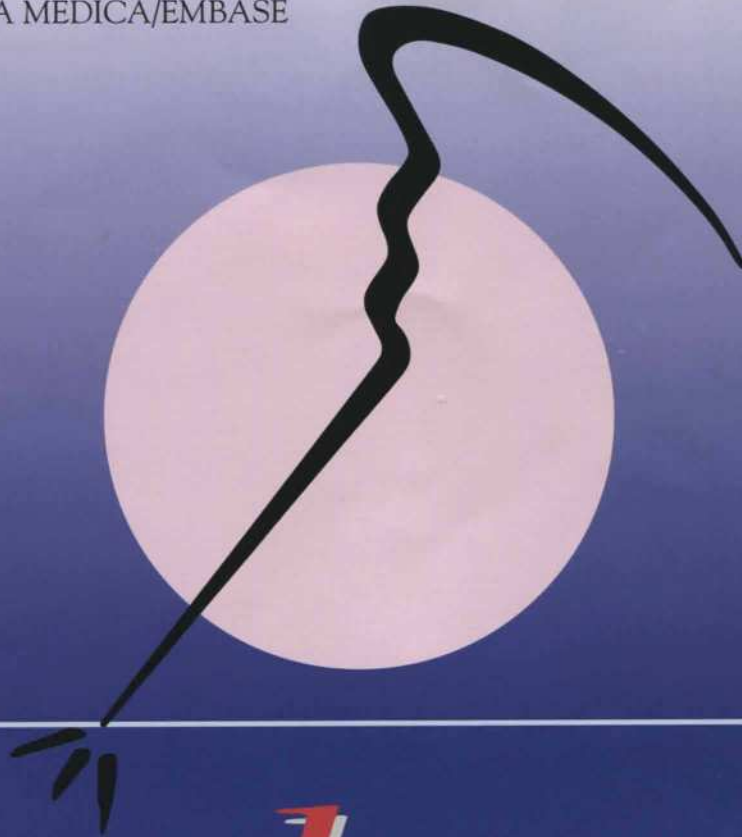




VOL. 20 • FASC. 1 • NÚM. 48 • ABRIL 2013

REVISTA INCLUIDA EN  
EXCERPTA MEDICA/EMBASE



cuadernos  
ARTROSCOPIA

REVISTA DE LA ASOCIACIÓN ESPAÑOLA DE ARTROSCOPIA (A.E.A.)

# Estimulación subcondral en el tratamiento de las lesiones del cartílago: ¿abandonar o abrazar la técnica? Revisión crítica de la literatura

P.L. Ripoll<sup>1</sup>, M. de Prado<sup>1</sup>, J. Vaquero<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Hospital Quirón Murcia. <sup>2</sup> Hospital General Universitario Gregorio Marañón. Madrid

Correspondencia:

Pedro Luis Ripoll

Hospital Quirón Murcia

c/ Miguel Hernández, 12. 30011 Murcia

Correo electrónico: ripollydeprado@hospitalsancarlos.net

Desde que Pridie describiera la técnica en 1959, las perforaciones subcondrales, con objeto de estimular la médula ósea para conseguir una reparación del cartílago hialino mejorada, se han convertido en la técnica más utilizada en el tratamiento de las úlceras condrales.

En las últimas décadas, han aparecido técnicas para regenerar en la lesión un cartílago hialino más duradero. Las primeras experiencias clínicas no han demostrado a través de los trabajos comparativos publicados una superioridad clínica que justifique el abandono de una técnica probada en el tiempo, fácil y económica.

Por otro lado, las mejoras recientes han dado lugar a una segunda generación de la estimulación medular "enriquecida", que consigue una mejor calidad del tejido formado y nos hace ser optimistas con la duración de los resultados. En este trabajo se revisan y comentan los resultados disponibles en la bibliografía actual a este respecto.

**Palabras clave:** Pridie. Microfracturas. Lesión condral. Rodilla.

## Subchondral stimulation in the treatment of cartilage lesions: Embracing or rejecting technology? Critical review of the literature

In 1959, Pridie described subchondral drilling technique, in order to stimulate the bone marrow to achieve improved repair of hyaline cartilage and it has become the most used technique in the treatment of chondral ulcers. In recent decades, new techniques have appeared to regenerate a more lasting hyaline cartilage in an injury. The first clinical experiences through published comparative works have not shown clinical superiority to justify the abandonment of an easy and inexpensive proven technique in time.

