

Daño por radiación en articulaciones sometidas a diferentes dosis de ^{32}P

Dres. A. M. Ubios, F. S. Silberman y R. L. Cabrini

Buenos Aires - Argentina

CONICET; Departamento de Radiología, Comisión Nacional de Energía Atómica y Fundación Dupuytren.

En los últimos tiempos se han estado utilizando compuestos marcados con emisores β , como el ^{90}Y , ^{198}Au o ^{32}P , para el tratamiento de enfermedades articulares. Hasta ahora los resultados publicados al respecto, se refieren a evaluaciones clínicas o se limitan exclusivamente al estudio de la membrana sinovial^{1,8,10,16}. Sin embargo, el empleo de isótopos radiactivos a nivel terapéutico en este tipo de lesiones exige el conocimiento previo de las alteraciones que ellos pudieran provocar, no solamente en los tejidos involucrados por la lesión, sino también en los tejidos sanos vecinos.

En un trabajo previo nosotros hemos demostrado el daño que producen dosis altas de ^{32}P en los tejidos articulares y paraarticulares de la rodilla de rata¹⁵. En el presente trabajo presentamos un estudio histopatológico de los efectos producidos por diferentes dosis de ^{32}P , desde dosis altas a dosis equivalentes a las terapéuticas, en función de tiempo, en los tejidos articulares y paraarticulares de la rodilla.

MATERIALES Y METODOS

Se utilizaron 195 ratas Wistar de 250 gr. de peso, a las que se les inyectó ^{32}P en forma de fosfato crómico coloidal de partículas de 100 a 300 Amstrongs² en la cavidad articular de una de las rodillas de la rata, utilizándose la rodilla contralateral

como control. Las ratas fueron divididas en tres lotes, al primero de los cuales se le inyectó 0,25 mCi, al segundo 0,12 y al tercero 0,06 mCi del compuesto marcado. Las ratas fueron sacrificadas en grupos de 5 animales para cada dosis después de 7, 14, 28, 32, 35, 38, 42, 56, 70, 84, 91, 112 y 140 días de la inyección del isótopo radiactivo. Las rodillas fueron extraídas y procesadas según técnica corriente para su inclusión en parafina, previa decalcificación con E.D.T.A. al 10 % pH 7, cortadas y coloreadas con hematoxilina-eosina.

Las dosis de radiación fueron calculadas en base a la actividad inyectada y a la distribución del isótopo en las superficies articulares estimadas¹⁵.

RESULTADOS

Las primeras lesiones apreciables histológicamente aparecen después de 28 días en los animales inyectados con 0,25 mCi, a los 63 días en aquellos inyectados con 0,12 mCi y después de 150 días en los que recibieron 0,06 mCi de ^{32}P .

El primero y más conspicuo de los cambios histológicos fue la destrucción de la médula ósea roja y su reemplazo por médula adiposa, que en principio es parcial, solamente epifisaria y acompañada de congestión hasta hacerse total. Esta alte-

ración es visible además macroscópicamente ya que cuando se divide el hueso la zona medular aparece blanquecina. La Figura 1 muestra el aspecto histológico de un corte longitudinal de articulación de una rata que recibió 0,12 mCi después de 70 días de la inyección.



FIGURA 1. — Corte longitudinal de una rodilla de una ratita inyectada con 0,12 mCi de ^{32}P después de 70 días de recibida la inyección. Nótese el reemplazo de la médula ósea roja por tejido adiposo. Este reemplazo es total en las epifisis y parcial en las diáfisis. En la epifisis femoral hay una zona de transformación fibrosa (flecha). En la superficie articular de la misma hay sectores de atrofia en el cartilago articular. Hematoxilina-eosina. Aumento original 12 X.

FIGURE 1. — Longitudinal section of the knee of a rat 70 days after having been injected with 0,12 mCi of ^{32}P . Note replacement of red marrow by adipose tissue. This replacement is total in the epiphysis, and partial in the diaphysis. The femoral epiphysis shows an area of fibrous transformation (arrow). The articular surface reveals atrophic area in the articular cartilage (H-E. stain, x 12).

