

DELIMITACIÓ DEL TEMA

DELIMITACIÓ DEL TEMA.

Quan s'intenta escrutar el metabolisme de l'os, d'inici ens trobem amb un desvinença seriosa que entrebanca la raó del que es busca, i és que: segons un procés de síntesi proteica comú a tots els teixits, s'elabora una matriu col.làgena que no és pas diferent de les altres dels teixits tous, i que per fer-se os, aquesta matriu es mineralitza intensament, sense explicació bioquímica coherent d'aquesta fixació massiva de sals fosfocàlciques, fet que obliga a pensar en un constrenyiment genètic.

Aquest comentari no excusa però posa a l'aguait de la dificultat que suposa la comprensió de la nucleació mineral de l'os, i més, la majoria de proves hagudes per aclarir l'enigma participen tant de la formalitat ritual com de l'exactitud.

Repasada, en extensió, la literatura científica sobre el tema, em passa com a tots els que perseguim explicacions, que tinc a l'abast de la mà un feix de supòsits, d'afirmacions i contradiccions, demés amfibòliques.

Des del punt de vista de qui es pregunta els perquè que no li han contestat, el dubte intel.ligent fascina l'afany de preveure.

Degut a que són tants i diversos els criteris referits a l'ossificació, ha sigut obligatori delimitar el contingut, la direcció i el sentit de l'experiència. Per aquest motiu s'han escollit uns punts de partida.

PUNTS DE PARTIDA

PUNTS DE PARTIDA.

El malonat inhibeix la deshidrogenasa succínica en viu. (Krebs, 1938).

El malonat actua en viu d'acord com ho fa in vitro: interromp el pas de succinat a fumarat. (Potter, Bush i Bothwell, 1951).

El malonat no es metabolitza en els teixits animals. (Krebs, 1938).

El coneixement més extens de com actua el malonat sobre el cycle tri-carboxílic, si bé profunditza l'explicació de la realitat bioquímica d'aquest, no contradiu el seu fet, ans l'amplia.

Durant molt temps es va creure que l'àcid malònic era inert des del punt de vista metabòlic, Però, ara se sab que l'àcid malònic pot convertir-se en malonil-CoA, el qual a la vegada, pot descarboxilar-se i produir acetil-CoA i CO₂. De tal manera, que en un sistema que contingui una elevada concentració de malonat succeixen els següents esdeveniments: a) la deshidrogenasa succínica es bloca; b) L'ATP i la CoA s'orienten vers l'activació de l'àcid malònic i c) l'acetil-Coa que deriva de la descarboxilació del malonil-CoA congestiona totes les vies metabòliques que utilitzen aquest component. Els resultats són d'una interpretació realment difícil.

