



Universidad Nacional Mayor de San Marcos

Universidad del Perú. Decana de América

Dirección General de Estudios de Posgrado

Facultad de Medicina

Unidad de Posgrado

**Modificaciones histológicas del cartílago hialino a nivel
de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas
con Zea mays L (variedad morada)**

TESIS

Para optar el Grado Académico de Magíster en Fisiología

AUTOR

Eduardo Jesús VILLALOBOS PACHECO

ASESOR

Daisy Yesenia FLORES CORTEZ

Lima, Perú

2017



Reconocimiento - No Comercial - Compartir Igual - Sin restricciones adicionales

<https://creativecommons.org/licenses/by-nc-sa/4.0/>

Usted puede distribuir, remezclar, retocar, y crear a partir del documento original de modo no comercial, siempre y cuando se dé crédito al autor del documento y se licencien las nuevas creaciones bajo las mismas condiciones. No se permite aplicar términos legales o medidas tecnológicas que restrinjan legalmente a otros a hacer cualquier cosa que permita esta licencia.

Referencia bibliográfica

Villalobos E. Modificaciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays* L (variedad morada) [Tesis de maestría]. Lima: Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Facultad de Medicina, Unidad de Posgrado; 2017.



Universidad Nacional Mayor de San Marcos
Universidad del Perú. Decana de América



Facultad de Medicina

Unidad de Posgrado
Sección Maestría

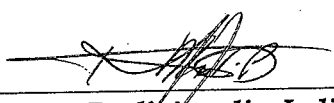
ACTA DE GRADO DE MAGISTER

En la ciudad de Lima, a los 08 días del mes de setiembre del año dos mil diecisiete, siendo las 3.00 horas, bajo la presidencia de la Dra. Elydia Cornelia Mujica Albán con la asistencia de los Profesores: Dr. José del Carmen Aliaga Arauco (Miembro), Dra. Rudi Amalia Loli Ponce (Miembro) Mg. Miguel Hernán Sandoval Vegas (Miembro) y la Dra. Daisy Yesenia Flores Cortez (Asesora); el postulante al Grado de Magister en Fisiología, Bachiller en Obstetricia, procedió a hacer la exposición y defensa pública de su tesis titulada: **"MODIFICACIONES HISTOLÓGICAS DEL CARTÍLAGO HIALINO A NIVEL DE LA ARTICULACIÓN MALEOLAR EN RATAS ARTRÍTICAS TRATADAS CON Zea mays L (VARIEDAD MORADA)** con el fin de optar el Grado Académico de Magister en Fisiología. Concluida la exposición, se procedió a la evaluación correspondiente, habiendo obtenido la siguiente calificación **B MUY BUENO 18**. A continuación la Presidenta del Jurado recomienda a la Facultad de Medicina se le otorgue el Grado Académico de **MAGÍSTER EN FIOLOGÍA** al postulante **EDUARDO JESÚS VILLALOBOS PACHECO**.


Se extiende la presente Acta en tres originales y siendo las 4:25 horas, se da por concluido el acto académico de sustentación.



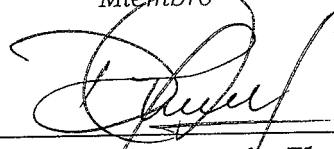
Dr. José del Carmen Aliaga Arauco
Profesor Principal
Miembro



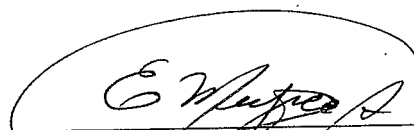
Dra. Rudi Amalia Loli Ponce
Profesora Principal
Miembro



Mg. Miguel Hernán Sandoval Vegas
Profesor Principal
Miembro



Dra. Daisy Yesenia Flores Cortez
Profesora Asociada
Asesora



Dra. Elydia Cornelia Mujica Albán
Profesora Principal
Presidenta

**MODIFICACIONES HISTOLÓGICAS DEL CARTÍLAGO HIALINO A
NIVEL DE LA ARTICULACIÓN MALEOLAR EN RATAS
ARTRÍTICAS TRATADAS CON Zea mays L (VARIEDAD MORADA)**

Agradecimiento:

A mis amados amigos, Silvia, Bea, Karim, Oscar y a mis maestros.

A la Dra. Gloria Lara patóloga del Hospital Hipólito Unanue por su apoyo desinteresado.

Agradecimiento:

*Un especial agradecimiento a la Dra. Daisy
Flores Cortez por su apoyo y paciencia.*

Dedicatoria:

A mis padres (Choca y Marcos), a Dios y a todas las personas que me apoyaron en forma incondicional.

A mi padre Chapeta que Dios lo tenga en su Gloria.

INDICE

	Pág.
Agradecimiento	III
Dedicatoria	V
Índice	VI
Índice de Cuadros	VIII
Índice de Figuras	IX
Resumen	X
Resumen en Inglés	XI
CAPITULO 1: INTRODUCCIÓN	
1.1. Situación problemática.....	02
1.2. Formulación del problema.....	05
1.3. Justificación del problema	05
1.4. Objetivos.....	07
1.4.2. Objetivo general.....	07
1.4.3. Objetivos específicos.....	07
1.5. Hipótesis.....	07
CAPÍTULO 2: MARCO TEÓRICO	
2.1 Antecedentes del estudio.....	08
2.2 Bases teóricas.....	11
2.2.1. Artritis reumatoide.....	11
2.2.1.1. Morfología.....	11
2.2.1.2 Primera fase (de inflamación sinovial y perisinovial).....	11
2.2.1.3 Segunda fase (de proliferación o de desarrollo de pannus).....	12
2.2.1.4. Tercera fase (de fibrosis y anquilosis).....	13
2.2.2. Patogénesis.....	13
2.2.3. Manifestaciones extraarticulares.....	16
2.2.4. Tratamiento de la artritis reumatoide.....	17
2.2.5 Cartílago hialino.....	19
2.2.5.1 Composición del cartílago articular.....	19
2.2.5.2 Constituyentes del cartílago	20
2.2.5.3 Los condrocitos.....	20
2.2.5.4 Matriz extracelular.....	21
2.2.5.4.1 Fracción líquida.....	21
2.2.5.4.2 Macromoléculas estructurales.....	22
2.2.5.5 Componente fibrilar: colágeno.....	22
2.2.5.6 Componente no fibrilar. Proteoglicanos y proteínas no colágenas.....	22
2.2.5.7 Glicoproteínas y proteínas no colágenas.....	23
2.2.5.8 Estructura del cartílago	24
2.2.5.9 Metabolismo del cartílago.....	27

2.2.5.10 Fisiopatología.....	32
2.2.2.10.1. Papel e interés de las citoquinas y de las anti-citoquinas como agentes terapéuticos y experimentales en la artrosis.....	32
2.2.2.10.2. Señalización intracelular de los genes inductibles por las citoquinas pro-inflamatorias.....	33
2.3 <i>Zea mays L.</i> Variedad morada	34
2.3.1 Ubicación taxonómica del maíz morado	35
2.3.2 Importancia del estudio de la antocianina en la artritis reumatoide.....	36
2.4 Definición operacional de términos.....	38
2.4.1 Operacionalización de variables.....	38
 CAPÍTULO III: METODOLOGÍA	
3.1 Tipo de estudio:.....	41
3.2 Área de estudio	41
3.3 Muestra	41
3.4 Materiales y equipos	41
3.5 Métodos y técnicas procedimentales.....	42
3.5.1 Recolección y desecación del material botánico.....	42
3.5.2 Obtención del liofilizado de <i>Zea mays L.</i>	43
3.5.3 Preparación de los animales.....	44
3.5.4 Modelo de artritis reumatoide inducido por pristane.....	44
3.5.5 Evaluación histológica.....	46
3.5.6 Evaluación clínica	48
3.6 Consideraciones éticas.....	49
 CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN	
4.1 Resultados	50
4.2 Discusión.....	60
CONCLUSIONES.....	65
RECOMENDACIONES.....	65
REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	66
ANEXOS.....	73

INDICE DE CUADROS

	Pg.
Cuadro 1 Variable Independiente.....	49
Cuadro 2 Variable Dependiente.....	50
Cuadro 3 Distribución de los grupos experimentales y administración de medicamentos.....	56
Cuadro 4 Distribución y tratamiento de animales.....	57
Cuadro 5 Sistema de Calificación Histológica – Histoquímica para cartílago articular osteoartrítico	58
Cuadro 6 Escala de Evaluación Clínica.....	59
Cuadro 7 Valores medios del indicador de Estructura de las articulaciones según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>	61
Cuadro 8 Valores medios del indicador Modificaciones Celulares de la articulación según grupo tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>	63
Cuadro 9 Valores medios del indicador de Integridad del Cartílago de la articulación según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas <i>Zea mays L.</i>	64
Cuadro 10 Severidad de la artritis desarrollada por los animales según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>	66
Cuadro 11 Desarrollo de artritis por los animales según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>	67
Cuadro 12 Evolución de los promedios de pesos en gramos según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>	69
Cuadro 13 Resultado de las comparaciones múltiples de las medias de pesos entre grupos. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>	70
Cuadro 14 Puntajes de las variables clínicas según grupo de estudios, para todos los grupos. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>	70

INDICE DE FIGURAS

	Pg.
<p>Figura 1 Valores medios del indicador de Estructura de la articulación según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>.....</p>	62
<p>Figura 2 Valores medios del indicador Modificaciones Celulares de la articulación según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>.....</p>	63
<p>Figura 3 Valores medios del indicador de Integridad del Cartílago de la articulación según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>.....</p>	65
<p>Figura 4 Severidad de artritis desarrolladas por los animales según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>.....</p>	66
<p>Figura 5 Tipo de artritis desarrollada por los animales según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>.....</p>	68
<p>Figura 6 Evolución de los promedios de pesos en gramos según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con <i>Zea mays L.</i>.....</p>	69

MODIFICACIONES HISTOLÓGICAS DEL CARTÍLAGO HIALINO A NIVEL DE LA ARTICULACIÓN MALEOLAR EN RATAS ARTRÍTICAS TRATADAS CON *Zea mays L* (VARIEDAD MORADA)

Objetivo. Demostrar que el extracto de *Zea mays L* reduce las modificaciones histológicas en el cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en términos de la estructura, células y estado de integridad del cartílago, en ratas artríticas inducidas por pristane.

Material y Métodos: Se realizó un modelo de artritis en ratas Sprague Dawley inducido por pristane vía subdérmica (0.2 ml). Se distribuyeron en control positivo (n=10) vehículo (1ml/100g), Metotrexato (n=10) 0,1mg/Kg, Indometacina (n=10) 0.6 mg/kg, *Zea mays* 1% (n=10) 100mg/Kg, *Zea mays* 10% (n=10) 1000mg/Kg, Metotrexato +*Zea mays* 10% (n=10) 1000mg/Kg + 0,1mg/Kg, Control negativo (n=5) VO (21 días), evaluándose la estructura, modificaciones celulares y estado de integridad del cartílago histológicamente a nivel de la articulación maleolar.

Resultados: *Zea mays* 1%, 10% y Metotrexato + *Zea mays* 10% presentaron diferencias al control positivo en estructura del cartílago. Las modificaciones celulares evidenciaron diferencias sólo en control positivo y en Metotrexato con *Zea mays* 10%. Hay diferencias en relación a la integridad del cartílago entre *Zea mays* 10% y Metotrexato + *Zea mays* 10% en comparación al control positivo. En el control positivo el 70% desarrolló artritis moderada y en *Zea mays* 1% fue 60%. El grupo *Zea mays* 10% desarrolló artritis moderada (40%), y otro 40% no desarrolló la enfermedad. El grupo Metotrexato +*Zea mays* 10%, el 70% no desarrolló la enfermedad, y ninguno hizo artritis moderada (p<0.001).

Conclusiones: Se demostró que la reducción de las modificaciones histológicas en el cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en términos de la estructura, células y estado de integridad del cartílago, tratadas *Zea mays L* en ratas son significativas

Palabras clave: *Zea mays L*, maíz morado, cartílago, artritis.

HISTOLOGIC ALTERATIONS OF HYALINE CARTILAGE IN THE MALEOLAR ARTICULATION IN ARTHRITIC RATS TREATED WITH

Zea mays L (PURPLE VARIETY)

Objective. Demonstrate that *Zea mays L* reduces histological changes in hyaline cartilage at the level of the malleolar joint in terms of structure, cells and cartilage integrity status in arthritic rats induced by pristane.

Material and Methods: We used an arthritis model in rats Sprague Dawley by injection of pristane (0.2 ml.). We divided into positive control (n=10) vehicle (1ml/100g), Methotrexate (n=10) 0,1mg/Kg, Indomethacin (n=10) 0.6 mg/ kg *Zea mays* 1% (n=10) 100mg/Kg *Zea mays* 10% (n=10) 1 000mg/Kg, *Zea mays* 10% + Methotrexate 1000mg/Kg + 0,1mg/Kg, (n=10,) negative Control VO (21 days,) (n=5). We evaluated the structure, cellular modifications and the histologic integrity of cartilage on maleolar articulation.

Results: *Zea mays* 1%, 10% and *Zea mays* 10% + Methotrexate presented differences the positive control in cartilage structure. The cellular modifications were differences only in positive control and in Methotrexate with *Zea mays* 10%. There differences in relation to integrity of the cartilage between *Zea mays* 10% and *Zea mays* 10% + Methotrexate compared to the positive control. In the positive control the 70% developed moderate arthritis and in *Zea mays* 1% was 60%. The group *Zea mays* 10% developed moderate arthritis (40%) and other 40% did not develop the illness. In the *Zea mays* 10% group + Methotrexate the 70% did not develop the illness, and none had moderate arthritis (p < 0.001.)

Conclusions: It was shown that the reduction in the histological modifications of the hyaline cartilage of the ankle joint level in terms of the structure and integrity status cells cartilage treated rats *Zea mays L* are significant

Keywords: *Zea mays L*, purple corn, cartilage, arthritis

CAPITULO I

INTRODUCCIÓN

La riqueza de nuestro país y la revaloración de nuestros productos naturales no solo nos abren la posibilidad de descubrimientos etnológicos, sino también de descubrimientos científicos con fines de mejorar la salud y la economía de nuestra población; en este contexto el *Zea mays L* se presenta como un producto natural de gran valor y con una milenaria tradición para nuestra población, que cuenta con muchas propiedades naturales, biológicas y farmacológicas beneficiosas para la salud de las personas.

Entre las enfermedades que aquejan a nuestra población está la artritis reumatoide que con lleva a inflamación de la sinovia, formación del pannus, infiltración de las células inflamatorias distensión de la línea sinovial y erosión ósea, que se manifiesta en alteraciones a nivel de la estructura, células e integridad del cartílago, como consecuencia de citoquinas y radicales libres de oxígeno (ROS). Esta enfermedad trae consigo muchas limitaciones que menguan la calidad de vida de las personas.

Por estas razones, actualmente existe un interés en la función protectora in vivo de los antioxidantes naturales contra el daño oxidativo causado por especies de radicales libres y citoquinas. La actividad antioxidante de los fitoquímicos fenólicos se ha investigado ampliamente. Las antocianinas abundantes en el *Zea mays L* cuyo principal componente es el cianidin-3- O - beta -D glucósido (C3G), tiene actividad antioxidante significativa y es absorbida y metabolizado usando ratas in vivo.

Esta investigación pretende demostrar el efecto protector del liofilizado de *Zea mays L* sobre las alteraciones histológicas del cartílago hialino en la articulación maleolar de ratas sobre un modelo de artritis reumatoide inducido por pristane sintético, el cual afecta las uniones periféricas cartilaginosas y diartrodiales, donde el hueso y el cartílago son erosionados por el tejido inflamado.

1.5. SITUACIÓN PROBLEMÁTICA

El movimiento constituye una de las manifestaciones elementales de la vida. En el mundo animal, el movimiento está estrechamente unido a la búsqueda y adquisición de alimento, a la reproducción y a la defensa frente a los enemigos. Para el hombre el movimiento es además una parte importante de la calidad de vida, en forma de deporte, juego o danza. Para realizar el movimiento se han desarrollado a lo largo de cientos de millones de años de evolución complejas estructuras en las zonas de unión entre los huesos, las articulaciones, compuestas por múltiples diferentes tejidos. Las articulaciones sinoviales o diartrosis constan de dos extremos óseos confrontados, recubiertos por cartílago hialino, una cápsula articular que los une y de ligamentos que mantienen su contacto. Todo lubricado por líquido segregado por la parte interna de la cápsula articular que se llama membrana sinovial. Algunas articulaciones tienen meniscos (cartílago fibroso) para ayudar a mantener la estabilidad articular (Masant, 2003; Trujillo, 1998).

Los diferentes tejidos que conforman las articulaciones no sólo permiten el deslizamiento de las superficies articulares, proporcionando un movimiento estable con un bajo nivel de fricción, sino que también deben soportar las cargas y amortiguar los choques. El tejido que más contribuye a estas extraordinarias capacidades funcionales es el cartílago articular hialino (Masant, 2003; Trujillo, 1998).

El cartílago articular hialino aunque sólo posee unos pocos milímetros de espesor (menos de 5 mm en las articulaciones humanas), tiene una sorprendente resistencia y elasticidad a la compresión y los choques y una excepcional capacidad para distribuir cargas. Pero quizá su característica más importante sea su gran durabilidad, ya que proporciona una función articular normal durante 80 años o más (Masant, 2003; Trujillo, 1998).

El uso de plantas medicinales como práctica curativa para múltiples enfermedades, se encuentra profusamente difundido y arraigado en las distintas regiones del Perú, probablemente por las vinculaciones directas con sistemas ideológicos, étnicos, culturales (Zarate E, 1991) o debido a factores económicos que no permiten el

cumplimiento del tratamiento farmacológico. De cualquier modo en muchos de los casos las plantas medicinales han demostrado ser eficaces en los propios pacientes o mediante estudios experimentales realizados (Oliveira, Velázquez, & Bermúdez, 2005).

El *Zea maíz L.* de la variedad morada es una gramínea que posee un pigmento morado casi en la totalidad de la planta. Este pigmento pertenece al grupo de las antocianinas, reportado en la medicina tradicional por su uso en enfermedades degenerativas. Un trabajo realizado por la Dra. Flores demuestra que el Extracto acuoso de *Zea maíz L.* (variedad morada) previene la hipertensión inducida en ratas y presenta un efecto protector del daño peroxidativo tisular en ratas hipertensas (Flores, 2003).

El extracto acuoso de *Zea maíz L.* variedad morada a 1000 mg/kg disminuye la presión arterial sistólica en ratas hipertensas (Flores, 2003). Es probable que la alta concentración de antocianinas de esta planta contribuya a la actividad antioxidante hallada según los resultados; aunque no se descarta la participación de otros compuestos flavonoides presentes en esta planta y quienes en conjunto evitarían el daño causado por las especies radicales libres en el endotelio vascular de ratas en el modelo de hipertensión utilizado; al parecer incrementando los niveles de óxido nítrico y favoreciendo la vasodilatación arterial (Edwards, Czank, Woodward, Cassidy, & Kay, 2015). Además de la presencia de flavonoides y antocianinas el maíz morado contiene altas concentraciones de cumarinas que probablemente proporcionan actividad anticoagulante y antiagregante plaquetario favoreciendo la protección cardiovascular en la Hipertensión arterial.

