

Sobre los cambios osteoarticulares del envejecimiento (II): producción de la materia fundamental del hueso mediante hormonas anabolizantes

A. Ruiz-Torres

Instituto Universitario de Investigación Gerontológica y Metabólica. Hospital de la Princesa. Madrid. España.

RESUMEN

Los resultados de tratamientos hormonales en la osteoporosis son contradictorios, en especial si la manifestación ósea está relacionada con el envejecimiento. Además, los estudios en humanos sólo permiten objetivar el comportamiento de indicadores humorales o urinarios, pero no la medición directa en el hueso del recambio metabólico. Por ello, es preciso tratar de dilucidar aspectos sobre la efectividad y el posible mecanismo, especialmente con la ayuda de modelos de experimentación animal.

En este trabajo se estudia el efecto desarrollado en la osteoporosis experimental de la rata por los dos tipos de hormonas anabolizantes: hormona de crecimiento (GH) y el andrógeno metilandrostenolona. El efecto registrado será comparado con el del glucocorticoide prednisolona, como representante de las sustancias estimulantes del catabolismo.

Mientras que la GH induce la deposición de colágeno en el hueso sin lugar a dudas, el efecto de la metilandrostenolona es menos seguro, dependiendo de las condiciones que afectan al hueso. Sorprende observar que esta sustancia estimula el catabolismo óseo, siendo sus consecuencias distintas en función del estado inicial del hueso. En el hueso sano, y eventualmente en el osteoporótico en vía de recuperación, metilandrostenolona estimula el recambio, favoreciendo la colagenización. En el osteoporótico bajo los efectos de la noxa patogénica, puede conducir a la pérdida de la sustancia fundamental. La prednisolona no da lugar a resultados catabólicos propiamente dichos, sino que se limita a inhibir la mineralización. No obstante, el resultado es distinto cuando el hueso se encuentra sometido a los efectos de la noxa osteoporótica, es decir, protege contra sus consecuencias.

Por consiguiente, en referencia al hueso, posiblemente sólo haya un anabólico, que es la GH (o IGF-1 como efector específico). En cambio, el andrógeno no produce una clara respuesta anabólica, ni el glucocorticoide una respuesta catabólica.

Palabras clave

Osteoporosis. Colágeno. Androstenolona. Prednisolona. Recambio metabólico.

Correspondencia: A. Ruiz Torres. Instituto de Investigación Gerontológica. Hospital de la Princesa. Diego de León, 62. 28006 Madrid. España.
Correo electrónico: iuigm@hlpr.insalud.es

Recibido el 22-7-02; aceptado el 14-10-02.

About osteoarticular changes in aging (II): production of bone matrix by anabolic hormones

ABSTRACT

As known, clinical data from hormone therapy for osteoporosis are contradictory, mainly when the disease is related to ageing. Furthermore, studies in humans do not allow bone turnover to be detected directly, but merely reflect the behavior of hematic or urinary indicators. For this reason, aspects related to the efficacy and possible mechanism of anabolic hormones require elucidation by laboratory experiments, especially those using animal models.

The aim of this study was to clarify the effect of two types of anabolic hormones, growth hormone (GH) and the androgen methylandrostenolone, on a model of experimental osteoporosis in rats. The results were compared with those for the glucocorticoid, prednisolone, which should act as a potent catabolic substance.

GH clearly induces collagen deposition in bone. In contrast, the effect of methylandrostenolone is less clear and depends on bone status at administration. Surprisingly, this androgen stimulates collagen catabolism, but its effects differ, depending on initial bone status. In healthy bone and eventually in recovering osteoporotic bone, methylandrostenolone increases collagen turnover while prednisolone does not give rise to catabolic results as such, but inhibits mineralization. In osteoporotic bone still under the effects of pathogenic noxa, methylandrostenolone decreases collagen content but prednisolone protects against this toxic effect. We conclude that in bone, probably only GH (or the specific effector IGF-1) acts as an anabolic substance. In contrast, neither methylandrostenolone nor prednisolone produces clear anabolic or catabolic effects.

