

ESTUDIO EXPERIMENTAL SOBRE CIERTOS ASPECTOS DE LA BIOLOGIA DEL CARTILAGO ARTICULAR. SU POSIBLE RELACION CON LA ETIOPATOGENIA DE LA ARTROSIS.

(Régimen hipercolesterínico y acción de la hepatocatalasa y de un extracto de cartílago y medula ósea) *

P. BARCELÓ, en colaboración con D. SALVATIERRA, J. DE LA HIGUERA y L. SANS-SOLÁ
(Barcelona)

EN estas últimas décadas los esfuerzos de los clínicos e investigadores interesados en cuestiones reumatológicas, se han dirigido a dilucidar la naturaleza íntima de las lesiones reumáticas y a descubrir las causas y mecanismos de su producción. El simple repaso de la literatura especializada permite darse cuenta de la profunda renovación que se está produciendo en el campo de la etiopatogenia; la masa más considerable de estos estudios y trabajos se refiere especialmente a los reumatismos de base inflamatoria (fiebre reumática, poliartritis crónica, espondiloartritis anquilopoiética). Este trabajo analítico y renovador se ha desarrollado también con referencia al reumatismo degenerativo articular (artrosis) y en estos últimos años ha adquirido singular impulso y obtenido significativos avances, en especial en el mejor

conocimiento de la biología del cartílago articular.

Durante muchos años se ha considerado a la artrosis como una enfermedad de desgaste, en la que la acción de la involución y en especial la de diversos factores mecánicos, jugaban un papel fundamental; esta idea mecanicista aún persiste con carácter de casi exclusividad en ciertos ambientes médicos, en especial ortopédicos. El que este orden de ideas no respondía a la realidad en todos los casos, ya venía demostrada por el hecho de que clásicamente se admitiesen para las artrosis dos tipos o grupos: la artrosis primaria o idiopática y la artrosis secundaria. En la artrosis secundaria era donde podían aplicarse los conceptos contenidos en la primitiva «teoría mecánico - funcional» (hiperfunción, sobrecarga, traumatismo y microtraumatismos, displasias articula-

* Comunicación explanada en la Sesión del día 5-IV-66. Presentado por el Académico Numerario, prof. A. Pedro Pons.

res, trastornos estáticos, involución, etc.); en la artrosis primaria estos factores pasaban a segundo plano, admitiéndose la influencia de los factores herencia, involución y envejecimiento.

Dentro del marco de este orden de ideas y admitiendo la actuación de los factores mecánico-funcionales, esta acción causal sólo puede admitirse dentro de ciertos límites, ya que su efectividad no es constante y uniforme, existiendo grandes variaciones en los diversos individuos; ello ya induce a admitir la existencia de «un factor o factores ligados al terreno individual» que motiva y explica que los factores mecánico-funcionales sean más o menos actuantes. Ello expresa claramente que aun en los casos de artrosis secundaria, tenga que admitirse la coexistencia de un factor o factores generales. Si esto ocurre en la artrosis secundaria, se comprende fácilmente que en la artrosis primaria o idiopática la intervención de tal o tales factores adquiera una importancia de primer orden. De ahí el creciente y renovado interés en llegar a conocer tales factores.

El reconocimiento de esta realidad es lo que ha inducido a clínicos e investigadores a buscar nuevos caminos y orientaciones para lograr una mejor comprensión del problema planteado. Estas nuevas orientaciones se basan en dos órdenes de hechos estrechamente relacionados; por una parte, se apo-

yan en un conocimiento cada vez más profundo de la biología del cartílago articular; por otra parte, se trabaja intensamente en dilucidar una serie de factores que influyen sobre la actividad del cartílago y que por tanto pueden ser causa de alteraciones y lesiones del cartílago articular, base y asiento del proceso artrósico.

Que diversos trastornos metabólicos pueden producir lesiones degenerativas del cartílago articular, es un hecho bien establecido desde hace muchos años. El caso de la impregnación del cartílago articular por el ácido homogentísico en la ocronosis articular, es una demostración palpable de lo que decimos; el caso de la gota es otro ejemplo.

