



© J ORTHOP TRAUMA SURG REL RES 2 (6) 2007

Original article/Artykuł oryginalny

Application of autologous chondrocytes suspension in fibrin glue for the treatment of cartilage defects of knee joint – preliminary report

Zastosowanie hodowli autologicznych chondrocytów osadzonych w kleju fibrynowym w leczeniu ubytków chrzęstnych stawu kolanowego – doniesienie wstępne

J. DEC, T. SZ. GAŹDZIK, H. BURSIG*, A. WYSOCKA*, S. DYŁĄG*, M. JĘDRYSIK**, H. NOGA**, P. SZYMIK

Katedra i Oddział Kliniczny Ortopedii Wojewódzki Szpital Specjalistyczny Nr 5 w Sosnowcu im. św. Barbary, PL. Medyków 1, 41-200 Sosnowiec

Kierownik: Prof. dr hab. n. med. Tadeusz Sz. Gaździk

* Regionalne Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach

ul. Raciborska 15, 40-074 Katowice

Dyrektor Naczelny: Mgr Stanisław Dyląg

** Klinika Chirurgii Endoskopowej, ul. Bankowa 2, 44-240 Żory

Lekarz Naczelny: Lek. med. Marek Jędrzyk

Address for correspondence/Adres do korespondencji:

J. Dec

Katedra i Oddział Kliniczny Ortopedii Wojewódzki Szpital Specjalistyczny Nr 5 w Sosnowcu im. św. Barbary

PL. Medyków 1, 41-200 Sosnowiec, Poland

e-mail: julekdec@poczta.onet.pl; tel. +48323682029

Statistic/Statystyka

Word count/Liczba słów 1937/1361

Tables/Tabele 1

Figures/Ryciny 5

References/Piśmiennictwo 15

Received: 11.04.2007

Accepted: 07.05.2007

Published: 25.05.2007

Abstract

Ability of cartilage to reconstruction (regeneration) of damaged joint surface is limited, what favours formation of degenerative changes.

The aim of that study was to elaborate the technique of collection, storage, multiplication and suspending in fibrin glue of chondrocytes, and then their grafting to places of cartilaginous losses in knee joint. Experiments of application of autologous suspension of chondrocytes in fibrin glue were carried out in two stages. In the first one own technique of chondrocytes culturing and implanting was elaborated. The second stage included clinical application of autologous chondrocytes suspended in fibrin glue in treatment of losses of joint surfaces in knee joints. As a medium fibrin glue, which was obtained from own serum of a patient, was used. Thirty grafts of suspension of autologous chondrocytes in fibrin glue were performed in patients with cartilaginous losses within knee joint. Any side effects, that could testify to infection or graft rejection, do not appear in any patient after the manipulation. Decrease of pain ailments and improvement of life activity occurred in 12 patients six months after the manipulation. State of regenerate after 6 months from implantation of anterior cruciate ligament was estimated in case of 3 patients during its reconstruction; it completely filled damaged place and its structure was similar to hyaline cartilage.

Key words: cartilage defect, autologous chondrocyte culture, chondrocyte suspension in fibrin glue

Streszczenie

Zdolność chrząstki do naprawy (regeneracji) uszkodzonej powierzchni stawowej jest ograniczona, co sprzyja powstawaniu zmian zwyrodnieniowych.

Celem tej pracy było opracowanie techniki pobierania, przechowywania, namnażania oraz osadzania w kleju fibrynowym chondrocytów, a następnie ich przeszczepianie w miejsca ubytków chrząstki w stawie kolanowym.

Badania nad zastosowaniem zawiesiny autologicznych chondrocytów w kleju fibrynowym prowadzone były w 2 etapach. W pierwszym opracowana została własna technika hodowli oraz implan-

towania chondrocytów. Drugi etap obejmowało kliniczne zastosowanie autologicznych chondrocytów zawieszonych w kleju fibrynowym do leczenia ubytków powierzchni stawowych stawu kolanowego. Jako podłoże użyty został klej fibrynowy z fibrynogenu uzyskiwanego z własnej surowicy pacjenta. Wykonano 30 przeszczepów zawiesziny autologicznych chondrocytów w kleju fibrynowym u chorych z ubytkami chrzęstnymi w obrębie stawu kolanowego. U żadnego z leczonych nie wystąpiły objawy uboczne po zabiegu świadczące o infekcji lub odrzuceniu przeszczepu. Po 6 miesiącach od zabiegu u 12 chorych wystąpiło zmniejszenie dolegliwości bólowych oraz poprawienie ich aktywności życiowej. U 3 chorych w czasie rekonstrukcji więzadła krzyżowego przedniego oceniono stan regeneratu po upływie 6 miesięcy od jego implantacji, wypełniał on całkowicie miejsce uszkodzenia, a jego struktura była podobna do chrząstki szklistej.

