre (Ośrodek Medycyny Sportowej Uniwersytetu w Calgary), Calgary, Alberta, Kanada

<sup>6</sup>Department of Orthopedics (Oddział Ortopedii), CHA-Pavillon Infant-Jesus, Quebec, Quebec, Kanada

<sup>7</sup>Hôpital Charles LeMoine, Greenfield Park, Quebec, Kanada

<sup>8</sup>Department of Epidemiology and Biostatistics (Oddział Epidemiologii i Biostatystyki), University of South Florida, Tampa, Floryda, USA

## Autor do korespondencji:

Matthew S. Shive, 475 Armand-Frappier Blvd, Laval, Quebec, Canada H7V 4B3.

Email: matthewshivel@gmail.com



Metoda mikrołamań (MFX), będąca de facto standardowym sposobem leczenia oraz najpowszechniej stosowanym zabiegiem chirurgicznym pierwszego wyboru [6,7] w przypadku niewielkich zmian w obrębie chrząstki stawowej, polega na penetracji w głąb kości podchrzęstnej, poniżej uszkodzenia chrząstki, której celem jest wywołanie krwawienia i późniejszej odpowiedzi naprawczej szpiku kostnego [8,9]. Przypuszcza się, że MFX powoduje powstanie włóknistej naprawczej tkanki chrzęstnej, pozbawionej struktury hialinowej, typowej dla chrząstki stawowej [6,8,10,11] a uzyskane dzięki tej metodzie korzyści kliniczne zanikają po 2-3 latach [6,12,13]. Niespójność i suboptymalne pod względem ilości i jakości tkanki naprawczej efekty lecznicze, mogą wynikać z niestabilności skrzepu fibrynowego utworzonego z krwi szpiku w obrębie uszkodzenia [6,11,14,16], który po zabiegu kurczy się i odrywa, w wyniku resorpcji skrzepu przy udziale płytek krwi [14,17,19].

Preparat BST-CarGel® (Piramal Life Sciences, Bio-Orthopaedics Division) został opracowany jako środek stabilizujący skrzep krwi, który powstaje w wyniku MFX, przez rozprowadzanie we krwi rusztowania, zbudowanego z rozpuszczalnego polimeru zawierającego chitozan i inkorporację mieszaniny przez otwory szpikowe w obrębie uszkodzenia chrząstki. Chitozan jest rozpowszechnionym polisacharydem glukozaminy, występującym w zewnętrznym szkieletie skorupiaków, wykorzystywanym jako biomateriał o wielu cennych właściwościach [20-22]. Preparat BST-CarGel® jest wytwarzany jako cytotkompatybilny płynny roztwór chitozanu o fizjologicznym pH 2,3, który nie zakłóca normalnego procesu krzepnięcia krwi, ale znacznie wzmacnia zaimplantowany skrzep, hamując jego obkurczanie się [19]. Przez fizyczne utrzymywanie kluczowych czynników krwi poza otworami szpikowymi [14,19,24] oraz w wyniku specyficznych modyfikacji sekwencji procesów naprawczych BST-CarGel® zwiększa ilość i jakość naprawczej chrząstki [14,19,25,26], w porównaniu do metody opartej wyłącznie na stymulacji szpiku kostnego [24,27,28].

Przeprowadzono międzynarodowe, wieloośrodkowe, randomizowane badanie kliniczne z grupą kontrolną (RCT), porównujące leczenie objawowych zmian chrząstki kłykcia kości udowej przy użyciu preparatu BST-CarGel®, z procedurą opartą wyłącznie na MFX [26]. W ocenie skuteczności za podstawowe parametry przyjęto dwa równorzędne pierwszorzędowe punkty końcowe, dotyczące ilości i jakości tkanki naprawczej chrząstki w ciągu 1 roku, mierzonej za pomocą trójwymiarowych obrazów rezonansu magnetycznego (MRI), zaś drugim punktem końcowym były korzyści kliniczne mierzone za pomocą kwestionariusza WOMAC (Western Ontario and McMaster Osteoarthritis Index; wersja VAS [wizualna skala analogowa]) [29]. Preparat BST-CarGel® został zatwierdzony w Kanadzie i Europie na podstawie randomizowanego badania klinicznego, trwającego 1 rok. Badanie to było kontynuowane w ramach rozszerzonego protokołu, w celu prowadzenia obserwacji przez 5 lat po zakończeniu leczenia.

## Materiały i metody

Pełny opis metodologii, stosowanej w pierwotnym, 1-letnim, wieloośrodkowym badaniu RCT (<https://clinicaltrials.gov>; # NCT00314236), obejmujący kryteria włączania pacjentów do badania, opis randomizacji, leczenie chirurgiczne i rehabilitację a także mierzone wskaźniki, w tym szczegóły dotyczące trójwymiarowych analiz ilościowych MRI i kwestionariuszy, opublikowano wcześniej [26]. W 5-letnim rozszerzonym protokole zastosowano te same procedury i metody zbierania wyników (<https://clinicaltrials.gov>; # NCT012-46895), zgodnie z wytycznymi dla dobrej praktyki klinicznej.

## Metodyka i uczestnicy badania

Do pierwszego, trwającego 1 rok, badania [26] włączono 80 pacjentów w 26 ośrodkach klinicznych. Do badania zakwalifikowano mężczyzn i kobiety w wieku 18-55 lat z pojedynczym ogniskowym uszkodzeniem chrząstki w obrębie kłykcia udowego oraz umiarkowanym bólem kolana (>4 na 10 cm skali VAS). Pacjenci byli randomizowani (1: 1) do grup otrzymujących leczenie preparatem BST-CarGel® lub wyłącznie terapię MFX oraz wyrazili zgodę się na uczestnictwo w 12-tygodniowym, standardowym programie rehabilitacji po leczeniu.

Przeprowadzone badanie było pojedynczo zaslepienie, ponieważ niezależna trzecia strona, przeprowadzająca analizy głównych punktów końcowych nie знаła leczenia otrzymywanego przez pacjenta. Zaslepienie badaczy i pacjentów nie było możliwe ze względu na różnice w wielkości nacięcia związanego z zabiegiem. Wydłużony protokół badania przewidywał długoterminową obserwację po 2, 3, 4 i 5 latach i uwzględniał pomiary tych samych wskaźników. Wszyscy uczestnicy, którzy wzięli udział w pierwszej, trwającej 1 rok próbie, przed rozpoczęciem czynności związanych z badaniem zostali poproszeni o dostarczenie pisemnej zgody na udział w jego drugiej części, która została zatwierdzona przez komisję etyczne każdego z ośrodków klinicznych przed rozpoczęciem czynności.

## Punkty końcowe

**Główne punkty końcowe.** Głównym punktem końcowym, ocenianym w badaniu, była struktura tkanki naprawczej definiowana jako ilość i jakość nowej tkanki. U każdego pacjenta wykonano skany MRI o natężeniu pola 1,5, przy pomocy aparatury wyposażonej w cewki typu transmit-receive przeznaczone do badania stawu kolanowego. Badanie przeprowadzono w klinikach posiadających kadrę wstępnie wykwalifikowaną i przeszkoloną w technice MRI. Badania MRI wykonano podczas fazy wstępnej przed terapią, 1 miesiąc po terapii i 1 rok po terapii oraz w ramach wydłużonego badania, podczas rekrutacji oraz w roku 2, 3, 4 i / lub 5, w zależności od indywidualnego statusu pacjenta. Wykorzystano dostosowane sekwencje impulsów o wysokiej rozdzielczości przestrzennej, specyficzne dla analizy morfologicznej lub czasu relaksacji T2 w badanych obszarach. W morfologicznych analizach chrząstki, uszkodzeń chrząstki oraz kości zastosowano trójwymiarową sekwencję SPGR z supresją tłuszczu w płaszczyźnie czołowej i strzałkowej oraz trójwymiarową sekwencję GRE w płaszczyźnie strzałkowej. Do analizy czasu relaksacji poprzecznej (T2) wykorzystano sekwencje szybkiego echa spinowego z supresją tłuszczu. Skany zostały zakodowane a następnie wysłane do laboratoriów zajmujących się obrazowaniem w celu przeprowadzenia profesjonalnej oceny ich jakości i archiwizacji danych (VirtualScopics, Rochester, NY) oraz analiz ilościowych, przeprowadzonych w warunkach ślepej próby (Qmetrics Technologies, Rochester, NY) przy użyciu zatwierdzonych metod. W celu przeprowadzenia ilościowej analizy biomarkerów uszkodzeń i procesów naprawczych przeprowadzono półautomatyczną (korygowaną przez radiologa) segmentację morfologiczną wszystkich struktur kości kolanowej i chrząstki, z użyciem licencjonowanego oprogramowania wyposażonego w atlas anatomiczny. Lekarz radiolog, specjalizujący się w zakresie układu mięśniowo-szkieletowego, posiadający wiedzę z zakresu leczenia chorób chrząstki, ręcznie obrysowywał granice zmian chorobowych na skanach wykonanych 1 miesiąc po zakończeniu leczenia, co stanowiło odniesienie dla odpowiednich skanów, wykonanych w 1-, 3-, 4- i 5-roku. Wykryte zmiany, oznaczone ilościowo na skanach wykonanych 1 miesiąc po zakończeniu leczenia, stanowiły wartość wyjściową do wyznaczenia powierzchni i objętości uszkodzenia.

