

**UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA
ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL**



Uso de interleucinas como tratamiento en la osteoartritis en equinos.

POR

DIANA CAROLINA AVILA PÉREZ

MONOGRAFÍA

**PRESENTADA COMO REQUISITO PARCIAL PARA
OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO DE 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Uso de interleucinas como tratamiento en la osteoartritis en equinos.

POR

DIANA CAROLINA AVILA PÉREZ

MONOGRAFÍA

**QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL H. JURADO EXAMINADOR
COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:**

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

PRESIDENTE:



MVZ. CARLOS RAUL RASCON DIAZ

VOCAL:



DR. RAMIRO GONZÁLEZ AVALOS

VOCAL:

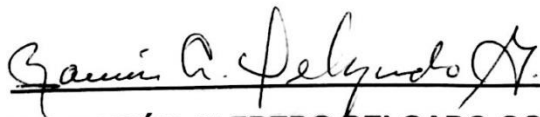


MVZ. ERIC ALEJANDRO REYES RAMÍREZ

VOCAL SUPLENTE:



DR. GERARDO DUARTE MORENO



DR. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ

COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL
Coordinación de la División Regional de Ciencia Animal



TORREÓN, COAHUILA

JUNIO DE 2017

UNIVERSIDAD AUTÓNOMA AGRARIA ANTONIO NARRO
UNIDAD LAGUNA
DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

Uso de interleucinas como tratamiento en la osteoartritis en equinos.

POR

DIANA CAROLINA AVILA PÉREZ

MONOGRAFÍA

QUE SE SOMETE A LA CONSIDERACIÓN DEL COMITÉ DE ASESORÍA COMO
REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL TÍTULO DE:

MÉDICO VETERINARIO ZOOTECNISTA

APROBADA POR

ASESOR PRINCIPAL:



DR. RAMIRO GONZÁLEZ AVALOS

ASESOR:



MVZ. ERIC ALEJANDRO REYES RAMÍREZ

ASESOR:



MVZ. CARLOS RAÚL RASCÓN





DR. RAMÓN ALFREDO DELGADO GONZÁLEZ
COORDINADOR DE LA DIVISIÓN REGIONAL DE CIENCIA ANIMAL

TORREÓN, COAHUILA

JUNIO DE 2017

AGRADECIMIENTOS

A mis papás y mi hermana, por su apoyo incondicional en cada decisión que he tomado en mi vida y siempre creer en mí. Y haberme proporcionado la mejor educación y enseñarme que con esfuerzo y trabajo todo se consigue.

A mis asesores por su colaboración, paciencia y dedicación. No pude tener mejores Médicos de los cuales aprender.

Gerardo Pallares, 5 años de hermandad, en las buenas y en las malas, el único que conoce todos mis planes.

Anna Ortiz, gracias por enseñarme que existen amistades que van y vienen, pero la nuestra es de las buenas que se quedan. No te cambio por nada ni nadie.

A todo el Staff de Kawell, por un mes lleno de aprendizaje tanto en lo personal como lo profesional. A Cata por ser la mejor compañera de pieza que puede tener.

A todas las personas que directa o indirectamente colaboraron para la elaboración de este trabajo, sin ustedes esto no hubiese sido posible.

DEDICATORIAS

A HUGO;

Aunque ya no estés conmigo sigues y seguirás siendo mi motivación diaria.

Para siempre, MI CAMPEÓN.

"I'll love you forever,

I'll like you for always,

As long as I'm living my baby you'll be."