Moreover, recent improvements in microfractures have led to a second generation of "enhanced" medullary stimulation that gets a better quality formed tissue and it makes us optimistic about the long-term results. In this paper the results available in the current literature are reviewed and discussed.

**Key words:** Pridie. Microfractures. Chondral lesion. Knee.

## MÁS INFORMACIÓN Y VÍDEOS



## INTRODUCCIÓN

Las lesiones condrales en la articulación de la rodilla constituyen, aún a día de hoy, un problema de difícil solución debido a la limitada capacidad intrínseca de reparación del cartilago hialino, a la que contribuyen la incapacidad de migración de los condrocitos rodeados de una densa matriz extracelular, y la ausencia de vasos y de células mesenquimales estromales en este tejido.

La prevalencia de lesiones condrales es elevada en las exploraciones artroscópicas realizadas por otro motivo, y la mayoría de los autores coinciden en que están presentes en más de un 60% de las artroscopias practicadas. Un tercio de ellas son lesiones aisladas, y la localización más frecuente es el cóndilo femoral interno y la patela. Las lesiones de grado IV en pacientes menores de 40 años representan en las distintas series entre el 5% y el 7%<sup>(1-3)</sup>. Existe controversia sobre la evolución de estas lesiones ya que hasta el momento la historia natural de las mismas es desconocida. Así, mientras que para

unos autores son causa de degeneración artrósica con el tiempo como han demostrado desde hace tiempo los estudios animales<sup>(4)</sup>, otros más recientes niegan esta relación<sup>(5)</sup>.

Desde hace dos siglos, el objetivo ha sido recuperar la superficie articular. Son numerosas las técnicas quirúrgicas que se han propuesto para este fin y abarcan desde el lavado articular y el desbridamiento de los fragmentos inestables<sup>(6)</sup> hasta la reparación por estimulación medular subcondral<sup>(7,8)</sup> o, más recientemente, la regeneración de la superficie mediante implantes de tejido cartilaginoso<sup>(9,10)</sup> o de células<sup>(11)</sup>. Pero a día de hoy no existe ningún trabajo de larga evolución que permita extraer conclusiones irrefutables sobre el tratamiento ideal, y ni siquiera disponemos de datos suficientes para afirmar que tratar a estos pacientes evita la degeneración articular<sup>(12)</sup>.

En este trabajo hemos revisado la literatura para saber si los resultados obtenidos con las nuevas técnicas nos aconsejan abandonar la estimulación medular subcondral o si, por el contrario, las mejoras y avances que recientemente se han incorporado a las microfracturas le han dado un valor añadido, convirtiéndola en la técnica de primera elección.

## RESULTADOS DE LA TÉCNICA DE PRIDIE Y LAS MICROFRACTURAS

La indicación del tratamiento quirúrgico de una úlcera condral depende de varios factores, entre los que se encuentran el tamaño de la lesión, la edad y la actividad del paciente, habiéndose propuesto distintos algoritmos de tratamiento<sup>(13)</sup>.

La estimulación medular, descrita por K.H. Pridie en 1959<sup>(7)</sup> y posteriormente mejorada por Steadman<sup>(8)</sup>, se fundamenta en la reparación del cartilago hialino lesionado gracias al sangrado local que se produce al perforar la placa ósea subcondral bien con una aguja de Kirschner o con un punzón, permitiendo la formación de un coágulo rico en factores de crecimiento y poblado por algunas células pluripotenciales procedentes de médula ósea que, junto a los fibroblastos, formarán un nuevo tejido de tipo fibrocartilaginoso (Figura 1).

A pesar del tiempo transcurrido desde su introducción en la clínica, esta técnica sigue siendo, sin duda alguna, a día de hoy la

