

EFFECTO DEL CONDROITÍN SULFATO SOBRE LA PRODUCCIÓN DE ÓXIDO NÍTRICO POR LOS CONDROCITOS HUMANOS ARTRÓDICOS

Emilia Maneiro*,
José-L. Fernández Sueiro,
Francisco J. de Toro,
Fausto Galdo
y Francisco J Blanco.
Servicio de Reumatología. Unidad
de Investigación. Hospital Juan
Canalejo. * Fundación Juan
Canalejo. A Coruña. España.

Revista Española de
Reumatología 2001, Vol
28, Nº 1 : 12-17

INTRODUCCIÓN

El cartilago articular es un tejido muy especializado constituido por dos elementos, uno celular (condrocito) y otro extracelular (la matriz extracelular). Las propiedades de resistencia al peso que el tejido posee se deben, esencialmente, a la integridad y la estructura de la matriz.

El óxido nítrico (ON) es un gas sintetizado mediante la oxidación de L-Arg por una familia de sintetasas del óxido nítrico (NOS). La expresión de iNOS en los condrocitos humanos es inducida por IL-1 y TNF pero no por TGF β , PDGF o IGF. El ON producido en respuesta a la estimulación de citoquinas, posee diversos efectos catabólicos que podrian promover la degradación del cartilago articular: a) Inhibición de la síntesis de colágeno y de proteoglicanos; b) Activación de MMP; c) Reducción de la expresión de IL-1 Ra; d) Inhibición de la proliferación de los condrocitos y la apoptosis.

La artrosis (OA) se caracteriza por un desequilibrio de los mecanismos homeostáticos en el cartilago articular. En la mayoría de las zonas del cartilago afectado por OA, los procesos anabólicos son deficientes con respecto a las influencias catabólicas. El cartilago artrósico y los condrocitos *in vitro* liberan más ON que los condrocitos de articulaciones normales. El cartilago artrósico expresa un mayor nivel de iNOS que el cartilago normal. El nivel de

ON en suero y liquido sinovial (LS) de pacientes artrósicos también es más elevado que el de especímenes normales. Por todos estos hallazgos, se cree que el ON contribuye a la destrucción del cartilago articular.

Se están utilizando algunos componentes de la matriz extracelular del cartilago (CME), como el condroitin sulfato y el sulfato de glucosamina con éxito para el tratamiento sintomático de la OA. En este estudio analizamos la posibilidad de que algunos componentes de la matriz extracelular inhiban la síntesis de ON inducida por IL-1 en condrocitos artrósicos humanos.

MATERIAL Y MÉTODOS

Los elementos analizados se utilizaron a las siguientes concentraciones:

Condroitín 4-6 sulfato (CS): 10 μ g/ml, 50 μ g/ml, 100 μ g/ml, 150 μ g/ml y 200 μ g/ml. **Colágeno tipo**

II: 10 μ g/ml, 50 μ g/ml, 100 μ g/ml, 150 μ g/ml y 200 μ g/ml. **Sulfato de glucosamina (S GLU):** 10 μ g/ml, 50 μ g/ml, 100 μ g/ml, 150 μ g/ml y 200 μ g/ml. **Clorhidrato de glucosamina (CLH GLU):** 10 μ g/ml, 50 μ g/ml, 100 μ g/ml, 150 μ g/ml y 200 μ g/ml. Todas las materias primas han sido cedidas por BIOIBÉRICA, S.A., Barcelona, España.

RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Los niveles basales de producción de ON fue de 40 ± 6 nmoles. Todos los estímulos utilizados (IL-1, TNF y LPS) incrementaron la síntesis de ON. De estos tres estímulos la IL-1 (140 ± 12 nmoles) fue el más potente en cuanto a la capacidad de inducción de NO (Fig. 1).

El primer componente analizado fue el colágeno tipo II que caracteriza la estructura de la MEC. Esta proteína no modificó los

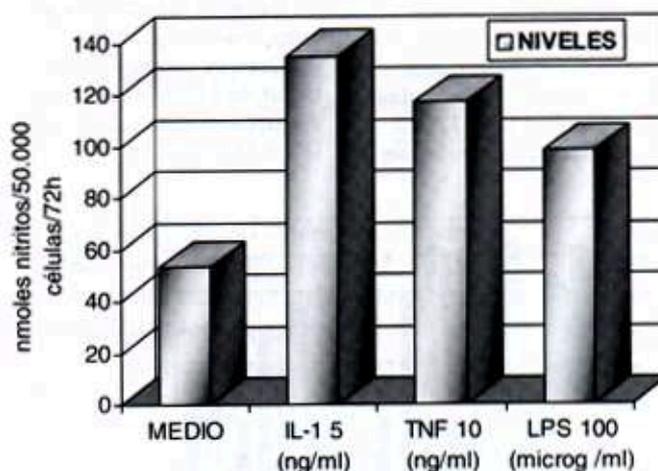


Fig. 1. Síntesis de ON por estímulos pro-inflamatorios

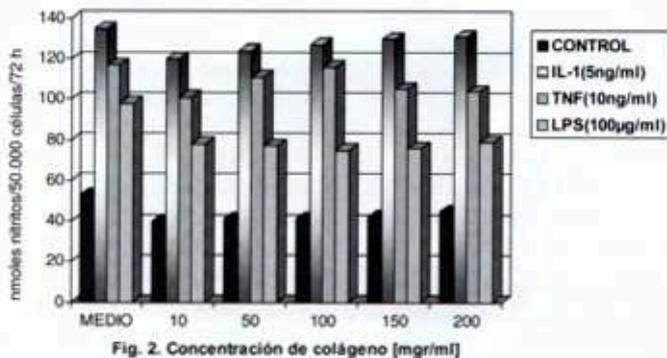


Fig. 2. Concentración de colágeno [mgr/ml]

niveles de ON sintetizados por los condrocitos sin estimular (42 ± 5 nmoles) ni tras ser estimulados con IL-1 (123 ± 8 nmoles), TNF (111 ± 7 nmoles) o LPS (83 ± 9 nmoles) (Figura 2).

