

Ledbruskkirurgi

Fra skylning til tissue engineering

Afdelingslæge Martin Lind, reservelæge Michael Ulrich Vinther, overlæge Allan Stanley Larsen, overlæge Søren Kaalund Jensen & overlæge Gert Kristensen

Århus Sygehus, Ortopædkirurgisk Afdeling, og Aalborg Sygehus, Ortopædkirurgi Nordjylland

Resume

Regeneration af bruskvæv er vanskelig på grund af avaskularitet og høj vævskompleksitet. Kirurgisk behandling af isolerede brusk-skader udvikles hastigt, specielt med indførelse af bioteknologiske behandlingsprincipper. I denne oversigtsartikel gennemgås kirurgiske behandlingsmuligheder for brusk-læsioner, såsom *débridement*, marvstimulation, osteokondral transplantation og autolog bruskcelletransplantation. Både *débridement* og marvstimulation kan give betydelig symptomlindring. Randomiserede studier er begyndt at indeholde information om de nye bioteknologisk baserede behandlingsmetoder. Men sikre behandlingsforbedringer i forhold til ældre behandlingstilbud foreligger endnu ikke.

Ledbrusklæsioner opstår på både degenerativ og traumatisk baggrund, og disse skader er ofte symptomgivende med ledsmerter, ledansamlinger og funktionsnedsættelse. På længere sigt kan brusk-læsioner udvikles til slidgigt [1].

Bruskvæv har ringe regenerationsevne, og derfor heler brusk-skader enten slet ikke eller med sparsomt fibrocartilagøst væv, der ikke besidder sufficente biomekaniske egenskaber [2]. Hidtil har kirurgiske behandlingsforsøg med regenerering af ledbruskvæv med histomorfometriske og biomekaniske egenskaber som matur hyalinledbrusk ikke været succesfulde. Gennem den seneste dekade har der været en stor interesse for at forbedre behandlingstilbuddene til de ofte yngre patienter med fokale symptomgivende brusk-læsioner. Specielt nye bioteknologiske og molekylærmedicinske behandlingsprincipper har fået stor bevågenhed. I de første prospektive, randomiserede studier med bioteknologiske behandlingsprincipper er der dog ikke fundet kliniske fordele ved disse metoder. Men området er under rivende udvikling og forbedringer af teknikker udvikles med stor hast.

I denne oversigtsartikel bliver principperne for de eksisterende kirurgiske behandlingsmuligheder for brusk-skader og resultaterne af disse gennemgået. Endvidere bliver mulighederne for anvendelse af bioteknologiske og molekylærmedicinske metoder til regeneration af ledbrusk belyst.

Litteratursøgning

Der er søgt på www.medline.com via MeSH-database med

søgeordene *cartilage repair* og *clinical og surgery* (464 hit).

I Cochrane-databasen er der søgt med *cartilage repair* (fem hits) *clinical trials*, et reviewhit, reviewet blev ekskluderet, da det ikke indeholdt randomiserede studier. Refererede artikler er primært udvalgt fra disse søgninger, og enkelte er fundet ved gennemgang af primært udvalgte artiklers referencelister.

Indikationer

De kliniske symptomer ved bruskdefekter er smerter, hævelse og klikfølelse i leddet. Den isolerede bruskdefekt opstår oftest ved direkte traume eller vrid. Den ses ofte i kombination med andre skader f.eks. ligamentlæsioner og menisklæsioner. Ved fodledsforvridningerne er det ofte symptomgivende brusk-læsionen på talus. I knæleddet kan brusk-læsioner opstå ved patellaluksationer med beskadigelse af den laterale femurkondyl. Brusk-læsioner kan også ses ved distorsioner, kollaterale ligamentlæsioner og især i forbindelse med læsioner på forreste korsbånd. Brusk-læsionerne diagnosticeres typisk ved artroskopi og sjældnere ved magnetisk resonans (MR)-skanning.

Det er vigtigt at skelne mellem artrose med den generaliserede bruskdefekt (**Figur 1**), der behandles efter retningslinjer for slidgigt (alloplastik eller osteotomi), og den isolerede bruskdefekt, som kan behandles med stimulationsbehandling. Før bruskkirurgi udføres, skal konkurrerende intraartikulære lidelser som menisklæsion, korsbåndslæsion, ledbåndslæsion eller malalignment afklares. Også et rimeligt tidsrum til afventen af spontan symptomophør skal være forsøgt. Bruskstimulationsbehandling, når der samtidig findes anden ledpatologi, er vist ikke at give klinisk bedring [3].