Następnie określono %Fill i czas relaksacji T2 wyodrębnionej, 3-wymiarowej objętości nowej tkanki w każdym punkcie czasowym. (Dalsze szczegóły i ilustracje w pracy Stanish *wsp.*[26]). Wyznaczone przez radiologa obszar tylny-środkowego kłykcia kości udowej w tym samym kolanie był analizowany u każdego pacjenta a uzyskane wyniki stanowiły wartości kontrolne prawidłowej chrząstki.

**Drugo- i trzeciorzędowe punkty końcowe.** Korzyści kliniczne oceniano jako drugorzędne punkty końcowe w momencie rozpoczęcia badania oraz 2, 3, 4 i 5 lat po leczeniu, z zastosowaniem kwestionariusza WOMAC, składającego się z 3 podskal oceniających ból, sztywność i funkcjonowanie fizyczne.

Profil bezpieczeństwa był oceniany na podstawie rejestracji wszystkich niepożądanych zdarzeń (AE) do 5 lat po leczeniu. Definicje bezpieczeństwa stosowane podczas tego badania są zgodne z międzynarodowymi normami regulacyjnymi, dotyczącymi badań klinicznych oceniających urządzenia medyczne.

Trzecim punktem końcowym była analiza wskaźników stanu zdrowia przy użyciu kwestionariusza Medical Outcomes Study 36-Item Short-Form Health Survey, wersja 2 (SF-36), która obejmuje 2 związane ze sobą wielkości, komponentę fizyczną i psychiczną, pochodzące z 8 podskal.

Wszystkie kwestionariusze zostały dostarczone pacjentom podczas wizyt lub w razie potrzeby, pocztą elektroniczną.

### Analiza statystyczna

Określenie wielkości próby w badaniu trwającym 1 rok opisano wcześniej [26]. Wszyscy uczestnicy, którzy przystąpili do badania rozszerzonego, zostali włączeni do analizy skuteczności, które przeprowadzono zgodnie ze wstępnie zatwierdzonym planem analizy statystycznej. Analizę wzdużną z powtórzeniami wykonano z zastosowaniem ogólnych równań, stosując wartości wyjściowe (1 miesiąc po leczeniu) objętości zmian chorobowych jako określone wcześniej zmienne parametrów % Fill i T2. Modele wzdużne zmian względem wartości wyjściowych dla WOMAC i SF-36 zostały skorygowane o wartości wyjściowe.

Aby uwzględnić potencjalne zafałszowanie wyników związane z rekrutacją, pacjenci, którzy nie uczestniczyli w rozszerzonym badaniu, byli porównani z osobami, które zadeklarowały udział w tym badaniu, z uwzględnieniem wyjściowych zmiennych demograficznych, takich jak płeć, palenie/niepalenie papierosów, przebyte wcześniej artroskopie, poziom aktywności, wiek, wskaźnik masy ciała (BMI), liczba sesji fizjoterapeutycznych po leczeniu, a także wielkość uszkodzenia, oraz wskaźniki charakteryzujące uszkodzenie, wyznaczone metodą MRI czyli procentowe wypełnienie (%Fill) i średnie wartości T2. Aby uwzględnić różnice w wielkości próbki posłużono się metodą bootstrap.

Dane analizowano przy użyciu program statystycznego Statistical Analysis System (wersja 9.3, SAS Institute, Cary, NC). Wszystkie podane wartości P są dwustronne. Różnice przy  $P < 0,05$  uznano za *statystycznie istotne*.

## Wyniki

### Rekrutacja i charakterystyka pacjentów

Selekcja i rekrutacja do badania wstępnego, trwającego 1 rok, odbywała się w okresie od maja 2006 r. do stycznia 2009 r., a zakończenie trwającego 1 rok badania nastąpiło w lutym 2010 r.

Selekcja i rekrutacja do badania do trwało od marca 2011 r. do października 2013 r., a 5-letni okres obserwacji został zakończony w lutym 2014 r. W badaniu rozszerzonym nastąpiła znacząca utrata pacjentów z obserwacji we wszystkich zaplanowanych punktach czasowych z kilku powodów, w tym z powodu przedłużającego się okresu rekrutacji zarówno do badania 12-miesięcznego jak i badania rozszerzonego, spotęgowanego przez upadłość finansową pierwszego sponsora (BioSyntech Canada Inc.) i okres przejściowy związany z nawiązaniem współpracy z obecnym sponsorem badania (Piramal Life Sciences, Bio-Orthopedics Division). Opóźnienie rekrutacji do badania rozszerzonego, spowodowało, że 2 lata obserwacji jednej czwartej pacjentów a w przypadku wielu innych okres 3, 4 lub 5 lat został pominięty. Ostatecznie łącznie 67 (84%) z początkowej grupy 80 pacjentów zgodziło się uczestniczyć w badaniu rozszerzonym, ale ich rejestracja była rozciągnięta na 5 lat, a dane po 2 latach leczenia udało się pozyskać tylko od 4 pacjentów (5%), po 3 latach od 32 pacjentów (40%), po 4 latach od 47 pacjentów (59%), a po 5 latach obserwacji od 60 pacjentów (75%). Tylko 2 pacjentów posiadało kompletne dane z 1, 2, 3, 4 i 5 lat. Analizy w niniejszym raporcie są ograniczone do danych pacjentów z 5-letnim okresem obserwacji, ze względu na zbyt małą liczebność grup, która odpowiednio dla BST-CarGel® i MFX wynosiła 33/41 i 26/39 dla pomiarów %Fill, 29/41 i 22/39 dla czasu relaksacji T2 oraz 33/41 i 26/39 dla wszystkich 3 wskaźników WOMAC. Statystyczne porównanie wyjściowej charakterystyki pacjentów, którzy nie przystąpili do rekrutacji do badania rozszerzonego z tymi, którzy wzięli w nim udział wykazało, że pacjenci włączeni do badania mieli znacznie wyższe wskaźniki BMI, większą powierzchnię leczonych zmian chorobowych i odbyli większą liczbę sesji fizjoterapeutycznych po zabiegu niż ci, którzy do tego badania się nie zgłosili. Pozostałe parametry były podobne w obu badanych grupach.

Podstawowe dane demograficzne pacjentów, posiadających wyniki z okresu 5 lat były na ogół podobne w obydwu grupach (**Tabela 1**), z wyjątkiem wieku, t.j. pacjenci z grupy BST-CarGel® byli znacznie młodszy w porównaniu z pacjentami z leczonymi MFX ( $34,3 \pm 9,7$  vs  $40,0 \pm 10,0$  lat,  $P=0,03$ ), mieli znacząco wyższe wskaźniki BMI ( $27,6 \pm 2,8$  vs  $25,7 \pm 2,9$  kg / m<sup>2</sup>,  $P=0,01$ ) oraz charakteryzowali się większą o 68% ( $P=0,08$ ) wstępną objętością uszkodzenia podstawowego (po oczyszczeniu), określoną ilościowo w badaniu MRI. Ponadto, w grupie BST-CarGel® mediana czasu do wystąpienia objawów była krótsza niż w grupie MFX (1,4 vs 3 lata,  $P=0,047$ ).

### Główne punkty końcowe

U pacjentów leczonych produktem BST-CarGel® obserwowany efekt terapeutyczny w ciągu 5-letniej obserwacji był istotnie wyższy ( $P=0,017$ ) niż w grupie MFX, w odniesieniu do uszkodzenia %FiH, co skutkowało wartością %Fill na poziomie  $93,79\% \pm 1,16\%$  w porównaniu z  $86,96\% \pm 2,85\%$  (średnia najmniejszych kwadratów  $\pm$  błąd standardowy) w okresie 5 lat (patrz Ryc. 1 i Tabela 2), które były niemal identyczne z wartością % Fill obserwowaną po 1 roku ( $P=0,011$ ).

**Tabela 1.** Wyjściowa charakterystyka pacjentów uczestniczących w 5-letnim okresie obserwacji.<sup>a</sup>

Cecha	BST-CarGel® (n = 34)	Mikrozlamania (n = 26)	Wartość P <sup>b</sup>
Wiek, lata	34,3 ± 9,7	40,1 ± 10,1	0,030
Płeć, n (%)			0,395
Mężczyźni	22 (64,7)	14 (53,8)	
Kobiety	12 (35,3)	12 (46,2)	
Wskaźnik masy ciała, kg/m <sup>2</sup>	27,6 ± 2,7	25,7 ± 2,9	0,013
Poziom aktywności, n (%)			0,520
Wysoki	16 (47,1)	15 (57,5)	
Średni	16 (47,1)	11 (42,3)	
Niski	2 (5,8)	0 (0)	
Palenie papierosów, n (%)			0,939
Nigdy	20 (58,8)	14 (53,9)	
W przeszłości	6 (17,7)	5 (19,2)	
Obecnie	8 (23,5)	7 (26,9)	
Czas od ujawnienia symptomów, lata (mediana, zakres)	1,4 (0,1-19,6)	3,0 (0,3-27,8)	0,047
VAS podczas selekcji, cm	6,7 ± 1,3	6,9 ± 1,2	0,496
Podskale WOMAC (stan wyjściowy) <sup>c,d</sup>			
Ból	21,2 ± 11,0	22,8 ± 8,7	0,544
Sztywność	10,2 ± 4,6	8,7 ± 4,3	0,224
Funkcja	76,9 ± 38,7	73,3 ± 38,2	0,721
Wskaźniki uszkodzenia <sup>e</sup>			
Powierzchnia, cm <sup>2</sup> (maksymalna)	2,41 ± 1,50 (6,77)	2,08 ± 1,22 (4,46)	0,373
Objętość z włączeniem brakującej kości (cm <sup>3</sup> )	0,99 ± 0,87	0,67 ± 0,47	0,076
Rehabilitacja			
Liczba sesji przypadająca na pacjenta w okresie ponad 12 tygodni	29,0 ± 7,4	27,9 ± 7,4	0,588

WOMAC = Skala Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index; VAS = Wizualna skala analogowa 10 cm długości

<sup>a</sup> Wartości są średnimi ± odchylenie standardowe, chyba, że zaznaczono inaczej.