Słowa kluczowe: ubytek chrząstki, hodowla autologicznych chondrocytów, zawieszina chondrocytów w kleju fibrynowym

INTRODUCTION

Ability of chondrocytes to reconstruction of damaged joint surfaces is limited, therefore new techniques allowing to their restitution are still developing. Commonly used non-operative methods of treatments (pharmacological preparations, physiotherapy) and operative solutions (smoothing of edges and bottom of damage, drilling of the places of losses, performing microfractures of subcartilaginous surface within the loss, reconstructive operations of joint surfaces with flaps of periosteum) do not allow to obtain satisfactory clinical results. Thus, the more frequent grafts of autogenic cartilage from unloaded joint surfaces or *in vitro* cultured chondrocytes are used [1, 2, 3, 4, 5].

Brittberg et al. developed new technique of cartilage sampling from unloaded surfaces of knee joint. Then, after *in vitro* multiplying for a period of 14 – 21 days, chondrocytes were grafted under flaps of periosteum, which joint cartilage losses were covered with. In biopsies collected during the second operation, presence of tissue similar to hyaline cartilage was stated. However, those technique possesses some disadvantages, like: necessity of performance of extensive arthrotomy, additional damaging of local cartilage by sutures that mount periosteum, hypertrophy of graft and difficulties with application of chondrocytes suspension [5].

Wakani filled cartilage's loss in rabbits with allogeneic chondrocytes suspended in collagen gel [6]. Recently, damages of joints' surfaces are filled with own chondrocytes, which after culturing are suspended in carrier (scaffolds), what firmly facilitates their implantation [7, 8] (tab.1). High costs of that procedure limited possibilities of its wide use in our country. One of the techniques that give some hope for good results of cartilage losses treatment and low costs of carrier production, is a procedure of autologous chondrocytes suspension in fibrin glue "Tissucol" (Baxter, Austria) transplantation, developed in Traumatic Hospital in Brno [9, 10, 11].

The aim of that study was to elaborate the procedure of collection, storage, culturing of own chondrocytes and suspending them in fibrin glue. Furthermore, we try to develop operative technique of collecting and grafting of chondrocytes to places of cartilaginous losses in knee joint.

WSTĘP

Zdolność chondrocytów do naprawy uszkodzonych powierzchni stawowych jest ograniczona dlatego nadal poszukuje się nowych technik, pozwalających na ich restytucję. Stosowane sposoby leczenia nieoperacyjnego (preparaty farmakologiczne, fizykoterapia) oraz rozwiązania operacyjne (wyrównywanie brzegów i dna uszkodzenia, nawiercanie miejsc ubytku, wykonywanie mikrozmazań powierzchni podchrzęstnej w obrębie ubytku, plastyka powierzchni płatem okostnej) nie pozwalają na uzyskanie zadowalających wyników klinicznych. Dlatego coraz częściej wykorzystuje się przeszczepy autogenicznej chrząstki z nieobciążonych powierzchni stawowych oraz hodowane *in vitro* chondrocyty [1,2,3,4,5].

Brittberg i współpracownicy opracowali technikę pobierania chrząstki z nieobciążonej powierzchni stawu kolanowego. Następnie po namnożeniu „*in vitro*” przez okres 14 – 21 dni chondrocyty wszczepiano pod płaty okostnej, którymi pokrywano ubytki chrząstki stawowej. W biopsjach pobranych w czasie drugiego zabiegu operacyjnego stwierdzono obecność tkanki podobnej do chrząstki szklistej. Technika ta posiada jednak wady jak: konieczność wykonania rozległej artrotomii, dodatkowe uszkodzanie okolicznej chrząstki przez szwy mocujące okostną, hipertrofia przeszczepu oraz trudności w aplikacji zawiesziny chondrocytów [5].

Wakani u królików wypełniał ubytek chrząstki allogenicznymi chondrocytami osadzonymi w żelu kolagenowym [6]. Ostatnio uzupełnia się uszkodzenia powierzchni stawowych własnymi chondrocytami, które po hodowli osadzone są na nośnikach (skafoldach), co zdecydowanie ułatwia ich implantację [7,8] (tab.1). Wysoki koszt tej procedury ograniczał możliwości jej szerokiego zastosowania w naszym kraju. Jedną z technik dających nadzieję na dobre wyniki leczenia ubytków chrząstki oraz niskie koszty produkcji nośnika jest opracowana w Szpitalu Traumatologicznym w Brnie procedura transplantacji zawiesziny autologicznych chondrocytów w kleju fibrynowym „Tissucol” (Baxter, Austria) [9,10,11].