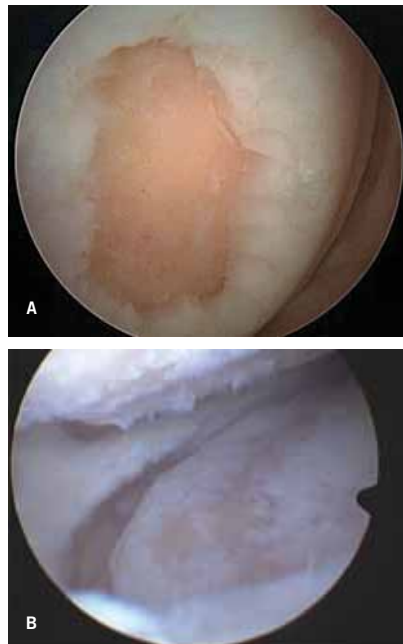
Det naturlige helingspotentiale af i øvrigt sund ledbrusk bestemmes af to faktorer: 1) læsionens areal og 2) læsionens dybde. Outerbridge-klassifikationen er klinisk anvendelig og er blevet valideret [4, 5]:

- grad 0: normalt bruskvæv
- grad I: bruskvæv med ødem og blød konsistens
- grad II: brusk-læsion med fissurering, som ikke når subkondral knogle og ikke har en diameter på over 1,25 cm
- grad III: brusk-læsion med fissurering, som går ned til subkondral knogle og har en diameter på over 1,25 cm
- grade IV: blottet subkondral knogle.

Små bruskdefekter < 3 mm heler ofte uden problemer og kan lades urørt [6]. Ved grad III- og grad IV-defekter kan operativ behandling overvejes. Den spontane ophealing af grad III- og grad IV-brusk-skader er dårligt belyst klinisk. I et studie har

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

Figur 1. A. Artroskopisk billede af isoleret bruskdefekt på femurkondyl. B. Artroskopisk billede af generel artrose i mediale ledkammer.



Figur 2. Artroskopisk billede af isoleret bruskdefekt på femurkondyl efter oprensning og med mikrofrakturering a.m. Steadman.



man opgjort langtidsforløbet hos en mindre kohorte bestående af 28 atleter med isolerede bruskdefekter. Atleterne blev fulgt i 14 år. 75% havde klinisk velfungerende knæ og var vendt tilbage til idræt. 40% havde radiologisk artrose efter de 14 år [7]. I et andet studie har man fulgt patienter, som fik rekonstrueret forreste korsbånd, hvor brusklæsioner blev registreret. En opgørelse efter 2-10 år viste ens knæfunktion hos patienter med og uden konstateret brusklæsion [3]. Dyreeksperimentelt er den spontane ophelingsevne af bruskskader belyst hos geder med 6×6 mm fuldtykkelse bruskdefekter i den mediale femurkondyl. Efter et år var der ingen opheling af defekterne, tværtimod var der en øget defektstørrelse og subkondral knogleresorption [8].

Lavage og débridement

Symptomlindrende effekt af skylning af ledhulen skyldes udvaskning af inflammatoriske mediatorer og løse bruskrester. Effekten af *lavage* forbedres ved kombination med *débridement* som er mekanisk fjernelse af patologisk bruskvæv. I et randomiseret studie er *lavage* og artroskopisk *débridement* sammenlignet hos patienter med isolerede fuldtykkelsesbruskde-

fekter på femurkondylen [9]. Man fandt efter et og fem år smertefrihed hos henholdsvis 80% og 69% af de patienter, der havde fået *débridement*-behandling. Hos *lavage*-gruppen fandtes smertefrihed kun hos 20% og 10% efter henholdsvis et år og fem år. *Lavage* og *débridement* har således en betydelig symptomlindrende effekt, men bidrager ikke til regeneration af det beskadigede bruskvæv.

