

## Emicina: Acción experimental sobre la sinovial del conejo con Hemartrosis\*

Primer Premio Trabajos de Grado  
Jornadas Científicas de Fin de Año. "Tres épocas" 8 Diciembre 2001

Dr. Raúl I. Rojas Nieto,\*\* Dr. Federico Fernández Palazzi\*\*\*

Dr. Raúl I. Rojas Nieto, Dr. Federico Fernández Palazzi. **Emicina: Acción experimental sobre la sinovial del conejo con Hemartrosis.** Revista Venezolana de Cirugía Ortopédica y Traumatología. Vol. 34 N° 1, Marzo 2002

### RESUMEN

Se utilizó el Método Científico para analizar la acción experimental de la Emicina (Clorhidrato de Oxitetraciclina) sobre la membrana sinovial del conejo con hemartrosis; teniendo en cuenta que el tejido sinovial está formado por un tejido epitelial compuesto por una capa de sinoviocitos que descansan sobre una lámina propia de tejido conjuntivo laxo irrigada por tejido vascular. Histológicamente tenemos: REPARACIÓN cuando el defecto de un tejido es cubierto por otro distinto y REGENERACIÓN cuando el defecto de un tejido es cubierto por otro tejido igual. Se utilizaron 26 conejos. Dos días a la semana durante dos semanas 1 ml de sangre homóloga fue inyectada en la rodilla izquierda de cada conejo, la sangre fue obtenida del conejo adulto por punción cardíaca. Después de 2 semanas, 2 conejos fueron sacrificados para observar las alteraciones intrarticulares, el resto de los conejos fueron divididos en dos grupos: Grupo A comprendido de 8 conejos quienes recibieron 1 ml de solución salina intrarticular una vez a la semana por cuatro semanas, En el Grupo B comprendido de 16 conejos quienes recibieron 1 ml (50 mg) de Emicina intrarticular en rodilla izquierda, una vez a la semana por cuatro semanas. Todos los individuos del Grupo B mostraron alteraciones histopatológicas similares (regeneración), y distintas al Grupo A (reparación). La acción experimental de la Emicina sobre la sinovial del conejo con hemartrosis, produjo regeneración de tejido sinovial y reparación controlada, no viciosa, con escaso engrosamiento del tejido sinovial, menos irrigada, por ello menos sujeta a la posibilidad de nuevas hemartrosis.

Palabras clave: Emicina, Hemofilia, Hemartrosis, Sinoviortesis química, Membrana sinovial.

### ABSTRACT

We used the Scientific Method to analyze the experimental action of Emicina (Oxitetracycline Chlorhydrate) on the Synovial membrane on rabbits with haemarthrosis, taking into consideration that synovial tissue is formed by an epithelial tissue composed of one layer of synoviocytes, resting on a own plate of lax connective tissue well irrigated by vascular tissue. Histologically we have REPARATION when the defect on the tissue covered by a different one, and REGENERATION when the defect on the tissue is covered by a similar one. We used 26 rabbits, two times weekly for two weeks we injected homologous blood on the left knee of the rabbit. The blood was obtained of an adult rabbit by heart puncture. After two weeks, 2 rabbits were sacrificed to observe intrarticular alterations, and the rest of the rabbits were grouped in two: Group A (8 rabbits) received 1 ml intrarticular of saline solution once a week for 4 weeks. Group B (16 rabbits) received 1 ml (50 mg) intrarticular Emicina on the left knee, one a week for 4 weeks. All Group B rabbits showed similar histopathological alterations (Regeneration) and different to Group A (Reparation). The Experimental Action of Emicina on the Rabbit Synovial after Haemarthrosis, developed regeneration of synovial tissue and controlled reparation, not vicious, with slight enlarge of synovial tissue, less irrigated, than less prove to bleed again.

