



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

Evaluación de los resultados clínicos y por mapeo T2 del implante de condrocitos autólogos cultivados, para el tratamiento de lesiones de cartílago en rodilla. Estudio multicéntrico

TESIS

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:
DOCTOR EN CIENCIAS MEDICAS

PRESENTA:
FÉLIX ENRIQUE VILLALOBOS CÓRDOVA

Tutor:
Dr. José Clemente Ibarra Ponce de León
Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra

Miembros del Comité Tutor:
Dr. Antonio Miranda Duarte
Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra
Dr. Rubén Torres González
UMAE de Traumatología, Ortopedia y Rehabilitación "Dr. Victorio de la Fuente Narváez"

Ciudad Universitaria, Cd. de México

noviembre 2020



Universidad Nacional
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

Biblioteca Central



UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

DERECHOS RESERVADOS ©
PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

AGRADECIMIENTOS.

Agradezco a Fondos Sectoriales del Consejo Nacional de Ciencia y Tecnología (CONACYT) por el apoyo financiero otorgado al presente proyecto, con no. de registro: CONACYT SALUD 2017-02-290541.

Agradezco a todos los pacientes involucrados en este estudio, por su confianza, esfuerzo en su rehabilitación y apego al tratamiento.

Agradezco a mis tutores y maestros del Doctorado, Dr. Clemente Ibarra Ponce de León, Dra. Cristina Velasquillo, Dra. Margarita Valdés, Dr. Antonio Miranda y al Dr. Rubén Torres, muchas gracias por su generosidad en enseñarme, guiarme, animarme y compartirme su conocimiento. A todo el equipo multidisciplinario de científicos, médicos especialistas, médicos residentes y médicos pasantes, por su apoyo y trabajo realizado en este proyecto.

Agradezco a mi esposa amada Tatiana, a mis hijos amados Oscar, Lobo y Lucía. A mis padres, hermanos y sobrinos. Gracias a Dios.

INDICE.

1) RESUMEN-----	4
2) INTRODUCCIÓN-----	5
3) MÉTODOS-----	18
4) RESULTADOS-----	38
5) DISCUSION-----	45
6) REFERENCIAS-----	55
7) ANEXOS-----	61

1) RESUMEN.

Las lesiones de cartílago articular se encuentran presentes en más del 60% de las artroscopías de rodilla. Las técnicas basadas en ingeniería de tejidos con cultivo autólogo de condrocitos ofrecen reparaciones con cartílago de propiedades similares a cartílago hialino.

El objetivo de este trabajo fue evaluar los resultados clínicos y por mapeo T2 en resonancia magnética nuclear del implante artroscópico de condrocitos autólogos cultivados en matriz (ICAME) para el tratamiento de lesiones de cartílago en rodilla de adultos jóvenes, en un escenario multicéntrico.

Se estudiaron un total de 30 pacientes sometidos a tratamiento quirúrgico con la técnica de ICAME, operados en al menos 2 sedes hospitalarias independientes. La evaluación se realizó con un seguimiento mínimo de 1 año, tomando en cuenta escalas clínicas validadas, así como una evaluación objetiva mediante medición del tiempo de relajación del agua por mapeo T2 en resonancia magnética nuclear.

Para el análisis de los resultados se realizó un análisis de las variables obtenidas con media y desviación estándar. Se verificó la distribución normal de las variables con prueba de Kolmogorov-Smirnov. Se realizó análisis de los resultados pre y postoperatorios de las variables en estudio con prueba T de Student. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa, si $p < 0,05$. Se utilizó el programa estadístico IBM SPSS Statistics 23.0.

2) INTRODUCCION.

Marco teórico:

Las lesiones del cartílago articular han sido descritas, a nivel mundial, hasta en un 61% de los pacientes que se han sometido a artroscopia de la rodilla (**Tabla 1**).¹ Estas lesiones afectan a un estimado de 900, 000 individuos en Estados Unidos cada año.² Aun cuando la mayoría de las lesiones son asintomáticas, las lesiones que ocasionan síntomas representan un escenario de morbilidad significativa y de difícil tratamiento.³ Estas lesiones constituyen un reto diagnóstico y terapéutico dada la limitada capacidad de regeneración del cartílago articular y cuando no se tratan predisponen a osteoartritis, que se caracteriza por la pérdida progresiva del cartílago articular, resultando en dolor y pérdida de la función, lo que es una causa mayor de discapacidad y representa una carga económica a la sociedad.^{4,5}

Autor / País (# artroscopias)	Curl EUA (31,516)	Widuchowski Polonia (25,124)	Hjelle Noruega (1,000)	Aroen Noruega (993)	INR México (1309)
Prevalencia de lesiones condrales (%)	63	60	61	66	61
Edad	43	---	39	36	37
1ª. localización	CFM	PF	CFM	CFM	PF
2ª. localización	PF	CFM	PF	PF	CFM
1ª lesión asociada	Menisco	Menisco	Menisco	---	Menisco
2ª lesión asociada	LCA	LCA	LCA	---	LCA
Candidatos a reparación biológica (%)	4	9	---	11	7

Tabla 1.- Prevalencia de lesiones condrales en artroscopia de rodilla en diversos países, incluido México, con el Instituto Nacional de Rehabilitación (I.N.R.). EUA=Estados Unidos de América, CFM=cóndilo femoral medial, PF=patelofemoral, LCA=ligamento cruzado anterior.

Para tratar a las lesiones de cartílago articular se han empleado diferentes abordajes, entre ellos, la técnica de microfracturas y el traslado osteocondral autólogo o mosaicoplastia para el tratamiento de lesiones condrales de pequeñas a medianas (1-4cm²), así como el uso de aloinjertos osteocondrales frescos (no disponible a la fecha en México) y el implante de condrocitos autólogos cultivados para el tratamiento de lesiones condrales desde pequeñas hasta grandes en rodilla (1-9cm²). En el implante de condrocitos autólogos (ACI por sus siglas en inglés), se realiza una biopsia de cartílago articular, se aíslan y expanden las células en el laboratorio con técnicas de cultivo, y a continuación las células se inyectan en el defecto condral y se contienen en su lugar mediante la sutura de un parche de periostio tomado de la tibia. La reparación de lesiones de cartílago articular con esta técnica fue descrita inicialmente por Brittberg en 1994,⁶ en donde reportaron a 2 años del transplante, buenos a excelentes resultados clínicos en 14 de 16 pacientes con lesiones condrales tratadas con esta técnica a nivel de cóndilos femorales, así como tejido similar a cartílago hialino en 11 de 15 biopsias tomadas del tejido reparado a nivel de cóndilos femorales, concluyendo que el cultivo de condrocitos autólogos cultivados podía ser usado en la reparación de defectos cartilagosos profundos a nivel de la superficie articular femorotibial de la articulación de la rodilla.

Los Dres. Saris y Vanlauwe, dirigieron un estudio multicéntrico aleatorio no cegado para comparar los resultados clínicos e histológicos de un procedimiento denominado por sus siglas en inglés CCI (characterized chondrocyte implantation), consistente en el cultivo de condrocitos autólogos seleccionados por sus mejores características de diferenciación hacia tejido cartilaginoso, comparado contra la

técnica de microfracturas en lesiones condrales grado III y IV de los cóndilos femorales, y midieron el desenlace con criterios histológicos y clínicos. Ellos observaron que la reparación histológica fue mejor en el tratamiento con CCI, que en las microfracturas a 1 año de seguimiento; sin embargo, el resultado clínico fue similar para los dos grupos intervenidos en ese mismo periodo. En la evaluación de los pacientes operados a 24 y 36 meses, observaron diferencias clínicamente significativas a favor del grupo de pacientes tratado con CCI, además de encontrar un porcentaje mayor de fallas en los sujetos sometidos a MF.⁷

La técnica utilizada en estos estudios requiere para el implante de condrocitos la artrotomía y sutura de un parche de periostio al defecto condral en la rodilla afectada, lo que predispone a diferentes complicaciones, como derrame articular, artrofibrosis, e hipertrofia del injerto.

Una variación de la técnica original de ACI es el implante de condrocitos autólogos sembrados en una matriz (por sus siglas en inglés MACI). Estas técnicas se basan en el uso de polímeros biodegradables que sirven como andamio para las células, y que son sembrados con condrocitos autólogos cultivados para colocarlos en el sitio del defecto condral.⁸

El implante artroscópico de condrocitos autólogos en matriz tiene la ventaja de ser un abordaje menos invasivo. Las técnicas artroscópicas teóricamente eliminan las complicaciones de las técnicas abiertas. Requieren disminuir el flujo de solución salina (durante la artroscopía hay un constante flujo de solución salina para lavar y

visualizar adecuadamente las estructuras), y algunos autores sugieren fijar el implante con gel de fibrina para brindarle estabilidad.⁹

En un estudio previo realizado por nuestro grupo de trabajo en 8 caballos se probó la estabilidad de un constructo de ácido poliglicólico/poliláctico sembrado con condrocitos autólogos expandidos *ex vivo*. Se demostró la viabilidad y adhesión de los condrocitos al implante en el laboratorio, artroscópicamente, y por biopsia de tejido articular se comprobó la viabilidad después de 4 y 8 semanas, así como la integración y producción de matriz extracelular. Además, no se observaron complicaciones significativas asociadas al injerto de cartílago.⁸

Con la búsqueda de nuevas técnicas no invasivas de la evaluación de la reparación condral se han desarrollado técnicas de evaluación por resonancia magnética nuclear específicas para visualizar el estado del cartílago articular en zonas afectadas, sanas o reparadas con alguna técnica, mediante el Mapeo T2, y el uso de software especiales para cartílago como es el Cartigram®. El mapeo del cartílago articular en T2 (Cartigram®) detecta los cambios en el componente de colágeno de la matriz extracelular. La prolongación de los tiempos de relajación del agua T2 traducen aumento en la movilidad de las moléculas de agua del cartílago y por lo tanto ruptura de fibras de colágeno que se interpreta como degeneración del tejido cartilaginoso. En el Mapeo T2 se realiza un post-proceso mediante la herramienta "FuncTool" la cual detecta cambios de contraste en la imagen visibles desde estadios tempranos en la degeneración del cartílago, realizando un mapeo a color de las distintas capas que conforman al cartílago y obteniendo finalmente una

medición cuantitativa de la degeneración del tejido cartilaginoso y del tejido de reparación.¹⁰ En un estudio de Welsch y cols.,¹⁰ el Mapeo T2 por resonancia magnética fue capaz de detectar diferencias en la velocidad del tiempo de relajación del agua entre microfracturas y una técnica de implante de condrocitos en matriz.

Así mismo, se ha desarrollado una escala denominada MOCART, para la evaluación morfológica y cualitativa de las técnicas de reparación condral mediante resonancia magnética nuclear de alta resolución, con una correlación clínica estadísticamente significativa para la mayoría de sus criterios a evaluar.¹¹

En nuestra Institución (Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra) hemos desarrollado diversos proyectos de investigación, para llevar el implante de condrocitos autólogos que ha mostrado según Saris y cols.,⁷ mejores resultados estructurales y morfológicos, del laboratorio al paciente, todo esto justificado por la alta incidencia de lesiones condrales en rodilla en nuestra población joven, que es del 61% en artroscopias de rutina. Los pasos que hemos seguido los enlistamos a continuación como parte de los antecedentes del actual protocolo:

- Trabajo en ciencias básicas: Se logró la formación de tejido similar a cartílago en un proyecto con ratones atímicos.
- Estudios preclínicos: Con el financiamiento de CONACYT, proyecto 01-98, en un modelo porcino se desarrolló una técnica de reparación osteocondral

basada en ingeniería de tejidos, en donde se realizó la fijación por cirugía abierta de un polímero bioabsorbible compuesto en bicapa, con células condrales y células de periostio autólogas cultivadas, logrando la formación de tejido similar a cartílago hialino en algunos de los especímenes.¹² Con el mismo financiamiento de CONACYT, en un modelo equino se desarrolló una técnica de encapsulación celular en matriz para prevenir la pérdida de células al momento de implantar el polímero con células por vía artroscópica y con este nuevo polímero encapsulado con células condrales autólogas se desarrolló la técnica de implante artroscópico del mismo, obteniendo la formación de matriz de colágena y formación de tejido cartilaginoso mixto.⁸

- Unidad de Biotecnología y Terapia Celular del Instituto Nacional de Rehabilitación: Con el financiamiento de CONACYT, proyecto 01-98, de la Fundación Río Arronte y del Instituto Nacional de Rehabilitación, se construyó una Unidad Quirúrgica de Biotecnología (**Fig. 1**), con certificación ISO 9001-2008, ubicada dentro del área blanca de quirófanos de esta Institución, a pocos metros del quirófano donde se realizan los procedimientos de reparación condral. En esta Unidad se realizaron rutinariamente los cultivos celulares de los pacientes sometidos en nuestro Instituto a la técnica de implante de condrocitos.



Fig. 1.- Unidad Quirúrgica de Biotecnología y Terapia Celular, ubicada dentro del área blanca de quirófano.

- Estudio piloto en humanos: Con la aprobación del Comité de Ética y del Comité de Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación, y con el financiamiento de CONACYT, proyecto 01-98, de la Fundación Río Arronte y del Instituto Nacional de Rehabilitación, se realizó un estudio piloto en 10 pacientes con lesiones condrales en sus rodillas, a los cuales se les realizó implante de condrocitos autólogos encapsulados en matriz en forma artroscópica, siendo evaluados pre y postoperatoriamente a los 3, 6 y 12 meses, con escalas subjetivas y objetivas clínicas, estudios de gabinete con resonancia magnética con software especial para cartílago, así como con evaluaciones isocinéticas, demostrando esta técnica ser segura y con resultados favorables en todos los casos, con desaparición o disminución significativa del dolor, mejora funcional significativa, reparación completa de las lesiones condrales evaluado mediante segunda vista artroscópica a los 12 meses, calificando la apariencia artroscópica del tejido de reparación como “cercano a lo normal” en todos los casos por 3 evaluadores independientes según la escala de evaluación macroscópica de la reparación

condral del International Cartilage Repair Society (ICRS), con formación de cartílago con características bioquímicas similar a cartílago hialino evaluado por Mapeo T2 mediante resonancia magnética nuclear, sin la presencia de eventos adversos o complicaciones.¹⁴

- Ensayo clínico controlado aleatorizado: En un estudio financiado por SECITI (Secretaría de Ciencia y Tecnología del D.F) y con el aval del Comité de Ética e Investigación del INR se realizó un ensayo clínico controlado aleatorizado donde se comparó el implante de condrocitos autólogos por vía artroscópico (ICAME, por sus siglas en español) vs la técnica considerada estándar de oro –Microfracturas-. El ICAME demostró en este estudio ser igual de eficaz en cuanto a la evaluación clínica en comparación con la técnica de microfracturas a 1 año de seguimiento. El ICAME obtuvo mejores resultados tanto en evaluación con Mapeo T2 en resonancia magnética nuclear como en Evaluación Macroscópica del Tejido de Reparación del ICRS durante la segunda vista artroscópica, y tuvo un menor porcentaje de falla en comparación con la técnica considerada estándar de oro o Microfracturas, a un año de seguimiento mínimo en el tratamiento de lesiones de cartílago en rodilla de adultos jóvenes.¹³

Justificación:

Las lesiones traumáticas del cartílago articular son muy incapacitantes y predisponen al desarrollo de osteoartritis temprana. La osteoartritis es en la actualidad un creciente problema de salud pública con un elevado costo económico

para el paciente, su familia y con un gran impacto social, especialmente cuando afecta a pacientes en edad productiva. En México, en un estudio que realizamos en el Servicio de Ortopedia del Deporte y Artroscopía del Instituto Nacional de Rehabilitación, encontramos una incidencia de lesiones condrales del 61%, durante 1,309 artroscopías de rodilla consecutivas,¹ que en un 73% eran de grado severo III o IV del ICRS, en una población joven con una edad promedio de 37 años. Lo anterior nos hace esperar, por la ya conocida evolución de las lesiones condrales hacia osteoartritis, que, si no se tratan adecuadamente estas lesiones en ese momento de la cirugía artroscópica en edad joven, en un corto a mediano plazo, tendremos una población de adultos jóvenes con osteoartritis, es decir, rodillas viejas en pacientes jóvenes, aun en edad productiva, que debido a las incapacitantes consecuencias de la osteoartritis será un delicado problema de salud pública. La técnica de reparación condral basado en microfracturas es actualmente la técnica mas utilizada a nivel mundial, por su accesibilidad, bajo costo, reproducibilidad, y resultados clínicos satisfactorios a corto y mediano plazo. En un estudio realizado por nuestro grupo de trabajo evaluamos una cohorte de 39 pacientes tratados con la técnica de microfracturas, con un seguimiento de 3 a 6 años, encontrando de inicio en la evaluación de 3 años, resultados clínicos satisfactorios en cuanto a funcionalidad y disminución del dolor, sin embargo con un mayor seguimiento a partir de los 5 años observamos un deterioro de los resultados clínicos, disminución de la función, aumento del dolor, y malos resultados en la evaluación por resonancia magnética.¹ **(Fig. 2)** Este deterioro clínico de los resultados obtenidos con la técnica de microfracturas con un mayor seguimiento,

puede ser debido a la calidad de tejido de reparación que se obtiene con esta técnica, formado por fibrocartílago, con características inferiores al cartílago hialino.

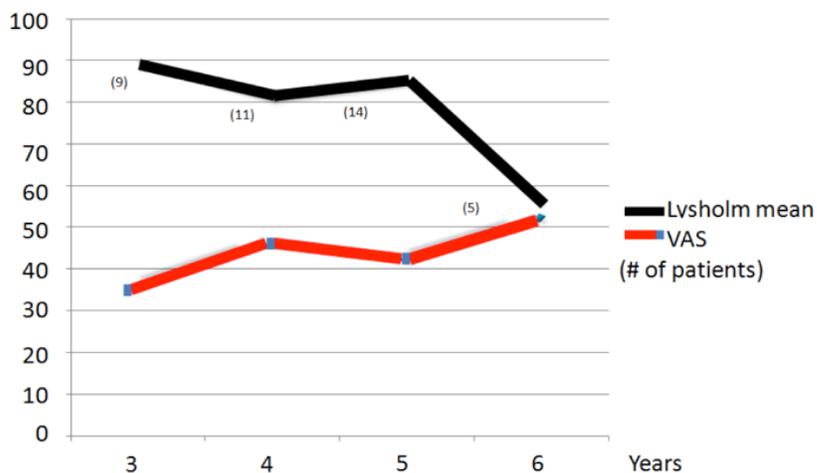


Fig. 2.- Resultados de la evaluación funcional con escala de Lysholm de la técnica de microfracturas con un seguimiento de 1 a 6 años. (Tomado con autorización de Villalobos, Ibarra y cols. AAOS. 2010).

Esto nos hace buscar nuevas técnicas de reparación condral que nos permitan obtener resultados clínicos favorables que se mantengan a través del tiempo, con base en la formación de un tejido de reparación de mejor calidad y composición bioquímica, evaluado por técnicas de Mapeo T2 en resonancia magnética, como puede ser el uso del implante artroscópico de condrocitos autólogos en matriz encapsulados (ICAME, por sus siglas en español), técnica novedosa realizada por este grupo de trabajo que ha logrado en su estudio piloto con 10 pacientes,¹⁴ resultados favorables en cuanto a eficacia clínica, macroscópica y morfológica evaluada por resonancia magnética nuclear con mapeo T2 y además de ser segura, sin ningún evento adverso reportado hasta el momento que se cuenta con 6 años de seguimiento promedio; contamos además con los resultados del ensayo clínico

controlado aleatorizado en donde la técnica de ICAME mostró un mejor tejido de reparación evaluado por Mapeo T2 y segunda vista artroscópica a 1 año de seguimiento, en 20 pacientes por grupo comparado con la técnica de microfracturas.¹³ Consideramos por tanto necesario y de gran utilidad para comprobar la validez externa de esta nueva técnica propuesta –ICAME-, evaluar esta técnica de reparación condral, en un escenario multicéntrico, que nos permita la formación de tejido de reparación de mejores características por imagen en Mapeo T2, con mejoría clínica significativa, para así poderla ofrecer a nuestros pacientes que padezcan estas lesiones en las diversas instituciones de salud de nuestro país, tanto públicas, seguridad social y privadas.

De esta manera, con el desarrollo y traslación de esta técnica a sedes multicéntricas con eficacia y bioseguridad, podremos utilizarla para el beneficio aproximado del 61% de los pacientes que se someten a una artroscopía de rodilla en nuestro País.¹ Además, teniendo validez externa, se podría sugerir la inclusión de esta nueva estrategia de manejo de las lesiones condrales en las guías de práctica clínica de la Secretaría de Salud de nuestro país y disminuir así los gastos incosteables de la osteoartritis en edad adulta en nuestra población. Consideramos que actualmente nuestra tecnología con esta técnica de reparación condral basada en ingeniería de tejidos cuenta ya con un nivel de madurez tecnológica avanzado o “Technology Readiness Level” (TRL): 7.

Hipótesis:

+ El implante de condrocitos autólogos cultivados, por vía artroscópica, será eficaz para formar cartílago articular con una disminución en el tiempo de relajación del agua medida por Mapeo T2 en RMN, con valores cercanos a los de cartílago sano, en pacientes con defectos condrales de rodilla a 1 año de seguimiento mínimo, en un escenario multicéntrico.

+ El implante de condrocitos autólogos por vía artroscópica será eficaz para mejorar la evolución clínica en forma significativa de los pacientes con defectos condrales de rodilla evaluado por Lysholm, Tegner, IKDC S, IKDC 0, y KOOS a 1 año de seguimiento mínimo, en un escenario multicéntrico.

+ El implante de condrocitos autólogos por vía artroscópica será un esquema seguro, (con falla de tratamiento no mayor al 4% - falla reportada previamente para ICAME en estudio de una sola sede) para los pacientes con defectos condrales de rodilla en un escenario multicéntrico, a un año de seguimiento mínimo.

Objetivos:*Objetivo general.*

Evaluar los resultados clínicos y por imagen con Mapeo T2 por resonancia magnética nuclear, de la reparación condral con el uso de técnica de reparación condral consistente en implante artroscópico de condrocitos autólogos en matriz encapsulados (ICAME, por sus siglas en español) realizado en la Unidad de Biotecnología y Terapia Celular del Instituto Nacional de Rehabilitación (I.N.R.) en

pacientes con lesiones condrales localizadas grado IV del ICRS en rodilla, a 1 año de seguimiento, en un escenario multicéntrico.

Objetivos específicos.

1. Captar y diagnosticar pacientes que presenten sintomatología de lesión condral en sus rodillas, que sea confirmada por resonancia magnética nuclear y que ameriten manejo quirúrgico artroscópico, en las diversas sedes hospitalarias participantes.

2. Tratar lesiones condrales en la rodilla de los pacientes que ingresen a este protocolo de estudio, con técnica de reparación condral ICAME, en las diversas sedes hospitalarias que participan en este proyecto.

3. Evaluar clínicamente de manera subjetiva y objetiva a los pacientes sometidos a ICAME, mediante cuestionarios estandarizados.

