

# Vitale Konservierung von Knorpeltransplantaten mittels Gewebekulturmethoden\*

J. Bujía<sup>1</sup>, J. M. Osete<sup>2</sup>, C. Sprekelsen<sup>2</sup>, E. Wilmes<sup>1</sup>

<sup>1</sup> HNO-Klinik und Poliklinik der Ludwig-Maximilians-Universität München (Direktor: Prof. Dr. E. Kastenbauer)

<sup>2</sup> HNO-Klinik und Poliklinik der Universität Murcia, Spanien (Direktor: Prof. Dr. C. Sprekelsen)

## Zusammenfassung

Die Transplantation von Knorpelgewebe ist heute ein üblicher Vorgang im Rahmen der plastischen Chirurgie. Zu der für die Transplantation notwendigen Konservierung von sowohl allogenen, wie auch autologen Knorpeltransplantaten kommen verschiedene Methoden zur Anwendung. Der Einsatz chemischer Konservierungsmittel wie Formaldehyd, Cialit oder Merthiolat führt zu einem Verlust der Vitalität des Transplantates. In dieser Arbeit wird die Erhaltung der Vitalität und Integrität der Matrix von Knorpeltransplantaten nach Konservierung mit verschiedenen Methoden untersucht, und zwar nach Lagerung für 150 Tage in Formaldehyd, Salzlösung und drei verschiedenen Zellkulturmedien (RPMI 1640, Hams F-12 und DMEM 4500). Die Vitalität wurde an Gewebescheiben mittels der supravitalen Neutral-Rot-Färbung und des Trypan-Blau-Ausschlusses, sowie bei isolierten Zellen sowohl durch den Trypan-Blau-Ausschluß, als auch durch die Adhäsionsfähigkeit in der Monolayer-Kultur bestimmt. Der Zustand der Knorpelmatrix wurde durch histochemische Methoden (Azan-, Alzian- und Toluidinblau-Färbungen) nachgewiesen. In Salzlösung gelagerter Knorpel verlor 100% seiner Vitalität nach 30 Tagen, der in Formaldehyd gelagerte nach 10 Tagen. Im Gegensatz dazu behielt in Zellkulturmedium aufbewahrter Knorpel seine Vitalität (> 85%) über den gesamten Beobachtungszeitraum, wobei sich kein Unterschied zwischen den drei Arten von Medien erkennen ließ. Ebenso ergab sich nach 18 bzw. 30 Tagen bei histologischer Anfärbung der Knorpelmatrix mit Azan, Alzian und Toluidin-Blau bei dem mit chemischen Konservierungsmethoden behandelten Knorpel eine deutliche Abnahme der Färbintensität, nicht jedoch bei den Knorpelproben, bei denen Gewebekulturmethoden zur Anwendung kamen. Die Ergebnisse zeigen also, daß Knorpelgewebe mittels Gewebekulturtechniken über einen langen Zeitraum erfolgreich vital ohne Verlust der funktionellen Eigenschaften erhalten werden kann.

## Schlüsselwörter

Knorpeltransplantation – Knorpelaufbewahrung – Vitale Konservierung

## Vital Cartilage Preservation using Tissue Culture Methods

Cartilage grafting is one of the most common procedures in plastic surgery. Since storage of both autologous and allogenic cartilage is necessary, different preservation methods have been used with more or less success. The use of chemical preservation procedures like formaldehyde, Merthiolate or Cialit lead to a loss of the vitality of the graft. This work presents a study of the cell vitality and the matrix of cartilage grafts stored in different solutions (formaldehyde, saline, RPMI 1640, Ham F-12 and DMEM 4500) during 150 days. The cell viability was assessed using tissue sections (neutral red supravital staining and trypan blue dye exclusion test) and isolated cells (trypan blue dye exclusion test and cell adhesion in monolayer culture). The state of the cartilage matrix was analysed by means of the azan, alcian and toluidine blue staining. Cartilage immersed in formaldehyde solution lost 100% of the vitality after a storage period of 10 days, the one immersed in saline solution after 30 days. Cartilage stored in tissue culture media retained its vitality (> 85%) during the whole storage time. Histological staining methods showed a decrease of the staining intensity after 10 days storage in formaldehyde and after 30 days storage in saline solution. No differences in vitality and the matrix staining were found among all three culture media. Our results suggest that viable cartilage tissue can be successfully stored for a long time using tissue culture methods.

## Key words

Cartilage grafting – Cartilage banking – Vital preservation