



UBA
Universidad de Buenos Aires



UNIVERSIDAD DE BUENOS AIRES
FACULTAD DE CIENCIAS VETERINARIAS

PROTEINA ANTAGONISTA DE RECEPTORES DE INTERLEUKINA (IRAP) Y SUS APLICACIONES EN LA TRAUMATOLOGIA EQUINA

Tesina presentada como parte de los requisitos
para optar al TITULO DE ESPECIALISTA EN
MEDICINA DEPORTIVA DEL EQUINO

KARINA ALEJANDRA KUSCH ALARCON

MARZO 2013

INDICE

Capítulo	Página
RESUMEN.....	1
ABSTRACT.....	2
INTRODUCCION.....	3
MATERIAL Y METODOS.....	4
ANATOMIA DE LAS ARTICULACIONES.....	5
CITOQUINAS.....	6
PATOLOGIA ARTICULAR.....	8
IRAP.....	16
APLICACIÓN EN LA MEDICINA DEPORTIVA EQUINA.....	19
ENSAYOS CLINICOS RECIENTES.....	22
CONSIDERACIONES FUTURAS.....	23
VENTAJAS EN EL USO DE IRAP.....	26
DESVENTAJAS EN EL USO DE IRAP.....	27
CONCLUSIONES.....	28
BIBLIOGRAFIA.....	37

RESUMEN

En la medicina deportiva del equino, las claudicaciones corresponden a una de las principales patologías que limitan la vida deportiva del caballo. Dentro de éstas, se menciona que más del 60% de las claudicaciones corresponde al cuadro conocido como osteoartritis.

Se han intentado numerosos tratamientos para las afecciones del tejido musculoesquelético, desde tratamientos convencionales (AINEs, corticoesteroides, ácido hialurónico, suplementos nutricionales, entre otros) hasta terapias regenerativas utilizando sangre del mismo individuo para extraer ciertos factores de crecimiento y proteína antagonista al receptor de la interleuquina 1 (IL-1 Ra), desarrollándose la terapia conocida como IRAP.

Inicialmente IRAP se utilizó para el tratamiento de osteoartritis en equinos, demostrando una mejoría en la claudicación luego de la inyección intraarticular. Hoy en día se están realizando estudios para su uso en otras patologías musculoesqueléticas, como enfermedad navicular y microfracturas condrales.

Estudios experimentales, en animales de laboratorio y seres humanos, sugieren además su uso en tejidos blandos (lesiones musculares y tendinosas, lumbalgias), así como en el tratamiento de asma y melanomas.

Esto sugiere que aún existen muchas patologías en donde podría resultar útil el tratamiento con la proteína antagonista al receptor de la interleuquina 1 y que aún queda mucho por estudiar. Pudiendo ser una buena alternativa en el tratamiento de muchas enfermedades inflamatorias que cursan con destrucción del tejido adyacente por acción de la IL-1.

ABSTRACT

In equine sports medicine, lameness are a major life-limiting diseases in sport horses sport. Among these, it is mentioned that more than 60% of lameness corresponds to the condition known as osteoarthritis.

They have tried many treatments for disorders of the musculoskeletal tissue, from conventional treatments (NSAIDs, corticosteroids, hyaluronic acid, nutritional supplements, etc.) to regenerative therapies using blood from the same individual to extract certain protein growth factors and receptor-antagonist interleukin-1 (IL-1 Ra), being developed the therapy known as IRAP.

IRAP initially was used for the treatment of osteoarthritis in horses, showing an improvement in lameness after intraarticular injection. Today studies are for use in other musculoskeletal pathologies such as navicular disease and chondral microfractures.

Experimental studies, in laboratory animals and humans, also suggest its use in soft tissue (muscle and tendon injuries, back pain), as well as in the treatment of asthma and melanomas.

This data suggests that there are still many diseases which may be useful in the treatment with the protein receptor antagonist to interleukin 1 and there is still much to study. Being able to be a good alternative in the treatmentt of many inflammatory diseases that occur with adjacent tissue destruction by the action of IL-1.

INTRODUCCION

Las claudicaciones son una de las principales razones por las cuales los caballos se ven inhabilitados para trabajar o alcanzar su potencial deportivo (Pool y Meager, 1990). Mientras más fuerte sea el trabajo de entrenamiento, más esfuerzo se ejerce sobre el cuerpo y extremidades del caballo, lo cual predispone a lesiones. Más de la mitad de las cojeras del equino se deben a lesiones articulares por traumas u otras alteraciones como osteoartritis que restringen y ocasionan pérdida de función y performance del equino (Platvoet 2011).

Se han identificado diversas sustancias que influyen en el desarrollo de una patología articular como son las citoquinas y mediadores inflamatorios que destruyen la membrana sinovial y degradan la matriz cartilaginosa del hueso. Dentro de estas se incluyen: las citoquinas como Interlequina 1 (IL-1) y Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), metaloproteasas y agreganasas, prostaglandina E2 (PGE-2) y radicales libres (McIlwraith, 2001).

Por su parte, tendinitis y desmitis resultan en una pérdida económica considerable en la industria equina debido a la baja performance, prolongada rehabilitación, lesiones recurrentes y temprano retiro del equino de la competencia (Rindermann *et al.* 2010).

El tratamiento médico más empleado en las patologías articulares se basa en el uso de ácido hialurónico, que mejora el anabolismo del condrocito y favorece la síntesis de su matriz extracelular, antiinflamatorios esteroideos y no esteroideos intraarticulares, suplementos orales y reposo. Mientras que las patologías de tejidos blandos se tratan con AINEs y reposo. Actualmente, se considera que deberían existir tratamientos que induzcan la regeneración del tejido musculoesquelético, restaurando la arquitectura normal de este y devolviéndole su función biomecánica en vez de la formación de una cicatriz, con lo cual deberían a su vez disminuir las reinjurias. Es por ello que se han ideado nuevos tratamientos como son las terapias regenerativas. Dentro de estas cabe mencionar al IRAP, cuyo uso en equinos a disminuido las cojeras y mejorado la histología del tejido lesionado (Rindermann *et al.* 2010, Pinto y García Liñeiro 2011).

MATERIAL Y METODOS

Se realizó una revisión bibliográfica utilizando el servidor PubMed y Google Scholar empleando las palabras claves interleuquina 1, proteína antagonista del receptor a la interleuquina 1, osteoartritis, caballo, ACS (suero autólogo condicionado), IRAP, Orthokine; solas o en combinación entre ellas. La búsqueda incluyó artículos en revistas científicas, jornadas veterinarias como AAEP, algunos resúmenes de artículos científicos y libros de medicina equina. De esta búsqueda se seleccionaron los artículos referentes a la investigación en el uso de la proteína antagonista al receptor de la interleuquina 1 en equinos, así como también algunos usos en la medicina humana que pudieran utilizarse en el futuro en la medicina del equino.

ANATOMIA DE LAS ARTICULACIONES

Existen 3 categorías de articulaciones: fibrosas, cartilagosas y sinoviales. Las articulaciones fibrosas son las menos afectadas, debido a que son básicamente inamovibles, como son las presentes en el cráneo. Las articulaciones cartilagosas presentan movilidad limitada, como son las presentes en pelvis y cuerpos vertebrales. En cambio, las articulaciones sinoviales son las que presentan mayor riesgo de exhibir lesiones, debido a su alta capacidad de movimiento.

Una articulación sinovial consta de dos o más huesos que se encuentran encerrados por una cápsula fibrosa que interiormente contiene la membrana sinovial, cuya función es la de secretar el líquido sinovial con lo que se lubrica la articulación, suple con nutrientes y elimina los productos de residuo del cartílago hialino articular (cubre al hueso). Este cartílago articular es avascular, aneural, alinfático y está compuesto de condrocitos (1-2% de su biomasa) embebidos en una matriz extracelular compuesta de colágeno tipo II, proteoglicanos y agua. El rol del cartílago es amortiguar la concusión sobre el (los) hueso(s) y articulación, además de minimizar la fricción asociada al peso del animal y los movimientos de la articulación. Es la única estructura de la articulación, cuyo daño es difícil de reparar (Dijkgraaf *et al.* 1995, MacLeod 2001).

CITOQUINAS

Son un grupo de péptidos inmunológicamente activos que han sido utilizados en tratamientos terapéuticos y profilácticos en modelos experimentales y casos clínicos. Dentro de estas citoquinas cabe mencionar a la interleuquina 1 que juega un papel importante en la degeneración de las estructuras musculoesqueléticas debido a su potente acción inflamatoria (Nicolson *et al.* 2001).

Interleuquina 1 (IL-1):

IL-1 es un péptido soluble de bajo peso molecular de la familia de las glicoproteínas, producida y sintetizada en una forma inactiva, llamada proIL-1.

IL-1 fue originalmente identificada en 1977 con capacidad para producir la mayoría de las enzimas involucradas en la destrucción cartilaginosa. En el equino, IL-1 fue demostrada por primera vez en caballos que cursaban con inflamación articular por Morris *et al.* (1990). Un extracto de IL-1 equina fue producida por May *et al.* (1990), demostrando la habilidad de dicho extracto para degradar la matriz cartilaginosa del hueso del equino.