**Key words:** Emicina, Haemophilia, Haemarthrosis, Chemical synoviorthesis, Synovial membrane.

\* Residente de 3º año del Servicio de Traumatología y Ortopedia del Hospital de Lídice

\*\* Jefe de la Unidad de Ortopedia Pediátrica del Hospital de Lídice  
Aceptado Diciembre 2001

### INTRODUCCIÓN

La Hemofilia, aparece como entidad nosológica en 1803 con la descripción de Otto<sup>7</sup> en la que pone de manifiesto

su incidencia en los varones. Es mucho más tarde cuando Bullock y Fildes<sup>2</sup> aclaran su diagnóstico definiéndola como «una enfermedad hemorrágica congénita que afecta sólo a los varones; la transmiten las madres, que son aparentemente normales; cursa con un tiempo de coagulación prolongado y con ninguna otra anomalía». Patex y Taylor<sup>8</sup> describen en 1937 la «Globulina antihemofílica» o Factor VIII, al estudiar la propiedad del plasma normal de corregir el defecto de coagulación en estos pacientes. Pawlosky<sup>9</sup> en 1947, demuestra la existencia de otro tipo de proceso distinto a la hemofilia clásica o Hemofilia A, y debido al defecto congénito no del Factor VIII sino del llamado «Componente trombo plasmático del plasma» (PTC), Factor Christmas, o Factor IX, es la Hemofilia B. La relación entre ambas es de 5 a 10 veces más frecuente la A. Existen otras enfermedades congénitas hemorrágicas que son debidas a deficiencia de factor VIII y distintas a la hemofilia, tales la enfermedad de Von Willebrand<sup>13</sup> (herencia autosómica dominante) y otra asociada al mismo tiempo con un defecto del factor V (herencia autosómica recesiva)<sup>10</sup>.

El episodio de sangramiento músculo esquelético de más frecuente aparición en los hemofílicos es la hemartrosis o sangramiento articular. La anatomía de la articulación es un factor predisponente al sangramiento y vemos así que las hemartrosis son más frecuentes en la trocleartrosis o articulaciones en charnela, y de ellas la más afectada es la rodilla. (Fig. 1.)

En cuanto a la etiología de este sangramiento se ha visto que suele ser intracapsular y proveniente del rico plexo subsinovial que está debajo del tejido conjuntivo entre cápsula y sinovial. Astrup y Sjölin<sup>1</sup> sugieren que la ausencia de actividad trombo plástica en el tejido sinovial es un agravante de la hemartrosis. Los episodios repetidos de hemartrosis producen una hipertrofia e hipervascularización de la sinovial, que a su vez hará más fácil el sangramiento.

En cuanto a la fisiopatología, Fernández Palazzi<sup>4</sup> describe que la hemartrosis producirá una contractura muscular debido al dolor y la distensión, contractura muscular que trae implícita una disminución de la actividad funcional y como consecuencia de ello una hipotrofia muscular, causa a su vez de dos importantes fenómenos etiológicos de la hemartrosis recidivante. Por un lado, lo que hemos llamado una «disfunción mecánica» con disminución del tono muscular y por otro una «disfunción biológica» con disminución de nutrición del cartílago, por disminuir o desaparecer la función nutritiva de bombeo propia de los movimientos articulares. Toda esta franca minusvalía articular unida a las alteraciones del líquido sinovial producida por los sangramientos favorecerá la recurrencia de la hemartrosis. (Esquema 1).