RESUMEN

En la medicina deportiva del equino, las claudicaciones son unas de las principales patologías que afectan su desempeño atlético. Se menciona que el 60% de estas son debidas a la osteoartritis (OA). Existen diversos tratamientos para la OA, como los tratamientos convencionales (AINEs, corticoesteroides, ácido hialurónico) hasta el uso de terapias regenerativas donde se utiliza la sangre del mismo caballo para extraer factores de crecimiento y el receptor antagonista de la interleucina 1 (IL-1Ra) más conocida como IRAP. El IRAP se utilizó como tratamiento para la osteoartritis demostrando una mejoría en la claudicación luego de la inyección intraarticular. Hoy en día se realizan estudios para su uso en distintas patologías musculo esqueléticas. Existen estudios experimentales realizados en animales de laboratorio y seres humanos que sugieren su uso en tejidos blandos (lesiones musculares y tendinosas), así también en el tratamiento de asma y melanomas. Lo cual nos sugiere que existen muchas patologías en las cuales podría resultar útil su aplicación. Siendo una buena alternativa en el tratamiento de enfermedades inflamatorias las cuales cursan con destrucción del tejido adyacente por acción de la IL-1. El objetivo del presente trabajo es conocer y analizar los aspectos importantes y la aplicación del receptor antagonista de la interleucina 1 en el tratamiento de la osteoartritis en equinos.

Palabras clave: Osteoartritis, claudicación, IL-1, IL-1ra.

Índice general

AGRADECIMIENTOS	I
DEDICATORIAS	II
RESUMEN	III
ÍNDICE GENERAL	IV
ÍNDICE DE CUADROS	VI
ÍNDICE DE FIGURAS	VII
1. INTRODUCCIÓN	1
1.1. Objetivo	2
2. REVISIÓN DE LITERATURA	3
2.1. Anatomía de las articulaciones	3
2.2. Osteoartritis en los equinos	5
2.3. Fisiopatología de la osteoartritis	7
2.4. Diagnóstico de la osteoartritis	9
2.5. Función de las Citocinas	12
2.5.1. Factor de necrosis tumoral (TNF- α).	13
2.5.2. Interleucina 1 (IL-1).	14
2.5.3. Receptor antagonista de la IL-1 (IL-1Ra).	16
2.5.4. Interleucina 2 (IL-2).	16
2.5.5. Interleucina 4.	17
2.5.6. Interleucina 6 (IL-6).	17
2.5.7. Interleucina 10 (IL-10).	18
2.5.8. Interleucina 13 (IL-13).	19
2.5.9. Interleucina 17 (IL-17).	19
2.5.10. Metaloproteinasas de la matriz (MMP).	19
2.5.11. PGE2.	20
2.6. Tratamiento convencional para la OA	20
2.7. Terapia regenerativa	22
2.8. Plasma rico en plaquetas	22

2.9.	Aspirado de médula ósea (BMC)	23
2.9.1.	Suero autólogo condicionado (ACS).	24
2.9.2.	Mecanismos para la aplicación terapéutica de IL-1Ra.	24
2.10.	Terapia génica	24
2.10.1.	Terapia con IRAP	25
2.10.2.	Preparación	25
2.10.3.	Mecanismo de acción	27
2.11.	Aplicación en la osteoartritis	28
2.12.	Ventajas del uso de IRAP	30
2.13.	Desventajas del uso de IRAP	30
3.	CONCLUSIONES	31
4.	LITERATURA CITADA	32

Índice de cuadros

Cuadro 1.	Protocolo de tratamiento desarrollado para el uso de receptor antagonista de la interleucina 1 en el tratamiento de enfermedades articulares en el equino	29
-----------	---	----

Índice de figuras

Figura 1.	Anatomía de una articulación de la rodilla.	3
Figura 2.	Articulación femorotibial medial normal.	5
Figura 3.	Anatomía de una articulación de rodilla con osteoartritis.	6
Figura 4.	Inflamación presente en el tarso, indicadora de una artritis.	10
Figura 5.	Articulación interfalángiana proximal en una extremidad anterior con signos de artritis dorsal.	11
Figura 6.	Articulación metacarpofalángiana con signos de artritis en el aspecto medial de la primera falange.	12
Figura 7.	Aplicación de plasma rico en plaquetas.	23
Figura 8.	Extracción de sangre para IRAP.	26
Figura 9.	Separación del plasma y las plaquetas.	26
Figura 10.	Jeringa con IRAP.	27
Figura 11.	Aplicación de IRAP.	28
Figura 12.	Aplicación de IRAP.	28
Figura 13.	Pura Sangre Ingles tras aplicación con IRAP.	30