Celem pracy było opracowanie procedury pobierania, przechowywania i hodowli własnych chondrocytów oraz ich osadzania w kleju fibrynowym. Ponadto staraliśmy się opracować technikę operacyjną pobierania i wszczepiania chondrocytów w miejsce ubytku chrząstki w stawie kolanowym.

MATERIALS AND METHODS

Researches on application of the suspension of autologous chondrocytes in fibrin glue in treatment of joint surfaces losses were carried out in two stages. In the first one the own technique of collection, preparation, culturing and implanting of chondrocytes was prepared. Technology of suspending cultured cells on collagen carrier, transportation and storage of the graft and procedure of qualification and preparation of patients for operation of implantation were also elaborated. In that stage cultured cells suspended on fibrin medium were evaluated: their spatial distribution in the carrier, biological purity and ability to survive in various conditions of storage and in various environments. It has been showed, that chondrocytes isolated from young donors have greater vitality and preserve the capacity for division for longer. Human chondrocytes multiply better in medium with addition of human blood serum than with bovine blood serum (FBS); possibility of cryopreservation of cells was also showed.

The second stage included experiments on application of autologous chondrocytes suspended in fibrin glue to treat losses in joint surfaces of knee.

In the first stage of the study fragments of joint cartilages from 15 patients (age from 28 to 74) were collected. The cartilage was sampled during alloplasty of knee joints and reconstructions of anterior cruciate ligament (at reconstructive operations of intercondylar fossa of the femur).

The fragments (300-500 mg) were transported in 0.9% solution of NaCl (4°C) with antibiotic and antimycotic agent to Laboratory of Cells Cultures in Tissue Bank of

MATERIAŁ I METODYKA

Badania nad zastosowaniem zawiesiny autologicznych chondrocytów w kleju fibrynowym w leczeniu ubytków powierzchni stawowych prowadzone były w 2 etapach. W pierwszym przygotowana została własna technika pobierania, opracowywania, hodowli oraz implantowania chondrocytów. Opracowana została także technologia osadzania wyhodowanych komórek na podłożu kolagenowym, transportu i przechowywania przeszczepu oraz procedura kwalifikacji i przygotowania chorych do zabiegu implantacji. W tym etapie oceniano wyhodowane komórki osadzone na podłożu fibrynowym: ich rozkład przestrzenny w nośniku, czystość biologiczną oraz zdolność przeżywania w różnych warunkach przechowywania i środowiskach. Wykazano, że chondrocyty izolowane od dawców młodych mają większą żywotność i dłużej zachowują zdolność do podziałów. Ludzkie chondrocyty lepiej namnażają się w medium z dodatkiem surowicy ludzkiej niż bydlęcej (FBS), wykazano też możliwość krioprezervacji komórek.

Drugi etap obejmowały badania nad wykorzystaniem autologicznych chondrocytów zawieszonych w kleju fibrynowym do leczenia ubytków powierzchni stawowych kolana.

W pierwszym etapie badań pobrano fragmenty chrząstki stawowej od 15 pacjentów (w wieku od 28 do 74 lat). Chrząstkę uzyskiwano w trakcie alloplastyki stawów kolanowych i rekonstrukcji więzadła krzyżowego przedniego (przy plastyce dołu międzykłykciowego).

Jej fragmenty (300-500 mg) były transportowane w roztworze 0,9% NaCl (4°C) z antybiotykiem i środ-

Fig. 1. Cartilage digested for 2 hours by collagenase

Ryc. 1. Chrząstka trawiona 2 godziny przez kolagenazę

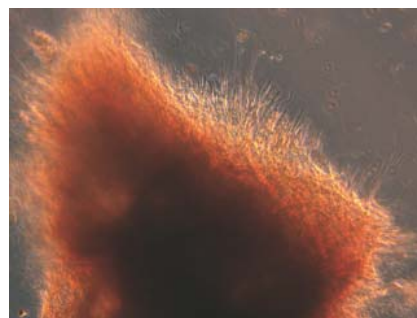
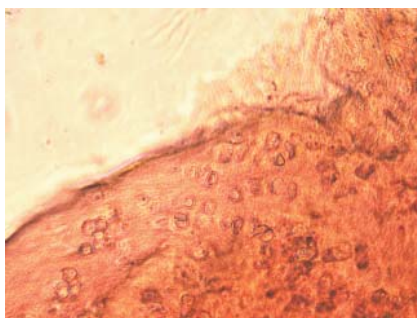
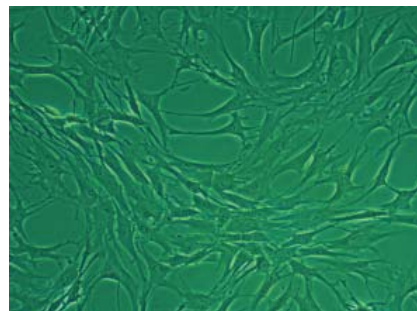
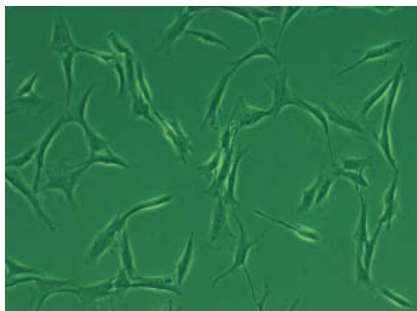