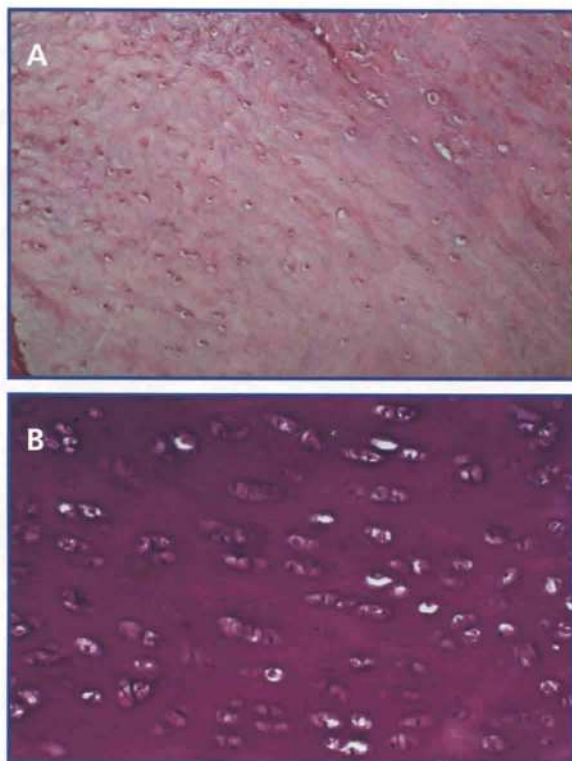


Figura 1. Imagen histológica de fibrocartilago neoformado en una lesión perforada (A) en comparación con el cartilago hialino vecino (B). Nótese la distinta celularidad y tinción de la matriz (proteoglicanos).



Figura 2. Aspecto artroscópico de una úlcera condral en el cóndilo interno tras realizar microfracturas.

más utilizada en las reparaciones cartilaginosas posiblemente por su disponibilidad, sencillez técnica, así como bajo coste<sup>(14)</sup>, y es la que sirve como patrón oro para comparar todas las demás.

Las microfracturas<sup>(15)</sup> son efectivas en lesiones pequeñas, menores de 2-3 cm<sup>2</sup>, con placa subcondral intacta, deben hacerse con punzones angulados adecuados, crear bordes verticales y estables, desbridar la capa calcificada de cartílago, efectuar perforaciones cada 2 o 3 mm (unas 10 perforaciones por cm<sup>2</sup>) para conseguir un buen anclaje del coágulo y seguir un protocolo de fisioterapia con movilización pasiva intensa<sup>(16)</sup> (Figura 2).

Presentan, frente a las perforaciones con aguja, la ventaja de no crear un daño tisular por el calor generado<sup>(17)</sup>. No se han publicado resultados de su uso en niños.

En cuanto a los resultados, Kreuz *et al.*<sup>(18)</sup> concluyen que las microfracturas muestran deterioro a partir de los 18 meses de la cirugía y que el mejor pronóstico lo tienen los pacientes menores de 40 años, con defectos en el cóndilo femoral. Por su parte, en la revisión efectuada por Mithoefer *et al.*<sup>(16,19)</sup>, se señala que la microfractura tiene muy buenos resultados a corto plazo pero no hay estudios de larga evolución. Se ha achacado a la técnica una limitada reparación del cartílago hialino, con una producción pobre de tejido de reparación y un posible deterioro funcional con el tiempo. Además, concluyeron que el tamaño del defecto no influye en el resultado. Solheim *et al.*<sup>(20)</sup> compararon a los 5 años postoperatorios los resultados de la microfractura, en 110 pacientes con una edad media

de 38 años (rango: 15-60 años), divididos en dos grupos, uno con lesiones condrales únicas, y otro con lesiones múltiples. Efectuaron la valoración con la escala Lysholm y encontraron 24 fracasos (22%), el 18% en el grupo de lesiones únicas y el 29% en el de lesiones múltiples. El dolor era menor y la valoración funcional era superior en el grupo de lesiones únicas. Steadman *et al.*<sup>(15)</sup> y Mithoefer *et al.*<sup>(21)</sup> demostraron una vuelta a la actividad deportiva después de las microfracturas con mejores resultados cuando los pacientes padecían una sintomatología inferior a un año, un defecto menor de 2 cm<sup>2</sup> y eran menores de 40 años.