Marvstimulation

I forsøg på at opnå healing af bruskdefekter har forskellige former for stimulation af knoglemarven været anvendt med vekslende succes i de seneste 50 år. Opboring af bruskdefekter med bor (Pridie-drilling) eller opfræsning af den subkondrale knogle i bruskdefekten (abrasion) er tidlige marvstimulationsteknikker, som nu stort set er forladt til fordel for den mere velundersøgte mikrofrakturteknik [10, 11].

Mikrofrakturteknik

Ved mikrofrakturteknik forstås revision af bruskdefekten med vinkelrette kanter mod den normale brusk og efterfølgende opbankning af den subkondrale knogle med et spidst, vinklet instrument, så opbankningen kan ske vinkelret på overfladen (Figur 2). Diameteren af spidsen er op til 2 mm. Rationalet bag denne behandling er, at mikrofrakturering af den subkondrale knogle alene vil tilføre defekten aktive celler med et potentiale til at danne brusk, fordi de er naboer til brusken – dette i modsætning til Pridie-drilling, der via blødning fra marvhulen aktiverer reparative celler fra knoglemarven [12].

Effekten af mikrofrakturteknikken med og uden anvendelse af *continuous passive motion* (CPM) blev undersøgt i et retrospektivt studie med 77 patienter, som fik foretaget re-arthroskopi af forskellige årsager [13]. Vurdering af bruskstatus viste størst forbedring ved anvendelse af CPM 6-8 uger postoperativt 6-8 timer i døgnet. CPM eller lignende bevægetræning er således vigtig for at opnå et optimalt klinisk resultat efter behandling med mikrofrakturteknik.

Miller et al har for nylig publiceret resultater af mikrofrakturering i en retrospektiv undersøgelse omfattende 81 patienter (40-70 år) med primært degenerative forandringer i ledbrusken. Tilfredshed og funktionelt resultat 2-5 år efter behandling blev undersøgt. Lysholm-score (0-100) forbedredes signifikant fra 53,8 præoperativt til 83,1 ved efterundersøgelsen. Tegner-score (0-6) forbedredes ligeledes signifikant fra 2,9 præoperativt til 4,5 ved efterundersøgelsen. I studiet blev det konkluderet, at mikrofrakturering også er en effektiv behandling ved degenerative knælidelser, og man anbefaler forsøg på ledbevarende kirurgi før brug af alloplastikkirurgi [14].

Osteokondral transplantation (mosaikplastik)

Autolog osteokondral transplantation er et princip, hvor cylindre bestående af brusk og subkondralt knoglevæv høstes fra et område med rask og relativt ubelastet ledbrusk og flyttes til et område med en lokaliseret bruskdefekt (Figur 3). Pro-

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

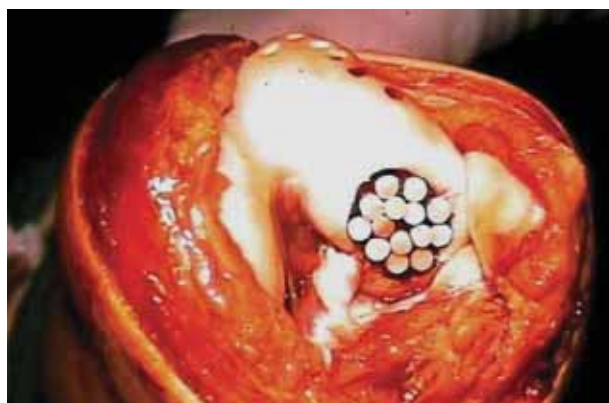
ceduren er teknisk krævende, idet borehullerne på recipientstedet skal passe præcist til de udtagne brusk-/knoglecylindre, og eventuelle hældninger af bruskdefektfladen skal passe med bruskhældningen på de udtagne cylindre, for at man kan opnå kongruens af den transplanterede ledflade. Teknikken kan anvendes både åbent og arroskopisk.