1. INTRODUCCIÓN

La osteoartritis (OA) es una condición crónica que con lleva a mucho dolor y a la pérdida progresiva de la movilidad, que reduce drásticamente la calidad de vida de los pacientes. Es la causa principal de discapacidad locomotora (Baltzer *et al.*, 2009). Además de ser una de las enfermedades de mayor importancia económica en los equinos. De hecho, un estudio sugiere que el 60 % de los problemas de cojera están relacionados con OA (Frisbie, 2005). El diagnóstico de la OA es primeramente basado en la historia clínica y los resultados del examen físico, se puede apoyar con el uso de imágenes radiográficas (Fox y Stephens, 2010).

Se han identificado diversas sustancias que influyen en el desarrollo de una patología articular como son las citocinas y mediadores inflamatorios que destruyen la membrana sinovial y degradan la matriz cartilaginosa del hueso. Dentro de estas se incluyen: las citoquinas como Interleucina 1 (IL-1) y Factor de necrosis tumoral alfa (TNF- α), Metaloproteinasas de la matriz (MMP's) y agrecanasas, prostaglandina E2 (PGE-2) y radicales libres (Nicolson *et al.*, 2001). De las citocinas identificadas en los problemas ortopédicos la IL-1 parece ser de especial importancia. El antagonista del receptor de la interleucina 1 (IL-1Ra) es una receptor competitivo antagonista de IL-1 con una afinidad por los receptores de tipo 1 y 2 de IL-1 (Wehling *et al.*, 2007).

El tratamiento médico más empleado 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. Sin embargo, estos tratamientos presentan ciertas

limitaciones ya que no es posible su uso continuado y además su eficacia no está totalmente demostrada (Baños *et al.*, 2009).

El suero autólogo condicionado (ACS) se prepara mediante la extracción de una muestra de sangre con una jeringa que contiene micro esferas de vidrio impregnadas de sulfato de cromo en su interior. Esta estimula la liberación de proteínas antiinflamatorias incluyendo el IL-1Ra, que se une al receptor de la IL-1 (Wright-Carpenter *et al.*, 2004). El tratamiento con ACS ha demostrado gran eficacia frente a diversas enfermedades articulares y supone una buena alternativa frente al controvertido uso de los corticoesteroides intraarticulares (Baños *et al.*, 2009).

Varios investigadores han informado acerca de la eficacia de IL-1Ra cuando se administra mediante una inyección intraarticular en un modelo canino de OA y en un estudio piloto en humanos o cuando se administra mediante transferencia génica intraarticular en perros, conejos y caballos (Baltzer *et al.*, 2009).

1.1. Objetivo

El objetivo del presente trabajo es conocer y analizar los aspectos importantes y la aplicación del receptor antagonista de la interleucina 1 en el tratamiento de la osteoartritis en equinos.

2. REVISIÓN DE LITERATURA

2.1. Anatomía de las articulaciones

Las articulaciones son estructuras formadas por una serie de tejidos conectivos: hueso, hueso subcondral, cartílago articular y tejidos peri-articulares (Figura1). Están formadas por dos superficies óseas cubiertas de cartílago que se encuentran en contacto, mediante su movilidad van a permitir el avance del caballo (Andrades, 2012).