Key words

Osteoporosis. Collagen. Androstenolone. Prednisolone. Bone turnover.

INTRODUCCIÓN

Es bien conocido que la osteoporosis y la artrosis son procesos degenerativos estrechamente relacionados con

la edad. No obstante, es también conocido que el hipogonadismo, la desnutrición y determinadas noxas procedentes del medio afectan a la mineralización ósea mediante la inhibición de la producción de la sustancia fundamental. Por otro lado, conduce a la misma manifestación el aumento de la reabsorción ósea, ya sea por hiperparatiroidismo, infiltración neoformativa o hipoestrogenismo. Dado que los cambios hormonometabólicos que aparecen con la edad no sólo pudieran repercutir sobre el hueso, sino que en cierta medida pueden ser extrapolados a los cuadros clínicos mencionados, se comprende la opinión generalizada respecto a que también la osteoporosis relacionada con el envejecimiento pueda ser reversible mediante intervención médica. Esta consideración es especialmente proyectada al caso de la osteoporosis posmenopáusica, donde el descenso de la producción estrogénica resulta ser esencialmente manifiesta cuando se retira la menstruación. No es de extrañar que la sustitución estrogénica sea considerada como tratamiento médico de este tipo de osteoporosis, aun cuando su desarrollo está estrechamente vinculado al proceso irreversible del envejecimiento.

Efectivamente, el estradiol reduce la actividad osteoclástica, como se ha podido comprobar *in vitro*¹ e *in vivo*². No obstante, también se ha observado que los antiestrógenos, como tamoxifeno y raloxifeno, tienen un efecto similar³. En cambio, es más discutible el efecto anabólico de los estrógenos sobre el hueso (véase más adelante). Por el contrario, en el caso de la degeneración artrósica, una manifestación de envejecimiento muy vinculada a la osteoporosis, el estradiol es considerado como inductor⁴. Lo mencionado hasta aquí expresa lo difícil que resulta interpretar el mecanismo fundamental de la osteoporosis posmenopáusica. El problema se hace todavía más manifiesto al tener en cuenta que la densidad ósea desciende fisiológicamente en la mujer durante la edad adulta, a partir del final de la adolescencia⁵.

Por otro lado, en el varón también se produce un descenso del contenido mineral durante el período de envejecimiento que, igualmente, ha sido relacionado con un déficit estrogénico², pero el descenso de la secreción de testosterona con el avance de la edad es la manifestación predominante⁶. El efecto anabólico de la testosterona sobre el hueso no ofrece dudas y es bien conocido desde hace varias décadas. También las mujeres sufren un descenso paulatino de la concentración sérica de testosterona durante la edad adulta⁷, por lo que queda por aclarar su papel en el desarrollo de la osteoporosis posmenopáusica⁸. Finalmente, tanto en la mencionada osteoporosis posmenopáusica como en la senil de ambos sexos, cabe señalar que el descenso de secreción de hormona de crecimiento (GH) y de su sucedáneo, el factor de crecimiento insulinoide tipo 1 (IGF-1), que constituyen las manifestaciones más relevantes del envejecimiento⁹, pueden repercutir notablemente sobre la formación de hueso, ya que se trata de sus más potentes efectos anabolizantes.

MATERIAL Y MÉTODOS

Diseño (producción de osteoporosis y tratamientos hormonales)

Ratas Sprague Dawley (n = 144) machos, de unos 6 meses de edad y 70-90 g de peso, fueron separadas en dos grupos principales. El primero recibió aminoacetoni-trilo (AAN) en dosis de 5 mg/día, con una dieta pobre en proteínas. El segundo fue considerado como control. Al cabo de un mes, ambas poblaciones de ratas fueron divididas en subgrupos según recibieran metilandrostenolona (1 mg/kg, intraperitoneal [i.p.] diariamente en 0,1 ml de solución oleosa), GH (0,4 mg/kg, también i.p. diario) o ninguna de estas sustancias, pero suero fisiológico en su lugar. A las 4 semanas, en el grupo principal de ratas que recibían AAN, se produjo una tercera división, según hubiera cesado o no la aplicación de esta noxa.