En la mayoría de los casos se observó la atrofia de las células superficiales de la membrana sinovial y la presencia de un leve infiltrado inflamatorio crónico, especialmente perivascular con presencia de células macrofágicas o xantomatosas.

En los tendones pudieron observarse áreas en las que aparecen nidos de células en transformación cartilaginosa que recuerdan las imágenes observables en las tenosinovitis de Quervain.

En cuanto a los tejidos cartilaginosos sufrieron importantes transformaciones. En el cartilago articular se pudo apreciar la presencia de nidos isogénicos coronarios (Figura 2) y además zonas de erosión superficial, coexistiendo con zonas de atrofia y de degeneración asbestiforme. Estos cambios aparecieron a los 35 días en los animales inyectados con las dosis mayores. Las zonas desnudas se cubrieron con un pannus fibroso en los animales sacrificados después de 70 días de recibido el isótopo a razón de 0,25 mCi y a partir de los 112 días en los animales que recibieron 0,12 mCi. En el cartilago de crecimiento aparecieron lesiones muy notorias, como la disposición alterada de los nidos



FIGURA 2. — Zona de cartilago articular donde se puede apreciar la formación de nidos isogénicos coronarios (flecha). El corte corresponde a un animal inyectado con 0,06 mCi y que fue sacrificado 150 días más tarde. Hematoxilina-eosina. Aumento original 100 X.

FIGURE 2. — Articular cartilage in which can be appreciated the formation of coronarous isogenous nests (arrow). This section corresponds to an animal sacrificed 150 days after having been injected with 0,06 mCi. (H-E. stain, x 100).

isogénicos axiles, con imágenes celulares que muestran gran diversidad en su aspecto. Así los condrocitos se presentan tumefactos hipertróficos o atroficos con hiperromasia nuclear marcada. La matriz condroide a su vez presenta gran irregularidad en su afinidad tintorial (Figura 3). Dichas lesiones se comienzan a ver a partir de los 35 días en los animales inyectados con las dosis mayores, desde los 70 días en los que recibieron 0,12 mCi y a los 150 días en los que recibieron las dosis menores. Estas alteraciones cartilaginosas son seguidas de osteoporosis, apareciendo trabéculas selladoras por debajo del cartilago de crecimiento y más tarde aparecen zonas de sustitución de hueso subcondral con esclerosis ósea. Se observó también la proliferación de cartilago a partir de la zona de crecimiento hacia la zona epifisaria marginal.

La aparición de las lesiones en función de tiempo y dosis han sido tabulados y se pueden ver en la Tabla I.



FIGURA 3. — Zona de cartilago de crecimiento correspondiente a un animal que recibió una inyección intraarticular de ^{32}P de 0,25 mCi y sacrificado después de 56 días. En ella se puede apreciar la desorganización de los nidos isogénicos axiles y el pleomorfismo celular además de la irregularidad de la matriz condroide. Hematoxina-eosina. Aumento original 100 X.

FIGURE 3. — Growth cartilage corresponding to an animal injected with an intraarticular injection of 0.25 mCi of ^{32}P and sacrificed 56 days later. This illustration reveals pleomorphism, besides irregularity of the chondroid matrix (H-E stain, x 100)

TABLA I

Alteraciones histológicas	Actividad inyectada de ^{32}P		
	0,25 mCi	0,12 mCi	0,06 mCi
TRANSFORMACION ADIPOSITA DE LA MEDULA	31 días	63 días	120 días
ATROFIA SINOVIAL	31 días	63 días	120 días
CARTILAGO ARTICULAR: DESORGANIZACION CONDROCITARIA	31 días	70 días	150 días
CARTILAGO CRECIMIENTO: DESORGANIZACION CONDROCITARIA	31 días	70 días	150 días
TRABECULAS SELLADORAS	31 días	70 días	150 días
CARTILAGO CRECIMIENTO: ALTERACION DE LA MATRIZ	39 días	70 días	150 días
CARTILAGO ARTICULAR: ATROFIA	39 días	70 días	
OSTEOPOROSIS	42 días	94 días	