Entre las antocianinas evaluadas están el cianidin 3-*O*-beta-D-glucoside (C3G), betaneína licopeno y beta-caroteno que inhiben tanto la peroxidación lipídica e in vitro la COX1 y COX2 e igualmente a dosis dependientes inhiben el crecimiento de células tumorales de mama, colon, estómago, sistema nervioso central y pulmones (Reddy, Alexander-Lindo, & Nair, 2005). Estos hallazgos sugieren que el C3G tiene efectos beneficiosos más allá de su actividad antiinflamatoria (Tsuda, Horio, Uchida, Aoki, & Osawa, 2003). El cianidin 3-*O*- beta -D-glucoside (C3G) también suprime

el daño oxidativo inducido por reperfusión isquémica hepática; sugiriendo un potente efecto antioxidante *in vivo* bajo condiciones de estrés (Tsuda, Horio, Kitoh, & Osawa, 1999). Además se sabe del alto contenido de vitamina E presente en el maíz lo que implica una alta actividad antioxidante importante para la salud humana, y para enfermedades degenerativas como la artritis (Rochefford, Wong, Egese, & Lambert, 2002). La antocianina, colorante natural del maíz morado modifica la carcinogénesis colorrectal en ratas (Hagiwara et al., 2001) y que ciertos flavonoides de plantas tienen la capacidad de inhibir la actividad de las enzimas 5-lipooxigenasa, ciclooxigenasa y xantinaoxidasa *in vitro* lo cual serviría como una opción terapéutica para patologías inflamatorias articulares (Li et al., 2013).

Las propiedades antioxidantes y antiinflamatorias de las antocianinas han llevado a plantear su papel en las enfermedades degenerativas crónicas como la artritis reumatoide.

La enfermedad inflamatoria articular crónica es uno de los mayores problemas de salud pública ya que constituye una de las principales causas de pérdida de competencia laboral y social, así como del deterioro de la calidad de vida de los afectados. Entre ellas destaca la artritis reumatoide (AR), poliartropatía inflamatoria más común que está caracterizada por deterioro progresivo del estado funcional, incapacidad laboral y progresión radiológica (Farreras-Rozman, 2016). Alrededor del 1% de la población mundial padece de artritis reumatoide y este proceso es tres a cinco veces más frecuente en las mujeres que en los varones. Su incidencia máxima es entre los 20 y 40 años (Abbas, Kumar, & Aster, 2015).

Una valoración cuidadosa de la morbilidad de la AR (en el pasado considerada enfermedad relativamente benigna y no letal, actualmente reconocida como enfermedad grave y progresiva), demuestra su impacto en la situación económica individual. De esta manera se considera que una persona con AR presenta una probabilidad seis veces superior de presentar una limitación considerable en su actividad laboral y cuatro veces superior para actividades de la vida diaria comparada con la población sin AR. Asimismo, tiene repercusión significativa sobre la mortalidad, con una disminución de la esperanza de vida (Hamuryudan et al., 2016).

Como enfermedad crónica, su tratamiento se limita al uso de diferentes fármacos por períodos de tiempo prolongado, tratando de alcanzar como principal objetivo el de disminuir la inflamación articular y aliviar el dolor, retrasar o evitar la destrucción estructural y sus secuelas, preservar la función articular y muscular, y garantizar en lo posible una mejor la calidad de vida (Abbas et al., 2015). Sin embargo, pese al beneficio real de los fármacos en muchos casos se presentan reacciones adversas severas que obligan al paciente a discontinuar la terapia. En un estudio epidemiológico, se estableció, por ejemplo que los riesgos de hospitalización y muerte por complicaciones severas condicionadas por el uso de AINEs en pacientes con AR son elevados, siendo mayor cuando se asocian a factores de riesgo (Tielemans, Eikendal, Jansen, & van Oijen, 2010).

Por lo anteriormente expuesto este trabajo pretende verificar si el extracto de *Zea mays L* reduce las alteraciones degenerativas del cartílago en la enfermedad artrítica en ratas, y determinar una curva dosis respuesta, que permitirá identificar la concentración que induzca una mayor regeneración celular; en consecuencia se plantea la siguiente interrogante de investigación:

1.6. FORMULACIÓN DEL PROBLEMA

¿El extracto liofilizado de *Zea mays L* a dosis de 1000 mg/kg reduce las alteraciones histológicas estructurales, celulares y la integridad del cartílago hialino en la articulación maleolar de ratas con artritis experimental inducida por pristane?

1.7. JUSTIFICACIÓN DEL PROBLEMA

El cartílago articular presenta un potencial de reparación muy limitado y las lesiones de un diámetro superior a 4 mm, cicatrizan en muy pocos casos. Es necesario encontrar métodos que permitan la regeneración del cartílago si se quiere prevenir la aparición de la artrosis en los enfermos que presentan lesiones o

trastornos de este tejido. Durante los últimos años, han aparecido una serie de tratamientos orientados a la recuperación de lesiones del cartílago; sin embargo han sido insuficientes y aun continua la búsqueda de nuevos tratamientos para esta enfermedad (Mansant, 2003).

Los fitofármacos han sido reconocidos por mucho tiempo por poseer muchas propiedades, incluyendo antioxidantes, antihipertensivas, antialérgicos, antiinflamatorios, antivirales, anti proliferativos y anticancerígenos. Aunque esta aproximación es importante, la investigación debería expandirse y explotar los efectos beneficiosos promovidos en la regeneración fisiológica del cartílago. La actual concepción del papel de los radicales libres en la fisiopatología del cartílago hialino o en la fisiopatología de la artritis reumatoide ha generado un incremento de interés en el uso de antioxidantes como tratamiento complementario en pacientes con artritis reumatoide.

El maíz morado es un fruto originario de los Andes peruanos que presenta una alta concentración de antocianinas, y potente acción antioxidante; sin embargo no se ha demostrado el efecto protector de este fruto a nivel del cartílago hialino en modelos de artritis reumatoide; por lo que se hace necesario validar científicamente el papel del maíz morado en la reversión o protección del cartílago en esta enfermedad degenerativa.

La integración de la medicina tradicional con estudios científicos modernos no solo permitiría desarrollar nuevos tratamientos sino que también aumentaría la comprensión de los mecanismos de la enfermedad, de la regeneración articular, además de otorgar un valor agregado al cultivo del maíz morado en nuestro país.

1.8. OBJETIVOS

1.8.1. OBJETIVO GENERAL

Demostrar que se reducen las modificaciones histológicas en el cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en términos de la estructura, células y estado de integridad del cartílago, mediante el extracto de *Zea mayz L* a dosis de 1000 mg/kg en ratas artríticas inducidas por pristane.

1.5.2. OBJETIVOS ESPECÍFICOS

1. Valorar histológicamente las modificaciones del cartílago hialino en ratas artríticas tratadas con extracto de *Zea mayz L*.
2. Valorar histológicamente las modificaciones del cartílago hialino en ratas artríticas tratadas con Metotrexato
3. Valorar histológicamente las modificaciones del cartílago hialino en ratas artríticas tratadas con Indometacina
4. Comparar histológicamente la estructura, células y estado de integridad del cartílago hialino en ratas artríticas tratadas con Metotrexato, Indometacina y *Zea mayz L*.
5. Evaluar el efecto sinérgico de *Zea mays L* a dosis de 1000 mg/kg más Metotrexato en la modificación del cartílago hialino de ratas artríticas.

1.6. HIPÓTESIS

El extracto de *Zea mayz L* a dosis de 1000 mg/kg reduce las modificaciones histológicas en el cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas inducidas por pristane.

CAPÍTULO II

MARCO TEÓRICO

1.1. ANTECEDENTES DEL ESTUDIO

En estudios *in vivo* e *in vitro* se ha demostrado que las antocianinas tienen actividad antioxidante bajo condiciones fisiológicas (Tsuda et al., 1994) y todos los pigmentos tienen una fuerte actividad antioxidante en un sistema liposoma, efecto inhibitorio de la peroxidación lipídica y reduce la formación de malondialdehído por irradiación UV (Rocheford et al., 2002; Tsuda, Horio, & Osawa, 1998; Tsuda, Shiga, Ohshima, Kawakishi, & Osawa, 1996). Las antocianinas, constituyen un gran grupo de pigmentos solubles en agua, y los compuestos fenólicos han demostrado ser potentes inhibidores de la formación de peroxinitritos evitando el daño causado por las especies radicales libres (Tsuda, Kato, & Osawa, 2000)(Eghbaliferiz & Iranshahi, 2016).

Las antocianinas juegan un rol importante en la producción de vinos siendo la fuente comercial más antigua de antocianina la enocianina (extraído de las uvas) y comercializado en Italia desde 1879 así mismo se está haciendo importante la extracción de antocianina de otras fuentes tales como el maíz morado, el camote morado y el rabanito, hay seis antocianidinas (agluconas de las antocianinas) comunes siendo la cianidina la más común, y responsable del color magenta mientras que los colores violeta y azul se deben a la delphinidina pasadas en su glucoxidación, se pueden clasificar en monoglicósidos y diglicósidos. Las antocianinas sufren de una inestabilidad inherente. Existen varios factores involucrados en su inestabilidad, así como los mecanismos de degradación es sumamente vital para una eficiente extracción y purificación de las antocianinas y su uso como colorante de alimentos, los factores que influyen en la estabilidad son el pH, temperatura, presencia de

oxígeno así como la interacción con otros componentes de los alimentos (Lock, 1997).

Las antocianinas son ampliamente distribuidas en la dieta humana. En ratones alimentados con maíz morado rico en cianidin 3-glucósido se ha demostrado una disminución de la ganancia de peso corporal inducida por una dieta alta en grasa y disminución de la resistencia a insulina inducida por la dieta, al parecer debido a que este componente disminuye la síntesis de triacilglicerol y ácidos grasos; por lo tanto la antocianina es un factor alimenticio funcional que puede tener beneficios para la prevención de la obesidad y diabetes; principales factores de riesgo para la presentación de hipertensión arterial (HTA). Las antocianinas tienen una actividad antioxidante y receptor de radicales superóxido e hidroxilo basado en estudios in vivo e in vitro (Reddy et al., 2005).

Una investigación que se realizó a partir de extractos de estilos, estigmas y brácteas, demostró la acción antimicrobiana de los extractos metanólicos de brácteas de *Zea mays L*; siendo el halo de inhibición mayor con *E. coli* y *staphylococcus aureus* (Salgado & Menguan, 2000).

Las antocianinas son los pigmentos visibles más importantes de la planta, pertenecen al gran grupo de los compuestos fenólicos, colectivamente llamados flavonoides. Ellos son los glicósidos de polihidroxi y polimetoxi derivados del 2-fenil benzo pirilium o flavilium. Hasta la fecha hay 17 antioxidantes antocianidinas conocidas de las cuales 6 son las más comunes (pelargonidina, peonidina, cianidina, malvidina, petunidina, delphinidina) los glucósidos de las tres antocianinas no metiladas (cianidin, delphinin y perlagonidin) son las más extendidas en la naturaleza. La antocianina de más amplia distribución en la naturaleza es la cianidin-3-glucosido. Las antocianinas son solubles en solventes polares, como etanol, ácido clorhídrico y ácido fórmico. Las antocianinas juegan un rol definitivo en la atracción de los animales para la polinización y dispersión de las semillas, además las antocianinas son conocidas por sus propiedades farmacológicas y son utilizadas en humanos por sus propósitos terapéuticos como la disminución de la permeabilidad y

fragilidad capilar y efectos antiinflamatorios y efectos antiedematosos (Kong et al., 2003).

Las antocianinas también son las más efectivas capturadoras de los ROS e inhiben la oxidación lipoproteína y la agregación plaquetaria lo cual sugiere un rol clave en enfermedades cardiovasculares. Otras antocianinas como las extraídas del camote morado han demostrado inhibir la mutación reversa inducida por mutágenos aminas heterocíclicas. Algunas antocianinas han demostrado ser útiles en controlar el estrés oxidativo durante la gestación complicada por retardo de crecimiento intrauterino. La evaluación histopatológica del hígado demuestra que algunos pigmentos reducen la incidencia de lesiones hepáticas incluyendo inflamación, infiltración de leucocitos y necrosis. Además el cianidin y el delfinidin inhiben el crecimiento de las células tumorales humanas in vitro. Mediante la inhibición del factor de crecimiento epidermal. (Wang y Mazza; 2002) por primera vez reportaron que las antocianinas demostraron un efecto inhibitorio potente en la producción de óxido nítrico (Kong et al., 2003).

En 1994 Tsuda y col. demostraron que los pigmentos juegan un rol importante en la peroxidación lipídica de las membranas celulares inducidas por ROS en sistemas hepáticos cuando estos llegan hacer antioxidantes dietarios después de su ingestión. Los efectos de las antocianinas pueden ser explicados a varios mecanismos antioxidantes tales como donación de hidrógeno, quelación metálica y unión a proteínas (Kong et al., 2003).

El exceso de producción de especies activas de oxígeno tales como radical hidroxilo, anion superóxido y otros radicales, se cree que causan daño celular lo que conduce a la carcinogénesis o metagénesis, envejecimiento y arterioesclerosis. Los antioxidantes exógenos y endógenos se presume que protegen a las células de las especies reactivas. Estudios in vivo han demostrado que la alimentación con el C3G incrementa la resistencia a la oxidación del suero a la peroxidación lipídica sugiriendo que el C3G presenta una potente actividad antioxidante aun si las ratas están expuestas a estrés oxidativo agudo (Tsuda et al., 1999).

2.2. BASES TEÓRICAS

2.2.1. ARTRITIS REUMATOIDE

La artritis reumatoide (AR) es un proceso inflamatorio crónico y generalizado que puede afectar a muchos órganos y tejidos (piel, vaso sanguíneo, corazón, pulmones y músculos); pero principalmente afecta las articulaciones, produciendo una sinovitis proliferativa no supurada que suele evolucionar hasta destruir el cartílago articular y provocar anquilosis de las articulaciones. La causa de la AR sigue siendo desconocida pero la autoinmunidad desempeña un papel esencial en su evolución crónica y progresiva (Abbas et al., 2015).

2.2.1.1. MORFOLOGÍA

La AR produce alteraciones morfológicas muy variadas; las más graves se manifiestan en las articulaciones. Al principio, la sinovia está edematosa, engrosada e hiperplásica a simple vista y su contorno normalmente liso, aparece cubierto por vellosidades finas y redondeadas. Los rasgos histológicos característicos se presentan en tres fases (Abbas et al., 2015):

2.2.1.2 PRIMERA FASE (DE INFLAMACIÓN SINOVIAL Y PERISINOVIAL).

Caracterizada por:

1. Edema del estroma sinovial, lo que produce eminencias o proyecciones vellosas hacia la cavidad (hipertrofia vellosa)
2. Proliferación de células sinoviales que se disponen en 6 a 9 capas (normalmente están dispuestas en 1 a 3 capas)
3. Gran infiltración de células redondas: linfocitos, que pueden disponerse a manera de folículos linfáticos (cuerpos de Allison-Ghormley), plasma, células, monocitos y macrófagos y escasos leucocitos;
4. Exudado fibrinoso en la superficie sinovial y, en menor grado en el estroma. La fibrina puede convertirse en un material granular (granos de arroz). El

líquido sinovial y la superficie sinovial contiene leucocitos (neutrófilo) y complejos inmunes.

5. Daño de pequeños vasos (vénuclas, capilares y arteriolas) que consiste en tumefacción endotelial, engrosamiento de la pared, infiltración de algunos leucocitos, trombosis y hemorragias perivasculares.
6. Microfocos de necrosis.
7. Aumento de la vascularización debido a la vasodilatación y angiogénesis

2.2.1.3 SEGUNDA FASE (DE PROLIFERACIÓN O DE DESARROLLO DE PANNUS)

Si la inflamación persiste se desarrolla tejido granular, exuberante, llamado pannus, (es decir, una masa fibrocelular, de sinovia y estroma sinovial formada por células inflamatorias, tejido granulomatoso y fibroblastos, que erosionan el cartílago subyacente) que se extiende sobre la superficie articular y se acompaña de vascularización del cartílago. El daño del cartílago y de los tejidos vecinos (cápsula, tendones, ligamentos y hueso) se produce por dos mecanismos:

1. Desarrollo de tejido granular junto a proliferación de células sinoviales con destrucción directa del cartílago articular.
2. Liberación de enzimas lisosomales de sinoviocitos, polimorfonucleares y macrófagos; entre aquellas, proteasas ácidas y neutras, colagenasas y enzimas proteolíticas capaces de fragmentar proteoglicanos y fibras colágenas.
3. Mayor actividad de osteoclastos del hueso subyacente, permitiendo a la sinovial penetrar en el hueso y dar lugar a erosiones yuxtaarticulares, quistes subcondrales y osteoporosis.

La depleción de proteoglicanos con pérdida de la metacromasia (cambio de color producido por la tensión) del cartílago es causada por las proteasas liberadas. La prostaglandina PGE₂, sintetizada por la sinovial afectada, tiene un papel importante en la reabsorción ósea. También participan enzimas del líquido sinovial.

2.2.1.4. TERCERA FASE (DE FIBROSIS Y ANQUILOSIS).

En ella se produce deformación e inmovilidad articular. Con el tiempo el pannus o tejido granular se convierte en tejido fibroso en la cápsula, tendones y tejido periarticular inflamados, forma puentes entre los extremos óseos lo que produce gran deformación de la articulación. La desaparición del cartílago articular y fibrosis del espacio articular conducen a la inmovilización articular (anquilosis fibrosa) que finalmente se osifica y produce anquilosis ósea. Son características las deformaciones en ráfaga de los dedos de las manos en esta etapa.

Con frecuencia, la artritis se acompaña de inflamación de los tendones, ligamentos y en ocasiones del músculo esquelético adyacente

2.2.2. PATOGÉNESIS (Abbas et al., 2015)(Lipsky, 2016)

La patogenia de la AR propone el desencadenamiento mediante el contacto de un antígeno microbiano capaz de generar artritis con el huésped inmunogenéticamente susceptible. De este modo comienza el proceso artrítico agudo, pero es la reacción auto inmunitaria continuada, la activación de las células T colaboradoras CD4+, la liberación total de citocinas y mediadores inflamatorios los que destruyen la articulación. Por tanto, en la patogenia de la AR se sobreponen dos tipos de fenómenos: Uno que genera a la inflamación articular, probablemente mediado por linfocitos T y otro que destruye el tejido articular, donde vasos de neoformación, células sinoviales, células tipo fibroblastos y macrófagos, constituyen el tejido de granulación que destruirá al cartílago y al hueso.

El primer hecho patológico en la AR es la generación de nuevos vasos sanguíneos sinoviales. Esto se acompaña de trasudación de líquido y migración de linfocitos a la membrana sinovial y de polimorfonucleares al líquido sinovial, fenómenos mediados por la expresión de moléculas de adhesión específicas. Esto produce múltiples efectos que transforman a la organización de la sinovia en un tejido invasor, que puede degradar cartílago y hueso. La sinovia reumatoídea tiene muchas

características similares de un tumor que invade localmente, pero nunca deja de responder a factores antiproliferativos o antiinflamatorios ni genera metástasis.

En la etapa inicial de la enfermedad, los linfocitos T son activados por un antígeno o antígenos actualmente desconocidos (se sospecha de virus Epstein Barr, los retrovirus, parvovirus, micobacterias, Borrelia y Micoplasma). Se supone que en esta etapa se inicia la información que llevará a la amplificación de la respuesta inmune, el reclutamiento de mononucleares, la transformación de linfocitos B en células productoras de anticuerpos, liberación de citoquinas, formación de complejos inmunes, activación del complemento, quimiotaxis, infiltración de polimorfonucleares, fagocitosis, liberación de enzimas lisosomales y radicales libres, todo lo cual contribuye a la génesis del proceso inflamatorio.

Por otro lado, la activación de macrófagos genera a la liberación de potentes citoquinas pro inflamatorias, como la interleucina 1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF α), que inducen la expresión de moléculas de adhesión en el endotelio y la activación de metaloproteinasas. Esto favorece el reclutamiento celular y la destrucción tisular.

La destrucción tisular favorece a la aparición de neo antígenos, como el colágeno tipo II, constituyente principal del cartílago articular, lo que contribuye a la cronicidad de la inflamación. La enorme infiltración de linfocitos en la sinovia, podría corresponder al reclutamiento celular estimulado por la aparición de nuevos antígenos, lo que explicaría las dificultades en encontrar la expansión oligoclonal de los linfocitos T, ya que habría muchos antígenos estimulando la proliferación de ellos.