Med hensyn til de kliniske resultater findes der kun data fra korttidsopfølgning. Disse resultater har været meget varierende med succesrater på 60-90% [15-17]. Desværre er de bedste resultater publiceret af opfindererne af teknikken, og i andre serier har man ikke kunnet reproducere disse gode resultater [17]. På trods af at teknikken har vundet en vis udbredelse over de seneste ti år, vides der intet om langtids kliniske resultater. I dyreeksperimentelle studier på heste er det vist, at det transplanterede bruskvæv ikke overlever mere end et år, og at den mekaniske stabilitet af brusk/knoglecylindren ofte er insufficient [18]. Der findes også dyrestudier, hvori det er fundet, at der opstår tab af kondrocytter i det raske bruskvæv omkring de transplanterede brusk/knoglecylindre. Et andet væsentligt problem ved teknikken er, at områder med rask bruskvæv læderes, og at denne traumatisering kan bidrage til yderligere ledmorbiditet. Med den udvikling, som foregår på det bioteknologiske område inden for bruskregeration, vil man kunne forestille sig, at mosaikplastik mister sin rolle, hvis man med de nye teknikker blot kan fremvise rimelige kliniske resultater.

Autolog kondrocyttransplantation

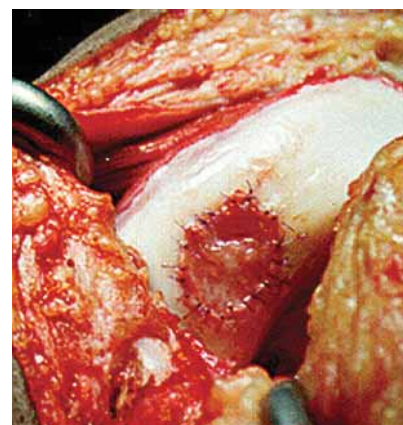
Autolog kondrocyttransplantation (ACI) baseres på, at kondrocytter kan isoleres fra bruskvæv og opdyrkes *in vitro* for derefter at reimplanteres [19, 20]. Teknikken består af høst af små bruskbiosprier i ikkebelastet ledflade i knæledet. Fra biosprierne opdyrkes kondrocytter over 3-5 uger. De opdyrkede bruskceller (flere millioner) bliver injiceret ind under en periostflap, som er sutureret hen over bruskdefekten. Herefter skabes der et vandtæt kammer til bruskcellerne [21] (Figur 4). Denne procedure er den første generation af ACI, som nu er blevet optimeret med anvendelse af en kollagenmembran bestående af type I/III-kollagen i stedet for periostflappen [22]. Dette skyldes, at periostflappen er fundet at resultere i tilfælde af hypertrofisk regenerationsvæv, som nødvendiggør reoperation. Sammenligning af brugen af periostmembran plus/minus injicerede kondrocytter er også belyst af *Brittberg*, hvor injicerede autologe kondrocytter under periostmembranen medvirkede til opheling af gennemsnitlig 87% af bruskdefekterne mod gennemsnitlig 31% opheling af bruskdefekterne, såfremt defekten blot blev dækket af periost alene [23].

ACI-teknikken er velundersøgt i tre randomiserede studier. *Knutsen et al* har publiceret toårsresultater af en prospektiv randomiseret undersøgelse, hvori de sammenlignede mikrofrakturering med ACI-teknikken. Firs patienter med isolerede, symptombgivende bruskdefekter på femurkondylen i



Figur 3. Femurkondyl med donorhuller efter grafthøst og optransplanteret bruskdefekt med mosaikplastikteknik.

Figur 4. Ved autolog kondrocyttransplantationsteknik påsyes en periostflap over en bruskdefekt på femurkondyl ved åben kirurgi. Bruskceller kan efterfølgende sprøjtes ind under periostflappen.



stabile knæ uden artrose blev randomiseret til enten mikrofrakturering eller ACI. Resultaterne blev opgjort med forskellige kliniske scoringssystemer samt ved arroskopisk biopsi hos 84% af patienterne efter to år. Begge grupper havde klar klinisk forbedring af behandlingerne. Ved en generel klinisk scoring fandtes forbedringerne i mikrofrakturgruppen at være signifikant bedre end forbedringerne i ACI-gruppen. Biopsierne blev beskrevet blindet, og der var bedre histologiske bruskarakteristika i de ACI-behandlede biopsier. Der kunne således ikke findes sammenhæng mellem histologisk kvalitet og klinisk resultat. Der var flere komplikationer og reoperationer i ACI-gruppen, typisk pga. dannelse af hypertrofisk regenerationsvæv. Yngre og aktive patienter havde generelt de bedste resultater af begge behandlinger [24].