TABLA I. — Se han tabulado las lesiones histológicas encontradas en los tejidos articulares y paraarticulares de los animales a los que se les había inyectado ^{32}P en forma de fosfato crómico coloidal en función de la actividad inyectada y del tiempo transcurrido entre la inyección y el sacrificio. Si bien las lesiones aparecen más tempranamente cuanto mayor es la dosis de radiación recibida por los tejidos, existe una secuencia cronológica respetada en la aparición de las lesiones cualquiera sea la actividad inyectada.

TABLE I — Histologic lesions found in the articular and paraarticular tissues of animals injected with ^{32}P in the form of colloidal chromium phosphate. These lesions are shown in relation to the injected activity and the time elapsed between the injection and the sacrifice of the animal. In spite of the fact that the greater the amount of radiation the earlier the manifestation of lesions to the tissues, there exists a mandatory chronological sequence in so far as concerns the appearance of lesions irrespective of the injected activity.

DISCUSION

Según cálculos efectuados anteriormente por nosotros¹⁵ en los que determinamos las áreas articulares de la rodilla del hombre y de la rata, las actividades inyectadas en esta experiencia son mayores que las terapéuticas en los animales que recibieron 0,25 y 0,12 mCi, correspondiendo aproximadamente a un factor 4 y 2 respectivamente. Las inyecciones de 0,06 mCi en cambio, pueden ser consideradas equivalentes a las utilizadas en terapéutica humana. Los cálculos dosimétricos efectuados entonces arrojaron valores de 70.000 rads para la superficie articular y 3.000 rads para el cartilago de crecimiento, en tanto que el hueso varía entre 25.000 y 10 rads, en relación a la distancia medida entre la superficie articular, que es donde se deposita el isótopo.^{9, 11} Estos cálculos corresponden a las inyecciones de 0,25 mCi, considerándose que las dosis son de la mitad para las inyecciones de 0,12 mCi y de la cuarta parte para las de 0,06 mCi. Las dosis fueron calculadas para el decaimiento total de radioisótopo y teniendo en cuenta, como hemos comprobado anteriormente por medios autorradiográficos, que esta forma coloidal del ³²P se deposita preferentemente en la superficie sinovial.¹³

Estudios realizados por otros autores con rayos X^{5, 6, 12} mostraron también la desorganización del cartilago de crecimiento y el aumento del espesor. Emisores β (⁹⁰Y) aplicados externamente producen también el aumento del espesor de la placa epifisiaria en los primeros momentos, seguido de la recuperación a partir de los 25 días, con dosis calculadas entre 5.000 y 7.000 rads.¹⁴ Todos estos autores aplicaron fuentes externas de radiación administradas en periodos breves, en tanto que en nuestros casos el isótopo inyectado actúa como una fuente interna y continua de radiación durante toda la vida del radioisótopo.

Las lesiones producidas por nosotros con este tipo de radiación son muy claras y

graves. En el cartilago de crecimiento aparece una evidente anarquía estructural tanto a nivel celular como de la matriz. Esta situación se traduce en la aparición de imágenes que evidencian graves alteraciones en la actividad formadora de hueso, como son la aparición de osteoporosis y trabéculas selladoras, la formación de exostosis marginales y la formación de núcleos cartilaginosos ectópicos. También el cartilago articular muestra alteraciones importantes como son las lesiones erosivas de la superficie, la hipertrofia y la presencia de degeneración asbestiforme, que en los periodos más tardíos llegan a la exposición del hueso epifisiario cubriéndose por un pannus fibroso. Asimismo en la sinovial aparece una franca atrofia endotelial acompañada de un infiltrado inflamatorio crónico especialmente perivascular, como también lo han relatado otros autores con emisores β .^{8, 11, 16} Estas lesiones son menos graves que las que se producen en los tejidos óseo y cartilaginoso, a pesar de ser la sinovial el sitio de localización preferencial del ³²P en forma de fosfato crómico coloidal, como ya hemos comprobado anteriormente por medios centelleográficos y autorradiográficos.^{9, 13} La razón de esta respuesta menor es que la radiosensibilidad de la membrana sinovial es mucho menor que la del hueso y del cartilago.⁴ Los tratamientos propuestos con estos isótopos se refieren a enfermedades articulares donde es la sinovial la que está dañada, sin embargo es en el cartilago y en la médula ósea donde se producen las lesiones más graves.