Los estudios referidos a la recuperación de la osteoporosis experimental¹⁰ se realizan en una segunda fase, con 40 ratas de edad, sexo y peso similares a lo señalado anteriormente. A las 4 semanas, tras la consecución de la osteoporosis con AAN y dieta hipoproteica, se suspendió la aplicación de la noxa, sometiendo a los animales a una dieta normal *ad libitum*, a excepción de un grupo adicional en el que se continuó con las condiciones patogénicas señaladas. En ambos casos se administró metilandrostenolona (2 mg/kg 3 veces por semana i.p.) o prednisolona (50 mg/kg 3 veces por semana i.p.) o suero fisiológico como control. El grupo control lo constituyeron ratas del mismo sexo con edad y peso similares que paralelamente fueron sometidas a condiciones semejantes en los consiguientes subgrupos, pero sin el tratamiento productor de osteoporosis. A las 8 semanas se dio por terminado el experimento.

Procedimiento analítico

El recambio óseo ha sido medido mediante determinación de la tasa catabólica de colágeno óseo, por un lado, y la de producción de hueso total o de colágeno, por otro. La suma de la tasa catabólica y equiparablemente con uno de los otros valores fue considerada como expresión del recambio. Cada una de estas tasas fue calculada en porcentaje del *pool* inicial por día. Mientras que las tasas de producción han sido medidas mediante el incremento tiempo dependiente de la sustancia detectada en el período de 14 días, la correspondiente al catabolismo colágeno se midió a través de la incorporación *in vivo* de C14 procedente de la prolina a la molécula de hidroxiprolina que había sido convenientemente aislada. Más detalles sobre éste y otros procedimientos de detección aquí empleados se encuentran en el trabajo anterior.

RESULTADOS

El hueso del animal osteoporótico, que acaba de recibir el tratamiento patogénico señalado en la metodología,

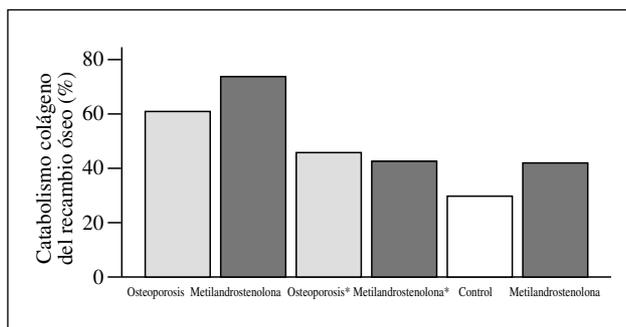


Figura 1. Papel del catabolismo colágeno en el recambio óseo. Aquí se presentan los promedios de fémur y húmero en porcentaje del recambio. Recambio = tasa de osteogénesis + tasa de desintegración colágena. Las dos primeras columnas representan los valores obtenidos –sin o con administración de metilandrostenolona– al finalizar el tratamiento patogénico de la osteoporosis en la rata. Las dos siguientes (*), igualmente sin o con andrógeno, cuando se prolonga la aplicación de la noxa sin la dieta coadyuvante, durante el período experimental. Finalmente, las dos últimas corresponden al grupo control sano, sin o con la aplicación de metilandrostenolona.

