

# Acta Ortopédica Mexicana

Volumen  
Volume **17**

Número  
Number **3**

Marzo-Abril  
March-April **2003**

*Artículo:*

## Criopreservación de los injertos cartilaginosos

Derechos reservados, Copyright © 2003:  
Sociedad Mexicana de Ortopedia, AC

### Otras secciones de este sitio:

- ☞ Índice de este número
- ☞ Más revistas
- ☞ Búsqueda

### *Others sections in this web site:*

- ☞ *Contents of this number*
- ☞ *More journals*
- ☞ *Search*



**Edigraphic.com**

Artículo de revisión

## Criopreservación de los injertos cartilaginosos

Eduardo Álvarez,\* Purificación Ripalda,\*\* Francisco Forriol\*\*\*

Hospital Universitario Dr. José E. González. U.A.N.L. Monterrey N.L. México.  
Clínica Universitaria de Navarra. Universidad de Navarra. Pamplona, España

**RESUMEN.** En la actualidad el empleo de injertos en la cirugía ortopédica es tan común que se ha requerido el perfeccionamiento de los procedimientos de almacenaje para evitar el deterioro del tejido donado. Los autoinjertos han conseguido buenos resultados, sin embargo plantean problemas de disponibilidad; para remediar este inconveniente se han desarrollado técnicas como la criopreservación. La cual permite un tiempo de almacenamiento indefinido al detener el tiempo biológico del tejido. No obstante la criopreservación de los injertos cartilaginosos a diferencia de los otros injertos musculosqueléticos plantea un problema y las técnicas actuales no representan métodos sencillos ni aseguran completamente la integridad del tejido, pues el proceso puede dañar las células, la matriz extracelular o ambas, lo cual se conoce como "daño crioinducido". En los protocolos modernos de criopreservación los agentes crioprotectores tienen una función importante, sin embargo, también es conocido el efecto citotóxico de los mismos. El desarrollo de un método de criopreservación efectivo es un requisito esencial en el éxito de los trasplantes condrales y osteocondrales, el cual se verá reflejado directamente en la capacidad de mantener una viabilidad celular aceptable.

**Palabras clave:** cartílago articular, criopreservación, aloinjerto.

**SUMMARY.** The autografts have had good results. However, they have some availability problems. In order to avoid this difficulties, techniques like the cryopreservation, had been developed. This technique permits an unlimited time of storage by stopping the biological time of a tissue. Nevertheless, the cryopreservation of cartilaginous grafts, in comparison to other musculoskeletal grafts, represent a problem, and the actual techniques are not simple methods and do not assure the integrity of the tissue completely, because the process can damage the cells, the extracellular matrix, or both, which is known as cryoinduced damage. In the modern cryopreservation protocols the cryoprotector agents have an important function, however, is also well known their cytotoxic effect. The develop of an effective cryopreservation method is an essential requirement to obtain good results in the cartilaginous and osteocartilaginous transplants, which will be directly reflected in the capacity to maintain an acceptable cellular viability.

**Key words:** cartilage, articular, cryopreservation, allograft.

### Introducción

El empleo de injertos cartilaginosos en la cirugía ortopédica es común, por lo que se ha requerido el perfeccionamiento de los procedimientos de almacenamiento para evitar el deterioro del tejido donado, y tener disponibilidad en el momento adecuado.

Pruden,<sup>30</sup> sumergió el cartílago en alcohol 95°. En 1956, Curran y Gibson<sup>5</sup> demostraron que el cartílago articular almacenado a 4°C era capaz de sobrevivir cuarenta días. En 1957, Gibson<sup>9</sup> usó glicerol en un intento para proteger el tejido contra la congelación, pero no consiguió una penetración adecuada y no se observó efecto crioprotector. En 1965, Smith<sup>33</sup> obtuvo buenos resultados al preservar células de cartílago aisladas a -79°C, con dimetilsulfóxido

\* Coordinador Médico; Banco de Hueso y Tejidos Hospital Universitario Dr. José E. González UANL.

\*\* Directora de Sección Transversal Laboratorio de Ortopedia Experimental Universidad de Navarra.

\*\*\* Jefe de Laboratorio de Ortopedia Experimental, Universidad de Navarra.

Dirección para correspondencia:

Dr. Eduardo Álvarez Lozano

Banco de Hueso y Tejidos

Edificio Dr. Rodrigo F. Barragán V.

Clínica de Especialidades II 3er piso

Madero y Gonzalitos. Monterrey N.L. C.P. 64460.