La secuencia cronológica de la aparición de las lesiones histológicas se cumple en cada uno de los grupos estudiados en relación a las diferentes dosis. La aparición de las lesiones es tanto más precoz cuanto mayor es la dosis aplicada. Es de notar que en los animales inyectados con dosis equivalentes a las terapéuticas, la aparición de las lesiones fue tardía, recién se hacen evidentes a los 150 días. Este hecho es de suma importancia ya que indica la posibilidad de aparición de graves lesiones a nivel de hueso y cartilago, después de

mucho tiempo de la administración del radioisótopo.

Debe recordarse que la radiación trae como efecto inicial la depresión de los cuadros inflamatorios en cualquier sector de la economía en la que se la aplique. Por lo tanto al producir una mejoría clínica en una primera etapa, la aplicación de radiaciones puede resultar engañosa, ya que no corresponde a una real curación del proceso. La aplicación de radiaciones en el cartilago trae a distancia alteraciones que, como se sabe, en el cartilago son irreversibles.

Por otra parte la aplicación de radiaciones conduce a aumentar la probabilidad del desarrollo de tumores.^{3,7} Esta posibilidad no ha sido evaluada hasta ahora por nosotros, pero son objeto de una investigación que ya está en marcha.

Con este trabajo completamos una serie de investigaciones en animales, cuya conclusión es el peligro real que implica el uso de radioisótopos en cavidad articular sin un estudio previo. Creemos que no deben emplearse radioisótopos hasta tanto no se tenga información de los peligros de su aplicación y una evaluación de su posible ventaja terapéutica.

RESUMEN

Se estudió el efecto que sobre los tejidos articulares y paraarticulares producen diferentes dosis de ^{32}P en forma de fosfato crómico coloidal, en función de tiempo. Se utilizaron ratas a las que se les inyectó el radioisótopo en la cavidad articular de la rodilla a razón de: 0,06; 0,12 y 0,25 mCi. Los animales se sacrificaron en periodos variables de tiempo que van desde 7 hasta 150 días. Las transformaciones histológicas encontradas fueron tales como: transformación adiposa de la médula, atrofia sinovial, infiltrado crónico sinovial perivascular, formación de nidos isogénicos coronarios, atrofia y zonas de degeneración asbestiforme en el cartilago articular y desorganización y pleomorfismo celular acompañado de alteraciones de la matriz en el cartilago de crecimiento. Los

cambios histológicos aparecen tanto más tempranamente cuanto más alta sea la dosis recibida por los tejidos, pero siguiendo una secuencia cronológica que se respeta para cada una de ellas. Con dosis equivalentes a las empleadas en terapéutica humana se comenzaron a ver lesiones a partir de los 120 días. Se recomienda la necesidad de una cuidadosa programación cuando se planean tratamientos con radioisótopos y la evaluación de sus posibles ventajas.