El CS a las concentraciones utilizadas no alteró la producción basal de ON por los condrocitos sin estimular. Asimismo el CS a concentraciones bajas (10, 50 y 100 $\mu\text{gr/ml}$) no fue capaz de reducir los niveles de ON inducidas por los estímulos pro-inflamatorios (142 ± 7 nmoles). Por el contrario el CS a altas concentraciones (150 y 200 $\mu\text{gr/ml}$) redujo la síntesis de ON de forma significativa, tanto la inducida por IL-1 (143 ± 8 nmoles), como por el TNF (90 ± 7 nmoles) y como por el LPS (120 ± 11 nmoles). Los niveles de

ON inducidos por IL-1 se redujeron en un 21% utilizando CS en concentraciones de 150 y 200 $\mu\text{gr/ml}$. El CS a la concentración de 200 $\mu\text{gr/ml}$ redujo el efecto TNF en un 32%, y la concentración de 150 $\mu\text{gr/ml}$ redujo los niveles de ON inducido por LPS en un 31%. (Figura 3).

Otra molécula que es utilizada por el condrocito para la síntesis de proteoglicanos es la glucosamina. En este trabajo hemos utilizado dos formas de la glucosamina, una no sulfatada y otra forma sulfatada. Los resultados muestran que ninguna de las dos formas a las dosis empleadas reducen la producción basal de ON ni la síntesis de ON inducida por IL-1, LPS o TNF (Figura 4 y 5).

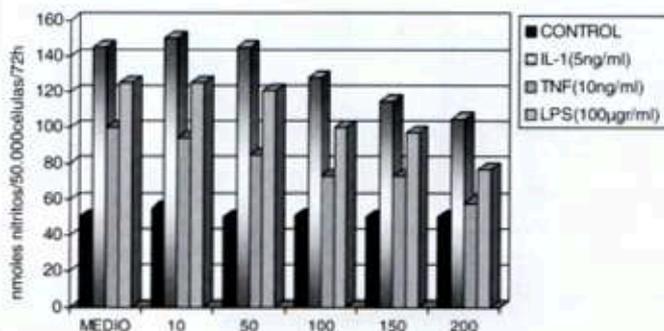


Fig. 3. Concentración de CS [µgr/ml]

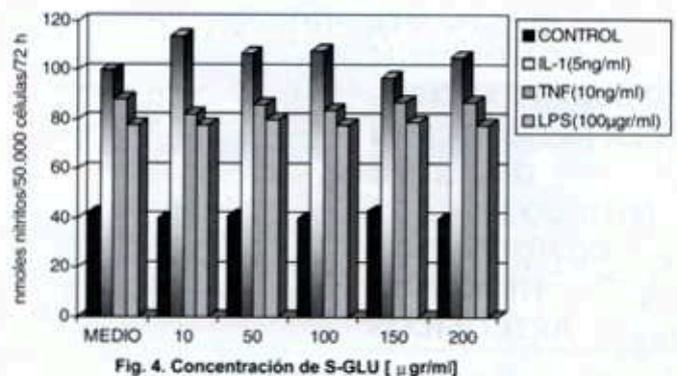


Fig. 4. Concentración de S-GLU [µgr/ml]

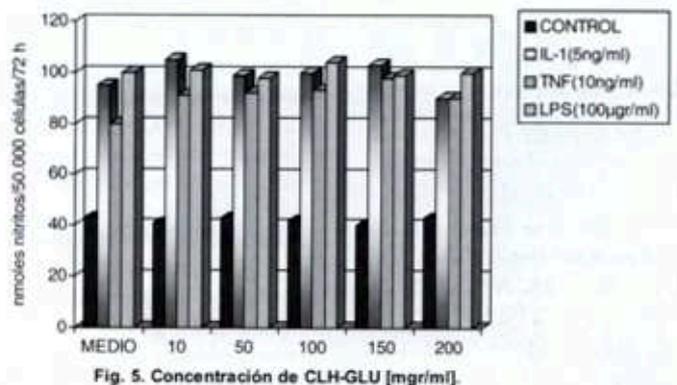


Fig. 5. Concentración de CLH-GLU [mgr/ml]

CONCLUSIÓN

Nuestros resultados muestran como el Condroitin 4-6 sulfato es capaz de reducir la síntesis de ON inducida por la IL-1, el TNF y el LPS en los condrocitos articulares humanos artrósicos. Se han demostrado otros efectos biológicos de este compuesto. El CS reduce la síntesis de prostaglandinas y de ciertas metaloproteasas. El CS aumenta la síntesis de ácido hialurónico endógeno y de proteoglicanos. El CS también es capaz de reducir la apoptosis inducida por el ON sobre los condrocitos de conejo.

Por el contrario otros compuestos como el

colágeno tipo II y la glucosamina no redujeron la actividad de estos elementos proinflamatorios. Este estudio *in vitro* sugiere que el sulfato de glucosamina y del CS tienen unos mecanismos de acción diferentes.

Este nuevo mecanismo de acción de CS podría explicar el efecto clínico positivo que se observa en pacientes artrósicos así como el posible efecto modificador del curso de la enfermedad artrósica.

Palabras clave: condroitin sulfato, cartilago articular, óxido nítrico, condroprotección, artrosis.