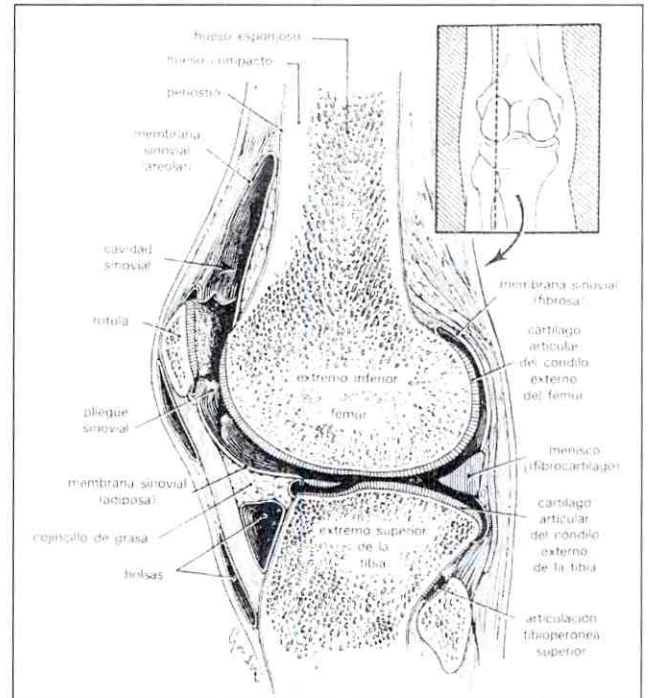
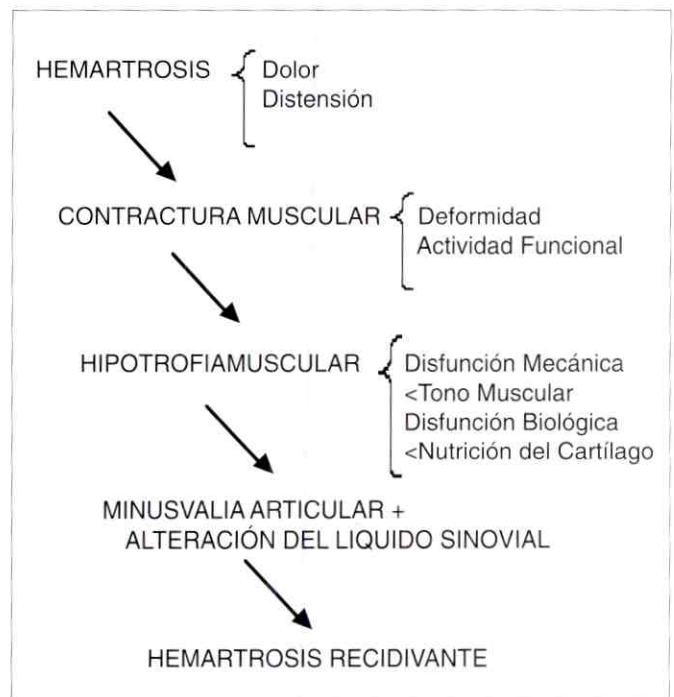


Fig. 1. Esquema de un corte longitudinal de la rodilla humana. En el recuadro se señala el plano del corte. Tomado de Ham y Cormack. Octava Edición. Interamericana. México, DF. 1984. Tratado de Histología. Capítulo 16. Pág. 517. Fig. 16-1.



Esquema 1. Fenómeno en «Cascada» que conlleva a la hemartrosis recidivante



Sabemos los elevados costos que requiere la cirugía en un paciente Hemofílico, no sólo desde el punto de vista quirúrgico sino en relación con el costo del material específico de cobertura (Factor VIII o IX) necesario para hacer factible la operación. Así, no es lo mismo intervenir un paciente cubierto totalmente por la seguridad social, tal como ocurre en Alemania o Italia, que el ayudado por la beneficencia pública o costado por él mismo para la intervención, tal como ocurre en países del Tercer Mundo.

Las distintas técnicas, tienen indicaciones precisas y en opinión de sus defensores los resultados son similares. De allí que sea imposible decir que una es mejor que otra, y sean los factores que rodean los casos o las diferentes enseñanzas de los centros de tratamiento los que nos hagan decidir por uno u otro procedimiento.

Digamos como resumen de las conclusiones de aquel curso que las indicaciones de las técnicas sería, empezar por una sinovectomía radioactiva (la más económica, la menos agresiva) luego seguiría la sinovectomía por artroscopia, luego la sinovectomía quirúrgica (la más costosa) para culminar con la más sofisticada sinovectomía con rayo láser.