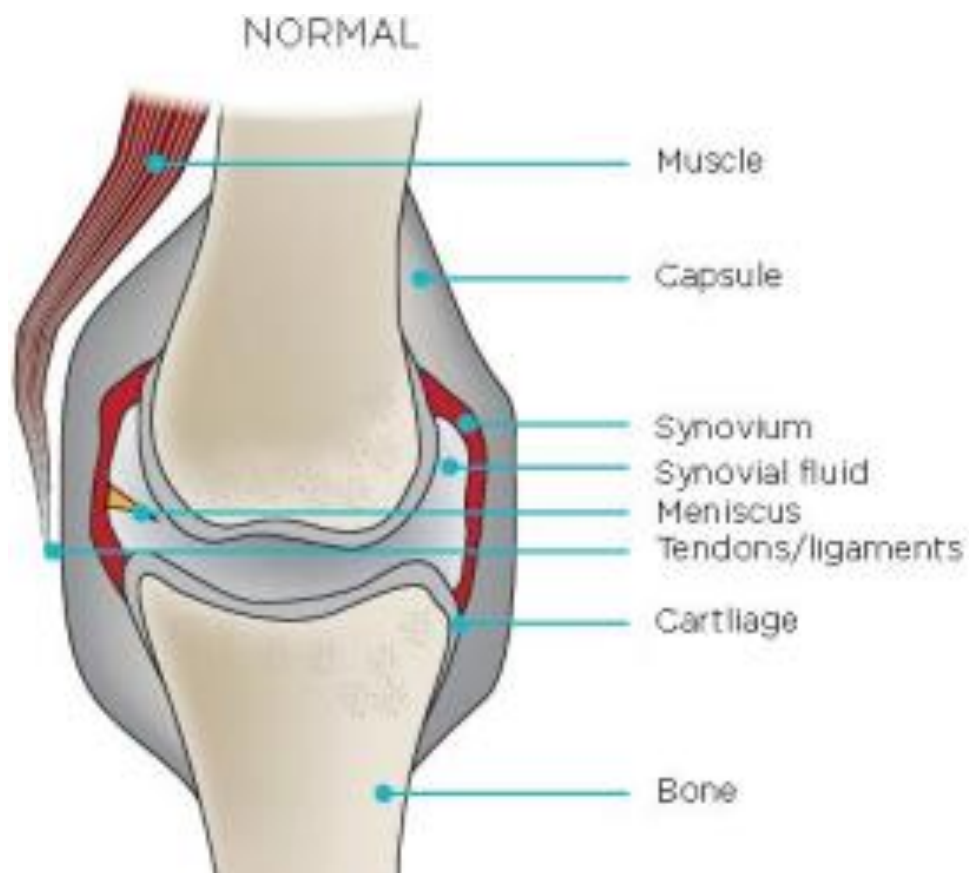


Figura 1. Anatomía de una articulación de rodilla (Tomada de Swift, 2012).

Existen 3 tipos de articulaciones: fibrosas, cartilagosas y sinoviales. Las articulaciones fibrosas son prácticamente inmóviles debido a eso son las menos afectadas, las cartilagosas presentan movilidad limitada, las articulaciones sinoviales tienen una alta capacidad de movimiento, por lo que son más propensas a sufrir lesiones (Kusch, 2013).

Las articulaciones sinoviales (Figura 2), están formadas por dos extremos óseos recubiertos por cartílago hialino, la capsula que los une y los ligamentos que los mantienen en contacto (Bernad, 2007). La membrana sinovial tiene la función de secretar el líquido sinovial con lo que se lubrica la articulación, suple de nutrientes, y elimina los productos de residuo del cartílago hialino articular (MacLeod, 2001). El cartílago articular amortigua y minimiza la fuerza a la que se somete la articulación. Es avascular, aneural, alinfático y está compuesto de condrocitos embebidos en una matriz extracelular compuesta de colágeno de tipo II, proteoglicanos y agua. Es la única estructura de la articulación cuyo daño es difícil de reparar (MacLeod, 2001, Bernad, 2007). Los condrocitos son los responsables de sintetizar todos los componentes de la matriz extracelular, elaboran una variedad de enzimas proteolíticas y sus inhibidores, encargados del control de la degradación y renovación de la matriz extracelular. Donde radica el centro de la osteoartritis, es basada por el desequilibrio entre enzimas y mediadores enzimáticos catalizadores, sobre los anabolizadores. Lo que conduce a una destrucción exagerada de la matriz extracelular produciendo daños en el cartílago articular conocidos como osteoartritis (McIlwraith, 2005).



Figura 2. Articulación femorotibial medial normal (Tomada de Andrades, 2012).