presenta una elevada tasa catabólica de colágeno. Efectivamente, como se ilustra en la figura 1, el catabolismo de la materia fundamental supone el 60% del recambio óseo, medido en el húmero y el fémur. Sorprendentemente, la aplicación del anabólico metilandrostenolona no sólo no reduce este catabolismo tan elevado, sino que más bien lo incrementa. Por el contrario, como también representa la figura 1, cuando se mantiene la aplicación de la noxa sin continuar con la dieta hipoproteica coadyuvante, las cifras catabólicas se reducen significativamente. Aquí el anabólico parece reforzar esta tendencia. No obstante, si se comparan las tasas catabólicas con los controles, es decir, en el caso de animales sanos, el comportamiento del catabolismo tras la aplicación de la metilandrostenolona es el mismo que en el segundo grupo de la figura 1, es decir, cuando la osteoporosis –habiéndose cesado la causa– estaría en fase de recuperación. No obstante, encontrándose la reabsorción en los huesos de los animales sanos muy por debajo del 50% del recambio, se espera una notable aposición que deberá reflejarse en un crecimiento óseo idóneo.

A la vista del comportamiento catabólico en los distintos grupos de ratas, representado en la figura 1, debe entenderse la variación del contenido de colágeno en el fémur y el húmero. En la figura 2 se presenta el contenido porcentual del hueso en colágeno al comienzo y al final del período en el que se midió el recambio. Con excepción del húmero en el primer grupo, en el resto de los casos con cifras catabólicas elevadas, el contenido de colágeno no cambió significativamente. Por el contrario, en los controles con y sin anabólico, así como en el cuarto grupo de ratas osteoporóticas, se observa un comportamiento concordante, es decir, un ascenso del contenido de colágeno en ambos huesos al final del período experimental. Se trata de aquellas ratas cuyos huesos habían reflejado tener las cifras catabólicas más bajas, como se

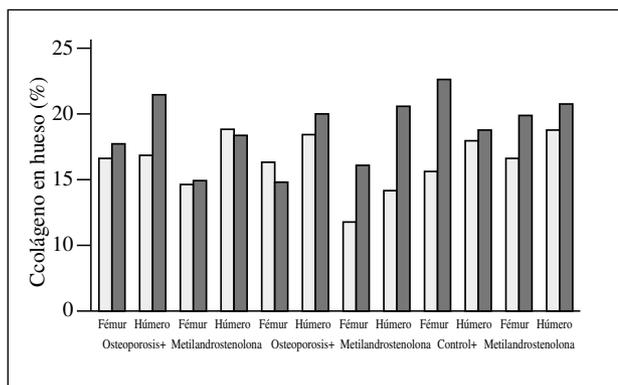


Figura 2. Contenido de colágeno óseo al inicio (columnas blancas) y final (columnas oscuras) del período experimental de 14 días. Separados en los correspondientes grupos, se trata aquí de las mismas ratas en las que se han obtenido las tasas metabólicas que han dado lugar a los valores representados en la figura anterior.

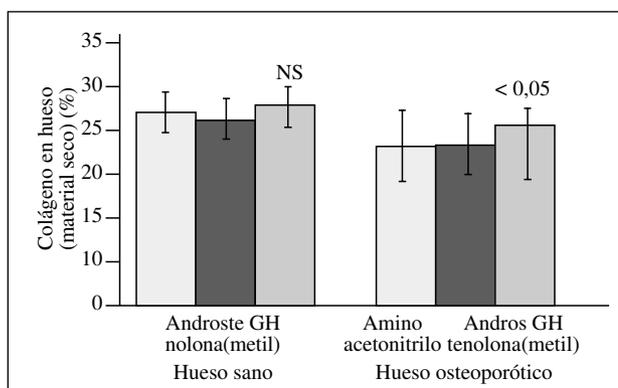


Figura 3. Contenido de colágeno en el hueso sano y bajo tratamiento productor de osteoporosis a los 2 meses de la administración continuada de metilandrostenolona o de hormona de crecimiento (GH). Más detalles en el texto.

puede observar en la figura 1. No obstante, el ascenso de colágeno más importante y, por tanto, más significativo, lo presentaron aquellos animales enfermos de osteoporosis que habían recibido metilandrostenolona. Por el contrario, ratas bajo las mismas condiciones patogénicas pero sin la administración de metilandrostenolona no presentaron cambios significativos.