<sup>b</sup> P Wartości P uzyskano używając testu t Studenta, testu Wilcozona, testu chi-kwadrat Pearsona, lub testu dokładnego Fischera.

<sup>c</sup> WOMAC obejmuje 3 podskale: ból, sztywność, funkcja w skali VAS: 0-10 cm. Maksymalna wartość dla bólu wynosi 50, 20 dla sztywności, i 170 dla funkcji.

<sup>d</sup> n = 33 BST-CarGel®.

<sup>e</sup> Powierznię i objętość uszkodzenia wyznaczono po oczyszczeniu zmiany, używając ilościowego MRI 1 miesiąc po terapii.

Efekt terapeutyczny, mierzony jako wartość T2 tkanki naprawczej podczas 5-letniej obserwacji w grupie BST-CarGel® był również wyższy w porównaniu z z grupą MFX (P=0,026)(patrz **Fig. 1** i **Tabela 2**). Wynik ten jest zgodny z istotną statystycznie różnicą stwierdzoną po 1 roku (P=0,033)[26]. Wartości T2 po 5 latach wynosiły odpowiednio 75,7 ± 3,2 i 90,4 ± 6,6 ms (średnia najmniejszych kwadratów ± błąd standardowy) dla grup BST - CarGel® i MFX. Wartości T2 w grupie BST-CarGel® były zawsze niższe i bliższe wartości T2 zdrowej chrząstki, położonej ipsilateralnie, wynoszącej 51,5 ± 7,5 ms (średnie ± odchylenie standardowe, n=59), mierzonej u pacjentów biorących udział w 5-letniej obserwacji.

### Drugorzędowe i trzeciorzędowe punkty końcowe

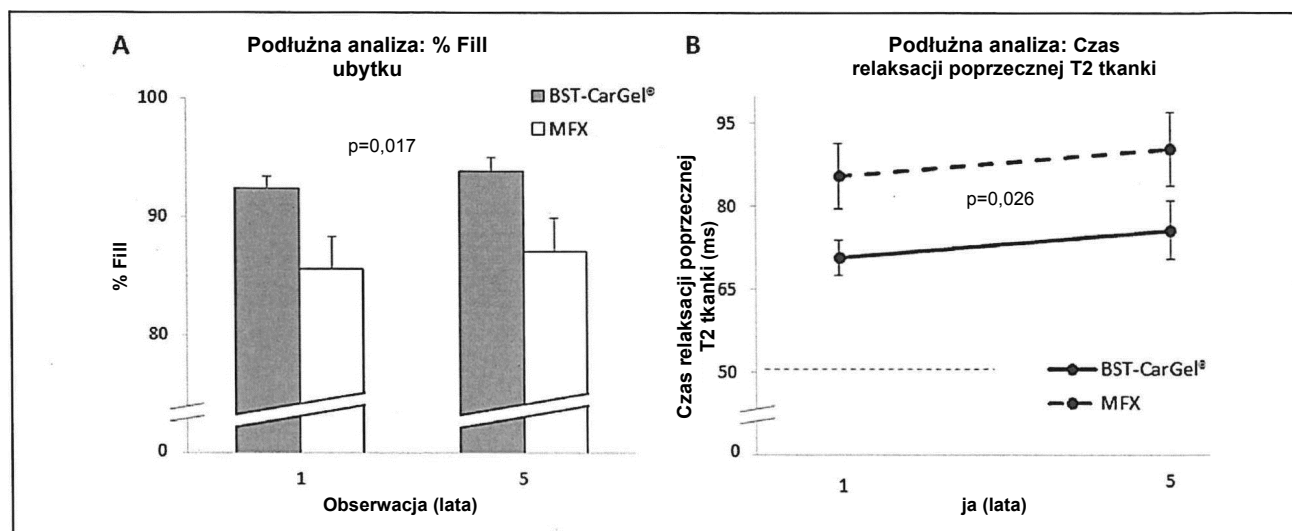
Po 5 latach, grupy BST-CarGel® i MFX wykazały znaczną poprawę wszystkich parametrów mierzonych skalą WOMAC (P <0,0001) (patrz **Fig. 2**) w stosunku do wartości wyjściowych przed leczeniem. W okresie 1-5 lat, nie stwierdzono różnic między grupami pod względem parametrów określających ból (P=0,47), sztywność (P=0,24) i funkcję (P=0,33), mierzonych w skali WOMAC (patrz Ryc. 3 i Tabela 2).

Pod względem oceny jakości życia, stwierdzono poprawę parametrów fizycznych i psychicznych mierzonych w skali SF-36, utrzymującą się przez 5 lat i nie obserwowano statystycznie istotnych różnic między grupami BST-CarGel® i MFX w okresie od 1 do 5 lat (Tabela 2). U pacjentów leczonych MFX stwierdzono natomiast gorsze niż w grupie BST-CarGel® wyniki opisujące komponentę psychiczną (P=0,125), a uzyskane w tej grupie wskaźniki po 5 latach obserwacji były niższe niż wartości wyjściowe.

### Profil bezpieczeństwa

Ogólnie, obydwie strategie terapeutyczne stosowane w badaniu były dobrze tolerowane, a profil bezpieczeństwa w obu grupach był porównywalny. W ciągu 5-letniego okresu obserwacji odnotowano

54 AE u 31 pacjentów, z których 13 przypadków (19,4%) wystąpiło w grupie BST-CarGel® a 18 (26,9%) w grupie MFX. Większość AE (> 90%) oceniono jako łagodne lub umiarkowane. Najczęściej obserwowanym AE w obu grupach był ból kolana (odpowiednio 11% vs. 17% w grupach BST-CarGel® i MFX). W grupie BST-CarGel® u 1 pacjenta (1,5%) wystąpiły 2 nieoczekiwane AE związane z procedurą i 1 nieoczekiwane AE zostało zgłoszone przez jednego pacjenta (1,5%), wszystkie były łagodne lub umiarkowane i obecne były podczas 5-letniej obserwacji. W grupie MFX wystąpiły 2 nieoczekiwane AE związane z procedurą u 2 pacjentów (3%), które miały łagodne nasilenie i trwały przez 5 lat obserwacji. Nie zgłoszono żadnych oczekiwanych AE w grupie MFX. W grupie BST-CarGel® wystąpiły 2 nieoczekiwane zdarzenia niepożądane związane z urządzeniem, dotyczące 1 pacjenta (1,5%), które były łagodne do umiarkowanych, i trwały przez 5 lat obserwacji. Nie stwierdzono przewidywanych AE związanych z badaną procedurą w grupie BST-CarGel®. Nie stwierdzono przewidywanych lub nieprzewidywanych AE związanych z badaną procedurą w grupie MFX. Jedno (1) poważne AE (SAE) o umiarkowanym nasileniu, które nie było związane w żaden sposób z leczeniem lub *indeksem Lequesne'a*, ale wymagało operacji i radioterapii, zostało zgłoszone przez 1 osobę z grupy MFX. Informacje dotyczące tego zdarzenia, dostarczone przez pacjenta ograniczały się do przekazu, że SAE miało miejsce w ciągu 5-letniego okresu obserwacji. Żaden pacjent z badanych grup nie został wyłączony z badania z powodu AE, SAE lub incydentu. W ciągu 5-letniego okresu obserwacji nie stwierdzono zgonów.



**Rycina 1.** Podłużna analiza z powtórzeniami z użyciem uogólnionych równań estymujących, dotyczących ilości i jakości chrząstki naprawczej w ciągu 5 lat po leczeniu. Wartości reprezentują najmniejsze kwadraty średnich, dostosowane do objętości uszkodzenia i błędu standardowego. **(A)** %Fill ubytku: Statystycznie istotna poprawa w grupie BST-CarGel® w porównaniu do mikrouszkodzeń (MFX) ( $P = 0,017$ ). %Fill ubytku został wyliczony jako stosunek objętości nowej tkanki naprawczej do wyjściowej objętości ubytku (po oczyszczeniu) 1 miesiąc po leczeniu. **(B)** Czas relaksacji poprzecznej T2 tkanki: Statystycznie istotna poprawa w grupie BST-CarGel® w porównaniu do MFX ( $P = 0,026$ ). Średnia T2 pochodzi z całkowitej objętości chrząstki naprawczej. Przerywana linia reprezentuje średnią wartość T2 ipsilateralnej prawidłowej chrząstki.

## Dyskusja

Prezentowane badanie wykazało, że chrząstka naprawcza o większej objętości i wysokiej jakości, która wytworzona została w wyniku trwającego 1 rok [26] leczenia pojedynczych ubytków chrząstki o pełnej grubości za pomocą preparatu BST-CarGel®, utrzymywała się przez okres ponad 5 lat, wspierając hipotezę, że BST-CarGel® zwiększa trwałość efektów naprawczych i zapewnia długoterminowo lepszą strukturę uzyskanej chrząstki w porównaniu z metodą MFX. Podczas 5-letniej obserwacji stwierdzono także znaczną poprawę w zakresie zmniejszenia bólu, sztywności i funkcji w porównaniu z wartościami wyjściowymi ( $P < 0,0001$ ), a profil bezpieczeństwa preparatu BST-CarGel® był porównywalny z metodą MFX.