I et andet studie udført af *Bentley* blev 100 patienter randomiseret til ACI-behandling og mosaikplastik. Der fandtes efter to år 88% gode resultater i ACI-gruppen og 69% i mosaikplastikgruppen. Histologisk analyse af biopsier udtaget fra regenerationsvæv efter et år viste brusklignende væv hos 82% i ACI-gruppen og hos 34% i mosaikplastikgruppen. I studiet blev det konkluderet, at ACI gav bedre kliniske resultater og bedre regenerationsvæv end mosaikplastik [22]. I det tredje studie sammenlignedes ACI også med mosaikplastik, og her fandtes ens kliniske resultater af de to teknikker efter to år,

Forslag til behandlingsalgoritme af isolerede bruskdefekter
Som initial behandling (artroskopisk *débridement*)
Ved fortsatte gener i mere end seks måneder (mikrofraktur)
Ved fortsatte gener (autolog kondrocyttransplantation eller
mosaikplastik)

dog var der hurtigere postoperativ symptombedring hos de patienter, der var opereret med mosaikplastik. Ved biopsi-udtagning efter to år blev der fundet øer af hyalinbrusk hos mosaikplastikgruppen, mens der kun blev fundet fibrocartilago i regenerationsvæv hos de ACI-opererede [25].

ACI er den første bioteknologisk baserede teknik til behandling af bruskdefekter og -skader. Regenerationsvæv dannet ved ACI-teknik har vist bedre bruskkaraktistika end regenerationsvæv dannet ved andre teknikker. I de første studier med ACI er der således ikke fundet nogen klar fordel af ACI-teknik i forhold til mikrofraktur og mosaikplastik. Teknikken optimeres dog hastigt med forskellige skaffolder til erstatning af periostmembranen og med artroskopiske operationsmetoder. Fremtidige studier må vise, om man med ACI-teknikken derved opnår sikre behandlingsforbedringer.

Fremtidige behandlingsmetoder

I den seneste dekade har en massiv udvikling af molekylærbiologiske metoder skabt potentialet for *tissue engineering*. Ved brusk-*tissue engineering* anvendes cytokin-stimulation af mesenkymalt derivede celler, som dyrkes i en tredimensionel støttematrix (skaffold) med henblik på at skabe en vævskultur bestående af modne kondrocytter, der er egnet til erstatning af destrueret ledbrusk. Cytokiner vil typisk være vækstfaktorer, som kan modulere sekretion af cellulære produkter og styre differentiering af celler. Vækstfaktorer inden for *transforming growth factor* (TGF)- β -superfamilien, herunder særlig *bone morphogenetic protein* (BMP) og *cartilage derived morphogenic protein* (CDMP), har vist stor effekt på metabolismen i både knogle- og bruskvæv. Endvidere er mulighederne for specifik regulering af cellulær metabolisme og differentiering vha. intracellulære signalsystemer af transkriptionsfaktorer blevet belyst inden for de seneste 3-4 år.

Den begrænsede adgang til artikulære kondrocytter har medført fokus på mulighederne for at inducere kondrocytær differentiering af primitive stromale celler fra knoglemarv eller mesenkymale stamceller. For eksempel kan ekspresion af hyalin brusk opnås ved implantation af lavt differentierede celler fra rotteknoglemarv i en hyaluronsyrebaseret skaffold under samtidig påvirkning af TGF- β [26].

På nuværende tidspunkt findes der adskillige kommercielt tilgængelige resorberbare skaffolder til celledyrkning i flere dimensioner, som f.eks. hyaluronatbaserede biodegradable polymerer [27]. Mange synes at være lovende transportmedier for transplantationer af celler til store bruskdefekter. Endvi-

dere er det vist, at hyalinbrusk kan dannes in vitro ved ekspansionsdyrkning af kondrocytter i todimensionelle skaffoldkulturer under påvirkningen af *fibroblast growth factor* (FGF-2) efterfulgt af tredimensionel kultivering under påvirkning af BMP-2 [28].

Generapi er en teknik, hvor eksempelvis genet for en kondroanabol vækstfaktor kan introduceres i bruskceller med henblik på at genskabe eller øge deres syntese af type II-kollagen og glukosaminoglykaner [2, 29]. Disse transducerede kondrocytter kan dyrkes i kollagengeler og i bruskvævskulturer [30, 31]. In vitro-overførsel af gener kodende for BMP-2, IGF-1 og TGF- β til bruskceller kan øge syntesen af proteoglykan i cellekulturer [32].