Los resultados de este procedimiento han servido como "patrón oro" para comparar diferentes técnicas. Un trabajo aleatorizado sobre 60 atletas menores de 40 años publicado por Gudas *et al.*<sup>(22)</sup> concluye que, al cabo de 37,1 meses de seguimiento, los resultados de las escalas funcionales e histológicas eran mejores en los pacientes tratados mediante mosaicoplastia, y el número de atletas que se reincorporaron a su nivel deportivo previo, casi el doble. A los 3 años de la intervención, de Windt *et al.*<sup>(23)</sup> no encontraron diferencias, con la valoración clínica (KOOS), entre los pacientes intervenidos con microfracturas o con implante autólogo de condrocitos (ACI). Existen otros cuatro trabajos aleatorizados y prospectivos publicados que comparan estas dos técnicas. Van Assche *et al.*<sup>(24)</sup> hicieron un seguimiento de 2 años en 67 pacientes con lesiones que tenían un tamaño medio de 2,4 cm<sup>2</sup> en el cóndilo femoral. Practicaron microfracturas a 33 pacientes, y a 34, ACI; ambos grupos siguieron el mismo protocolo rehabilitador. A los 2 años, los pacientes con ACI mostraron resultados funcionales muy semejantes al grupo intervenido con microfractura. Knutsen<sup>(25)</sup>, en un estudio aleatorizado, compara las microfracturas frente al ACI y encuentra que, en contra de lo que cabría esperar, hay una superioridad en la puntuación de la escala SF-36 en las microfracturas, sin diferencias significativas en otras escalas funcionales o histológicas a los 2 años. Este mismo grupo, seguido durante 5 años, tampoco fue capaz de encontrar diferencias funcionales, obteniendo un 77% de buenos resultados en ambos grupos, pero destacan que existe un notable deterioro en relación con los resultados obtenidos a los 2 años<sup>(26)</sup>.



Figura 3. Efecto de lavado del sangrado procedente de las microfracturas que evita la formación de un coágulo estable.



Figura 4. Aspecto artroscópico de una lesión condral en el cóndilo interno al año de la cirugía realizada por uno de los autores.

### LAS MICROFRACTURAS "ENRIQUECIDAS"

Esta técnica, que tiene más de medio siglo, ha adoptado en el último lustro una serie de mejoras encaminadas a obtener un tejido de mejor calidad y más duradero en el tiempo. Ante la complejidad de las técnicas de ingeniería tisular, que además en muchas ocasiones requieren varias intervenciones quirúrgicas, su elevado coste y la escasa brillantez de los resultados en relación con la inversión, han sido muy numerosos los avances propuestos en las técnicas de estimulación medular. Muchos de ellos se encuentran aún en fase experimental, por lo que nos limitaremos a mencionar los que ya han alcanzado una aplicación clínica.

Para evitar que el coágulo desaparezca de la lesión por una mala fijación o sobre todo por el efecto de arrastre del líquido de lavado artroscópico llevándose las células pluripotenciales (Figura 3), se ha propuesto la adición de distintas sustancias, que en unos casos sólo lo recubren, mientras que en otros sirven de estímulo a la formación de un nuevo cartilago hialino. Esta filosofía se ha denominado SGRM (*scaffold guided regenerative medicine*).

Los primeros trabajos realizados en los años 90 del pasado siglo demostraron que el quitosano, un polímero natural químicamente similar al ácido hialurónico, podría tener propiedades de adhesividad favorables para este objetivo. La solución en forma de glicerol fosfato de quitosano es un termogel que solidifica en menos de

15 minutos a temperatura corporal y es la que ha encontrado una aplicación clínica en esta patología (BST-CarGel®, Piramal Healthcare, Canadá). Los primeros estudios experimentales en ovejas fueron muy prometedores<sup>(27)</sup>, así como el estudio clínico piloto, en el que el aspecto macroscópico mostró un excelente recubrimiento de la lesión al año (Figura 4) y las biopsias obtenidas demostraron la formación de un tejido muy similar al cartilago hialino normal, con una estratificación zonal parecida y muy diferente del fibrocartilago que se observaba en los controles microfracturados. La cantidad y calidad del tejido de relleno no parece estar afectada por el tamaño de las lesiones cuando éste supera los 2 cm<sup>2</sup>.

La técnica debe realizarse a través de una miniartrotomía, ya que el medio líquido impide la solidificación y es necesario mantener la superficie horizontal hasta ese momento (Figura 5).