La infiltración linfocitaria y la formación de centros germinales que hacen de la sinovia casi un órgano linfoide secundario, apoyan la idea de la naturaleza autoinmune de esta enfermedad.

Cuando un agente exógeno desencadena la sinovitis inflamatoria, aparece una reacción auto inmunitaria (en la que las células T desempeñan un papel esencial) que

es responsable del carácter destructivo crónico de la AR. No se conoce con seguridad el antígeno que desencadena esta reacción. Ya se ha mencionado el posible papel que desempeña el colágeno tipo 2, pero hay otras pruebas que sugieren que la glucoproteína – 39 del cartílago humano es un autoantígeno. Esta proteína es elaborada por los condrocitos del cartílago hialino y se ha probado que se une a los péptidos de DR4, convirtiéndolos en una posible diana de la reacción inmunitaria regulada por células T. Por otro lado, en las primeras fases evolutivas de la AR se encuentran, dentro de las articulaciones afectadas, células T que son principalmente células T CD4+ de memoria. Las células endoteliales de los capilares sinoviales se activan enseguida, siendo la primera consecuencia de ello la expresión de la molécula de adhesión intracelular 1 (ICAM-1), que produce fijación y trasmigración de otras células inflamatorias nuevas como las células CD4 y T (Abbas et al., 2015).

Esta serie de fenómenos se acentúan con la liberación de citocinas por parte de las células inflamatorias y con la secuencia de los circuitos célula-citocinas, dando lugar a una lesión crónica mediada inmunitariamente. En la AR, parece conveniente destacar el papel de la IL-15, secretada por los macrófagos y las células T activadas (Abbas et al., 2015).

Las células CD-4+ activadas estimulan simultáneamente a las células B, haciendo que se formen anticuerpos en las articulaciones afectadas. Al rededor del 80% de los individuos con AR tienen auto anticuerpos dirigidos contra la porción Fc de la IgG autóloga (factores reumatoides), que son principalmente anticuerpos IgM, formados quizá dentro de las articulaciones, pero pueden ser de otra clase. Estos se auto asocian (AR-IgG), para formar inmunocomplejos en el suero, líquido sinovial y membrana sinovial. Los inmunocomplejos circundantes constituyen el trasfondo de muchas de las manifestaciones extra articulares de la AR; se localizan dentro del cartílago inflamado, activan el complejo y favorecen la reacción inflamatoria sinovial y la degradación del cartílago. Sin embargo el factor reumatoide no se encuentra en algunos pacientes con esa enfermedad (AR 0 negativos) están presente en otros procesos patológicos incluso en personas sanas y es probable que no sea esencial en la etiología de la AR (Abbas et al., 2015).

El estrés oxidativo conduce a un riesgo incrementado para osteoartritis pero el mecanismo preciso permanece poco claro. Se conoce que la presencia de estrés oxidativo induce inestabilidad genómica, senescencia replicativa y disfunción de condrocitos en el cartílago con osteoartritis, sugiriendo que el estrés oxidativo conduce a senescencia de condrocitos y envejecimiento del cartílago, y que podría ser responsable para el desarrollo de osteoartritis. Los nuevos esfuerzos para prevenir el desarrollo y progresión de osteoartritis pueden incluir estrategias e intervenciones con el objetivo de reducir el daño oxidativo en el cartílago articular (Yudoh et al., 2005).

Recientemente se ha descubierto que el superóxido dismutasa extracelular, el principal secuestrador de las especies reactivas de oxígeno en espacios extracelulares, está disminuido en pacientes con osteoartritis y en modelos animales de osteoartritis; sugiriendo que se presenta un inadecuado control de las especies reactivas de oxígeno lo cual juega un rol importante en la fisiopatología de la osteoartritis (Lee, Lee, Lim, & Choi, 2014).

La detección de la concentración de antioxidante plasmático total (APT) está siendo considerado como una prueba rápida rutinaria para verificar los niveles de estrés oxidativo en la artritis reumatoide. Además la correlación de los niveles de APT y lipoperoxidación con reactantes de fase aguda puede dar algunas claves acerca de la evolución de la enfermedad (Arulselvan et al., 2016).

2.2.3. MANIFESTACIONES EXTRAARTICULARES

1. **Nódulo reumatoideo.** Se presenta en el 20 a 25% de los casos, se produce en el tejido subcutáneo, periarticular y, menos frecuentemente, en vísceras.
2. **Alveolitis fibrosante.** Puede llegar hasta el pulmón en panal de abejas.
3. **Angeítis de pequeños vasos.** Puede producir púrpura, úlceras isquémicas cutáneas, neuropatía periférica, escleritis, conjuntivitis y uveítis.

4. *Síndrome de Felty*. Corresponde a una artritis reumatoide con angeítis, linfadenopatía, esplenomegalia y leucopenia.

5. *Pericarditis y endocarditis*.

6. *Compromiso renal* (glomerulitis, glomerulonefritis focal y segmentaria; nefropatía extra membranosa por tratamiento con sales de oro, nefritis intersticial por analgésicos).

7. *Amiloidosis secundaria*.

Infrecuentemente la artritis reumatoide se acompaña de un síndrome de Sjögren

2.2.4. TRATAMIENTO DE LA ARTRITIS REUMATOIDE (Lipsky, 2016)

El tratamiento de la artritis reumatoide es difícil y controvertido. Son muy importantes las medidas generales de educación, reposo adecuado, terapia física y terapia ocupacional. A todos los enfermos con AR se les aconseja que alternen períodos de reposo (a modo de disminuir la inflamación debida a estrés mecánico) con períodos de actividad articular (para mantener los rangos de movilidad articular y la potencia muscular). Existe consenso general acerca de que la progresión radiológica con destrucción gradual del cartílago y del hueso, que conduce a deformación articular, ocurre invariablemente en la mayoría de los pacientes. Los estudios prospectivos a largo plazo en la AR señalan una declinación progresiva de la capacidad funcional a lo largo del tiempo. Este curso es poco influido por el tratamiento farmacológico, a menos que se inicie muy precozmente el uso de drogas antirreumáticas.

Los fármacos utilizados habitualmente en tratamiento de la Artritis Reumatoide son los siguientes (Lipsky, 2016)(“Drugs for rheumatoid arthritis.,” 2012):

- **Antiinflamatorios no esteroideos y analgésicos:** como la Indometacina y los piroxicam.
- **Antiinflamatorios esteroides:** como Prednisona y Metilprednisolona

- **Antirreumáticos**, que tienen la capacidad de modificar los procesos patológicos responsables de la inflamación crónica.
- **Agentes antimaláricos:** Cloroquina e hidroxicloroquina, se acumulan en los tejidos y tienen vida media prolongada.
- **Sales de Oro:** Los compuestos de sulfihidrilo que contienen oro orgánico se usan desde los años veinte para el tratamiento de la AR, la AR juvenil y la artritis psoriasisica.
- **Metotrexato (MTX):** Ha demostrado ser el fármaco de elección en el tratamiento de la AR. Es de acción rápida, la sinovitis desaparece en 1 a 2 meses y hay sensación de bienestar. Es un agente efectivo y bastante seguro para el tratamiento de la AR.
- **Leflunomida:** Es un agente nuevo desarrollado para el tratamiento de la AR, la eficacia clínica es similar a la del metotrexato.
- **Sulfasalazina:** Se desarrolló en los años treinta para el tratamiento de la AR. Es mejor que el placebo en la AR y en las espondiloartropatías.
- **Azatioprina:** Es un inmunosupresor y es otra opción en la terapia de la AR si otros agentes han fallado, si bien es igualmente efectiva que otros DMARs la toxicidad es mayor.
- **Ciclosporina:** Este inmunomodulador es tan efectivo como la azatioprina. Se usa en AR y en el tratamiento de la nefritis lúpica.
- **Antagonistas del factor de necrosis tumoral - alfa (TNF- α):** De reciente desarrollo. Tienen un potente efecto antiinflamatorio en AR. El principal representante de este grupo es el etanercept (Enbrel). La mejoría aumenta en combinación con metotrexato.
- **Ciclofosfamida:** es un agente alquilante derivado de la mostaza nitrogenada, se usa por vía oral o intravenosa (IV).
- **Otros antirreumáticos:** son la d-penicilamina, minociclina, clorambucil y otros. Otras terapias son la plasmaféresis que tiene un papel en las vasculitis, crioglobulinemias y en la hemorragia pulmonar del lupus eritematoso. El uso de gamaglobulina hiperinmune intravenosa que se indica en el Kawasaki, dermato y polimiositis, artritis reumatoide juvenil y púrpura

trombocitopénica, agentes biológicos y otros agentes terapéuticos de efecto no comprobado.

2.2.5 CARTÍLAGO ARTICULAR HIALINO

Es una forma de tejido conjuntivo y de sostén. Microscópicamente aparece como semisólido, de superficie brillante y de color blanco-azulado; si bien se torna amarillento con la edad, es un tejido diferenciado elástico y resistente a la compresión y choques. Se encuentra firmemente adherido al hueso subcondral y en la periferia se continúa con la sinovia, que es la membrana tisular interna que recubre la articulación.

El examen histológico y ultra estructural demuestra que el cartílago está formado por una matriz extracelular abundante, en cuyo seno se albergan células llamadas condrocitos, en número relativamente escaso. Carece de inervación y de vasos sanguíneos y linfáticos por lo que el aporte de sustrato a los condrocitos en el cartílago adulto se hace exclusivamente a través de los vasos sanguíneos de la sinovia.

El cartílago se forma de las células mesequimales indiferenciadas, que se agrupan y comienzan a sintetizar la matriz extracelular. El tejido empieza a ser reconocible como cartílago bajo el microscopio, cuando una acumulación de matriz separa las células y éstas adoptan una forma esférica (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998)

2.2.5.1 COMPOSICIÓN DEL CARTÍLAGO ARTICULAR

Como otros tejidos conectivos, el cartílago articular está formado por células y una matriz extracelular constituida por una fracción líquida y una fracción sólida de macromoléculas que constituyen el esqueleto del tejido. La arquitectura en forma de arcadas de la trama fibrilar garantiza la elasticidad y la resistencia a la compresión y el deslizamiento y la resistencia a los choques están asegurados por una sustancia intercelular con una gran capacidad de retención acuosa.

El condrocito, única célula del cartílago, es la responsable de la síntesis de estos componentes de la matriz extracelular, y debe organizar su propio metabolismo para garantizar la producción, renovación periódica y su organización tridimensional. (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

2.2.5.2 CONSTITUYENTES DEL CARTÍLAGO

El cartílago está compuesto por células, matriz extracelular, componentes fibrilares y compuesto no fibrilares, la distribución de los mismos se aprecia en el siguiente cuadro:

PORCENTAJE DEL PESO TOTAL DEL CARTÍLAGO	
Células	0.4 - 2 %
Matriz extracelular:	Fracción líquida 80 %
	Macromoléculas estructurales: 20 - 40 %

PORCENTAJE DEL PESO SECO DEL CARTÍLAGO	
Componente fibrilar	Colágeno 60 %
Componente no fibrilar	Proteoglicanos 25 - 35 %
	Glicoproteínas y proteínas no colágenas 15 - 20 %

2.2.5.3 LOS CONDROCITOS

El cartílago articular está constituido por una sola población celular, el condrocito, que se diferencia durante el desarrollo de la célula progenitora mesenquimatosas. La población de condrocitos es reducida (100-1000 millones cel/ml), son del 0.4 al 2% del peso total del cartílago, pero altamente especializadas en la biosíntesis y mantenimiento de los componentes de la matriz extracelular (colágeno y proteoglicanos), sintetizando así mismo un sofisticado sistema lítico

capaz de asegurar el recambio periódico de los elementos constituyentes de la matriz. Poseen un núcleo voluminoso y todo tipo de organelas.

Los condrocitos están rodeados de su matriz pericelular y no hay contacto célula-célula. Observado al microscopio electrónico un cuerpo citoplasmático circular u oval con un núcleo excéntrico rodeado por una membrana generalmente lisa. Además, suele poseer un nucléolo. El núcleo está rodeado de haces de microfilamentos dispuestos paralelamente, adheridos a la membrana nuclear. Se trata de proteínas contráctiles cuya función consiste en mantener la integridad estructural de la célula. El citoplasma contiene ribosomas libres dispuestos de forma compacta, un abundante retículo endoplásmico, y un importante aparato de Golgi, algunas vesículas lisosómicas y unas mitocondrias pequeñas. La membrana celular de algunos condrocitos posee filopodios cortos a modo de dedo que se extienden hacia la matriz. Los condrocitos se dividen hasta el final del crecimiento, aproximadamente sobre los veinte años (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

2.2.5.4 MATRIZ EXTRACELULAR

Está constituida por una fracción líquida y un armazón sólido de macromoléculas que proporciona al cartílago su forma y estabilidad.

2.2.5.4.1 FRACCIÓN LÍQUIDA

El agua contribuye casi al 80% del peso total del cartílago articular y su interacción con las macromoléculas de la matriz influye substancialmente en las propiedades mecánicas del tejido. Esta fracción líquida contiene gases, pequeñas proteínas y una alta concentración de cationes. El volumen, concentración y conducta del agua en el tejido depende particularmente de su interacción con los largos proteoglicanos agreganos de la matriz.

2.2.5.4.2 MACROMOLÉCULAS ESTRUCTURALES

Constituidas por un armazón de fibras colágenas en cuya red se alberga un gel compuesto principalmente por agregados de proteoglicanos, además de glicoproteínas y proteínas no colágenas. Representan el 20-40% del peso total del cartílago (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

2.2.5.5 COMPONENTE FIBRILAR: Colágeno

La red de fibrillas de colágeno constituye el endoesqueleto del cartílago y proporcionan un andamiaje para los proteoglicanos y los condrocitos. En el cartílago articular el 90-95% del colágeno es tipo II, con cierta contribución de los tipos IX, XI, VI y X. Las fibrillas de colágeno tipo II se constituyen por subunidades poli peptídicas repetidas, llamadas tropocolágena, con estructura triple helicoidal de cadenas idénticas, unidas por puentes de piridinolina. Son sintetizadas por los condrocitos, que las organiza según un entramado tridimensional a modo de malla, orientado para descargar las fuerzas de tracción y proporcionar así resistencia a la tensión. El colágeno tipo II es el principal componente de este entramado fibrilar, pero los tipo IX y XI se unen covalentemente a él, formando parte de la estructura de ésta malla fibrilar, contribuyendo a darle forma y estabilidad y a conectarlo con los proteoglicanos. El colágeno tipo VI forma parte de la matriz que rodea al condrocito, manteniendo unida la célula a dicha matriz. El colágeno tipo X solo aparece cerca de las células de la matriz calcificada, lo que sugiere que participe en la mineralización del cartílago (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

2.2.5.6 COMPONENTE NO FIBRILAR. Proteoglicanos y proteínas no colágenas.

PROTEOGLICANOS

Son macromoléculas sintetizadas por los condrocitos, constituidas por un eje central lineal de naturaleza proteica a las que están conectadas mediante enlaces covalentes cadenas de glucosaminoglicanos, polisacáridos representados sobre todo

por el condroitin 4 y 6 sulfato, dermatán sulfato y por el queratán sulfato. Cada proteína central soporta de 50 a 100 cadenas de glucosaminoglicanos y el peso molecular de un proteoglicano es de 1 a 3 millones de Da.

El ácido hialurónico, otro glucosaminoglicano producido por el condrocito, tiene la función de enlazar entre si los diversos proteoglicanos a través de un enlace proteico (proteínas de la unión), formando voluminosos agregados de proteoglicanos con pesos moleculares del orden de 200 millones de Da. Los agregados de proteoglicanos así formados, van a ocupar los espacios entre las redes de fibrillas colágenas.

Estos largos agregados de proteoglicanos o agrecanos son los más abundantes en el cartílago articular; estando presentes además otros de menor longitud: biglicano, decorina y fibromodulina. El colágeno tipo IX es considerado también un proteoglicano porque tiene glicosaminoglicanos en su composición. También están presentes proteoglicanos no agregados de composición y estructura muy similar a la de los agrecanos, por lo que probablemente se trate de agrecanos degradados (*Hardingham y Fosang, 1992*). Cada disacárido tiene al menos un grupo carboxilo o sulfato cargado negativamente, por lo que los glicosaminoglicanos constituyen largas filas de cargas negativas que repelen otras moléculas cargadas negativamente y atraen cationes (Lock, 1997; Mansant, 2003; Salgado & Menguan, 2000; Trujillo, 1998; Tsuda et al., 1999).

2.2.5.7 GLICOPROTEINAS Y PROTEÍNAS NO COLÁGENAS

Hay una amplia variedad de estas moléculas en el cartílago articular, pero sólo un número pequeño de éstas están bien estudiadas. En general, consisten principalmente en proteínas con algunos oligosacáridos y monosacáridos. Al menos algunas de estas moléculas parecen contribuir a organizar y mantener las macromoléculas estructurales de la matriz. La Ancorina CII, por ejemplo, ayuda a anclar los condrocitos a las fibras de colágeno de la matriz y la proteína oligomérica del cartílago, que está concentrada principalmente en la matriz territorial de los condrocitos, tiene también la capacidad de unirse a condrocitos. Fribronectina y

tenascina, proteínas no colágenas encontradas en varios tejidos, también han sido identificadas en el cartílago. Sus funciones en el cartílago permanecen poco conocidas, pero pueden tener papel en la organización de la matriz, la interacción celular y la respuesta del tejido en las artropatías inflamatorias y en la osteoartritis.

Estas moléculas pueden tener valor como marcadores del turnover del cartílago y de la progresión de la degeneración del cartílago en personas que tengan osteoartritis (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

2.2.5.8 ESTRUCTURA DEL CARTÍLAGO

La composición, organización y propiedades mecánicas de la matriz extracelular, así como la morfología, tamaño y actividad metabólica celular varía de la superficie a la profundidad distinguiéndose 4 zonas, aunque los límites entre ellas no están perfectamente delimitados (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

2.2.5.8.1 ZONA SUPERFICIAL:

Representa aproximadamente el 5-10% del grosor del cartílago. La capa más superficial denominada “lámina splendens”, que aparece al microscopio de contraste de fase como una banda muy brillante, está constituida por finas fibras colágenas, pequeños polisacáridos y no posee células. Debajo de ésta fina capa acelular las fibras colágenas discurren paralelas a la superficie articular, proporcionando de ésta manera mayor resistencia a la presión generada durante el uso de la articulación, que las capas más profundas. Las células con forma ovoide o alargada, también están dispuestas horizontalmente. La matriz de ésta zona superficial tiene alta concentración de colágeno y pobre de proteoglicanos, respecto a otras zonas del cartílago. La concentración de fibronectina y agua es también mayor en ésta zona.

2.2.5.8.2 ZONA INTERMEDIA O DE TRANSICIÓN:

Las fibras de colágeno forman una red entrelazada en espiral, no orientada en un sentido determinado donde los condrocitos son esferoidales y están dispersos. Las células tienen una mayor concentración de organelas que las células superficiales y sintetizan una matriz con fibras colágenas de mayor diámetro, mayor concentración de proteoglicanos y menos de agua y colágeno que la matriz superficial.

2.2.5.8.3 ZONA RADIAL O PROFUNDA:

Las fibras son más gruesas y poseen una disposición preferentemente perpendicular (radial) a la superficie articular. Las células esferoidales son de mayor volumen y se disponen en forma de columnas también perpendiculares a la superficie articular, a menudo en grupos de 2 a 8 células. La matriz de ésta zona posee las fibras colágenas de mayor diámetro, la mayor concentración de proteoglicanos y la menor concentración de agua. Los condrocitos de esta zona expresan ya marcadores bioquímicos normalmente asociados con la mineralización y la calcificación.