SUMMARY

The effect was studied of different doses of ^{32}P , in the form of colloidal chromic phosphate, on the articular and pararticular tissues in terms of time. With this end in view rats were injected the radioisotope in the articular cavity of the knee, in the doses of 0.016; 0.12 and 0.25 mCi. The animals were sacrificed at varying periods of time ranging from 7 to 150 days. The histological changes consisted of adipose transformation of the medulla, synovial atrophy, chronic synovial perivascular infiltrate, formation of coronary isogenous nest, atrophy and areas of amiantine degeneration of the articular cartilage, and disorganization and cellular pleomorphism accompanied by changes in the matrix of the growth cartilage. The higher the dose of radioisotope injected the earlier the histologic changes each of which, however, follows a chronologic sequence. With doses equivalent to the ones in human therapeutics the lesions commenced to appear after 120 days had elapsed. A careful planning is recommended when considering treatment with radioisotopes, besides evaluating their possible advantages.

BIBLIOGRAFIA

1. Ahlberg, A., Mikuloski, P., and Odolberg-Johnson, O.: Intraarticular injection of radioactive gold in treatment of chronic synovial effusion in the knee. *Acta Rheumatologica Scandinavica*, 15: 81-89, 1969.

2. Anghileri, L. J. and Marques, R.: New colloidal chromic radiophosphate (^{32}P) for local irradiation of the central nervous system. *International Journal of Applied Radiation and Isotopes*, 18: 97-100, 1967.
3. Bensted, J. P. M., Blackett, N. M. and Lamerton, L. F.: Histological and dosimetric considerations of bone tumor production with radioactive phosphorus. *British Journal of Radiology*, 34: 160-175, 1961.
4. Cottier, H.: *Handbuch der Medizinischen Radiologie-Strahlen-biologie*, Teil 2: 120-129. Berlin-Heidelberg, Springer-Verlag, 1966.
5. Huibel, C. L.: The effect of roentgen ray upon the growing long bone of albino rats. II: Histopathological changes involving endochondral growth centers. *American Journal of Roentgenology and Radium Therapy*, 49: 321-347, 1943.
6. Klein-Szanto, A. J. P. and Cabrini, R. L.: Acute ultrastructural alterations in irradiated proliferative chondrocytes of rat growth cartilage. *Pathol. Microbiol.* 40: 115-126, 1974.
7. Koletzky, S., Bonte, J. F. and Friedell, H. L.: Production of malignant tumors in rats with radioactive phosphorus. *Cancer Research*, 10: 129-138, 1950.
8. Koptan, M. T. and El-Zornaky, K.: Intraarticular radioactive colloidal gold in the treatment of diffuse villonodular synovitis of the knee. *Strahlentherapie*, 148: 295-297, 1974.
9. Miranda, F. F., Ubios, A. M., Cabrini, R. L., Degrossi, O. J. y Silberman, F. S.: Artrosis experimental; Acción del ^{32}P -CROP y utilización del ^{35}S . *Revista de Biología y Medicina Nuclear*, 9: 102-1977.
10. Parelka, K., Meier Ruge, W., Mueller, W. and Friedrich, R.: Histological study of effects of colloidal yttrium-90 on the knee joint tissues of rabbits. *Annals of Rheumatological Disease*, 34: 64-69, 1975.
11. Prichard, H. L., Bridgman, J. F. and Blechen, N. M.: An investigation of radioactive yttrium (^{90}Y) for the treatment of chronic knee effusions. *British Journal of Radiology*, 43: 466-470, 1970.
12. Sams, A.: The effect of 2,000 r of the X rays on the internal structure of the mouse tibia. *International Journal of Radiation Biology*, 11: 51-68, 1966.
13. Silberman, F. S., Ubios, A. M., Miranda, F., Degrossi, O. y Cabrini, R. L.: Distribución del fosfato crómico coloidal (^{32}P -CROP) en cavidad articular. *Acta Ortopédica Latinoamericana*, 2: 186-190, 1976.
14. Simmons, D. J., Hakim, R. L. and Cummins, H.: Temporary retardation of cartilage growth in mice after external beta-radiation. *Experientia*, 27: 1210-1211, 1971.
15. Ubios, A. M., Cabrini, R. L., Silberman, F. S. and Miranda, F. F.: Radiation effects produced by the intraarticular injection of ^{32}P . *Clinical Orthopaedics and Related Research*. (En prensa).