Fig. 2. Cell culture in incubator

Ryc. 2. Hodowla komórek w inkubatorze



Regional Centre of Blood Donation and Blood Treatment in Katowice. Cells isolation was performed within 4 – 18 hours from collection. Cartilage fragments were placed in medium (HamF12), then they were cut in small pieces (0.5 mm) and digested with collagenase for 6 – 8 hours. A picture of a cartilage etched for 2 hours by collagenase is presented in Figure 1. Then the suspension of chondrocytes was rinsed in medium (Ham F12), fix in bottle with medium DMEM/HamF12 containing 15% of patient's blood serum with addition of antibiotic, antimycotic agent and L-ascorbic acid. Chondrocytes adhered to the bottle within few hours after etching. Cells were then cultured in incubator at the temperature of 37°C in environment of 5.5 % of CO₂ (Fig 2). Medium was changed every 48 hours. Proliferation of chondrocytes was monitored with use of reverse microscope. Cells number was counted in haemocytometric chamber. Technique of cryopreservation in fluid containing 10% of culturing medium (DMEM/HAM F12), 80% of blood serum (or FBS) and 10% of cryoprotectant (DMSO), was elaborated during development of culturing procedure.

In the last stage, suspension of chondrocytes was mixed with fibrin glue and given to forms to prepare CFGA graft (chondrocyte – fibrin glue autograft) (Fig 3). Fig 4 represents microscopic picture of autologous culture of chondrocytes in fibrin glue.

In the second stage of the research from June, 2006 to February, 2007 in Department and Clinical Ward of Orthopaedic of Silesian Medical University and Clinic of Endoscopic Surgery in Żory, 30 operations of implanta-

kiem przeciwwgrzybiczym do Laboratorium Hodowli Komórek w Banku Tkanek Regionalnego Centrum Krwiodawstwa i Krwiolecznictwa w Katowicach. Izolacja komórek była wykonywana w ciągu 4 – 18 godzin od pobrania. Fragmenty chrząstki umieszczano w medium (HamF12) następnie cięto na małe kawałki (0,5 mm) i trawiono kolagenazą przez 6 – 8 godzin. Widok chrząstki trawionej 2 godziny przez kolagenozę przedstawiono na rycinie 1. Następnie zawiesinę chondrocytów płukano w medium (Ham F12), osadzano w butli z medium DMEM/HamF12 zawierającym 15% surowicy pacjenta z dodatkiem antybiotyku, środka przeciwwgrzybiczego i kwasu L-ascorbinowego. Chondrocyty przywierały do butli w kilka godzin po wytrawieniu. Komórki dalej hodowane były w inkubatorze w temp. 37°C w środowisku 5.5 % CO₂ (ryc 2). Medium zmieniane było, co 48 godzin. Proliferacja chondrocytów monitorowana była w mikroskopie odwróconym. Komórki zliczane były w komorze hemocytometrycznej. W trakcie doskonalenia procedury hodowli opracowano także technikę krioprezewacji w płynie, który składa się z: 10% medium hodowlanego (DMEM/HAM F12), 80% surowicy (lub FBS), 10% krioprotektanta (DMSO).

W ostatnim etapie zawiesina chondrocytów mieszana była z klejem fibrynowym i podawana do form w celu przygotowania przeszczepu CFGA (chondrocyte – fibrin glue autograft) (ryc 3). Ryc 4 przedstawia obraz mikroskopowy autologicznej hodowli chondrocytów w kleju fibrynowym.