2.2.5.8.4 ZONA DE CARTÍLAGO CALCIFICADO:

Esta fina capa de cartílago calcificado separa la zona radial del hueso subcondral. Las células de ésta zona son más escasas y tienen un tamaño más pequeño que el de la zona radial y poseen muy pocas organelas. Las fibras colágenas tienen la misma disposición que en la zona radial, la matriz está calcificada, presentando cristales de hidroxapatita en forma de depósitos globulares entre las fibras colágenas. Con tinción de H-E, la zona calcificada está separada de la zona radial por una línea ondulada, basófila, conocida como “línea de calcificación”, de naturaleza aún poco conocida (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

La composición, organización y función de la matriz extracelular también varía según la distancia a la célula, pudiendo distinguirse tres regiones: una región pericelular, una región territorial y una región interterritorial. Las regiones pericelular y territorial se encargan de cubrir las necesidades de los condrocitos, rodeando las membranas celulares de macromoléculas y protegiendo las células del daño durante la carga y deformación del tejido. También contribuyen a transmitir

señales mecánicas a los condrocitos cuando la matriz se deforma durante la carga articular. La principal función de la matriz territorial es proporcionar al cartílago sus propiedades mecánicas características.

- **Matriz pericelular:** Es una fina región de matriz que rodea la superficie celular. Es rica en proteoglicanos y en proteínas no colágenas y colágenas no fibrilares como el colágeno tipo VI. Prácticamente no tiene colágeno fibrilar. El citoplasma de algunos condrocitos proyecta extensiones a través de la matriz pericelular a la matriz territorial.
- **Matriz territorial. Concepto de condrón:** Rodea la matriz pericelular de cada condrocito y en algunas localizaciones a parejas o incluso grupos de condrocitos. Sus finas fibras colágenas parecen adherirse a la matriz pericelular, cruzándose en varios ángulos, formando una especie de cesta fibrilar alrededor de la célula. Ésta cesta de fibras colágenas proporciona protección mecánica a los condrocitos durante la carga y deformación del tejido. Un incremento brusco en el diámetro y un cambio en la orientación de las fibras de colágeno, que se vuelven más paralelas, marcan el límite entre las matrices territorial e interterritorial. En 1988 el grupo neozelandés de Anthony Poole, aisló de la matriz del cartílago una estructura que denominaron CONDRÓN, constituida por el condrocito, su matriz pericelular y una cápsula. La cápsula, matriz territorial, que delimita el condrón de la matriz circundante, está formada por éste entramado de fibras de colágeno organizadas para constituir láminas superpuestas en capas a modo de cesta. Gracias a su compleja estructura molecular, no solo constituye una barrera física, sino que su organización sugiere que sea capaz de regular el tránsito de moléculas y metabolitos, desde la matriz al condrocito y viceversa. La matriz pericelular rodea completamente al condrocito, separándolo de la cápsula y desarrollando aparte de las demás funciones, la de almohadillado entre las dos estructuras. Es capaz de establecer relaciones funcionales con la cápsula condrónica y con la célula condrocitaria.

- **Matriz interterritorial:** Constituye la mayor parte del volumen de la matriz del cartílago y contiene las fibras colágenas de mayor diámetro. A diferencia de la matriz territorial, en ésta región las fibras de colágeno no están organizadas alrededor del condrocito y cambian su orientación, respecto a la superficie articular, 90° de la zona superficial a la radial. En la zona superficial, las fibras tienen un diámetro relativamente pequeño y generalmente discurren paralelas a la superficie articular, en la zona de transición adoptan ángulos más oblicuos respecto a la superficie articular, y en la zona radial, discurren perpendiculares a la misma.

2.2.5.9 METABOLISMO DEL CARTILAGO.

Las propiedades mecánicas del cartílago, un tejido a la vez flexible y resistente, depende de la composición y estructura de su matriz extracelular, sintetizada por un número sorprendentemente pequeño de células. Los condrocitos, centros metabólicos del cartílago, poseen una gran capacidad secretora y sobre todo una gran capacidad de vivir y de mantener su función con un mínimo aporte nutritivo. El carácter particular del metabolismo proviene de las singularidades del cartílago en relación a los demás tejidos: la ausencia de vascularización y la abundancia de elementos extracelulares.

2.2.5.9.1 NUTRICIÓN

Como el cartílago es avascular, los elementos extracelulares son sintetizados por los condrocitos a partir de substratos de pequeño peso molecular extravasados de la sangre circulante a los capilares de la membrana sinovial. El trayecto que deben seguir los nutrientes antes de llegar a su último punto de destino, el condrocito, es largo y lleno de dificultades, comportando las etapas siguientes: 1. los capilares de la sinovial, 2. el tejido sinovial, 3. el líquido sinovial, 4. la matriz extracelular del cartílago.

2.2.5.9.2 METABOLISMO CELULAR

Los condrocitos están bien adaptados al bajo consumo de oxígeno dado las condiciones del cartílago, donde la presión de oxígeno en las zonas profundas puede ser tan baja como de un 1% comparada con el 24% normal de la atmósfera. Debido a ello, la energía necesaria para su actividad de síntesis proviene de la metabolización de glucosa por glicolisis anaerobia. A su vez, el lactato, producto final de la glicolisis, hace que la célula sinovial libere glucosa, asegurando de este modo la regulación y el mantenimiento del ciclo nutricional de los condrocitos que viven en un ambiente anaerobio. Cuando este retrocontrol queda desbordado, los condrocitos utilizan la vía oxidativa (aerobia), utilizando la matriz extracelular adyacente para la combustión.

2.2.5.9.3 DESARROLLO Y ENVEJECIMIENTO

Durante la formación y crecimiento del cartílago articular, la densidad celular es alta y las células alcanzan su mayor nivel de actividad metabólica, ya que los condrocitos proliferan rápidamente y sintetizan grandes volúmenes de matriz para expandir y remodelar la superficie articular. Con la maduración del esqueleto disminuye la actividad metabólica y la síntesis de matriz y la división celular declina; después del final de la formación del esqueleto las células ya no se dividen más y no cambian substancialmente el volumen del tejido pero continúan sintetizando matriz para reemplazar las macromoléculas degradadas y para remodelar la superficie articular.

Con el envejecimiento se producen en el cartílago cambios a nivel estructural, celular y de la matriz extracelular. Desde el punto de vista estructural se produce una fibrilación de la superficie articular del cartílago por un denudamiento parcial de las fibrillas colágenas que destruye la apariencia lisa y continua de la superficie articular, con el tiempo estas fisuras múltiples se hacen más profundas perpendicularmente a la dirección de las fuerzas tangenciales y a lo largo de las fibrillas colágenas. La densidad celular disminuye así como su actividad sintetizadora. Los cambios más característicos producidos por la edad en la matriz extracelular son la disminución en

la concentración de agua, pérdida de proteoglicanos agregados, aumento en la concentración de decorina, acumulación de moléculas degradadas y aumento en el diámetro de las fibras de colágeno (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

2.2.5.9.4 SÍNTESIS Y DEGRADACIÓN. INTERACCIÓN CONDROCITO-MATRIZ

Mantener la superficie articular requiere un flujo continuo de las macromoléculas de la matriz, en respuesta al uso de la articulación. El condrocito dispone de todas las enzimas necesarias para el metabolismo energético y la biosíntesis y degradación de éstas moléculas de la matriz, a lo largo de la vida. Para ello debe sentir los cambios en la composición de la matriz producidos por la degradación de macromoléculas así como cambios en la demanda por el uso articular.

El cartílago articular adulto está sujeto a un equilibrio entre los procesos anabólicos (síntesis de matriz extracelular) y catabólicos (degradación y pérdida de matriz), regulado, fundamentalmente, por el condrocito en respuesta a una serie de factores. Los mecanismos que controlan el balance entre ambas actividades, síntesis y degradación, permanecen poco conocidas, pero las citoquinas parecen tener un importante papel. En respuesta a una variedad de estímulos, los condrocitos sintetizan y liberan estas citoquinas a la matriz, donde se unen a receptores de la superficie celular o quedan atrapadas en la propia matriz. La síntesis de colágeno y de proteoglicanos por los condrocitos parece tener mecanismos independientes, ya que el bloqueo de una de ellas no interfiere con la otra. Las citoquinas, como el IGF (factor de crecimiento similar a la insulina), el FGF (factor de crecimiento fibroblástico) o el TGF- β (factor transformador del crecimiento) estimulan la síntesis de estas proteínas por los condrocitos.

La degradación de la matriz extracelular está producida por tres familias de proteasas originadas en el propio condrocito: metaloproteasas, serina proteasas y tiol

proteasas. Entre las metaloproteasas se encuentran la colagenasa o MMP-1 y la estromelisinina o MMP-3 que participan en la degradación del colágeno tipo II y entre las otras dos familias destacan el activador tisular del plasminógeno y las catepsinas que además de tener una acción proteolítica directa sobre los proteoglicanos, tienen un papel en la activación de metaloproteasas en estado latente. Para evitar la destrucción indiscriminada del tejido estas proteasas se hallan sujetas a un mecanismo de control estrecho en el que participan entre otras moléculas reguladoras el inhibidor tisular de metaloproteasas o TIMP y el inhibidor del activador del plasminógeno.

La matriz actúa también transmitiendo señales que resultan de fuerzas mecánicas de la superficie articular y los condrocitos responden a estas señales por alteración de la matriz posiblemente a través de la expresión de citoquinas que actúan a través de mecanismos autocrinos y paracrinos. Estudios experimentales han demostrado que la inmovilización de la articulación o una disminución persistente de la carga articular, disminuye la concentración de proteoglicanos en el cartílago y el grado de agregación de los mismos, alterando con ello las propiedades mecánicas del cartílago. La reanudación del uso de la articulación restaura la composición y propiedades mecánicas de la matriz hacia la normalidad. El mantenimiento de la composición normal del cartílago requiere por tanto un nivel mínimo de carga y moción de la articulación. Sin embargo, una carga y moción repetidas de la articulación de un nivel mayor de lo normal, puede aumentar la actividad sintetizadora de los condrocitos pero éstos tienen limitada su capacidad de expandir el volumen tisular en el adulto. Los detalles de cómo los mecanismos de carga de las articulaciones, que deforman la matriz extracelular, influyen en la función de los condrocitos son aún desconocidos pero la deformación de la matriz produce señales mecánicas, eléctricas y físico-químicas que pueden tener un papel en la estimulación de los condrocitos (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

2.2.5.9.5 BIOMECÁNICA DEL CARTILAGO. Agua, iones, cargas.

La capacidad del cartílago para soportar las grandes presiones generadas durante la carga, reside en las complejas interacciones entre los distintos componentes de su matriz extracelular, sintetizadas por los condrocitos. En concreto depende de la integridad del armazón colágeno, el entramado fibrilar tridimensional, y del mantenimiento de la elevada concentración de proteoglicanos aniónicos que ocupan los espacios comprendidos entre las fibras colágenas.

La presencia de los grupos aniónicos carboxilo y sulfato en los glicosaminoglicanos confiere a la matriz del cartílago una composición iónica y osmótica diferencial, dado que la alta densidad de cargas negativas en los proteoglicanos atrae cationes (principalmente Na^+ , K^+ y Ca^{2+}) y repele aniones (Cl^- , HCO_2^-) por lo que la concentración de cationes libres en el cartílago es alta (250-400 mM Na^+ , 8-15 mM K^+) y la de aniones es baja (8-100 mM Cl^-), en comparación con los fluidos extracelulares de otros tejidos.

El movimiento de cationes a la matriz es seguido por el movimiento obligado de agua, creando el llamado efecto Donnan; los proteoglicanos, que no pueden salir de la red de colágeno, atraen hacia sí moléculas de agua hinchándose y expandiendo la red de colágeno hasta el punto de conferir al cartílago su típica elasticidad, resistencia y capacidad de amortiguar los esfuerzos mecánico. La alta concentración de proteoglicanos, con su enorme capacidad para almacenar moléculas de agua, hace que cuando se ejerce una presión sobre el cartílago, la deformación del mismo ocurra de manera gradual, a medida que las moléculas de agua se desplazan del interior de los proteoglicanos hacia la superficie articular. Cuando la fuerza cesa, estas moléculas de agua vuelven a su localización inicial, atraídas por la fuerte carga negativa de lo proteoglicanos, restableciéndose la estructura del cartílago.

Esta capacidad de amortiguación ejercida por los proteoglicanos, hace que las fuerzas lleguen parcialmente disipadas y enlentecidas a la red de colágeno, que es la responsable final de la estructura tridimensional del cartílago, en virtud de su enorme

resistencia física a la tensión (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

2.2.2.10. FISIOPATOLOGIA

2.2.2.10.1. PAPEL E INTERÉS DE LAS CITOQUINAS Y DE LAS ANTI-CITOQUINAS COMO AGENTES TERAPÉUTICOS Y EXPERIMENTALES EN LA ARTROSIS

Está ahora admitido que el metabolismo normal del condrocito resulta de un equilibrio entre 3 tipos de citoquinas: factores reguladores (interluquinas IL-4, 10, 13 inhibidores de colagenasa), factores desfavorables o destructores y factores de crecimiento, IGF (factor de crecimiento insulínico), TGF β (factor de crecimiento transformante beta), BMP (proteínas morfogenéticas del hueso) y CDMP (Cartílago derivado de proteínas morfogenética) favorables a la síntesis activa de los elementos fundamentales de la matriz intercelular, colágeno II y proteoglicanos

Entre los factores destructores, se identifican IL-1 β , IL-6, IL-17, TNF (factor de necrosis tumoral) y, más particularmente TNF- α , LIF (factor de inhibidor de interluquina), perteneciendo a la familia de los IL-6. Producidas por la célula sinovial, estas citoquinas pro inflamatorias llegan hasta el condorcito donde producen no sólo un aumento de la síntesis de las colagenasas y de los colágenos menores I y III, sino también una inhibición de la síntesis de los colágenos II y IX y de los proteoglicanos.

No se sabe si estas citoquinas actúan en sinergia con una jerarquía bien establecida o, al contrario, de manera independiente.

Sin embargo, se conoce el resultado: gracias a unos receptores particulares, de los cuales dos tipos distintos han sido aislados para cada citoquina, el condrocito produce, después de una transducción de la señal membranosa, unas citoquinas pro inflamatoria. Se empiezan a conocer los mecanismos de señalización intracelular destinada a los genes inducibles por las citoquinas y serán el objeto de impacto terapéutico posible.

2.2.2.10.2. SEÑALIZACIÓN INTRACELULAR DE LOS GENES INDUCTIBLES POR LAS CITOQUINAS PRO-INFLAMATORIAS

Hay dos vías de señalización en el momento en que las citoquinas IL-1 y TNF- α se fijan sobre sus receptores, a nivel de la membrana del condrocito: la vía NIK o NF- κ B (Nuclear factor B) Inducible Kinasa, y la vía más clásica de la MAP kinasa (proteínas activadas por nitrógenos). Los productos de estas kinasas llegan al nivel del núcleo para estimular varios promotores proteicos acarreado así la transcripción de los genes, entonces denominados inductibles, de las citoquinas inflamatorias, de las adhesinas, de las colagenasas, de las quimioquinas e iNOS.

Efectivamente, a este esquema muy complejo se añade el efecto del NO o monóxido de azufre. El NO libre también parece ser un factor catabólico del cartílago artrósico que produce más monóxido de azufre que el cartílago sano, al mismo tiempo espontáneamente y después de estimulación por las citoquinas proinflamatorias. Esto es debido a una hiper expresión y a un exceso de síntesis de la enzima productora del NO a partir de la arginina, la NO sintasa inductible o iNOS la cual ha sido aislada del condrocito. NO inhibe la síntesis de las macromoléculas de la matriz y estimula la actividad colagenasa, reduciendo al mismo tiempo la síntesis de un antagonista del receptor de IL-1- IL-1 Ra. Así, un nivel elevado de IL-1 combinado con un porcentaje bajo de IL-1 Ra produciría una hiper estimulación de los condrocitos y una degradación de la matriz. En cuanto a las quimioquinas, nuevas citoquinas descubiertas en el cartílago, están implicadas en el quimiotactismo de los leucocitos y macrófagos, estos se denominan MCP (Monocyte Chemoattractant Proteins), MIP (Macrophage Inflammatory Proteins), Rantes o SDF (Stromal cell Derived Factor). Activarían la iNOS, las colagenasas y la stromelisina, el IL-6 con por lo tanto una acción catabólica tan potente como la de los factores anteriores (Delgado, 2013; Mansant, 2003; Poole, 1997; Sandell & Aigner, 2001; Trujillo, 1998).

2.3 ZEA MAYZ L. VARIEDAD MORADA

El maíz es una planta oriunda de América, una de las plantas más conocidas en el mundo y una de las más antiguas que el hombre ha domesticado (Bonavia, 1991). Se han encontrado restos de este cereal desde Canadá hasta el norte de la República de Argentina; habiendo constituido, junto con los fríjoles y las papas, uno de los principales alimentos de las numerosas tribus indígenas que poblaban este extenso territorio.

El origen del maíz es muy remoto. Se cultiva en el Perú desde épocas precolombinas; su antigüedad está comprobada por las mazorcas encontradas en las tumbas antiquísimas así como las representaciones del maíz en la cerámica precolombina; en los Andes la representación del maíz está presente prácticamente en todas las culturas y casi siempre en un contexto religioso.(Bonavia, 1991). Se considera que Colon lo llevó a España en su primer viaje, en 1498, se cultivó en Castilla y Andalucía en 1826. Mc Bride (1963), citado por Pereyra (1964) señala que es nativo de las alturas de México o América Central, pero que no es conocido en estado silvestre, ni es capaz de mantenerse en competencia con otras plantas silvestres; (Lock, 1997) sin embargo actualmente se han presentado pruebas que señalan que el maíz se ha difundido en Sudamérica en estado silvestre antes de la llegada del hombre.(Bonavia, 1991). Las diversas variedades de maíz morado provienen de la raza ancestral Culli (que en quechua significa negro). Las formas típicas están casi extinguidas. De acuerdo a Mangeldsfor (1943), mencionado por Pereyra (1964), la raza Culli es una de las cinco razas ancestrales de las que se han originado todas las demás, actualmente en extinción en el mundo. Existen muy pocas razas que presentan pigmentos antocianínicos, tanto en el grano como en la tusa. En el Perú la raza Culli se cruzó con otras razas, transfiriendo sus colores característicos a las razas derivadas, como el Sangeronimo, Huancavelicano, Piscoruto, Cuzqueño, Huayleño, Arequipeño e Iqueño; sin embargo se han producido variedades más desarrolladas y de mayor rendimiento mediante la técnica de cruzamiento y de selección genética. El maíz Culli de Bolivia es muy parecido al peruano tanto en la intensidad de coloración del grano como en la morfología de la planta y la mazorca

(Guillen, Mori, & Paucar, 2014)(Derteano, 1980). Es conocida la asociación de coloración de antocianina en plantas de maíz con su distribución altitudinal (Grobman, 1982); maíces distribuidos a niveles de mayor altura presentan alta intensidad de coloración la cual disminuye hasta verde a nivel del mar. El maíz ecuatoriano parece haberse originado del cruzamiento entre el Culli ancestral con razas de mazorcas grandes. El Culli Argentino es parecido al de Ecuador con la diferencia de que los granos son más duros. El negrito chileno tiene la mazorca más chica y los granos más delgados presentando más hileras de granos.