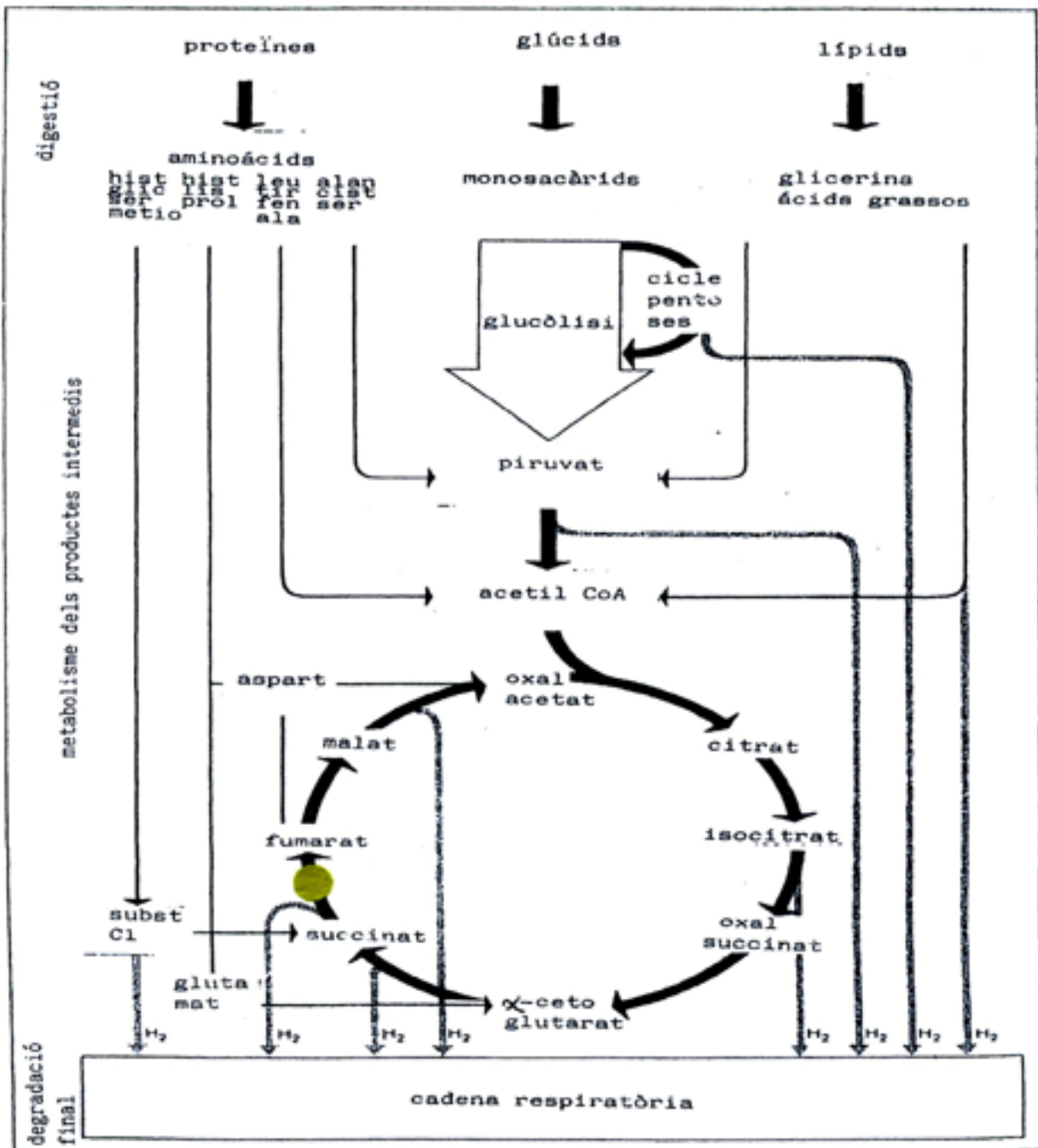
Outlines of Biochemistry E.E.Conn i P.R.Stumpt 1978

El malonat inhibeix competitivament la deshidrogenasa succínica. (Gadjos, 1967).

La deshidrogenasa succínica actua de control metabòlic del cycle tricarbòxílic. Schaffer, 1963).

El malonat disminueix l'oxidació del succinat i els components que d'ell deriven, i el citrat en particular, s'acumulen. (Ruffo, 1967).

Les cel.lules de l'os posseixen tot el funcionament del cycle de Krebs. (Fullmer, 1964).



En la resorció òssia hi ha un augment local d'àcid cítric. (Lekan, 1960).

El citrat és, relativament, alt a l'os cortical del conill. (Dixon i Perkins, 1952).

Existeix una estreta relació entre el calci i el citrat a l'organisme, ja que el 99 % del total del calci i el 90 % del citrat del cos està localitzat a l'esquelet. (Dickens, 1941).

Els osteoblasts tenen nivells alts de fosfatasa alcalina. (Rodan i Rodan, 1984).

Fosfatases alcalines: os, 67 % - fetge, 25 % - intestí, 8 %. (Plomteux i Register, 1980).