W drugim etapie badań od czerwca 2006 do lutego 2007 w Katedrze i Klinicznym Oddziale Ortopedii Śl.AM

Fig. 3. Graft of chondrocytes in fibrin glue (CFGA)

Ryc. 3. Przeszczep chondrocytów chondrocytów kleju fibrynowym (CFGA)

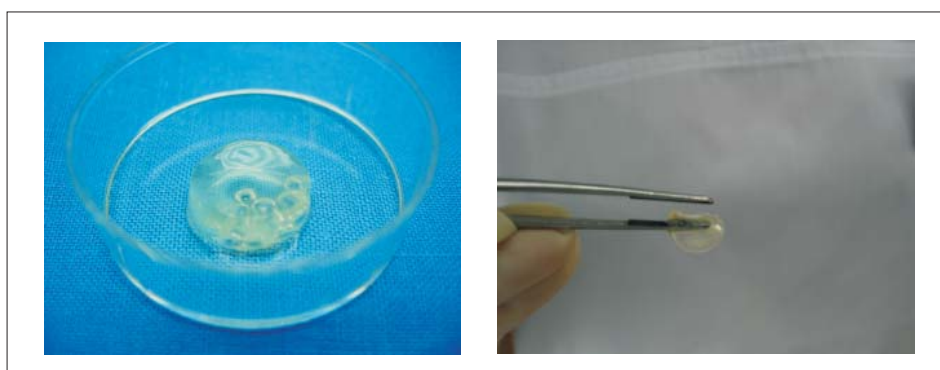
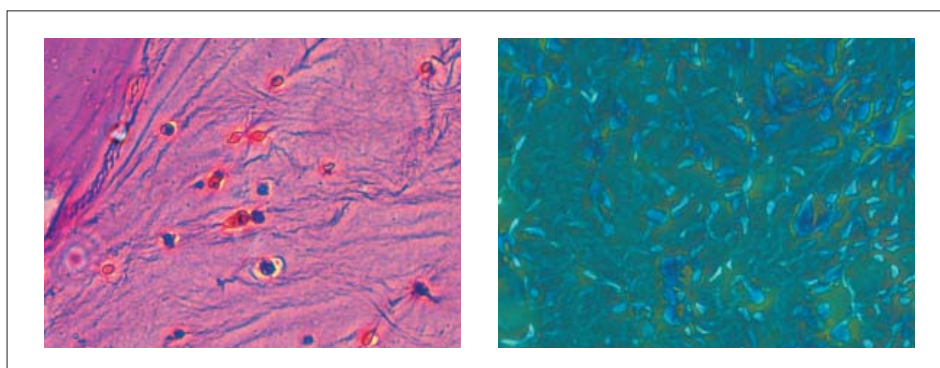


Fig. 4. Chondrocytes in fibrin glue

Ryc. 4. Chondrocyty w kleju fibrynowym



tion of chondrocytes suspended in fibrin glue were performed.

The operations were carried out in patients fulfilling following criteria:

- age: 18-50 years
- 1-2 losses of III or IV degree (classification acc. Outherbridge), of III a and III b type (according to Noyes – Stabler classification),
- III or IV period of OCD (bone loss < 2 mm of depth),
- loss size: 2-6 cm₂
- plain and undamaged edge of cartilage that surrounds the loss
- lack of degenerative changes within the joint,
- correct axis and stability of the joint.

Average age of treated patients was 35 years old (from 15 to 50 years). Duration of clinical symptoms of the disease that preceded surgical intervention amounted to 60 – 650 days. Average size of cartilaginous losses was 2.7 cm² (from 1.7 cm² to 12 cm²). In 28 cases the loss was located on loaded surface of medial condyle of the femoral bone, in one case on loaded surface of lateral condyle of the femoral bone and in one case on the surface of patella.

The following accompanying injuries were stated in operated knee joints: anterior cruciate ligament rupture in 13 cases, medial meniscus damages in 5 cases, lateral meniscus damages in 1 case and chondromalacia type changes of condyle in case of 1 patient.

Full loading of the joint was permitted after 12 – 16 weeks.

Evaluation of treatment results was performed in 12 patients (9 male and 3 female).

RESULTS

Decrease of pain ailments and improvement of physical activity was observed in 12 patients 5 months after the manipulation. In case of 3 of them, second arthroscopic inspection of the joint was carried out in 3-5 months after the graft, because of necessity of perforation of anterior cruciate ligament reconstruction. Very good cover of the losses was noted in two patients and partial degeneration of the graft (30% of the surface) was stated in one case. The surface of the graft was evaluated according to the scale of ICRS, obtaining 7.5 points (almost like in physiologic conditions) (Fig 5).

One microbiopate from the graft place was collected from one patient. Presence of typical spherical chondrocytes, extracellular collagen fibres and formation of isogenous groups of cells were stated.

Exudates, requiring puncture of articular cavity, were noted in case of 7 patients after the intervention. They withdrew within 4 weeks after administration of nonsteroidal anti-inflammatory drugs. Infectious complications have not been found in any patient.

oraz Klinice Chirurgii Endoskopowej w Żorach wykonano 30 implantacji chondrocytów osadzonych w kleju fibrynowym.