2.3.1 UBICACIÓN TAXONÓMICA DEL MAÍZ MORADO

El maíz morado es una planta monocotiledónea de estambres hipogénicos, pertenecientes a la familia de las gramíneas. La posición botánica, según la Dirección del Museo de Historia Natural de la U.N.M.S.M es la siguiente:

División	: SPHERMATOPHITA
Clase	: MONOCOTYLEDONEAE
Subclase	: LILIDAE
Orden	: POALES
Familia	: POACEAE
Subfamilia	: ANDROPOGONOIDEAE
Tribu	: MAYDEAE
Género	: <i>Zea</i>
Especie	: <i>Zea mays L.</i>
Variedad	: Morada
Nombre vulgar	: Maíz morado

En el Perú existen diversas variedades de maíz entre las mencionadas por Soukup, tenemos el culli que tiene granos rojo-oscuro casi morado que se emplea para la preparación de la chicha morada o como colorante de vianda y la variedad haña-kaa (v. Aymara) llamada maíz morado. Otras variedades tradicionales más conocidas son (Guillen et al., 2014)(Derteano, 1980):

La principal materia colorante son las antocianinas, de las cuales se han determinado, 3-glucósidos de cianidina, pelargonidina, y peonidina, 3- galactosido de cianidina, libres y acilados.

El uso principal desde Antiguo es en la preparación de la chicha morada y mazamorra morada; actualmente se preparan extractos acuosos atomizados para ser comercializados como colorantes naturales; aunque los volúmenes de producción aun no compiten con las enocianinas (Lock, 1997).

2.3.2 IMPORTANCIA DEL ESTUDIO DE LA ANTOCIANINA EN LA ARTRITIS REUMATOIDE

Actualmente existe un interés en la función protectora in vivo de los antioxidantes naturales contenidos en las plantas etéreas contra el daño oxidativo causado por especies de radicales libres. La actividad antioxidante de los fitoquímicos fenólicos se ha investigado ampliamente. Las antocianinas quienes están incluidas en este grupo son estables en soluciones ácidas. Se ha demostrado que el cianidin-3- O-B-D glucósido (C3G) el cual es una típica antocianina, tiene actividad antioxidante significativa y es absorbida y metabolizado usando ratas in vivo (Reddy et al., 2005), estos son un grupo de compuestos fenólicos naturales asociados a la coloración de las plantas, flores y frutos. Estos colorantes han sido investigados como antioxidantes con propiedades antiinflamatorias, antiangiogénica y anti carcinogénica. Las antocianinas de cherries redujeron los niveles de TNF α en suero y PGE2 en tejido de la pata de ratas artríticas. inducida por adyuvante en ratas (Decendit et al., 2013).

No obstante se ha demostrado que los radicales libres pueden ser mediadores inflamatorios claves en la artritis reumatoide. Es bien conocido que la IL-1B y TNF α son citoquinas proinflamatorias que pueden interactuar con otros factores inflamatorios tales como PG-E2, NO y ROS y tomar parte de la formación de la AR. Las especies reactivas de oxígeno son producidas en el sitio de la sinovitis por macrófagos y polimorfonucleares o por perfusión mecánica y puede contribuir al mantenimiento de la inflamación mediante la activación de moléculas inflamatorias

que conducen a la destrucción del cartílago articular en la AR. Las citoquinas tales como el TNF α , IL-1b, IL-6 han demostrado jugar un rol patológico en la AR (Mateen, Moin, Khan, Zafar, & Fatima, 2016).

Mientras que el ADN es un blanco particular para la oxidación, cuando el daño puede conducir a alteraciones importantes, las especies reactivas de oxígeno (ROS) producidas por neutrófilos activados durante la respuesta inflamatoria juegan un rol importante en la patogénesis de las enfermedades inflamatorias tales como hepatitis, gastritis, colitis y artritis reumatoide (AR). La naturaleza inflamatoria de la AR particularmente durante los periodos de exacerbación implica que un estado de estrés oxidativo que podría existir en esta enfermedad. Se ha propuesto que el daño del DNA inducido por las ROS pueden contribuir a incrementar el porcentaje de mutación, inestabilidad del genoma, apoptosis y regeneración tisular asociada y proliferación celular (Mateen et al., 2016).

La matriz del cartílago articular sufre cambios mecánicos, estructurales y moleculares con la edad tales como fibrilación de la superficie alteración en la estructura de proteoglicanos, incremento de la matriz de colágeno y disminución en la fuerza y la rigidez tensil. El deterioro en la función de los condrocitos se acompaña de cambios en la matriz extracelular. Los condrocitos senescentes pueden estar involucrados en la progresión de la degeneración del cartílago y el desarrollo de osteoartritis. El daño oxidativo no solo puede iniciar la apoptosis sino que también conduce a un crecimiento irreversible similar a la senescencia replicada. ROS erosiona directamente la guanina en el telómero del ADN del condrocito, conduciendo a la senescencia del condrocito y su posterior disfunción y el desarrollo de osteoartritis (Yudoh et al., 2005).

Otros hallazgos sugieren que la hipoxia puede ser requerida para la hemostasis y el mantenimiento del cartílago articular así también para el crecimiento y diferenciación de las células condrocíticas. Durante el desarrollo de la osteoartritis el stress químico y mecánico puede afectar la adaptación celular hasta la hipoxia conduciendo a daños oxidativos y cambios en el micro ambiente lo que genera alteración en la síntesis del condrocito. Los resultados demuestran el acortamiento en

el telómero del condrocito en presencia de peróxido de hidrógeno en concentraciones no citotóxicas (Yudoh et al., 2005).

El *Zea mays L* ha demostrado efectos antimutagénicos a dosis dependientes, y actividad antioxidante la fracción acuosa más que la fracción metil acetato (Pedreschi & Cisneros-Zevallos, 2006). Además los estudios de toxicidad subcrónica oral de maíz morado en ratas no evidencias cambios relacionados en cuanto al peso corporal consumo de alimentos, a nivel hematológico, oftalmológico e histopatológico a una dosis del 5% en la dieta para ambos sexos (Nabae et al., 2008).

2.4 DEFINICIÓN OPERACIONAL DE TÉRMINOS

2.4.1 OPERACIONALIZACIÓN DE VARIABLES

Variable Independiente: extracto liofilizado de *Zea mays L* (maíz morado)

Cuadro 1 Variable Independiente

Definición Conceptual	Definición operacional
<p>Extracto seco liofilizado maíz (Maíz morado)</p>	<p>Extracto liofilizado de <i>Zea mays L</i> en concentraciones de 1% y 10%, administración vía oral en un periodo de 21 días al animal de experimentación. Se emplean dos concentraciones a fin de determinar una curva dosis respuesta, que permitirá identificar la concentración que induzca una mayor regeneración celular.</p>

Fuente: Propia

Variable Dependiente: cartílago hialino**Cuadro 2** Variable Dependiente

VARIABLE	DEFINICION CONCEPTUAL	INDICADOR	CRITERIOS DE MEDICIÓN	
Cartílago Hialino	Tejido diferenciado elástico y resistente a la compresión y choques (Mansant Ch 2003)	ESTRUCTURA	a. Superficie	0) Regular
				1) Irregular
			b. Pannus	0) No hay
				1) Si hay
			c. Fisuras	3) Transitorias
				4) Radiales
		5) Calcificadas		
		CELULAS	d. Desorganización de celular	0) Ausentes
				1) Hiper celularidad
				2) Reproducción
				3) Hipocelularidad
		INTEGRIDAD	e. Morfología	0) Intacto
				1) Erosión del cartílago
				2) Polimorfonucleares
				3) Linfocitos
4) Linfocitos + Células Plasmáticas				
5) Neo vasos				

Fuente: Propia

Definición Operacional del efecto del ZEA MAYS

El *Zea mays L* tiene un efecto reductor de las alteraciones histológicas cuando no se producen cambios en la estructura, células e integridad del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar de la rata con artritis experimental. Lo anterior verificado mediante la lectura de láminas de cortes histológicos coloreado con hematoxilina – eosina. Las modificaciones histológicas reciben una puntuación en escala ordinal, de tal modo que un puntaje de 0 a 2: normal; de 3 a 5: artritis leve; de 6 a 9: artritis moderada; y de 10 a 14: artritis severa. (Shiozawa & Shiozawa, 1988)

Variables Intervinientes:

- a) Variación interindividual en las ratas Sprague-Dawley.
- b) Variación inter-ejecutor en la manipulación del experimento.
- c) Factores ambientales: ruido, iluminación, estrés

CAPÍTULO III:

METODOLOGÍA

3.1 TIPO DE ESTUDIO:

Estudio experimental pré-clínico de corte longitudinal (Nies & Spielberg, 2012).

3.2 ÁREA DE ESTUDIO:

Los ensayos fueron realizados en las instalaciones del Laboratorio de Investigación de Farmacología y la Unidad de Bioterio de la Facultad de Medicina de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos en el 2007.

3.3 MUESTRA

La muestra estuvo conformado por 80 ratas de raza Sprague Dawley albina de 10 semanas de edad con pesos de 140 +/- 50 g, obtenidas del Centro Nacional de Alimentación y Nutrición del Ministerio de Salud (CENAN) quienes fueron albergadas a temperatura ambiental en la Unidad de Bioterio durante todo el período del estudio. Recibieron agua ad libitum y fueron alimentadas con pellets balanceados preparados por la Universidad Agraria La Molina. Se emplearon ratas hembras debido a una mayor susceptibilidad del género femenino a la enfermedad (Farreras-Rozman, 2016).

3.4 MATERIALES Y EQUIPOS

3.4.1 MATERIAL BIOLÓGICO

- Ratas albinas adultas Sprague Dawley
- Fruto de *Zea mays L* variedad morada

3.4.2 MATERIAL FARMACOLÓGICO Y REACTIVOS

- Inductor de artritis: Pristane Sintético (Sigma Chemical)
- Vehículo: Agua destilada (p/v)
- Formaldehído 10 %
- Acido Acético Glacial
- Alcohol Etílico absoluto
- Compuestos antiinflamatorio de referencia (Indometacina tabletas 25 mg y Metotrexato tabletas 2.5mg)

3.4.3 EQUIPOS Y OTROS

- Molino de cuchillas
- Estufa Mermett
- Liofilizador
- Micrótopo
- Microscopio óptico
- Jeringas descartables
- Guantes descartables
- Sondas oro gástricas metálicas
- Material de vidrio
- Pinza cortante recta tipo Cizalla

3.5 MÉTODOS Y TÉCNICAS PROCEDIMENTALES

3.5.1 RECOLECCIÓN Y DESECACIÓN DEL MATERIAL BOTÁNICO

Las mazorcas de *Zea mays L* variedad morada fueron recolectadas en los campos de cultivo de la Provincia de la Oroya, Departamento de Junín aproximadamente a 4000 m.s.n.m. entre los meses de abril a mayo del año 2006.

La planta recolectada fue llevada a una estufa con aire circulante a una temperatura menor de 40 °C durante 72 horas para su secado respectivo.

Se separó los granos del carozo del maíz y se realizó la molienda del carozo en un molino eléctrico de cuchillas.

La planta seca y molida (solo carozo) fue almacenada en frascos de vidrio ámbar para su posterior preparación.

3.5.2 OBTENCIÓN DEL LIOFILIZADO DE *Zea mays L* (Fernández, 1995; Gorriti et al., 2009)

Se realizó la extracción de antocianinas a partir del carozo desecado del *Zea mays L* empleándose la técnica según Salinas y col (Laboratorio de Maíz. INIFAP-México) que consiste en la maceración del material molido con tres disolventes distintos: etanol: ácido acético: agua, en proporciones de 10:1:9. Estos disolventes son más efectivos para la extracción de antocianinas y son empleadas cuando las sustancias extraídas son usadas para consumo crónico en el animal.

Cada litro de solución, fue mezclado con 250 g de maíz morado seco y molido. Se almacenó para maceración en un espacio oscuro a temperatura ambiental por 7 días. Finalmente la solución fue filtrada en un embudo Buchner conectado a un kitasato y aspirado al vacío.

El extracto líquido de antocianinas fue colocado en la cámara de vacío y fue secado a temperatura ambiental. La evaporación se realizó a una presión menor de 750 mmHg por un periodo mínimo de 10 horas.

Se realizó un total de 10 sesiones de secado al vacío para obtener la muestra total. Debido a las características higroscópicas de las antocianinas; el material seco fue almacenado en un frasco ámbar en una cámara de desecado con silica gel. El extracto se mantuvo a temperatura ambiental evitando su exposición innecesaria a la luz solar para prevenir su degradación. De acuerdo a las referencias anteriores de dosis efectiva de *Zea mays L* para la reducción de presión arterial en ratas (Flores,

2003); se emplearan concentraciones de *Zea mays L* de 1% a dosis de 100 mg/kg y una solución de 10% a dosis de 1000 mg/kg,.

3.5.3 PREPARACIÓN DE LOS ANIMALES

Los animales fueron alojados en jaulas metálicas de crianza para su aclimatación por 1 semana previa al experimento, con libre acceso a agua y alimento. La temperatura ambiental oscilo entre 21-25°C y 50-60% de humedad con 12 horas luz/oscuridad.

3.5.4 MODELO DE ARTRITIS REUMATOIDE INDUCIDO POR PRISTANE

(Flores, Cervantes, & Munares, 2005; Winter & Nuss, 1966).

La artritis inducida por coadyuvante en ratas se utiliza comúnmente para evaluar los compuestos que pudieran ser de uso potencial para el tratamiento de la artritis reumatoide y de otras condiciones inflamatorias crónicas.

Este modelo de artritis reumatoide fue desarrollado por Vingsbo et al, 1966 el cual consiste en la inyección subdermica de Pristane Sintético (0.2 ml) en el tercio proximal de la cola de las ratas. Este produce una reacción inmune, cuya característica principal implica la destrucción inflamatoria del cartílago y del hueso de las falanges dístales, con edema concomitante de tejidos finos circundantes.

La enfermedad inducido por este agente es tejido específica y afecta sobre todo uniones periféricas cartilaginosas y diartrodiales, aunque pueden presentarse manifestaciones sistémicas típicas. El hueso y el cartílago son erosionados por el tejido inflamado.

En el día 1 del experimento, todos los animales fueron inyectados con Pristane 0.2 mL por vía subdérmica en el tercio proximal de la cola de las ratas. Se aplicó una leve presión en el sitio de inyección para prevenir la salida de la solución.

Inmediatamente después de la inducción; los animales fueron distribuidos aleatoriamente y tratados de la siguiente manera:

Cuadro 4: Distribución y tratamiento de animales

Grupos Experimentales	Número de animales	Inductor de Artritis - Pristane (única dosis)	Medicamento y Dosis	Días de Administración de los medicamentos
Grupo Control positivo	n= 10	1º día del experimento Pristane 0.2 mL vía subdérmica	Vehículo (1ml/100g).	por 21 días Vía Oral Administración diaria
Grupo Metotrexato	n= 10	1º día del experimento Pristane 0.2 mL vía subdérmica	Metotrexato 0,10 mg/Kg	por 21 días Vía Oral Administración diaria
Grupo Indometacina	n= 10	1º día del experimento Pristane 0.2 mL vía subdérmica	Indometacina 0.6 mg/kg	por 21 días Vía Oral Administración diaria
Grupo <i>Zea mays L</i> 1%	n= 10	1º día del experimento Pristane 0.2 mL vía subdérmica	Solución de <i>Zea mays L</i> 100mg/Kg	por 21 días Vía Oral Administración diaria
Grupo <i>Zea mays L</i> 10%	n= 10	1º día del experimento Pristane 0.2 mL vía subdérmica	Solución de <i>Zea mays L</i> 1000mg/Kg	por 21 días Vía Oral Administración diaria
Grupo <i>Zea mays L</i> 10% + Metotrexato	n= 10	1º día del experimento Pristane 0.2 mL vía subdérmica	Metotrexato 0.15mg/Kg y <i>Zea Mays L</i> 1000mg/Kg.	por 21 días Vía Oral Administración diaria
Grupo Control negativo	n= 5	Este grupo no recibió pristane	Vehículo (1ml/100g).	por 21 días Vía Oral Administración diaria

Fuente: propia

3.5.5 EVALUACIÓN HISTOLÓGICA

Al término del experimento las ratas fueron anestesiadas con pentobarbital y eutanizadas. Las patas traseras fueron amputadas, disecadas y fijadas en formalina al 10% para su evaluación histológica. Los tejidos fueron teñidos con hematoxilina eosina, para evaluación por un observador ciego a los grupos de tratamiento (Close et al., 1997; Ostergaard, Andersen, Petersen, Bendtzen, & Salter, 1999).

Sistema de Calificación Histológica – Histoquímica para cartílago articular osteo-artrítico

Empleamos la técnica de calificación osteoarticular validado por (Brenner et al., 2005) en el Laboratorio de Reumatología Experimental, Departamento de Reumatología Experimental de la Escuela de Medicina de la Universidad de Nueva York, que se describe a continuación

Cuadro 5: Sistema de Calificación Histológica – Histoquímica para cartílago articular osteo-artrítico

CATEGORIA	SUBCATEGORIA	PUNTUACION
Estructura	Normal	0
	Superficie irregular	1
	Pannus y superficie irregular	2
	Fisuras hasta la zona transitoria	3
	Fisuras hasta la zona radial	4
	Fisuras hasta la zona calcificada	5
	Desorganización Completa	6
Células	Normal	0
	Hipercelularidad difusa	1
	Reproducción	2
	Hipocelularidad	3
Estado de Integridad del Cartílago	Intacto	0
	Erosión del cartílago	1
	Polinucleares	2
	Linfocitos	3
	Linfocitos + Células Plasmáticas	4
	Neovasos	5
TOTAL		0 - 14

Fuente: Propia.

Los rangos esperados para la validación de la enfermedad fueron los siguientes:

Normal	0-2 puntos
Artritis leve	3-5 puntos
Artritis moderada	6-9 puntos
Artritis severa	10-14 puntos

3.5.6 EVALUACIÓN CLÍNICA

Se realizó una evaluación clínica de cada animal de acuerdo al estudio publicado por (Butler, Godefroy, Besson, & Weil, 1992). Las observaciones clínicas incluyeron:

Peso corporal del animal (2 veces por semana)

Puntaje de movilidad (3 veces por semana)

Puntaje de permanencia de pie (3 veces por semana)

Puntaje de enderezamiento de la articulación (3 veces por semana)

Como lo describe la siguiente Tabla:

Cuadro 6: Escala de Evaluación Clínica

Escala de Evaluación	Puntaje
Puntaje Numérico de movilidad	
La rata solamente se acuesta	0
La rata solo se arrastra	1
La rata camina con dificultad	2
La rata camina y corre con dificultad	3
La rata camina y corre normalmente	4
Puntaje numérico de permanencia de pie	
La rata solo se para en tres patas	0
La rata se para con la pata artrítica toca el piso y flexiona su pata	1
La rata se para inclinando algo de peso en el	2
La rata se para inclinando su peso en las cuatro patas	3
Puntaje numérico de enderezamiento de la articulación	
Restricción del rango completo de flexión	1
Restricción del rango completo de extensión (puntaje máximo 2 para cada pata)	2

3.6 CONSIDERACIONES ÉTICAS

El uso de animales de experimentación, así como el modelo empleado en este experimento cumple con las normas internacionales de manejo de animales menores. Además, la eutanasia de los animales permitió una rápida pérdida de conciencia sin dolor o miedo, seguido por un alivio progresivo hasta la muerte del animal.

Para efectos de este experimento se eligió el método de eutanasia inducido por pentobarbital sódico 60 mg/Kg vía intraperitoneal; considerado un método aceptable para roedores por el Report of the AVMA Panel on Eutanasia (1993) y el Euthanasia of Experimental Animals, de la Unión Europea (1995)(Close et al., 1997).

CAPÍTULO IV: RESULTADOS Y DISCUSIÓN

1.1. RESULTADOS

EVALUACIÓN HISTOLÓGICA DE LA ARTICULACION MALEOLAR

Evaluación histológica de la estructura del cartílago de la articulación

Al analizar la estructura del cartílago según el sistema de calificación histológica se verifica que la media del grupo control positivo es de 1.6 y la de los grupos *Zea mays L* 1%, es de 1; del grupos *Zea mays L* 10% es 0.5 y el grupo metotrexato con *Zea mays L* 10% es de 0.3. El cuadro 6 y Figura 1.