4. Revisar la evaluación radiográfica e imagenológica con resonancia magnética nuclear de alta definición de los pacientes tratados con ICAME.

5. Analizar los resultados clínicos y por imagen, tanto preoperatoriamente como en su evaluación final a 12 meses.

3) MÉTODOS.

Tipo de diseño:

Estudio piloto para estudio multicéntrico.

Población blanco:

Pacientes de entre 18 y 50 años sin enfermedades concurrentes que presentaron una lesión condral de rodilla asociada o no a la lesión del ligamento cruzado anterior, menisco, o luxaciones recurrentes de patela, de cualquiera de las sedes hospitalarias participantes.

Población elegible:

Pacientes de entre 18 y 50 años sin enfermedades concurrentes que presentaron una lesión condral en rodilla, asociada o no a otra lesión que sea confirmada durante el transoperatorio de artroscopía en cualquiera de las sedes hospitalarias participantes.

Criterios de inclusión:

- Pacientes que aceptaron consentimiento informado por escrito.
- Edad de 18 a 55 años.
- Lesión condral traumática aislada Grado III o IV del ICRS (**Tabla 2**), que les produjera síntomas como: derrame articular, bloqueo y/o dolor.

Grado de lesión	Descripción, según la International Cartilage Repair Society (ICRS)
I	Reblandecimiento y/o fisuras superficiales
II	Espesor parcial <50%
III	Espesor parcial >50%, sin exponer hueso subcondral
IV	Espesor total, que expone hueso subcondral

Tabla 2.- Clasificación de lesiones condrales según el International Cartilage Repair Society (ICRS).

- Lesión condral de 1 a 4 cm² de área.
- Pacientes que aceptaron participar en un protocolo de rehabilitación y programa de seguimiento estricto.
- Pacientes que aceptaron utilizar dosis máximas de paracetamol 1 gr al día y/o antiinflamatorios no esteroideos durante el estudio y que aceptaron discontinuar el medicamento 2 semanas antes de las visitas de la semana 8, y meses 3, 6, 9 y 12.
- Hombres o mujeres.

Criterios de exclusión:

- Cáncer.
- Abuso de alcohol o drogas.
- Osteocondritis disecante: reciente (menos de 1 año del basal); profundidad de la lesión >0.5 cm; esclerosis subcondral.
- Osteoartritis avanzada grado III-IV (Kellgren-Lawrence).
- Alergia a penicilina y/o gentamicina.

- Inestabilidad ligamentaria compleja.
- Candidatos a trasplante de menisco.
- Resección meniscal si: Mayor a 50% de resección de alguno de los 2 meniscos.
- Mala alineación que exceda 10° y que no haya sido corregida mediante osteotomía antes del implante de cartílago.
- Antecedente de mosaicoplastía previa en la misma zona de la rodilla.
- Microfractura reciente (menos a 1 año).
- Si recibió inyecciones articulares de ácido hialurónico en el último año.
- Uso de anticoagulantes de forma crónica.
- Diabetes descontrolada.
- Afección concurrente de columna, cadera o miembros inferiores que interfiera en la evaluación clínica de la rodilla afectada.
- Alteraciones vasculares o neurológica que afecten a miembros inferiores.
- Evidencia de: artritis séptica, enfermedad articular inflamatoria; gota, pseudogota; Paget; ocronosis; acromegalia; hemocromatosis; enfermedad de Wilson; osteocondromatosis primaria; alteraciones de la colágena.
- Diagnóstico de osteomielitis.

Criterios de eliminación.

- Pacientes en quienes no se pudo realizar la maniobra (por ej: falta de crecimiento celular durante la fase de cultivo de la técnica de implante de condrocitos)

- Pacientes con falta de apego al tratamiento, que no completaron al menos el 80% de las terapias del plan de rehabilitación y fortalecimiento muscular.

Cálculo del tamaño de la muestra.

Por conveniencia. Se incluyeron todos los pacientes que cumplieron los criterios de inclusión y aceptaron bajo consentimiento informado participar en este proyecto de investigación durante los 3 años de duración o hasta completar 30 pacientes incluidos. La cantidad de pacientes aceptados en este proyecto de investigación estuvo en relación con el financiamiento que se obtuvo para su realización y tiempo para realizarlo ante CONACYT.

Definición de las variables.

a) Variables independientes:

- Género (Cualitativa dicotómica).
- Edad (Cuantitativa continua).
- Tamaño de la lesión en cm² (Cuantitativa continua).
- Localización de la lesión (Cualitativa nominal).
- Edad de la lesión (Cuantitativa continua).
- Índice de masa corporal (Cuantitativa continua).
- Grado de lesión condral según el ICRS (Cualitativa ordinal).
- Lesiones asociadas (Cualitativa nominal).

b) Variables dependientes:

b.1) Variable de desenlace principal:

- Evaluación imagenológica del tejido de reparación por Mapeo T2 de resonancia magnética. (Cuantitativa continua)

b.2) Variables de evaluación clínica:

- Escala de percepción clínica de rodilla de Lysholm (Cuantitativa continua).
- Escala de actividad física deportiva de Tegner (Cuantitativa continua).
- Escala subjetiva de función de rodilla de la International Knee Documenting Committee (IKDC subjetivo) (Cuantitativa continua).
- Escala objetiva de función de la rodilla de International Knee Documenting Committee (IKDC objetivo)(Cualitativa ordinal).
- Escala de evaluación clínica de la rodilla Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) (Cuantitativa continua).

b.3) Variables de eventos adversos leves o moderados:

- Artralgia (Cualitativa dicotómica)
- Hipertrofia de cartílago (Cualitativa dicotómica)
- Crepitación articular (Cualitativa dicotómica)
- Inflamación articular (Cualitativa dicotómica)
- Derrame articular (Cualitativa dicotómica)
- Sinovitis (Cualitativa dicotómica)

b.4) Variables de eventos adversos graves:

- Pérdida del implante o del tejido de reparación diagnosticada por resonancia magnética nuclear y/o segunda vista artroscópica durante la fase de seguimiento (Cualitativa dicotómica)

Descripción de la intervención.

Este estudio involucró al menos 2 centros hospitalarios, públicos y/o privados, donde se realizaron las cirugías del protocolo. El estudio contó con la aprobación del Comité de Bioseguridad y el Comité de Investigación del I.N.R.L.G.I.I., con número de registro 67/17. Se contó además con una Carta de Apoyo Institucional para colaboración en el presente estudio multicéntrico, firmada por la Dirección de Educación e Investigación en Salud de la UMAE DE TRAUMATOLOGIA, ORTOPEDIA Y REHABILITACION “DR. VICTORIO DE LA FUENTE NARVAEZ”, IMSS. Se incluyeron pacientes de cada una de las sedes hospitalarias participantes, incluido el hospital sede, INRLGII, hasta completar el tamaño de muestra.

Después de la captación de los pacientes, todos los pacientes fueron sometidos a una artroscopía, durante la cual fue inspeccionada la rodilla y lesión condral. Para la técnica de ICAME, los cirujanos participantes y el equipo quirúrgico de trabajo fueron entrenados ampliamente para la estandarización de los procedimientos.

a) Técnica de Implante Artroscópico de Condrocitos Autólogos en Matriz Encapsulados (ICAME).

Se realizó la técnica de implante como lo describe Ibarra y cols. en su reporte preliminar de estudio piloto.¹⁴

a.1) Técnica de toma de biopsia (1er tiempo quirúrgico).

Para la técnica de ICAME, durante un primer tiempo quirúrgico, se trataron todas las lesiones asociadas como son lesiones meniscales, ligamentarias o de mala

alineación, también las biopsias de cartílago fueron tomadas durante esta primera artroscopía de la zona de la escotadura de la rodilla afectada, tomando 3 taquetes osteocondrales de 4 mm con el dispositivo COR (Depuy&Mitek), de la cual se procesó solo la parte cartilaginosa. La muestra fue enviada por transporte terrestre expedito a la Unidad Quirúrgica de Biotecnología del Instituto Nacional de Rehabilitación. Personal capacitado por parte del laboratorio del INRLGII fueron los encargados del traslado de la biopsia de la unidad hospitalaria participante hacia el laboratorio de cultivo celular del INRLGII, en adecuadas y ya estandarizadas condiciones de bioseguridad.

a.2) Técnica de aislamiento, cultivo celular y control de bioseguridad.

Se tomaron 3-4 fragmentos osteocondrales de 4mm durante una primera cirugía, las muestras fueron colocadas en tubos de transporte con medio estéril previamente preparado con DMEM/F12 (Gibco) suplementado antibiótico-antimicótico (Gibco) al 10%, luego fueron transportadas dentro de contenedores a una temperatura entre 4-10 °C la cual fue registrada con termómetro digitales, y así fueron llevadas al Laboratorio de Biotecnología en el Centro Nacional de Investigación y Atención a Quemados del Instituto Nacional de Rehabilitación. En el Laboratorio de Cartílago de Biotecnología, clase 100 y con Buenas Practicas de Manufactura (GMP) la muestra fue procesada para un aislamiento celular de los condrocitos, para lo cual se hicieron dos lavados con Antibiótico- Antimicótico al 10%, se separó el cartílago del hueso subcondral, el cartílago fue fragmentado lo mas finamente posible y la muestra fue sometida a una digestión mecánico-enzimática, agitando a 170 r.p.m. a 37°C con colagenasa tipo II al 0.3% para la obtención de condrocitos. Las células

aisladas fueron contadas y evaluada su viabilidad en cámara Nuebauer y la tinción de exclusión con azul alciano. Las células aisladas fueron sembradas a una densidad celular de 10,000 células por cm^2 y fueron cultivadas en DMEM/F12 suplementado con suero autólogo al 10% y antibiótico antimicótico al 1% incubadas a 37°C , 5% de CO_2 y humedad relativa de 80%. El medio de cultivo fue remplazado cada tercer día, las células fueron expandidas hasta segundo pase y sembradas a una densidad de 20,000 células por cm^2 , en el cual se añadió al medio de cultivo 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de ácido ascórbico, en el segundo pase se mantuvieron en cultivo celular hasta formar una monocapa, las células fueron luego desprendidas de la caja de cultivo, sembradas sobre un andamio de ácido poliglicólico de 8 mm de diámetro y encapsuladas en otra monocapa celular para la formación del implante o constructo. El constructo se mantuvo en cultivo 5-7 días más en DMEM/F12 suplementado con suero autólogo al 10%, 50 $\mu\text{g}/\text{mL}$ de ácido ascórbico, antibiótico y antimicótico al 1% a 37°C , 5% de CO_2 y humedad relativa de 80%. El constructo fue finalmente colocado en un tubo doble de envío de muestra con medio de cultivo y dentro de un contenedor a una temperatura entre $20\text{-}25^\circ\text{C}$ para su trasportación al quirófano del centro hospitalario correspondiente.

Con relación al control de calidad y bioseguridad, durante el desarrollo del cultivo se tomaron micrografías para determinar cambios morfológicos y crecimiento celular en un microscopio invertido de campo claro con contraste de fase Axio observer (Zeiss). Durante el desarrollo del cultivo celular se obtuvieron sobrenadantes de los cultivos de las diferentes etapas o pase (cultivo primario, primer pase, segundo pase, cultivo del constructo y medio de envío de constructo)

los cuales fueron enviados al Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición para análisis bacteriológico (Bacterias Gram positivas/ Gram Negativas, hongos o levaduras).

Como control de calidad para garantizar la viabilidad del constructo implantado, se utilizó el kit de ensayo de viabilidad / citotoxicidad LIVE / DEAD® en constructos que sobraron y que no fueron implantados. Este kit determinó la viabilidad de células por dos sondas fluorescentes (calceína-verde y homodímero de etídio-rojo) identificando células vivas y muertas simultáneamente. Se preparó un 1 ml de solución de tinción con la solución salina balanceada de Hanks (HBSS) con 1 μ L de calceína y 0.5 μ L de EthD-1 se resuspendió la solución y se incubó durante 10 minutos a 37°C. En campana de flujo laminar se cortó un fragmento del constructo sobrante, se lavó dos veces con amortiguador de fosfatos pH 7.4 (PBS), el fragmento del constructo fue colocado en la solución de tinción previamente preparada. Se incubó durante 45 minutos a 37°C, transcurrido el tiempo se retiró la solución de tinción, se lavó la muestra con PBS dos veces. Se realizó la obtención de imágenes con un microscopio de fluorescencia confocal LSM 780 (Carl Zeiss). Las células vivas se distinguieron por la presencia de la actividad enzimática de la esterasa intracelular, determinada por la conversión enzimática de la calceína AM virtualmente no fluorescente y permeable a la célula, a la calceína intensamente fluorescente (ex / em ~ 495 nm / ~ 515 nm). El EthD-1 entra en las células con membranas dañadas y experimenta un aumento de 40 veces de la fluorescencia tras la unión a los ácidos nucleicos, produciendo de este modo una fluorescencia roja brillante en células muertas (ex / em ~ 495 nm / ~ 635 nm). El EthD-1 es excluido

por la membrana plasmática intacta de células vivas. Se tomaron fotomicrografías a diferentes aumentos, posteriormente se hizo un cuantificación del porcentaje de viabilidad mediante el software ImajeJ.

Todos los parámetros de bioseguridad para el aislamiento y cultivo celular en el laboratorio, así como para el traslado de la biopsia de cartílago del hospital hacia el laboratorio del INRLGII, y el traslado del constructo con células cultivadas del laboratorio del INRLGII hacia el hospital fueron documentados.

a.3) Técnica de implante artroscópico de condrocitos autólogos (2º tiempo quirúrgico).

De 6-8 semanas después, tiempo requerido para el cultivo celular, se llevó a cabo el 2º tiempo quirúrgico de la técnica de ICAME, en cada una de las sedes hospitalarias participantes. El constructo fue enviado el mismo día de la cirugía en condiciones estériles y dentro de una hielera con personal del INR. Bajo las mismas condiciones de anestesia y quirúrgicas descritas para la toma de la biopsia de cartílago se colocaron a los pacientes el implante o constructo (matriz y células autólogas).

a.3.1) *Lesiones condrales localizadas en zona de carga de cóndilos o tróclea femorales:* La lesión condral fue debridada hasta que se observó la vecindad de cartílago normal, es decir una lesión contenida 360º con el uso de cucharillas artroscópicas o legras rectas y anguladas. Se colocó en el centro del defecto un ancla bioabsorbible de 1.7mm (Minilock, Depuy-Mitek ®) hasta hueso subcondral,

con sutura PDS, verificando su estabilidad, y con ayuda de una cánula transparente de 10mm (Smith&Nephew ®) el implante fue deslizado y fijado en el defecto condral con nudo deslizante auto-bloqueante, verificando la estabilidad del implante bajo movilidad de la rodilla, para posteriormente suturar la piel y dar por finalizado el acto quirúrgico (**Fig. 3**).

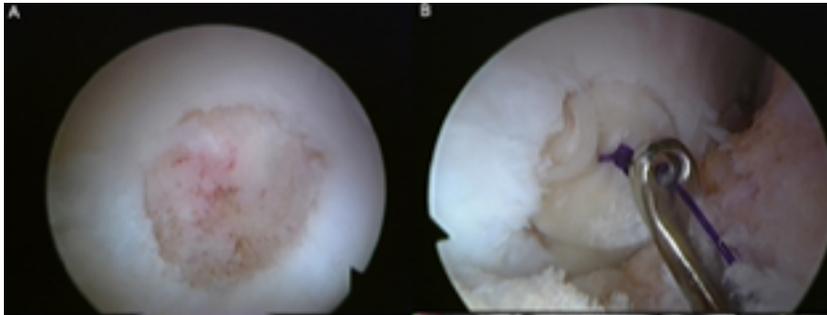


Fig. 3.- Técnica artroscópica del ICAME en cóndilos femorales.

a.3.2) *Lesiones condrales localizadas en patela:* Se siguieron los siguientes pasos. -

1. Debridamiento de las lesiones condrales en patela, dándoles una forma circular de aproximadamente 8 mm de diámetro, con el uso de legra o cucharilla angulada artroscópica, introducidas a través de cualquiera de los 3 portales de trabajo sugeridos: anteromedial, anterolateral, superolateral. En el caso de lesiones patelares ubicadas en la faceta medial, en algunos casos fue necesario la realización de un cuarto portal, localizado a nivel superomedial, que permitió un ataque directo a la lesión para su debridamiento e implante.
2. Con el uso de una guía de túnel tibial para reconstrucción de ligamento cruzado anterior (ACL guide, Mitek, Depuy), usada en forma inversa, con 55°

de angulación, se colocó el punto de salida de la guía a nivel intraarticular, en uno de los extremos de la lesión condral, y se colocó la parte externa de dicha guía, a nivel extraarticular, sobre la piel de la superficie anterior de la patela, se realizó entonces un miniabordaje de 2 cm de longitud sobre la patela, y se perforó con un clavo de Steinmann de 2mm, de afuera hacia adentro de la articulación, bajo control artroscópico, hasta lograr visualizar la salida de dicho clavo en uno de los extremos de la lesión condral. De manera similar se repitieron los pasos, realizándose una segunda perforación en el otro extremo de la lesión. Se pasaron 2 alambres para cachar sutura tipo “Chía” (Smith & Nephew) de afuera hacia adentro a través de los orificios realizados en patela, los cuales fueron recuperados dentro de la articulación, y extraídos parcialmente hacia alguno de los portales libres que se encontraran mas cercanos a la lesión.

3. Al mismo tiempo un 2º ayudante, llevó a cabo el montaje del polímero con células, de forma circular con 8mm de diámetro, con 1 sutura PDS, utilizando 2 agujas (16G) que atravesaron el polímero y permitieron que la sutura también lo pudiera atravesar en 2 de sus extremos.
4. Paso siguiente se le montaron los cabos de esta sutura PDS del 0 que tenía el polímero ya cargado, al “loop” de cada alambre “Chía”. Las suturas fueron recuperadas, jalando los alambres “Chía” desde la parte anterior de la patela a nivel extra-articular, y de esa manera fue introducido el polímero que estaba sujeto a la sutura PDS hacia la articulación, a través de una cánula

transparente de 10mm de diámetro, sin interrumpir el flujo de agua de la artroscopía, solo disminuyéndolo a la presión de la gravedad. El polímero fue colocado así firmemente en el fondo del defecto condral.

5. Con los extremos recuperados de la sutura de PDS que introdujo al polímero a la articulación, se realizó un nudo que se dejó a nivel extraarticular sobre la superficie anterior de la cortical de la patela, fijando así de manera definitiva el polímero hacia el defecto condral. Este procedimiento se realizó cuantas veces fue necesario para cubrir una o mas lesiones de 8mm de diámetro de la superficie articular de la patela.

6. Finalmente, se verificó la estabilidad del implante mediante palpación y en forma dinámica con flexo-extensión de la rodilla, bajo visión artroscópica, identificando los sitios de presión del polímero según el grado de flexión de la rodilla, y se tomó esto en cuenta durante el protocolo de rehabilitación subsecuente. **(Fig. 4)**

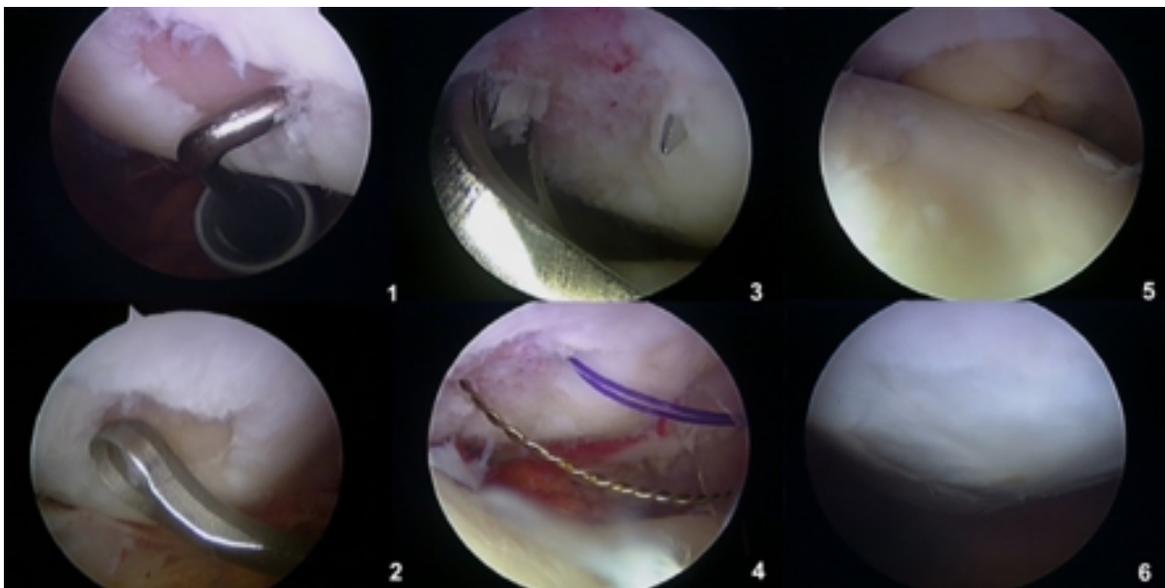


Fig. 4.- Técnica artroscópica del ICAME en patela.

Los cuidados postoperatorios inmediatos independientemente de la localización de la lesión fueron crioterapia, terapia analgésica, antiinflamatoria y antibioticoterapia profiláctica durante su hospitalización.

b) Protocolo de Rehabilitación.

b.1) Rehabilitación postoperatoria después de la toma de la biopsia para cultivo celular e implante de condrocitos (1er tiempo quirúrgico).

Posterior a la cirugía se utilizó crioterapia, movilizaciones poliarticulares, con énfasis en la extremidad lesionada, fortalecimiento muscular por isométricos, ejercicios funcionales en colchón, reeducación de la marcha frente al espejo, fortalecimiento muscular con isotónicos, de cadena cerrada, por medio de bicicleta estacionaria, mini sentadillas, kinetron, escaladora y caminadora al 60% de frecuencia cardiaca máxima (FCM), manejo de propiocepción y balancín, terminando con estiramientos

musculares. Sí además de la plastía de ligamento cruzado anterior (LCA), se realizaron otras cirugías concomitantes, se realizó entonces lo siguiente: Reconstrucción de LCA más reparación menisco: durante 6 semanas no se permitieron ejercicios de flexión de rodilla más de 90 grados. No se permitió apoyo durante 3 semanas y luego el apoyo fue parcial e incrementándose progresivamente hasta ser apoyo total . También en estos casos se usó rodillera mecánica bloqueada de 0 a 90 grados durante 3 semanas a partir del día de la cirugía.

b.2) Rehabilitación posterior al implante de condrocitos (2º. tiempo quirúrgico).