En 1986, en Italia, el Dr. Carusso<sup>3</sup> comenzó a experimentar con sinovectomía química con Rifampicina (mucho más económica que las anteriores y menos agresiva) en Artritis Reumatoide (AR), obteniendo como resultado que se podía considerar que la Rifampicina tenía un efecto antimicótico, más tarde, el Dr. Pietrogrande, haciendo referencia al experimento del Dr. Carusso, dijo que esta droga producía fibrosis subsinovial, con potenciales beneficios para la sinovitis hemofílica, dos científicos más presentaron sus experiencias en el manejo de esta patología con la droga, la Dra. Battistella de Brasil y el Dr. Fernández Palazzi de Venezuela, ambos usaron diferentes protocolos. Para dar resultados objetivos, se decidió realizar investigación en animales para confirmar la verdadera acción de la

Rifampicina en la patología sinovial, obteniendo como resultados disminución de la patología inflamatoria.

La Rifampicina<sup>11</sup> es un Antimicrobiano Bactericida usado en combinación con otros agentes para el tratamiento de la tuberculosis y la lepra lepromatosa y dimorfa.

Actualmente la obtención de esta droga ha sido difícil, teniendo que recurrir los pacientes a diferentes medios para su obtención, es por ello y que en pro de los beneficios ya obtenidos con Clorhidrato de Oxitetraciclina (EMICINA) en forma clínica, motivo de otra tesis de grado de nuestro equipo, nos animamos para dar resultados objetivos mediante la investigación experimental en animales. Planteándonos la siguiente hipótesis: SI el tratamiento con infiltraciones de Rifampicina intrarticular produce regeneración de tejido sinovial y disminución del proceso inflamatorio, ENTONCES el tratamiento con infiltraciones de Emicina producirá por igual regeneración de tejido sinovial y disminución de proceso inflamatorio.

Clorhidrato de Oxitetraciclina (EMICINA)<sup>11</sup> es un Antimicrobiano Bacteriostático, derivado de la tetraciclina, es de amplio espectro está indicado para gérmenes Gram (+), Gram (-), rickettsias, virus x, protozoarios y hongos, la presentación que utilizamos en este trabajo es veterinaria debido a que es la única parenteral existente en el mercado.

Según Ham y Cormack<sup>5</sup> de tejido sinovial está compuesta la membrana que recubre por su cara interna la cápsula articular, llegando al límite donde comienza el tejido cartilaginoso característico de las superficies articulares, histológicamente está formada por tejido epitelial constituido por una o máximo dos capas de células llamadas sinoviocitos, que descansan en una lámina propia formada por tejido conjuntivo laxo que contiene tejido vascular, y en el caso de las vellosidades, hay tejido adiposo entre el tejido endotelial y el tejido conjuntivo laxo. (Fig. 2.)