Cuadro 7: Valores medios del indicador de Estructura de la articulación según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*

Estructura			
Grupo	n	Media	Desviación típica
Control positivo	10	1.6	0.52
Metotrexato	10	0.7	0.48
Indometacina	10	0.7	0.48
<i>Zea mays</i> 1%	10	1	0.47
<i>Zea mays</i> 10%	10	0.5	0.53
Metotrexato + <i>Zea mays</i> 10%	10	0.3	0.48
Control negativo	5	0	0
Total	65	0.74	0.64

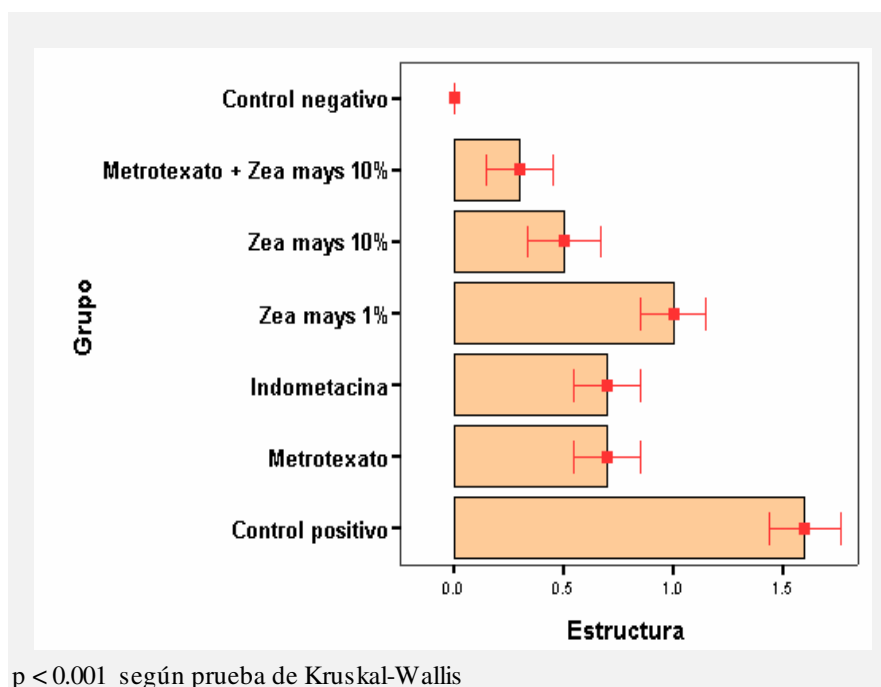
$p < 0.001$ según prueba de Kruskal-Wallis

$p = 0.043$ Prueba de U de Mann-Whitney entre grupo control positivo y grupo *Zea mays L* 1%

$p = 0.002$ Prueba de U de Mann-Whitney entre grupo control positivo y el grupo *Zea mays L* 10%

$p = 0.000$ Prueba de U de Mann-Whitney entre el grupo control positivo y el grupo metotrexato + *Zea mays L* 10%

Figura 1. Valores medios del indicador de Estructura de la articulación según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*



Evaluación histológica de las células del cartílago de la articulación

Respecto a las modificaciones celulares entre los diversos grupos de tratamiento se evidenció que la media del grupo control positivo es de 2 y la de los grupos *Zea mays L* 1%, es de 1.7; del grupos *Zea mays L* 10% es 1.4 y el grupo metrotexato con *Zea mays L* 10% es de 0.6. Cuadro 7 y Figura 2

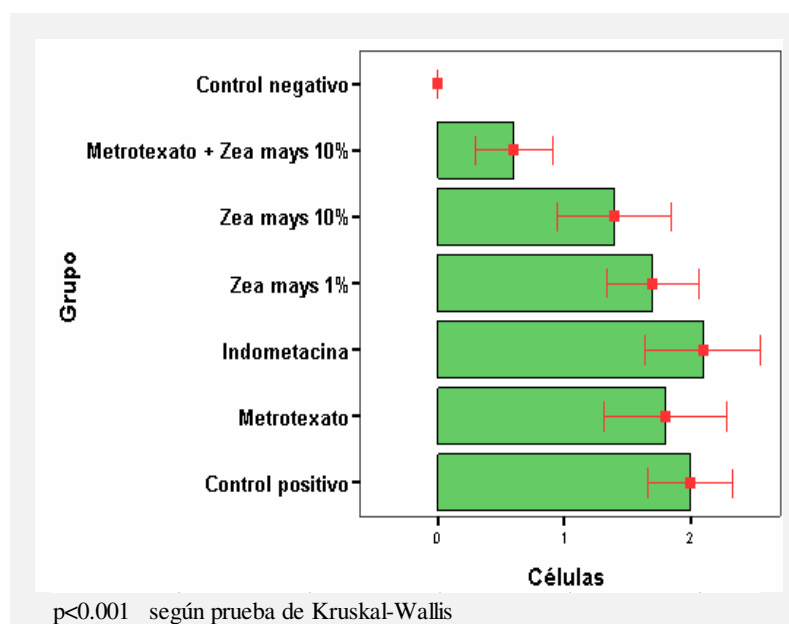
Cuadro 8: Valores medios del indicador Modificaciones Celulares de la articulación según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*

Células			
Grupos	n	Media	Desviación típica
Control positivo	10	2	1.05
Metotrexato	10	1.8	1.55
Indometacina	10	2.1	1.45
Zea mays 1%	10	1.7	1.16
Zea mays 10%	10	1.4	1.43
Metotrexato + Zea mays 10%	10	0.6	0.97
Control negativo	5	0	0
Total	65	1.48	1.35

$p < 0.001$ según prueba de Kruskal-Wallis

$p = 0.007$ según prueba de U de Mann-Whitney entre grupo control positivo y el grupo Metotrexato + Zea mays L 10%

Figura 2: Valores medios del indicador Modificaciones Celulares de la articulación según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*



Evaluación histológica de la integridad del cartílago de la articulación

El cuadro 8 y figura 3 muestran que la media del grupo control positivo es de 3.4 y la de los grupos *Zea mays L* 1%, es de 2.5; del grupos *Zea mays L* 10% es 1.4 y el grupo metotrexato con *Zea mays L* 10% es de 0.3 en relación a la integridad del cartílago.

Cuadro 9: Valores medios del indicador de Integridad del Cartílago de la articulación según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*

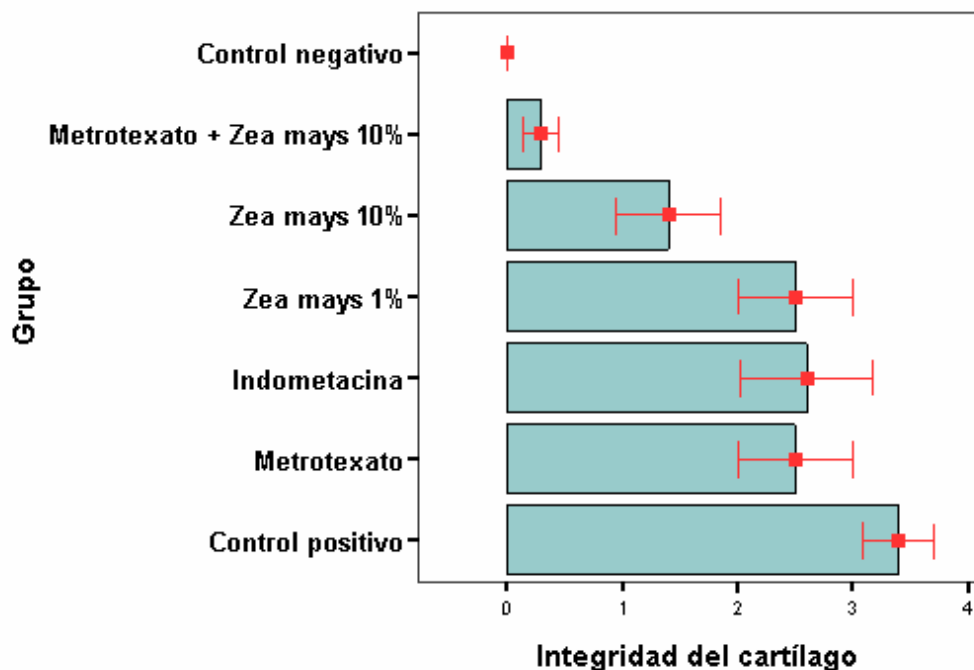
Integridad del Cartilago			
Grupos	n	Media	Desviación típica
Control positivo	10	3.4	0.97
Metotrexato	10	2.5	1.58
Indometacina	10	2.6	1.84
<i>Zea mays</i> 1%	10	2.5	1.58
<i>Zea mays</i> 10%	10	1.4	1.43
Metotrexato + <i>Zea mays</i> 10%	10	0.3	0.48
Control negativo	5	0	0
Total	65	1.95	1.7

$p < 0.001$ según prueba de Kruskal-Wallis

$p = 0.003$ según prueba de U de Mann-Whitney entre grupo control positivo y el grupo *Zea mays L* 10%

$p = 0.000$ según prueba de U de Mann-Whitney entre grupo control positivo y el grupo Metotrexato + *Zea mays L* 10%

Figura 3: Valores medios del indicador de Integridad del Cartílago de la articulación según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*



$p < 0.001$ según prueba de Kruskal-Wallis

Evaluación de la severidad de la enfermedad osteoarticular según el sistema de calificación histológica

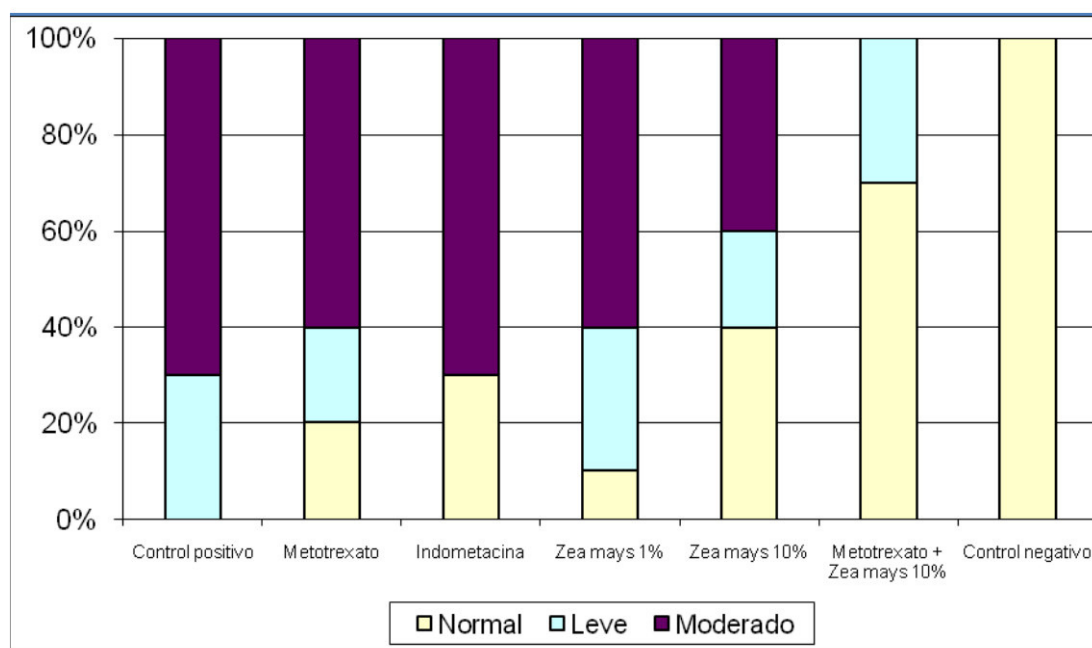
Al comparar el tipo de artritis desarrollada por los animales, se observó que ninguno animal de experimentación desarrolló artritis severa. En el grupo control positivo el 70% desarrolló artritis moderada, al igual que en los grupos Metotrexato (60%), Indometacina (70%) y *Zea mays L* 1% (60%). Con respecto al grupo *Zea mays L* 10%, solo 40% desarrolló artritis moderada, resaltándose que ese mismo porcentaje de animales no desarrolló la enfermedad. En el grupo que recibió la combinación de metotrexato con *Zea mays L* 10%, el 70% no desarrolló la enfermedad, y ninguno hizo artritis moderada (solo 3 animales desarrollaron artritis leve). El cuadro 9 y figura 4 muestran estos hallazgos.

Cuadro 10: Severidad de la artritis desarrollada por los animales según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*

GRUPOS	Artritis			Total
	Normal	Leve	Moderado	
Control positivo	0	3	7	10
Metotrexato	2	2	6	10
Indometacina	3	0	7	10
Zea mays 1%	1	3	6	10
Zea mays 10%	4	2	4	10
Metotrexato + Zea mays 10%	7	3	0	10
Control negativo	5	0	0	5
Total	22	13	30	65

Valor $p < 0.001$ para prueba exacta (extensión de la prueba exacta de Fisher para tablas mayores de 2x2).

Figura 4. Severidad de artritis desarrollada por los animales según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*



Valor $p < 0.001$ para prueba exacta (extensión de la prueba exacta de Fisher para tablas mayores de 2x2).

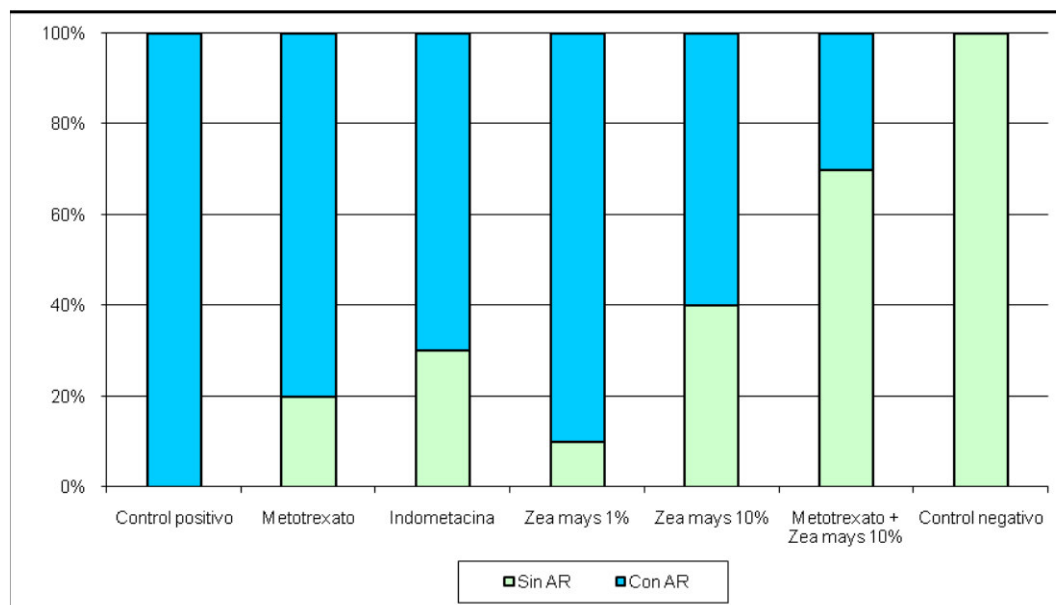
Posteriormente se re categorizó el efecto en función al desarrollo de la enfermedad en dos grupos, los animales que desarrollaron artritis y los que no la desarrollaron. Todos los animales del grupo control positivo desarrollaron la enfermedad. El número de animales que no desarrollaron la enfermedad en los grupos metotrexato fueron 2, con indometacina fueron 3 y con *Zea mays L* 1% fue 1. Mientras que solo el grupo metotrexato con *Zea mays L* 10% no desarrollaron 4 animales la enfermedad El cuadro 10 y figura 5 muestran estos hallazgos.

Cuadro 11: Desarrollo de artritis por los animales según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*

Grupos	Artritis		Total
	Sí desarrolló	No desarrolló	
· Control positivo	10	0	10
· Metotrexato	8	2	10
· Indometacina	7	3	10
· Zea mays 1%	9	1	10
· Zea mays 10%	6	4	10
· Metotrexato + Zea mays 10%	3	7	10
· Control negativo	0	5	5
Total	43	22	65

Valor $p < 0.001$ para prueba exacta (extensión de la prueba exacta de Fisher para tablas mayores de 2x2).

Figura 5. Tipo de artritis desarrollada por los animales según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*



Valor $p < 0.001$ para prueba exacta (extensión de la prueba exacta de Fisher para tablas mayores de 2x2).

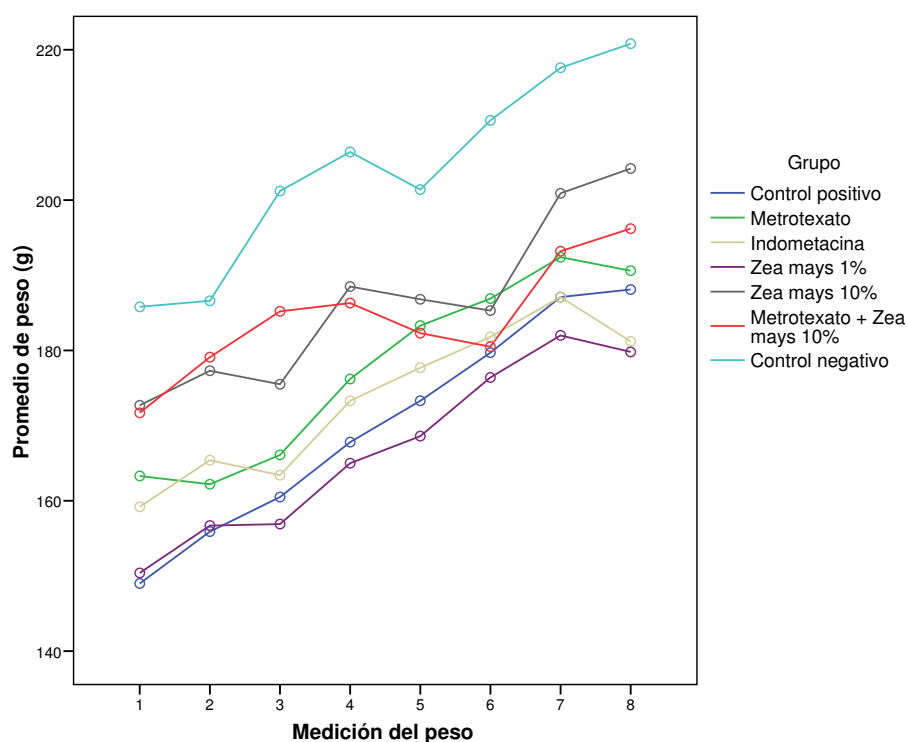
RESULTADO DE LA EVALUACION CLINICA DE LAS RATAS CON ARTRITIS INDUCIDA POR PRISTANE

Al final del experimento el grupo control negativo presento 220.8 g, mientras que el grupo *Zea mays L* 1%. Llegaron a pesar en promedio 179.8g, el grupo *Zea mays L* 10% 204.2 g y el grupo Metotrexato + *Zea mays L* 10%. Peso 196.2 g promedio (Cuadro 11 y Figura 6, Cuadro 12).