2.2. Osteoartritis en los equinos

La OA o enfermedad articular degenerativa (Figura 3), es la causa más importante de claudicación en los equinos (Van de Boom *et al.*, 2005). Aproximadamente el 60% de las claudicaciones en los equinos están relacionadas con la OA (Frisbie, 2005). A consecuencia de los esfuerzos que se realizan en las distintas disciplinas, en algunos casos esta situación también se ve acompañada por alteraciones en el desarrollo osteocondral normal a consecuencia de una mala alimentación en las primeras etapas del crecimiento (Caggiano *et al.*, 2013). Es una condición crónica progresiva que conlleva a dolor y pérdida de función que reduce drásticamente la calidad de vida y habilidad para el trabajo del paciente. La OA está acompañada por una serie de disfunciones mecánicas y biológicas dentro de la articulación (Baltzer *et al.*, 2009). Es caracterizada por una lenta y progresiva pérdida del cartílago articular, eburnificación del hueso subcondral e inflamación

de la membrana sinovial con aumento del líquido sinovial en la mayoría de los casos. En sus estadios más avanzados se puede observar erosión cartilaginosa y esclerosis del hueso subcondral, se generan osteofitos, fibrosis de la membrana sinovial y alteración macroscópica del líquido sinovial (Schett, 2007). Su etiología se considera principalmente de origen traumático, por ejemplo: sinovitis traumática, daño en los ligamentos, daño en los meniscos, fractura osteocondral y enfermedad del hueso subcondral (McIlwraith, 2001).

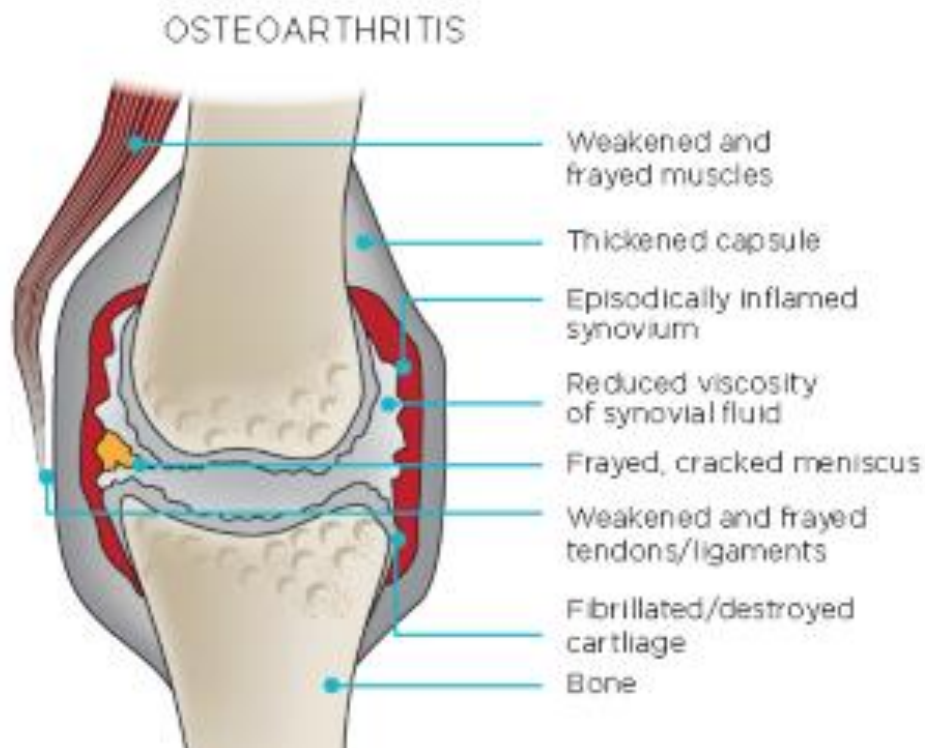


Figura 3. Anatomía de una articulación de rodilla con osteoartritis (Tomada de Swift, 2012).

La OA se puede clasificar como primaria o secundaria. La forma primaria es poco común y se define como un trastorno *per se* (por si solo), inherente a la articulación, sin una causa incitante identificada. Su forma secundaria es más frecuente, en el caballo suele estar asociada con: trauma, sobreuso, e inestabilidad articular. Puede resultar por infección articular, osteocondrosis o fracturas intraarticulares (McIlwraith y Trotter, 1996).