Similares resultados se han obtenido con la utilización de colágeno (atelocolágeno) (CartiFill™, Sewon Cellontech, Corea), que debe mezclarse con cola de fibrina (Tissucol) para adherirse a la lesión. Es importante vaciar el líquido de lavado cuando el procedimiento se realiza por vía artroscópica y esperar 5 minutos a la solidificación completa del líquido. No existen aún resultados clínicos publicados, pero las primeras experiencias en 10 pacientes comunicadas por Shetty<sup>(28)</sup> en el congreso de 2012 de la Sociedad Internacional de Reparación del Cartilago (ICRS) muestran en 18-24 meses que en el 90% de los pacientes

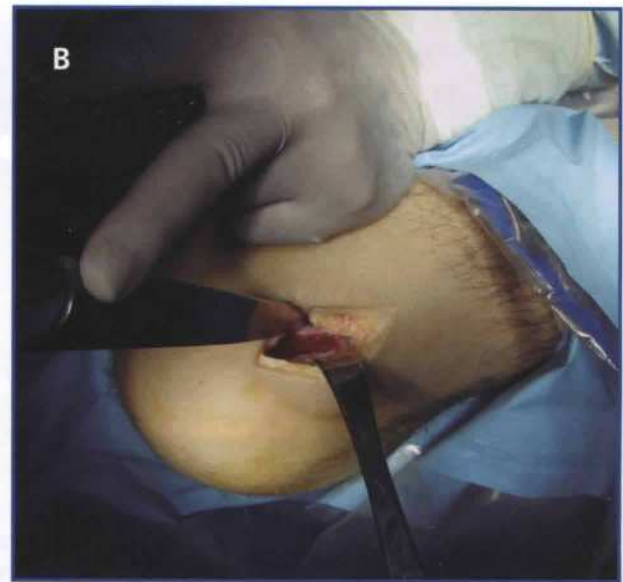


Figura 5. Miniartrotomía para el secado de la lesión microfracturada (A) y aspecto de la misma una vez recubierta con el BST-CarGel® mezclado con sangre periférica (B).

existió una mejoría clínica, y en el 80%, un buen relleno de la lesión en la resonancia magnética nuclear (RMN) T2 (Figura 6). Los autores tienen experiencia en 22 casos de lesiones tratadas en los últimos 2 años tanto en el cóndilo como en la tróclea femoral (Figura 7) de rodilla y en lesiones del astrágalo, con buenos resultados clínicos que serán objeto de una próxima publicación (ver Vídeos utilizando el código QR adjunto). De cara al futuro, se ha ensayando experimentalmente el enriquecimiento de esta mezcla con células con condrocitos para obtener un mejor tejido<sup>(29)</sup>, con resultados esperanzadores a 2 años.

Otra de las estrategias recientes para mejorar la calidad del tejido obtenido a través de las microfracturas ha sido el recubrimiento de las microfracturas con una membrana biológica acelular que induzca la condrogénesis autóloga inducida por matriz (AMIC) y sirva de andamio a la regeneración tisular. Además, protege al coágulo frente a las fuerzas de cizallamiento<sup>(30)</sup>. Con la utilización de una membrana de colágeno II/III (Chondro-Gide®, Geistlich Pharma, Suiza) Gille *et al.*<sup>(31)</sup> han publicado los resultados multicéntricos de 57 pacientes con lesiones de grados III y IV de



Figura 6. Relleno de tejido en una lesión de cóndilo interno que revisamos a los 12 meses.

una extensión media de 3,4 cm<sup>2</sup> seguidos durante 2 años y apreciaron una notable mejoría en las escalas funcionales y del dolor. Desgraciadamente, no hay datos histológicos ni radiológicos del seguimiento de estos pacientes. No existe ningún trabajo prospectivo que compare esta técnica con las microfracturas por el momento.

Algunos autores han puesto énfasis en el aumento de la población de células estromales