Cuadro 12: Evolución de los promedios de pesos en gramos según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*

Grupos	día1	día 5	día 8	día 12	día 15	día 17	día 19	día 21
Control positivo	149	155.9	160.5	167.8	173.3	179.7	187.1	188.1
Metotrexato	163.3	162.2	166.1	176.2	183.3	186.9	192.4	190.6
Indometacina	159.2	165.4	163.4	173.3	177.7	181.8	187.1	181.2
Zea mays 1%	150.4	156.7	156.9	165	168.6	176.4	182	179.8
Zea mays 10%	172.7	177.3	175.5	188.5	186.8	185.3	200.9	204.2
Metotrexato + Zea mays 10%	171.7	179.1	185.2	186.3	182.3	180.5	193.2	196.2
Control negativo	185.8	186.6	201.2	206.4	201.4	210.6	217.6	220.8

Figura 6. Evolución de los promedios pesos en gramos según grupo de tratamiento. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*



Cuadro 13: Resultado de las comparaciones múltiples de las medias de pesos entre grupos. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*

Grupo	Control positivo	Metotrexato	Indometacina	Zea mays 1%	Zea mays 10%	Metotrexato + Zea mays 10%	Control negativo
Control positivo	—	—	—	—	—	—	—
Metotrexato	0.748	—	—	—	—	—	—
Indometacina	0.992	0.984	—	—	—	—	—
Zea mays 1%	0.995	0.347	0.832	—	—	—	—
Zea mays 10%	0.03	0.58	0.158	0.005	—	—	—
Metotrexato + Zea mays 10%	0.086	0.83	0.344	0.016	1	—	—
Control negativo	0	0.001	0	0	0.083	0.035	—

LEYENDA: Los casilleros en amarillo representan que hay diferencias significativas

Cuando se analizan los aspectos clínicos del experimento, se evidencia que no se han producido variaciones ni dentro ni entre los grupos de experimentación, ya que todos los grupos presentan los mismos valores en el puntajes de movilidad (4), permanencia de pie (3) y enderezamiento de la articulación (2); (Cuadro 13).

Cuadro 14: Puntajes de las variables clínicas según grupo de estudio, para todos los grupos. Alteraciones histológicas del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en ratas artríticas tratadas con *Zea mays L*

GRUPOS	Movilidad	Permanencia de Pie	Enderezamiento de la articulación
Control Positivo	4	3	2
Metotrexato	4	3	2
Indometacina	4	3	2
Zea mays al 1%	4	3	2
Zea mays al 10%	4	3	2
Metotrexato + Zea mays al 10%	4	3	2
Control Negativo	4	3	2

No hay diferencias en las variables clínicas

1.2. DISCUSIÓN

Según los resultados obtenidos, a nivel de la estructura del cartílago los grupos *Zea mays L* 10% y Metotrexato + *Zea mays L* 10% presentaron cambios mínimos como irregularidad de la superficie del cartílago articular; a diferencia de tejido pannus que sí se observó en el grupo control positivo. De igual modo, cuando se evaluó el estado de integridad del cartílago se observó que el grupo tratado con *Zea mays L* al 10% presentó valoraciones que corresponde a la erosión del cartílago; mientras que las articulaciones del grupo tratado con metotrexato + *Zea mays L* 10% revelan a un cartílago intacto. Al mismo tiempo este grupo presentó un estado de hiper celularidad difusa del cartílago, que implica un menor daño articular. Al evaluar la severidad de la enfermedad solo el grupo tratado con metotrexato + *Zea mays L* al 10% estos inhibe significativamente las alteraciones histopatológicas a nivel articular provocadas por el pristane, lo que implica un alto grado de protección. En nuestras condiciones experimentales todos los animales del grupo control positivo desarrollaron artritis: 7 de 10 desarrollaron artritis moderada y 3 de 10 artritis leve resaltando que en este grupo no hubo ratas sin la enfermedad, a comparación de los demás grupo

En el presente experimento se empleó el modelo de artritis inducido por pristane, el cual incluye características clínica, bioquímicas e histopatológicas similares a la artritis en humanos, como edema acompañado por una respuesta de fase aguda, infiltraciones articulares de mononucleares y polimorfonucleares, formación de pannus, erosión del cartílago y hueso, y deformación articular, la artritis inducida por pristane es una enfermedad dependientes de células T específicamente CD4 (Olofsson & Holmdahl, 2007), además en la articulación inflamada la sinovia es altamente infiltrada por células B y macrófagos; citoquinas y quimoquinas (Asif Amin, Fox, & Ruth, 2017)(Bellucci et al., 2016); el TNF alfa y IL 1 son citoquinas que juegan un rol importante en la fisiopatogenia de la artritis, está citoquinas están presentes en el tejido sinovial y fluidos del paciente con artritis reumatoide, además varios estudios in vitro han mostrado que la IL 1 estimula la producción de mediadores tales como PG E₂, NO, citoquinas, quimoquinas y

moléculas de adhesión que están involucradas en la inflamación articular y producción de metaloproteinasas de la matriz y otras enzimas involucradas en la destrucción del cartílago en la artritis y osteoartritis (Kar et al., 2016)

Otro mecanismo conocido en el daño articular es la formación de los radicales libres de oxígeno (ROS) y otras especies derivadas de ellas, así como una insuficiencia en el sistema de defensa antioxidante, lo que provoca un desbalance pro-oxidante/antioxidante (Ahmadinejad, Geir Møller, Hashemzadeh-Chaleshtori, Bidkhorji, & Jami, 2017). El daño oxidativo no solo puede iniciar la apoptosis sino que también conduce a un crecimiento irreversible similar a la senescencia replicada. Los ROS erosionan directamente la guanina en el telómero del ADN del condrocito, conduciendo a la senescencia del condrocito y su posterior disfunción y el desarrollo de la enfermedad (Yudoh et al., 2005) (Mateen et al., 2016).

Las especies reactivas de oxígeno son producidas en el sitio de la sinovitis por macrófagos y polimorfonucleares o por reperfusión mecánica que contribuyen al mantenimiento de la inflamación mediante la activación de moléculas inflamatorias que conducen a la destrucción del cartílago articular en la artritis (Mateen et al., 2016). Es bien conocido que la IL-1B y TNF α son citoquinas proinflamatorias que pueden interactuar con otros factores inflamatorios tales como PG-E₂, NO y ROS y tomar parte de la etiopatogenia de la AR (Bashir, Manoharan, & Miltonprabu, 2016), razón por la cual agentes que modulen las citoquinas o anticitoquinas son actualmente empleadas como tratamientos de primera línea contra la enfermedad, y la búsqueda de nuevos fármacos orientados hacia este mecanismo continúa en la actualidad (Ahmadinejad et al., 2017).

Las antocianinas son compuestos fenólicos que en múltiples investigaciones han demostrado reducir los niveles de citoquinas y los ROS. Los suplementos de antocianinas tienen un rol protector en la prevención o tratamiento de las enfermedades inflamatorias crónicas, al inhibir la trans activación de NF Kappa B y concentraciones plasmáticas de quimoquinas, citoquinas proinflamatorias e inflamatorias (Karlsen et al., 2007), Guo y col demostraron que las antocianinas especialmente la cianidin 3 glucósido, tiene un efecto protector en adipocitos

expuestos a peróxido de hidrogeno o TNF alfa. El pretratamiento con la cianidin 3 glucósido (arroz negro) reduce la producción intracelular de ROS, atenúa la producción de peróxido de hidrogeno o TNF alfa (Guo et al., 2007)(Xua, Ikeda, & Yamori, 2007). El extracto liofiliza de vino obtenido de una especie de uvas (Jacquez) presenta un efecto protector en la alteración del cartílago articular, que parece ser mayor que lo observado con indometacina, al reducir la IL 1 y PG E₂ en condrocitos humanos en vitro (Panico et al., 2006).

También se han encontrado niveles totales de glutatión significativamente más bajos en pacientes con artritis comparados con hombres saludables (Ahmadinejad et al., 2017). El glutatión es la molécula sulfidrílica no proteica más importante presente en la células que constituyen al sistema de defensa antioxidante endógeno. Además se halló concentraciones séricas elevadas de MDA (malondialdehido) en estos pacientes, confirmando el rol de los ROS en la patogénesis de la artropatía inflamatoria, lo que sustenta la necesidad de estudios que ensayen el rol terapéutico de los moduladores de los ROS en la artritis reumatoide (Ahmadinejad et al., 2017). Un estudio sobre las antocianinas de la uva (Malvidin-3-O-β glucósido) demostró el efecto antiinflamatorio y antioxidante en artritis al inhibir los mediadores inflamatorios derivados de macrófagos humanos y disminuye las puntuaciones clínicas en ratas artríticas (Decendit et al., 2013)

Según los resultados obtenidos en el presente estudio los grupos que fueron tratados con *Zea mays L* al 10% y Metotrexato + *Zea mays L* 10% presentaron los más altas porcentajes de animales que no manifestaron alteraciones histopatológicas de la enfermedad (40% y 70%) Estos hallazgos son congruentes con los resultados observados por Flores quien demostró que el *Zea mays L* (maíz morado) 10% reduce el proceso inflamatorio de la artritis inducida por pristane en ratas con una eficacia de 61.2%, y la progresión del daño osteoarticular en un 58%, según evaluación radiológica, además que el *Zea mays L* presenta efectos antiinflamatorios articulares dosis dependiente(Flores, 2008). El alto contenido de antocianidinas y antocianinas presentes en el *Zea mays L* han demostrado ser antioxidantes naturales con actividad farmacológica, biológica y terapéutica contra los ROS y el estrés oxidativo y además presenta un rol protector en enfermedades inducidas por ROS como daño cardiaco e

isquemia, tumor carcinogénico y artritis reumatoide (Bashir et al., 2016). El maíz morado exhibe una alta actividad antioxidante ligada a la captura de radicales libres (77% y tiene el más alto contenido fenólico total 8 ± 1 mg equivalente de ácido gálico/ g de muestra) y actividad inhibidora de la alfa glicosidasa (51% en 5 mg de muestra) comparado a otros granos andinos peruanos (Ranilla, Apostolidis, Genovese, Lajolo, & Shetty, 2009).

La evaluación histopatológica del hígado de ratas tratadas con antocianina demuestra que se reducen la incidencia de lesiones hepáticas incluyendo inflamación, infiltración de leucocitos y necrosis inducido por butil hidroxiperóxido confirmando el efecto modulador de ROS de las antocianinas (Kong et al., 2003). Una de las antocianinas más conocidas presentes en el *Zea mays L* es el cianidin-3- O-Beta-D glucósido (C3G) con actividad antioxidante significativa y capaz de ser absorbida y metabolizado en ratas in vivo (Tsuda et al., 2000). Los antioxidantes exógenos y endógenos se presume que protegen a las células de las especies reactivas, estudios in vivo han demostrado que la alimentación con el cianidin-3- O-Beta-D glucósido (C3G) incrementa la resistencia a la oxidación del suero a la peroxidación lipídica sugiriendo que el cianidin-3- O-Beta-D glucósido presenta una potente actividad antioxidante, aun si las ratas están expuestas a estrés oxidativo agudo (Tsuda et al., 1999).

La combinación de Metotrexato + *Zea mays L* ofrece una mayor protección al daño osteoarticular debido a que mientras el metotrexato inhibe la proliferación de células inflamatorias, el *Zea mays L* actuaría a nivel antioxidante, inhibiendo el daño oxidativo celular. Este sinergismo potenciaría el efecto benéfico que se observa en este grupo. Otras evidencia del efecto sinérgico del metotrexato como sustancia antioxidantes fueron demostradas por Tawfik y col quien observó un efecto sinérgico entre la Coenzima Q-10 y metotrexato en ratas con artritis inducida por adyuvante de freunds (Tawfik, 2015)

En la evaluación del peso corporal; solo los animales tratados con *Zea mays L* al 10% incrementaron su peso en la misma magnitud que lo hizo el grupo control negativo. De acuerdo a Yu et al., 2006. Los animales que presentan artritis experimental incrementan su peso en menor proporción a los animales que no

realizan la enfermedad, lo cual confirma el rol protector del *Zea mays L* al 10% frente a la enfermedad. La naturaleza inflamatoria de la artritis particularmente durante los periodos de exacerbación implica que un estado de estrés oxidativo que contribuye a incrementar el porcentaje de mutación, inestabilidad del genoma, apoptosis y regeneración tisular asociada y proliferación celular (Mateen et al., 2016), lo que podría impedir la ganancia de peso de las ratas por alteración de su ADN.

Desde el punto de vista clínico en esta investigación no se encontró diferencia entre los grupos en relación a movilidad, permanencia de pie y enderezamiento de la articulación. Para entender mejor estos resultados, entendemos que la artritis reumatoide es un desorden autoinmune progresivo crónico donde los cambios a nivel de la sinovia requieren tiempo para desarrollar (Sarban, Kocyigit, Yazar, & Isikan, 2005; Tantavisut et al., 2017). Así mismo los síntomas predominantes de la artritis reumatoide como dolor, rigidez, y edema de articulaciones periféricas son más evidentes a través del tiempo en una artritis severa (Bellucci et al., 2016); En nuestro experimento las ratas fueron eutanizadas a las 3 semanas evitándose la progresión de la enfermedad hasta la máxima expresión de las manifestaciones clínicas ya que según lo confirman los hallazgos histopatológicos ninguna rata desarrollo artritis severa.

CONCLUSIONES

- El extracto de *Zea mays L* a dosis de 1000 mg/kg reduce las modificaciones histológicas en el cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar en términos de la estructura, células y estado de integridad del cartílago, en ratas artríticas inducidas por pristane.
- El extracto de *Zea mays L* a dosis de 1000 mg/kg genera una mayor protección del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar, en ratas artríticas frente a indometacina.
- El extracto de *Zea mays L* a dosis de 1000 mg/kg genera una mayor protección del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar, en ratas artríticas frente a metotrexato.
- La asociación extracto de *Zea mays L* a dosis de 1000 mg/kg y metotrexato tiene un efecto sinérgico en la protección del cartílago hialino a nivel de la articulación maleolar, en ratas artríticas frente indometacina y metotrexato.

RECOMENDACIONES

- Realizar el mismo experimento hasta que los animales alcancen los niveles severos de la enfermedad.
- Realizar el mismo experimento a mayores concentraciones de *Zea mays L*
- Realizar el mismo experimento en animales que no sean roedores.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

- Abbas, A., Kumar, V., & Aster, J. (2015). *Robbins & Cotran Patología Estructural y Funcional*. (Elsevier, Ed.) (9na ed).
- Ahmadinejad, F., Geir Møller, S., Hashemzadeh-Chaleshtori, M., Bidkhor, G., & Jami, M.-S. (2017). Molecular Mechanisms behind Free Radical Scavengers Function against Oxidative Stress. *Antioxidants*, 6(3), 51.
- Altindag, O., Karakoc, M., Kocyigit, A., Celik, H., & Soran, N. (2007). Increased DNA damage and oxidative stress in patients with rheumatoid arthritis. *Clin Biochem*, 40(3–4), 167–171.
- Arulselvan, P., Fard, M. T., Tan, W. S., Gothai, S., Fakurazi, S., Norhaizan, M. E., & Kumar, S. S. (2016). Role of Antioxidants and Natural Products in Inflammation. *Oxidative Medicine and Cellular Longevity*, 2016, 1–15.
- Asif Amin, M., Fox, D. A., & Ruth, J. H. (2017). Synovial cellular and molecular markers in rheumatoid arthritis. *Seminars in Immunopathology*, 39(4), 385–393.
- Bashir, N., Manoharan, V., & Miltonprabu, S. (2016). Grape seed proanthocyanidins protects against cadmium induced oxidative pancreatitis in rats by attenuating oxidative stress, inflammation and apoptosis via Nrf-2/HO-1 signaling. *The Journal of Nutritional Biochemistry*, 32, 128–141.
- Bellucci, E., Terenzi, R., La Paglia, G. M. C., Gentileschi, S., Tripoli, A., Tani, C., & Alunno, A. (2016). One year in review 2016: pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 34(5), 793–801.
- Bonavia, D. (1991). Historia del Maíz. *Acta Herediana*, 12, 6–16.
- Brenner, M., Meng, H., Yarlett, N. C., Joe, B., Griffiths, M. M., Remmers, E. F., ... Gulko, S. (2005). The non-MHC quantitative trait locus Cia5 contains three major arthritis genes that differentially regulate disease severity, pannus formation, and joint damage in collagen- and pristane-induced arthritis. *J Immunol*, 174(12), 7894–903.
- Butler, S., Godefroy, F., Besson, J., & Weil, J. (1992). A limited arthritic model for chronic pain studies in the rat. *Pain*, 48, 73–81.

- Close, B., Banister, K., Baumans, V., Bernoth, E., Bromage, N., Bunyan, J., & Erhardt, W. (1997). Recomendaciones para la eutanasia de los animales de experimentación. *Lab Animal*, 31, 1–32.
- Decendit, A., Mamani-Matsuda, M., Aumont, V., Waffo-Teguo, P., Moynet, D., Boniface, K., ... Mossalayi, M. D. (2013). Malvidin-3-O- β glucoside, major grape anthocyanin, inhibits human macrophage-derived inflammatory mediators and decreases clinical scores in arthritic rats. *Biochemical Pharmacology*, 86(10), 1461–1467.
- Delgado, G. (2013). Cartílago articular: Evaluación por resonancia magnética. *Revista Chilena de Radiología. Año, 19(3)*, 134–139. Retrieved from
- Derteano, C. (1980). El maíz en el Perú. *Sociedad Nacional Agraria. Lima*.
- Drugs for rheumatoid arthritis. (2012). *Treatment Guidelines from the Medical Letter*, 10(117), 37–44; quiz 2 p following 44. Retrieved from
- Edwards, M., Czank, C., Woodward, G. M., Cassidy, A., & Kay, C. D. (2015). Phenolic Metabolites of Anthocyanins Modulate Mechanisms of Endothelial Function. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 63(9), 2423–2431.
- Eghbaliferiz, S., & Iranshahi, M. (2016). Prooxidant Activity of Polyphenols, Flavonoids, Anthocyanins and Carotenoids: Updated Review of Mechanisms and Catalyzing Metals. *Phytotherapy Research*, 30(9), 1379–1391.
- Farreras-Rozman. (2016). *Principios de Medicina Interna*. (Elsevier, Ed.) (18^{ava} edi).
- Fernández, N. (1995). *Estudio de la Extracción y Purificación de Antocianinas de Maíz Morado (Zea Mays)*. Universidad Nacional Agraria La Molina.
- Flores, D. (2003). *Efecto del extracto acuoso de zea mays l. variedad morada sobre la presión arterial en ratas*. Universidad Nacional Mayor de San Marcos, Lima - Peru.
- Flores, D. (2008). *Zea mays L. Variedad morada y su efecto protector de daño osteoarticular en artritis inducida en ratas*". Universidad Nacional Mayor de San Marcos.
- Flores, D., Cervantes, J., & Munares, O. (2005). *Modelos Animales de Enfermedad. Ensayos Farmacologicos In vivo*. Lima -Peru.
- Gorriti, A., Quispe, F., Arroyo A, J. L., Córdova, A., Jurado, B., Santiago, I., &

- Taype, E. (2009). EXTRACCIÓN DE ANTOCIANINAS DE LAS CORONTAS DE *Zea mays* L. " MAÍZ MORADO "; Extraction of anthocyanins from purple corn cobs of *Zea mays* L. *Ciencia E Investigación*, 12(2), 64–74. Retrieved from
- Guillen, J., Mori, S., & Paucar, L. M. (2014). Características y propiedades funcionales del maíz morado (*Zea mays* L.) var. subnigroviolaceo. *Scientia Agropecuaria*, 5(4), 211–217.
- Guo, H., Ling, W., Wang, Q., Liu, C., Hu, Y., & Xia, M. (2007). Cyanidin 3-glucoside protects 3T3-L1 adipocytes against H₂O₂- or TNF- α -induced insulin resistance by inhibiting c-Jun NH₂-terminal kinase activation. *Biochem Pharmacol.*, 75(6), 1393–1401.
- Hagiwara, A., Miyashita, K., Nakanishi, T., Sano, M., Tamano, S., Kadota, T., Shirai, T. (2001). Pronounced inhibition by a natural anthocyanin, purple corn color, of 2-amino-1-methyl-6-phenylimidazo[4,5-b]pyridine (PhIP)-associated colorectal carcinogenesis in male F344 rats pretreated with 1,2-dimethylhydrazine. *Cancer Lett*, 171(1), 17–25.
- Hamuryudan, V., Direskeneli, H., Ertenli, I., Inanc, M., Karaaslan, Y., Oksel, F., ... Akkoc, N. (2016). Direct and indirect healthcare costs of rheumatoid arthritis patients in Turkey. *Clinical and Experimental Rheumatology*, 34(6), 1033–1037.
- Kar, S., Smith, D. W., Gardiner, B. S., Li, Y., Wang, Y., & Grodzinsky, A. J. (2016). Modeling IL-1 induced degradation of articular cartilage. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 594, 37–53.
- Karlsen, A., Retterstøl, L., Laake, P., Paur, I., Kjølrsrud-Bøhn, S., Sandvik, L., & Blomhoff, R. (2007). Anthocyanins inhibit nuclear factor-kappaB activation in monocytes and reduce plasma concentrations of pro-inflammatory mediators in healthy adults. *J Nutr*, 137(8), 1951–1954.
- Kong, J., Chia, L., Goh, N., & Chia, T. (2003). Analysis and biological activities of anthocyanins. *Phytochemistry*, 64, 923–933.
- Lee, J. Y., Lee, S. U., Lim, T., & Choi, S. H. (2014). Healing effects and superoxide dismutase activity of diode/Ga-As lasers in a rabbit model of osteoarthritis. *In Vivo (Athens, Greece)*, 28(6), 1101–6.