Después de la cirugía, los pacientes fueron enrolados en un programa de rehabilitación. El programa estuvo basado en las fases de cicatrización del injerto o coágulo, contando con las sigs. fases:

- Fase 0. Intrahospitalaria: control de dolor, inflamación, crioterapia, movilidad pasiva continua de 0 a 60°.
- Fase 1. Protección temprana. (sem. 0-8): No apoyo, uso de movilizador pasivo continuo de rodilla en forma progresiva de 0 a 120° de la semana 0 a 6, por 6 horas diarias, en forma intermitente. Se colocó en todos los casos rodillera mecánica bloqueada en forma progresiva de 0 a 120° de la semana 0 a 6. (**Fig. 5, Tabla 3**)

- Fase 2. Fase de Transición (sem. 8 a 16): Reeducación de la marcha y recuperación de arco de movilidad.
- Fase 3. Remodelación. (sem. 16-x). Programa de fortalecimiento muscular de flexores y extensores de rodilla, con evaluaciones isocinéticas periódicas. Reincorporación a las actividades de la vida diaria, incluidas las actividades laborales y deportivas.

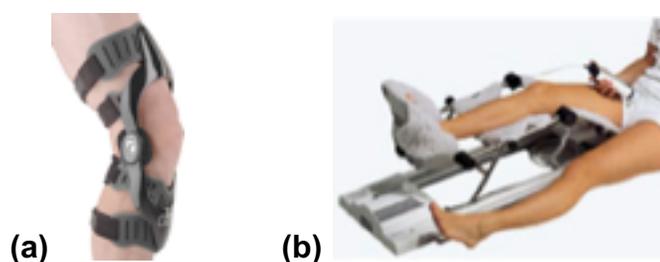


Fig. 5.- Rodillera mecánica bloqueada (a) y Movilizador Pasivo Continuo de rodilla (b) durante la Fase 1 del protocolo de rehabilitación.

1ª Semana después de su cirugía:	70° de “tope” o flexión
2ª Semana:	80°
3ª Semana:	90°
4ª Semana:	100°
5ª Semana:	110°
6ª a 8ª Semana:	120°

Tabla 3.- Protocolo de movilidad de rodilla permitida por semana durante Fase 1 de rehabilitación.

Descripción del seguimiento de los pacientes.

Todos los pacientes involucrados en este protocolo estuvieron a cargo del médico adscrito o cirujano de la sede hospitalaria en donde fue operado, con el objetivo de

darles seguimiento en el postoperatorio, con revisiones en consulta externa, a las 1,2,4,8 y 12 semanas, así como a los 4, 6, 9, 12 y 24 meses del postoperatorio. Durante estas revisiones se documentó en el expediente clínico, en forma detallada la evolución de cada paciente, haciendo especial énfasis en documentar y reportar al Comité de Investigación de este hospital y al Dr. Enrique Villalobos, Responsable Técnico de este proyecto de investigación de manera inmediata cualquier evento adverso que se pudiera haber presentado en los pacientes de este protocolo.

Además de esta atención asistencial que recibieron los pacientes durante todo el tiempo de recuperación, por parte de sus médicos tratantes e Investigadores del proyecto, se realizaron evaluaciones para el protocolo de la sig. manera:

a) Evaluaciones clínicas: Evaluadores independientes, médicos ortopedistas con posgrado en artroscopía y lesiones deportivas del INRLGII, fueron los responsables de todas las evaluaciones, mediante cuestionarios validados del (IKDC) subjetivo y objetivo, escala funcional de rodilla de Lysholm, evaluación del nivel de actividad de Tegner, (KOOS), tanto preoperatoriamente como a los 6, 12, 24 y 36 meses posterior a la cirugía de implante de cartílago.

b) Evaluación imagenológica por resonancia magnética nuclear: Se evaluó la zona de reparación del defecto en la rodilla de los pacientes tratados con ambas técnicas de reparación condral, tanto preoperatoria como postoperatoriamente a los 6, 12, 24 y 36 meses, todo esto en el resonador ubicado en el Servicio de Resonancia Magnética Nuclear del INRLGII, donde contamos con un resonador de 1.5 teslas

con secuencias previamente estandarizadas para visualización de cartílago, así como evaluación cuantitativa del tiempo de relajación del agua en el sitio del tejido de neoformación mediante el uso de técnicas de evaluación con Mapeo T2 con el software Cartigramm™, por parte de 1 evaluador cegado, especialista en la materia, quien realizó una medición del tiempo de relajación del agua en 6 diferentes regiones de interés (ROI, por sus siglas en inglés) que fueron establecidas de la siguiente manera: **(Fig. 6)**.

- ROI 1 (capa profunda del cartílago control). Con área de 1 mm², abarcando la capa más profunda del cartílago donde se encontrara el menor tiempo de relajación en T2 en zona de carga del cóndilo femoral lesionado y lo más próximo posible a la zona de lesión condral estudiada.
- ROI 2 (capa superficial del cartílago control). Con área de 1 mm², abarcando la zona superficial del cartílago donde se encontrara el menor tiempo de relajación en T2 y adyacente simétricamente a la caja 1.
- ROI 3 (promedio del espesor total del cartílago control). Con área de 2 mm², abarcando la zona intermedia entre las cajas 1 y 2, sin importar que se invadieran éstas debido a que el valor obtenido fue una media de la zona control.

- ROI 4 (capa profunda de la zona condral reparada). Con área de 1 mm², abarcando la región profunda del implante colocado, alineándose siempre con el centro del túnel óseo marcado por la colocación del mini-ancla bioabsorbible.
- ROI 5 (capa superficial de la zona condral reparada). Con área de 1 mm², abarcando la región superficial del implante colocado y adyacente simétricamente a la caja 4.
- ROI 6 (promedio del espesor total de la zona condral reparada). Con área de 2 mm², abarcando la zona intermedia entre las cajas 4 y 5, sin importar que se invadieran éstas debido a que el valor obtenido es una media de la zona reparada.

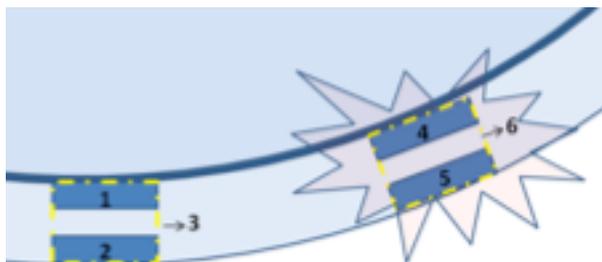


Fig. 6.- Diagrama de la determinación topográfica de las -6- áreas de medición (ROI) en el espesor total del cartílago mediante resonancia magnética con mapeo en T2. La línea amarilla punteada corresponde a las ROI 3 y 6 respectivamente. La zona estrellada representa el sitio reparado mediante ICAME.

Manejo de eventos adversos.

En caso de eventos adversos relacionados al tratamiento durante la fase de seguimiento, se estableció dar aviso al Comité de Investigación y Bioseguridad del

Hospital INRLGII, así como a las autoridades competentes de CONACYT, y se estableció que los pacientes serían manejados de la siguiente manera:

+ Evento adverso leve o moderado: Se manejarían sintomáticamente con uso de analgésicos, antiinflamatorios y terapia física coadyuvante por parte del Servicio de Rehabilitación del Deporte del INRLGII. Su seguimiento y análisis se completaría conforme a lo planeado, documentando y reportando solamente la presencia de dicho evento y su tiempo y manejo para su resolución.

+ Evento adverso grave: Se realizaría si fuera necesario cirugía mediante segunda vista artroscópica en el INRLGII, para realizar desbridamiento y extracción de posibles cuerpos libres de tejido de reparación condral, y se procedería a tratar la lesión con la técnica considerada estándar de oro, que es la de microfracturas. Hasta ese momento llegaría la evaluación y análisis de estos pacientes. Sin embargo, el seguimiento clínico para el paciente, por parte del equipo médico, se planeó continuar sin costo para el paciente, hasta lograr su mejoría.

Análisis estadístico.

Se realizó por el principio de intención a tratar. Se realizaron análisis de seguridad en todos los pacientes que recibieron tratamiento de ICAME. Se realizó el análisis de eficacia en todos los pacientes que no fueron excluidos antes del tratamiento quirúrgico definitivo.

Se realizó un análisis univariado por medio de pruebas de tendencia central para conocer las características de la muestra estudiada, y para establecer el tipo de distribución de cada variable; tratándose de variables numéricas continuas con tendencia a distribución normal se realizó el cálculo de la media y desviación estándar; la comparación pre y postoperatoria se realizó mediante pruebas de t de Student o U de Mann-Whitney al año de seguimiento. Se consideró una diferencia estadísticamente significativa, si $p < 0,05$. Se utilizó el programa estadístico IBM SPSS Statistics 23.0.

4) RESULTADOS.

Viabilidad, Densidad Celular y Parámetros de Bioseguridad.

El promedio de la cuenta celular medido con azul de tripano al empezar el cultivo primario fue de 230,000 células, al empezar el primer pase fue de 8.8 millones de células, y al empezar el segundo pase fue de 18.4 millones de células con una viabilidad mayor al 90%. En 6 pacientes sobraron constructos en la cirugía de implante y estos constructos fueron regresados al laboratorio y se les realizó evaluación de viabilidad celular después de 24 horas con el kit LIVE/DEAD, y se obtuvo un promedio de viabilidad de $87.28\% \pm 11\%$. Los constructos que sobraron de 1 paciente fueron también evaluados a las 48 y 72 horas, encontrando una viabilidad del $75\% \pm 17.1\%$ y del $60\% \pm 8\%$, respectivamente. Los constructos sobrantes o su medio de cultivo fueron también cultivados y analizados para descartar contaminación bacteriana a las 48 horas de haber salido del laboratorio para la cirugía de implante, sin encontrar datos positivos de contaminación.

Todos los parámetros de bioseguridad documentados desde la solicitud del kit de biopsia para cartilago, el transporte de la muestra o el constructo entre el laboratorio-hospital-laboratorio, se encuentran reportados en la **Tabla 4**.

Actividad	Tiempo	Temperatura (°C)	Humedad (%)	# de células / Viabilidad celular	Evaluación
Solicitud de kit de biopsia	>72 horas antes de la cirugía de biopsia	---	---	---	Tinción de Gram y cultivo
Transporte del kit de biopsia laboratorio → hospital	<72 horas	5-10	---	---	---
Transporte de la biopsia hospital → laboratorio	<6 horas	5.5 ± 2.2	75.8 ± 7.6	---	---
Almacenamiento de la biopsia	<12 horas	4	71.9 ± 3.4	---	Serología al suero del donador: hepatitis, VIH, sífilis
Cultivo celular y expansión	6-8 semanas	37	80	CP: 230,000 células 1er pase: 8.8 millones de células 2º pase: 18.4 millones de células >90% viabilidad	Bacteria, hongos y mycoplasma
Transporte del constructo laboratorio → hospital	<6 horas	19 ± 4.7	50.1 ± 15.5	No evaluado en este momento	---
Análisis de remanentes del constructo*	A. 24 horas B. 48 horas C. 72 horas	ambiente	ambiente	A. 87.28% ± 11% B. 75% ± 17.1% C. 60% ± 8%	Bacteria

Tabla 4.- Parámetros Mínimos de Bioseguridad (MBP) recomendados para el implante de condrocitos autólogos encapsulados en matriz (AMECI) por vía artroscópica, en un escenario multicéntrico. °C= grados centígrados; VIH= virus de inmunodeficiencia humana; CP= cultivo primario. *Basados en un estudio in vitro, tomando en cuenta las horas a partir de que el constructo salió del laboratorio hacia el hospital para su implantación.

Datos de los Pacientes y Características Basales.

Se incluyeron 30 pacientes en este estudio, de 7 diferentes hospitales ubicados en la Ciudad de México y área metropolitana. De los 30 pacientes, hubo 1 pérdida en el seguimiento de un paciente. Se reportan 35 lesiones condrales encontradas y tratadas en 29 pacientes con un seguimiento promedio de 37 meses (12-72 meses). Las características demográficas de la población se muestran en la **Tabla**

5.

Características de la población		
Característica	N=29	Lesiones= 35
Sexo, n (%)		
Femenino		12 (41.4)
Masculino		17 (58.6)
Edad, años		
Promedio		34.5 ± 9.3
IMC kg/m ²		
Promedio		24.5 ± 2.9
Lesión condral		
Tamaño del defecto en cm ²		
	Promedio	1.9 ± 1.6
Clasificación ICRS, n (%)		
	III	5 (14.3)
	IV	30 (85.7)
Localización, n (%)		
	cóndilo femoral medial	8 (22.9)
	cóndilo femoral lateral	7 (20.0)
	troclea	9 (25.7)
	patela	11 (31.4)
Lesiones únicas, n (%)		24 (82.7)
Cirugía concomitante, n (%)		18 (62.1)
LCA		4 (13.8)
Meniscectomía medial		1 (3.4)
Meniscectomía lateral		2 (6.9)
Reparación menisco medial		2 (6.9)
Reparación menisco lateral		2 (6.9)
Osteotomía de Fulkerson		2 (6.9)
Liberación de retináculo lateral		4 (12.8)
Ninguna		11 (37.9)

Tabla 5.- Características demográficas de la población. IMC= índice de masa corporal; kg= kilogramos; m=metros; cm= centímetros; ICRS= International Cartilage Repair Society; LCA= ligamento cruzado anterior.

Resultados Clínicos.

Hubo una mejoría estadísticamente significativa en todos los pacientes al comparar los resultados preoperatorios con los resultados del seguimiento final (**Fig. 7**), con una mejoría promedio de 25.6 puntos en la escala de Lysholm, 2.7 puntos en la escala de Tegner, 20.7 puntos en la escala del IKDC(subjetivo), 20.4 puntos en la escala de Kujala, 33.4 puntos en la subescala de KOOS-SR (deporte y recreación), 35.1 puntos en la subescala de KOOS-QoL (calidad de vida), 25.8 puntos en la subescala de KOOS-P (dolor), 17.4 puntos en la subescala de KOOS-S (síntomas), y 23.9 puntos en la escala de KOOS-ADL (actividades de la vida diaria).

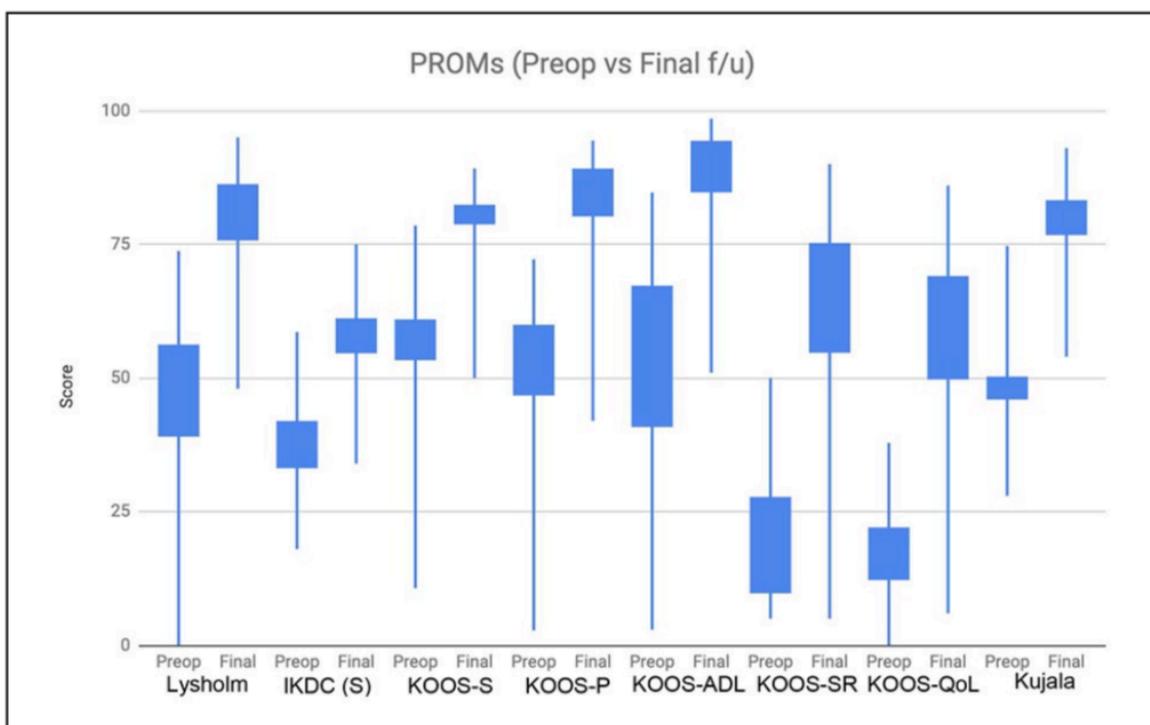


Fig. 7.- Escalas clínicas (preoperatorio vs seguimiento final). IKDC = International Knee Documentation Committee; KOOS = Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score; QoL = quality of life; preop= preoperatorio; final follow up = 37 meses (12-72 meses). Los valores de P en todas las comparaciones entre valores preoperatorios vs finales fueron <0.05.

Evaluación por Resonancia Magnética Nuclear.

Se realizó evaluación cuantitativa con Mapeo T2 en resonancia magnética nuclear (RMN), así como con la escala de “Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue” o MOCART por sus siglas en inglés, con sus resultados en **Tabla 6**. La región de interés (ROI, por sus siglas en inglés) del tejido de reparación mostró un decremento estadísticamente significativo en el tiempo de relajación del agua, de 61.2 milisegundos (ms) \pm 14.3ms em el preoperatorio a 42.9 ms \pm 7.2 ms en el seguimiento final ($p < 0.05$). La región de interés (ROI) del tejido de cartílago nativo no tuvo cambios significativos en sus valores entre el preoperatorio y el seguimiento final ($P = 0.755$). Los valores en la escala de MOCART aumentaron de 45.5 \pm 15.7 puntos a los 3 meses de postoperatorio, a 70.14 \pm 12.6 puntos al seguimiento final, con un valor significativo para P ($P < 0.05$). En mas del 60% de las lesiones reparadas se encontró el defecto de cartílago completamente rellenado, y se encontró una integración completa del tejido reparado al cartílago adyacente con una interface < 2 mm en el 88% de los casos.

Evaluación por RMN	Preoperatorio	Postoperatorio 12 meses	Seguimiento final	P (preoperatorio vs final)
Valores de Mapeo T2 en ROI de cartílago nativo	40.8 \pm 6.1	40.4 \pm 6.5	40.7 \pm 7.1	0.755
Valores de Mapeo T2 en ROI de tejido de reparación	61.2 \pm 14.3	43.5 \pm 6.4	42.9 \pm 7.2	0.000
MOCART	45.4 \pm 15.7*	59.1 \pm 21	70.14 \pm 12.6	0.000

Tabla 6.- Mapeo T2 y Evaluación de MOCART en resonancia magnética nuclear. RMN= resonancia magnética nuclear; ROI= región de interés; MOCART= Magnetic resonance observation of cartilage repair tissue. *postoperatorio de 3 meses.

Evaluación por segunda vista artroscópica.

Doce pacientes aceptaron una segunda vista a los 12 y 18 meses de postoperatorio. De los 12 pacientes, 10 (83%) tuvieron una reparación de cartílago calificada como grado II o “casi normal”, con un promedio de 8.7 ± 1.9 puntos en la Escala de Evaluación Macroscópica del International Cartilage Repair Society (ICRS, por sus siglas en inglés) (**Fig. 8**).^{15,16}

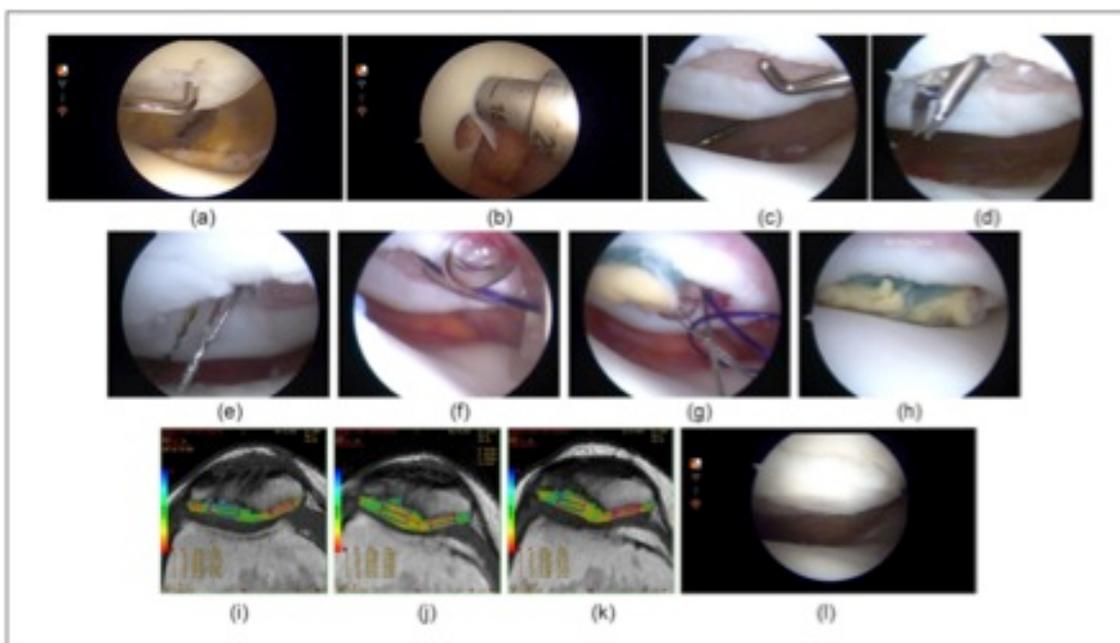


Fig. 8.- Técnica quirúrgica para el implante de condrocitos autólogos encapsulados en matriz (ICAME), resultados de Mapeo T2 y segunda vista. Cirugía de Biopsia: (a) Lesión condral en patela; (b) toma de biopsia osteocondral de 4mm de diámetro, en la escotadura; (c) posterior a desbridamiento se observa una lesión condral grado IV del ICRS, de 2cm². Implante artroscópico de AMECI en patela: (d) “Retro-drilling” patelar con 2 clavos de Steinmann, (e) se pasan 2 alambres recuperadores de suturas a través de los túneles en la patela, (f) se recuperan ambos alambres a través de una cánula; afuera de la rodilla, los cabos de la sutura PDS (polydioxanone) que fueron pasadas a través del constructo se montan en el alambre recuperador de sutura, (g) el primer constructo es implantado y se repiten los mismos pasos para el siguiente constructo, (h) implante final de 2 constructos en la patela y se realiza verificación dinámica de la estabilidad del constructo. Evaluación: Evaluación con Mapeo T2 en RMN a los (i) 3 meses, (j) 9 meses, y (k) 18 meses. (l) Evaluación por segunda vista artroscópica a los 18 meses.

Fallas.

Hubo 2 fallas en pacientes operados en la sede del Instituto Nacional de Rehabilitación LGII: una en un paciente con una lesión patelar que requirió reoperación para debridamiento del injerto, condroplastía y liberación de retináculo lateral, lo cual se realizó a los 18 meses del implante; otro paciente con falla tenía una lesión condral en el cóndilo femoral lateral además de un alineación marginal en valgo que no fue corregida y requirió una reoperación después de 72 meses de haber sido implantada, realizándosele condroplastía y subsecuentemente manejo multimodal no quirúrgico para su rodilla. No hubo en esta serie ninguna infección, ni neoplasias o pacientes que requirieran reemplazo total de rodilla hasta el último seguimiento. Todos los pacientes, incluyendo a los 2 pacientes con fallas, fueron incluidos en el análisis final.