Si se prolonga la aplicación de la noxa osteoporótica, acompañada de la reducción de la ingesta proteica, es decir, de las condiciones patogénicas de la osteoporosis durante 2 meses, el colágeno en el hueso disminuye notablemente, lo que no es corregido con metilandrostenolona, al contrario que con GH, tal como se recoge en la figura 3. La ineffectividad del andrógeno se observa también en el animal sano. En cambio, resultados parecidos en el caso de la osteoporosis se detectan aquí con GH, aunque no se llega a la significación estadística.

En la figura 4 se presentan los resultados obtenidos mediante aplicación del anabólico androgénico, compara-

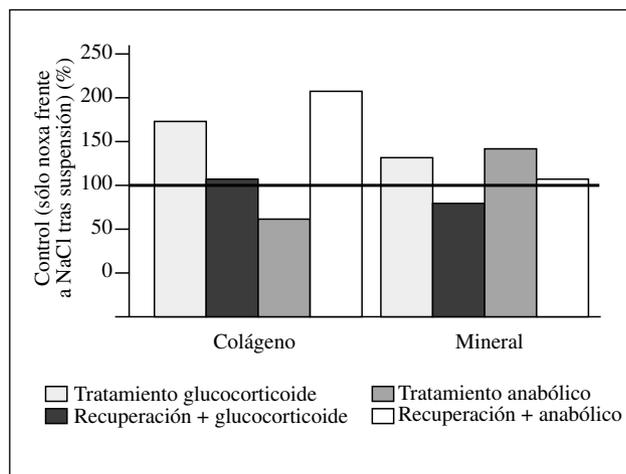


Figura 4. Comparación del efecto inductor del catabolismo proteico mediante altas dosis de prednisolona (50 mg/kg) con el de la metilandrostenolona (2 mg/kg) como potente anabólico sobre los dos componentes principales del hueso durante el tratamiento patológico de osteoporosis (resultados a las 4 semanas), así como a las 8 semanas de iniciada la recuperación. Los resultados se expresan en porcentaje del control sano. Por tanto, los valores por encima o debajo de la línea gruesa horizontal indican el respectivo aumento o descenso en relación con el hueso del animal sano. Los resultados han sido obtenidos en el fémur. La aplicación hormonal se produce por vía intraperitoneal tres veces por semana.

dos con aquellos tras la administración del glucocorticoide. Durante el tratamiento productor de osteoporosis, el glucocorticoide ejerce cierta protección, es decir, mantiene el contenido de colágeno como en los controles sanos, ya que el aumento representado en la figura 4 no es significativo estadísticamente. Por el contrario, metilandrostenolona reduce notablemente el contenido de colágeno óseo, si bien parece incrementar algo el contenido mineral. Lo contrario se puede observar al cabo de 2 meses tras el cese del tratamiento patológico de osteoporosis. En este período de recuperación, mientras que la prednisolona parece actuar como inhibidor de la mineralización, la aplicación del andrógeno anabólico favorece la deposición de colágeno en el hueso. El aumento del contenido de colágeno óseo presenta una clara significación estadística, pero no influye significativamente sobre el componente mineral.

DISCUSIÓN

Metilandrostenolona, como representante de los anabólicos androgénicos, da lugar en este trabajo a resultados variables y hasta contradictorios. Lo contrario sucede en el caso de la GH. Esta conclusión está de acuerdo con los datos ya publicados¹¹⁻¹³. Efectivamente, aumenta el contenido de colágeno óseo, pero este efecto depende de la situación inicial del hueso. Sólo cuando ha cesado la causa que condujo a la osteoporosis se observa este tipo de anabolismo androgénico, es decir, favoreciendo que el hueso recupere el contenido normal de sustancia fundamental. En cambio, en el hueso sano, aunque el

animal se encuentre todavía en fase de crecimiento, no se observa estimulación androgénica sobre la deposición colágena ni sobre la mineralización. Finalmente, el andrógeno puede llegar a perjudicar si el proceso causante de osteoporosis permanece activo.