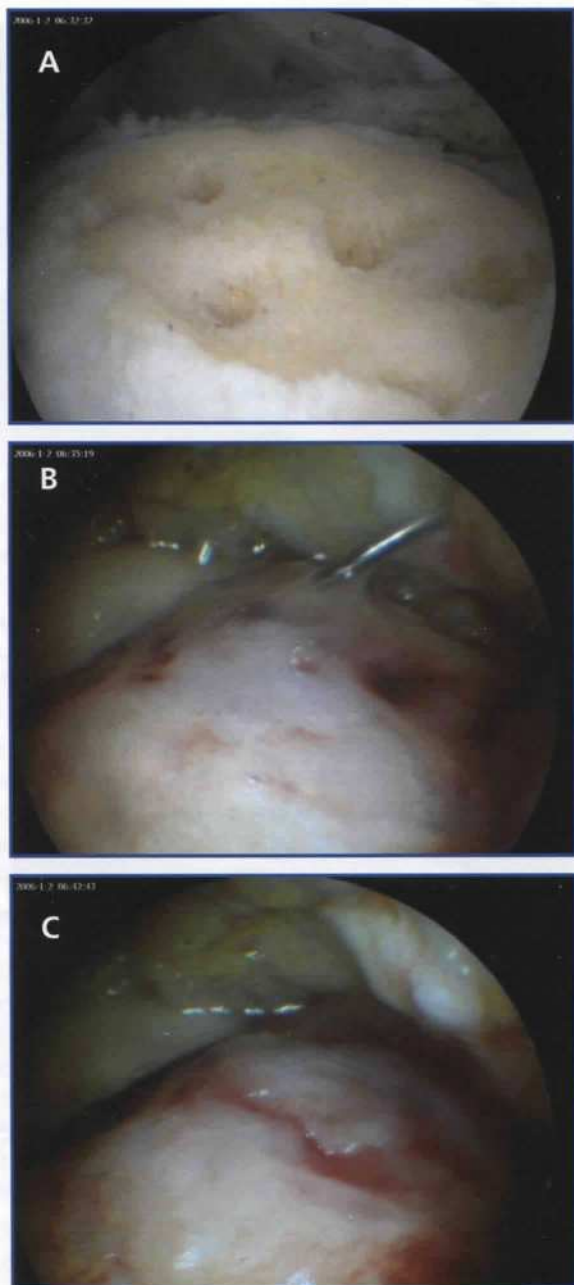


Figura 7. Imagen de la lesión condral en la t rclea una vez realizadas las microfracturas (A), en el momento de la inyección de CartiFill™ (B) y al final del proceso (C).

mesenquimales mediante su adición al coágulo tras las microfracturas. En efecto, distintos trabajos han demostrado que la concentración de este tipo de células es menor en la epifisis femoral que en la cresta iliaca<sup>(32,33)</sup> y, por lo tanto, podría ser insuficiente para conseguir la reparación. Los trabajos de De Girolamo<sup>(33)</sup> demostraron que la adición de aspirado de

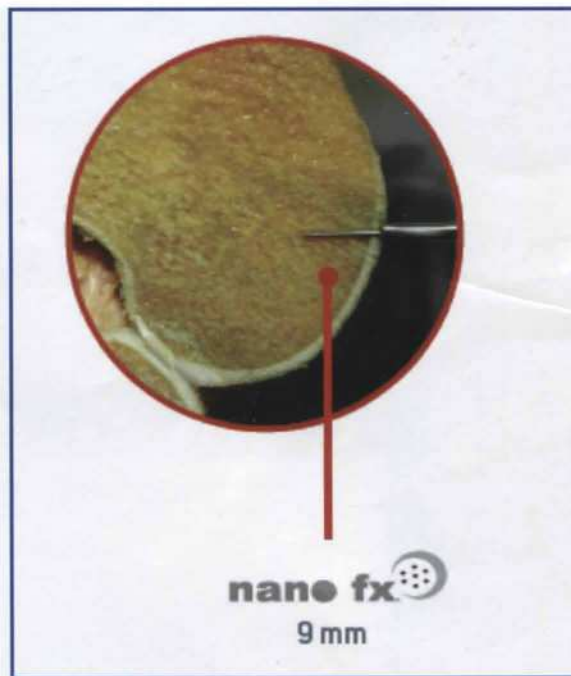


Figura 8. Sistema NanoFx para realizar perforaciones más finas y profundas.

médula ósea a la técnica AMIC mejor  la calidad del tejido en 11 pacientes.

Finalmente, se ha insistido mucho en la exigencia de una técnica cuidadosa para la realización de la perforación de la placa subcondral tras la eliminación de la capa de cartilago calcificado. Chen<sup>(34)</sup> demuestra en conejos que las perforaciones de 6 mm de profundidad y más finas producen un mayor recubrimiento de la lesión con un tejido de mejor calidad y características más hialinas que las de 2 mm y más gruesas, probablemente debido a un mejor acceso a las células de la cavidad medular. Han aparecido en el mercado instrumentos con este objetivo (NanoFx, Arthrosurface, USA) (Figura 8). Parece que la técnica y el tipo de perforación pueden tener una influencia importante en los resultados de las técnicas de estimulación medular, aunque estudios posteriores en humanos deberán ratificar estos hallazgos. Parece claro, sin embargo, que algunos de los malos resultados atribuidos a la estimulación subcondral pueden estar relacionados con un desbridamiento inadecuado de los bordes de la lesión, la eliminación incompleta de la capa calcificada o la destrucción excesiva de la placa subcondral.