Incluye 2 interleuquinas: IL-1 α y IL-1 β , cuya secuencia génica completa de IL-1 α , IL-1 β y IL-1 Ra del equino fue descrita por Howard *et al.* (1998 a, b).

Se considera que existen tres estructuras que producen IL-1 en la articulación:

- a) La membrana sinovial: la síntesis de IL-1 es producida por la resorción del cartílago cuando hay desfragmentación de proteoglicanos. Esta IL-1 presente en el líquido sinovial penetra a través de las fisuras producidas por la fibrilación en el cartílago y alcanzan las capas más profundas del cartílago.
- b) Áreas del hueso que están en contacto directo con el cartílago calcificado.
- c) El cartílago: debido a la estimulación mecánica de los condrocitos.

Mathieu (1999):

El receptor antagonista a IL-1 (IL-1 Ra) es producido en respuesta a infección o inflamación para inhibir competitivamente la inflamación local producida por IL-1. IL-1Ra endógena es producido por macrófagos activados, sin embargo es insuficiente para inhibir la inflamación. Por lo tanto, un desbalance entre IL-1 y IL-1 Ra predispone a artritis u otras enfermedades inflamatorias (Arend y Gabay 2000).

Basados en estudios de inhibición, parece que IL-1 es la principal citoquina responsable de la degradación cartilaginosa articular y que TNF- α contribuiría más en el dolor asociado al daño articular. Interlequina 1 actúa a través de receptores en los condrocitos, causando liberación de metaloproteasas (MMPs) y PGE2, produciendo fibrilación superficial del cartílago articular por pérdida de colágeno tipo 2 de la matriz cartilaginosa (Poole 1999). Sin embargo, Kamm *et al.* (2010) estudiaron la presencia de citoquinas en el fluido sinovial y cartílago articular en equinos con osteoartritis del carpo, concluyendo que TNF α fue abundantemente expresado en la membrana sinovial y cartílago articular, mientras que IL-1 β fue sobreexpresado en el cartílago articular, pero en pequeña cantidad en los sinoviocitos. Por lo tanto, habría que considerar no solo la interlequina 1 sino que también al TNF α como punto de tratamiento en la osteoartritis, ya que este cuadro muchas veces va asociado a efusión sinovial.

Estos hallazgos en el desarrollo de la patología articular están siendo incorporados en el desarrollo de nuevas terapias biológicas para su tratamiento (Kamm *et al.* 2010).

PATOLOGIA ARTICULAR

Artritis es un término general que se refiere a la inflamación de una articulación (Stashak y Hill 1995). Los signos de inflamación incluyen calor, dolor, aumento de volumen y pérdida de función. Aunque algunos equinos muestran pocos o nulos signos, en la mayoría de los casos se observa una claudicación leve a moderada, rigidez, efusión sinovial y pérdida de la performance.

Uno de los tipos más comunes de artritis es la osteoartritis (OA), la cual involucra una destrucción progresiva del cartílago articular (degeneración) junto con remodelación en el hueso subcondral, desarrollo de neoformación ósea en la superficie y márgenes de la articulación (osteofitos), inducida por el TGF- β 1, y sinovitis (inflamación de la membrana sinovial). Aproximadamente el 60% de los equinos que presentan claudicaciones presentan dicha patología (Caron y Genovese 2003). En OA existe un compromiso de la integridad de la matriz estructural del cartílago desencadenando en degeneración del cartílago articular y progresiva pérdida de la función articular (MacLeod 2001).

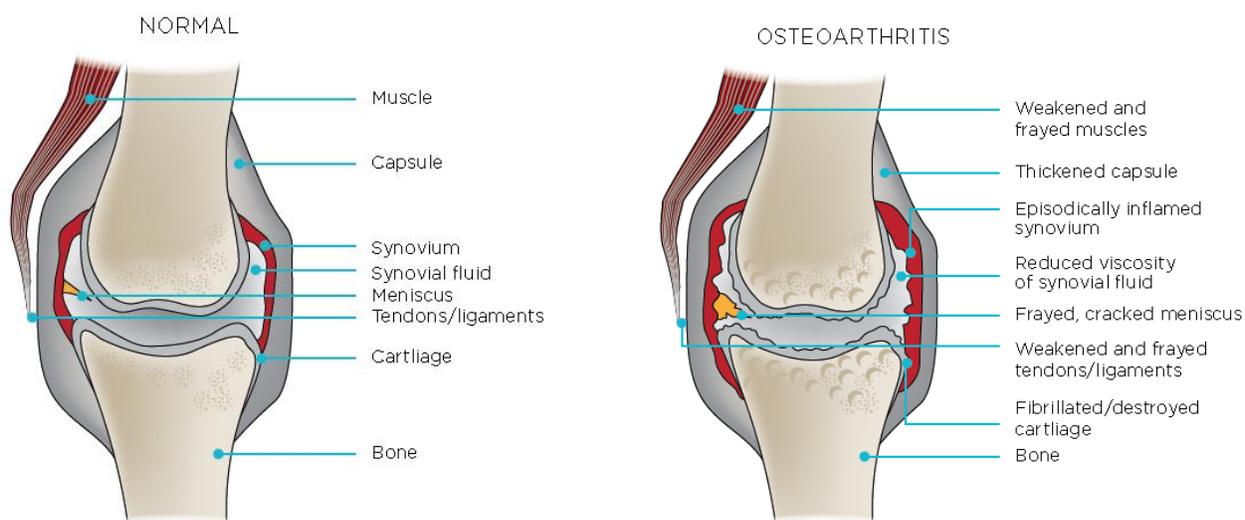


Figura 1: Desarrollo de Osteoartritis en la articulación (Swift 2012).

Patofisiología de la Osteoartritis:

La patogénesis en el desarrollo de la osteoartritis es variable, se considera la osteoartritis primaria a aquella donde existen articulaciones sanas que se dañan por fuerzas anormales y osteoartritis secundaria a aquella ocasionada por un trauma (por ejemplo un “chip” articular) o por mala conformación (Caron y Genovese 2003).

Citoquinas y factores de crecimiento juegan un rol importante en la patofisiología de OA, asociados a alteraciones en la función de sinoviocitos, cartílago articular y hueso subcondral, ya que se producen en un principio en la membrana sinovial y luego difunden al cartílago articular a través del líquido sinovial, activando a los condrocitos cuya expresión exagerada de IL-1 activa la expresión de numerosos metabolitos catabólicos, especialmente enzimas asociadas con la degradación de la matriz cartilaginosa articular, tales como las MMPs (Palmer y Bertone 1994). Estas enzimas pertenecen a un grupo de endopeptidasas dependientes del zinc. Son producidas en exceso por sinoviocitos, condrocitos, macrófagos y neutrófilos. El óxido nítrico (NO) es otro importante metabolito implicado en la etiopatogénesis de la OA, ya que actúa como un mediador de la destrucción de la matriz cartilaginosa y produce apoptosis de condrocitos (Blanco *et al.*, 1998; Kim *et al.*, 2003). El NO disminuye la deposición de sulfato dentro de las cadenas de glicosaminoglicanos, disminuye la síntesis de colágeno y la expresión de una importante citoquina anti-inflamatoria, la antagonista del receptor de la IL-1 (IL-1 Ra) El proceso anabólico esta mediado por factores de crecimiento (GFs). Los GFs son péptidos multifuncionales con acción anabólica y proliferativa sobre los condrocitos y la matriz cartilaginosa circundante. En la OA han sido identificadas muchas de estas moléculas, pero las más descritas en el caballo y otros animales son el factor de crecimiento de la insulina 1 y 2 (IGF-1 y IGF-2) y el factor de crecimiento transformante beta (TGF- β) (Murrell *et al.* 1995, Pelletier *et al.* 1996, Carmona y Murillo 2007).

En la OA la membrana sinovial (sinovitis) es la clave en la producción de efectores inflamatorios. Las citoquinas proinflamatorias inician y desarrollan la enfermedad, dentro de las cuales destacan IL-1 β y TNF α . IL-1 β es muy importante en la destrucción del cartílago mientras que TNF α ejerce el proceso inflamatorio. Además, ambas citoquinas inducen a condrocitos y células sinoviales a producir otras citoquinas como IL-8, IL- 6 y estimulan la

producción de proteasas y PGE2. Por otro lado, IL-1 β y TNF α aumentan la resorción osteoclástica del hueso in vitro (Rutgers *et al.* 2010).

IL-1Ra puede bloquear la síntesis de PGE2 en las células sinoviales, la producción de colagenasas por los condrocitos y la degradación de la matriz cartilaginosa. Se han encontrado tres formas de IL-1Ra: una extracelular llamada IL-1Ra soluble (IL-1sRa), y dos intracelulares: icIL-1Ra1 y icIL-1Ra2. Tanto la soluble como la intracelular se pueden unir al receptor de la IL-1, pero con mucha menor afinidad para la intracelular. Experimentos en vivo han descubierto que se necesita un exceso de 100-2000 veces más de IL-1 Ra para inhibir la actividad de IL-1 β , concentración que normalmente no alcanza a presentarse en el tejido articular con OA, con lo cual habría una relativa deficiencia de IL-1Ra, manteniéndose altos niveles de actividad de IL-1 β en la articulación (Martel-Pelletier *et al.* 1999).