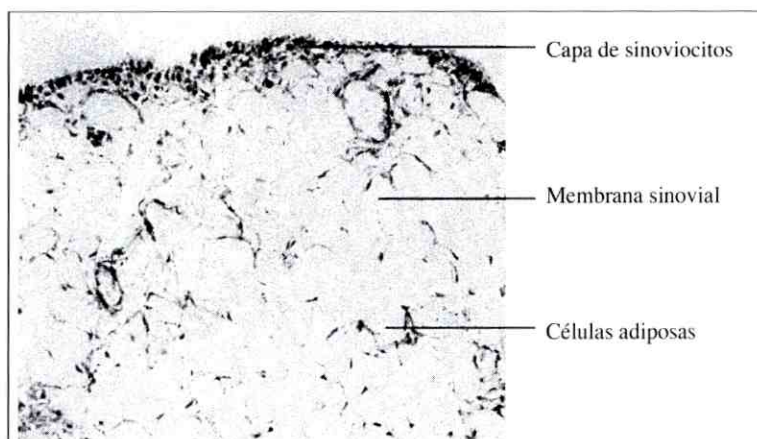


Fig. 2. Membrana sinovial del tipo adiposo. La capa superficial de sinoviocitos queda separada de la cápsula fibrosa por una capa de células adiposas. H & E. x 135. Tomado de Geneser, Finn. Primera Edición. Editorial Médica Panamericana. Segunda Reimpresión, Octubre de 1987. Atlas Color de Histología. Capítulo 6. Pág. 48, Fig. 6-20.

Para interpretar los resultados debemos definir el proceso de reparación y regeneración;<sup>5</sup> desde el punto de vista histológico la reparación es todo aquel proceso mediante el cual el defecto de un tejido es cubierto por otro diferente tanto en su histología como en su función; y hablamos de regeneración cuando el defecto de un tejido es cubierto por uno igual en histología y función. (Fig. 3.)



Fig. 3. Micrografías con poca amplificación (teñidas con azul de toluidina) que muestran (A) Reparación inadecuada a partir de tejido conjuntivo laxo, con vasos sanguíneos. (B) Regeneración con tejido epitelial recién formado (sinoviocitos). Tomado de Ham y Cormack. Octava Edición. Interamericana México, DF. 1984. Tratado de Histología. Capítulo 16. Pag. 525, Fig. 16-5.

## MATERIAL Y MÉTODOS

Se utilizó el Método Científico para realizar un estudio experimental con la Emicina (Clorhidrato de Oxitetraciclina), donde se utilizaron 26 conejos californianos de aproximadamente 6 meses y entre 1,5 y 2,5 Kg. Los animales fueron mantenidos en jaulas y con raciones de alimento para conejo, bajo supervisión veterinaria. Una pequeña cantidad de sulfametacina fue agregada al agua de cada día. Dos días a la semana durante dos semanas 1 ml de sangre homóloga fue inyectada en la rodilla izquierda de cada conejo, la sangre fue obtenida del conejo adulto por punción cardiaca.

Después de 2 semanas, 2 conejos fueron sacrificados para observar las alteraciones intrarticulares, el resto de los conejos fueron divididos en dos grupos, Grupo A comprendido de 8 conejos los cuales recibieron 1 ml de solución salina intrarticular una vez a la semana por cuatro semanas, 2 conejos fueron sacrificados alternativamente en las semanas 4, 5, 6, y 8. La rodilla izquierda tratada de cada animal fue removida desde la raíz del musio y conservada en formol búfer al 10%.

En el Grupo B comprendido de 16 conejos los cuales recibieron 1 ml (50 mg.) de Emicina intrarticular en rodilla izquierda, una vez a la semana por cuatro semanas, 4 conejos fueron sacrificados alternativamente en las semanas 4, 5, 6, y 8. La rodilla izquierda de cada animal fue removida desde la raíz del musio y conservada en formol búfer al 10%.

Las muestras histológicas fueron examinadas por dos observadores sin el conocimiento de la droga previamente aplicada a los animales. El patólogo utiliza cortes transversales para el abordaje de la articulación y visualización macroscópica, luego realiza cortes sagitales de cápsula articular, y preparación de cortes histológicos con distintas coloraciones para visualización microscópica. (Hematoxilina eosina, azul de toluidina).