E-mail contacto@bancodehueso.org

(DMSO) y O'Connor y Price en 1938,<sup>25</sup> demostraron que el cartílago preservado en solución salina y con mertiolate no se reabsorbió cinco años después del trasplante.

En 1938, Peer<sup>28,29</sup> notó que la absorción de cartílago septal y costal humano, en alcohol, se produjo dos años después de su implante mientras que los autoinjertos frescos tenían una apariencia normal hasta seis años después. En 1940, Brown<sup>3</sup> concluyó que los aloinjertos cartilaginosos preservados fueron inferiores a los autoinjertos frescos trasplantados.

Los autoinjertos han conseguido buenos resultados a corto plazo,<sup>8,17,22,26</sup> sin embargo, plantean problemas como la disponibilidad, debido a la dificultad de coordinar la extracción con el implante y se precisa dañar una zona para reparar otra. Para remediar este inconveniente se han almacenado por largos períodos de tiempo en los bancos de hueso y de tejidos, que aseguran la disponibilidad de tejido donante, realizando pruebas serológicas que eviten la transmisión de enfermedades infecciosas y permitan adecuar las piezas a las características específicas de la lesión.<sup>36</sup>

La posibilidad de conservar en buen estado los injertos es posible gracias a la criopreservación, “conservar o mantener la integridad del tejido mediante el frío”, hace indefinido el tiempo de almacenamiento al detener el tiempo biológico. Sin embargo, conlleva un riesgo implícito a la viabilidad del tejido u órgano. La criopreservación del tejido cartilaginoso no representa un método sencillo ni asegura la integridad de dicho tejido pues el proceso puede dañar las células, la matriz extracelular o ambas produciendo cristales, por la presión osmótica, el choque térmico, la nucleación intracelular de los cristales de hielo, la toxicidad a los criopreservadores o la rotura de la matriz, etc.<sup>7,19</sup>

Existen varias teorías para explicar el daño crioinducido en la célula. La más aceptable es que la lesión por frío ocurre cuando se congela el agua intra y extracelular.<sup>20,23</sup> Con la formación de hielo extracelular durante el proceso de congelación, los solutos se concentran fuera de la célula y produce un desequilibrio osmótico con el agua intracelular que provoca que ésta salga de la célula.

Con la pérdida de agua, aumenta la concentración de solutos intracelulares que contrae o encoge a la célula, lo cual daña las membranas y las moléculas intracelulares.<sup>16,21</sup> La lesión también puede producirse cuando el agua es retenida dentro de la célula y forma hielo, aunque el mecanismo exacto de este tipo de daño no está completamente claro.<sup>11,15</sup> Por todo esto, la condición de criopreservación debe conseguir un equilibrio del líquido intra y extracelular, con una mínima formación de hielo intracelular.

Los esfuerzos para conseguir un método eficaz para preservar tejido de donante en condiciones de viabilidad y funcionalidad, son debidos al deseo de: 1) proveer una selección de material biológico que pueda ser usado como injerto, y que sea diseñado a voluntad del cirujano para que concuerde, en tamaño y forma, con el sitio receptor; 2) eliminar el tiempo impuesto al trasplante de un injerto fresco que en el caso de los aloinjertos es el tiempo entre la muer-

te del donante y su colocación en el sitio receptor. Frente a los autoinjertos, el aloinjerto criopreservado evita el tiempo de la toma del injerto y la morbilidad del sitio donante; 3) la reducción por el almacenamiento de la antigenicidad del material del injerto, y 4) el tejido debe permanecer congelado hasta el momento de la cirugía, lo cual requiere facilidades para su almacenamiento y transporte.

Los estudios sobre criopreservación de la estructura y función de diversos tejidos y órganos se ha individualizado y perfeccionado,<sup>6,13,27</sup> pero los protocolos de criopreservación del cartílago articular se encuentran en una etapa experimental.

Los avances en la cirugía ortopédica han hecho posible el uso de injertos frescos e injertos congelados de cartílago articular en la reparación o en las enfermedades que degeneran las articulaciones. Sin embargo, la degeneración del cartílago articular injertado, continúa siendo un problema a largo plazo. Por esta razón consideramos que el desarrollo de un método de criopreservación efectivo es un requisito esencial en el éxito de los trasplantes osteocondrales, el cual se verá reflejado directamente en la capacidad de mantener una viabilidad celular aceptable que permita el adecuado metabolismo del cartílago y la síntesis de los componentes de la matriz, sobreviviendo a la degeneración para realizar las funciones de soporte y transmisión de cargas.