El daño al cartílago articular que no penetra la vasculatura del hueso subcondral no repara; con el tiempo el defecto permanece y genera degeneración del tejido adyacente. Sólo la lesión cartilaginosa que penetra las capas condrales y llega al hueso subcondral causando un pequeño sangrado y hematoma, produce liberación de factores quimiotácticos (por medio de las plaquetas) que infiltran la lesión y sintetizan fibrocartílago, reparando el tejido. Sin embargo, la composición de menor calidad de este fibrocartílago causa que el tejido se fracture y degrade con el tiempo (Trippel *et al.* 2004).

Tratamiento convencional:

Tradicionalmente el tratamiento de la enfermedad articular en el equino se ha tratado con el uso de antiinflamatorios no esteroideos y corticoesteroides intraarticulares (supresión inflamatoria sintomática), tanto en artritis agudas como crónicas. Aunque los corticoesteroides reducen la expresión de metaloproteinasas de la matriz y ayudan en los síntomas inflamatorios de la articulación y disminuyen el dolor, existe evidencia que estas sustancias dañan el cartílago articular independiente del proceso de la enfermedad. Se han descrito cambios patológicos en articulaciones normales inyectadas intraarticularmente con acetato de metilprednisolona o betametasona como pérdida de basofilia y disminución en la intensidad de la tinción con O safranina, necrosis de condrocitos e hipocelularidad, disminución en el contenido de

proteoglicanos, disminución en la síntesis de colágeno, aumento del contenido de agua y retardo en la recuperación de defectos osteocondrales. Estos cambios degenerativos alteran la composición del cartílago articular y hacen que el tejido se haga más susceptible a lesiones mecánicas. Los corticoesteroides inducen necrosis de condrocitos que exacerbarían el proceso degenerativo que se está desarrollando a consecuencia de la osteoartritis presente (MacLeod 2001). A su vez, Sauer *et al.* (1994) observaron inhibición en la expresión de IL-1 Ra y de IL-1 en condrocitos tratados con dexametasona. Desde el punto de vista clínico, esto se observa cuando se inyecta periódicamente una articulación, donde al comienzo existe una buena respuesta a la terapia con corticoesteroides, pero al irse repitiendo las inyecciones se observa una disminución en el intervalo de inyección entre tratamientos. Esto significaría que a mayor número de inyecciones con corticoesteroides en una articulación, más corto se hace el efecto terapéutico y más pronto necesitara ser tratada esa articulación (Platvoet 2011). Sin embargo, Frisbie *et al.* (1997) han demostrado ciertos beneficios biológicos con el uso del acetónido de triamcinolona.

Otras terapias incluyen el uso de ácido hialurónico intraarticular o intravenoso, glicosaminoglicanos intraarticulares, terapias de ondas de choque y suplementos nutricionales como glucosamina, condroitin y metilsulfonilmetano (MSM) por vía oral (Kawcak *et al.* 1997, Oke y McIlwraith 2010)

Terapias regenerativas:

La medicina regenerativa se basa en sanar los tejidos de manera que estos vuelvan a su estado bioquímico preinjurioso y retornen a sus características biomecánicas previas a la lesión. Se han utilizado varios tipos de terapias regenerativas, incluyendo Plasma rico en plaquetas (PrP), células madre (aspirado de médula ósea), suero autólogo condicionado (ACS) y proteína antagonista del receptor de la Interleuquina 1 (IRAP) (Fortier *et al.* 2011).

Plasma rico en plaquetas (PrP):

Existen distintos sistemas de preparación del PrP, encontrándose diferencias respecto al volumen final y a la concentración final de plaquetas y factores de crecimiento, como lo es el volumen de sangre autóloga requerida, tiempo y velocidad de centrifugado, adición de un agente activador, concentración de leucocitos, métodos de envío y calidad/cantidad del PrP. De todas

formas, la concentración final de plaquetas del Prp oscila entre 2 a 8 veces mayor a la concentración basal. El concepto de que el PrP puede mejorar las patologías articulares se basan en el rol fisiológico que ejercen las plaquetas en la sanación de las heridas, a través de la promoción de angiogénesis local, atracción de fibroblastos y células madres locales al sitio de la lesión y a la inducción de factores de crecimiento autocrinos presentes dentro de sus gránulos α como son el factor de crecimiento transformante β (TGF- β), factor de crecimiento endotelial vascular (VEGF), factor de crecimiento de la insulina 1 (IGF-1) y factor de crecimiento epidermal (EGF) que se liberan cuando las plaquetas son activadas en el sitio de la lesión. Sin embargo, el PrP también contiene glóbulos blancos con expresión de citoquinas que aumentan la degradación del tejido. Esto sugiere que la óptima preparación de PrP sería la que tenga menor concentración de glóbulos blancos para maximizar los beneficios de los factores de crecimiento derivados de plaquetas y minimizando la inflamación y degradación del tejido ocasionado por los leucocitos. (Epply *et al.* 2004, Akeda *et al.* 2006, Anitua *et al.* 2007, Cisell 2009, Mishra *et al.* 2009)

Tratamientos realizados con PrP en osteoartritis demuestran un aumento en la proliferación y síntesis de proteoglicanos y colágeno tipo 2 en la matriz cartilaginosa extracelular. Además de aumento en la producción y secreción de ácido hialurónico por parte de los sinoviocitos, sugiriendo que el PrP podría estimular potencialmente una fuente endógena de condroprotección y lubricación de la articulación después de la inyección intraarticular (Epply *et al.* 2004, Akeda *et al.* 2006, Anitua *et al.* 2007, Mishra *et al.* 2009)

Aspirado de médula ósea (BMA):

El concentrado de médula ósea (BMC) se genera por centrifugación del aspirado de médula ósea. La ventaja del concentrado de médula ósea sobre el PrP es que contiene células madres mesenquimáticas que han demostrado utilidad en la regeneración de cartílago y otros tejidos del sistema musculoesquelético. Así como el Prp, el BMC contiene plaquetas y por ende es una rica fuente de factores de crecimiento derivados de plaquetas y factor de crecimiento transformante β (Fortier 2011).

El uso de BMA se ha investigado como fuente de células madres autólogas, pero su uso está más directamente relacionado al efecto de la mezcla de factores de crecimiento que posee y

no al número de células madres presentes en el aspirado, ya que éstas se presentarían en baja cantidad (Cisell 2009).

Suero autólogo condicionado (ACS):

El suero autólogo condicionado fue probablemente el primer biológico probado en caballos. ACS se genera de la misma manera que IRAP, pero por razones legales, se denomina ACS. El suero autólogo condicionado se produce por incubación de sangre venosa con esferas de vidrio, que resultan en un aumento en la concentración de factores de crecimiento como factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF) y factor de crecimiento transformante β (TGF- β), además de aumento en la concentración de IL-1 Ra (Fortier *et al.* 2011).

Los factores de crecimiento son un grupo de polipéptidos activos biológicamente, producidos por el organismo que pueden estimular la división celular, crecimiento y diferenciación. En el cartílago articular, numerosos factores de crecimiento trabajan para regular su desarrollo y homeostasis. Numerosos factores de crecimiento estimulan a los condrocitos a sintetizar proteoglicanos, agregan y colágeno tipo 2, inducen a la proliferación de sinoviocitos, diferenciación condrogénica y disminuyen el efecto catabólico de citoquinas como la IL-1 y metaloproteinasas (MMPs). En la tabla 1 se resumen los efectos de los factores de crecimiento en condrocitos y sinovia (Fortier *et al.* 2011).

Tabla 1: resumen de los efectos de los factores de crecimiento en condrocitos/cartílago y sinovia.

Factor de crecimiento	Condrocito/cartílago	Sinovia
TGF- β 1	Estimula síntesis de ECM Disminuye actividad catabólica de IL-1 y MMPs Activo en la curación de tendones Estimula síntesis colágeno y osteoblastos	Proliferación sinovial Induce quimiotaxis de leucocitos a la sinovia Induce formación de osteofitos
BMP-2	Estimula síntesis de ECM Aumenta degradación de agregan	Presumible rol en maduración de osteofito Estimula engrosamiento sinovial en osteoartritis experimental
BMP-7	Estimula síntesis de ECM Disminuye actividad catabólica de IL-1 y MMPs	Disminuye la expresión de MMPs y agreganasas
IGF-1	Estimula síntesis de ECM Disminuye el catabolismo de la matriz cartilaginosa	Disminuye engrosamiento y evidencia de inflamación crónica
FGF-2	Disminuye actividad de agreganasas Estimula proliferación de colágeno, células endoteliales y es angiogenico	Induce proliferación sinovial Formación osteofito si se utiliza solo
FGF-18	Aumenta proliferación de condrocitos	Induce engrosamiento sinovial
PDGF	Sin efectos adversos en articulación normal	Sin efectos adversos en articulación normal

TGF- β 1: factor de crecimiento transformante β 1; BMP: proteína osea morfogenética; IGF-1: factor de crecimiento insulínico 1; FGF: factor de crecimiento fibroblástico; PDGF: factor de crecimiento derivado de plaquetas; ECM: matriz extracelular; IL: interleuquina; MMP: metaloproteinasas

(adaptado de Fortier *et al.* 2011).