En estos últimos años la posible intervención de un factor metabólico en la génesis de lesiones degenerativas del cartílago articular ha experimentado un renovado interés; así vemos cómo diversos autores ante una serie de modificaciones humorales, muy frecuentes en los artrósicos, han llegado a individualizar lo que ellos designan «síndrome humoral de la artrosis»; dentro de este síndrome estarían comprendidas la hiperuricemia, hipercolesterinemia, dislipemia, modificaciones de los heparinoides e hiperpiruvicemia. Rubens-Duval considera la hiperuricemia como propia de la enfermedad artrósica del hombre con coexistencia de hipoandrogenismo, al

que atribuye la distrofia general de los tejidos del aparato locomotor; Robecchi y Buzzone, por su parte, sólo encuentran alteraciones del metabolismo de las purinas en los artrósicos de tipo braditrófico y obesos; Vallecorsi y Salvini en su casuística de artrosis con hiperuricemia, comprueban su coincidencia con la obesidad hiperesténica androide. Nosotros (Barceló, Sans-Solá y Obach) hemos encontrado uricemias superiores a 50 miligramos por mil en el 50 % de nuestros artrósicos.

La existencia de trastornos del metabolismo de la colesteroína y de los lípidos ya fue señalada y debidamente subrayada hace unos años tanto desde el punto de vista clínico como experimental; los estudios de R. y M. Silberberg demostraron que cuando topes eran alimentados con una dieta con un 25 por 100 de grasa, no sólo se estimulaba el crecimiento corporal, sino que en el cartílago articular se desarrollaban lesiones del tipo artrósico; Tinacci comprobó los estudios de los citados autores, y Minini obtuvo resultados similares con una dieta abundante en colesteroína. Amprino y Bairati hallaron en los condroblastos seniles un aumento de los lípidos, y diversos autores han comprobado que algunos tóxicos podían provocar una degeneración grasosa, tanto en el cartílago hialino como en el fibrocartílago; Fineschi y Pagni, por su parte, hallan aumento de las

grasas en el condrocito del cartílago artrósico, admitiendo que tal grasa puede originarse ya por la actividad de las mismas células o puede llegar al cartílago por intermedio de los vasos neoformados. Por otra parte, es bien conocido en la actualidad, aunque creemos que este hecho no se destaca con el debido énfasis, que las células de estirpe conjuntiva poseen una viva actividad lípido-sintetizadora. Salvini y Vallecorsi encuentran una alteración en la proporción relativa de las lipoproteínas alfa y beta, lo mismo que una disminución de las sustancias heparinoides, lo que puede tener una repercusión sobre el metabolismo de los lípidos. Por otra parte, Pedrisot halla un aumento de la piruvicemia. Por nuestra parte (Barceló, Sans-Solá y Obach, 1954), hallamos que en el 31,63 % de nuestros artrósicos las cifras de colesteroína estaban comprendidas entre 201 a 250 miligramos por 100, y en el 28,06 % eran superiores a los 250 mgrs. por 100.

Todos estos datos nos indujeron a emprender el estudio experimental de la influencia de la dieta hipercolesterinica sobre la biología del cartílago articular. Nuestros estudios demostrativos acerca de la influencia que el enzima hepato-catalasa ejerce sobre el metabolismo del ácido úrico y colesteroína en la gota, nos indujeron a estudiar la posible acción de este enzima, no sólo para el trastorno humoral

provocado por la dieta, sino sobre las lesiones del cartilago articular y otras formaciones orgánicas (arteriales en especial). Esta experimentación constituyó la primera fase de este estudio. Alentados por los trabajos experimentales y clínicos acerca de la acción de ciertos extractos de cartilago y medula ósea sobre las lesiones artrósicas, en una segunda fase experimental estudiamos la posible acción de los citados extractos sobre las lesiones tisulares provocadas por la dieta hipercolesterínica. En la actualidad, hemos iniciado estudios encaminados a estudiar con más detalle la acción de la hepatocatalasa y los extractos de cartilago y medula ósea sobre el condrocito y la substancia intersticial del cartilago (sulfomucopolisacáridos en especial).

Material y métodos

Como animal de experimentación se utilizó el conejo de raza gigante, todos del mismo sexo, con peso oscilante entre los 3 y 4 kg. y de edad a partir de los 3 meses.

La dieta hipercolesterínica tenía una sobrecarga del 1 % de colesteroína.