## CONCLUSIÓN

Todas las técnicas actuales destinadas al tratamiento de las lesiones focales del cartílago articular mejoran la sintomatología y la evolución de las lesiones condrales. Sin embargo, no se ha obtenido una evidencia que nos haga decantarnos por una técnica u otra. La reparación de las lesiones del cartílago focales

requieren un diagnóstico preciso y una indicación de cirugía proporcional al problema y adaptada a cada paciente. En este sentido, la estimulación del hueso subcondral parece ser una técnica que aporta numerosas ventajas, y las innovaciones que está sufriendo en los últimos años, sin incrementar la morbilidad, pueden prolongar la duración de sus resultados.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Curl WW, Krome J, Gordon ES, Rushing J, Smith BP, Poehling GG. Cartilage injuries: a review of 31.516 knee arthroscopies. *Arthroscopy* 1997; 13: 456-60.
2. Aroen A, Loken S, Heir S, Alvik E, Ekland A, Granlund OG, et al. Articular cartilage lesions in 993 consecutive knee arthroscopies. *Am J Sports Med* 2004; 32: 211-5.
3. Widuchowski W, Widuchowski J, Trzaska T. Articular cartilage defects: study of 25,124 knee arthroscopies. *Knee* 2007; 14: 177-82.
4. Jackson DW, Lalor PA, Aberman HM, Simon TM. Spontaneous repair of full-thickness defects of articular cartilage in a goat model. A preliminary study. *J Bone Joint Surg (Am)* 2001; 83: 53-64.
5. Widuchowski W, Widuchowski J, Faltus R, Lukasiak P, Kwiatowski G, Szyluk K, Koczy B. Long-term clinical and radiological assessment of untreated severe cartilage damage in the knee. A natural history study. *Scand J Med Sci Sports* 2011; 21: 106-10.
6. Levy AS, Lohnes J, Sculley S, LeCroy M, Garrett W. Chondral delamination of the knee in soccer players. *Am J Sports Med* 1996; 24: 634-9.
7. Pridie KH. A method of resurfacing osteoarthritic knee joints [abstract]. *J Bone Joint Surg Br* 1959; 41: 618-23.
8. 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.
9. Convery FR, Meyers MH, Akeson WH. Fresh osteochondral allografting of the femoral condyle. *Clin Orthop* 1991; 273: 139-45.
10. Matsusue Y, Yamamuro T, Hama H. Arthroscopic multiple osteochondral transplantation to the chondral defect in the knee associated with anterior cruciate ligament disruption. *Arthroscopy* 1993; 9: 318-21.
11. Brittberg M, Lindahl A, Nilsson A, Ohlsson C, Isaksson O, Peterson L. Treatment of deep cartilage defects in the knee with autologous chondrocyte transplantation. *N Engl J Med* 1994; 331: 889-95.
12. Shelburne KD, Jari S, Gray T. Outcome of untreated traumatic articular cartilage defects of the knee: A natural history study. *J Bone Joint Surg (Am)* 2003; 85: 8-9.
13. Vaquero J, Forriol F. Knee chondral injuries: clinical treatment strategies and experimental models. *Injury* 2012; 43: 694-705.
14. Wakitani S, Kawaguchi A, Tokuhara Y, Takaoka K. Present status of and future direction for articular cartilage repair. *J Bone Miner Metab* 2008; 26: 115-22.
15. Steadman JR, Briggs KK, Rodrigo JJ. Outcomes of microfracture for traumatic chondral defects of the knee: average 11-year follow-up. *Arthroscopy* 2003; 19: 477-84.
16. 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.
17. Chen H, Sun J, Hoemann C, Lascau-Coman V, Ouyang W, McKee M, et al. Drilling and microfracture lead to different bone structure and necrosis during bone-marrow stimulation for cartilage repair. *J Orthop Res* 2009; 27: 1432-8.
18. Kreuz PC, Steinwachs MR, Erggelet C, Krause SJ, Konrad SJ, Uhlir, et al. Results after microfracture of full-thickness chondral defects in different compartments in the knee. *Osteoarthritis and Cartilage* 2006; 14: 1119-25.
19. 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; 87A: 1911-20.
20. Solheim E, Øyen J, Hegna J, Austgulen OK, Harlem T, Strand T. Mi-