Charakterystyka wyjściowa pacjentów włączonych do tej 5-letniej analizy była generalnie dobrze wyważona, z wyjątkiem kilku istotnych wyjątków: (1) Populacja pacjentów leczonych preparatem BST-CarGel® charakteryzowała się wyższymi wartościami początkowymi BMI ( $P=0,013$ ) i większą całkowitą objętością ubytków ( $P=0,076$ ) niż grupa MFX i (2) Pacjenci otrzymujący terapię BST-CarGel® byli znacznie młodsi ( $P=0,03$ ) i charakteryzowali się krótszą medianą czasu od wystąpienia objawów ( $P=0,047$ ) niż grupa MFX. Wyższe wartości wyjściowe BMI i większa objętość zmian mogą być uznane za czynniki obniżające efekty BST-CarGel®, podczas gdy niższy wiek i krótszy czas od wystąpienia objawów mogłyby poprawiać uzyskane wyniki. Podczas analizy wrażliwości, żadna z tych cech nie okazała się zmienną istotnie wpływającą na odchylenia wyników (bias), pomimo wcześniejszych doniesień, że efekty kliniczne leczenia metodą mikrozłamań są zależne od wieku [31].

Kwestia leczenia metodą MFX, podobnie jak zagadnienie przewlekłości (lub czasu od wystąpienia objawów do zabiegu chirurgicznego) jest nadal dyskutowana w literaturze. Niektóre doniesienia wskazują, że korzystniejsze efekty terapeutyczne uzyskiwane są, jeżeli leczeniu poddawane są zmiany w ciągu 1 roku od ich wystąpienia [6,32], podczas gdy inne prace sugerują brak wpływu przewlekłości [33]. W badaniu, w którym implantacja chondrocytów charakteryzowała się lepszymi wynikami w przypadku świeższych zmian (tj.  $< 3$  lat od momentu wystąpienia objawów) [34], wykazano podobną skuteczność metody MFX zarówno w terapii wczesnych jak i rozwiniętych zmian. Podobnie, w niniejszym badaniu stwierdziliśmy, że wyniki uzyskane w grupie leczonej metodą MFX, włączając 3 podskale WOMAC i %Fill, nie były zależne od czasu, jaki upłynął od wystąpienia objawów choroby, natomiast czas relaksacji T2 był gorszy w grupie MFX, jeśli czas do objawów wynosił  $> 3$  lata (interakcja statystyczna  $P=0,008$ ).

**Tabela 2.** Wyniki pierwszorzędowe, drugorzędowe i trzeciorzędowe po 5 latach.<sup>a</sup>

Zmienna	BST-CarGel®	Mokrozłamania	Wartość P <sup>b</sup>
<i>Pierwotne punkty końcowe<sup>c</sup></i>			
Stopień wypełnienia uszkodzenia (%)			0,017
Rok 1 (n)	92,37 ± 1,04(41)	85,54 ± 2,74 (37)	
Rok 5 (n)	93,79 ± 1,16 (33)	86,96 ± 2,85 (26)	
Czas relaksacji T2 (ms) naprawczej chrząstki			0,026
Rok 1 (n) <sup>d</sup>	70,78 ± 3,15 (39)	85,51 ± 5,95 (33)	
Rok 5 (n) <sup>d</sup>	75,68 ± 5,25 (29)	90,41 ± 6,56 (22)	
<i>Drugorzędowy punkt końcowy</i>			
Podskala WOMAC (zmiana względem wartości wyjściowych) <sup>e</sup>			
Ból			0,474
Rok 1 (n)	-15,85 ± 1,24 (40)	-17,03 ± 0,95 (37)	
Rok 5 (n)	-15,37 ± 1,47 (33)	-16,56 ± 1,19(26)	
Sztwywność			0,236
Rok 1 (n)	-5,68 ± 0,69 (40)	-6,73 ± 0,52 (37)	
Rok 5 (n)	-5,63 ± 0,72 (33)	-6,68 ± 0,58 (26)	
Funkcjonowanie fizyczne			0,326
Rok 1 (n)	-55,03 ± 4,59 (40)	-60,62 ± 2,90 (36)	
Rok 5 (n)	-56,52 ± 4,57 (33)	-62,10 ± 3,43 (26)	
<i>Trzeciorzędowy punkt końcowy</i>			
SF-36 v2 (zmiana względem wartości wyjściowych) <sup>f</sup>			
Komponent fizyczny			
Rok 1 (n)	13,01 ± 1,43 (36)	14,37 ± 1,35 (26)	0,478
Rok 5 (n)	13,12 ± 1,63 (34)	14,48 ± 1,42 (27)	
Komponent psychiczny			
Rok 1 (n)	3,38 ± 1,42 (36)	0,49 ± 1,42 (26)	0,125
Rok 5 (n)	2,72 ± 1,30 (34)	-0,17 ± 1,76 (27)	

T2 = Czas relaksacji poprzecznej T2; WOMAC = Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index; SF-36 v2 = Skrócona forma kwestionariusza-36 wersja 2.

<sup>a</sup>Wartości są wieloczynnikowymi oszacowaniami i są prezentowane jako średnie najmniejszych kwadratów ± standard błąd standardowy.

<sup>b</sup>P values were obtained using general estimating equations (GEE) for longitudinal analysis of repeated correlated measures.

<sup>c</sup>Średnie najmniejszych kwadratów zostały skorygowane o objętość defektu wyjściowego.

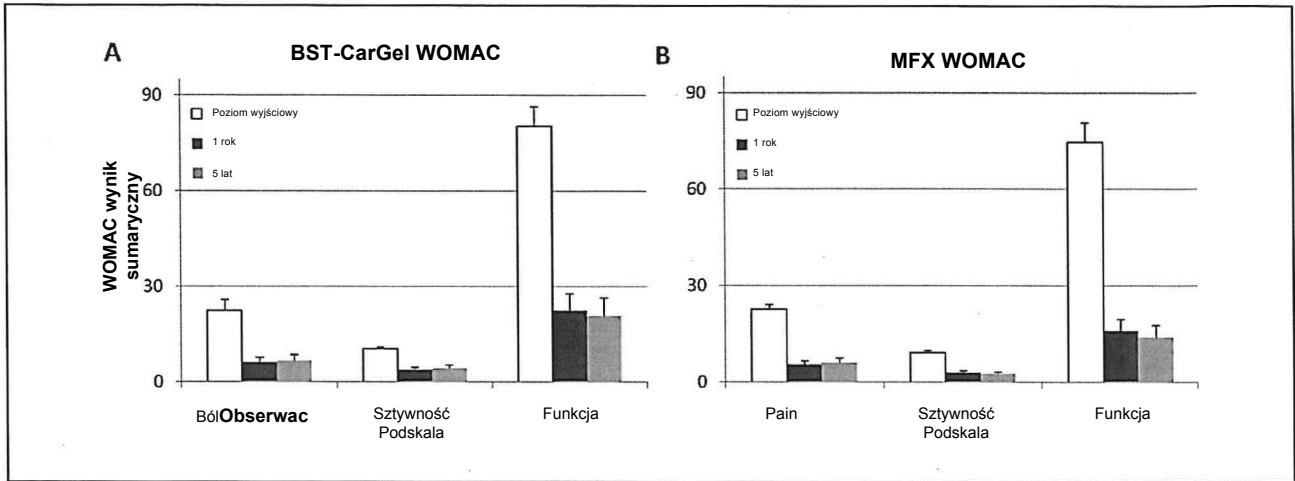
<sup>d</sup>Z powodu nieprawidłowych wyników (czas relaksacji >200 ms), wyniki 2 pacjentów z grupy BST-CarGel® i 4 pacjentów z grupy mikrozłamań (MFX) zostały usunięte z danych dla 1 roku, oraz wyniki 3 pacjentów z grupy BST-CarGel® i 3 pacjentów z grupy MFX zostały usunięte z danych z 5 lat. WOMAC obejmuje 3 podskale: ból, sztywność, i funkcja w formacie wizualnej skali analogowej; 0-10 cm. Średnie najmniejszych kwadratów są skorygowane względem wartości wyjściowych. Maksymalna wartość dla bólu wynosi 50, 20 dla sztywności, i 170 funkcji. Niższe, ujemne wartości oznaczają lepszy wynik.

<sup>f</sup>SF-36 v2 obejmuje 2 wielkości—element fizyczny i psychiczny—pochodzący z 8 podskal. Średnie najmniejszych kwadratów są skorygowane względem wartości wyjściowych. Wyższe, dodatnie wartości oznaczają lepszy wynik.

Po dopasowaniu ogólnego modelu matematycznego, zastosowanego w prezentowanym badaniu względem czasu do rozpoczęcia leczenia, przez wprowadzenie punktu odcięcia wynoszącego 3 lata, wyniki T2 pozostały niezmiennione oraz grupa BST-CarGel® zachowała przewagę nad MFX, a także wzrosła istotność statystyczna tej różnicy (P=0,009). Co ważne, czas od wystąpienia objawów (> 3, <3 lata) nie miał wpływu na efekty strukturalne i kliniczne grupy BST-CarGel®, prawdopodobnie dlatego, że BST-CarGel® oddziałuje w znacznie większym stopniu niż metoda MFX na głębokie warstwy kości, znajdujące się poniżej uszkodzenia, nasilając tym samym wczesne procesy naprawcze, uruchamiane przez szpik [24,27].