Los animales se clasificaron en 4 series: *a)* animales de control sometidos a la dieta standard; *b)* percolesterínica; *c)* animales con dieta hipercolesterínica más inyección intramuscular de hepatocata-

lasa; *d)* animales con dieta hipercolesterínica más inyección intramuscular de extracto de cartilago y medula ósea.

El estudio realizado en cada serie de animales consiste en:

1. Extracción de sangre por punción cardíaca y determinación de:

a) Colesterol, ácido úrico, proteínas totales y lípidos totales.

b) Electroforegrama y lipidograma, en electroforesis sobre papel.

2. Estudio macroscópico y radiológico articular «in vivo».

3. Tras el sacrificio del animal:

a) Estudio macroscópico de las articulaciones.

b) Estudio microscópico del cartilago articular.

c) Fijación de las piezas en formol salino.

4. Medición de la radioactividad por los dos métodos siguientes:

a) Medición cuantitativa de los impactos miligramo en el cartilago articular de las distintas articulaciones.

b) Medición cualitativa para ver la distribución en relación con el tiempo transcurrido desde la administración del isótopo por las células y la matriz cartilaginosa.

5. Como elemento radioactivo, se ha utilizado el S35.

6. Para la autoradiografía se han utilizado dos tipos de placas:

a) Como material menos definido, placas radiográficas normales (dentales).

b) Como material más discriminativo, los Strippins AR-10 y 50 de la casa Kodak.

c) Como sustancia para la adaptación de estas placas al corte histológico DPX (Depex).

7. Como material fotográfico, distintas películas en color, según se intentase sólo obtener imágenes para diapositivas o para poder ser reproducidas.

8. Como agente decalcificante, el E.D.T.A.

9. Los métodos usados para las diversas determinaciones, fueron: para los lípidos totales, el método de Swahn; para el colesterol, el de Sols; para el ácido úrico, el de Caraway; para las proteínas y sus fracciones, el colorimétrico, electroforegrama y lipidograma por electroforesis sobre papel; para la determinación cuantitativa del S-35, la técnica radioquímica según los métodos establecidos por Layton (1949-50) y Godicek y Loewi; para la determinación cualitativa del S-35, montaje de los cortes histológicos sobre porta, colocación de un Strippins y pasado determinado tiempo, revelar.

10. Diversos métodos para la coloración de los cortes histológicos (hematoxilina-eosina, sudán negro, etc.).

Grupo o serie con dieta hipercolesterínica

En los animales de esta serie se obtienen los datos siguientes:

1. Modificaciones humorales en la sangre consistentes en:

a) Aumento del colesterol.

b) Aumento de los lípidos totales.

c) Aumento del ácido úrico. Esta modificación se presenta de manera precoz.

d) No se producen modificaciones de las proteínas totales, electroforegrama, urea y glucemia.

2. Estudio de órganos:

a) Macroscópicamente el cartílago articular pierde su brillo y transparencia habituales, adquiere un aspecto mate y un color blanco-amarillento; al tacto pierde su lisura y da la impresión de rugoso, y en algún caso parece iniciarse una reacción osteopéptica.

b) Microscópicamente, los condrocitos aparecen con vacuolas de material lipoideo en su citoplasma; este acúmulo lipoideo determina la producción de fenómenos celulares degenerativos, con alteración y hasta desaparición del núcleo y destrucción final de la célula.

3. Estudio radioquímico: se aprecia una rápida apetencia por

el S-35 en los animales hipercolesterinémicos por parte de los condrocitos durante las primeras cuatro horas; posteriormente la captación del S-35 por parte de los condrocitos de los animales hipercolesterinémicos se mantiene a niveles inferiores en comparación con los de los animales controles.

Por histo-autoradiografía se observa la misma avidéz observada anteriormente, pero además se aprecia el paso más acelerado desde los condrocitos a la matriz cartilaginosa.

Estos resultados constituyen sólo una nota previa; actualmente pretendemos obtener una mayor seguridad y exactitud empleando el Se-75.

Conclusiones

En los animales sometidos a un régimen hipercolesterínico, junto a las modificaciones humorales se producen alteraciones macroscópicas, microscópicas y seguramente modificaciones del metabolismo íntimo celular.