La deshidrogenasa succínica és inhibida pel malonat, amb competitivitat i electivament, gràcies a la seva analogia estructural amb el substrat:

àcid malònic $\text{COOH-CH}_2\text{-COOH}$

àcid succínic $\text{COOH-CH}_2\text{-CH}_2\text{-COOH}$

El citrat no està distribuït uniformement a la substància òssia, sinó que la concentració és, especialment alta a les parts dures. (Thunberg, 1947).

L'augment de la funció paratiroidea eleva el contingut d'àcid cítric de la sang. (Sjöstrom, 1937).

La paratiroidectomia disminueix la concentració de citrat de la sang. (Yates i Talmage, 1965).

El citrat de l'os augmenta a l'administrar extractes d'hormona paratiroidea. (Neuman i Neuman, 1958).

Vàries teories sobre l'acció de l'hormona paratiroidea proposen com a idea central, el que aquesta hormona paratiroidea estimula els osteocits i ells, produeixen una gran quantitat d'àcid cítric. (Neuman i Nordin, 1956).

La repetició d'injeccions subcutànies de citrat a gossos joves provoca uns canvis ossis molt semblants als que produeixen grans dosis d'hormona paratiroidea. (Gomori, 1944).

La parathormona acumula àcid cítric a la superfície de

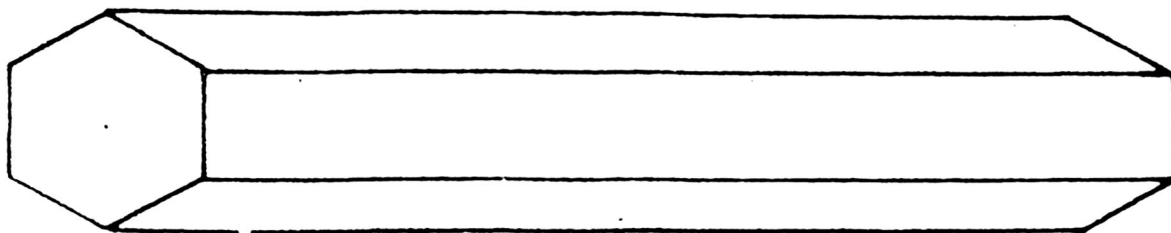
l'os i el dissol per quelació. (Neuman, 1956).

Els ions citrat ataquen la superfície del mineral de l'os, desplaçant simultàniament una quantitat equivalent d'ions fosfat. (Pak i Diller, 1967).

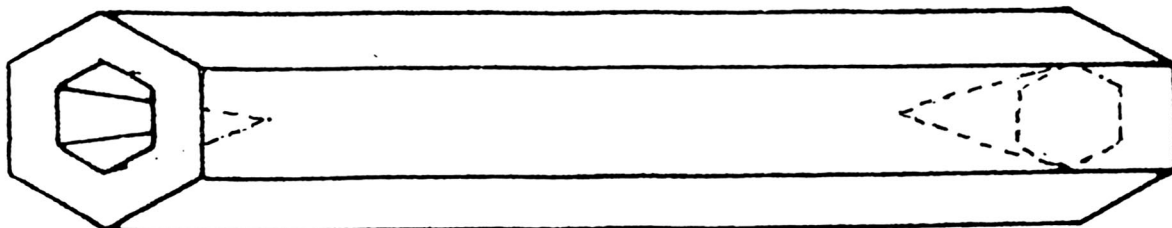
La relació directa o indirecta entre la resorció òssia i el metabolisme del citrat, existeix. (Aurbac, 1964).

El component mineral majoritari de l'os és la hidroxiapatita ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$), cristall en forma d'agulla, molt petit 30-15-40 nm.