5) DISCUSIÓN.

En este trabajo se reportan 30 pacientes (35 lesiones de cartílago) que fueron tratados con la técnica de reparación condral llamada “Arthroscopic Matrix Encapsulated Chondrocyte Implantation” (AMECI, por sus siglas en inglés), para el tratamiento de lesiones focales de cartílago en su rodilla. Todos los pacientes tratados mostraron una mejoría estadísticamente significativa en todas las escalas clínicas, así como en la evaluación por resonancia magnética nuclear con Mapeo T2 y en los resultados de la evaluación con la escala de MOCART en el seguimiento final (promedio de 37 meses; rango de 12-72 meses). La evaluación por segunda vista artroscópica fue considerada “casi normal” por la escala de evaluación macroscópica del ICRS en 10 de los 12 pacientes que aceptaron la intervención. Los valores en las zonas o región de interés del tejido de reparación de cartílago en Mapeo T2 disminuyeron a través del tiempo llegando a valores casi idénticos a los del cartílago nativo en la evaluación final. Estos hallazgos morfológicos y bioquímicos observados en la evaluación por resonancia magnética, acompañado de la favorable apariencia macroscópica observada en la segunda vista artroscópica, nos pueden sugerir la formación de tejido de reparación similar a cartílago hialino. Tuvimos solo una pérdida en el seguimiento de 1 paciente a los 6 meses de operado. Este paciente había tenido hasta ese momento un progreso clínico e imagenológico favorable, sin presencia de eventos adversos ni diferencias significativas con el resto de los pacientes evaluados. La viabilidad de los constructos celulares fue mayor al 90% antes de ser implantados. La viabilidad de los constructos que sobraron en una muestra de nuestros pacientes fue de 87% a las 24 horas (n=6) y del 75% a las 48 horas (n=1), a partir de que los constructos

fueron liberados del laboratorio para ser trasladados a la cirugía de implante, lo que nos permite inferir que nuestros constructos celulares podrían ser trasladados e implantados en centros que se encuentren en un rango de viaje de 24 a 48 horas, sin tener una mayor pérdida celular y sin datos de contaminación. Una descripción mas detallada de la viabilidad de los constructos celulares antes y después de la implantación artroscópica fue previamente descrita en un estudio preclínico de nuestro grupo en el que se usaron células que fueron transducidas por un vector adenoviral con proteína verde fluorescente (AdGFP).⁸ En nuestra Institución, hemos realizado un estudio piloto,¹⁴ un ensayo clínico controlado aleatorizado,¹³ y este estudio piloto multicéntrico usando la técnica de AMECI, y hemos hasta ahora reportado resultados clínicos, imagenológicos y de segunda vista positivos en mas de 60 pacientes. Comparando los resultados obtenidos en este estudio piloto multicéntrico, con los resultados obtenidos en nuestros estudios previos,^{13,14,17} observamos que los resultados en las escalas clínicas de Lysholm, Tegner e IKDC a 36 meses son similares a los observados en el presente estudio. Los valores de Mapeo T2 en todos nuestros estudios muestran un decremento en el tiempo de relajación del agua en la zona de interés (ROI, por sus siglas en inglés), así como valores constantes en el tejido de cartílago nativo. Los resultados de la evaluación de MOCART muestran un incremento global, terminando con un promedio mayor a 70 puntos en todos los estudios.

Micheli y cols.¹⁸ publicaron el primer estudio multicéntrico usando la técnica de implante de condrocitos autólogos (ACI, por sus siglas en inglés) en el 2001. Ellos evaluaron a 50 pacientes de 19 centros hospitalarios diferentes, encontrando

resultados positivos después de la cirugía, demostrando seguridad y eficacia con la técnica de ACI. Los condrocitos fueron aislados y cultivados en un mismo laboratorio, la técnica de implante fue estandarizada, y se siguieron estrictos parámetros de bioseguridad (previamente descritos por Mayhew y cols.¹⁹) para asegurar así la reproducibilidad. Marcacci y cols.²⁰ publicaron el primer estudio multicéntrico usando la técnica de implante de condrocitos autólogos en matriz (MACI) en el 2005, mostrando resultados clínicos positivos en 141 pacientes de 11 diferentes centros hospitalarios. Hasta antes de publicar nuestro trabajo, existían solo 7 estudios multicéntricos publicados con técnicas de MACI,²⁰⁻²⁶ en donde se evaluaron los resultados clínicos, de RMN con MOCART, y evaluación por segunda vista posterior al tratamiento de lesiones condrales en rodilla con técnicas de implante de condrocitos autólogos basados en matriz, similar a lo realizado en el presente estudio (**Tabla 7**). Sin embargo, ninguno de estos estudios multicéntricos que evaluaron los resultados con la técnica de MACI describen sus parámetros de bioseguridad a detalle.

Schuette y cols.²⁷ en una reciente revisión sistemática sobre los resultados clínicos a mediano y largo plazo posterior al uso del MACI encontró un incremento en las escalas clínicas de Tegner y KOSS con una mejoría (promediando los resultados en el compartimento tibiofemoral y patelofemoral) de 2.6 puntos en Tegner, 34.5 puntos en la subescala de KOOS-SR, 31.2 puntos en la subescala de KOOS-QoL, 21.4 puntos en la subescala de KOOS-P, 18.5 puntos en la subescala de KOOS-S, y 18 puntos en la escala de KOSS-ADL. Nosotros obtuvimos en este trabajo resultados clínicos similares a un seguimiento a mediano plazo, como se muestra

en la **Tabla 7**. En el 2018, Ogura y cols.²⁸ reportaron las “Mínimas Diferencias Clínicas Importantes” (MCID, por sus siglas en inglés) después de la técnica de MACI. Noventa y dos pacientes fueron evaluados con un seguimiento de al menos 2 años después de la cirugía, y concluyeron que los pacientes tienen que tener un incremento mínimo en valores específicos de las escalas clínicas para presentar así una clara mejoría sintomática, reportando así los MCID para la técnica de MACI de la siguiente manera: Mejoría de 4.2 a 10.5 puntos en la escala de Lysholm, de 10.8 a 16.4 puntos en la escala de IKDC, de 3.6 a 8.4 puntos para KOOS-S, de 11 a 18.8 puntos en KOOS-P, de 9.2 a 17.3 puntos en KOOS-ADL, entre 12.5 y 18.5 en KOOS-SR, y de 12.8 a 19.6 puntos en KOOS-QoL. En nuestro estudio prospectivo, piloto multicéntrico, los pacientes mostraron una mejoría clínica que sobrepasa todos los valores establecidos como MCID para las técnicas de MACI descritos por Ogura y cols, tal como se muestra en la **Tabla 7**.

Niethammer y cols.²⁹ en un estudio prospectivo evaluaron el progreso de los pacientes con el uso de Mapeo T2 en RMN a 36 meses de seguimiento posterior a cirugía con ACI en matriz. Ellos observaron que los valores de tiempo de relajación del agua tuvieron un decremento progresivo a través del tiempo, siendo de 41.6 ms a 6 meses de postoperatorio, de 39.3 ms a 12 meses y de 30.9 ms a 36 meses. Ellos no encontraron diferencias estadísticamente significativas a 36 meses entre el tejido nativo y el tejido de reparación. Similar a ellos, en nuestro trabajo encontramos un constante decremento en los valores del tiempo de relajación del agua en el tejido de reparación medido por Mapeo T2 en RMN, acercándose a los valores del cartílago nativo en el seguimiento final (**Tabla 6**).

Basados en nuestros resultados, nuestras medidas de bioseguridad mostraron ser eficaces, confiables y reproducibles, permitiendo así que otros grupos de investigación puedan reproducir resultados similares con nuestra técnica de AMECI, siguiendo nuestros llamados Parámetros Mínimos de Bioseguridad (MBP, por sus siglas en inglés). Además, se establecen las bases para un futuro estudio multicéntrico en el interior de México y eventualmente en otros países de Latinoamérica.

Como limitaciones de nuestro estudio, se encuentra que la viabilidad y densidad celular justo al tiempo del implante del constructo no fue evaluada, sin embargo consideramos que este parámetro de bioseguridad debe ser considerado en un futuro estudio multicéntrico a larga escala. También nuestra técnica de implantación artroscópica requiere el uso de anclas con suturas bioabsorbibles colocadas en el hueso subcondral, así como la realización de pequeños túneles óseos a través del hueso para fijar los constructos en patela. Esto implica daño al hueso subcondral con sangrado subsecuente, con el potencial de generar tejido de reparación con aporte mixto de células, provenientes de la médula ósea, pudiendo así formar un tejido de reparación de fibrocartílago en vez de similar a cartílago hialino. Sin embargo, por otro lado, el uso de anclas nos permitió asegurar que nuestros constructos no se pierdan fácilmente y también las anclas nos permiten una correcta localización del tejido de reparación al momento de la evaluación por RMN dado que son fácilmente identificables por este método de imagen. Otra limitación es la falta de análisis histológico del tejido de reparación debido a que no se realizaron tomas de biopsia de tejido de reparación durante la segunda vista artroscópica,

debido a que este procedimiento mas invasivo no fue autorizado realizarse en pacientes asintomáticos, por parte de nuestro Comité de Investigación y Ética local. Sin embargo el análisis histológico de esta técnica ya fue realizado previamente por nuestro grupo, en estudios preclínicos en modelo porcino, donde se demostró a 3 meses de la cirugía de implante de condrocitos, la formación de tejido cartilaginoso hialino y/o mixto (cartílago hialino + cartílago fibroso) en un 87.5% de las rodillas de los especímenes tratados con la técnica experimental vs. 100% de cartílago fibroso en las rodillas de los especímenes que fueron tratados dejando el defecto osteocondral sin tratamiento.¹²

Las fortalezas de este estudio son las siguientes: las evaluaciones fueron realizadas por investigadores clínicos independientes, sin ningún interés o patrocinio comercial. Este estudio fue realizado en algo cercano a un “escenario de la vida real”, con prácticas ortopédicas independientes en escenarios no controlados al 100%. Además, se realizó una amplia evaluación multimodal de los pacientes tratados, encontrándose en la literatura pocos estudios reportados con este amplia gama de métodos de evaluación (**Tabla 7**).³⁰

Autor	Año	Estudio	País	Técnica	Población	Seguimiento	Medidas de desenlace
Marcacci y cols.	2005	Multicéntrico cohorte retrospectiva	Italia	Hyalograft C	n=141	38 meses	IKDC, ICRS, EuroQol-EQ5D, segunda vista (ICRS), histología
Gobbi y cols.	2006	Serie de casos multicéntrico	Italia	Hyalograft C	n=32	24 meses	IKDC, ICRS, EuroQol-EQ5D, segunda vista (ICRS), histología, RMN
Tohyama y cols.	2009	Multicéntrico	Japón	Implante de condrocitos asociado a atelocolágeno	n=27	24 meses	Lysholm, segunda vista (ICRS)
Schneider y cols.	2011	Multicéntrico prospectivo	Alemania	CaReS	n=116	Promedio: 30.2 meses	IKDC, EVA, SF-36
Enea y cols.	2012	Multicéntrico prospectivo	Italia	MACI	n=33	Promedio: 15 meses	Segunda vista (ICRS), histología
Angele y cols.	2015	Multicéntrico prospectivo	Alemania	N3D	n=422	Promedio: 6.9 meses	EVA (dolor, inflamación, función), expresión génica antes de la implantación
Hoburg y cols.	2019	Multicéntrico cohorte retrospectiva	Alemania	co.don	n=71	Promedio: 63.3 meses	Lysholm modificado, IKDC, KOOS, MOCART
Estudio actual Villalobos y cols.	2020	Estudio piloto multicéntrico	México	AMECI	n=29 (35 lesiones)	Promedio: 37 meses	Lysholm, Tegner, IKDC, KOOS, segunda vista (ICRS), MOCART, RMN con Mapeo en T2

Tabla 7.1 Estudios multicéntricos reportados con el uso de técnicas de implante de condrocitos autólogos en matriz. IKDC=International Knee Documentation Committee; ICRS=International Cartilage Repair Society; RMN=resonancia magnética nuclear; EVA= escala visual análoga; KOOS= Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score; MOCART=Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue.

Autor	Lysholm	Tegner	IKDC(S)	KOOS	Kujala	EVA
Marcacci y cols.			78.6±20.2			
Gobbi y cols.			73.6			
Tohyama y cols.	89.8±9.5					
Schneider y cols.			70.5 ± 18.7			
Enea y cols.						
Angele y cols.						Dolor: 7.0 ± 2 (WI:3.8±2.1) Inflamación: 7.9 ± 1.9 (WI:2.5±2.6) Función: 7.3 ± 1.8 (WI:3.2±2.3)
Hoburg y cols.			80.5 ± 15.2	Síntomas: 91.5 ± 7.0 Dolor: 90.9 ± 8.9 ADL: 94.2 ± 7.9 SR: 77.7 ±21.2 QoL: 69.0 ± 22.3		
Estudio actual Villalobos y cols.	84.5 ± 13.2 (WI: 25.6±27.6)	5.1 ± 2.3 (WI: 2.7±2.2)	64.92 ± 16.6 (WI: 20.7±15.8)	Síntomas: 83.6±9.6 (WI: 17.4±16.1) Dolor: 85.53±12.8 (WI: 25.8±17.4) ADL: 89.1±13.3 (WI: 23.9±20.3) SR: 69.85±24.9 (WI: 33.4±24.8) QoL: 64.6±23.2 (WI: 35.1±28.1)	82.2 ± 12.2 (WI: 20.4±12.5)	

Tabla 7.2 Estudios multicéntricos reportados con el uso de técnicas de implante de condrocitos autólogos en matriz. EVA= escala visual análoga; KOOS= Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score; ADL=actividades de la vida diaria; QoL=calidad de vida; SR=deportes y recreación; WI=weighted improvement o puntos de mejoría.

Autor	Segunda vista (ICRS)	MOCART	MAPEO T2	Comentarios
Marcacci y cols.	36.4% normal 60% casi normal 1.8% anormal 1.8% severamente anormal			La mayoría de las biopsias tomadas mostraron cartílago similar a hialino
Gobbi y cols.	Promedio: 10.2 100% casi normal			66% de las biopsias con cartílago similar a hialino 33% de las biopsias con tejido mixto
Tohyama y cols.	24% normal 68% casi normal 4% anormal 4% severamente anormal			
Schneider y cols.				
Enea y cols.	30.3% normal 51.5% casi normal 12.2% anormal 6.1% severamente anormal			21% de las biopsias con cartílago similar a hialino
Angele y cols.				Mayor frecuencia de complicaciones relacionadas con el injerto en la patela y lesiones degenerativas Mayor frecuencia de efectos adversos en injertos con mayor expresión de FLT-1 o IL-1 β mRNA
Hoburg y cols.		77.2 \pm 11.2		
Estudio actual Villalobos y cols.	Promedio: 8.7 \pm 1.9 0% normal 83% casi normal 17% anormal 0% severamente anormal	70.14 \pm 12.6	Tejido de reparación: 42.9 \pm 7.2 Tejido control: 40.7 \pm 7.1	

Tabla 7.3 Estudios multicéntricos reportados con el uso de técnicas de implante de condrocitos autólogos en matriz. ICRS=International Cartilage Repair Society; MOCART=Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue; FLT-1=receptor 1 de factor de crecimiento vascular endotelial; IL-1 β =interleucina 1 beta.

En conclusión, este estudio sugiere que siguiendo nuestros establecidos Parámetros Mínimos de Bioseguridad (MBP) para la técnica de AMECI, se pueden obtener resultados clínicos, de imagen por resonancia magnética y de segunda vista artroscópica favorables, estableciendo así las bases para un futuro estudio multicéntrico a mayor escala en México y eventualmente en otros países de Latinoamérica.

6) REFERENCIAS.

1. Villalobos, E., Acuña, M., Ibarra, C., y cols. Functional and Pain Relief Outcomes in a 3-6 years Follow-Up After Microfracture of the Knee. Proceedings – American Academy of Orthopaedic Surgeons Annual Meeting. Nuevo Orleans, 2010.
2. Mithoefer K, Scopp JM, Mandelbaum BR. Articular cartilage repair in athletes. *Instr Course Lect.* 2007; 56:457-468.
3. Getgood A, Brooks R, Fortier L, Rushton N. Articular cartilage tissue engineering: today's research, tomorrow's practice? *J Bone Joint Surg Br.* 2009;91(5):565-576.
4. Mithoefer K, McAdams TR, Scopp JM, Mandelbaum BR. Emerging options for treatment of articular cartilage injury in the athlete. *Clin Sports Med.* 2009;28(1):25-40.
5. Buckwalter JA, Mankin HJ, Grodzinsky AJ. Articular cartilage and osteoarthritis. *Instr Course Lect.* 2005; 54:465-480.
6. 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(14):889-895.

7. Saris DB, Vanlauwe J, Victor J, 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(2):235-246.
8. Masri M, Lombardero G, Velasquillo C, et al. Matrix-encapsulation cell-seeding technique to prevent cell detachment during arthroscopic implantation of matrix-induced autologous chondrocytes. *Arthroscopy.* 2007;23(8):877-883.
9. Marcacci M, Zaffagnini S, Kon E, Visani A, Iacono F, Loreti I. Arthroscopic autologous chondrocyte transplantation: technical note. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2002;10(3):154-159.
10. Welsch GH, Trattng S, Domayer S, Marlovits S, White LM, Mamisch TC. Multimodal approach in the use of clinical scoring, morphological MRI and biochemical T2-mapping and diffusion-weighted imaging in their ability to assess differences between cartilage repair tissue after microfracture therapy and matrix-associated autologous chondrocyte transplantation: a pilot study. *Osteoarthritis Cartilage.* 2009;17(9):1219-1227.
11. Marlovits S, Singer P, Zeller P, Mandl I, Haller J, Trattng 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(1):16-23.

12. Villalobos Córdoba FE, Velasquillo Martínez C, Martínez López V, et al. Resultados en la reparación experimental de lesiones osteocondrales en un modelo porcino mediante ingeniería de tejidos [Results of the experimental repair of osteochondral lesions in a pig model using tissue engineering]. *Acta Ortop Mex.* 2007;21(4):217-223.
13. Villalobos Córdoba, E. Tesis de Maestría en Ciencias Médicas: “Evaluación clínica y por imagen con mapeo en T2 por resonancia magnética del trasplante de condrocitos autólogos vs Microfracturas para la reparación del cartílago articular en rodilla. Ensayo clínico controlado”. 2013, UNAM.
14. Ibarra C, Izaguirre A, Villalobos E, et al. Follow-up of a new arthroscopic technique for implantation of matrix-encapsulated autologous chondrocytes in the knee. *Arthroscopy.* 2014;30(6):715-723.
15. 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 Oct 6;331(14):889–95.
16. Peterson L, Minas T, Brittberg M, Nilsson A, Sjogren-Jansson E, Lindahl A. Two- to 9-Year Outcome After Autologous Chondrocyte Transplantation of the Knee. *Clin Orthop.* 2000;(374):23.

17. Olivos Meza A, Cortés González S, Ferniza Garza JJ, Pérez Jiménez FJ, Enrique VC, Ibarra C. Arthroscopic Treatment of Patellar and Trochlear Cartilage Lesions with Matrix Encapsulated Chondrocyte Implantation versus Microfracture: Quantitative Assessment with MRI T2-Mapping and MOCART at 4-Year Follow-up. *CARTILAGE*. 2019 Apr 3;194760351983590.
18. Micheli LJ, Browne JE, Erggelet C, Fu F, Mandelbaum B, Moseley JB, et al. Autologous Chondrocyte Implantation of the Knee: Multicenter Experience and Minimum 3-Year Follow-Up: *Clin J Sport Med*. 2001 Oct;11(4):223–8.
19. Mayhew TA, Williams GR, Senica MA, Kuniholm G, Moulin GCD. Validation of a Quality Assurance Program for Autologous Cultured Chondrocyte Implantation. *Tissue Eng*. 1998 Sep;4(3):325–34.
20. Marcacci M, Berruto M, Brocchetta D, Delcogliano A, Ghinelli D, Gobbi A, et al. Articular Cartilage Engineering with Hyalograft C: 3-Year Clinical Results. *Clin Orthop*. 2005 Jun;NA;(435):96–105.
21. Schneider U, Rackwitz L, Andereya S, Siebenlist S, Fensky F, Reichert J, et al. A prospective multicenter study on the outcome of type I collagen hydrogel-based autologous chondrocyte implantation (CaReS) for the repair of articular cartilage defects in the knee. *Am J Sports Med*. 2011 Dec;39(12):2558–65.

22. Enea D, Cecconi S, Busilacchi A, Manzotti S, Gesuita R, Gigante A. Matrix-induced autologous chondrocyte implantation (MACI) in the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012 May;20(5):862–9.
23. Gobbi A, Kon E, Berruto M, Francisco R, Filardo G, Marcacci M. Patellofemoral full-thickness chondral defects treated with Hyalograft-C: a clinical, arthroscopic, and histologic review. *Am J Sports Med.* 2006 Nov;34(11):1763–73.
24. Tohyama H, Yasuda K, Minami A, Majima T, Iwasaki N, Muneta T, et al. Atelocollagen-associated autologous chondrocyte implantation for the repair of chondral defects of the knee: a prospective multicenter clinical trial in Japan. *J Orthop Sci Off J Jpn Orthop Assoc.* 2009 Sep;14(5):579–88.
25. Angele P, Fritz J, Albrecht D, Koh J, Zellner J. Defect type, localization and marker gene expression determines early adverse events of matrix-associated autologous chondrocyte implantation. *Injury.* 2015 Oct;46: S2–9.
26. Hoburg A, Löer I, Körsmeier K, Siebold R, Niemeyer P, Fickert S, et al. Matrix-Associated Autologous Chondrocyte Implantation Is an Effective Treatment at Midterm Follow-up in Adolescents and Young Adults. *Orthop J Sports Med.* 2019 Apr;7(4):232596711984107.

27. Schuette HB, Kraeutler MJ, McCarty EC. Matrix-Assisted Autologous Chondrocyte Transplantation in the Knee: A Systematic Review of Mid- to Long-Term Clinical Outcomes. *Orthop J Sports Med.* 2017 Jun;5(6):232596711770925.
28. Ogura T, Ackermann J, Barbieri Mestriner A, Merkely G, Gomoll AH. Minimal Clinically Important Differences and Substantial Clinical Benefit in Patient-Reported Outcome Measures after Autologous Chondrocyte Implantation. *Cartilage.* 2018 Sep 15;1947603518799839.
29. Niethammer TR, Safi E, Ficklscherer A, Horng A, Feist M, Feist-Pagenstert I, et al. Graft Maturation of Autologous Chondrocyte Implantation. *Am J Sports Med.* 2014;42(9):6.
30. Villalobos E, Madrazo-Ibarra A, Martínez V, et al. Arthroscopic Matrix-Encapsulated Autologous Chondrocyte Implantation: A Pilot Multicenter Investigation in Latin America [published online ahead of print, 2020 May 14]. *Cartilage.* 2020;1947603520918630. doi:10.1177/1947603520918630

7) ANEXOS.

