

PRESENCIA DE CRISTALLS D'OXALAT DE CALCI EN EL
LIQUID SINOVIAL D'UNA MALALTA RENAL AMB ARTRITIS.

per

M.L. Molinas de Ferrer

Publicat a ANALES DE LA SECCION DE CIENCIAS DEL COLEGIO UNIVERSITARIO DE
GIRONA, Any VII, n°7, Nov. 1982

PRESENCIA DE CRISTALLS D'OXALAT DE CALCI EN EL LIQUID SINO-
VIAL D'UNA MALALTA AMB ARTRITIS.

M.L.Molinas i de Ferrer

Dept. de Biologia. Col.
Legi Universitari de
Girona, Espanya.

SUMARI

El nostre estudi descriu un cas d'artritis microcristalina associada a la presència d'oxalat de calci en una pacient renal subjecte d'hemodialisi crònica.

Aquest cas, juntament amb els recentment publicats per G.H.Hoffman i col. (Ann.Internal Medicine, 1982,97:36-42) són els primers en la literatura mundial en que s'ha constatat l'associació d'artritis amb la presència de cristalls d'oxalat de calci tipus wedelita al líquid sinovial. Es descriu el cas i s'expliquen les tècniques d'aïllament dels cristalls utilitzades així com els resultats de l'estudi al SEM"

El nostre article descriu la presència de cristalls d'oxalat de calci tipus wedelita en el líquid articular del genoll d'una pacient renal terminal subjecte d'hemodialisi crònica.

Les característiques clíniques de l'afecció van motivar que, per suggerència del Dr. J.Mitja, reumatòleg del Servei d' Hemodialisi de Girona, l'any 1978 es fes una anàlisi del líquid sinovial buscant la presència de microcristalls d'hidroxiapatita. No es trobaren aquests i si en canvi uns altres de molt abundants que foren identificats amb cristallitzacions d'oxalat i estudiats al microscopi electrònic d'escombrat (SEM). La desaparició dels cristalls en posteriors punxions i la mort de la malalta a principis de 1980 motivaren que no es publicués el cas buscant-ne una confirmació en l'anàlisi d'altres pacients renals crònics afectats de sinovitis. Però la recent publicació per H.F.Hoffman i col. dels primers casos descrits en la literatura mundial (1) així com la posterior comunicació personal amb els autors esmentats motiven avui la seva publicació ja que creiem que el nostre cas pot contribuir a aclarir el possible paper de l'oxalat en les artropaties microcristal·lines i perquè l'estudi al SEM dels microcristalls suposa una aportació nova.

Descripció clínica

La pacient, A.M. , una dona de 62 anys , afectada de pielonefritis crònica , dialitzada des de 1974 i presentant des del 1976 un dolor articular als genolls de curs recurrent i acompanyat de sinovitis que va obligar repetides vegades a la evacuació del líquid sinovial així com a la injecció intrarticular d'esteroides.

L'estudi radiogràfic dels genolls mostrava osteopenia amb erosió subcondral de les dues rotules . Altres radiografies feien evidents severes lesions ossies amb resorció subperiòstica, especialment a les falanges, clavícules i trocanter , així com calcificacions als teixits tous, particularment en proximitat de l'articulació coxal.

La malalta es va veure afectada d'atrofia cerebral progressiva i va morir d'hemorragia digestiva intercurrent durant l'any 1980.

Material i metodes

Per a la realització d'aquest treball va ésser necessari posar a punt la metodologia d'aïllament i preparació dels cristalls per a la seva observació al SEM.

Els líquids sinovials obtinguts per punció intrarticular amb agulla heparinitzada eran col·locats en tubs d'assaig i a continuació observats al microscopi òptic (NIKON S.M.) amb efecte de camp fosc, pipetejant una petita quantitat del sediment al fons del tub. En el cas de trobar indicis de la presència de microcristalls es procedia a l'intent d'aïllament i rentat a fi d'eliminar la matèria orgànica i procedir al seu estudi al SEM.

Després de diverses proves (oxidació per aigua oxigenada, tractament amb hialuronidasa, etc..) es van seleccionar dos mètodes considerats com els més adients per la seva simplicitat i els bons resultats obtinguts i es van utilitzar tant per a la observació d'hidroxiapatita com de la wedelita trobada en el cas que motiva el present treball.

- a) hidròlisi per una solució d'hipoclorit sodic al 12% de 20 a 60 min, modificant el procés seguit per Hancock i col. (2) . Sedimentació per centrifugació 10 min a 10.000 rpm i rentat amb aigua o tampó fosfat pH 7,2 , 0,2M. Els resultats són molt satisfactoris.
- b) hidròlisi enzimàtica amb pancreatina (Pankreon, Kali-Farma, mig comprimit) equivalents a 115 mg de pancreatina de bou liofilitzada per a cada 30 cc de líquid sinovial. L'hidròlisi requereix de 6 a 8 h a uns 20 - 21°C., però el temps pot ésser més llarg per a líquids més viscosos. Sedimentació i rentat per centrifugació igual que en el cas anterior. Amb aquest mètode s'obtingueren cristalls molt nets i molt favorables per a l'obtenció de microfotografies.

El material sedimentat es diposita sobre un filtre de membrana de policarbonat de 0,2 u de porositat (Nucleopore) , i el filtre sotmés a un metallitzat amb or d'uns 300 Å de gruix realitzat amb un diode (sputtering). Davant la sospita de cristalls d'oxalat convé evitar l'ús d'alcohol etílic en qualsevol punt del procés per motius de solubilitat i mantenir pH neutre o bàsic.