Existen 2 mecanismos para la aplicación terapéutica de IL-1 Ra:

- (1) proteína recombinante (IRAP)
- (2) terapia génica.

La terapia génica tiene como objetivo transferir moléculas terapéuticas que codifican genes a los tejidos intraarticulares para convertirse en sitios endógenos de síntesis de proteína terapéutica, ya sea en las células sinoviales o condrocitos del cartílago articular. Estos genes pueden ser transferidos por vectores virales o no virales. Los virus más utilizados son Adenovirus y Herpesvirus, los cuales se emplean de forma directa (in vivo) o indirecta (ex vivo) (figura 2) (Robbins *et al.* 2003).

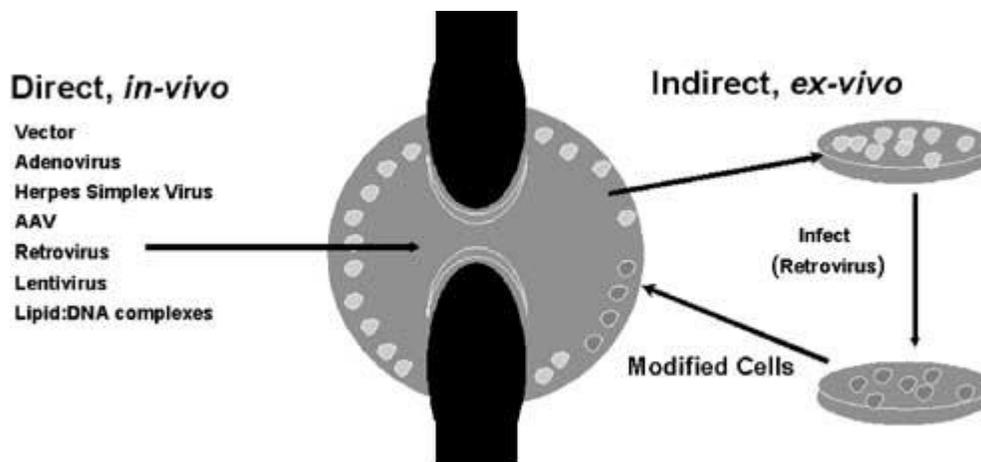


Figura 2. Uso de vectores para transferencia génica local en la articulación (Robbins *et al.* 2003).

La síntesis de IL-1Ra por las células modificadas genéticamente proveen una mayor protección continua contra IL-1, mientras que la proteína recombinante se torna progresivamente menos efectiva (Gouze *et al.* 2003). Por otro lado, la combinación de terapia génica con factores de crecimiento que estimulan la síntesis de matriz cartilaginosa, como el IGF-1 y IL-1 Ra para bloquear la acción de IL-1 tiene efectos de restauración de los niveles de proteoglicanos sobre el cartílago (McIlwraith 2001, Haupt *et al.* 2005, Nixon *et al.* 2005).

Sin embargo, debido a las limitaciones en el uso de los vectores para transferencia génica de IL-1 Ra, se ha puesto especial atención al uso de IRAP. Concepto desarrollado en Alemania con el producto llamado Orthokine®, correspondiente a una terapia de suero autólogo condicionado (ACS), para luego desarrollarse en USA bajo el nombre de IRAP®. Utilizado en el tratamiento de osteoartritis en el equino u otras condiciones inflamatorias desde el año 2001 (Weinberger 2008, Oke 2009).

IRAP

Preparación IRAP:

La proteína antagonista del receptor a la interleuquina 1 (IRAP) se obtiene a partir de la extracción de sangre entera del propio animal, para lo cual se extraen 50 ml de sangre en una jeringa que contiene microesferas de vidrio impregnadas en sulfato de cromo, esta sustancia estimula a los leucocitos periféricos y plaquetas a producir IL-1 Ra derivada de un reservorio intracelular y la otra parte por síntesis “*de novo*” que se acumula en el suero. Además, se producen otras citoquinas, cuya concentración varía dependiendo del individuo.

Luego de esto, se incuba a 37 °C durante 24 horas y después se centrifuga por 10 minutos a 3700 rpm. El próximo paso es extraer el suero, para lo cual se coloca la jeringa en posición vertical y se conecta a una cánula estéril de 100 mm que va unida a una jeringa de 20 ml y se extrae lentamente el suero sin eritrocitos. Luego se filtra el suero con un filtro de 0,22 μ m y se distribuye en jeringas de 5 ml. En promedio se colectan 20-25 ml de suero a partir de la sangre entera, por lo tanto se obtienen 5-6 dosis de IRAP. Estas dosis variarán dependiendo de la articulación a tratar. Las dosis se utilizan en fresco o se congelan para su posterior uso (Weinberger 2008).

Mecanismo de acción:

IRAP restaura la articulación y función del cartílago articular. Es una terapia antiinflamatoria que bloquea a la interleuquina 1 (IL-1). IRAP compite con la IL-1 por el sitio de unión al receptor de la IL-1 (tipo 1 y 2) evitando que cause inflamación (Platvoet 2011).

Se menciona que la concentración local de IL-1 Ra es muy baja en enfermedades degenerativas para inhibir la destrucción del cartílago, músculo, tejido espinal y otras estructuras de la articulación. Aunque, se considera que un exceso en la cantidad de IL-1 Ra de 10-1000 veces más que la IL-1 sería efectiva para bloquear todos los receptores a la IL-1 presentes en el tejido (Dinarello 1991, Granowitz *et al.* 1991, Wehling *et al.* 2007).

Se ha demostrado que el suero producido por el proceso de incubación (uso de Orthokine IRAP system) con sangre humana, resultó en niveles de IL-1 Ra que se incrementaron 140 veces, así como también hubo un gran incremento en el factor de crecimiento fibroblástico 2 (FGF-2) y TGF- β 1; otros factores que aumentaron fueron IGF-1 y PDGT (Tabla 2); nótese la gran

desviación estándar (SD) de la concentración promedio individual indicando que las concentraciones de citoquinas varían enormemente entre individuos (Frisbie *et al.* 2005, Frisbie *et al.* 2007, Wehling 2007, Cisell 2009).

Tabla 2: Contenido de citoquinas y factores de crecimiento en ACS humano usando 10 ml de sangre entera en el sistema Orthokine®.

No. of patients	Cytokine										
	IL-1ra	IL-1 β	IL-6	TNF α	IL-10	FGFb	VEGF	HGF	IGF1	PDGF AB	TGF β
	224	224	200	92	92	92	92	92	92	92	80
Concentration (pg/mL) prior to incubation (0 hours)											
BasaP	236	<3.9	<12.5	<15.6	<7.8	14.6	61	431	86 000	205	1 165
Concentration (pg/mL) after incubation (6 hours)											
Mean	2 014.8	7.9	28.7	10.1	33.4	26.6	508.6	1 339.3	117 208.8	39 025.6	97 939.0
SD	4 381.1	8.7	48.1	9.6	18.9	20.8	307.7	928.7	51 644.4	10 515.8	113 418.3
Minimum	390.3	1.4	0.9	3.0	4.1	2.8	114.1	691.4	37 430.0	19 601.0	13 067.0
Maximum	31 057.0	48.9	250.2	69.7	105.0	104.5	1 694.0	6 473.0	440 000.0	66 208.0	823 000.0
a All measurements were performed using enzyme-linked immunoabsorbant assay kits (ELISA; R&D Systems, Minneapolis, MN, USA). Basal values are normal values of healthy donor as measured by the kit manufacturer. Serum retrieved from 10mL of whole blood.											
b All basal levels given with a '<' are lower limits of the kit's sensitivity. The accuracy of readings lower than these values are suboptimal.											
FGFb = fibroblast growth factor-b; HGF = hepatocyte growth factor; IGF1 = insulin-like growth factor-1; IL = interleukin; PDGF = platelet-derived growth factor; TGF β = transforming growth factor- β ; TNF α = tumor necrosis factor- α ; VEGF = vascular endothelial growth factor.											

Se cree que el efecto clínico observado en los estudios se debe parcialmente al mecanismo endógeno de curación de las heridas activado por la exposición a la superficie de células sanguíneas “alienígenas” que estimularían mecanismos como la cascada de coagulación y reparación de tejidos. Sumado a la administración de IL-1 Ra exógena y a que la administración de IL-1 Ra estimularía la producción endógena de IL-1 Ra.

Desde el punto de vista histológico, se ha demostrado disminución en el grado de hiperplasia de la membrana sinovial y menor fibrilación del cartílago articular (Frisbie *et al.* 2002, Frisbie *et al.* 2007).