A. Documento de Consentimiento Informado.

B. Escala de Evaluación de MOCART.

C. Cuestionarios de Escalas Clínicas.

D. Artículo publicado en revista indexada: Cartilage.

Anexo A. Documento de Consentimiento Informado.



Ciudad de México, a _____ del _____.

CARTA DE CONSENTIMIENTO INFORMADO

Título de la Investigación: **Implante de condrocitos autólogos cultivados en matriz para el tratamiento quirúrgico de lesiones condrales en adultos jóvenes. Estudio multicéntrico.**

Número Registro INRGLI: **67/17**

Nombre del Investigador Principal: **Dr. Félix Enrique Villalobos Córdova.**

Nombre de la persona que participará en la Investigación: _____

A través de este documento que forma parte del proceso para la obtención del consentimiento informado, me gustaría invitarlo a participar en la investigación titulada: **Implante de condrocitos autólogos cultivados en matriz para el tratamiento quirúrgico de lesiones condrales en adultos jóvenes. Estudio multicéntrico.** Antes de decidir, necesita entender por qué se está realizando esta investigación y en qué consistirá su participación. Por favor tómese el tiempo que usted necesite, para leer la siguiente información cuidadosamente y pregunte cualquier cosa que no comprenda. Si usted lo desea puede consultar con personas de su confianza (Familiar y/o Médico tratante) sobre la presente investigación.

1. ¿Dónde se llevará a cabo esta investigación?

Esta investigación se llevará a cabo en varios hospitales públicos y privados ubicados en la Ciudad de México y Estado de México. Sin embargo, el centro de control de esta investigación se encuentra ubicado en las instalaciones del Instituto Nacional de Rehabilitación, Luis Guillermo Ibarra Ibarra, específicamente en el Servicio de Ortopedia del Deporte y Artroscopía ubicada su oficina, en el 2o piso de la Torre de Hospitalización en Ortopedia.

2. ¿Cuál es el objetivo de esta investigación?

Esta investigación tiene como objetivo tratar las lesiones de cartílago en rodilla en pacientes jóvenes. Las rodillas tienen un tejido que recubre los huesos, que es como una porcelana, que se llama cartílago. El cartílago permite que en el movimiento de la rodilla haya menos fricción, protege del dolor y nos ayuda a tener una función adecuada de nuestras rodillas. Sin embargo, en ocasiones podemos sufrir lesiones o rupturas en el cartílago de las rodillas. Una vez dañado el cartílago de las rodillas, el cuerpo no tiene capacidad para repararlo, así que nos quedamos con esas lesiones. En esta investigación se busca evaluar los resultados de una técnica de reparación de cartílago que utiliza el mismo cartílago del



paciente para hacerlo crecer en un laboratorio certificado y posteriormente se le coloca al paciente en la zona dañada, esperando tener buenos resultados en cuestión de mejora del dolor y función de los pacientes, todo esto en pacientes que acepten participar.

3. ¿Por qué es importante esta investigación?

Una vez que se presenta una lesión de cartilago en rodilla, nuestro cuerpo no tiene la capacidad para repararla. El daño al cartilago permanece e incluso aumenta con el tiempo, ocasionando dolor, inflamación y limitación para mover tu rodilla. Hasta hoy no existe una pastilla, inyección o ejercicio que pueda lograr reparar el cartilago dañado. Solo existen cirugías que se han ido desarrollando para intentar reparar el cartilago lastimado. Dentro de estas cirugías la que realizaremos en esta investigación es la que ha presentado hasta ahora los mejores resultados en investigaciones previas hechas por este mismo grupo. Anteriormente todas estas cirugías habían sido realizadas solamente dentro de las instalaciones del INRGLII, sin embargo, ahora buscamos poder realizar este tratamiento a pacientes también de otros hospitales para poder así evaluar los resultados, y esperando que sean buenos resultados para los pacientes, poder así ofrecer este tratamiento para pacientes de todo el País.

4. ¿Por qué he sido invitado a participar en esta investigación?

Ha sido invitado a formar parte de esta investigación, porque cumple con las características enlistadas a continuación (criterios de inclusión):

Los participantes son incluidos si: Tienen una edad entre 18 y 55 años, ambos sexos, sufrieron una lesión de cartilago en sus rodillas la cual debe estar confirmada por el Médico Ortopedista, si tiene deseos de participar en esta investigación, acepta ser operado y está dispuesto a realizar terapia de ejercicios de rehabilitación después de su cirugía por hasta 1 año, así como acudir a sus citas y estudios de control y evaluación de su cartilago reparado.

5. ¿Estoy obligado a participar?

Su participación es voluntaria, anónima y confidencial; no tiene que participar forzosamente. No habrá impacto negativo alguno si decide no participar en la investigación, y no demeritará de ninguna manera la calidad de la atención que reciba en el Instituto Nacional de Rehabilitación, Luis Guillermo Ibarra Ibarra, en término de sus derechos como paciente.



6. ¿En qué consistirá mi participación y cuánto durará?

Actividad	Tiempo requerido
<ul style="list-style-type: none"> Leer este documento de consentimiento informado, preguntar todas sus dudas a los investigadores y si está de acuerdo firmarlo 	<ul style="list-style-type: none"> El tiempo que Usted requiera.
<ul style="list-style-type: none"> Hacer los estudios de imagen consistente en rayos X y estudio de resonancia magnética nuclear de su rodilla lesionada que el Investigador le solicite, así como contestar unos cuestionarios que evalúan la función de su rodilla. 	<ul style="list-style-type: none"> 4-6 horas.
<ul style="list-style-type: none"> Hospitalizarse y someterse a una cirugía de mínima invasión llamada artroscopía en la cual el Cirujano Investigador le tomará una pequeña muestra de su cartílago del tamaño de 4 frijoles de su rodilla lesionada, así como una muestra de su sangre de 60ml a través de un pequeño piquete en la vena de su brazo. 	<ul style="list-style-type: none"> 1 hora de cirugía. 2 días de hospitalización.
<ul style="list-style-type: none"> Acudir a sesiones de rehabilitación al INRLGII o al lugar de rehabilitación que su Cirujano le recomiende después de su cirugía de toma de muestra de cartílago. 	<ul style="list-style-type: none"> 1 hora por sesión, en total 10 sesiones de rehabilitación a realizarse en un período de 4-6 semanas.
<ul style="list-style-type: none"> Hospitalizarse y someterse a una cirugía de mínima invasión llamada artroscopía en la cual el Cirujano Investigador le realizará la colocación en su rodilla del cartílago que fue crecido en el laboratorio del INRLGII. 	<ul style="list-style-type: none"> Esta segunda cirugía se realiza en un intervalo de 6 a 8 semanas posterior a su cirugía de toma de muestra de cartílago, una vez que el Laboratorio nos indica que su cartílago está listo para ser implantado. La cirugía tiene una duración de alrededor de 2 horas, 2-3 días de hospitalización.
<ul style="list-style-type: none"> Uso de una máquina portátil de alrededor de 1 metro de largo, que moviliza mecánicamente su rodilla sin que Usted tenga que ejercer ninguna fuerza, esto estando Usted acostado en su cama de su casa. 	<ul style="list-style-type: none"> El uso de esta máquina movilizadora de rodilla será por 4 horas al día, en intervalos, diario, por las primeras 6 semanas posterior a la cirugía de colocación de cartílago.
<ul style="list-style-type: none"> Acudir a sesiones de rehabilitación al INRLGII o al lugar de rehabilitación que su Cirujano le recomiende después de su cirugía de colocación de cartílago. 	<ul style="list-style-type: none"> 1 hora por sesión, en total alrededor de 40 sesiones de rehabilitación a realizarse en un período de 4 meses
<ul style="list-style-type: none"> Acudir a consultas de control para retiro de puntos y consultas de seguimiento médico por parte de su 	<ul style="list-style-type: none"> Alrededor de 10 consultas en un período de 2 años.

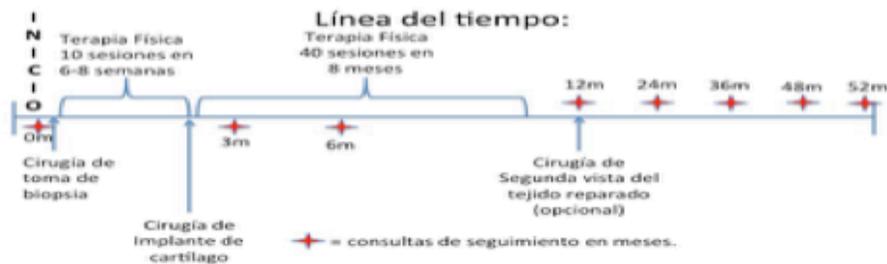


cirujano, en el consultorio donde lo cite su cirujano	
<ul style="list-style-type: none"> • Acudir a la cita que se le asigne al INRLGII para la realización de un estudio de imagen de alta definición llamado Resonancia Magnética con Cartigram, para la evaluación de su cartílago reparado después de haber sido operado. 	<ul style="list-style-type: none"> • El tiempo que Usted se tomará para realizarse el estudio es alrededor de 1 hora. Se le citará para realizar dicho estudio a los 3, 6, 12, 24, 36, 48, 50 meses de haber sido operado de la colocación del cartílago en su rodilla. • Posteriormente después del 5to año de operado, se le invitará a seguir realizando este estudio anualmente en forma indefinida mientras este estudio tenga vigencia y recursos para la realización del estudio.
<ul style="list-style-type: none"> • Acudir a la cita que le asigne su Cirujano en su consultorio u hospital del Cirujano, para que conteste unos cuestionarios en donde se le preguntará cómo se siente en relación con su rodilla y se le realice una evaluación en persona de su rodilla por un Médico del estudio, después de haber sido operado. 	<ul style="list-style-type: none"> • El tiempo que Usted se tomará para contestar estos cuestionarios es alrededor de 30 minutos. Se le citará para realizar esta actividad a los 3, 6, 12, 24, 36, 48, 50 meses de haber sido operado de la colocación del cartílago en su rodilla. • Posteriormente después del 5to año de operado, se le invitará a seguir contestando estos cuestionarios anualmente en forma indefinida mientras este estudio tenga vigencia. Pudiendo a partir de entonces contestarse por vía de correo electrónico. *Cuando sea posible, la realización de los cuestionarios y el estudio de Resonancia Magnética con Cartigram se realizarán en forma simultanea durante una misma visita.
<ul style="list-style-type: none"> • Realización de cirugía de evaluación del cartílago reparado en su rodilla a partir de 1 año de haber sido colocado el cartílago. Lo cual será una actividad opcional para Usted y tendrá como objetivo realizar una visualización directa del cartílago reparado. 	<ul style="list-style-type: none"> • Esta cirugía podrá ser realizada a partir de 1 año en adelante de haber sido colocado el cartílago en su rodilla. Para lo cual se tendrá que agendar dicha cirugía con su Cirujano y equipo de investigadores del INRLGII. La cirugía tendrá una duración de 30 minutos aproximadamente. Usted permanecerá



	hospitalizado entre 12 a 36 horas. Esta cirugía ameritará un par de consultas de seguimiento por parte de su Cirujano durante el primer mes posterior a esta cirugía. Normalmente no requerirá en la mayoría de los casos realizar terapia física adicional, solamente continuar con los ejercicios ya previamente aprendidos por su cuenta.
--	--

Se agrega a continuación línea del tiempo de su participación en el presente proyecto de investigación:



Si está de acuerdo en participar, le pediremos que escriba su nombre y firme el formato de Consentimiento Informado y firme al final de este.

7. ¿Cuáles son los posibles beneficios de formar parte de esta investigación?

Los beneficios directos al formar parte de esta investigación es que recibirá un tratamiento para mejorar el dolor y la función de su rodilla.

08. ¿Existe alguna alternativa que pueda proporcionarme mayor beneficio de lo que me propone esta Investigación?

Existen otras técnicas disponibles en México para reparar las lesiones de cartilago en rodilla, estas técnicas se realizan en una sola cirugía y no requieren procesar su cartilago en un laboratorio. Dentro de estas técnicas está la técnica de "Microfracturas", que consiste en hacer pequeñas perforaciones en su hueso para que éste sangre y luego se pueda formar una cicatriz de cartilago a partir de ese coágulo. Esta técnica da resultados satisfactorios para disminuir el dolor y mejorar la función a corto y mediano plazo (2-4 años). Y también existe la técnica de "Traslado osteocondral autólogo" o "Mosaico-plastia"



que consiste en hacer un traslado de su cartílago en la misma rodilla de una zona sana hacia la zona dañada. Esta técnica ha demostrado resultados satisfactorios a mediano-largo plazo (4-9 años), sin embargo, el tamaño de la lesión que puede reparar es limitado.

9. ¿Cuáles son los posibles riesgos de formar parte de esta investigación?

Esta es una investigación con riesgos mayor al mínimo, propios de una cirugía: riesgo de desarrollar infección, riesgo de disminuir movilidad en su rodilla, riesgo de daño a alguna estructura que está en su rodilla, riesgo de reacción alérgica a alguno de los componentes del implante de cartílago en donde se colocan sus células, riesgo de que el nuevo cartílago colocado se desprenda y cause molestias en su rodilla, así como el riesgo de persistir con dolor o que su rodilla se siga desgastando.

10. ¿Tendré alguna molestia durante y/o después de mi participación?

Usted podrá tener las molestias propias de una cirugía en rodilla, posterior a cada una de las cirugías propuestas en esta investigación. Dichas molestias incluyen dolor en rodilla, limitación a la movilidad, inflamación de su rodilla, esto podrá durar alrededor de 8 a 12 semanas, mejorará con medicamentos y terapia de rehabilitación que le indicará su cirujano, la cual Usted tendrá que realizar tal como se le indique por parte de su Cirujano para lograr la mejoría de sus molestias en rodilla.

11. ¿Recibiré alguna compensación por mi participación?

Usted no recibirá ningún tipo de compensación económica por su participación en esta investigación.

12. ¿Tendrá algún costo para mi participar en esta Investigación?

Durante su participación en la investigación se realizarán varios procedimientos que no tendrán ningún costo para Usted, dentro de los que se incluyen los siguientes:

1. Recepción, traslado y entrega de muestra de cartílago obtenida durante su primera cirugía de toma de Biopsia.
2. Procesamiento de su muestra de cartílago en el Laboratorio del INRLGII para el aislamiento y crecimiento de sus células, así como pruebas de bioseguridad a su implante de cartílago previo a su envío para ser implantado.
3. Envío de implante de cartílago cultivado al quirófano del INRLGII donde se llevará a cabo la cirugía de implante.
4. Costos de hospitalización y de la cirugía para el implante de cartílago en su rodilla, realizada en el INRLGII.



5. Consultas de rehabilitación posterior a su cirugía de implante de cartilago en rodilla, realizadas en el INRLGII. (hasta 50 sesiones).
6. Citas para evaluación con cuestionarios clínicos y estudio de resonancia magnética nuclear para control de su tejido de reparación, a los 3, 6, 12, 24, 36, 48 y 60 meses de la cirugía.
7. Costos de hospitalización y de la cirugía para segunda vista o evaluación del tejido reparado en su rodilla (cirugía opcional al año de haberse realizado la cirugía de implante de cartilago), realizada en el INRLGII.

Se le informa que los gastos relacionados con esta investigación que se originen a partir del momento en que, voluntariamente, acepta participar en la misma, no serán pagados por Usted. En el caso de que existan gastos adicionales originados por el desarrollo de esta investigación, serán cubiertos por el presupuesto de esta.

Es importante comentarle que los gastos y/o cuotas que se generen como paciente del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, que no tengan ninguna relación con la presente Investigación, deberán ser pagados por Usted.

13. Una vez que acepte participar ¿Es posible retirarme de la Investigación?

Se le informa que usted tiene el derecho, en cualquier momento y sin necesidad de dar explicación de dejar de participar en la presente investigación, sin que esto disminuya la atención y calidad o se creen prejuicios para continuar con sus tratamientos y la atención que como paciente le otorga el Instituto Nacional de Rehabilitación, Luis Guillermo Ibarra Ibarra. Únicamente avisando a alguno de los investigadores su decisión.

14. ¿En qué casos se me puede suspender de la Investigación?

Existen casos en que a pesar de que Usted haya aceptado participar en esta investigación, puede ser que no le sea posible continuar participando en la misma, éstos, son algunos de los siguientes motivos:

- Que la muestra de cartilago que su Cirujano tome en la primera cirugía, al momento de llegar al laboratorio se observe que es poca o insuficiente, o que desarrolle algún tipo de infección antes o durante su proceso en el laboratorio del INRLGII. En caso de que esto hubiera sucedido se le recomendará recibir algún otro tipo de tratamiento de cartilago con técnicas convencionales
- Pacientes que no acudan al menos al 80% de sus citas de seguimiento y evaluación, o que no realicen las terapias de rehabilitación indicadas en al menos un 80%.



- Paciente que durante su seguimiento sufra alguna otra enfermedad grave que no tenga que ver con su cartílago y que dicha condición le impida continuar adecuadamente con sus terapias de rehabilitación o seguimiento de su rodilla.

15. ¿Qué sucede cuando la Investigación termina?

Los resultados, de manera anónima, podrán ser publicados en revistas de investigación científica o podrán ser presentados en congresos.

Es posible que una parte de su muestra de cartílago que haya sobrado al momento del implante, información médica de sus evaluaciones hechas con resonancia o mediante la aplicación de cuestionarios, pueden ser usadas para otros proyectos de investigación relacionados, previa revisión y aprobación por los Comités de Investigación y de Ética en Investigación.

16. ¿A quién puedo dirigirme si tengo alguna complicación, preocupación o problema relacionado con la Investigación?

Cualquier duda, preocupación o queja acerca de algún aspecto de la investigación o de la forma en que he sido tratado durante el transcurso de esta, por favor contacte a los investigadores principales:

- Dr. Félix Enrique Villalobos Córdova, al 59991000, ext. 19607, de 8 a 2pm, centrodecartilago@gmail.com.
- Dr. Valentín Martínez López, al 59991000, ext. 19610, de 9 a 3pm, val_mart76@yahoo.com.mx.

Aclaraciones:

- a) Esta investigación ha sido revisada y aprobada por el Comité de Investigación y Comité de Ética en Investigación del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, que son independientes al grupo de investigadores, para proteger sus intereses.
- b) Su decisión de participar en la presente Investigación es **completamente voluntaria**.
- c) En el transcurso de la Investigación, usted podrá solicitar información actualizada sobre la misma, al investigador responsable.
- d) La información obtenida en esta investigación, utilizada para la identificación de cada participante será mantenida con estricta confidencialidad, conforme la normatividad vigente.
- e) Se le garantiza que usted recibirá respuesta a cualquier pregunta, duda o aclaración acerca de los procedimientos, riesgos, beneficios u otros asuntos relacionados con la presente investigación.
- f) Se hace de su conocimiento que existe la disponibilidad de tratamiento médico y la indemnización a que legalmente tendría derecho por parte del Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, solamente en el caso de sufrir daños directamente causados por la Investigación.
- g) En caso de que sea usted padre/tutor, o representante legal de un menor de edad o de una persona incapaz de tomar la decisión o firmar este documento, sírvase firmar la presente Carta de Consentimiento Informado dando su autorización.



- h) En el caso de que el participante en la investigación se trate de un menor a partir de los 6 años, por favor de lectura al Asentimiento Informado anexo a este documento, para que el menor lo comprenda y autorice.
- i) Si considera que no hay dudas ni preguntas acerca de su participación, puede, si así lo desea, firmar la Carta de Consentimiento Informado.
- j) Se le comunica que esta Carta de Consentimiento Informado se elabora y firma en dos ejemplares originales, se le entregará un original y el otro lo conservará el investigador principal.

FIRMA DE CONSENTIMIENTO

Yo, _____, manifiesto que fui informado (a) del propósito, procedimientos y tiempo de participación y en pleno uso de mis facultades, es mi voluntad participar en esta investigación titulada: **Implante de condrocitos autólogos cultivados en matriz para el tratamiento quirúrgico de lesiones condrales en adultos jóvenes. Estudio multicéntrico.**

No omito manifestar que he sido informado(a) clara, precisa y ampliamente, respecto de los procedimientos que implica esta investigación así como de los riesgos a los que estaré expuesto ya que dicho procedimiento es considerado de *riesgo mayor al mínimo*.

He leído y comprendido la información anterior, y todas mis preguntas han sido respondidas de manera clara y a mi entera satisfacción, por parte de _____.

NOMBRE Y FIRMA DEL PARTICIPANTE
PADRE/TUTOR O REPRESENTANTE LEGAL
(según aplique, se requiere identificación)

NOMBRE Y FIRMA DEL INVESTIGADOR PRINCIPAL

TESTIGOS

NOMBRE Y FIRMA
PARENTESCO
DOMICILIO

NOMBRE Y FIRMA
PARENTESCO
DOMICILIO

Nota: Los datos personales contenidos en la presente Carta de Consentimiento Informado, serán protegidos conforme a lo dispuesto en las Leyes Federal de Transparencia y Acceso a la Información Pública, General de Transparencia y Acceso a la Información Pública y General de Protección de Datos Personales en Posesión de Sujetos Obligados.

Anexo B. Escala de evaluación de MOCART.

Table 2. MOCART 2.0 Knee Score: Cartilage Repair Tissue Assessment: Grading and Point Scale.

		Scoring
1	Volume fill of cartilage defect	
1	Complete filling OR minor hypertrophy: 100% to 150% filling of total defect volume	20
2	Major hypertrophy \geq 150% (1_2a) OR 75% to 99% filling of total defect volume (1_2b)	15
3	50% to 74% filling of total defect volume	10
4	25% to 49% filling of total defect volume	5
5	<25% filling of total defect volume (1_5a) OR complete delamination <i>in situ</i> (1_5b)	0
2	Integration into adjacent cartilage	
1	Complete integration	15
2	Split-like defect at repair tissue and native cartilage interface \leq 2 mm	10
3	Defect at repair tissue and native cartilage interface >2 mm, but <0% of repair tissue length	5
4	Defect at repair tissue and native cartilage interface \geq 50% of repair tissue length	0
3	Surface of the repair tissue	
1	Surface intact	10
2	Surface irregular <50% of repair tissue diameter	5
3	Surface irregular \geq 50% of repair tissue diameter	0
4	Structure of the repair tissue	
1	Homogeneous	10
2	Inhomogeneous	0
5	Signal intensity of the repair tissue	
1	Normal	15
2	Minor abnormal—minor hyperintense (5_2a) OR minor hypointense (5_2b)	10
3	Severely abnormal—almost fluid like (5_3a) OR close to subchondral plate signal (5_3b)	0
6	Bony defect or bony overgrowth	
1	No bony defect or bony overgrowth	10
2	Bony defect: depth < thickness of adjacent cartilage (6_2a) OR overgrowth <50% of adjacent cartilage (6_2b)	5
3	Bony defect: depth \geq thickness of adjacent cartilage (6_2a) OR overgrowth \geq 50% of adjacent cartilage (6_2b)	0
7	Subchondral changes	
1	No major subchondral changes	20
2	Minor edema-like marrow signal—maximum diameter <50% of repair tissue diameter	15
3	Severe edema-like marrow signal—maximum diameter \geq 50% of repair tissue diameter	10
4	Subchondral cyst \geq 5 mm in longest diameter (7_4a) OR osteonecrosis-like signal (7_4b)	0

MOCART = Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue.