Grupo o serie con régimen hipercolesterínico más hepatocatalasa

En este grupo de conejos, junto al régimen hipercolesterínico, se han administrado, por vía intramuscular, 1.000 unidades de hepatocatalasa «Pevya» diariamente.

Los datos obtenidos son los siguientes:

1. Datos bioquímicos:

a) Aunque se observa un aumento absoluto del colesterol motivado por el régimen hipercolesterínico, este aumento es menor, siendo esta reducción de significación estadística en relación con el aumento observado en los animales con sólo régimen hipercolesterínico.

b) Reducción del mismo tipo se observa con los lípidos totales en los animales sometidos a la acción de la hepatocatalasa.

c) Acción similar sobre el aumento del ácido úrico.

2. Estudio de órganos:

b) El aspecto macroscópico del cartílago articular es prácticamente normal, no presentándose las claras alteraciones descritas en los animales con sólo régimen hipercolesterínico.

b) Microscópicamente, tanto los condrocitos como la matriz, aparecen con aspecto totalmente normal.

Conclusiones

De los datos obtenidos en esta serie se deduce que en los animales sometidos a régimen hipercolesterínico en los que simultáneamente se administra hepatocatalasa, el enzima reduce notablemente el trastorno humoral provocado por el aporte continuado de grandes cantidades de colesterolina, y es capaz de proteger al cartílago ar-

ticular de las lesiones constantes producidas por el régimen hipercolesterínico.

Grupo o serie con régimen hipercolesterínico más extracto de cartílago y médula ósea

En este grupo simultáneamente con el régimen hipercolesterínico se administra extracto de cartílago y médula ósea, según las normas habituales empleadas en clínica normal.

Los datos observados son los siguientes:

1. Datos bioquímicos:

a) Aumento del colesterol hemático en relación con el observado en los animales con dieta normal standard; este aumento es significativamente inferior al observado en los animales sometidos a la dieta hipercolesterínica.

b) Modificaciones similares se obtienen con referencia a los lípidos totales.

2. Estudio de órganos:

a) Macroscópicamente se observa la acción protectora sobre las lesiones producidas por el régimen hipercolesterínico.

b) Microscópicamente se aprecia que los depósitos de material lipóideo en los condrocitos es mínimo y no parece alterarse la vitalidad celular. Nuestras primeras determinaciones parecen indicar

que aumenta la celularidad del cartílago.

Conclusiones

En la serie de animales sometidos a régimen hipercolesterínico más extracto de cartílago y médula ósea, éste reduce el trastorno humoral y protege al cartílago, minimizando las lesiones provocadas por el régimen hipercolesterínico, pareciendo estimular la reacción celular.

Conclusiones y resumen final

El régimen hipercolesterínico en el conejo produce, junto a un trastorno humoral (hipercolesterinemia, aumento de los lípidos totales, hiperuricemia), modificaciones en el cartílago articular que recuerdan las observadas en las artrosis.

Tanto la hepatocatalasa como el extracto de cartílago y médula ósea, tienen una acción evidente, minimizando el trastorno humoral y protegiendo contra el desarrollo de las lesiones en el cartílago articular.

Estos datos experimentales tienden a demostrar la influencia que ciertos factores generales, metabólicos en este caso, tienen para el desarrollo de procesos degenerativos en el cartílago articular, procesos base del reumatismo degenerativo articular (artrosis).

Igualmente los resultados obtenidos con las hepatocatalasas y el extracto de cartílago y médula ósea, indican la posibilidad de influenciar el desarrollo de estos procesos degenerativos articulares y permiten aconsejar el estudio clínico-experimental de estos medios terapéuticos para conocer su alcance y efectividad curativa.

Discusión. — El prof. A. Pedro Pons (Presidente) se extiende en muy atinadas consideraciones para subrayar la importancia del trabajo llevado a cabo por el disertante y sus colaboradores. La Reumatología, nueva especialidad profesional, gana de día en día adeptos. Y es que la artrosis, terrible padecimiento frecuentísimo en los momentos que vivimos, obedece bien a las indicaciones farmacobiológicas con neta base etiopatogénica.

Los puntos de vista sostenidos por Barceló, conviene, así, que se tengan muy en cuenta.

El doctor P. Barceló muestra su reconocimiento por la opinión escuchada.