El Periodo de Campo duro un total de 7 meses, durante este periodo de tiempo fueron utilizados 30 conejos californianos en total debido a que dos de ellos fallecieron, uno por taponamiento cardiaco posterior a punción cardiaca, otro por parálisis espástica producto de trastornos neuromusculares, y los otros dos quedaron fuera del protocolo por bajo peso. Además utilizamos un total de 8 jaulas con sus comederos y dispensadores de agua, 60 kilogramos de alimento especial conocido como conejarina, 296 jeringas de 3 cc aguja número 21, 10 frascos ampolla de Emicina Veterinaria presentación de 5 cc (1 cc equivale a 50 mg.), 40 sobres de Sulfamida (sustancia química con acción bactericida) para agregar al agua, 4 litros de formol búfer al 10% (que está compuesto de fosfato de sodio monobásico 16 gr, fosfato de sodio dibásico 26 gr, formaldehído 400 ml, agua destilada 3.600 ml), 200 pares de guantes descartables, 2 cajas de gasas estériles medianas, 2 litros de alcohol isopropílico, 1 equipo de cirugía menor, 2 rollos de papel para camilla, además fueron necesarias 26 visitas al Parque Zoológico El Pinar, Se realizaron 48 cortes transversales de articulación de rodilla para obtener un total de 102 cortes histológicos con diferentes coloraciones, fueron necesarias 19 visitas a la Policlínica Metropolitana donde se realizaron las muestras histológicas, los resultados fueron analizados en un total de 3 computadoras IBM compatibles, la preparación de este manuscrito fue realizada bajo las Normas de Vancouver,<sup>6</sup> fueron involucrados directamente en la realización de este trabajo un total de 7 profesionales que completaron un equipo multidisciplinario, formado por: Un Residente de Traumatología y Ortopedia, un Tutor con la especialidad antes mencionada, tres Especialistas en Anatomía Patológica y dos Médicos Veterinarios. Cabe destacar, que tanto el anteproyecto como el proyecto fueron avalados por La Asociación Venezolana para la Ciencia de los Animales de Laboratorio (AVECAL) y la Federación de Sociedades Suramericanas de la Ciencia en Animales de Laboratorio (FESSACAL).

## RESULTADOS

El estudio de anatomía patológica de las muestras del grupo A, que representa el tejido sinovial con hemartrosis repetidas tratada con solución fisiológica, entre 4<sup>ta</sup> y 8<sup>va</sup> semana de evolución, dio como resultado, que progresivamente se observa hipotrofia de las vellosidades, debido al aumento de presión intrarticular que provoca la hemartrosis, hiperplasia de los sinoviocitos, van aumentando desde una o dos capas hasta diez o doce capas, proliferación vascular, puesta en evidencia por la vasodilatación progresiva, calcificaciones, se evidencia fibrina, proliferación de células de la lámina propia, gran engrosamiento y cicatriz del tejido sinovial, lo que representa la regeneración y reparación no controlada y viciosa del tejido, origen del engrosamiento que conlleva a la larga a la aniquilación del tejido y la anquilosis de la articulación.

El estudio de anatomía patológica de las muestras del grupo B, que representa el tejido sinovial con hemartrosis repetidas tratada con Emicina, entre 4<sup>ta</sup> y 8<sup>va</sup> semana de evolución, dio como resultado, que progresivamente se observa hiperplasia de células de la lámina propia, hiperplasia leve de sinoviocitos, vellosidades romas, hemosiderófagos, no hay proliferación vascular, escaso engrosamiento, hay lisis de las adherencias, lo que representa la liberación de la articulación y el restablecimiento de la función, observamos la regeneración del tejido sinovial y una reparación controlada no viciosa.

Todos los individuos del Grupo B mostraron alteraciones histopatológicas similares (regeneración), y distintas al Grupo A (reparación).

## DISCUSIÓN

### Histopatología

1. La infiltración única de 1 ml de sangre homóloga intrarticular, no produce efectos reparativos (cicatrizal) del tejido sinovial, sólo vemos hemosiderófagos y vasodilatación.
2. Las hemartrosis repetidas por 4 veces con 1 ml de sangre homóloga e infiltradas por 4 dosis de 1 ml de solución fisiológica, entre la 4<sup>ta</sup> y 8<sup>va</sup> semana, produce lesiones regenerativas en sinoviocitos y reparativas a través de tejido de granulación y gran engrosamiento, como respuesta a la agresión.
3. Usamos para este trabajo, las hemartrosis repetidas por 4 veces con 1 ml de sangre homóloga e infiltramos Emicina 1 ml (50 mg) por 4 dosis, entre la 4<sup>ta</sup> y 8<sup>va</sup> semana, en nuestro material observamos regeneración de sinoviocitos y reparación controlada, no viciosa, poco vascularizada y con escaso engrosamiento de la lamina propia del tejido sinovial.