Osiągnięciem prezentowanego badania jest dostarczenie nowego poziomu dowodów naukowych, związanych z użyciem licencjonowanego trójwymiarowego ilościowego MRI do oceny ilości i jakości tkanki naprawczej w ciągu 5 lat, przy wysokim poziomie standaryzacji i precyzji, nie osiągniętych do tej pory w randomizowanych badaniach klinicznych (RCT) zgodnych z Dobrą Praktyką Kliniczną, dotyczących uszkodzeń chrząstki.

Wynik, uzyskany w ciągu 5 lat, wskazujący na zwiększenie ilości tkanki naprawczej w obrębie uszkodzonej chrząstki pod wpływem leczenia BST-CarGel® (93,79%) w porównaniu do MFX był porównywalny z wynikiem uzyskanym po 1 roku terapii (P=0,011) [26]. Odpowiednie wypełnienie uszkodzeń ma kluczowe znaczenie w leczeniu, gdyż celem wytworzenia nowej powłoki jest przywrócenie homeostazy mechanicznej i kształtu anatomicznego, zintegrowanego z powierzchnią, szczególnie w sytuacji, gdy biosynteza, przebudowa i ubytek lub regeneracja tkanek w czasie, mediowana przez chondrocyty, zależy od mechanicznych warunków obciążenia chrząstki [35]. Prawidłowa morfologia powierzchni oraz funkcja stawów zapewnia poprawę warunków biomechanicznych a także hamuje degenerację tkanek w miejscu uszkodzenia oraz tkanek otaczających oraz spowalnia rozwój wtórnego zapalenia kości i stawów [4,5].



**Rycina 2.** Poprawa wyników klinicznych terapii z zastosowaniem (A) BST-CarGel® i (B) mikrocząstek (MFX), ocenianych za pomocą skali Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC) (wizualna skala analogowa). Zmiana względem wartości wyjściowych była istotna statystycznie dla wszystkich podskal ( $P < 0,0001$ ) w 1 i 5 roku w grupach BST-CarGel® i MFX. Wartości reprezentują średnie i błędy standardowe. Niższe liczby oznaczają lepsze wyniki.

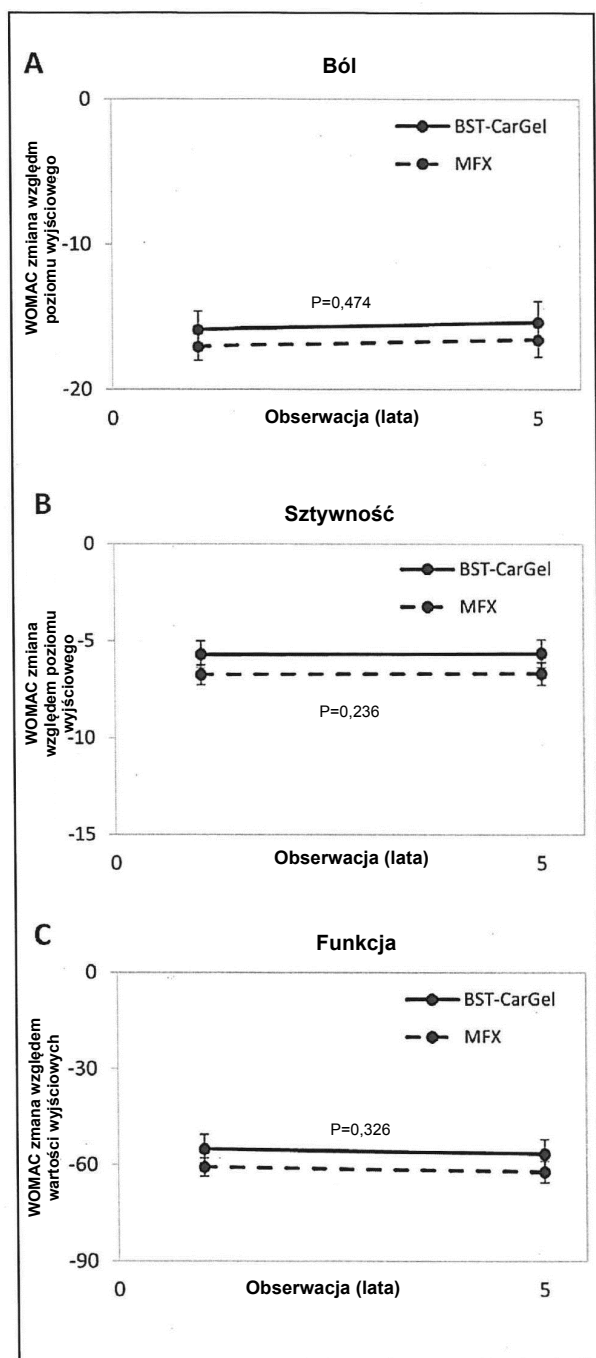
Wskaźniki T2, uzyskane w tym badaniu za pomocą ilościowego obrazowania MRI, również świadczą o lepszej jakości tkanki naprawczej w grupie BST-CarGel® po 5 latach. Wiadomo, że czas relaksacji poprzecznej T2 jest wrażliwy i zależny od własności substancji zewnątrzkomórkowej w tkance chrząstki, a zwłaszcza struktury sieciowej kolagenu, orientacji, a także stężenia makromolekularnego i nawodnienia [36-40]. Ponieważ jakość tkanki stawowej można ocenić przez porównanie jej wartości T2 do wartości mierzonych w prawidłowej chrząstce stawowej w obrębie tego samego kompartmentu [41], znacząco różne i niższe średnie wartości T2 w grupie BST-CarGel® po 1 i 5 latach, w porównaniu do grupy leczonej MFX wskazuje na trwałą poprawę jakości tkanki. Ta interpretacja uzyskanego w MRI T2 i jej związek z organizacją kolagenu jest potwierdzona przez odkrytą wcześniej w tym samym badaniu korelację statystyczną między T2 a wynikami oceny 38 pochodzących z biopsji próbek tkanki naprawczej, przeprowadzonej za pomocą mikroskopu polaryzacyjnego, 1 rok po zakończeniu terapii [42]. Wynik tej oceny wskazuje na istotnie lepszą warstwową organizację i korzystniejsze właściwości kolagenu w próbkach tkanek pacjentów leczonych BST-CarGel® w porównaniu do wyników uzyskanych w grupie MFX [43,44]. Większa zawartość kolagenu i lepsza warstwową organizacja są niezbędnymi czynnikami warunkującymi trwałość i wytrzymałość chrząstki naprawczej, ponieważ rozpad kolagenu jest uważany za decydujący etap rozwoju choroby zwyrodnieniowej stawów [45,46].

Podczas 5-letniej obserwacji w obu badanych grupach stwierdzono znaczącą redukcję bólu i sztywności oraz poprawę funkcji w porównaniu z wartościami wyjściowymi ( $P < 0,0001$ ). Uzyskanie w obydwu grupach porównywalnych wyników dotyczących poprawy klinicznej były efektem spodziewanym z dwóch powodów. Po pierwsze, badanie nie było konstruowane pod kątem korzyści klinicznych, jako punktu końcowego. Po drugie, w obydwu grupach rygorystycznie stosowano optymalne techniki chirurgiczne MFX. Porównywalna poprawa kliniczna w obu grupach badaniu jest ponadto kolejnym dowodem, że prawidłowo przeprowadzona [9] procedura mikrocząstek może skutecznie zredukować ból i poprawić funkcję kliniczną w perspektywie średnio- i długoterminowej pomimo, że przewidywany wynik to 2-3 lata, co związane jest z mechanicznymi deficytami chrząstki włóknistej i nadmiernym przerostem kości wewnątrz uszkodzenia [6, 13, 32, 47]. Porównywalność skuteczności klinicznej metody MFX z bardziej „zaawansowanymi” technikami została przekonywująco udowodniona w niniejszym badaniu RCT a także w innych badaniach, prowadzonych przez okres 1 roku [26-48,49], przez 5 lat [34, 50], nawet do 11 lat [33,51]. Ponadto, Shive i wsp [52] wykazali po raz pierwszy za pomocą trójwymiarowego ilościowego badania MRI, że przerost kości w wyniku zastosowania metody MFX jest

minimalny. W przypadkach kiedy miało to miejsce, przyczyną była obecność innego predysponującego czynnika (np. choroby kości istniejące przed operacją), a nie zabieg MFX per se. Jedną z możliwych przyczyn nietrwałości pozytywnych skutków metody MFX może być fakt, że lekarze ortopedzi przeprowadzający te zabiegi często nie wykonują najważniejszych etapów tej metody, jak opisano w pracy Steadman i wsp. [9] i mogą nie być świadomi potencjalnych czynników wpływających na wynik, takich jak BMI, wiek i rehabilitacja. W ankiecie przeprowadzonej wśród praktykujących chirurgów ortopedycznych tylko 69% ze 131 lekarzy zadeklarowało, że przed wywierceniem otworów usuwają zwapioną warstwę chrząstki [53], mimo, że jest to jeden z najważniejszych kroków procedury MFX [54]. To sugeruje, że sama technika może być czynnikiem decydującym o powodzeniu bądź niepowodzeniu zabiegu MFX, w odniesieniu do wyników klinicznych.