Los glucocorticoides son potentes inhibidores de la formación de hueso¹⁴. Nuestros resultados indican que la prednisolona inhibe la recuperación de la osteoporosis, pero se limita a impedir la mineralización del hueso. Por el contrario, este glucocorticoide protege al hueso contra la causa osteoporótica. De ahí que también en el caso de los glucocorticoides nos encontramos con efectos distintos, según las circunstancias existentes. No obstante, hay que tener en cuenta la dosis aplicada. De acuerdo con los resultados obtenidos hace algún tiempo por nuestro grupo¹⁵, solamente las dosis muy elevadas, que inhiben el crecimiento corporal, son también capaces de inhibir la síntesis de colágeno óseo.

En la bibliografía de la osteoporosis humana existen numerosos trabajos que hacen referencia al efecto hormonal sobre el metabolismo óseo. Considerando las dificultades de interpretación a que aparentemente pueden dar lugar nuestros resultados experimentales, nos parece impensable que estudios realizados *in vivo* en humanos puedan conducir a conclusiones concretas. Efectivamente, la medición del recambio óseo mediante las concentraciones séricas de fosfatasa alcalina específica, osteocalcina, procólágeno-1 péptido y en la orina de telopéptidos C-terminales del colágeno mencionado, así como deoxipiridinolina¹⁶, es un procedimiento inadecuado para obtener tal dimensión. Estos parámetros son sólo indicadores. Lo mismo hay que señalar respecto al anabolismo óseo mediante la mera detección de la densidad mineral del hueso¹⁷.

Nuestros resultados sobre la dinámica del colágeno óseo no sólo complementan los datos publicados previamente por nosotros¹⁸, sino que también permiten establecer la conclusión —aparentemente sorprendente— de que el efecto «fisiológico» del andrógeno consiste en estimular el catabolismo. Esto traería consigo un mayor recambio, pero sin pérdida de sustancia, en tanto no siguiese actuando la noxa que condujo a la osteopenia colágena. Es decir, en principio, el andrógeno no estimularía la reabsorción ósea más allá de la formación de hueso. Estos resultados experimentales tienen, a nuestro entender, un especial interés al ser comparados con los obtenidos mediante estrógenos. A juzgar por los datos publicados, el efecto de los mismos sería el contrapuesto, es decir, inhibir el catabolismo^{18,19}.

AGRADECIMIENTOS

Una buena parte de los resultados que se presentan en los trabajos I y II han sido obtenidos en el Laboratorio de Metabolismo de la Universidad Libre de Berlín, cuyo

personal trabajó bajo mi dirección, también tras mi regreso a España, hasta finalizar el proyecto. Agradezco la colaboración a todos los técnicos de esta institución, en especial a su jefa, Inge Kürten, que durante muchos años planificó y coordinó excelentemente los experimentos, por su desinteresada y gran dedicación.