Operację wykonywano u chorych spełniających następujące warunki:

- wiek 18-50 lat
- 1-2 ubytki III lub IV stopnia (klasyfikacja Outherbridge'a), typu III a i III b, (według klasyfikacji Noyes'a – Stablera),
- III lub IV okres OCD (ubytek kostny < 2 mm głębokości),
- wielkość ubytku 2-6 cm₂
- równy i nieuszkodzony brzegi chrząstki otaczającej ubytek
- brak zmian zwyrodnieniowych w stawie,
- prawidłowa oś i stabilność stawu.

Średnia wieku leczonych chorych wynosiła 35 lat (od 15 do 50 lat). Czas trwania klinicznych objawów choroby poprzedzających zabieg chirurgiczny wynosił od 60 – 650 dni. Średni rozmiar ubytku chrzęstnego wynosił 2,7 cm² (od 1,7 cm² do 12 cm²). W 28 przypadkach ubytek został zlokalizowany na powierzchni obciążonej kłykcia przysrodkowej kości udowej, w 1 na powierzchni obciążonej kłykcia bocznej kości udowej oraz w 1 na powierzchni rzepki.

W operowanych stawach kolanowych stwierdzono obrażenia towarzyszące: zerwanie więzadła krzyżowego przedniego u 13, uszkodzenie łąkotki przysrodkowej u 5, łąkotki bocznej u 1 oraz zmiany o typie chondromalacji rzepki u 1 pacjentki.

Na pełne obciążanie stawu zezwalano po upływie 12 – 16 tygodni.

Ocenę wyników leczenia wykonano u 12 chorych (9 mężczyzn i 3 kobiety).

WYNIKI

Po 5 miesiącach od zabiegu u 12 badanych doszło do zmniejszenia dolegliwości bólowych oraz poprawy aktywności fizycznej. U 3 chorych, 3-5 miesięcy od przeszczepu wykonano powtórny artroskopowy inspekcję stawu z powodu konieczności wykonania rekonstrukcji więzadła krzyżowego przedniego. U dwóch pacjentów odnotowano bardzo dobre pokrycie ubytku, u jednego częściowe zwyrodnienie przeszczepu (30% powierzchni). Powierzchnię przeszczepu oceniano zgodnie ze skalą ICRS uzyskując 7,5 punkta (prawie jak warunkach fizjologicznych) (ryc 5).

U jednego chorego pobrano 1 mikrobiopiat z miejsca przeszczepu. W badaniu histologicznym stwierdzono obecność typowych kulistych chondrocytów, zewnątrzkomórkowych włókien kolagenowych, formowanie izogenicznych grup komórkowych.

U 7 pacjentów po zabiegu zaobserwowano wysięki wymagające punkcji jamy stawowej. Ustąpiły one w przeciągu 4 tygodni po podaniu niesterydowych leków przeciwzapalnych. U żadnego chorego nie stwierdzono powikłań infekcyjnych.

DISCUSSION

In 1970 Matras et al. developed the technology of fibrinogen concentration, which is the last stage of physiologic homeostasis. It found many applications in clinical conditions. Fibrin glue contains 4 ingredients (Fig 4): fibrinogen concentrate, aprotinin, calcium chloride and thrombin. Its advantages are: autogeneity (it is derived from the patient's blood), total absorption, angiogenic and chemotactic actions on mesenchymal cells, cells protection against autoimmune response, plasticity and adhesivity and low costs of production.

In 2002 Visna [9] proved very good chondrocytes vitality in fibrin glue, Folvasky [11] in the same year reported, on the basis of experiment carried out on pigs, healing of cartilage injury after implantation of chondrocytes in tissue glue (hyaline cartilage was formed in 3 months after implantation). In 2003 Visna presented results of clinical application of chondrocytes suspension in fibrin glue for treatment of cartilaginous losses in human [10, 11]. Improvement of local state was observed in major part of patients. To compare with microfracture method, good and very good results are obtained in 50 – 75% of patients [12, 13].

According to us, above described technique should be applied mainly in patients with significant joint cartilage losses (above 4 cm²) and high physical requirements, and in those patients, in which other methods of therapy (abrasion, microfracture, spongiolization) failed [12, 13]. Mechanical resistance of regenerate after 3 years from implantation is comparable with the one obtained after cylindrical grafts of own articular surfaces, and in

OMÓWIENIE

W 1970 Matras i wsp. opracowali technologię koncentracji fibrynogenu, który jest ostatnim etapem fizjologicznej hemostazy. Znalazł on wiele zastosowań w warunkach klinicznych. Klej fibrynowy zawiera 4 składniki (ryc. 4): koncentrat fibrynogenu, aprotyninę, chlorek wapnia, trombinę. Jego zaletami są: autogeniczność (pochodzi z własnej krwi pacjenta), całkowita wchłanialność, angiogeniczne i chemotaktyczne działanie na komórki mezenchymalne, ochrona komórek przed odpowiedzią autoimmunologiczną, plastyczność i adhezyjność oraz niskie koszty wytworzenia.