2.3. Fisiopatología de la osteoartritis

La OA se produce por un desequilibrio entre péptidos que estimulan la producción y remodelación de los componentes de la matriz extracelular (ECM) del cartílago articular. La salud articular depende de la expresión adecuada de varios factores de crecimiento, citocinas y enzimas remodeladoras de la ECM (Platt, 1996). Cuando el equilibrio se rompe aparece la enfermedad y los cambios degenerativos de la articulación se vuelven evidentes (McIlwraith y Trotter, 1996). La fisiopatología de la OA se puede dividir en dos procesos: catabólico y anabólico (Carmona y Giraldo-Murillo, 2007).

Proceso catabólico: Está relacionado con la expresión exagerada de la IL-1 que activa la expresión de numerosos metabolitos catabólicos, especialmente enzimas asociadas con la degradación de la ECM del cartílago articular como son las MMP's, son producidas en exceso por los sinoviocitos, condrocitos, macrófagos y neutrófilos (Platt, 1996). Las MMP's más involucradas en la OA son aquellas que poseen actividad colagenasa (MPP-1, MMP-8, MMP-13), gelatinasa (MPP-2, MMP-9) y estromelisinina (MMP-3, MMP-10 y MMP-11; Boom *et al.*, 2004). Su efecto depende de la proporción del nivel enzimático activo y de la presencia de

inhibidores tisulares de MMP's y α 2-macroglobulinas (Fernandes *et al.*, 2002). La producción de eicosanoides, principalmente prostaglandina E2 (PGE2) también es estimulada por la IL-1, vía COX2 (Tunget *et al.*, 2002). Estos son sintetizados por los leucocitos, condrocitos y sinoviocitos. La PGE2 promueve la vasodilatación, potencia la percepción del dolor, favorece la expresión del factor activador del plasminógeno y la degradación de proteoglicanos (Malemud *et al.*, 2003). Se ha indicado que también tiene efectos contra inflamatorios, debido a que estimula la expresión de citocinas antiinflamatorias y disminuye la expresión de los genes que codifican la producción de la IL-1 y MMP's. Es posible que la vía metabólica de la PGE2 sea necesaria para suprimir la inflamación (Van Miert, 2002). A su vez, los leucotrienos producidos vía lipoxigenasa desencadenan una vasodilatación y quimiotaxis. En caballos con enfermedad articular se ha encontrado una correlación positiva entre el número de leucocitos y los niveles de leucotrienos (Bertone y Palmer, 2001). El monóxido de nitrógeno (NO) es otro metabolito involucrado en la OA, actúa como un indicador de la destrucción de la ECM y produce apoptosis de condrocitos, disminuye la síntesis de colágeno, y la expresión de la IL-1Ra (Kim *et al.*, 2003).

Proceso anabólico: En este proceso el estado destructivo de la OA trata de ser contrarrestado con la expresión de diversos factores de crecimiento (Fernandes *et al.*, 2002). Se producen citocinas antiinflamatorias que inhiben parcialmente el efecto de los péptidos catabólicos. En ciertas situaciones diversas moléculas pro inflamatorias, por ejemplo: IL-6 y PGE2, inhiben la expresión de factores nucleares relacionados con la producción de metabolitos inflamatorios (Platt, 1996). Los

factores de crecimiento son péptidos multifuncionales que tienen acción anabólica y proliferativa sobre la ECM circulante y los condrocitos. Se han identificado varias de estas moléculas en la OA, las más descritas en el caballo son: factor de crecimiento insulínico 1 (IGF-I), factor de crecimiento insulínico 2 (IGF-II) y el factor de crecimiento transformante β (TGF- β ; Fortier *et al.*, 2004). Se producen distintas citocinas antiinflamatorias para disminuir la inflamación articular mediada por la IL-1 y otros metabolitos inflamatorios. Algunas de las citocinas reguladoras más descritas en la OA son la: IL-1Ra, IL-4, IL-10 y IL-13. Estas moléculas bloquean la expresión de factores nucleares pro inflamatorios (Carmona y Giraldo-Murillo, 2007).