Tissue engineering evt. med generapi optimerede celler kan udgøre et vigtigt værktøj i fremtidige behandlingsmuligheder af destrueret ledbrusk.

Konklusion

Regeneration af bruskvæv er en af de mest udfordrende opgaver inden for ortopædkirurgien. I dag behandler man bruskskader operativt med stimulation af dannelse af et reparationsvæv, som giver delvis symptomlindring og funktionsforbedring. Nye bioteknologiske principper med opdyrkede bruskceller udgør en lovende ny behandlingsmodalitet med potentiel mulighed for stimulation af mere brusk lignende reparationsvæv. I en medicinsk teknologivurdering (MTV)-rapport fra 1998 blev ACI betegnet som eksperimentel kirurgi, og det blev anbefalet, at den kun blev anvendt i forbindelse med randomiserede studier [33]. Disse studier er imidlertid blevet lavet andre steder siden, og resultaterne er så gode, at det kan forsvares at anvende ACI. Dog bør kandidaterne til ACI være nøje udvalgt, og andre mindre resursekrævende procedurer bør være forsøgt. ACI-teknikken er stadig på et tidligt udviklingsstrin, og der tilkommer til stadighed nye modifikationer af teknikken med potentielt forbedrede bruskregenererende egenskaber. De kliniske resultater er dog endnu ukendte for de modificerede ACI-procedurer, og man må forvente, at der vil gå ca. ti år med at optimere ACI-teknikken. Inden for samme tidshorisont vil *tissue engineering*-behandling med in vitro-dyrket bruskvæv sandsynligvis blive introduceret til klinisk anvendelse. Bruskregenerationsbehandling af degenerative brusk lidelser er en langt mere kompliceret udfordring, hvor man trods stor international forskningsindsats ikke står foran et umiddelbart gennembrud.

Korrespondance: *Martin Lind*, Hvedevangen 9, DK-8200 Århus N.
E-mail: martinlind@dadlnet.dk

Antaget: 29. oktober 2004

Interessekonflikter: Ingen angivet

Litteratur

1. Messner K, Gillquist J. Cartilage repair: a critical review. *Acta Orthop Scand* 1996;67:523-9.
2. Ulrich-Vinther M, Maloney MD, Schwarz EM et al. Articular cartilage biology. *J Am Acad Orthop Surg* 2003;11:421-30.
3. Shelbourne KD, Jari S, Gray T. Outcome of untreated traumatic articular