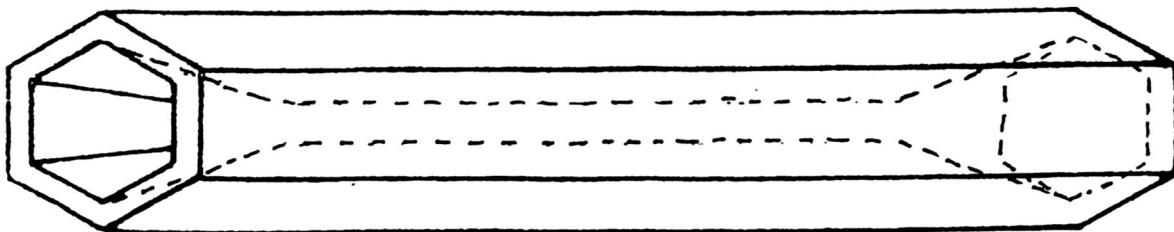
En solucions d'àcid cítric 5M a 37 graus centígrads, l'àcid cítric penetra al monocristall paral·lelament a l'eix c amb una rapidesa de 60 nm/seg.



A



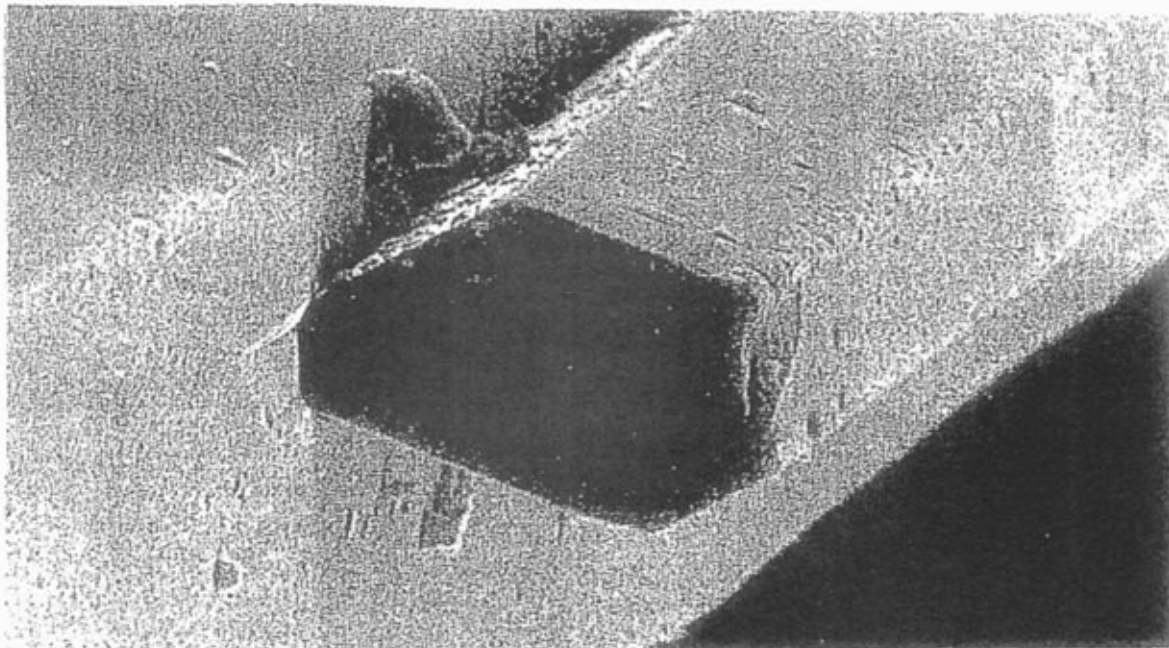
B



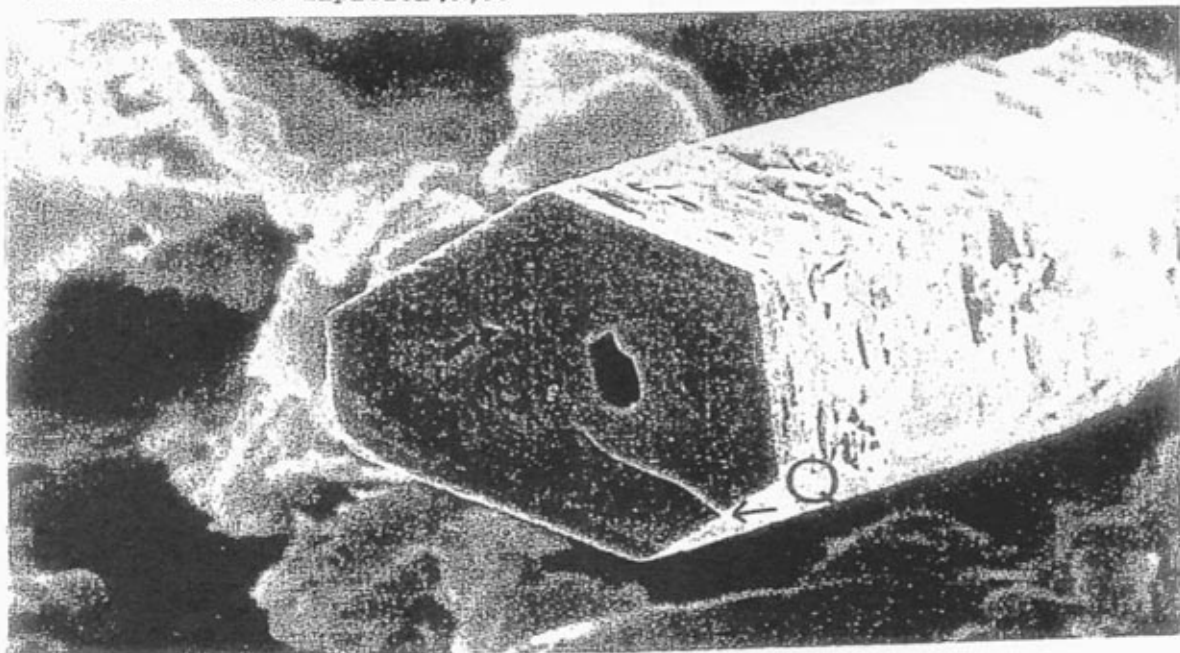
C

Esquema de la remoció del nucli del cristall d'hidroxiapatita en medi àcid(cítric).

A - estat inicial; B - inici de la cavitat; C - nucli remogut.



cristall d'hidroxiapatita x400



cristall d'hidroxiapatita, després de ser tractat amb àcid cítric
(solució 5M a 37° durant 120 segons) x400

(W.L. JONGEBLOED, P.J. van den BERG i J. ARENDS, 1974)

Amb l'apoi de les consideracions propdites,
es va creure que l'administració científica
de malonat a l'animal enter podria ajudar al
propòsit d'esclarir el quefer del citrat en
el metabolisme de l'os.

MATERIAL I MÈTODE

MATERIAL I MÈTODE.

L'animal triat per a l'experiència fou el conill domèstic (*Oryctolagus cuniculus*). No és agressiu, cosa que facilita el seu maneig i, a la vegada, per ésser el més intel·ligent dels rosegadors s'adapta amb soltesa al nou medi provocat. És de règim senzill i control planer: pinso sec i aigua. L'animal és comú al mercat, i per tant d'abastament fàcil. Tres cents conills, en un temps llarg, successivament han sigut repartits en lots de sis cadascun. I cada grup de la mateixa ventrada.

Deu dies intactes observant l'acostumament al nou hàbitat i diferent nutriment.

Han fet vida separada en una gàbia de 0.5 mc i s'han pesat cada sis dies. No s'ha tingut en compte el sexe.

A dos terços de cada grup de conills destinats a ser intoxicats, se'ls han injectat 3.306 milimols de malonat dissòdic - $C_3H_2Na_2O_4$ - $M=148.03$ g/mol - dissolts en 10 cc d'aigua bidestil·lada, pH 7.2, a la vena marginal de l'orella. Durant 20 dies i a les onze de cada matí.