Anexo C. Cuestionarios de Escalas Clínicas.

Escala patelofemoral de Kujala

Nombre: _____ Fecha: _____

Edad: _____ Rodilla: _____ Duración de síntomas: _____ años, _____ meses

Para cada pregunta, elige la letra que corresponde a los síntomas de tu rodilla.

1. Cojera: (al caminar)

- a) Ninguna = 5
- b) Leve o periódica = 3
- c) Constante = 0

2. Apoyo: (cargar tu peso)

- a) Apoyo total sin dolor = 5
- b) Doloroso = 3
- c) Soporte de peso imposible = 0

3. Caminar: (en terreno plano)

- a) Sin límites = 5
- b) Mas de 2 Km. = 3
- c) 1-2 Km. = 2
- d) Incapaz = 0

4. Escaleras: (subir o bajar)

- a) Sin dificultad = 10
- b) Leve dolor al descender = 8
- c) Dolor al ascender y descender = 5
- d) Incapaz = 0

5. Cucullas: (Sentadillas)

- a) Sin dificultad = 5
- b) Cucullas repetidas dolorosas = 4
- c) Dolor en cada tiempo = 3
- d) Posible con parcial soporte de peso = 2
- e) Incapaz = 0

6. Correr:

- a) Sin dificultad = 10
- b) Dolor después de mas de 2 Km. = 8
- c) Leve dolor al inicio = 6
- d) Dolor severo = 3
- e) Incapaz = 0

7. Saltar:

- a) Sin dificultad = 10
- b) Leve dificultad = 7
- c) Dolor constante = 2
- d) Incapaz = 0

8. Sentarse por tiempo prolongado con las rodilla flexionadas:

- a) Sin dificultad = 10
- b) Dolor después de hacer ejercicio = 8
- c) Dolor constante = 6
- d) Dolor que obliga a extender las rodillas temporalmente = 4
- e) Incapaz = 0

9. Dolor::

- a) Ninguno = 10
- b) Leve y ocasional = 8
- c) Interfiere con el sueño = 6
- d) Severo ocasionalmente = 3
- e) Constante y severo = 0

10. Hinchazón: (inflamación):

- a) Ninguno = 10
- b) Después de ejercicio severo = 8
- c) Después de actividades diarias = 6
- d) Todas las noches = 4
- e) Constante = 0

11. Patela (rótula) dolorosa, anormal y movimientos anormales :(subluxación):

- a) Ninguno = 10
- b) Ocasionalmente en actividades deportivas = 6
- c) Ocasionalmente en actividades diarias = 4
- d) Al menos una luxación documentada = 2
- e) Mas de dos luxaciones = 0

12. Atrofia: (adelgazamiento) del muslo:

- a) Ninguno = 5
- b) Leve = 3
- c) Severo = 0

13. Deficiencia para flexionar (doblar) la rodilla:.

- a) Ninguno = 5
- b) Leve = 3
- c) Severo = 0

TOTAL PUNTOS: _____

INSTITUTO NACIONAL DE REHABILITACIÓN

ESCALA DE NIVEL DE ACTIVIDAD DE TEGNER

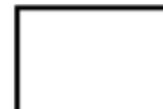
NOMBRE: _____

EDAD: _____ **EXPEDIENTE:** _____

Por favor indique en los espacios de abajo, el nivel MÁS ALTO de actividad en el que ha participado ANTES DE LA LESIÓN y el nivel MÁS ALTO en el que puede participar ACTUALMENTE.

ANTES DE LA LESION: Nivel _____ ACTUALMENTE: Nivel _____

Nivel 10	Deportes Competitivos- (futbol) nivel professional nacional o internacional
Nivel 9	Deportes competitivos- futbol amateur, jockey, levntamiento de pesas, gimnasia, futbol americano
Nivel 8	Deportes competitivos - racquetball, squash, badminton, atletismo, descenso de esquí
Nivel 7	Deportes competitivos- tennis, carrera, motocross, pilotos de carreras, balonmano, basquetbol Deportes recreacionales: Soccer, hockey, atletismo (salto), actividades de campo travesia
Nivel 6	Deportes recreacionales: tennis, badminton, basquetbol, descenso de esquí, trote (5 veces por semana)
Nivel 5	Trabajo Pesado (Construcción, leñadores) Deportes recreacionales: Ciclismo, esquí campo travesia, trote (2 veces por semana)
Nivel 4	Trabajo moderado: (chofer carga, trabajo domestico pesado)
Nivel 3	Trabajo leve (niñera) Deportes recreacionales: natación, caminata en terreno irregular, escalar o caminata con peso
Nivel 2	Trabajo leve: caminata en area urbana, imposible escalar o caminar con peso
Nivel 1	Trabajo sedentario (trabajo de escritorio—secretaria)
Nivel 0	Secuelas o incapacidad permanente debido a enfermedades de la rodilla



Nombre: _____ Expediente: _____
 Edad: _____ Diagnóstico: _____
 Preoperatorio 3 meses 6 meses 9 meses 1 año 2 años _____ años

Parámetro	Hallazgo	Puntos
1.-Cojeas / Rengueas	No	5
	Leve	3
	Severa y constante	0
		Puntos =
2.-Soporte	Camino sin soporte	5
	Necesito bastón o muletas	3
	No puedo apoyar	0
		Puntos =
3.-Subir escaleras	Sin problemas	10
	Levemente incapacitado	6
	Un paso a la vez	2
	No puedo	0
		Puntos =
4.-Ponerse en cuclillas	Sin problemas	5
	Levemente incapacitado	4
	Solo hasta 90 grados	2
	No puedo	0
		Puntos =
5.-Siento inestable (floja) mi rodilla	Nunca	25
	Rara vez con el ejercicio	20
	Frecuentemente con el ejercicio	15
	Ocasionalmente en las actividades de la vida diaria	10
	Frecuentemente en las actividades de la vida diaria	5
	A cada paso	0
		Puntos =
6.-Dolor al caminar	No	25
	Inconstante y leve con ejercicio severo	20
	Marcado durante ejercicio severo	15
	Marcado al caminar más de 2 km	10
	Marcado al caminar menos de 2km	5
	Constante y severo	0
7.-Inflamación al caminar	No	10
	Con ejercicio severo	6
	Con las actividades de la vida diaria	2
	Todo el tiempo	0
		Puntos =
8.-Bloqueo de la rodilla	No se bloquea	15
	Sensación de que se atora pero no se bloquea	10
	Se bloquea ocasionalmente	6
	Se bloquea frecuentemente	2
	Bloqueada actualmente	0
		Puntos =

FORMULARIO PARA LA EVALUACIÓN SUBJETIVA DE LA RODILLA (IKDC SUBJETIVO)

Nombre: _____

Fecha de Hoy _____ / _____ / _____ Fecha de la Lesión: _____ / _____ / _____
Día Mes Año Día Mes Año

SÍNTOMAS*:

*Evalúe sus síntomas al nivel más alto de actividad al cual usted piensa que podría funcionar sin síntomas significativos, aunque usted realmente no esté haciendo actividades a este nivel.

1. ¿Cuál es el nivel más alto de actividad que usted puede hacer sin tener dolor significativo en la rodilla?

- (4) Actividades muy agotadoras, tales como saltar o girar, como en el juego de baloncesto o fútbol
- (3) Actividades agotadoras, tales como trabajo físico pesado, esquiar o jugar tenis
- (2) Actividades moderadas, tales como trabajo físico moderado, correr o trotar
- (1) Actividades livianas, tales como caminar, hacer trabajos en la casa o en el patio
- (0) No puedo hacer ninguna de las actividades indicadas arriba, debido a dolor en la rodilla

2. Durante las últimas 4 semanas, o desde que ocurrió su lesión, ¿cuán frecuentemente ha tenido usted dolor?

Marque una casilla en la escala indicada abajo, que comienza en 0 (Constantemente) y aumenta progresivamente a 10 (Nunca)

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
Constantemente Nunca

3. Si usted tiene dolor, ¿cuán fuerte es el dolor?

Marque una casilla en la escala indicada abajo, que comienza en 0 (El peor dolor imaginable) y aumenta progresivamente a 10 (Ningún dolor)

0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10
El peor dolor imaginable Ningún dolor

4. Durante las últimas 4 semanas, o desde que ocurrió su lesión, ¿cuán tiesa (entumecida) o hinchada estaba su rodilla?

- (4) Nada
- (3) Levemente
- (2) Moderadamente
- (1) Mucho
- (0) Muchísimo

5. ¿Cuál es el nivel más alto de actividad que usted puede hacer sin que la rodilla se le hinche significativamente?

- (4) Actividades muy agotadoras, tales como saltar o girar, como en el juego de baloncesto o fútbol
- (3) Actividades agotadoras, tales como trabajo físico pesado, esquiar o jugar tenis
- (2) Actividades moderadas, tales como trabajo físico moderado, correr o trotar
- (1) Actividades livianas, tales como caminar, hacer trabajos en la casa o trabajos en el patio (jardín)
- (0) No puedo hacer ninguna de las actividades indicadas arriba, debido a hinchazón en la rodilla

6. Durante las últimas 4 semanas, o desde que ocurrió su lesión, ¿se le ha bloqueado o se le ha trabado temporalmente la rodilla?

- (1) No
- (0) Sí

7. ¿Cuál es el nivel más alto de actividad que usted puede hacer sin que la rodilla le falle (se luxe o sienta inestable)?

- (4) Actividades muy agotadoras, tales como saltar o girar, como en el juego de baloncesto o fútbol
- (3) Actividades agotadoras, tales como trabajo físico pesado, esquiar o jugar tenis
- (2) Actividades moderadas, tales como trabajo físico moderado, correr o trotar
- (1) Actividades livianas, tales como caminar, hacer trabajos en la casa o trabajos en el patio (jardín)
- (0) No puedo hacer ninguna de las actividades indicadas arriba, debido a que la rodilla me falla

ACTIVIDADES DEPORTIVAS:

8. ¿Cuál es el nivel más alto de actividad que usted puede hacer rutinariamente?

- (4) Actividades muy agotadoras, tales como saltar o girar, como en el juego de baloncesto o fútbol
- (3) Actividades agotadoras, tales como trabajo físico pesado, esquiar o jugar tenis
- (2) Actividades moderadas, tales como trabajo físico moderado, correr o trotar
- (1) Actividades livianas, tales como caminar, hacer trabajos en la casa o trabajos en el patio (jardín)
- (0) No puedo hacer ninguna de las actividades indicadas arriba, debido a la rodilla

9. Debido a su rodilla, ¿qué nivel de actividad tiene usted?, para:

	Ninguna dificultad	Dificultad Mínima	Dificultad moderada	Sumamente difícil	No puedo hacerlo
a. Subir escaleras	(4) <input type="checkbox"/>	(3) <input type="checkbox"/>	(2) <input type="checkbox"/>	(1) <input type="checkbox"/>	(0) <input type="checkbox"/>
b. Bajar escaleras	(4) <input type="checkbox"/>	(3) <input type="checkbox"/>	(2) <input type="checkbox"/>	(1) <input type="checkbox"/>	(0) <input type="checkbox"/>
c. Arrodillarse	(4) <input type="checkbox"/>	(3) <input type="checkbox"/>	(2) <input type="checkbox"/>	(1) <input type="checkbox"/>	(0) <input type="checkbox"/>
d. Agacharse	(4) <input type="checkbox"/>	(3) <input type="checkbox"/>	(2) <input type="checkbox"/>	(1) <input type="checkbox"/>	(0) <input type="checkbox"/>
e. Sentarse con la rodilla doblada	(4) <input type="checkbox"/>	(3) <input type="checkbox"/>	(2) <input type="checkbox"/>	(1) <input type="checkbox"/>	(0) <input type="checkbox"/>
f. Levantarse de una silla	(4) <input type="checkbox"/>	(3) <input type="checkbox"/>	(2) <input type="checkbox"/>	(1) <input type="checkbox"/>	(0) <input type="checkbox"/>
g. Correr hacia delante en dirección recta	(4) <input type="checkbox"/>	(3) <input type="checkbox"/>	(2) <input type="checkbox"/>	(1) <input type="checkbox"/>	(0) <input type="checkbox"/>
h. Saltar y caer con la pierna afectada	(4) <input type="checkbox"/>	(3) <input type="checkbox"/>	(2) <input type="checkbox"/>	(1) <input type="checkbox"/>	(0) <input type="checkbox"/>
i. Pararse y caminar rápido o correr	(4) <input type="checkbox"/>	(3) <input type="checkbox"/>	(2) <input type="checkbox"/>	(1) <input type="checkbox"/>	(0) <input type="checkbox"/>

FUNCIONAMIENTO:

10. ¿Cómo calificaría usted el funcionamiento de su rodilla, usando una escala de 0 a 10, donde 10 es funcionamiento normal y excelente, y donde 0 es la incapacidad de realizar ninguna de sus actividades diarias usuales, que podrían incluir deportes?

FUNCIONAMIENTO ACTUAL DE LA RODILLA:

No puedo realizar mis actividades diarias 0 1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 Sin limitación en las actividades diarias

ENCUESTA KOOS DE EVALUACIÓN RODILLA

Fecha actual: ____/____/____ Fecha de nacimiento: ____/____/____

Nombre: _____

INSTRUCCIONES: Esta es una encuesta que recoge su opinión sobre el estudio de su rodilla. La información que nos proporcione, servirá para saber como se siente con respecto a su rodilla y qué tan capaz es de realizar sus actividades diarias. Responda a cada pregunta marcando la casilla apropiada, sólo una casilla por pregunta. Si tiene alguna duda sobre como responder alguna pregunta, por favor proporcione la mejor respuesta posible.

Síntomas

Usted deberá responder estas preguntas considerando los síntomas (molestias) que pueda haber sentido en la rodilla durante la **última semana** (los 7 días previos).

S1. ¿Se le hincha la rodilla?

Nunca	Rara vez	A veces	Frecuentemente	Siempre
<input type="checkbox"/>				

S2. ¿Siente usted crujidos, chasquidos u otro tipo de ruidos cuando mueve su rodilla?

Nunca	Rara vez	A veces	Frecuentemente	Siempre
<input type="checkbox"/>				

S3. ¿Al moverse: ¿siente que su rodilla pierde estabilidad o se traba?

Nunca	Rara vez	A veces	Frecuentemente	Siempre
<input type="checkbox"/>				

S4. ¿Puede estirar completamente su rodilla?

Siempre	Frecuentemente	A veces	Rara vez	Nunca
<input type="checkbox"/>				

S5. ¿Puede flexionar completamente su rodilla?

Siempre	Frecuentemente	A veces	Rara vez	Nunca
<input type="checkbox"/>				

Entumecimiento

Las siguientes preguntas indagan sobre el grado de entumecimiento (rigidez) que ha experimentado en su rodilla durante la **última semana** (los 7 días previos). El entumecimiento (rigidez) es la sensación de falta de movilidad o lentitud al mover su rodilla.

S6. ¿Qué tan severo es el entumecimiento (rigidez) de su rodilla cuando se despierta por la mañana?

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

S7. ¿Qué tan severo es el entumecimiento (rigidez) de su rodilla, luego de sentarse, recostarse o descansar, **más tarde en el día?**

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

Dolor

P1. ¿Qué tan seguido siente dolor en la rodilla?

Nunca	Mensualmente	Semanalmente	A diario	Siempre
<input type="checkbox"/>				

¿Cuánto dolor de rodilla ha experimentado usted en la **última semana** (los 7 días previos) al realizar las siguientes actividades?

P2. Girar/impulsarse sobre su rodilla

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

P3. Estirar completamente la rodilla

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

P4. Flexionar completamente la rodilla

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

P5. Al caminar en una superficie plana

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

P6. Al subir o bajar las escaleras

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

P7. Por la noche mientras duerme

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

P8. Al estar sentado o recostado

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

P9. Al estar de pie

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

Actividades diarias

Las siguientes preguntas indagan sobre sus actividades físicas diarias. Es decir, su capacidad de moverse y valerse por sí mismo. Para cada una de las actividades mencionadas a continuación, indique el grado de dificultad experimentado en la **última semana** (los 7 días previos) con respecto a su rodilla.

A1. Al bajar las escaleras

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A2. Al subir las escaleras

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

Para cada una de las actividades mencionadas a continuación, indique el grado de dificultad experimentado durante la **última semana** (los 7 días previos) debido a su rodilla.

A3. Al levantarse después de estar sentado

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A4. Al estar de pie

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A5. Al agacharse o al recoger algo del piso

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A6. Al caminar en una superficie plana

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A7. Al subir o bajar de un carro

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A8. Al ir de compras

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A9. Al ponerse las medias

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A10. Al levantarse de la cama

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A11. Al quitarse los calcetines o las medias

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A12. Estando acostado (al voltearse, manteniendo la rodilla en una posición fija)

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A13. Al entrar o salir de la tina/ducha

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A14. Al estar sentado

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A15. Al sentarse o levantarse del water

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

Para cada una de las actividades mencionadas a continuación, indique el grado de dificultad experimentado durante la **última semana** (los 7 días previos) debido a su rodilla.

A16. Trabajos pesados de la casa (mover objetos pesados, limpiar los pisos, etc.)

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

A17. Trabajos ligeros de la casa (cocinar, barrer, etc.)

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

Actividades deportivas y recreacionales

Las siguientes preguntas indagan sobre sus actividades físicas al realizar actividades que requieran un mayor nivel de esfuerzo. Las preguntas deben responderse pensando en el grado de dificultad experimentado, debido a su rodilla, durante la **última semana** (los 7 días previos).

SP1. Ponerse en cuclillas

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

SP2. Correr

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

SP3. Saltar

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

SP4. Girar/impulsarse sobre la rodilla afectada

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

SP5. Arrodillarse

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

Calidad de vida

Q1. ¿Qué tan seguido es consciente del problema en su rodilla?

Nunca	Mensualmente	Semanalmente	A diario	Siempre
<input type="checkbox"/>				

Q2. ¿Ha modificado su estilo de vida para evitar actividades que podrían dañar su rodilla?

Para nada	Levemente	Moderadamente	Drásticamente	Totalmente
<input type="checkbox"/>				

Q3. ¿Qué tan preocupado está usted con la falta de seguridad de su rodilla?

Para nada	Levemente	Moderadamente	Drásticamente	Extremadamente
<input type="checkbox"/>				

Q4. En general: ¿cuánta dificultad tiene con su rodilla?

No tengo	Leve	Moderado	Severo	Muy severo
<input type="checkbox"/>				

Muchas gracias por contestar todas las preguntas de este cuestionario.

Anexo D. Artículo publicado en revista indexada: Cartilage.



Original Article

Arthroscopic Matrix-Encapsulated Autologous Chondrocyte Implantation: A Pilot Multicenter Investigation in Latin America

CARTILAGE
1-11
© The Author(s) 2020
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/1947603520918630
journals.sagepub.com/home/CAR

Enrique Villalobos¹, Antonio Madrazo-Ibarra², Valentín Martínez¹, Anell Olivos-Meza¹, Cristina Velasquillo¹, Socorro Cortés González¹, Aldo Izaguirre³, Carmina Ortega-Sánchez¹, Ricardo González¹, Carmen Parra-Cid¹, Francisco Javier Pérez-Jiménez¹, and Clemente Ibarra¹

Abstract

Objective. To evaluate minimum biosecurity parameters (MBP) for arthroscopic matrix-encapsulated autologous chondrocyte implantation (AMECI) based on patients' clinical outcomes, magnetic resonance imaging (MRI) T2-mapping, Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue (MOCART) score, and International Cartilage Repair Society (ICRS) second-look arthroscopic evaluation, laying the basis for a future multicenter study. **Design.** Pilot clinical study. We analyzed the logistics to perform AMECI to treat focal chondral lesions in different hospitals following strict biosecurity parameters related to tissue and construct transportation, chondrocyte isolation, and cell expansion. Patient progress was analyzed with patient-reported outcome measures, MRI T2-mapping, MOCART, and ICRS arthroscopic second-look evaluation. **Results.** Thirty-five lesions in 30 patients treated in 7 different hospitals were evaluated. Cell viability before implantation was >90%. Cell viability in construct remnants was $87\% \pm 11\%$ at 24 hours, $75\% \pm 17.1\%$ at 48 hours, and $60\% \pm 8\%$ at 72 hours after implantation. Mean final follow-up was 37 months (12-72 months). Patients showed statistically significant improvement in all clinical scores and MOCART evaluations. MRI T2-mapping evaluation showed significant decrease in relaxation time from 61.2 ± 14.3 to 42.9 ± 7.2 ms ($P < 0.05$). Arthroscopic second-look evaluation showed grade II "near normal" tissue in 83% of patients. Two treatment failures were documented. **Conclusions.** It was feasible to perform AMECI in 7 different institutions in a large metropolitan area following our biosecurity measures without any implant-related complication. Treated patients showed improvement in clinical, MRI T2-mapping, and MOCART scores, as well as a low failure rate and a favorable ICRS arthroscopic evaluation at a mid-term follow-up. **Level of Evidence.** 2b.

Keywords

matrix-assisted autologous chondrocyte implantation, T2-mapping, biosecurity parameters, AMECI, multicenter study

Introduction

Matrix-associated autologous chondrocyte transplantation (MACT) or third-generation autologous chondrocyte implantation (ACI) is a restorative treatment option for focal chondral lesions in the knee. Chondrocytes seeded onto scaffolds have overcome several problems related to first- and second-generation ACI such as periosteal patch hypertrophy, extensive suturing, and cell leakage; furthermore, it has allowed implantation to be arthroscopic, reducing the morbidity, surgical time, recovery, and complications related to surgery.¹⁻⁴ Since its introduction into clinical practice in 1998, MACT has shown positive clinical and imaging outcomes, as well as the formation of hyaline-like cartilage.^{1-3,5-8}

We have previously described an all arthroscopic matrix-encapsulated autologous chondrocyte implantation (AMECI) technique for cartilage repair, with evidence of

¹Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, Mexico City, DF, Mexico

²School of Medicine, Universidad Panamericana, Mexico City, Benito Juárez, Mexico

³Facultad de Medicina Dr. Alberto Romo, Universidad Autónoma de Tamaulipas, Tamaulipas, Mexico

Corresponding Author:

Clemente Ibarra, Instituto Nacional de Rehabilitación Luis Guillermo Ibarra Ibarra, Calz. México Xochimilco #289, Col. Arenal de Guadalupe, Delegación Xochimilco, C.P., 14389, Mexico City, DF, Mexico.
Email: clementebarra@yahoo.com

hyaline-like tissue formation in porcine models,⁹ as well as positive cell viability before and after arthroscopic implantation in equine models.¹⁰ Clinical studies with AMECI have shown safety and efficacy in young patients in a controlled scenario.^{3,6} Even before our technique was first described in 2014,³ several surgeons had been trained in order to reproduce this procedure elsewhere. Due to the positive findings in previous studies, we have decided to take our technique to a multicenter scenario.