- Li, Y., Frenz, C. M., Li, Z., Chen, M., Wang, Y., Li, F., ... Wang, C. (2013). Virtual and *In Vitro* Bioassay Screening of Phytochemical Inhibitors from Flavonoids and Isoflavones Against Xanthine Oxidase and Cyclooxygenase-2 for Gout Treatment. *Chemical Biology & Drug Design*, 81(4), 537–544.
- Lipsky, P. (2016). Rheumatoid Arthritis. In M.-H. Interamericana (Ed.), *Harrison's Principles Of Internal Medicine*. (19th ed).
- Lock, O. (1997). *Colorantes Naturales*. (F. E. P. U. C. del Perú, Ed.) (1era edici). Lima - Peru.
- Masant, C. (2003). La Leerte de L'observatoire du mouvement. El Cartílago. Un tejido conjuntivo muy diferenciado, 1.
- Mateen, S., Moin, S., Khan, A. Q., Zafar, A., & Fatima, N. (2016). Increased Reactive Oxygen Species Formation and Oxidative Stress in Rheumatoid Arthritis. *PLOS ONE*, 11(4), e0152925.
- Nabae, K., Hayashi, S., Kawabe, M., Ichihara, T., Hagiwara, A., Tamano, S., ... Ogawa, K. (2008). Shirai T A 90-day oral toxicity study of purple corn color, a natural food colorant, in F344 rats. *Food Chem Toxicol*, 46(2), 774–780.
- Nies, A., & Spielberg, S. (2012). *Principios de Terapeutica*. In: *Goodman y Gilman. Bases Farmacológicas de la Terapéutica*. (M. Hill, Ed.) (12ava ed). México.
- Oliveira, M. A., Velázquez, D., & Bermúdez, A. (2005). La investigación etnobotánica sobre plantas medicinales: una revisión de sus objetivos y enfoques actuales. *Revista de Ciencia Y Tecnología de América*, ISSN 0378-1844, Vol. 30, N°. 8, 2005, Págs. 453-459, 30(8), 453–459.
- Olofsson, P., & Holmdahl, R. (2007). Pristane-induced arthritis in the rat. *Methods Mol Med*, 136, 255–268.
- Ostergaard, K., Andersen, C., Petersen, J., Bendtzen, K., & Salter, D. (1999). Validity of Histopathological grading of articular cartilage from osteoarthritic knee joints. *Ann Rheum Dis*, 58, 208–213.
- Panico, A. M., Cardile, V., Avondo, S., Garufia, F., Gentilea, B., Pugliaa, C., Ronsisvalle, G. (2006). The in vitro effect of a lyophilized extract of wine obtained from Jacques, grapes on human chondrocytes. *Phytomedicine*, 13, 522–526.
- Pedreschi, R., & Cisneros-Zevallos, L. (2006). Antimutagenic and antioxidant

- properties of phenolic fractions from Andean purple corn (*Zea mays* L.). *J Agric Food Chem.*, 54(13), 4557–4567. <http://doi.org/10.1021/jf0531050>
- Poole, C. (1997). Articular cartilage chondrons: form, function and failure. *J Anat.*, 191, 1–13.
- Ranilla, L., Apostolidis, E., Genovese, M., Lajolo, F., & Shetty, K. (2009). Evaluation of indigenous grains from the Peruvian Andean region for antidiabetes and antihypertension potential using in vitro methods. *J Med Food*, 12(4), 704–713.
- Reddy, M., Alexander-Lindo, R., & Nair, M. (2005). Relative inhibition of lipid peroxidation, cyclooxygenase enzymes, and human tumor cell proliferation by natural food colors. *J Agric Food Chem*, 53(23), 9268–9273.
- RocheFord, T., Wong, J., Egese, I C., & Lambert, R. (2002). Enhancement of vitamin E levels in corn. *J Am Coll Nutr*, 21(Sup 3), 191–198.
- Salgado, J., & Menguan, E. (2000). *Determinación de compuestos fenólicos en estilos, estigmas, estambres y bracteas en la especie vegetal Zea mays L variedad morada*. Universidad Nacional Mayor de san Marcos.
- Sandell, L., & Aigner, T. (2001). Articular cartilage and changes in arthritis An introduction: Cell biology of osteoarthritis. *Arthritis Res*, 3, 107–113.
- Sarban, S., Kocyigit, A., Yazar, M., & Isikan, U. (2005). Plasma total antioxidant capacity, lipid peroxidation, and erythrocyte antioxidant enzyme activities in patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis. *Clinical Biochemistry*, 38, 981–986.
- Shiozawa, S., & Shiozawa, K. (1988). A review of the histopathological evidence on the pathogenesis of cartilage destruction in rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol*, 74, 65–72.
- Tantavisut, S., Tanavalee, A., Honsawek, S., Suantawee, T., Ngarmukos, S., Adisakwatana, S., & Callaghan, J. J. (2017). Effect of vitamin E on oxidative stress level in blood, synovial fluid, and synovial tissue in severe knee osteoarthritis: a randomized controlled study. *BMC Musculoskeletal Disorders*, 18(1), 281.
- Tawfik, M. K. (2015). Combination of coenzyme Q10 with methotrexate suppresses Freund's complete adjuvant-induced synovial inflammation with reduced

- hepatotoxicity in rats: Effect on oxidative stress and inflammation. *International Immunopharmacology*, 24(1), 80–87.
- Tielemans, M. M., Eikendal, T., Jansen, J. B. M. J., & van Oijen, M. G. H. (2010). Identification of NSAID Users at Risk for Gastrointestinal Complications. *Drug Safety*, 33(6), 443–453.
- Trujillo, E. (1998). *Transportadores de sodio del condrocito humano y sus modificaciones en el cartílago enfermo*. Universidad de La Laguna - Canarias.
- Tsuda, T., Horio, F., Kitoh, J., & Osawa, T. (1999). Protective effects of dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside on liver ischemia-reperfusion injury in rats. *Arch Biochem Biophys*, 368(2), 361–366.
- Tsuda, T., Horio, F., & Osawa, T. (1998). Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside increases ex vivo oxidation resistance of serum in rats. *Lipids*, 33, 583–588.
- Tsuda, T., Horio, F., Uchida, K., Aoki, H., & Osawa, T. (2003). Dietary cyanidin 3-O-beta-D-glucoside-rich purple corn color prevents obesity and ameliorates hyperglycemia in mice. *J Nutr*, 133(7), 2125–2130.
- Tsuda, T., Kato, Y., & Osawa, T. (2000). Mechanism for the peroxynitrite scavenging activity by anthocyanins. *FEBS Letters*, 484(3), 207–210.
- Tsuda, T., Shiga, K., Ohshima, K., Kawakishi, S., & Osawa, T. (1996). Inhibition of lipid peroxidation and the active oxygen radical scavenging effect of anthocyanin pigments isolated from *Phaseolus vulgaris* L. *Biochem Pharmacol*, 52, 1033–1039.
- Tsuda, T., Watanabe, M., Ohshima, K., Norinobu, S., Choi, S. ., Kawakishi, S., & Osawa, T. (1994). Antioxidative Activity of the Anthocyanin Pigments Cyanidin 3-O-.beta.-D-Glucoside and Cyanidin. *J Agric Food Chem*, 42, 2407–2410.
- Winter, C., & Nuss, G. (1966). Treatment of adjuvant arthritis in rats with anti-inflammatory drugs. *Arthritis Rheum*, 9, 394.
- Xua, J., Ikeda, K., & Yamori, Y. (2007). Inhibitory effect of polyphenol cyanidin on TNF- α -induced apoptosis, through multiple signaling pathways in endothelial cells. *Atherosclerosis*, 193(2), 299–308.
- Yudoh, K., Nguyen, T., Nakamura, H., Hongo-Masuko, K., Kato, T., & Nishioka, K. (2005). Potential involvement of oxidative stress in cartilage senescence and

development of osteoarthritis: oxidative stress induces chondrocyte telomere instability and downregulation of chondrocyte function. *Arthritis Res Ther*, 7(2), 380–391.

Zarate E, M. S. (1991). Uso de plantas medicinales en los Sectores urbano marginales de Lima. *Medicamentos Y Salud Popular*, 5(17), 8–15.

ANEXOS

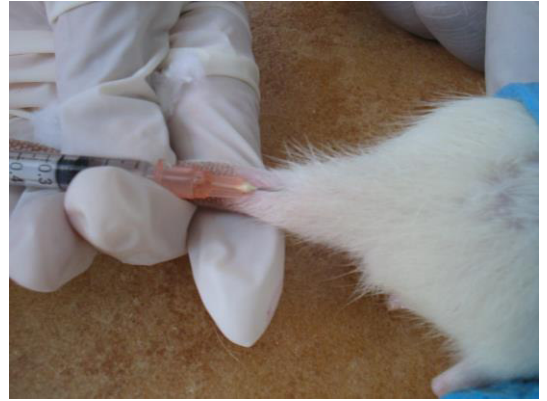
A) PROCEDIMIENTO EXPERIMENTAL



Mantenimiento de los animales



Preparación de los Extractos



Pesado y Administración de medicamentos a los animales



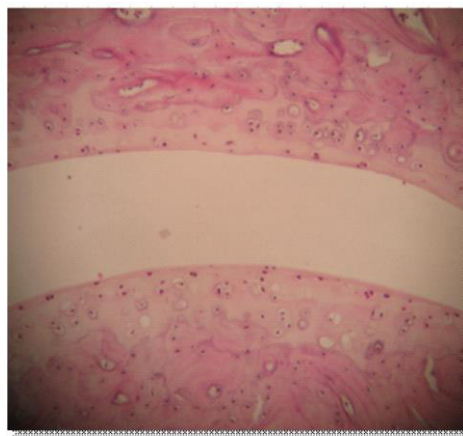
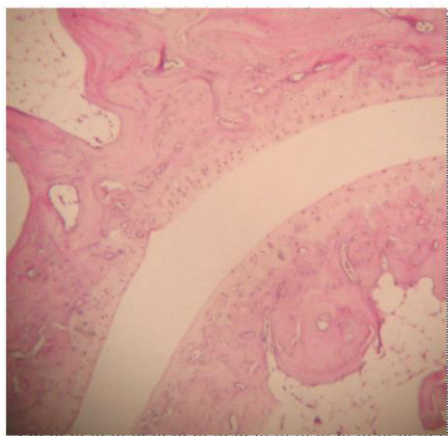
Evaluación Clínica de los animales



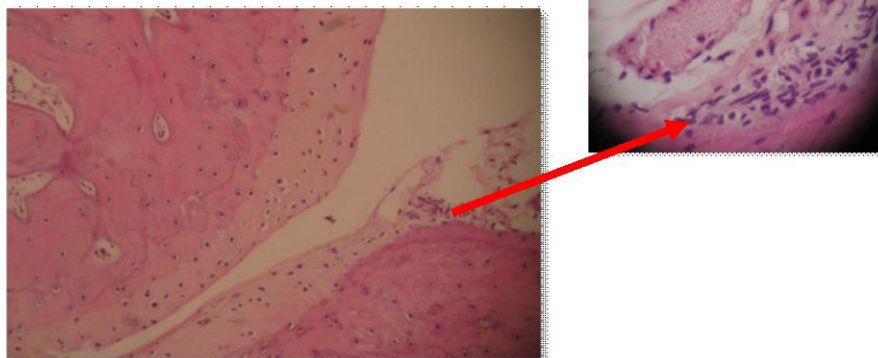
Corte de las patas para tomar las muestras histológicas

B) CORTES HISTOLÓGICOS DE LAS ALTERACIONES A NIVEL DEL CARTÍLAGO

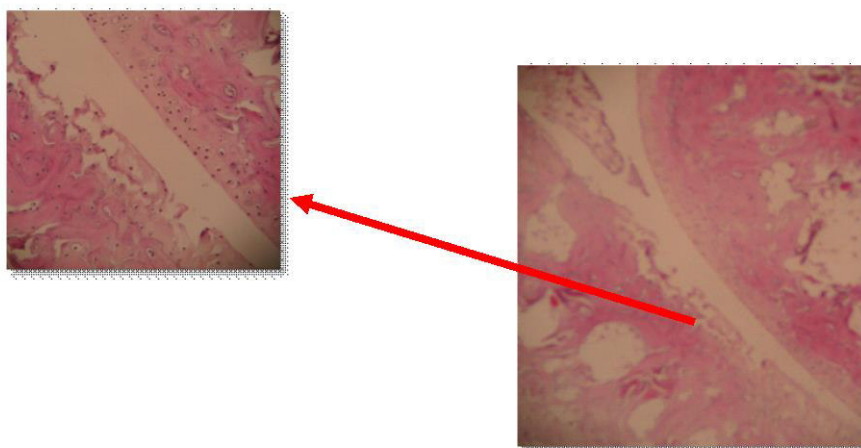
Fotografía 1.- Cortes Histológicos de ratas sin Artritis



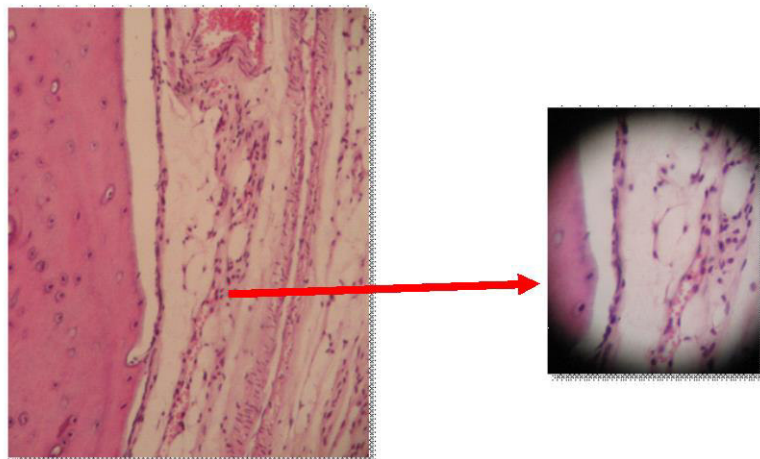
Fotografía 2.- Corte histológico con formación de pannus en ratas con Artritis inducida por Pristane



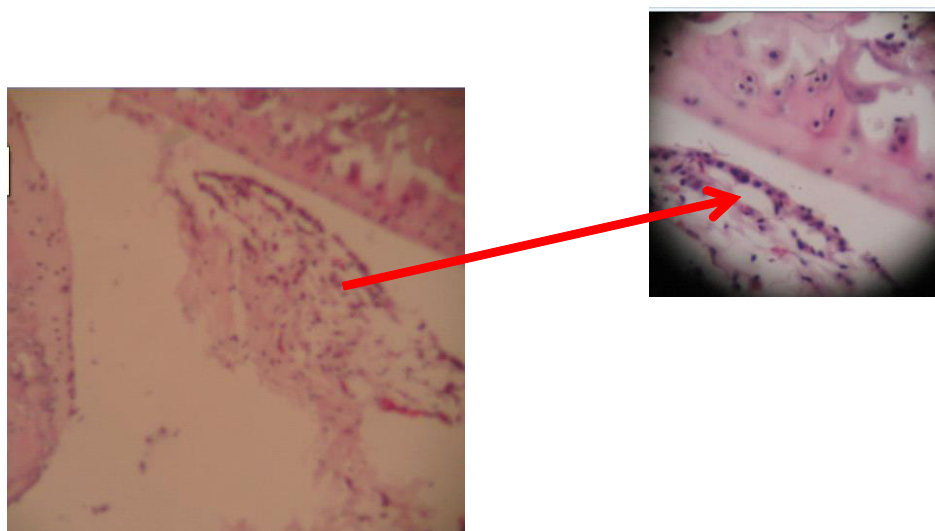
Fotografía 3.- Corte histológico con superficie irregular en ratas con artritis inducida por pristane



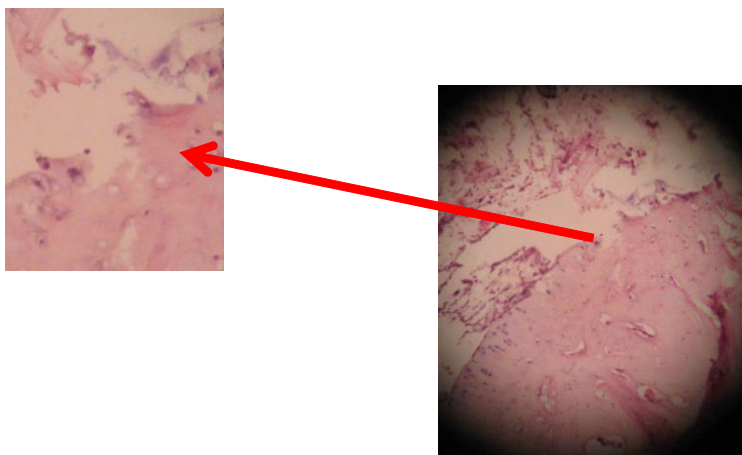
Fotografía 4.- Corte histológico con hiper celularidad en ratas con Artritis inducida por Pristane



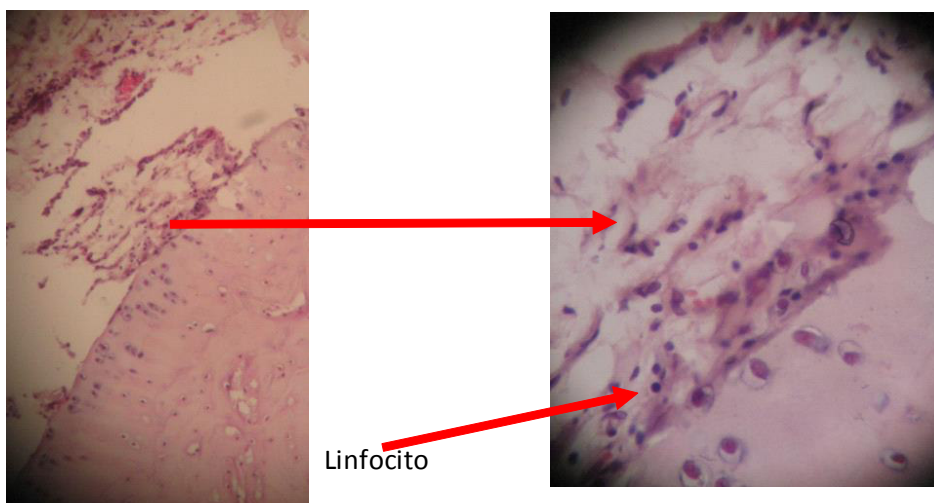
Fotografía N°5 Corte histológico con hipocelularidad de rata con artritis inducida por pristane



Fotografía N°6 Corte histológico con erosión del cartílago de rata con artritis inducida por pristane



Fotografía N°7 Corte histológico con Linfocitos de rata con artritis inducida por pristane



Fotografía N°8 Corte histológico con Linfocitos con células plasmáticas de rata con artritis inducida por pristane