Se realizó un estudio utilizando sangre humana para evaluar un nuevo sistema de IRAP, llamado IRAP II. Se observó que no hubieron diferencias en los niveles séricos de IL-10, IL-1 β y TNF- α entre el sistema Arthrex IRAP II y el IRAP I convencional. Sin embargo, el Arthrex IRAP II produjo mayores niveles de IL-1 Ra en comparación al IRAP I. Además, al compararlo

con el suero control, IRAP II también indujo mayores niveles de FGF- β , PDGF, TGF- β y VEGF (Arthrex 2009).

Es importante entender que IRAP no puede revertir un daño articular permanente, que generalmente encontramos en osteoartritis, pero sirve para prevenir futuras inflamaciones y reducir el progreso de la enfermedad (Frisbie 2005).

Trippel *et al.* (2004), mencionan que el uso de terapias utilizando un factor de crecimiento anabólico como lo es el IGF-1 y un inhibidor de la acción catabólica de las citoquinas inflamatorias como lo es el IL-1Ra, tienen el potencial de controlar la degradación asociada con osteoartritis y permiten una restauración parcial de la matriz cartilaginosa.

APLICACIÓN EN LA MEDICINA DEPORTIVA EQUINA

OSTEOARTRITIS:

Se realizan 2-3 tratamientos intraarticulares con intervalos de 7 días, aunque en humanos se aplica 1 inyección semanal por 3 semanas para aplicaciones espinales y 6 inyecciones (2 a la semana) para el tratamiento de osteoartritis (Frisbie 2005). En la tabla 3 se menciona un protocolo de tratamiento para enfermedades articulares del equino, indicando la dosis, intervalos entre dosis y número total de dosis a aplicar dependiendo de la articulación.

Tabla 3: Protocolo de tratamiento desarrollado para el uso de IRAP en el tratamiento de enfermedades articulares en el equino. D: dosis, N: número total de dosis, I: intervalo entre dosis.

Indicaciones	Protocolo tratamiento
Articulación interfalángiana distal	D: 4-6 ml; N: 2-3 veces; I: 8-14 días
Articulación interfalángiana proximal	D: 2-4 ml; N: 2-3 veces; I: 8-14 días
Articulación metacarpofalángica	D: 4-6 ml; N: 2-3 veces; I: 8-14 días
Articulación carpo (una sección)	D: 2-4 ml; N: 2-3 veces; I: 8-14 días
Articulación humeroradiocubital	D: 4-6 ml; N: 2-3 veces; I: 8-14 días
Articulación escapulohumeral	D: 4-8 ml; N: 2-3 veces; I: 8-14 días
Articulación tarsometatarsiana (esparaván óseo)	D: 1-2 ml; N: 2-3 veces; I: 8-14 días
Articulación tarso	D: 6-8 ml; N: 2-3 veces; I: 8-14 días
Articulación femorotibiopatelar (3 secciones)	D: 4-8 ml; N: 2-3 veces; I: 8-14 días
Articulación acetabulofemoral	D: 4-8 ml; N: 2-3 veces; I: 12-21 días

(Weinberger 2008).

Luego de la inyección, se venda la articulación por 2 días y el caballo se mantiene en reposo absoluto por 3 días (box), para luego comenzar con caminatas a tiro (30-45 minutos), después continúan una semana a paso montado, seguido de una semana a paso y trote montado

antes de retomar su programa regular de entrenamiento. Herraduras correctivas se utilizan en ciertos casos. (Frisbie *et al.* 2005, Wehling 2007, Platvoet 2011).

De acuerdo a los estudios realizados en la Universidad de Colorado State el efecto benéfico del tratamiento con IRAP se observa luego de la tercera inyección, con un 90% de los caballos que retornan a su actividad.

Se recomienda el uso de esta terapia para osteoartritis leves a moderadas, especialmente en articulaciones que no queremos inyectar continuamente con corticoesteroides.

Experimentalmente, se indujo osteoartritis en la articulación del carpo y luego se hizo tratamientos con ACS en 8 caballos en los días 14, 21, 28 y 35, encontrando mejoría clínica de la claudicación con reducción en la hiperplasia sinovial y menor fibrilación del cartílago al día 70 (Frisbie *et al.* 2005, Frisbie *et al.* 2007).

Estudios realizados por Bendele *et al.* (1999) en ratas con osteoartritis demostraron que el uso de IL-1Ra con concentraciones continuas en sangre logró inhibir la resorción ósea.

Se ha estudiado el uso de un vector IRAP-Adenoviral. La secuencia génica de la proteína antagonista al receptor de IL-1 del equino, definida por Howard *et al.* (1998b), se utilizó para la inyección Adeno-IRAP en caballos con osteoartritis obteniendo una buena transducción y mejoría de la claudicación (Frisbie y McIlwraith 2000). Otros trabajos demostraron que la expresión del gen IL-1Ra disminuye el dolor, el grado de cojera y la efusión sinovial, además de observarse lesiones en el cartílago articular de menor gravedad que en las articulaciones no tratadas. (Frisbie *et al.* 2002, Baños Piqueras *et al.* 2009). Sin embargo, la densa matriz que rodea a los condrocitos impide que se transfieran genes a las capas de células más internas del cartílago, por lo tanto sólo existe un pequeño número de condrocitos expuestos al vector que ha sido inyectado dentro de la articulación (Evans *et al.* 2004).

En ratones se realizó un experimento con el uso de Herpesvirus-IRAP mostrando un alto grado de infectabilidad de las células sinoviales, asociado probablemente a que estas células son

más parecidas a las células de las membranas mucosas que son el blanco de este virus, sugiriendo que herpesvirus podría ser un mejor vector en comparación a adenovirus (Oligino *et al.* 1999).

ENFERMEDAD NAVICULAR:

Crisan *et al.* (2009) trataron equinos con síndrome navicular utilizando una combinación entre terapias médicas (AINEs, corticoesteroides, ácido hialurónico, PSGAGs, isoxisuprina, pentoxifilina y IRAP) y terapia de recuperación (ejercicio controlado, herraje correctivo, ondas de choque). Se trataron 3 casos con IRAP, mediante tres inyecciones intraarticulares de 1-2 ml con intervalos de 7 días. Luego de la terapia se realizaron ondas de choque, por lo tanto no fue posible identificar la eficacia del IRAP. Sin embargo, algunos clínicos han notado efectos benéficos en la inyección de la articulación interfalángiana distal o directamente en la bursa navicular con IRAP (Waguespack y Hanson 2011).

MICROFRACTURAS CONDRALES:

Morrison *et al.* (2007), indujeron microfractura de carpo y rodilla en 12 caballos y los trataron con terapia génica (adenovirus como vector) llevando el gen de IL-1 Ra y el factor de crecimiento insulínico (IGF-1). Encontrando un aumento en el contenido de proteoglicanos en toda la zona defectuosa con aumento del colágeno tipo 2.

ARTROPATIA DE LA ARTICULACION INTERFALANGIANA DISTAL:

Pinto y García Liñeiro (2011) realizaron tratamientos de la articulación interfalángiana distal refractarias a infiltraciones de ácido hialurónico, acetónido de triamcinolona y AINES con IRAP. Los 6 equinos tratados tuvieron mejoría del cuadro clínico al cabo de la segunda inyección. La claudicación desapareció a la cuarta aplicación.

ENSAYOS CLINICOS RECIENTES

Carlson *et al.* (2013) estudiaron el efecto del suero autólogo equino (AES) en comparación al suero autólogo condicionado (ACS) sobre el condrocito articular equino tratado con interleuquina 1 β . Encontraron que el medio tratado con ACS y IL-1 β tuvo mayor concentración de receptor antagonista a la IL-1 β , comparado con el medio tratado con AES y IL-1 β . Sin embargo, no hubo grandes diferencias en la liberación de glicosaminoglicanos, en la concentración total de glicosaminoglicanos, contenido total de ADN, en la actividad de MMP 3 o en la expresión de mRNA entre ambos. Por lo tanto, concluyeron que existen mínimos efectos benéficos del tratamiento con ACS sobre el metabolismo de los proteoglicanos de la matriz en condrocitos equinos en comparación al efecto del tratamiento con AES.

Con respecto a las terapias génicas, los vectores adenovirales elevan de forma significativa los niveles de IL-1 Ra y IGF-1 cuando se inyectan intraarticularmente, sin embargo estos niveles solo se mantienen elevados por 14-21 días y los mismos adenovirus pueden ocasionar inflamación debido a su estimulación inmunológica. Pero un estudio realizado por Goodrich *et al.* (2013) reporta elevación significativa de proteína por sobre los 6 meses utilizando el vector adenoviral en la articulación de equinos. Sugiriendo que la terapia génica con adenovirus sería eficiente en la transducción a los tejidos articulares por períodos largos de tiempo sin causar toxicidad intraarticular.

CONSIDERACIONES FUTURAS

En humanos, el uso de ACS se ha reportado en Europa de ser benéfica en el tratamiento de osteoartritis, lesiones musculares y tendíneas, lumbalgias, asma y neoplasias (Frisbie *et al.* 2007).