A diari s'ha recollit l'orina essent mesurada i analitzada. I cada sis dies estudi hemàtic per a valorar la tolerància del tractament.

Dosatges.

Àcid cítric: mètode de Chambon modificat,
a la piridina.

Comparativament s'han usat
els següents mètodes:
tiourea . Natelson
sulfat sòdic . Weil-Malherbe
brom . Pucher
iode . Tauski
cromatografia liq.-liq . Nakajima

Calci: OCPC

Fòsfor: Fiske-subarow

Na i K: IMT

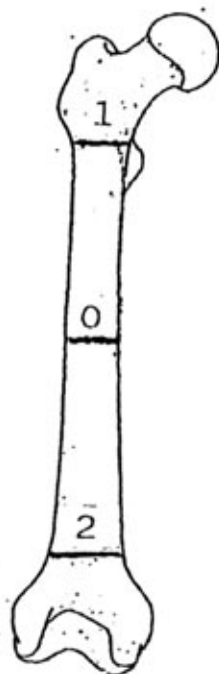
Fosfatases alcalines: King-Armstrong

Preparació de l'os per a la lectura microscòpica:
Els conills han sigut sacrificats a la setmana del
cessament de la intoxicació per insuflació de 20 a
30 cc. d'aire a la marginal de la vena.
Els ossos, previament pelats, s'han mantingut du-
rant 15 dies immersos en una solució d'aldehid
fòrmic al 15 % i després tallats en anells perpen-
diculars a l'eix llarg de l'os (fèmur i tibia) d'un
gruix aproximadament d'1 mm. i a continuació, pel
procediment del raspat, arribar a la primor de
50-70 micres.

S'ha dut a terme l'anatomia microscòpica de les vísceres: melsa, fetge, ronyó, pulmó, cor, i teixit ossi.

S'ha treballat amb os total i amb os descalcificat. En la prova de captació òssis del $^{99}\text{Tc MDP}$ foren administrats 0.8 millicuris per kg.

I també inclusió en metacrilat.



Les seccions òssies a fèmur i tibia han estat fetes tal com indica la figura.

El malonat sòdic és soluble en

aigua
alcohol
metanol
alcohol propílic
piridina i
èter.

Característiques del pinso:

vit. A	7.875	UI/kg
vit. D3	675	UI/kg
vit. E	15	mg/kg

Característiques de l'aigua:

calci	64.1	mg/l
sodi	4.2	mg/l
magnesi	8.0	mg/l

Durant tot el període d'intoxicació malònica, la mortalitat dels animals tractats no s'ha mogut del 6-7 per cent.

Comparació de les nostres dades de laboratori obtingudes en 72 conills intactes i les de Natelson i al. en 55 en dejú (Gandolfo Clin. Chem. vol.9 (4) 1963.

Àcid cítric.....	3.72 \pm 1.45	mg 100 ml	(lab. propi)
	4.55 \pm 1.80	mg 100 ml	(Natelson)
Ca.....	12.65 \pm 1.70	mg 100 ml	
	12.75 \pm 1.90	mg 100 ml	
P.....	7.64 \pm 1.56	mg 100 ml	
	4.27 \pm 1.22	mg 100 ml	
K.....	6.65 \pm 1.35	mEq/l	
	4.95 \pm 1.42	mEq/l	
Na.....	140 \pm 2.60	mEq/l	
	139 \pm 3.40	mEq/l	

Mitjana de les dades resultants de l'experiència.

Ca control	12.65 mg/100 ml
intoxic	14.42 mg/100 ml
P control	6.30 mg/100 ml
intoxic	8.20 mg/100 ml
K control	4.95 mEq/l
intoxic	6.20 mEq/l
Na control	140 mEq/l
intoxic	142 mEq/l