En los protocolos modernos de criopreservación los agentes crioprotectores tienen una función importante. Desde los inicios de la criopreservación sustancias tan sencillas como el alcohol, el mertiolate y el suero salino han sido usadas como crioprotectores, investigaciones ulteriores han introducido otro tipo de sustancias como la polivinilpirrolidona (PVP), los dextrans, el glicerol y el DMSO.<sup>14</sup>

El mantenimiento de la viabilidad condrocítica representa el principal condicionante para asegurar las propiedades mecánicas del cartílago articular a largo plazo<sup>2,10,24</sup> y la mayoría de los estudios demuestran que la viabilidad máxima se consigue con el empleo de protocolos de ritmo y temperatura controlados y con el uso de agentes crioprotectores.<sup>18,34</sup>

Sin embargo, también es conocido el efecto citotóxico de los agentes criopreservadores.<sup>32</sup> El dimetilsulfóxido es considerado tóxico en base a sus efectos sobre las membranas y las enzimas intracelulares;<sup>31,37</sup> el glicerol, por su parte, a altas concentraciones puede tener efectos letales sobre los potenciales eléctricos intracelulares,<sup>1</sup> por esta razón se debe tomar en cuenta la concentración idónea y el tiempo de exposición.<sup>12</sup>

Por lo tanto, el uso de la congelación como método de conservación presenta también desventajas, entre las que se encuentra el hecho de que éste, es un factor que influye directamente en la supervivencia celular, a menos que se utilice alguna sustancia crioprotectora, la cual por sí misma representa un factor que puede ser benéfico pero también perjudicial.<sup>4</sup>

Los virus y bacterias pueden sobrevivir a la congelación. Se ha publicado la transmisión del virus de la inmunodeficiencia humana adquirida a través de un aloinjerto

de tendón patelar.<sup>35</sup> Sin embargo, las pruebas serológicas que se realizan y el ser donantes multiorgánicos permiten el uso confiable de los aloinjertos ya que reducen al mínimo la posibilidad de transmisión de enfermedades infecciosas a través de los aloinjertos.

En resumen, la criopreservación del cartílago se ve influenciado por múltiples variables y su análisis se ve dificultado por las características propias del cartílago como:

- Población celular escasa
- Matriz extracelular con elevado contenido acuoso
- Contenido de macromoléculas estructurales

Por lo tanto, es fundamental continuar trabajando de manera experimental para encontrar el protocolo más adecuado y la condroprotección para mejorar la vida de los aloinjertos cartilaginosos.