LESIONES MUSCULARES:

Wright-Carpenter *et al.* (2004) describen que el uso de ACS en humanos deportistas aceleró el tiempo de recuperación funcional después de un esfuerzo muscular.

Por otro lado, estudios realizados en ratones demostraron una mejoría en la regeneración muscular cuando se realizó inyección muscular intralesional. Esta mejoría se atribuyó al aumento en las concentraciones de FGF-2 y TGF- β 1. Esta recuperación en el tiempo de retorno al ejercicio incita a considerar el tratamiento intramuscular con factores de crecimiento sobre la lesión, sin embargo, algunos autores lo toman con cautela, ya que podría generarse una respuesta fibrótica inducida por TGF que podría predisponer a un aumento de reinjurias (Sheehan y Allen 1999, Yablonka-Reuveni *et al.* 1999, Cheong Leong *et al.* 2010).

Por su parte, Lefaucheur y Sebillé (1995), estudiaron el uso de ACS intralesional en ratones inducidos a contusión del músculo gastronemio, demostrando que el uso de ACS es un fuerte acelerador en la curación de la contusión muscular. Encontrando también una elevada concentración de FGF-2 y TGF- β 1 en el suero autólogo condicionado en comparación al suero fresco.

LESIONES TENDINOSAS:

Existen numerosos estudios sobre el uso de factores de crecimiento sobre tendones, tanto en cultivos celulares de humanos y equinos, observándose una mejor expresión génica de colágeno, proliferación de tenocitos, mayor maduración del callo tendíneo y mejor movilización de las células desde la circulación sanguínea al sitio de inyección.

Estudios animales han mostrado que los factores de crecimiento son capaces de aumentar la fuerza de reparación del manguito rotador, pero autores mencionan que esto se ha alcanzado a través de la producción de un tejido de cicatrización en vez de tejido nativo de regeneración en el sitio de inserción tendón-hueso. Lo cual sugiere que aún hay que trabajar en optimizar su uso (Cheong Leong *et al.* 2010).

La Tendinitis flexora en el equino se cree que ocurre como resultado de una carga cíclica de los tendones (fibroblastos), resultando en una producción aumentada de prostaglandina E2 (PGE2). Concentraciones de PGE2 de 10 ng/ml y 100 ng/ml resultan en menor síntesis de colágeno y proliferación de fibroblastos. Además, inducen un aumento en los niveles de MMPs. Adicionalmente, el estiramiento mecánico induce la producción de IL-1 β , la cual aumenta la producción de MMPs. Es por esto, que Cisell (2009) investigó el efecto de ACS en el metabolismo celular de una monocapa celular de fibroblastos de tendón de equino (TFDS) expuestos a la acción de PGE2 exógena. Sugiriendo que se produciría un aumento en la expresión génica de colágeno tipo 1 y 3, glicosaminoglicanos y estimularía la proliferación celular, además de disminuir la expresión génica de moléculas inflamatorias como MMPs (importantes en la degradación de tendones). Lamentablemente, debido a una falla en la respuesta obtenida al exponer la capa celular a la PGE2, no fue posible exponer el cultivo celular a ACS.

En ratas Sprague Dawley, se estudio el efecto de ACS sobre la curación del tendón de Aquiles previamente cortado y luego suturado para volver a unirlo. Los tendones tratados con ACS se presentaron más engrosados, tuvieron más colágeno tipo 1 y se observó una acelerada recuperación de la rigidez del tendón y maduración histológica del tejido de reparación (Majewski *et al.* 2009).

LUMBALGIAS (compresión radicular lumbar):

Se realizó un estudio en humanos inyectando ACS v/s triamcinolona. Con ambos tratamientos los pacientes mostraron mejoría, sin embargo el grupo tratado con ACS presentó una reducción del dolor, mientras que los tratados con corticoesteroides presentaron una tendencia al aumento del dolor luego de transcurridos 6 meses del tratamiento inicial (Becker *et al.* 2007, Wehling 2007).

ASMA:

Se ejecutó una administración intranasal de Adeno-IL-1 Ra antes de la exposición al desafío del antígeno en ratones, disminuyendo la severidad en la presentación de asma y reduciéndose la infiltración eosinofílica y neutrofílica en los pulmones. Concomitantemente hubo supresión de IL-5 y eotaxin en el lavado bronquioalveolar, además de disminución de la inflamación peribronquial en los cortes histológicos (Wang *et al.* 2006).

NEOPLASIAS (Melanomas):

Las células cancerígenas producen IL-1 o inducen a las células alrededor de ellas a la producción de IL-1 β como sucede con los sarcomas, carcinomas ováricos y de células en transición. Las concentraciones de IL-1 dentro del microambiente de la neoplasia se asocian a un mayor grado de malignidad. Tumores sólidos donde se han expresado altos niveles de IL-1 incluyen cáncer de mama, colon, pulmón, cabeza y cuello, además de melanomas, los cuales tienen mal pronóstico. La habilidad de IL-1 para promover la proliferación celular y metástasis esta mediada a través de la neovascularización con inducción de permeabilidad vascular localizada permitiendo la salida de nutrientes y proteínas al intersticio y aumento en la actividad de metaloproteinasas que promueven la migración tumoral (Lewis *et al.* 2006).

Weinreich *et al.* (2003) estudiaron el efecto de la transducción del gen IL-1 Ra de un xenoinjerto de melanoma humano en ratones, encontrando que IL-1 Ra inhibió el crecimiento tumoral y las metástasis pulmonares.

VENTAJAS EN EL USO DE IRAP

1) El riesgo de rechazo al tratamiento es bajo, considerando que ha sido preparado con la sangre del propio individuo.

2) El procedimiento de preparación es rápido y simple.

3) El uso de IRAP no tiene riesgo en la presentación de laminitis (sobretudo en equinos obesos) en comparación al tratamiento intraarticular con corticoesteroides.

4) El uso de IRAP permite retardar el uso de corticoesteroides y prolongar la vida atlética del caballo. En casos, donde existe una buena respuesta a la terapia con IRAP, las inyecciones con corticoesteroides pueden retardarse al punto de prescindir de ellas indefinidamente.

5) IRAP no posee periodo de carencia, por lo tanto puede utilizarse en caballos en competencia.

6) IRAP se puede utilizar en caballos que ya no están teniendo una buena respuesta al tratamiento convencional de osteoartritis (ácido hialurónico más corticoesteroides).

7) Existen 2 productos comerciales que producen suero autólogo condicionado equino, IRAP I y IRAP II. De ambos se midió la concentración de citoquinas mediante ELISA, observándose un aumento en el factor de crecimiento a la insulina en ambos, sin embargo IRAP I mostro mayor aumento del TNF- α , mientras que en IRAP II se observó mayor aumento de IL-1Ra. Por lo tanto, existe un perfil a la expresión proteica más favorable con IRAP II en comparación a IRAP I.

8) Un estudio realizado por Frisbie *et al* (2002), encontraron que la concentración promedio de IL-1 Ra en el líquido sinovial fue incrementándose con el tiempo, no sólo en la articulación tratada con ACS sino que en todas las articulaciones, sugiriendo que la inyección intraarticular podría tener un efecto sistémico.

(Frisbie 2007, Cheong Leong *et al.* 2010, Platvoet 2011).

DESVENTAJAS EN EL USO DE IRAP

- 1) La terapia con IRAP tiene un costo elevado, en Europa se habla de 750 Euros, aprox.
 - 2) Se han documentado un par de reacciones adversas al inyectar IRAP, luego de 24 horas del tratamiento, observándose irritación, calor, dolor y presión en el sitio de inyección.
 - 3) No se recomienda el uso de IRAP en lesiones osteoarticulares con severa pérdida de cartílago articular.
 - 4) Experimentos *in vivo*, encontraron aumento en los niveles de IL-1 Ra en el fluido sinovial de equinos hasta 35 días después de la última inyección de ACS (cuatro en total), concluyendo que hubo una rápida desaparición de IL-1 Ra del líquido sinovial después de la inyección y por lo tanto ACS tendría una corta vida media intraarticular.
 - 5) Se menciona que el uso de factores de crecimiento podría tener un efecto negativo sobre el músculo, presentando una excesiva fibrosis del tejido. Una sola dosis de factores de crecimiento inyectada a concentraciones mayores a las normales podría resultar en excesiva fibrosis, inhibiendo la regeneración muscular.
 - 6) Existe un riesgo teórico que la aplicación de factores de crecimiento podría resultar en carcinogénesis, mediado por el aumento en la proliferación y migración de células mesenquimáticas (Cheong Leong *et al.* 2010).
 - 7) IRAP tendría menor concentración de plaquetas y factores de crecimiento en comparación a otras terapias regenerativas como el PrP.
- (Frisbie *et al.* 2005, Fox y Stephens 2010, Rutgers *et al.* 2010, Platvoet 2011).