2.4. Diagnóstico de la osteoartritis

El examen clínico del aparato locomotor lleva a determinar el grado y tipo de cojera, así como las lesiones macroscópicas o signos de inflamación en la articulación (Figura 4). Dentro de estos signos se incluye el cambio de color (roboración) alrededor de la piel de la articulación, incremento de la temperatura, disminución del movimiento y deformación de la articulación (McIlwraith, 2002).



Figura 4. Inflamación presente en el tarso, indicadora de una artritis (Tomada de Jackman, 2006).

El análisis bioquímico, un buen examen clínico, radiológico y la adecuada anamnesis es en lo cual debe basarse el veterinario para elaborar el diagnóstico, dar un pronóstico correcto y valorar la evaluación del paciente y su respuesta al tratamiento (Coppo y Mussart, 2000).

El examen radiológico de la articulación (Figura 5) debe constar de distintas posiciones radiológicas por ejemplo en la articulación del carpo son seis: dorsopalmar, lateroemodial, lateromedial en flexión, dorsolateral-palmomedial 60°, dorsomedial-palmolateral 60°, además de las vistas dorsoproximal-dorsodistal oblicua para obtener imágenes de la superficie dorsal del carpo (Thrall, 2001).



Figura 5. Articulación interfalangeana proximal en una extremidad anterior con signos de artritis dorsal (Tomada de Andrades, 2012).

Los cambios radiológicos que acompañan a la OA sólo son visibles en las fases avanzadas de la enfermedad (Figura 6), estos se asocian levemente con los signos clínicos. Se puede observar una marcada degeneración del cartílago, a pesar de una apariencia radiográfica normal de la articulación. Cuando los cambios radiográficos del cartílago articular son muy visibles nos indica que el daño es muy avanzado, debido a que la capacidad de reparación del cartílago articular adulto es bastante limitada, significa que las posibilidades terapéuticas también son limitadas (Van de Boom *et al.*, 2005).



Figura 6. Articulación metacarpofalángica con signos de artritis en el aspecto medial de la primera falange (Tomada de Andrades, 2012).

2.5. Función de las Citocinas

Las citocinas son péptidos de señalización, producidos por las células inflamatorias durante una lesión. Inician las respuestas de fase aguda, reclutan células retículo-endoteliales (linfocitos, monocitos y macrófagos), promueven la reparación de la herida e inducen la producción de otras citocinas. La red de citocinas equilibra los efectos pro-inflamatorios y anti-inflamatorios y un desequilibrio o una producción incontrolada de citocinas nos pueden resultar en una enfermedad inflamatoria (Weledji, 2014).

Entre sus propiedades generales cuentan con un periodo de secreción breve que se auto limita. Son sintetizadas y liberadas en respuesta a un estímulo que

aumenta la expresión de su ARNm para que pueda ser sintetizado el polipéptido. La IL-1 y el TNF- α , tienen un mecanismo de regulación post-trasduccional en el cual se produce la liberación de estos péptidos en su forma inactiva y son activados mediante mecanismos proteolíticos (Locksley *et al.*, 2001). Las citocinas tienen una acción pleiotrópica, le permite que actuar sobre diferentes tipos celulares dándole una gran variedad de funciones biológicas. Más de una citocina tiene la misma acción, a su vez influyen en la síntesis y acciones de otras citocinas como es el caso de la relación que se establece entre el TNF- α y la IL-1 (Caggiano *et al.*, 2013).

Las citocinas que median los distintos procesos inflamatorios-degenerativos son varias, algunas tienen mayor importancia tanto como por las acciones que llevan a cabo sobre los tejidos que constituyen a la articulación como por regular la actividad de otras citocinas. Debido a que no se pueden clasificar las citocinas en cuanto a la célula de origen o de acuerdo a su función biológica se agrupan en: Interleucinas (IL, numeradas de IL-1 a IL-35), Factor de necrosis tumoral (TNF), quimiocinas, interferones (IFN) y factores de crecimiento mesenquimal (Barros *et al.*, 2011).