Aby lepiej zrozumieć podobieństwo między wynikami uzyskanymi w badanych grupach, z zastosowaniem podskal WOMAC w ciągu 5-letniej obserwacji, przeprowadzono analizę wrażliwości post-hoc w celu określenia, czy konkretne cechy pacjenta lub zmienne strukturalne %Fill lub T2 przyczyniły się do wyników klinicznych. Nie zidentyfikowano pojedynczego czynnika, który byłby skorelowany z bólem, sztywnością i funkcją, mierzonymi w skali WOMAC. Ostatecznie, ustalenie, które czynniki wpływają na kliniczne wyniki leczenia chrząstki będzie wielowymiarowe, z uwzględnieniem licznych zmiennych, typowych dla konkretnego chorego i rodzaju uszkodzenia chrząstki. Istotne są takie cechy jak wiek pacjenta [31,50,55,56], BMI [32,57], czas od wystąpienia objawów [34,56], płeć, rozmiar i lokalizacja uszkodzenia [58] chociaż inne parametry związane z procedurą, takie jak techniczne aspekty leczenia chirurgicznego i rehabilitacji pooperacyjnej [58,59] mogą również odgrywać istotną rolę. W konsekwencji, korelacja między strukturą tkanki naprawczej a wynikami klinicznymi jest trudna do uchwycenia. W kilku badaniach odnotowano zależności między oceną strukturalną a długoterminowymi efektami klinicznymi, ale badania te mają szereg ograniczeń, takich jak niewielkie rozmiary badanej próby, rygorystyczny statystyczny i subiektywna ocena zarówno parametrów strukturalnych, jak i klinicznych [50,56,60,61].





**Rycina 3. Podłużna analiza** Podłużna analiza z powtórzeniami z użyciem uogólnionych równań estymujących, dotycząca danych Western Ontario McMaster Universities Osteoarthritis Index (WOMAC), ocenianych w ciągu 5 lat. Wartości reprezentują najmniejsze kwadraty średnich, dostosowane do objętości uszkodzenia i błędu standardowego. Podobna poprawa wyników była obserwowana w grupach BST-CarGel® mikroziarnań (MFX) obserwowana była dla następujących wielkości (A) Ból ( $P = 0,474$ ), (B) Szttywność ( $P = 0,236$ ), i (C) Funkcja ( $P = 0,326$ ).

Aby lepiej zrozumieć podobieństwo między wynikami uzyskanymi w badanych grupach, z zastosowaniem podskal WOMAC w ciągu 5-letniej obserwacji, przeprowadzono analizę wrażliwości post-hoc w celu określenia, czy konkretne cechy pacjenta lub zmienne strukturalne %Fill lub T2 przyczyniły się do wyników klinicznych. Nie zidentyfikowano pojedynczego czynnika, który byłby skorelowany z bólem, sztywnością i funkcją, mierzonymi w skali WOMAC. Ostatecznie, ustalenie, które czynniki wpływają na kliniczne wyniki leczenia chrząstki będzie wielowymiarowe, z uwzględnieniem licznych zmiennych, typowych dla konkretnego chorego i rodzaju uszkodzenia chrząstki. Istotne są takie cechy jak wiek pacjenta [31,50,55,56], BMI [32,57], czas od wystąpienia objawów [34,56], płeć, rozmiar i lokalizacja uszkodzenia [58] chociaż inne parametry związane z procedurą, takie jak techniczne aspekty leczenia chirurgicznego i rehabilitacji pooperacyjnej [58,59] mogą również odgrywać istotną rolę. W konsekwencji, korelacja między strukturą tkanki naprawczej a wynikami klinicznymi jest trudna do uchwycenia. W kilku badaniach odnotowano zależności między oceną strukturalną a długoterminowymi efektami klinicznymi, ale badania te mają szereg ograniczeń, takich jak niewielkie rozmiary badanej próby, rygorystyczny i subiektywny ocena zarówno parametrów strukturalnych, jak i klinicznych [50,56,60,61]. Ostatnie badanie kohortowe po zabiegu MACI wykorzystywało wielowymiarowe modele, służące do oceny czynników predykcyjnych, w tym subiektywny złożony wynik MRI, ale nie stwierdzono korelacji z ze skalą oceny KOOS (Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score) sport/rekreacja lub SF-36 [58]. W pracach przeglądowych dominuje pogląd, że istnieją znaczne niespójności między wynikami strukturalnymi uzyskanymi w badaniu MRI, procedurami naprawczymi i wynikającymi z nich skutkami klinicznymi [62,63], a analizy w badaniach długoterminowych komplikowane są przez możliwość wystąpienia zmian zwyrodnieniowych stawów kolanowych lub innej, niezwiązanej z terapią patologii kolana. Poprzednie badania ograniczały się do subiektywnej półilościowej analizy MRI z zastosowaniem skali MOCART [64] lub Henderson [65] i w żadnym z nich nie przeprowadzono ilościowej trójwymiarowej analizy strukturalnej, jak opisano w niniejszym badaniu.

Najważniejszym celem leczenia za pomocą preparatu BST-CarGel® jest uzyskanie trwałej redukcji bólu i innych niekorzystnych objawów, a tym samym umożliwienie pacjentowi powrotu do normalnego trybu życia, które można ocenić tylko za pomocą wskaźników dostarczonych przez pacjenta. Obecnie nie ma jednolitego przekonania, które parametry, opierające się na opinii pacjenta, można byłoby uznać za optymalne wskaźniki służące do oceny wyników leczenia chrząstki. Niektóre z nich poddawane po walidacji, okazały się niekompletne i niewystarczająco czułe [66]. W niniejszym badaniu, przy użyciu narzędzia WOMAC nie udało się wykazać klinicznych różnic między dwiema grupami i, chociaż metoda ta została poddana walidacji i jest przeznaczona dla pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów, 3 elementy kwestionariusza WOMAC, oceniające ból, sztywność i funkcję prawdopodobnie nie są wystarczająco czułe, by wykazać istotne różnice między tymi grupami.

Najwyraźniej, konieczne jest przeprowadzenie większej liczby trwających dłużej badań, z wykorzystaniem zarówno narzędzi strukturalnych, jak i klinicznych efektów ocenianych przez pacjentów, które są wystarczająco precyzyjne, by wykryć poprawę stanu chrząstki przed pojawieniem się zależności między efektami klinicznymi i strukturalnymi. Jeżeli więc, kliniczne korzyści większości badanych interwencji chirurgicznych stosowanych w leczeniu chrząstki są na wytarzająco dobrym poziomie [33, 34, 67, 68] i okres obserwacji jest wystarczająco długi, przewaga jednej z tych terapii lub techniki nad pozostałymi leży w strukturze nowopowstałej lub zregenerowanej chrząstki, tak jak stwierdzono w niniejszym badaniu. Można łatwo wykazać, że wystarczająca ilość tkanki naprawczej o cechach chrząstki hialinowej zapewnia odpowiednią ruchomość stawu, obciążenie biomechaniczne i metabolizm tkanki, co jest konieczne do uzyskania trwałego efektu i poprawy funkcji. Ponadto, struktura tkanki naprawczej stanowi wiarygodny punkt końcowy badania klinicznego ponieważ chrząstka hialinowa ma doskonałą budowę o charakterystycznych cechach, takich jak zawartość kolagenu i struktura warstwowa, obecność glikozaminoglikanu i populacji komórek [69], które mogą być łatwo zidentyfikowane za pomocą precyzyjnych metod ilościowych, wrażliwych na wczesne zmiany struktury chrząstki, w rozsądnych ramach czasowych badania klinicznego.

Głównym ograniczeniem niniejszego badania była liczba pacjentów, którzy nie uczestniczyli w dalszej obserwacji (25%). Jak opisano wcześniej, było to związane z kilkoma czynnikami, w tym upadłością finansową, długim czasem trwania badania i zmęczeniem pacjentów, chociaż nasze badanie nie różniło się od innych, w których raportowano wyniki z okresu 5 lat z udziałem 77%, 50% i 79% [34] badanych pacjentów. Ponadto, wyniki badań z okresu 5 lat przedstawione w niniejszym opisie są prawdopodobnie szacunkami konserwatywnymi, ponieważ u pacjentów, którzy zgłosili się do badania rozszerzonego, występowały negatywne czynniki prognostyczne, tj. większe wskaźniki BMI i większe ubytki tkanki, w porównaniu z osobami, które nie kontynuowały uczestnictwa w badaniu rozszerzonym, chociaż żaden z tych czynników nie był zmienną istotną statystycznie.

Podsumowując, wykazano, że tkanka naprawcza, obserwowana u pacjentów leczonych produktem BST-CarGel®, przez okres 5 lat po leczeniu wykazuje znaczącą strukturalną przewagę pod względem ilości i jakości w porównaniu do pacjentów leczonych metodą MFx. Stosowanie BST-CarGel® związane jest z korzyściami klinicznymi, rozumianymi jako istotne w porównaniu do poziomu wyjściowego zmniejszenia bólu i sztywności oraz poprawą funkcji, co ilustruje, że BST-CarGel® jest bezpiecznym i skutecznym sposobem leczenia objawowych uszkodzeń na pełnej grubości chrząstki.

## Uwaga autorów

Niniejsze badanie zostało przeprowadzone w 26 ośrodkach klinicznych w Kanadzie, Hiszpanii i Korei Południowej (pełna lista znajduje się w dziale Podziękowania).