CONCLUSIONES

- IL-1 es la principal citoquina responsable de la degradación cartilaginosa articular y que TNF- α contribuiría más en el dolor asociado al daño articular.
- En la Osteoartritis la membrana sinovial (sinovitis) es la clave en la producción de efectores inflamatorios.
- El receptor antagonista a IL-1 (IL-1 Ra) es producido en respuesta a infección o inflamación para inhibir competitivamente la inflamación local producida por IL-1; un desbalance entre IL-1 y IL-1 Ra predispone a artritis u otras enfermedades inflamatorias.
- La medicina regenerativa se basa en sanar los tejidos de manera que estos vuelvan a su estado bioquímico preinjuria y retornen a sus características biomecánicas previas a la lesión (PrP, BMA y ACS).
- Existen 2 mecanismos para la aplicación terapéutica de IL-1 Ra: proteína recombinante ó terapia génica.
- Arthrex IRAP II produjo mayores niveles de IL-1 Ra en comparación al IRAP I.
- En la medicina deportiva del equino, IRAP se ha utilizado en Osteoartritis, enfermedad navicular, microfracturas condrales y artropatía de la articulación interfalangiana distal con buenos resultados.
- Ensayos clínicos recientes encontraron que existen mínimos efectos benéficos del tratamiento con ACS (Suero autólogo condicionado) sobre el metabolismo de los proteoglicanos de la matriz en condrocitos equinos en comparación al efecto del tratamiento con AES (Suero autólogo equino).
- Con respecto a las terapias génicas, los vectores adenovirales elevan de forma significativa los niveles de IL-1 Ra, inclusive sobre los 6 meses de iniciado el tratamiento intraarticular.
- En humanos, el uso de ACS se ha reportado en Europa de ser benéfica en el tratamiento de osteoartritis, lesiones musculares y tendíneas, lumbalgias, asma y neoplasias. Considerando estas patologías como posibles tratamientos futuros en la medicina equina.
- Considerando las ventajas y desventajas en el uso de IRAP se considera que es una terapia regenerativa que promete grandes beneficios en el tratamiento de diversas patologías.

BIBLIOGRAFIA

- Akeda K, HS An, M Okuma. 2006. Platelet-rich plasma stimulates porcine articular chondrocyte proliferation and matrix biosynthesis. *Osteoarthritis Cartilage*. 14, 1272–1280.
- Anitua E, M Sanchez, AT Nurden. 2007. Platelet-released growth factors enhance the secretion of hyaluronic acid and induce hepatocyte growth factor production by synovial fibroblasts from arthritic patients. *Rheumatology (Oxford)* 46, 1769–1772.
- Arend W, C Gabay. 2000. Physiology role of interleukin-1 receptor antagonist. *Arthritis Research* 2, 245-248.
- Arthrex IRAP II System. 2009. Arthrex Vet Systems, Arthrex Research and Development
- Arzt E, J Sauer, T Pollmächer, M Labeur, F Holsboer, JM Reul, GK Stalla. 1994 Glucocorticoids suppress interleukin-1 receptor antagonist synthesis following induction by endotoxin. *Endocrinology* 134, 672-677.
- Baños Piqueas A, I De Guindos Talavera, M Varela del Arco, I Santiago Llorente. 2009. Proteína antagonista del receptor de la interleuquina-1 (IRAP) para el tratamiento de enfermedades articulares en los caballos de carreras. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias* 3, 299-306.
- Becker C, S Heidersdorf, S Drewlo, S Zirke de Rodriguez, E Krämer Juergen, R Willburger. 2007. Efficacy of Epidural Perineural Injections With Autologous Conditioned Serum for Lumbar Radicular Compression An Investigator-Initiated, Prospective, Double-Blind, Reference-Controlled Study. *Spine* 32, 1803–1808.
- Bendele A, T Mcabee, G Sennello, J Frazier, E Chlipala, D McCabe. 1999. Efficacy Of Sustained Blood Levels Of Interleukin-1 Receptor Antagonist In Animal Models Of Arthritis. *Arthritis & Rheumatism* 42, 498–506.
- Blanco FJ, R Guitian, E Vazques-Martul. 1998. Osteoarthritis chondrocytes die by apoptosis. *Arthritis and Rheumatism* 41, 284-289.
- Carmona J, C Giraldo-Murillo. 2007. Fisiopatología y tratamiento convencional de la osteoartritis en el caballo. *Veterinaria y Zootecnia* 1, 60-73.

- Caron JP, RL Genovese. 2003. Principals and practices of joint disease treatment. In: Ross MW and Dyson S (eds). *Diagnosis and Management of Lameness in the Horse*. 1st ed. Saunders, Philadelphia USA. Pp 746-764.
- Cissell J. 2009. In Vitro Equine Flexor Tendonitis: New Model Development and Therapeutic Investigation. *Tesis de magister en ciencias biomedicas y veterinarias*. Virginia Polytechnic Institute and State University. Blacksburg, Virginia.
- Dinareello CA. 1991. Interleukin-1 and interleukin-1 antagonism. *Blood* 15; 77.
- Dijkgraaf LC, LGM De Bont, G Boering. 1995. Noraml cartilage structure, biochemistry and metabolism: a review of the literatura. *Journal of Oral and Maxillofacial Surgery* 53, 924-929.
- Epply BL, JE Woodell, J Higgins. 2004. Platelet quantification and growth factor analysis from platelet rich plasma: implications for wound healing. *Plastic and Reconstructive Surgery* 114,1502-1508.
- Evans CH, JN Gouze, E Gouze, PD Robbins, SC Ghivizzani. 2004. Osteoarthritis gene therapy. *Gene therapy* 11, 379-389.
- Fortier L, J Barker, B Cole, E Strauss, T McCarrel. 2011. The Role of Growth Factors in Cartilage Repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research* 469, 2706–2715.
- Fortier L, E Sundman, L Schnabel, B Cole, S Bosweel, V Karas. 2011. Biologic Therapy for Joint Disease Platelet-Rich Plasma, Interleukin-1 Receptor Antagonist Protein/Autologous Condition Serum, and Bone Marrow Aspirate *Proceedings of the 57th Annual Convention of the American Association of Equine Practitioners AAEP*. San Antonio, Texas, USA.
- Fox B, M Stephens. 2010. Treatment of knee osteoarthritis with Orthokine-derived autologous conditioned serum. *Expert Review of Clinical Immunology* 6, 335-345
- Frisbie D, C Kawcak, GW Trotter, BE Powers, CW McIlwraith, RM Walton. 1997. Effects of triamcinolone acetonide on an *in vivo* equine osteochondral fragment exercise model. *Equine Veterinary Journal*. 29, 349-359.
- Frisbie D, CW McIlwraith. 2000. Evaluation of gene therapy as a treatment for equine traumatic arthritis. A species with clinical disease. *Clinical Orthopaedics and. Related Research* 3795, 5273-5287.
- Frisbie D, SC Ghivizzani, PD Robbins, CH Evans, CW McIlwraith. 2002. Treatment of experimental equine osteoarthritis by in vivo delivery of the equine interleukin-1 receptor antagonist gene. *Gene Therapy* 9, 12-20.

- Frisbie D. 2005. Future Directions in Treatment of Joint Disease in Horses. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 21, 713-724.
- Frisbie D, C Kawcak, CW McIlwraith. 2005. Evaluation of Autologous Conditioned Serum Using an Experimental Model of Equine Osteoarthritis. Lameness in the performance horse. *AAEP PROCEEDINGS* Vol. 51.
- Frisbie D, C Kawcak, N Werpy, R Park, CW McIlwraith. 2007. Clinical, biochemical, and histologic effects of intra-articular administration of autologous conditioned serum in horses with experimentally induced osteoarthritis. *American Journal of Veterinary Research* 68, 290-296.
- Goodrich L, J Phillips, CW McIlwraith, S Foti, J Grieger, S Gray, R Samulski. 2013. Optimization of scAAVIL-1ra *In Vitro* and *In Vivo* to Deliver High Levels of Therapeutic Protein for Treatment of Osteoarthritis. *Molecular Therapy Nucleic Acids* 2
- Gouze J, E Gouze, G Palmer, V Liew, A Pascher, O Betz, T Thornhill, C Evans, A Grodzinsky, S Ghivizzani. 2003. A comparative study of the inhibitory effects of interleukin-1 receptor antagonist following administration as a recombinant protein or by gene transfer. *Arthritis Research & Therapy* 5, 301-309.
- Granowitz EV, BD Clark, J Mancilla. 1991. Interleukin-1 receptor antagonist competitively inhibits the binding of interleukin-1 to the type II interleukin-1 USA and Orthogen, Germany. receptor. *The Journal of Biological Chemistry* 266, 14147-141450.
- Haupt J, D Frisbie, CW McIlwraith, P Robbins, S Ghivizzani, C Evans, A Nixon. 2005. Dual transduction of insulin-like growth factor-I and interleukin-1 receptor antagonist protein controls cartilage degradation in an osteoarthritic culture model. *Journal of Orthopaedic Research* 23, 118–126.
- Howard RD, CW McIlwraith, GW Trotter, JF Nyborg. 1998a. Cloning of equine interleukin-1 alpha and equine interleukin-1 beta and determination of their full length CDNA sequences. *American Journal of Veterinary Research*. 59, 704-711.
- Howard RD, CW McIlwraith, GW Trotter, JF Nyborg. 1998b. Cloning of equine interleukin- 1 alpha and equine interleukin-1 receptor antagonist and determination of their full-length cDNA sequence. *American Journal of Veterinary Research* 59, 712-716.