Multicenter studies arise from the need to test intervention reproducibility under the usual conditions in which it will be applied.¹¹ Unlike single-center clinical trials, they have greater external validity since the intervention outcomes are not dependent on a specific surgeon or hospital.¹² Despite the countless benefits of these studies,¹³ several things must be established in order to carry out a multicenter study. Surgeons must be trained and "ideally" certified to perform the intervention correctly, strict biosecurity measures must be followed to ensure quality and reproducibility, and the tested procedure must have shown positive results in previous studies.¹⁴ Pilot studies help gather any missing part, as well as to analyze feasibility prior to performing a large-scale trial.¹⁵ Adequate biosecurity measures for new tissue engineering techniques in cartilage repair are fundamental for success and reproducibility in places far away from the "good manufacturing practices" (GMP) laboratory. Unfortunately, due to proprietary information, biosecurity measures for chondrocyte and construct transportation are vaguely described in MACT multicenter studies.^{5,8,16-20} The purpose of this study was to evaluate minimum biosecurity parameters (MBP) for our technique (AMECI) based on patient-reported outcome measures (PROMs), magnetic resonance imaging (MRI) T2-mapping, the Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue (MOCART) score, and International Cartilage Repair Society (ICRS) second-look arthroscopic evaluations in a pilot multicenter study. We hypothesize that after following MBPs for AMECI, patients will have a significant improvement in PROMs, cartilage quality on T2-mapping, MOCART scores, and second-look arthroscopic evaluations, with a low failure rate and no logistics implant-related complications, laying the basis for a future multicenter study in Latin America.

Methods

This pilot study was performed in a multicenter clinical setting with 7 different hospitals, including the National Institute of Rehabilitation "Luis Guillermo Ibarra Ibarra" (INRLGII), where the GMP laboratory for cellular expansion and implant construction is located. All hospitals were located in Mexico, in a radius of no more than 50 miles away from the GMP facility. The procedures were standardized and performed by fellowship-trained orthopedic surgeons. All surgeons were previously trained in the

arthroscopic implantation technique through a comprehensive program provided by the INRLGII where they received an instructional video, surgical manual, and the postoperative rehabilitation protocol. Patients were enrolled in any of the 7 participating hospitals, from January 2012 to December 2017. Inclusion criteria were patients 18 to 50 years of age, with symptomatic full thickness-cartilage lesion(s) ICRS grade III-IV diagnosed by MRI, on either femoral condyle, trochlea, or patella. Failed conservative treatment was not a mandatory inclusion criterion if patients were willing to undergo surgical treatment; however, all 7 participating hospitals are third-level referral hospitals with most of the patients being refractory to conservative measures before enrollment. All patients had bilateral knee anteroposterior, lateral and Merchant x-ray views, as well as a full-length weightbearing anteroposterior view prior to enrollment. Any misalignment in the mechanical axis of more than 25% away from the neutral line (either in varus or valgus) was considered for alignment osteotomy,²¹ and any tibial tuberosity-trochlear groove (TT-TG) distance greater than 20 mm at computed tomography (CT) scan was considered for Fulkerson osteotomy.²² Exclusion criteria included any systemic disease, arthritis or previous total meniscectomy, previous surgical chondral lesion repair, infection, or tumor in the knee. The study was performed following the Declaration of Helsinki and was approved by the local ethics committee and the internal review board, with approval number INRLGII: 67/17. Written informed consent was obtained from all patients.

Surgical Technique

We used a novel 100% arthroscopic technique to repair chondral defects with AMECI. Two surgical procedures were performed, both under regional anesthesia. During the first procedure, an arthroscopic cartilage biopsy was obtained, and the chondral lesion was debrided and measured. The second procedure, 6 to 8 weeks later, consisted on the arthroscopic chondrocyte implantation as previously described in detail.^{23,24} Any concomitant ligament, meniscus, or knee misalignment problem was addressed during the first procedure to avoid an intense inflammatory response in the implantation surgery since inflammation has been described as a nocive factor for cartilage, promoting degeneration and ossification.²⁵⁻²⁹

Cartilage Biopsy. During routine arthroscopy, chondral lesion(s) was/were identified, debrided, and measured. Two to 3 osteochondral biopsies were obtained from a non-weightbearing area on the lateral edge of the intercondylar notch with a 4-mm osteochondral graft harvester (COR; DePuy Mitek, Raynham, MA) (**Fig. 1a** and **b**). During the biopsy surgery, a 120-mL blood sample was obtained from the patient for autologous serum extraction.

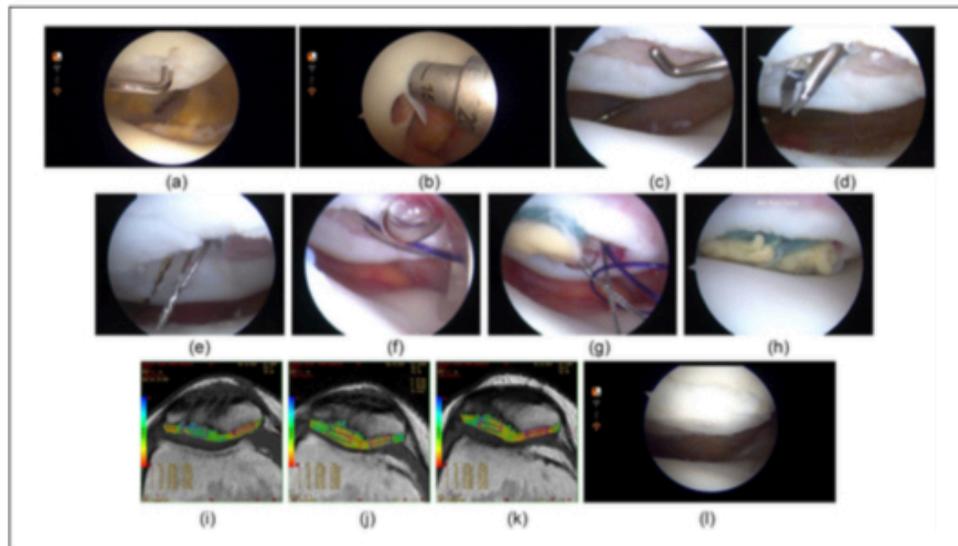


Figure 1. Surgical technique for arthroscopic matrix-encapsulated autologous chondrocyte implantation (AMECI), T2-mapping outcomes, and second look.

Biopsy surgery: (a) Patellar chondral lesion; (b) harvest of 4-mm osteochondral biopsy at notch; (c) a 2 cm² International Cartilage Repair Society (ICRS) grade IV chondral lesion after debridement. AMECI arthroscopic implantation on the patella: (d) Patellar retro-drilling with 2 Steinmann pin, (e) passing 2 suture shuttling through previous tunnels done at patella, (f) retrieval of both wires through the cannula, outside the knee, ends of the PDS (polydioxanone) suture with the construct were mounted to the wire loop, (g) first construct implanted and same steps repeated for next construct, (h) final implantation of 2 constructs at patella and dynamic stability verification. Evaluation: Magnetic resonance imaging (MRI) T2-mapping evaluation at (i) 3 months, (j) 9 months, and (k) 18 months. (l) Second-look arthroscopic evaluation at 18 months.

Arthroscopic Implantation on Femoral Condyles and Trochlea.

The chondral lesion was debrided using spoons and curettes, trying to form 8-mm circular lesions with healthy cartilage borders. A bioabsorbable mini anchor (DePuy Mitek, Inc., Raynham, MA) loaded with a 0 PDS suture was placed at the center of the defect. In a side surgical table, 2 needles (16G) were passed through the polymer (polyglycolic acid + chondrocytes) (Neovail Sheet, Gunze Medical Division, Tokyo, Japan), and the anchor sutures were passed through the needles. Using the anchor sutures in the polymer, a low-profile sliding arthroscopic knot was made to introduce the polymer into the joint through a clear 10-mm cannula (Smith & Nephew, Inc., Andover, MA) with the water pump decreased to gravity pressure. Implant stability was checked by dynamic arthroscopic evaluation. The procedure was repeated for each implant until the whole lesion was covered, as described in detail previously.^{3,23,24}

Arthroscopic Implantation on the Patella. The chondral lesion was debrided with a curette, trying to form 8-mm circular lesions (Fig. 1e). A tibial guide for anterior cruciate ligament reconstruction (ACL guide, DePuyMitek, Inc., Raynham, MA),

was placed inside the joint. A 2-cm-long mini approach was performed on the patella. The patella was drilled through the ACL guide with a 2 mm Steinmann pin through the joint in a "retro-drilling" way until the pin was visualized at one side of the chondral lesion. Following the same steps, a second perforation was made on the opposite side of the cartilage lesion, with no more than 4 mm between each pin (Fig. 1d). A suture shuttling device named Chia Percpasser (DePuy Mitek, Inc., Raynham, MA) was introduced through each perforation made by the pins in the patella (Fig. 1e). Both Chia Percpasser were recovered inside the joint and extracted toward one of the portals. At the same time, on a side surgical table, an assistant mounted the 8-mm cell-polymer construct with a 0 PDS suture using two 16G needles. Both ends of the PDS were mounted to the loop of each Chia Percpasser. The sutures were recovered by pulling the Chia from the anterior aspect of the patella at the extraarticular level (Fig. 1f). Each polymer bound to the PDS suture was introduced to the joint using a clear 10-mm cannula, decreasing the water pump pressure to gravity pressure (Fig. 1g). Once the polymer was firmly placed at the bottom of the chondral defect, a PDS knot was made at the anterior cortical surface of the patella. The process

Table 1. Minimum Biosecurity Parameters (MBP) Recommended for Arthroscopic Matrix-Encapsulated Autologous Chondrocyte Implantation (AMECI).

Activity	Time	Temperature (°C)	Humidity (%)	No. of Cells/Cell Viability	Screening
Biopsy kit request	>72 hours before biopsy surgery	—	—	—	Gram stain and culture
Transportation of biopsy kit	<72 hours	5-10	—	—	—
Lab → Hospital					
Biopsy transportation	<6 hours	5.5 ± 2.2	75.8 ± 7.6	—	—
Hospital → Lab					
Biopsy storage	<12 hours	4	71.9 ± 3.4	—	Donor serologic hepatitis, HIV, syphilis
Cell culture and expansion	6-8 weeks	37	80	PC: 230,000 cells First passage: 8.8 million cells Second passage: 18.4 million cells >90% viability	Bacteria, fungi, and mycoplasma
Construct transportation	<6 hours	19 ± 4.7	50.1 ± 15.5	Not evaluated	—
Lab → Hospital					
Remnant analysis* (after leaving GMP lab for implantation)	A. 24 hours B. 48 hours C. 72 hours	—	—	Cell viability A. 87.28% ± 11% B. 75% ± 17.1% C. 60% ± 8%	Bacteria

GMP = good manufacturing practices; PC = primary culture.

*Based on *in vitro* trial.

was repeated in case of a bigger lesion. Implant stability was verified by dynamic arthroscopic vision (Fig. 1h).

Tissue Handling and Transport

Cell Transportation and Biosecurity Measures. For patients to be scheduled for the procedure at institutions other than the INRLGII, surgeons had to request the biopsy kit 72 hours in advance. The biopsy kit included an insulated cooler, 4 to 6 gel ice packs, twenty 6-mL test tubes (Vacutainer) for blood samples, a test tube rack, and a sterile 30-mL polypropylene conical tube with 10 mL of culture medium Dulbecco's modified Eagle medium-F12 medium (DMEM) + 10% antibiotic/antimycotic solution (Dulbecco's modified Eagle Medium F12 GIBCO, Grand Island, NY). Osteochondral specimens obtained at biopsy surgery were placed inside the 30-mL conical tube with medium, and transported inside the cooler to the GMP lab, maintaining the temperature at an average of 5.5°C ± 2.2°C and humidity at an average of 75.82% ± 7.6%. All biopsies were delivered to the lab in less than 6 hours after obtention. For implantation surgery, once the cell-polymer constructs were ready, they were transported to the hospital in a similar 30-mL polypropylene sterile conical tube with 10 mL of culture medium + 10% antibiotic/antimycotic solution. The tube with the constructs was placed inside an insulated cooler with no ice at a temperature of 19.7°C ± 4.7°C, and humidity of 50.1% ± 15.5%. All constructs were

implanted in approximately 2 to 5 hours after leaving the GMP lab. All biosecurity measures followed in this pilot multicenter study are shown in Table 1.

Chondrocyte Isolation, Expansion, and Construct Formation.

Cartilage and blood samples were kept in the transportation tubes inside the cooler with gel ice packs and then at 4°C until isolation, normally performed within the first 12 hours after arriving to the lab. For security measures, serologic hepatitis, HIV, and syphilis screening was performed to all patients from their blood sample before processing the biopsy specimens. All procedures were performed under sterile conditions in a laminar flow hood in a class-100 clean room with positive pressure. The transported medium was removed, and samples were washed 3 times with sterile phosphate buffered saline + 10% antibiotic/antimycotic agents. Cartilage was separated from the osteochondral plug, chopped into small fragments with a scalpel and digested in class II collagenase (Worthington) for 4 to 5 hours. The enzymatic digestion was carried out at 37°C and constant agitation of approximately 200 rpm. Isolated chondrocytes were counted, and viability was assessed by trypan blue stain using a hemocytometer. Samples of the cell suspension were sent to an independent laboratory for microbiological evaluation (bacteria, fungi, mycoplasma). In the case of a positive screening test or culture, cell expansion was suspended. After quality control was verified, cells

were seeded onto a T25 culture flask (Primaria Falcon) at a density of 10,000/cm² with culture medium (DMEM), 1% antibiotic-antimycotic agents and 10% autologous serum. The culture flask was placed in an incubator at 37°C, 5% CO₂, and 80% humidity; culture medium was changed every 2 to 3 days. When 100% confluence was achieved, chondrocytes were detached with trypsin and re-seeded in culture flasks until passage 2. Cells could be cryopreserved before passage 2 if the implantation surgery was not scheduled within the next 8 weeks. At the beginning of passage 2, 33% of the cells were seeded onto a Petri dish with conventional culture medium supplemented with ascorbic acid (60 µg/mL) to induce monolayer formation, while the remaining cells were expanded in T75 flasks at a concentration of 25,000 cell/cm². Once chondrocytes in passage 2 reached 100% confluence, cells in the T75 culture flask were separated and centrifuged for 10 minutes at 1500 rpm to obtain a pellet of chondrocytes. Chondrocytes expanded in monolayer were detached from the Petri dish bottom using a cell scraper. An 8-mm diameter polyglycolic acid scaffold disc (Neoveil Sheet, Gunze Medical Division, Tokyo, Japan) was placed over this monolayer and the pellet of chondrocytes was carefully placed on top of the scaffold. Finally, the cell-polymer scaffolds were enveloped with the cell-matrix monolayer using sterile surgical forceps.¹⁰ The constructs were cultured for 1 week to allow cell adherence and matrix production. Constructs were sent to the implantation facility on the same day of the second surgical procedure in sterile containers with culture medium.

Rehabilitation Protocol

After surgery, all patients underwent rehabilitation following the same protocol. Pain control medications such as non-steroidal anti-inflammatory drugs (NSAIDs) were indicated for 5 to 7 days period, Acetaminophen or low-intensity opioids were allowed as needed for pain after biopsy or implantation surgery. No intra-articular injections were allowed for the following 2 years after the implantation surgery. After the biopsy procedure, partial weightbearing assisted with crutches was indicated for 2 weeks, followed by full weightbearing. If patients underwent another concomitant procedure, a different rehabilitation protocol was followed depending on the assessed problem. After the implantation surgery, isometric quadiceps exercises were started at day 1 postoperatively (PO). Patients with defects in the tibiofemoral joint had touchdown weightbearing assisted with crutches, and used a hinged knee brace for 6 weeks, allowing progressive knee mobilization since day 1. Patients with patellofemoral joint lesions had partial weightbearing assisted with crutches and a knee brace locked in full extension for walking during the first 6 weeks. Regardless of the defect location, the range of motion was increased progressively following the continuous passive motion (CPM) protocol. Passive motion exercises with CPM were done 4 to 6

hours daily, intermittently, starting on day 3 PO at 0° to 40°. Each week, 10° of flexion was increased until complete range of motion was obtained at 6 to 8 weeks approximately. Progressive open-chain strengthening was initiated after a first isokinetic evaluation at 4 months PO. Unloader braces were not indicated, instead, patients were instructed to use crutches for nonweightbearing or partial weightbearing. Patients returned to high-demand sports activities after 12 months and when isokinetic evaluation reported 90% of the strength of the contralateral extensor and flexor muscles of the knee.^{3,10}

Evaluation

Viability and Cell Density. Cell density and viability was assessed in all patients using trypan blue stain in a hemocytometer after chondrocyte isolation, before passage 1, and before passage 2 during cell culture. Spare cell-polymer constructs that were not used for implantation in patients were analyzed for cell viability with the LIVE/DEAD kit (Calcein AM/Ethidium homodimer -1, Molecular Probes, Invitrogen) at 24 hours after leaving the lab for implantation. One patient's remnants were also evaluated for cell viability at 48 and 72 hours. Polymer remnants were kept in the same conditions as they were transported from the lab to the operating room for implantation.

Clinical Evaluation. PROMs were used to evaluate symptoms and functionality. Lysholm, Tegner, subjective International Knee Documentation Committee (IKDC), Knee injury and Osteoarthritis Outcome Score (KOOS) with its 5 subscales, and Kujala scores were documented preoperatively and at final follow-up.

Second-Look Arthroscopy. A second-look arthroscopy was made at 12 to 18 months PO in patients who agreed and gave written consent. An experienced arthroscopic surgeon, different from the implantation surgeon, carried out the evaluation using the ICRS Cartilage Repair Assessment (CRA)^{31,32} by watching the surgical video. No histologic analysis of repair tissue was performed.

Magnetic Resonance Imaging Evaluation. For imaging evaluation, we used T2-mapping and the MOCART 2.0 score.^{33,34} T2-mapping was taken preoperatively, at 12 months PO and at final follow-up. MOCART scores were taken at 3 and 12 months PO, and at final follow-up. MRI was performed on a 1.5-T clinical imaging system (GE Healthcare, Milwaukee WI), using an 8-channel HD knee array (GE Healthcare). Standard morphologic MRI evaluation was performed using a fast spin-echo sequence in the axial, sagittal, and coronal planes. Images were acquired with a repetition time of 1800 to 1450 ms, echo time of 30 to 40 ms, echo train length of 6, and spatial resolution of 256 mm (frequency), 256 mm (phase), 3 mm at 2 excitations.

T2-mapping (FuncTool 4.5.1, GE Healthcare, Little Chalfont, Buckinghamshire, UK) was performed to assess the biochemical integrity of native and repaired cartilage. The color map is coded to capture T2 values ranging from 25 to 91 ms. Quantitative T2-mapping was performed using a multislice multiecho pulse sequence. Eight echoes were sampled: sequential multiples of the first echo time (10-11 ms) at a repetition time of 800 ms and in-plane resolution of 384 mm (frequency), 256 mm (phase), 3 mm at 2 excitations. Data sets were analyzed (FuncTool 4.5.1; GE Healthcare). T2 values were calculated taking 6 regions of interest (ROIs). ROI 1 and 2 were 2-mm² rectangular areas located in the healthy native cartilage next to the implanted region. ROI 1 was positioned in the deep layer of the cartilage while ROI 2 was placed on the superficial layer. ROI 3 was a 4-mm² rectangular area that included ROI 1 and ROI 2, making this the average score. ROIs 4, 5, and 6 were sized, shaped, and placed in the same manner as the previous ones but over the repaired cartilage. The values of the 6 ROIs were recorded (Fig. 1i-k). ROI 3 was used as the "Native ROI" and ROI 6 was used as the "Repair ROI."

The qualitative evaluation of cartilage repair was performed by an independent cartilage expert radiologist using the MOCART 2.0 score and the visual examples presented in the original article. Two planes were used to grade the MOCART score.

Treatment Failure

Failure was defined as the need for reoperation due to symptoms caused by the primary defect as used in previous studies.^{2,35} Second-look arthroscopy for outcome evaluation was not considered a treatment failure.

Statistical Analysis

All continuous data were expressed in terms of mean \pm SD; the categorical data were expressed as frequencies and percentages. Shapiro-Wilk test was performed to assess the normality of continuous variables. Initial PROM, T2-mapping, and MOCART (3 months PO) were compared with final follow-up scores using Student *t* test if the distribution was normal, and nonparametric tests if not. *P* values <0.05 were considered statistically significant. Statistical analysis was done using SPSS software version 20 (IBM Corp.).

Results

Viability and Cell Density

The average cell count with trypan blue stain starting the primary culture was 230,000 cells, 8.8 million cells starting the first passage, and 18.4 million cells starting the second passage with a viability of >90%. Six patients had spare constructs after implantation surgery and were returned to

lab for viability evaluation after 24 hours with the LIVE/DEAD kit obtaining an average of 87.28% \pm 11%. Remnants of 1 patient were also evaluated at 48 and 72 hours with average cell viability of 75% \pm 17.1% and 60% \pm 8%, respectively. Remnants or culture medium were also cultured and tested for bacteria contamination 48 hours after leaving the lab for implantation, documenting no cell-polymer construct contamination (Table 1).

Patient Data and Baseline Characteristics

Between 2012 and 2017, a total of 30 patients were included in the study from 7 different hospitals in Mexico. Out of the 30 patients, 1 patient was lost during follow-up. We report on 35 chondral lesions found and treated in 29 different patients with a mean final follow-up of 37 months (12-72 months). The demographic characteristics of the population are shown in Table 2.

Clinical Outcomes

There was a statistically significant improvement in all patients from preoperative scores to final follow-up (Fig. 2) with a weighted improvement of 25.6 points in Lysholm, 2.7 in Tegner, 20.7 in IKDC(S), 20.4 in Kujala, 33.4 in KOOS-SR (sports and recreation), 35.1 in KOOS-QoL (quality of life), 25.8 KOOS-P (pain), 17.4 KOOS-S (symptoms), and 23.9 in KOOS-ADL (activities of daily living).

Magnetic Resonance Imaging Evaluation

Quantitative MRI T2-mapping evaluation with the ROIs (Fig. 1i-k) and MOCART scores are shown in Table 3. The repair ROI showed a statistically significant decrease from 61.2 \pm 14.3 to 42.9 \pm 7.2 at final follow-up (*P* < 0.05). Native ROI had no significant changes from preoperative to final follow-up values (*P* = 0.755). MOCART scores increased from 45.4 \pm 15.7 at 3 months PO to 70.14 \pm 12.6 at final follow-up with a significant *P* value (*P* < 0.05). Complete volume fill of cartilage defect was found in more than 60% of the repair lesions, and complete integration into adjacent cartilage or <2-mm interface in 88%.

Second-Look Evaluation

Twelve patients accepted an arthroscopic second look at 12 to 18 months postoperative. Out of the 12 patients, 10 (83%) had a grade II "near normal" cartilage repair, with a mean score of 8.7 \pm 1.9 ICRS CRA (Fig. 1f).^{31,32}

Failures

There were 2 failures in patients from INRLGII: one with a patellar lesion who underwent reoperation for graft

Table 2. Demographic Characteristics of the Population (Patients N = 29; Lesions = 35).