Les observacions es van fer amb un Cambridge Stereoscan S-4 amb acceleració de 30 KV, al Servei de Microscopia Electrònica de la Universitat de Barcelona.

Observacions

El primer líquid sinovial de la malalta A.M. examinat al Maig de 1978, va mostrar sota del microscopi òptic ordinari una gran abundància de cristalls de wedelita, alguns de gran tamany (fins a 20 u) la majoria entre 2 i 5 u, així com d'altres en forma de peits bastons molt menys abundants. En vista de la novetat d'aquesta troballa i l'elevada concentració dels cristalls es va procedir a la observació directa al SEM, diluint el líquid en tampó fosfat pH 7.4, filtrat sobre nucleopore 0.2 u, dessecació sota punt crític i sombrejat obtenint-se les imatges que presentem en les fot. nº 1. La identificació dels cristalls es va fer per les dades morfològiques mitjançant l'Acta Crystallogràfica 1965 I, pag. 917 i per exclusió en les proves de solubilitat (Nezelof, 1975 Merck, Clinical Laboratory, 1974).

La segona punció de la malalta estudiada per nosaltres, va mostrar un nombre de cristalls molt més reduït que van ésser processats tal com s'indica en l'apartat de material i mètodes i es van obtenir excel·lents microfotografies que permeten confirmar els resultats anteriors (fot nº 2). La no disponibilitat d'aparells de microanàlisi o difracció per raigs X, així com el desitj de confirmar-ho amb l'estudi d'altres pacients hemodialitzats va ésser la causa de la no publicació immediata dels resultats, si bé es varen comunicar a l'Escola de Reumatologia de la Universitat de Barcelona.

La darrera punció feta al Novembre de 1979 no va mostrar cristalls de wedelita ni de cap altre tipus lliures en el líquid sinovial. Poc després es produí el decés de la malalta i es va procedir a la necropsia i estudi de les articulacions teixit hepàtic i d'altres, estudi al qual l'autora no ha tingut accés directa però que dona resultats negatius. Després de conèixer els treballs de Hoffman i col., estem procedint a una revisió d'aquest material, conjuntament amb els esmentats autors i esperem disposar aviat dels resultats.

Al voltant de la presència de cristalls d'oxalat associada a sinovitis hi han encara moltes qüestions per a respondre, per exemple per quin motiu els cristalls, tant abundants en la primera punció desapareixeren paulatinament, en quina manera es pot veure afectat per les injeccions d'esteroides o la possible associació d'oxalosi amb d'altres inflamacions seroses freqüents en els malalts hemodialitzats. Nosaltres creiem que els estudis fets i els que estan en curs sobre aquesta malalta poden ésser una aportació prou important.

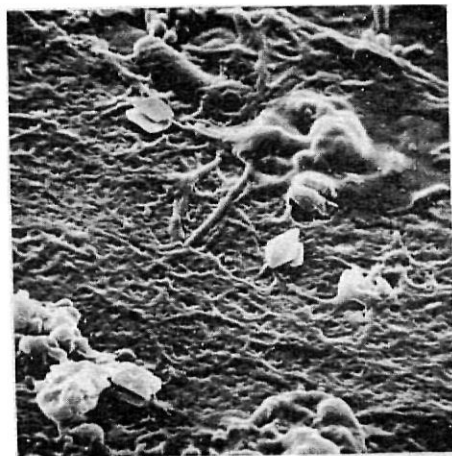


Foto: 1

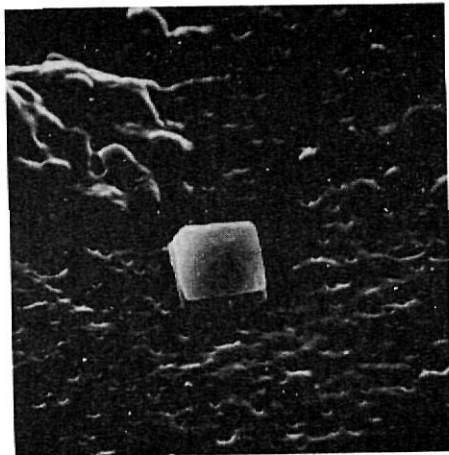


Foto: 2

Bibliografia

- (1) Hoffman, G.S. i col. 1982 "Calcium Oxalate Microcrystalline-Associated Arthritis in End Stage Renal Disease" *Ann. Internal Medicine*, 97: 36-42
- (2) Hancock, W i col., 1978 "Calcareous deposits in the renal sac of mongueld tunicate" *Science*, 200 :198-201
- (3) *Acta Crystallografica* 1965 tom I
- (4) Nezelof, C.; Galle, P.; Hinglais, W., 1975 "Técnicas Microscópicas" Ed. Jims Barcelona.
- (5) Merck "Clinical Laboratory" Merck, Darmstad, 1974
- (6) Faure, G.; Netter, P.; Gaucher, A., 1980, "Microscopie électronique a balayage et pathologia articulaire". Etude de la membrane synoviale." Merck, Sharp and Dome ed. Paris.
- (7) Willoughby, D.A. "Inflammation" *Endeavour*, 1978, 2 : 57-65
- (8) Willoughby, D.A. i col., 1978 "Crystal deposition Disease" *Europ. J. Rheum. and Inflammation* I, nº 2, ed. completa.