BIBLIOGRAFÍA

1. Parikka V, Lehenkari P, Sassi ML, Halleen J, Risteli J, Harkonen P, et al. Estrogen reduces the depth of resorption pits by disturbing the organic bone matrix degradation activity of mature osteoclasts. *Endocrinology* 2001; 142:5371-8.
2. Riggs BL, Khosla S, Melton LJ. A unitary model for involutional osteoporosis: estrogen deficiency causes both type I and type II osteoporosis in postmenopausal and contribute to bone loss in aging men. *J Bone Miner Res* 1998;13:763-73.
3. Tsai KS, Yen ML, Pan HA, Wu MH, Cheng WC, Hsu SH, et al. Raloxifene versus continuous combined estrogen/progestin therapy: densitometric and biochemical effects in healthy postmenopausal Taiwanese women. *Osteoporos Int* 2001;12:1020-5.
4. Tsai CL, Liu TK. Estradiol-induced knee osteoarthritis in ovariectomized rabbits. *Clin Orthop* 1993;291:295-302.
5. Riggs BL, Wahner HW, Dunn WL, Mazess FB, Offord KP, Melton LJ. Differential changes in bone mineral density of the appendicular and axial skeleton with aging: relationship to spinal osteoporosis. *J Clin Invest* 1981;67:328-55.
6. Deslypere JP, Vermeulen A. Leydig cell function in normal men: effect of age, lifestyle, residence, diet and activity. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 59:955-62.
7. Zumoff B, Strain GW, Miller LK, Folsner W. 24 h mean plasma testosterone concentration declines with age in normal premenopausal women. *J Clin Endocrinol Metab* 1995;80:1429-30.
8. Burger HG, Dudley E, Maders P, Robertson D, Groome N, Dennerstein L. The ageing female reproductive axis I. En: *Endocrine facets of ageing*. Wiley: Novartis Foundation Symposium 242, 2002; p. 161-71.
9. Ruiz-Torres A, Corpas E. Anthropometrical changes in aging: their relationship with GH secretion and its possible metabolic consequences. En: Laron Z, Butenandt O, editors. *Growth hormone replacement therapy in adults: pros and cons*. London: Freund Publishing House, 1993; p. 123-36.
10. Koch I, Ruiz-Torres A. Untersuchungen über den Umsatz von Kollagen bei der experimentellen Osteoporose als Modell der Altersosteoporose. *Z Gerontologie* 1976;9:387-90.
11. Hao Y, Dai K, Gun L, Wang Y, Tang T. Effects of recombinant human growth hormone (r-hGH) on experimental osteoporotic fracture healing. *Chin J Traumatol* 2001;4:102-5.
12. Cacciafesta V, Dalstra M, Busch C, Melsen B, Andreassen TT. Growth hormone treatment promotes guide bone regeneration in rat calvarian defects. *Eur J Orthod* 2001;23:733-40.
13. Weiss S, Baumgart R, Jochum M, Straburger CJ, Bidlingmaier M. *J Bone Miner Res* 2002;17:1280-9.
14. Raisz LG. Hormonal regulation of bone growth and remodeling. *Ciba Found Symp* 1988;136:226-38.
15. Ruiz-Torres A. Hormonelle Beeinflussung des Kollagenstoffwechsels: Wirkung von Prednisolon und Methylandrostenolon bei der gesunden Ratte. *Z Rheumaforsch* 1970;29:269-75.
16. Van Pottelbergh I, Lumbroso S, Goemaere S, Sultan C, Kaufman JM. Lack of influence of the androgen receptor gene CAG-repeat polymorphism on sex steroid status and bone metabolism in elderly men. *Clin Endocrinol* 2001;55:659-66.
17. Khatgir G, Studd J, Holland N, Alaghband-Zadeh J, Sim TJ, Bailey AJ. Anabolic effect of long-term estrogen replacement on bone collagen in elderly postmenopausal women with osteoporosis. *Osteoporos Int* 2001; 12:465-70.
18. Ruiz-Torres A, Kürten I. Experimental osteoporosis as a model for studying bone ageing. En: Bertoni-Freddari C, Niedermüller H, editors. *Current concepts in experimental gerontology*. Facultas Wien, 2001; p. 153-61.
19. Parikka V, Lehenkari P, Sassi ML, Halleen J, Risteli J, Harkonen P, et al. Estrogen reduces the depth of resorption pits by disturbing the organic bone matrix degradation activity of mature osteoclasts. *Endocrinology* 2001; 142:5371-8.