### Bibliografía

1. Baker H, Schork P: The effects of glycerol and ethylene glycol on the excitability and contractility of frog ventricular muscle. *Cryobiology* 1972; 9: 321-22.
2. Blaser RB, Matthews LS: Complications of prosthetic knee arthroplasty. In: Complications in orthopedic surgery. CH Epps (ed), Philadelphia, 1994: 1057-86.
3. Brown JB: Preserved and fresh homotransplants of cartilage. *Surg Gynecol Obstet* 1940; 70: 1079-82.
4. Burnstein D, Gray ML, Hartman AL, Gipe R, Foy BD: Diffusion of small solutes in cartilage as measured by NMR spectroscopy and imaging. *J Orthop Res* 1993; 11: 465-78.
5. Curran RC, Gibson T: The uptake of labelled sulphate by human cartilage cells and its use as a test for viability. *Proc R Soc London B* 1956; 144: 562-76.
6. Fahy GM, Khrabadi BS, Mehl P: Equipment, solutions, perfusion techniques and medications permitting survival of kidneys perfused with vitrifiable media. *Cryobiol* 1991; 28: 511-12.
7. Fahy GM: The potential future utility of organ cryopreservation. *Cryobiol* 1991; 28: 513-15.
8. Flynn JM, Springfield DS, Mankin HJ: Osteoarticular allografts to treat distal femoral osteonecrosis. *Clin Orthop* 1994; 303: 38-43.
9. Gibson T: Viability of cartilage after freezing. *Proc R Soc London B* 1957; 147: 528-29.
10. Hurting M, McGann LE, McPherson R, Muldrew K, Novak K, Scharchar NS: Surgical and analytical techniques for assessment of transplanted articular cartilage: A pilot study. *Cryobiol* 1992; 29: 45-56.
11. Karow AM: Cryopreservation: Pharmacological considerations. In: Organ preservation for transplantation. Karow AM Jr., Abouna GJM, Humphries AL (eds). Boston, Little Brown, 1974: 86-107.
12. Karow AM: Dimethylsulfoxide effect on Myocardial-Adenoreceptors (letter). *J Pharm and Pharmacol* 1972; 24: 419-21.
13. Khrabadi BS, Fahy GM, Antonovich T, Sabnis S, Saur J: Life support function of rabbit kidneys cooled to -30°C. *Cryobiol* 1992; 29: 721-22.
14. Loretz LJ, Li AP, Flye MW, Wilson AG: Optimization of cryopreservation procedures for rat and human hepatocytes. *Xenobiotica* 1989; 19: 489-98.
15. Mazur P: Causes of injury in Frozen and Thawed cells. *Fed Proc* 1965; 24: 175-82.
16. Mazur P: Cryobiology. The Freezing of biological systems. *Science* 1970; 168: 939-49.
17. McDermott AGP, Langer F, Pritzker KPH, Gross AE: Fresh small-fragment osteochondral allografts. Long-Term follow-up study on first 100 cases. *Clin Orthop* 1985; 197: 96-102.
18. McGann LE, Muldrew K, Hurtig M, Novak K, Scharchar NS: Cryopreservation of articular cartilage for transplantation (Abstract). *Cryobiol* 1993; 30: 659.
19. McGann LE, Stevenson M, McAllister D, Muldrew K, Shachar NS: Kinetics of osmotic water movement in chondrocytes isolated from articular cartilage and applications to cryopreservation. *J Orthop Res* 1988; 6: 106-15.
20. Meryman HT, Williams RJ, Douglas M: Freezing injury from "solution effects" and its prevention by natural or artificial cryoprotection. *Cryobiology* 1971; 14: 287-302.
21. Meryman HT: Freezing injury and its prevention in living cells. *Ann Rev Biophys and Bioeng* 1974; 3: 341-63.
22. Messner K, Msletius W: The long -term prognosis for severe damage to weight bearing cartilage in the knee. *Acta Orthop Scand* 1996; 67: 165-68.
23. Meyers MH, Akeson W, Convery FR: Resurfacing of the knee with fresh osteochondral allograft. *J Bone Joint Surg* 1989; 71A: 704-13.
24. Muldrew K, McGann LE: The osmotic rupture hypothesis of intracellular freezing injury. *Biophys J* 1994; 66: 532-41.
25. O'Connor GB, Price GW: Refrigerated cartilage isografts. *Surg Gynecol Obstet* 1938; 67: 796-797.
26. Oakeshott RD, Farine Y, Pritzker KPH, Langer F, Gross AE: A clinical and histological analysis of failed fresh osteochondral allografts. *Clin Orthop* 1988; 233: 283-94.
27. Okouchi Y, Tamaki T, Kozaki M: The optimal temperature for hypothermic liver preservation in the rat. *Transplantation* 1993; 54: 1129-30.
28. Peer LA: Experiments on alcohol preserved cartilage in humans. *Arch Otolaryngol* 1938; 27: 42-4.
29. Peer LA: Fate of living and dead cartilage transplanted in humans. *Surg Gynecol Obstet* 1939; 68: 603-4.
30. Prudden TM: Experimental studies on the transplantation of cartilage. *Am J Med Sci* 1881; 82: 360-61.
31. Reddi AH: Extracellular bone matrix dependent local induction of cartilage and bone. *J Rheumatol* 1983; 10(Suppl. 11): 67-78.
32. Salter RB: The biologic concept of continuous passive motion of synovial joints: the first 18 years of research and its clinical application. *Clin Orthop* 1989; 242: 12-8.
33. Smith AU: Survival of frozen chondrocytes isolated from cartilage of adult mammals. *Nature* 1965; 205: 782-4.
34. Tomford WW, Duff GP, Mankin HJ: Experimental freeze preservation of chondrocytes. *Clin Orthop* 1985; 197: 11-4.
35. Tomford WW: Current concepts review: Transmission of diseases through transplantation of musculoskeletal allografts. *J Bone Joint Surg* 1995; 77A: 1742-54.
36. Wakitani S, Goto T, Pineda SJ, Young RG, Mansour J, Goldberg VM, Caplan AI: Mesenchymal cell-based repair of large full-thickness defects of articular cartilage. *J Bone Joint Surg* 1994; 76A: 579-92.
37. Weiner ND, Lu MY, Rosoff M: Interactions of dimethyl sulfoxide with lipid and protein monolayers. *J Pharmaceut Sci* 1972; 61: 1098-101.