## Podziękowania

Badanie rozszerzone zostało przeprowadzone przez Piramal Life Sciences, Wydział Bioortopedyczny. Szczególne podziękowania składamy BST-CarGel® Clinical Study Group za wszechstronne zaangażowanie w przeprowadzenie badania oraz wszystkim Koordynatorom Regionalnym i Badaczom, którzy niestrudzenie pracowali nad jego realizacją. Badaczami i Koordynatorami z grupy BST-CarGel® Clinical Trial Group byli (w Kanadzie) William Stanish (Halifax), Nicholas Mohtadi (Calgary), Peter MacDonald (Winnipeg), Robert McCormack, Jordan Leith, Patrick Chin i Mike Gilbert (Vancouver), Stéphane Pelet, Réjean Cloutier, Jean Lamontagne i Sylvain Belzile (Quebec City), Don Johnson i Allan Liew (Ottawa), Paul Marks (Toronto), Michel Malo, Julio Fernandes, Pierre Ranger, Jacques Desnoyers, Patrick Lavigne i Sébastien Guimond Simard (Montreal), Paul Zalzal i Tim Deakon (Oakville) i Frank Smith (Hamilton); (w Hiszpanii) Francisco Forriol, Felipe Lopez-Oliva, Gloria Lopez, Manuel Leyes, Javier Vaquero, Diego Garcia, Santiago Bello, Alonso Moreno i Patricia Villanueva (Madryt), Francisco Macule (Barcelona) i Antonio Maestro Fernandez (Gijón); oraz (w Korei Południowej): Myung Chul Lee, Sang-Hoon Lee i Kyoung Ho Yoon (Seul). Określenie obszarów i badanie MRI zostało przeprowadzone przez firmę VirtualScopics (Rochester, NY), a analizy ilościowe MRI wykonała firma Qmetrics Technologies (Rochester, NY).

## Deklaracja konfliktu interesów

Autor (autorzy) oświadczają, że występuje następujący potencjalny konflikt interesów dotyczący badań, autorstwa i/lub publikacji niniejszego artykułu: jeden lub więcej autorów otrzymało wynagrodzenie od strony trzeciej, bezpośrednio lub pośrednio (t.j. za pośrednictwem instytucji), jako wsparcie części niniejszej pracy.

## Finansowanie

Autor (autorzy) potwierdzają, że otrzymali następujące wsparcie finansowe w zakresie badań, autorstwa i/lub publikacji tego artykułu: firma Piramal Healthcare (Canada) Ltd. jest jedynym źródłem finansowania projektu i jest odpowiedzialna za projekt badawczy, interpretację danych i opublikowanie manuskryptu. Zbieranie danych i ślepe analizy zostały przeprowadzone przez osoby trzecie, jak opisano w niniejszym dokumencie.

## Zgoda komisji etycznej

Protokół badania rozszerzonego (<https://clinicaltrials.gov>; #NCT012-46895) został zatwierdzony przez komisje etyczne wszystkich instytucji biorących udział w badaniu, przed rozpoczęciem czynności związanych z badaniem.

## Bibliografia

- Jakobsen RB, Engebretsen L, Slauterbeck JR. An analysis of the quality of cartilage repair studies. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87:2232-9.
- Benthien JP, Schwanger M, Behrens P. We do not have evidence based methods for the treatment of cartilage defects in the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2011;19: 543-52.
- Worthen J, Waterman BR, Davidson PA, Lubowitz JH. Limitations and sources of bias in clinical knee cartilage research. *Arthroscopy.* 2012;28:1315-25.
- Buckwalter JA, Mankin HJ. Instructional Course Lectures, The American Academy of Orthopaedic Surgeons—Articular Cartilage. Part II: degeneration and osteoarthritis, repair, regeneration, and transplantation. *J Bone Joint Surg Am* 1997;79:612-32.
- Davies-Tuck ML, Wluka AE, Wang Y, Teichtahl AJ, Jones G, Ding C, *et al.* The natural history of cartilage defects in people with knee osteoarthritis. *Osteoarthritis Cartilage.* 2008;16:337-42.
- Mithoefer K, McAdams T, Williams RJ, Kreuz PC, Mandelbaum BR. Clinical efficacy of the microfracture technique for articular cartilage repair in the knee: an evidence-based systematic analysis. *Am J Sports Med.* 2009;37:2053-63.
- U.S. Food and Drug Administration. Guidance for industry. Preparation of IDEs and INDs for products intended to repair or replace knee cartilage. Silver Spring, MD: U.S. Food and Drug Administration.
- Mankin HJ. The response of articular cartilage to mechanical injury. *J Bone Joint Surg Am.* 1982;64:460-6.
- Steadman JR, Rodkey WG, Briggs KK. Microfracture to treat full-thickness chondral defects: surgical technique, rehabilitation, and outcomes. *J Knee Surg.* 2002;15:170-6.
- Nehrer S, Spector M, Minas T. Histologic analysis of tissue after failed cartilage repair procedures. *Clin Orthop Relat Res.* 1999;(365): 149-62.

11. Frisbie DD, Oxford JT, Southwood L, Trotter GW, Rodkey WG, Steadman JR, *et al.* Early events in cartilage repair after subchondral bone microfracture. *Clin Orthop Relat Res.* 2003;(407):215-27.
12. Gudas R, Stankevicius E, Monastyreckiene E, Pranys D, Kalesinskas RJ. Osteochondral autologous transplantation versus microfracture for the treatment of articular cartilage defects in the knee joint in athletes. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2006;14:834-42.
13. Kreuz PC, Steinwachs MR, Erggelet C, Krause SJ, Konrad G, Uhl M, *et al.* Results after microfracture of full-thickness chondral defects in different compartments in the knee. *Osteoarthritis Cartilage.* 2006;14:1119-25.
14. Hoemann CD, Hurtig M, Rossomacha E, Sun J, Chevrier A, Shive MS, *et al.* Chitosan-glycerol phosphate/blood implants improve hyaline cartilage repair in ovine microfracture defects. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87:2671-86.
15. Gobbi A, Nunag P, Malinowski K. Treatment of full thickness chondral lesions of the knee with microfracture in a group of athletes. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2005; 13: 213-21.
16. Fortier LA, Potter HG, Rickey EJ, Schnabel LV, Foo LF, Chong LR, *et al.* Concentrated bone marrow aspirate improves full-thickness cartilage repair compared with microfracture in the equine model. *J Bone Joint Surg Am.* 2010;92:1927-37.
17. Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am.* 1993;75:532-53.
18. Johnson LL. Characteristics of the immediate postarthroscopic blood clot formation in the knee joint. *Arthroscopy.* 1991;7:14-23.
19. Hoemann CD, Sun J, McKee MD, Chevrier A, Rossomacha E, Rivard GE, *et al.* Chitosan-glycerol phosphate/blood implants elicit hyaline cartilage repair integrated with porous subchondral bone in microdrilled rabbit defects. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007;15:78-89.
20. Kumar MN, Muzzarelli RA, Muzzarelli C, Sashiwa H, Domb AJ. Chitosan chemistry and pharmaceutical perspectives. *Chem Rev.* 2004;104:6017-84.
21. Muzzarelli RAA, Muzzarelli C. Chitosan chemistry: relevance to the biomedical sciences. *Adv Polym Sci.* 2005;186:151-209.
22. Shigemasa Y, Minami S. Applications of chitin and chitosan for biomaterials. *Biotechnol Genet Eng Rev* 1996;13:383-420.
23. Chenite A, Chaput C, Wang D, Combes C, Buschmann MD, Hoemann CD, *et al.* Novel injectable neutral solutions of chitosan form biodegradable gels in situ. *Biomaterials.* 2000;21:2155-61.
24. Chevrier A, Hoemann CD, Sun J, Buschmann MD. Chitosan-glycerol phosphate/blood implants increase cell recruitment, transient vascularization and subchondral bone remodeling in drilled cartilage defects. *Osteoarthritis Cartilage.* 2007;15:316-27.
25. Shive M, Hoemann C, Restrepo A, Hurtig M, Duval N, Ranger P, *et al.* BST-CarGel®: in situ chondroinduction for cartilage repair. *Oper Tech Orthop.* 2006;16:271-8.
26. Stanish WD, McCormack R, Forriol F, Mohtadi N, Pelet S, Desnoyers J, *et al.* Novel scaffold-based BST-CarGel® treatment results in superior cartilage repair compared with microfracture in a randomized controlled trial. *J Bone Joint Surg Am.* 2013;95:1640-50.
27. Chevrier A, Hoemann CD, Sun J, Buschmann MD. Temporal and spatial modulation of chondrogenic foci in subchondral microdrill holes by chitosan-glycerol phosphate/blood implants. *Osteoarthritis Cartilage* 2011; 19:136-144.
28. Buschmann MD, Hoemann CD, Hurtig M, Shive MS. Cartilage repair with chitosan/glycerol-phosphate stabilized blood clots. In: Williams RJ, editor. *Cartilage repair strategies.* Totowa, NJ: Humana Press; 2007. p. 85-104.
29. Bellamy N, Buchanan WW, Goldsmith CH, Campbell J, Stitt LW. Validation study of WOMAC: a health status instrument for measuring clinically important patient relevant outcomes to antirheumatic drug therapy in patients with osteoarthritis of the hip or knee. *J Rheumatol.* 1988;15:1833-40.
30. Ware JE Jr. SF-36 health survey update. *Spine.* 2000;25:3130-9.
31. Kreuz PC, Erggelet C, Steinwachs MR, Krause SJ, Lahm A, Niemyer P, *et al.* Is microfracture of chondral defects in the knee associated with different results in patients aged 40 years or younger? *Arthroscopy.* 2006;22:1180-6.
32. Mithoefer K, Williams RJ 3rd, Warren RF, Potter HG, Spock CR, Jones EC, *et al.* The microfracture technique for the treatment of articular cartilage lesions in the knee. A prospective cohort study. *J Bone Joint Surg Am.* 2005;87:1911-20.
33. Steadman JR, Briggs KK, Rodrigo JJ, Kocher MS, Gill TJ, Rodkey WG. Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up. *Arthroscopy.* 2003;19:477-84.
34. Vanlauwe J, Saris DB, Victor J, Almqvist KF, Bellemans J, Luyten FP, *et al.* Five-year outcome of characterized chondrocyte implantation versus microfracture for symptomatic cartilage defects of the knee: early treatment matters. *Am J Sports Med.* 2011;39:2566-74.
35. Grodzinsky AJ, Levenston ME, Jin M, Frank EH. Cartilage tissue remodeling in response to mechanical forces. *Annu Rev Biomed Eng.* 2000;2:691-713.
36. Nieminen MT, Rieppo J, Toyras J, Hakumaki JM, Silvennoinen J, Hyttinen MM, *et al.* T2 relaxation reveals spatial collagen architecture in articular cartilage: a comparative quantitative MRI and polarized light microscopic study. *Magn Reson Med.* 2001;46:487-93.
37. Mosher TJ, Dardzinski BJ. Cartilage MRI T2 relaxation time mapping: overview and applications. *Semin Musculoskelet Radiol.* 2004;8:355-68.
38. White LM, Sussman MS, Hurtig M, Probyn L, Tomlinson G, Kandel R. Cartilage T2 assessment: differentiation of normal hyaline cartilage and reparative tissue after arthroscopic cartilage repair in equine subjects. *Radiology.* 2006;241:407-14.
39. Xia Y, Moody JB, Alhadlaq H. Orientational dependence of T2 relaxation in articular cartilage: a microscopic MRI (microMRI) study. *Magn Reson Med.* 2002;48:460-9.
40. Trattnig S, Mamisch TC, Welsch GH, Glaser C, Szomolanyi P, Gebetsroither S, *et al.* Quantitative T2 mapping of matrix-associated autologous chondrocyte transplantation at 3 Tesla: an in vivo cross-sectional study. *Invest Radiol.* 2007;42:442-8.
41. Domayer SE, Kutscha-Lissberg F, Welsch G, Dorotka R, Nehrer S, Gabler C, *et al.* T2 mapping in the knee after microfracture at 3.0 T: correlation of global T2 values and clinical outcome—preliminary results. *Osteoarthritis Cartilage.* 2008;16:903-8.
42. Shive M, Buschmann MB, Yaroshinsky A, Tamez-Pena J, Schreyer E, Totterman S, *et al.* T2 MRI of repair cartilage