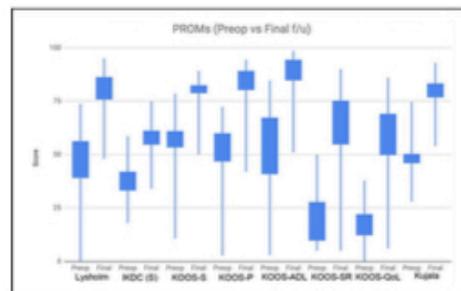
Characteristic	Value
Sex, n (%)	
Female	12 (41.4)
Male	17 (58.6)
Age, years, mean \pm SD	34.5 \pm 9.3
BMI, kg/m ² , mean \pm SD	24.5 \pm 2.9
Chondral lesion	
Defect size, cm ² , mean \pm SD	1.9 \pm 1.6
ICRS classification, n (%)	
III	5 (14.3)
IV	30 (85.7)
Location, n (%)	
Medial femoral condyle	8 (22.9)
Lateral femoral condyle	7 (20.0)
Trochlea	9 (25.7)
Patella	11 (31.4)
Single lesion, n (%)	24 (82.7)
Concomitant surgery, n (%)	17 (58.6)
ACL	4 (13.8)
Medial meniscectomy	1 (3.4)
Lateral meniscectomy	2 (6.9)
MM repair	2 (6.9)
LM repair	2 (6.9)
Fulkerson osteotomy	2 (6.9)
LRR	4 (12.8)
None	12 (41.4)

BMI = body mass index; ACL = anterior cruciate ligament; MM = medial meniscus; LM = lateral meniscus; LRR = lateral retinaculum release.

debridement, chondroplasty, and lateral retinaculum release after 18 months of implantation and the other with a lateral femoral condyle lesion and an uncorrected marginal alignment in valgus who underwent reoperation after 72 months PO for chondroplasty and subsequent multimodal nonoperative approach. There were no infections, neoplasia, or knee replacements in patients in this study up to the final follow-up. All patients, including these 2 failures, were included in the final analysis.

Discussion

We report on 30 patients (35 lesions) treated with AMECI for focal cartilage lesions in the knee. All patients showed a statistically significant improvement in all clinical scores, quantitative MRI evaluation with T2-mapping, and MOCART scores at final follow-up (mean 37 months; range 12-72 months). Second-look arthroscopic evaluation was considered "near normal" by the ICRS Macroscopic Evaluation Score in 10 out of 12 who accepted the intervention. ROI values of the repair

**Figure 2.** Patient-reported outcome measures (preoperative versus final follow-up).

IKDC = International Knee Documentation Committee; KOOS = Knee Injury and Osteoarthritis Outcome Score; QoL = quality of life; preop = preoperative; final follow-up = 37 months (12-72 months). *P* values in all preop vs final follow-up scores were <0.05.

cartilage decreased over time to values almost identical to the native cartilage at T2-mapping evaluation. This behavior accompanied by a favorable macroscopic appearance could suggest the formation of hyaline-like cartilage. Only 1 patient was lost to follow-up after 6 months PO evaluation. The patient was having a favorable clinical and imaging progress with neither adverse events nor significant differences with the other patients evaluated. Our construct viability was more than 90% before implantation. Viability of remnants from a small sample of our patients was 87% at 24 hours ($n = 6$) and 75% at 48 hours ($n = 1$) after leaving the lab for implantation surgery, meaning the construct could be transported and implanted in centers at a 24- to 48-hour trip range without having major cell loss and with no contamination. A more detailed positive evaluation of our construct viability before and after arthroscopic implantation was previously described in a preclinical study using cells transduced with adenoviral vector with green fluorescent protein (AdGFP).¹⁰ In our institution, we have conducted a pilot study,³ a randomized controlled trial,⁶ and this pilot multicenter study using AMECI, reporting positive clinical, imaging and second-look arthroscopic outcomes in more than 60 patients. Comparing the results obtained in this pilot multicenter study with our previous studies,^{3,6} Lysholm, Tegner, and IKDC(S) scores at 36 months PO were similar to the ones observed here. T2-mapping scores in all studies showed decreasing values of the repair cartilage ROIs and constant native cartilage values. MOCART scores showed an increase in overall grades ending with a mean grade at follow-up greater than 70 points in all studies.

Micheli *et al.*³⁶ published the first multicenter study using ACI in 2001. They evaluated 50 patients from 19 different centers who had positive outcomes after the surgery,

Table 3. T2-Mapping and MOCART Evaluation.

MRI Evaluation	MRI Outcomes			
	Preoperative	12 Months PO	Final Follow-Up	P (Preoperative vs Final)
T2 values native ROI	40.8 ± 6.1	40.4 ± 6.5	40.7 ± 7.1	0.755
T2 values repair ROI	61.2 ± 14.3	43.5 ± 6.4	42.9 ± 7.2	0.000
MOCART	45.4 ± 15.7 ^a	59.1 ± 21	70.14 ± 12.6	0.000

MRI = magnetic resonance imaging; PO = postoperative; ROI = region of interest; MOCART = magnetic resonance observation of cartilage repair tissue; final follow-up = 37 months (12-72 months).

^a3 months postoperatively.

demonstrating the safety and efficacy of ACI. Chondrocytes were isolated and cultured in the same facility, the implantation technique was standardized, and strict biosecurity measures (previously described by Mayhew *et al.*³⁷) were followed to ensure reproducibility. Marraacci *et al.*¹⁶ published the first multicenter study using matrix-induced autologous chondrocyte implantation in 2005, showing positive clinical outcomes in 141 patients from 11 different centers. To date, there are only 7 published multicenter studies for MACT,^{5,8,16-20} in which clinical outcomes, MRI MOCART, and second-look evaluation were assessed after matrix-based ACI techniques similar to the present study (Table 4). However, none of these multicenter studies evaluating MACT outcomes has described their biosecurity parameters in detail.

Schuette *et al.*² in a recent systematic review of mid- to long-term clinical outcomes after MACT showed an increase in both Tegner and KOOS scores with a weighted improvement (averaging their tibiofemoral and patellofemoral results) of 2.6 points in Tegner, 34.5 in KOOS-SR, 31.2 in KOOS-QoL, 21.4 KOOS-P, 18.5 KOOS-S, and 18 in KOOS-ADL. We obtained similar clinical outcomes at medium-term follow-up, as shown in Table 4. In 2018, Ogura *et al.*³⁸ came up with the minimal clinically important differences (MCID) after MACT. Ninety-two patients were evaluated with at least 2 years of follow-up after surgery, and concluded that patients had to have a minimum increase in specific values in order to present a clear symptomatic improvement, as follows: Improvement between 4.2 and 10.5 points in the Lysholm score, between 10.8 and 16.4 for IKDC, between 3.6 and 8.4 for KOOS-S, between 11 and 18.8 for KOOS-P, between 9.2 and 17.3 for KOOS-ADL, between 12.5 and 18.5 for KOOS-SR, and between 12.8 and 19.6 for KOOS-QoL. In our prospective pilot/multicentric study, patients showed a clinical improvement that surpassed the thresholds established by Ogura *et al.*, as shown in Table 4.

Niethammer *et al.*³⁹ in a prospective study evaluated patient progress with MRI T2-mapping at 36 months PO after matrix-based ACI. They observed that T2 relaxation time values of the repaired tissue decreased from 41.6 ms at 6 months PO, to 39.3 ms at 12 months PO, to 30.9 ms at

36 months PO. They did not find statistically significant differences between native cartilage and repair tissue at 36 months PO. Similar to them, we found a constant decrease in relaxation time values in the repair tissue, reaching close to native cartilage values at final follow-up (Table 3).

Based on our results, the efficacy of our biosecurity measures seems to be reliable and reproducible, suggesting that other groups could reproduce the results with our technique by following our established Minimum Biosecurity Parameters (MBP), as well as to lay the basis for a future multicenter study in Mexico and eventually other Latin American countries.

As limitations of our study we consider that viability and cell density at time of implantation was not evaluated, we propose this as a mandatory biosecurity parameter for a future larger multicenter study. Our arthroscopic implantation technique requires the use of suture anchors placed in the subchondral bone, as well as drilling through bone to secure constructs in patellar lesions. This implicates damage to the subchondral bone with subsequent bleeding, with the potential of generating repair tissue with mixed cell types. Despite this, anchors help us recognize the lesion location during MRI evaluation, making sure the correct region is being analyzed. Another limitation is that histological analysis of repair tissue was not performed after the second-look arthroscopic evaluation because biopsy of repair tissue in asymptomatic patients was not allowed by the local ethics committee and the internal review board.

Strengths of this study are as follows: evaluations were made by independent clinical investigators with no commercial funding or conflict of interest, it was performed in a real-world scenario with regular independent orthopedic practices and no controlled scenario, and the patients were evaluated in a multimodal way with few studies having such a complete evaluation (Table 4).

In conclusion, the study suggests that by following our established MBP for AMECI, favorable clinical, imaging, and second-look arthroscopic outcomes, may be obtained, laying the basis for a future large-scale multicenter study in Mexico and eventually other Latin American countries.

Table 4. Matrix-Associated Autologous Chondrocyte Transplantation: Multicenter Studies.

Author (s)	Year	Study	Country/Region	Technique	Population	Follow-Up	Outcome Measures	Lysolain	Tegner	IKDC(I)	KOOS	Kujala	VAS	ICRS Second Look	HOCART	T2-Mapping	Comments
Marcacci et al.	2005	Multicenter retrospective cohort	Italy	Hyalograft C	N = 141	38 months	IKDC, ICRS, second-look evaluation, MRI, histologic evaluation			78.6 ± 20.2				36.4% normal 60% nearly normal 1.8% abnormal 1.8% severely abnormal			The majority of the biopsies taken showed hyaline-like cartilage
Gobbli et al.	2006	Multicenter case series	Italy	Hyalograft C	N = 32	24 months	IKDC, ICRS, second-look evaluation			73.6				Mean score: 102 100% nearly normal			68% biopsies with hyaline-like cartilage 33% biopsies with mixed tissue
Takahara et al.	2009	Multicenter	Japan	Autologous-associated chondrocyte implantation	N = 27	24 months	Lysolain, second-look evaluation, MRI, histologic evaluation, ICRS	89.8 ± 9.5						24% normal 68% nearly normal 4% abnormal 4% severely abnormal			
Schneider et al.	2011	Prospective multicenter	Germany	Cartus	N = 116	Mean: 30.2 months	IKDC, VAS, SF-36			70.5 ± 18.7 at 24 months 70.2 ± 18.1 at 36 months							
Enea et al.	2012	Prospective multicenter	Italy	MAC	N = 33	Mean: 15 months	Second-look evaluation, ICRS, histologic evaluation							30.3% normal 51.5% nearly normal 12.2% abnormal 6.1% severely abnormal			21% biopsies had hyaline-like cartilage
Angeli et al.	2015	Retrospective multicenter	Germany	NID	N = 421	Mean: 6.9 months	VAS (pain, swelling, function), gene expression prior to implantation										Gene-related complications greater in patellar or degenerative lesions Greater volume of cartilage in grafts with greater expression of FLT-1 or IL-1β mRNA
Haburg et al.	2019	Retrospective multicenter	Germany	collon	N = 71	Mean: 63.3 months	MRI, Lysolain, IKDC, KOOS, HOCART			86.5 ± 15.2					77.2 ± 11.2		
Current study: Villalobos et al.	2020	Pilot multicenter study	Mexico/Latin America	AMRO	N = 29 (15 lesions)	Mean: 37 months	Lysolain, Tegner, second-look evaluation, MRI, ICRS, HOCART, MRI T2-mapping	84.5 ± 13.2 21.6 ± 27.6	5.1 ± 2.3 2.7 ± 2.2	64.92 ± 16.6 20.7 ± 15.8	Symptoms: 81.6 ± 7.0 Pain: 94.9 ± 8.9 ADL: 94.2 ± 7.9 SR: 77.7 ± 21.2 QoL: 69.0 ± 22.3	70.14 ± 12.6	Mean score: 87 ± 1.9 0% normal 17% nearly normal 0% severely abnormal	70.14 ± 12.6	Regular tissue: 43.9 ± 7.2 Current tissue: 46.7 ± 7.1		

IKDC = International Knee Documentation Committee; KOOS = Knee Injury and Outcome Score; ADL = activities of daily living; QoL = quality of life; SR = sports and recreation; VAS = visual analogue scale; WI = weighted improvement; HOCART = Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue.

Acknowledgments and Funding

We thank grant support from the National Council of Science and Technology (CONACYT SALUD 2017-02-290541). We also thank Arturo Almazán, MD, and Jorge Aziz, MD, for being part of this study as certified surgeons for AMECI. Francisco Cruz, MD, who contributed on developing the AMECI technique for lesions in the patella, Reynaldo Arredondo, MD, Amara Gantier, MD, and Andrés Cabal, MD, that contributed in the clinical and radiological follow-up of patients during their fellowship. Finally, thanks to Jorge Zamora-Quezada, MD, for his scientific and ethical support to first author EV in this project.

Declaration of Conflicting Interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Ethical Approval

The study was performed following the Declaration of Helsinki and was approved by the local ethics committee and the internal review board (approval number INRLGII: 67/17).

Informed Consent

Written informed consent was obtained from all patients.

Trial Registration

Not applicable.

ORCID iDs

Enrique Villalobos  <https://orcid.org/0000-0002-7702-1630>
 Antonio Madrazo-Ibarra  <https://orcid.org/0000-0002-6987-6858>
 Valentin Martínez  <https://orcid.org/0000-0001-9607-4327>
 Anell Olivos-Meza  <https://orcid.org/0000-0002-7008-0945>
 Aldo Izaguirre  <https://orcid.org/0000-0001-5769-9359>
 Carmina Ortega-Sánchez  <https://orcid.org/0000-0001-8028-272X>
 Ricardo González  <https://orcid.org/0000-0003-4530-4182>

References

- Kon E, Filardo G, Di Matteo B, Perdisa F, Marcacci M. Matrix assisted autologous chondrocyte transplantation for cartilage treatment: a systematic review. *Bone Joint Res.* 2013;2(2):18-25.
- Schuetz HB, Kraeutler MJ, McCarty EC. Matrix-assisted autologous chondrocyte transplantation in the knee: a systematic review of mid- to long-term clinical outcomes. *Orthop J Sports Med.* 2017;5(6):232596711770925.
- Ibarra C, Izaguirre A, Villalobos E, Masri M, Lombardero G, Martínez V, *et al.* Follow-up of a new arthroscopic technique for implantation of matrix-encapsulated autologous chondrocytes in the knee. *Arthroscopy.* 2014;30(6):715-23.
- Ergelet C, Sittlinger M, Lahm A. The arthroscopic implantation of autologous chondrocytes for the treatment of full-thickness cartilage defects of the knee joint. *Arthroscopy.* 2003;19(1):108-10.
- Schneider U, Rackwitz L, Anderoya S, Siebenlist S, Fensky F, Reichert J, *et al.* A prospective multicenter study on the outcome of type I collagen hydrogel-based autologous chondrocyte implantation (CaReS) for the repair of articular cartilage defects in the knee. *Am J Sports Med.* 2011;39(12):2558-65.
- Meza AO, González SC, Garza JF, Jiménez FJP, Enrique VC, Ibarra C. Arthroscopic treatment of patellar and trochlear cartilage lesions with matrix encapsulated chondrocyte implantation versus microfracture: quantitative assessment with MRI T2-mapping and MOCART at 4-year follow-up. *Cartilage.* Epub 2019 April 3. doi:10.1177/1947603519835909
- Wylie JD, Hartley MK, Kapron AL, Aoki SK, Maak TG. Failures and reoperations after matrix-assisted cartilage repair of the knee: a systematic review. *Arthroscopy.* 2016;32(2):386-92.
- Enea D, Ceconi S, Busilacchi A, Manzotti S, Gesuita R, Gigante A. Matrix-induced autologous chondrocyte implantation (MACT) in the knee. *Knee Surg Sports Traumatol Arthrosc.* 2012;20(5):862-9.
- Córdoba FEV, Martínez CV, López VM, Butrón HL, Marín BR, Villaseñor EE, *et al.* Results of the experimental repair of osteochondral lesions in a pig model using tissue engineering [in Spanish]. *Acta Ortop Mex.* 2007;21(4):217-23.
- Masri M, Lombardero G, Velasquillo C, Martínez V, Neri R, Villegas H, *et al.* Matrix-encapsulation cell-seeding technique to prevent cell detachment during arthroscopic implantation of matrix-induced autologous chondrocytes. *Arthroscopy.* 2007;23(8):877-83.
- Schwartz D, Lellouch J. Explanatory and pragmatic attitudes in therapeutic trials. *J Chronic Dis.* 1967;20(8):637-48.
- Ford I, Norrie J. Pragmatic trials. *N Engl J Med.* 2016;375(5):454-63.
- Youssef N, Reinhart K, Sakr Y. The pros and cons of multicentre studies. *Netherlands J Crit Care.* 2008;12(3):120-2.
- Sabin CA. Clinical trials: a practical guide to design, analysis and reporting. *Clin Med (Lond).* 2006;6(6):619-20.
- In J. Introduction of a pilot study. *Korean J Anesthesiol.* 2017;70(6):601-5.
- Marcacci M, Berruto M, Brocchetta D, Dekoglian A, Ghinelli D, Gobbi A, *et al.* Articular cartilage engineering with hyalograf C: 3-year clinical results. *Clin Orthop.* 2005;(435):96-105.
- Gobbi A, Kon E, Berruto M, Francisco R, Filardo G, Marcacci M. Patellofemoral full-thickness chondral defects treated with Hyalograf-C: a clinical, arthroscopic, and histologic review. *Am J Sports Med.* 2006;34(11):1763-73.
- Tohyama H, Yasuda K, Minami A, Majima T, Iwasaki N, Muneta T, *et al.* Atelocollagen-associated autologous chondrocyte implantation for the repair of chondral defects of the knee: a prospective multicenter clinical trial in Japan. *J Orthop Sci.* 2009;14(5):579-88.
- Angele P, Fritz J, Albrecht D, Koh J, Zellner J. Defect type, localization and marker gene expression determines early adverse events of matrix-associated autologous chondrocyte implantation. *Injury.* 2015;46(Suppl 4):S2-S9.
- Hoburg A, Lör I, Körsmeier K, Siebold R, Niemeier P, Fickert S, *et al.* Matrix-associated autologous chondrocyte implantation is an effective treatment at midterm follow-up

- in adolescents and young adults. *Orthop J Sports Med.* 2019; 7(4):232596711984107.
21. Steadman JR, Rodkey WG, Briggs KK. Microfracture: its history and experience of the developing surgeon. *Cartilage.* 2010;1(2):78-86.
 22. Schoettle PB, Zanetti M, Seifert B, Pfirrmann CWA, Fucentese SF, Romero J. The tibial tuberosity-trochlear groove distance; a comparative study between CT and MRI scaming. *Knee.* 2006;13(1):26-31.
 23. Olivos-Meza A, Madrazo-Ibarra A, de León CIP. Arthroscopic technique to treat articular cartilage lesions in the patellofemoral joint. In: *Recent advances in arthroscopic surgery.* InTech; 2018. Available from: <http://www.intechopen.com/books/recent-advances-in-arthroscopic-surgery/arthroscopic-technique-to-treat-articular-cartilage-lesions-in-the-patellofemoral-joint>
 24. Villalobos E Jr, Olivos-Meza A, Izaguirre A, Ibarra C. Arthroscopic approaches for cartilage repair in the knee joint. In: Emans PJ, Peterson L, eds. *Developing insights in cartilage repair.* London: Springer; 2014. p. 227-39. Available from: http://link.springer.com/10.1007/978-1-4471-5385-6_13
 25. Hunter DJ, Bierma-Zeinstra S. Osteoarthritis. *Lancet.* 2019;393(10182):1745-59.
 26. Martel-Pelletier J, Barr AJ, Cicuttini FM, Conaghan PG, Cooper C, Goldring MB, et al. Osteoarthritis. *Nat Rev Dis Primers.* 2016;2(1):16072.
 27. Jacobs CA, Hunt ER, Conley CE-W, Johnson DL, Stone AV, Huebner JL, et al. Dysregulated inflammatory response related to cartilage degradation after ACL injury. *Med Sci Sports Exerc.* 2020;52(3):535-41.
 28. Lattermann C, Conley CE-W, Johnson DL, Reinke EK, Huston LJ, Huebner JL, et al. Select biomarkers on the day of anterior cruciate ligament reconstruction predict poor patient-reported outcomes at 2-year follow-up: a pilot study. *Biomed Res Int.* 2018;2018:9387809.
 29. Lattermann C, Jacobs CA, Bunnell MP, Huston LJ, Gammon LG, Johnson DL, et al. A multicenter study of early anti-inflammatory treatment in patients with acute anterior cruciate ligament tear. *Am J Sports Med.* 2017;45(2):325-33.
 30. Everhart JS, Jiang EX, Poland SG, Du A, Flanigan DC. Failures, reoperations, and improvement in knee symptoms following matrix-assisted autologous chondrocyte transplantation: a meta-analysis of prospective comparative trials. *Cartilage.* Epub 2019 September 11. doi:10.1177/1947603519870861
 31. 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(14):889-95.
 32. Peterson L, Minas T, Brittberg M, Nilsson A, Sjogren-Jansson E, Lindahl A. Two- to 9-year outcome after autologous chondrocyte transplantation of the knee. *Clin Orthop Relat Res.* 2000;(374):212-34.
 33. 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(1):16-23.
 34. Schreiner MM, Raudner M, Marlovits S, Bohndorf K, Weber M, Zalaudek M, et al. The MOCART (Magnetic Resonance Observation of Cartilage Repair Tissue) 2.0 Knee Score and Atlas. *Cartilage.* Epub 2019 August 17. doi:10.1177/1947603519865308
 35. Minas T, Von Keudell A, Bryant T, Gomoll AH. The John Insall Award: a minimum 10-year outcome study of autologous chondrocyte implantation. *Clin Orthop Relat Res.* 2014;472(1):41-51.
 36. Micheli LJ, Browne JE, Erggelet C, Fu F, Mandelbaum B, Moseley JB, F. Autologous chondrocyte implantation of the knee: multicenter experience and minimum 3-year follow-up. *Clin J Sport Med.* 2001;11(4):223-8.
 37. Mayhew TA, Williams GR, Senica MA, Kuniholm G, Du Moulin GC. Validation of a quality assurance program for autologous cultured chondrocyte implantation. *Tissue Eng.* 1998;4(3):325-34.
 38. Ogura T, Ackermann J, Barbieri Mestriner A, Merkely G, Gomoll AH. Minimal clinically important differences and substantial clinical benefit in patient-reported outcome measures after autologous chondrocyte implantation. *Cartilage.* Epub 2018 September 15. doi:10.1177/1947603518799839
 39. Niethammer TR, Safi E, Ficklscherer A, Horg A, Feist M, Feist-Pagenstert I, et al. Graft maturation of autologous chondrocyte implantation: magnetic resonance investigation with T2 mapping. *Am J Sports Med.* 2014;42(9):2199-204.