VIDENSKAB OG PRAKSIS | OVERSIGTSARTIKEL

- cartilage defects of the knee: a natural history study. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85-A(suppl 2):8-16.
4. Outerbridge RE. The etiology of chondromalacia patella. *J Bone Joint Surg Br* 1961;43:752-67.
 5. Cameron ML, Briggs KK, Steadman JR. Reproducibility and reliability of the outerbridge classification for grading chondral lesions of the knee arthroscopically. *Am J Sports Med* 2003;31:83-6.
 6. Convery FR, Akeson WH, Keown GH. The repair of large osteochondral defects: an experimental study in horses. *Clin Orthop* 1972;82:253-62.
 7. Messner K, Maletius W. The long-term prognosis for severe damage to weight-bearing cartilage in the knee: a 14-year clinical and radiographic follow-up in 28 young athletes. *Acta Orthop Scand* 1996;67:165-8.
 8. Jackson DW, Lalor PA, Aberman HM et al. Spontaneous repair of full-thickness defects of articular cartilage in a goat model. *J Bone Joint Surg Am* 2001;83:53-64.
 9. Hubbard MJ. Articular debridement versus washout for degeneration of the medial femoral condyle. *J Bone Joint Surg Br* 1996;78:217-9.
 10. Pridie KH. A method of resurfacing osteoarthritic knee joints. *J Bone Joint Surg Br* 1959;41:618-22.
 11. Bert JM, Maschka K. The arthroscopic treatment of unicompartmental gonarthrosis: a five-year follow-up study of abrasion arthroplasty plus arthroscopic debridement and arthroscopic debridement alone. *Arthroscopy* 1989;5:25-32.
 12. Steadman JR, Rodkey WG, Rodrigo JJ. Microfracture: surgical technique and rehabilitation to treat chondral defects. *Clin Orthop* 2001;391(suppl):362-9.
 13. Rodrigo JJ, Steadman JR. Improvement of full-thickness chondral defect healing in the human knee after debridement and microfracture using continuous passive motion. *Am J Knee Surg* 1994;7:109-15.
 14. Miller BS, Steadman JR, Briggs KK et al. Patient satisfaction and outcome after microfracture of the degenerative knee. *J Knee Surg* 2004;17:13-7.
 15. Hangody L, Feczko P, Bartha L et al. Mosaicplasty for the treatment of articular defects of the knee and ankle. *Clin Orthop* 2001;391(suppl):328-36.
 16. Laprell H, Petersen W. Autologous osteochondral transplantation using the diamond bone-cutting system (DBCS): 6-12 years' follow-up of 35 patients with osteochondral defects at the knee joint. *Arch Orthop Trauma Surg* 2001;121:248-53.
 17. Hunziker EB. Articular cartilage repair: basic science and clinical progress. *Osteoarthritis Cartilage* 2002;10:432-63.
 18. Hurtig M, Pearce S, Warren S et al. Arthroscopic mosaic arthroplasty in the equine third carpal bone. *Vet Surg* 2001;30:228-39.
 19. Bentley G, Greer RB III. Homotransplantation of isolated epiphyseal and articular cartilage chondrocytes into joint surfaces of rabbits. *Nature* 1971;230:385-8.
 20. Grande DA, Pitman MI, Peterson L et al. The repair of experimentally produced defects in rabbit articular cartilage by autologous chondrocyte transplantation. *J Orthop Res* 1989;7:208-18.
 21. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A et al. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 1994;331:889-95.
 22. Bentley G, Biant LC, Carrington RW et al. A prospective, randomised comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J Bone Joint Surg Br* 2003;85:223-30.
 23. Brittberg M, Peterson L, Sjogren-Jansson E et al. Articular cartilage engineering with autologous chondrocyte transplantation. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85-A(suppl 3):109-15.
 24. Knutsen G, Engebretsen L, Ludvigsen TC et al. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. *J Bone Joint Surg Am* 2004;86-A:455-64.
 25. Horas U, Pelinkovic D, Herr G et al. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. *J Bone Joint Surg Am* 2003;85A:185-92.
 26. Gao J, Dennis JE, Solchaga LA et al. Repair of osteochondral defect with tissue-engineered two-phase composite material of injectable calcium phosphate and hyaluronan sponge. *Tissue Eng* 2002;8:827-37.
 27. Radice M, Brun P, Cortivo R et al. Hyaluronan-based biopolymers as delivery vehicles for bone-marrow-derived mesenchymal progenitors. *J Biomed Mater Res* 2000;50:101-9.
 28. Martin I, Suetterlin R, Baschong W et al. Enhanced cartilage tissue engineering by sequential exposure of chondrocytes to FGF-2 during 2D expansion and BMP-2 during 3D cultivation. *J Cell Biochem* 2001;83:121-8.
 29. Arai Y, Kubo T, Kobayashi K et al. Control of delivered gene expression in chondrocytes using heat shock protein 70B promoter. *J Rheumatol* 1999;26:1769-74.
 30. Ulrich-Vinther M, Maloney MD, Goater JJ et al. Light-activated gene transduction enhances adeno-associated virus vector-mediated gene expression in human articular chondrocytes. *Arthritis Rheum* 2002;46:2095-104.
 31. Ikeda T, Kubo T, Nakanishi T et al. Ex vivo gene delivery using an adenovirus vector in treatment for cartilage defects. *J Rheumatol* 2000;27:990-6.
 32. Smith P, Shuler FD, Georgescu HI et al. Genetic enhancement of matrix synthesis by articular chondrocytes: comparison of different growth factor genes in the presence and absence of interleukin-1. *Arthritis Rheum* 2000;43:1156-64.
 33. Dickmann O, Hede A, Jakobsen BW et al. Kultiveret autolog chondrocyt transplantation, behandling af bruskefejer. MTV-rapport. København: Dansk Ortopæd Kirurgisk Selskab, 1997:1-36.