## CONCLUSIONES

1. El procedimiento experimental mediante el cual desarrollamos hemartrosis proveyó eficientemente un sustrato similar o igual al de las sinovitis hemofílicas, el que nos permitió evaluar el efecto histológico de la Emicina.
2. La acción experimental de la Emicina sobre la sinovial del conejo con hemartrosis, produjo regeneración de tejido sinovial y escasa reparación cicatrizal del tejido sinovial, menos irrigada, por ello menos sujeta a la posibilidad de nuevas hemartrosis.
3. El resultado experimental de Emicina con relación a la Rifampicina fue similar, con las ventajas de ocurrir en menor tiempo y a menor dosis.
4. Estos resultados confirman la acción de sinoviortesis química que produce la Emicina en forma clínica.
5. Por último, la sinoviortesis química es un procedimiento sencillo y de bajo costo.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Astrup, T., Sjolín.- Thromboplastic and fibrinolytic activity of human synovial membrane and fibrous capsular tissue. *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*. 1958; 97:852.
2. Bulloch, W.; Fildes, P.- Citado por Duthie, R. B. y col. *The Management of Musculoskeletal Problems in Haemophilia*. Blackwell. Oxford, 1972;159-164.
3. Carusso, F; Montrone, M; Fumagalli, C; Patrono S. Santandrea and Gandini M. C. Rheumatoid knee synovitis successfully treated with intra articular rifamycin SV. *Annals of the Rheumatic Diseases* 1982; 41, 232-236.
4. Fernández Palazzi, F. Sinovectomía en Artropatía Hemofílica. *Digráfica Gómez*. Caracas. 1986;1,15-24.
5. Ham, A. W.; Cormack, D. H.; *Tratado de Histología*, Capítulo 16 Articulaciones; Editorial Interamericana; México, DF. 1984; 517,525,531.
6. Martínez I., Luis; Resumen de las Normas de Vancouver, Correcciones a la publicación de Postgrado en Medicina 1995; 4:5-6, Título: Requirements for manuscripts submitted to biomedical Journals International Comité of Medical Journal Editors. *New Eng. J Med*. 1997; 336:309-15.
7. Otto, J. C.- Citado por Hardisty, R. M. e Ingram, G. I. C.: *Bleeding disorders*. Blackwell. Oxford, 1965; 221-223.
8. Patek, A. J.; Taylor, F. H. L.- *Haemophilia II*. Some properties of a Substance obtained from normal human plasma effective in accelerating the coagulation of hemophilic blood. *J. Clin. Invest*. 1937; 16:113.
9. Pavlowsky, A. Contribution to the pathogenesis of Haemophilia. *Blood* 1947; 2:185.
10. Smith Sibinga, C. L.; Gokenmeyer, V. D. M.; Ten Kate, L. P.; Bosvan Zwol, F. Combined deficiency of factor V and factor III. Report of a family and genetic analysis. *Brit. J. Haematol*. 1942; 23:467.
11. Spilva De Lehr, Austra. *Guía Spilva de las especialidades farmacéuticas*. XXVI<sup>a</sup> Edición, Caracas 2.000/2.001: 1-729 Capítulo 1 / 10: 56.
12. Storti, E.; Traldi, E.; Fossati, P.; Davoli, C. Sinovectomy for haemophilic hemarthrosis. *Lancet* 1968;2:572.
13. Von Willebrand, E. A. Über hereditäre Pseudohämophilie. *Acta Med. Scand*. 1931; 76:512.