W 2002 r. Visna [9] wykazał bardzo dobrą żywotność chondrocytów w kleju fibrynowym, Folvasky [11] w tym samym roku opisał na podstawie badań na świniach gojenie się uszkodzeń chrząstki po przeszczepie chondrocytów znajdujących się w kleju tkankowym (3 miesiące od implantacji powstawała chrząstka hyalinowa). W 2003 roku Visna przedstawił wyniki klinicznego zastosowania zawiesiny chondrocytów w kleju fibrynowym w leczeniu ubytków chrząstki u ludzi [10,11]. U większości chorych poprawie uległ stan miejscowy. Podobne wcześnie wyniki uzyskaliśmy u naszych chorych. Dla porównania przy technice mikrofrakturacji uzyskuje się dobre i bardzo dobre wyniki w 50 – 75% leczonych [12,13].

Naszym zdaniem opisaną technikę należy stosować głównie u chorych z dużymi ubytkami chrząstki stawowej (powyżej 4 cm²) i dużych wymaganiach fizycznych oraz tych, u których zawiodły stosowane do tej pory sposoby leczenia (abrazja, mikrofrakturacja, spongiolizacja) [12,13]. Po 3 latach od wszczepienia hodowanych chondrocytów

Table 1

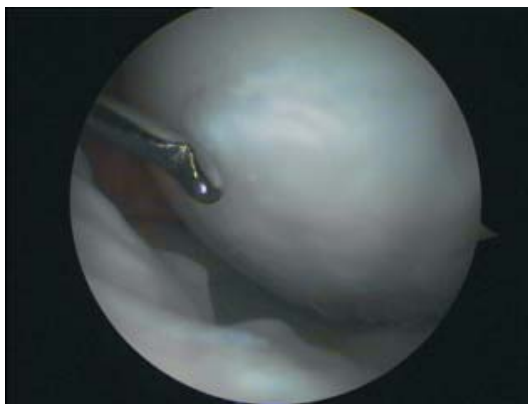
Fibrin / Lactic acid	Bioseed (Biotissue)
Cross-linked hyaluronic acid	Hyalograft (Fidia)
Collagen sponge	MACI (Verigen) Chondro-gide (Wollhusen) Novocart (Tetec) Arthromatrix (Orthogen)
Collagen gel	CaReS (Arthro Kinetics) Athellocolagen (Koken)

Tabela 1

Fibryna / Kwas mlekowy	Bioseed (Biotissue)
Sieciowany kwas hyaluronowy	Hyalograft (Fidia)
Gąbka kolagenowa	MACI(Verigen) Chondro-gide (Wollhusen) Novocart (Tetec) Arthromatrix (Orthogen)
Żel kolagenowy	CaReS (Arthro Kinetics) Athellocolagen (Koken)

Fig. 5. Arthroscopic picture of defect in 6 months after coating with suspension of chondrocytes in fibrin glue

Ryc. 5. Obraz artroskopowy ubytku w 6 miesięcy po pokryciu zawiesiną chondrocytów w kleju fibrynowym



contrast to the last ones, better smoothness of surface and homogeneity of loss covering can be obtained [14, 15].

In our opinion fibrin medium because of its plasticity, adhesivity, good biodegradation and high survival rate of suspended cells, can successfully be used as a carrier for chondrocytes. In our research we used the method of chondrocytes obtaining and in vitro culturing similar to the one described by Brittberg and Petersen [1, 5] but in contrast to these authors we did not implant cells under flap of periosteum. According to us, that technique causes much more perioperative problems resulted from difficulties in periosteum mounting to the cartilage through sutures (not always it provides appropriate resistance, tightness and waterproof).

In our opinion application of autologous chondrocytes cultures suspended in fibrin medium (fibrin glue) enables regeneration of articular surface's loss. Additional mounting of the graft with sutures is not necessary. Obviously, there is a possibility of its falling off or sliding down especially when the patient does not keep prescriptions after operation.

CONCLUSIONS

- Graft of autologous chondrocytes mounted in fibrin glue (CFGa) seems to be promising method in treatment of cartilaginous defects.

mechaniczna wytrzymałość regeneratu jest porównywalna z uzyskiwaną po przeszczepach cylindrycznych własnych powierzchni stawowych, w przeciwieństwie do tych ostatnich można uzyskać większą gładkość powierzchni i jednorodność pokrycia ubytku [14,15].