- reflects both tissue quality and quantity. Paper presented at: Fifth Annual Osteoarthritis Imaging Workshop; June 8-11, 2011; Salzburg, Austria.
43. Changoor A, Nelea M, Methot S, Tran-Khanh N, Chevrier A, Restrepo A, *et al.* Structural characteristics of the collagen network in human normal, degraded and repair articular cartilages observed in polarized light and scanning electron microscopies. *Osteoarthritis Cartilage.* 2011 ; 19:1458-68.
  44. Changoor A, Tran-Khanh N, Methot S, Garon M, Hurtig MB, Shive MS, *et al.* A polarized light microscopy method for accurate and reliable grading of collagen organization in cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage.* 2011;19:126-35.
  45. Eyre D. Collagen of articular cartilage. *Arthritis Res.* 2002;4:30-35.
  46. Wu JP, Kirk TB, Zheng MH. Study of the collagen structure in the superficial zone and physiological state of articular cartilage using a 3D confocal imaging technique. *J Orthop Surg Res.* 2008;3:29.
  47. Saris D, Price A, Widuchowski W, Bertrand-Marchand M, Caron J, Drogset JO, *et al.* Matrix-applied characterized autologous cultured chondrocytes versus microfracture: two- year follow-up of a prospective randomized trial. *Am J Sports Med.* 2014;42:1384-94.
  48. Knutsen G, Engebretsen L, Ludvigsen TC, Drogset JO, Grontvedt T, Solheim E, *et al.* Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomized trial. *J Bone Joint Surgery Am.* 2004;86:455-64.
  49. Saris DB, Vanlauwe J, Victor J, Haspl M, Bohnsack M, Fortems Y, *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: 235-46.
  50. Knutsen G, Drogset JO, Engebretsen L, Grontvedt T, Isaksen V, Ludvigsen TC, *et al.* A randomized trial comparing autologous chondrocyte implantation with microfracture. Findings at five years. *J Bone Joint Surg Am.* 2007;89:2105-12.
  51. Ulstein S, Aroen A, Rotterud JH, Loken S, Engebretsen L, Heir S. Microfracture technique versus osteochondral autologous transplantation mosaicplasty in patients with articular chondral lesions of the knee: a prospective randomized trial with long-term follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2014;22:1207-15.
  52. Shive MS, Restrepo A, Totterman S, Tamez-Pena J, Schreyer E, Steinwachs M, *et al.* Quantitative 3D MRI reveals limited intra-lesional bony overgrowth at 1 year after microfracture- based cartilage repair. *Osteoarthritis Cartilage.* 2014;22: 800-4.
  53. Theodoropoulos J, Dwyer T, Whelan D, Marks P, Hurtig M, Sharma P. Microfracture for knee chondral defects: a survey of surgical practice among Canadian orthopedic surgeons. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012;20:2430-7.
  54. Frisbie DD, Morisset S, Ho CP, Rodkey WG, Steadman JR, McIlwraith CW. Effects of calcified cartilage on healing of chondral defects treated with microfracture in horses. *Am J Sports Med.* 2006;34:1824-31.
  55. de Windt TS, Bekkers JE, Creemers LB, Dhert WJ, Saris DB. Patient profiling in cartilage regeneration: prognostic factors determining success of treatment for cartilage defects. *Am J Sports Med.* 2009;37(Suppl 1):58S-62S.
  56. Krishnan SP, Skinner JA, Jagiello J. Durability of cartilage repair—does histology matter? *J Bone Joint Surg Br* 2006;90:323-4.
  57. Jaiswal PK, Bentley G, Carrington RW, Skinner JA, Briggs TW. The adverse effect of elevated body mass index on outcome after autologous chondrocyte implantation. *J Bone Joint SurgBr.* 2012;94:1377-81.
  58. Ebert JR, Smith A, Edwards PK, Hambly K, Wood DJ, Ackland TR. Factors predictive of outcome 5 years after matrix-induced autologous chondrocyte implantation in the tibiofemoral joint. *Am J Sports Med.* 2013;41:1245-54.
  59. Reinold MM, Wilk KE, Macrina LC, Dugas JR, Cain EL. Current concepts in the rehabilitation following articular cartilage repair procedures in the knee. *J Orthop Sports Phys Ther.* 2006;36:774-94.
  60. Brun P, Dickinson SC, Zavan B, Cortivo R, Hollander AP, Abatangelo G. Characteristics of repair tissue in second-look and third-look biopsies from patients treated with engineered cartilage: relationship to symptomatology and time after implantation. *Arthritis Res Ther.* 2008; 10:R 132.
  61. Saris DB, Vanlauwe J, Victor J, Almqvist KF, Verdonk R, Bellemans J, *et al.* Treatment of symptomatic cartilage defects of the knee: characterized chondrocyte implantation results in better clinical outcome at 36 months in a randomized trial compared to microfracture. *Am J Sports Med.* 2009;37(Suppl 1):10S-19S.
  62. Blackman AJ, Smith MV, Flanigan DC, Matava MJ, Wright RW, Brophy RH. Correlation between magnetic resonance imaging and clinical outcomes after cartilage repair surgery in the knee: a systematic review and meta-analysis. *Am J Sports Med.* 2013;41:1426-34.
  63. de Windt TS, Welsch GH, Brittberg M, Vonk LA, Marlovits S, Trattnig S, *et al.* Is magnetic resonance imaging reliable in predicting clinical outcome after articular cartilage repair of the knee? A systematic review and meta-analysis. *Am J Sports Med.* 2013;41:1695-702.
  64. Marlovits S, Singer P, Zeller P, Mandl I, Haller J, Trattnig S. Magnetic resonance observation of cartilage repair tissue (MOCART) for the evaluation of autologous chondrocyte transplantation: determination of interobserver variability and correlation to clinical outcome after 2 years. *Eur J Radiol.* 2006;57:16-23.
  65. Henderson IJ, Tuy B, Connell D, Oakes B, Hettwer WH. Prospective clinical study of autologous chondrocyte implantation and correlation with MRI at three and 12 months. *J Bone Joint Surg Br.* 2003;85:1060-6.
  66. Hambly K, Griva K. IKDC or KOOS? Which measures symptoms and disabilities most important to postoperative articular cartilage repair patients? *Am J Sports Med.* 2008;36:1695-704.
  67. Hangody L, Duska Z, Karpati Z. Autologous osteochondral mosaicplasty. *Tech Knee Surg.* 2002;1:13-22.
  68. Zaslav K, Cole B, Brewster R, DeBerardino T, Farr J, Fowler P, *et al.* A prospective study of autologous chondrocyte implantation in patients with failed prior treatment for articular cartilage defect of the knee: results of the Study of the Treatment of Articular Repair (STAR) clinical trial. *Am J Sports Med.* 2009;37:42-55.
  69. Poole AR, Kojima T, Yasuda T, Mwale F, Kobayashi M, Laverty S. Composition and structure of articular cartilage: a template for tissue repair. *Clin Orthop Relat Res.* 2001 ;(391 Suppl):S26-33.