- crofracture treatment of single or multiple articular cartilage defects of the knee: a 5-year median follow-up of 110 patients. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010; 18: 504-8.
21. Mithoefer K, Hambly K, Della Villa S, Silvers H, Mandelbaum BR. Return to sports participation after articular cartilage repair in the knee. *Am J Sports Med* 2009; 37 (Suppl 1): 167-76.
  22. Gudas R, Kalesinskas RJ, Kimtys V, Stankevicius E, Toilusis V, Bernotavicius G, et al. A prospective randomized clinical study of mosaic osteochondral autologous transplantation versus microfracture for the treatment of osteochondral defects in the knee joint in young athletes. *Arthroscopy* 2005; 21: 1066-75.
  23. de Windt TS, Bekkers JE, Creemers LB, Dhert WJA, Saris DB. Patient profiling in cartilage regeneration. Prognostic factors determining success of treatment for cartilage defects. *Am J Sports Med* 2009; 39 (Suppl 1): S58-S62.
  24. van Assche D, Staes F, van Caspel D, Vanlauwe J, Bellemans J, Saris DB, et al. Autologous chondrocyte implantation versus microfracture for knee cartilage injury: a prospective randomized trial, with 2-year follow-up. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc* 2010; 18: 486-95.
  25. 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 Surg (Am)* 2004; 86-A: 455-64.
  26. Knutsen G, Drogset JO, Engebretsen L, Grantvedt T, Isksen V, Ludvigsen TC, et al. A randomized trial comparing autologous chondrocyte implantation with microfracture. Findings at five years. *J Bone Joint Surg Am* 2007; 89A: 2105-12.
  27. Hoemann CD, Hurtig M, Rosomacha E, Sun J, Chevrier A, Shive MS, Buschmann MD. Chitosan-glycerol phosphate/blood implants improve hyaline cartilage repair in ovine microfractures defects. *J Bone Joint Surg (Am)* 2005; 87: 2671-86.
  28. Shetty AA, Kim SJ, Stelzeneder D, Bilagi P. Surgical treatment of chondral defects of knee using microdrilling and atelocollagen gel (CartiFill) as one stage arthroscopic procedure. ICRS Meeting. Montreal, Canada; 12-15 mayo 2012.
  29. Tohyama H, Yasuda K, Minami T, Iwasaki N, Muneta T, Sekiya I, et al. Atelocollagen-associated autologous chondrocyte implantation for the repair of chondral defects of the knee: a prospective multicentre clinical trial in Japan. *J Orthop Sci* 2009; 14: 579-88.
  30. Dorotka R, Windberger U, Macfelda K, Bindreiter U, Toma C, Nehrer S. Repair of articular cartilage defects treated by microfracture and a three-dimensional collagen matrix. *Biomaterials* 2005; 26: 3617-29.
  31. Gille J, Behrens P, Volpi P, de Girolamo L, Reiss E, Zoch W, Anders S. Outcome of autologous matrix induced chondrogenesis (AMIC) in cartilage knee surgery: data of the AMIC Registry. *Arch Orthop Trauma Surg* 2013; 133: 87-93.
  32. Narbona FJ, Vaquero Martín J, Fernández Santos ME. Concentración de células mononucleares como predictor de la población de células madre mesenquimales en aspirado de médula ósea. Estudio comparativo entre cresta ilíaca, metáfisis distal de fémur y metáfisis proximal de tibia. *Trauma Fund MAPFRE* 2012; 23: 91-6.
  33. De Girolamo L, Bertolini G, Cervellini M, Sozzi G, Volpi P. Treatment of chondral defects of the knee with one step matrix-assisted technique enhanced by autologous concentrated bone marrow: in vitro characterisation of mesenchymal stem cells from iliac crest and subchondral bone. *Injury* 2010; 41: 1172-7.
  34. Chen H, Hoemann CD, Sun J, Chevrier A, McKee MD, Shive MS, et al. Depth of subchondral perforation influences the outcome of bone marrow stimulation cartilage repair. *J Orthop Res* 2011; 29: 1178-84.