Naszym zdaniem podłoże fibrynowe za względu na swoją plastyczność, adhezyjność, dobrą biodegradację oraz wysoką przeżywalność osadzonych w nim komórek może być z powodzeniem wykorzystywane jako nośnik dla chondrocytów. W naszych badaniach zastosowaliśmy metodę pozyskiwania i hodowania „in vitro” chondrocytów podobną do opisaną przez Brittberga i Petersena [1,5] jednak w przeciwieństwie do tych autorów nie implantowaliśmy komórek pod płat okostnowy. Naszym zdaniem ta technika stwarza znacznie więcej problemów śródoperacyjnych spowodowanych trudnościami w mocowaniu okostnej do chrząstki za pomocą szwów (nie zawsze daje ono potrzebną wytrzymałość, szczelność oraz wodoodporność).

Naszym zdaniem zastosowanie hodowli autologicznych chondrocytów zawieszonych w podłożu fibrynowym (kleju fibrynowym) umożliwia regenerację ubytku powierzchni stawowej. Nie jest konieczne dodatkowe mocowanie przeszczepu szwami. Oczywiście istnieje możliwość jego odklejenia lub zsunienia się zwłaszcza, jeżeli chory nie przestrzega zaleceń po zabiegu operacyjnym.

WNIOSKI

- Przeszczep autologicznych chondrocytów osadzonych w kleju fibrynowym (CFGa) wydaje się być obiecującą metodą w leczeniu ubytków chrząstnych.

References/Piśmiennictwo:

1. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N. Engl J Med* 1994;331: 889-895.
2. O'Driscoll SW. The healing and regeneration of articular cartilage. *J Bone Joint Surg Am.* 1998;80:1795-812.
3. Shapiro F, Koide S, Glimcher MJ. Cell origin and differentiation in the repair of full thickness defects in articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1993: 75-A:532-53.
4. Minas T, Nehrer S: Current concepts in the treatment of articular cartilage defects. *Orthopedics* 1997;20:525-536.
5. Brittberg M, Petersen L, Sjogren-Janssen E, Tallheden T, Lindahl A. Articular cartilage engineering with autologous chondrocyte transplantation. A review of recent developments. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85:Suppl 3:109-15.
6. Wakinatti S, Goto T, Pineda SJ, Young GR, Mansour JM. Esenchymal cell-based repair of large, full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1994;4:579-592.
7. Micheli LJ, Browne JE, Erggelet C, Fu F, Mandelbaum B, Moseley JB, Zurakowski D. Autologous chondrocyte implantation of the knee: multicenter experience and minimum 3-year follow-up. *Clin J Sport Med.*2001;11:223-8.
8. Mierisch CM, Wilson HA, Turner MA, Milbrandt TA, Berthouex L, Hammarskjold ML, Rekosh D, Balian G, Diduch DR. Chondrocyte transplantation into articular cartilage defects with use of calcium alginate: the fate of the cells. *J Bone Joint Surg Am.* 2003;85:1757-67.
9. Visna P, Plasa L, Hart R, Folvarsky J, Adler J, Horky D. Treatment of deep cartilage defects in the knee by mosaicplasty combined with autologous cultivated chondrocytes in Tissucol. *Europ J of Trauma* 2002;28(suppl 1):43.
10. Adler J, Komarkova J, Horky D, Visna P Cultured autologous chondrocytes for treatment of cartilage defects. *Proc. 26th Annual Meeting American Association of Tissue Bank* 2002, Boston, Massachusetts: 83.
11. Visna P, Adler J, Pasa L, Kocis J, Cizmar I, Horky D. Autologous chondrocyte transplantation for the treatment of articular defects of the knee. *Scripta Medica (Brno)*, 2003, 76 (3):241-250.
12. Johnson LL. Arthroscopic abrasion arthroplasty. In: McGinty JB, Caspari RB, Jackson RW, Poehling GG, editors. *Operative arthroscopy*. New York: Raven Press; 1991.p 341-60.
13. Knutsen G, Engebretsen L, Ludvigsen TC, Drogset JO, Grondvedt T, Solheim E, Strand T, Roberts S, Isaksen V, Johansen O. Autologous chondrocyte implantation compared with microfracture in the knee. A randomized trial. *J Bone Joint Surg Am.* 2004;86:455-64.
14. Bentley G, Biant LC, Carrington RW, Akmal M, Goldberg A, Williams AM, Skinner JA, Pringle J. A prospective, randomized comparison of autologous chondrocyte implantation versus mosaicplasty for osteochondral defects in the knee. *J Bone Joint Surg Br.* 2003;85:223-30.
15. Horas U, Pelinkovic D, Herr G, Aigner T, Schnettler R. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial. *J Bone Joint Surg Br.* 2003;85:185-92.