- Hraha T, D Frisbie, K Cowley, CW McIlwraith. 2010. Comparison of Two Different Commercial Autologous Conditioned Serum Systems Using Equine Blood. *Proceedings of the Annual Convention of the AAEP* Baltimore, USA.
- Hraha H, M Doremus, CW McIlwraith, D Frisbie. 2011. Autologous conditioned serum: The comparative cytokine profiles of two commercial methods (IRAP and IRAP II) using equine blood. *Equine Veterinary Journal* 43, 516–521.
- Kamm JL, AJ Nixon, TH Witte. 2010. Cytokine and catabolic enzyme expression in synovium, synovial fluid and articular cartilage of naturally osteoarthritic equine carpi. *Equine Veterinary Journal* 42, 693–699.
- Kawcak CE, D Frisbie, CW McIlwraith, GW Trotter, SM Gillette, BE Powers, RM Walton. 1997. Effects of intravenous administration of sodium hyaluronate on carpal joints in exercising horses after arthroscopic surgery and osteochondral fragmentation. *American Journal of Veterinary Research* 58, 1132-1140.
- Kim DY, HW Taylor, RM Moore. 2003. Articular chondrocyte apoptosis in equine osteoarthritis. *The Veterinary Journal* 166, 52-57.
- Lefaucheur JP, A Sebille. 1995. Muscle regeneration following injury can be modified in vivo by immune neutralization of basic fibroblast growth factor, transforming growth factor beta 1 or insulin growth factor 1. *Journal of Neuroimmunology* 57, 85-91.
- Lewis A, S Varghese, H Xu, H Alexander. 2006. Interleukin-1 and cancer progression: the emerging role of interleukin-1 receptor antagonist as a novel therapeutic agent in cancer treatment. *Journal of Translational Medicine* 4, 48.
- MacLeod J. 2001. Chondrocytic response to joint inflammation and corticosteroids. *Proceedings of a workshop on equine immunology. Santa Fe, Nuevo Mexico.*
- Majewski M, P Ochsner, F Liu, R Flückiger, C Evans. 2009. Accelerated Healing of the Rat Achilles Tendon in Response to Autologous Conditioned Serum. *The American Journal of Sports Medicine* 11, 2117-2125.
- Mathieu P. 1999. L'interleukine 1. Son rôle, son dosage, ses difficultés d'approche dans l'arthrose. Résultats d'une étude pilote avec la diacerheine (ART 50) dans la gonarthrose. *La Revue du Practicien* 49, 15-18.
- Martel-Pelletier J, N Alaaeddine, JP Pelletier. 1999. Cytokines and their role in the pathophysiology of osteoarthritis. *Frontiers in Bioscience* 4, 694-703.

- May SA, RE Hook, P Lees. 1990. The characterisation of equine interleukin-1. *Veterinary Immunology and Immunopathology*. 24, 169-175.
- Mishra A, P Tummala, A King. 2009. Buffered platelet-rich plasma enhances mesenchymal stem cell proliferation and chondrogenic differentiation. *Tissue Engineering Part C Methods* 15, 431–435.
- Morris EA, BS McDonald, AC Webb, LJ Rosenwasser. 1990. Identification of interleukin-1 in equine osteoarthritic joint effusion. *American Journal of Veterinary Research* 51, 59-64.
- Morisset S; D Frisbie, P Robbins, A Nixon, CW McIlwraith. 2007. IL-1ra/IGF-1 Gene Therapy Modulates Repair of Microfractured Chondral Defects. *Clinical Orthopaedics & Related Research* 462, 221-228.
- Murrell GAC, D Jang, RJ Williams. 1995. Nitric oxide activated metalloprotease enzymes in articular cartilage. *Biochemical and Biophysical Research Communications* 206, 15-21.
- Nicolson L, L McMonagle, S Taylor, C Hopkins, L Sanders, H van Kuilekom, N Scholtes, D Argyle, D Onions, V Schijns. 2001. Equine cytokines and associated reagents. *Proceedings of a workshop on equine immunology*, Santa Fe, Nuevo Mexico.
- Nixon A, J Haupt, D Frisbie, S Morisset, CW McIlwraith, P Robbins, C Evans, S Ghivizzani. 2005. Gene-mediated restoration of cartilage matrix by combination insulin-like growth factor-I/interleukin-1 receptor antagonist therapy. *Gene Therapy* 12, 177–186.
- Oligino T, SC Ghivizzani, D Wolfe, ER Lechman, D Krisky, Z Mi, CH Evans, PD Robbins, JC Glorioso. 1999. Intra-articular delivery of a herpes simplex virus IL-1Ra gene vector reduces inflammation in a rabbit model of arthritis. *Gene Therapy* 6, 1713–1720.
- Oke S, CW McIlwraith. 2010. Review of the Economic Impact of Osteoarthritis and Oral Joint-Health Supplements in Horses. *Joints AAEP*.
- Palmer JL, A Bertone. 1994. Joint structure, biochemistry and biochemical disequilibrium in synovitis and equine joint disease. *Equine Veterinary Journal* 26, 263-277.
- Pelletier JP, F Mineau, P Ranger, G Tardif, J Martel-Pelletier. 1996. The increased synthesis of inducible nitric oxide inhibits IL-1Ra synthesis by human articular chondrocytes; possible role in osteoarthritis cartilage degradation. *Osteoarthritis Cartilage* 4, 77-84.
- Pinto F, JA García Liñeiro. 2011. Proteína Antagonista del Receptor de la Interleuquina-1 en el Tratamiento de Artropatías de la Articulación Interfalangiana Distal en Equinos Resistentes a otros Tratamientos.

- Platvoet C. 2011. The success of IRAP treatment in degenerative joint disease in Swedish racehorses. *Memoria de titulo*. Facultad de Ciencias Veterinarias. Szent István University, Suecia.
- Pool R, DM Meager. 1990. Pathological findings and pathogenesis of racetrack injuries. *Veterinary Clinics of North America: Equine Practice* 4, 1-30.
- Poole R. 1999. An introduction to the pathophysiology of osteoarthritis. *Frontiers in Bioscience* 4, 662-670.
- Rindermann G, M Cislakova, G Arndt, B Carstanjen. 2010. Autologous conditioned plasma as therapy of tendon and ligament lesions in seven horses. *Journal of Veterinary Science*.11, 173-175.
- Robbins PD,CH Evans, Y Chernajovsky. 2003. Review:Gene therapy for arthritis. *Gene Therapy* 10, 902–911.
- Rutgers M, D Saris, W Dhert, L Creemers. 2010. Cytokine profile of autologous conditioned serum for treatment of osteoarthritis, in vitro effects on cartilage metabolism and intra-articular levels after injection. *Arthritis Research & Therapy*, 12, 114.
- Sheehan Sm, RE Allen. 1999. Skeletal muscle satellite cell proliferation in response to members of the fibroblast growth factor family and hepatocyte growth factor. *Jornal of Cell Physiology*. 181, 499-506.
- Stashak T, Ch Hill. 1995. Practical guide of lameness in horses.1st ed. Lippincott Williams&Wilkins, Iowa, USA. Pp 146-147.
- Swift A. 2012. Osteoarthritis 1: physiology, risk factors and causes of pain. *Nursing Times* 108, 12-15.
- Trippel SB, SC Ghivizzani, AJ Nixon. 2004. REVIEW: Gene-based approaches for the repair of articular cartilage. *Gene Therapy* 11, 351–359.
- Waguespack RW, RR Hanson. 2011. Surgical views: Treating navicular syndrome in equine patients. *Compendium on Continuing Education for the Practising Veterinarian* 33, 1-10.
- Wang C, CL Fu, YH Yang, YC Lo, LC Wang, YH Chuang, DM Chang, BL Chiang. 2006. Adenovirus expressing interleukin-1 receptor antagonist alleviates allergic airway inflammation in a murine model of asthma. *Gene Therapy* 13, 1414–1421
- Weinberger T. 2008. Clinical experience with ACS/Orthokine/IRAP in horses. *Equine Sports Medicine* 3.

- Weinreich DM, DM Elaraj, M Puhlmann, SM Hewitt, NM Carroll, ED Feldman, EM Turner, PJ Spiess, HR Alexander. 2003. Effect of interleukin 1 receptor antagonist gene transduction on human melanoma xenografts in nude mice. *Cancer Research* 63, 5957-5961.
- Wright-Carpenter T, P Klein, P Schäferhoff, HJ Appell, LM Mir, P Wehling. 2004. Treatment of muscle injuries by local administration of Autologous Conditioned Serum: A pilot study on sportsmen with muscle strains. *International Journal of Sports Medicine* 25, 588-593.
- Yablonka-Reuveni Z, R Seger, AL Rivera. 1999. Fibroblast growth factor promotes recruitment of skeletal muscle satellite cells in Young and old rats. *Journal of Histochemistry & Cytochemistry* 47, 23-42.