2.5.1. Factor de necrosis tumoral (TNF- α). Es una citocina pro inflamatoria producida principalmente por monocitos, macrófagos y linfocitos T, también se encuentra en las neuronas y células de la glía. Está estructuralmente relacionado con la lintotoxina α también llamada FNT β y posee los mismos receptores FNTR1 y FNTR2 (Lin *et al.*, 2000).

El principal mediador de la respuesta inflamatoria aguda, se produce en gran cantidad por lo que se puede detectar en suero sanguíneo. Posee dos receptores (TNF-RI y TNF-RII) al ser activados, activan distintos factores de transcripción de numerosos genes dentro de las respuestas inmunitarias tanto innata como adquirida (Cabal-Hierro y Lazo, 2012). Actúa sobre los fagocitos mononucleares estimulando la secreción de IL-1 que actúa de manera similar contribuyendo a las reacciones inflamatorias locales que son perjudiciales para el huésped (Caggiano *et al.*, 2013). Se ha sugerido que en articulaciones equinas las citocinas IL-1 y TNF- α son moduladores de la síntesis de MMP's por parte de condrocitos y sinoviocitos, ya que son producidos por los condrocitos, sinoviocitos y linfocitos. Se ha probado que las citocinas inducen depleción y disminución de la síntesis de proteoglicanos (McIlwraith, 2005).

2.5.2. Interleucina 1 (IL-1). Es la citocina de mayor importancia en la degradación del cartílago articular (McIlwraith, 2005). La IL-1 es una glucoproteína expresada principalmente por los monocitos y macrófagos activados, también se pueden producir por otras células como son las endoteliales, células B y células T activadas (Dinarello, 1996). La mayoría de las células nucleadas son capaces de producirla al ser dañadas, pero los macrófagos producen las cantidades más grandes; son los productores clave de la inflamación (Oppenheim *et al.*, 1996).

Fue originalmente identificada en 1977 con capacidad para producir la mayoría de las enzimas involucradas en la destrucción cartilaginosa. En 1990 fue demostrada por primera vez en equinos que cursaban con inflamación articular por Morris *et al.*, Un extracto de IL-1 equina fue producido por May *et al.*, en este mismo año,

demostrando su habilidad para degradar la matriz cartilaginosa del hueso del equino (Kusch, 2013).

IL-1 actúa para promover las respuestas inmunes específicas de los antígenos, inflamación y el remodelamiento de la ECM. Tiene actividad de factor de crecimiento en las células T y B, su actividad pro inflamatoria afecta casi a cualquier suceso inflamatorio, actuando de forma parácrina (Giri *et al.*, 1995).

Existen dos tipos conocidos: IL-1 α y IL-1 β , ambos actúan sobre los mismos receptores, IL-1RI y IL-RII. IL-1RI se considera receptor activo, IL-RII no posee una molécula de transducción y es funcionalmente inactivo. IL-1 α está vinculada con las membranas celulares, actuando por medio de contactos celulares. IL-1 β produce una inflamación sistémica por medio de la activación de la ciclooxigenasa-2, con la formación de PGE₂ en el hipotálamo anterior causando fiebre (Barros *et al.*, 2011).

Existen tres estructuras que producen IL-1 en la articulación:

- 1) Membrana sinovial: la síntesis de IL-1 es producida por la resorción del cartílago cuando hay desfragmentación de proteoglicanos. Está presente en el líquido sinovial, penetra a través de las fisuras producidas por la fibrilación en el cartílago alcanzando las capas más profundas.
- 2) Áreas del hueso que se encuentran en contacto directo con el cartílago calcificado.
- 3) Cartílago: debido a la estimulación mecánica de los condrocitos (Mathieu, 1999).

2.5.3. Receptor antagonista de la IL-1 (IL-1Ra). La única función de la IL-1Ra es la de prevenir la respuesta biológica a la IL-1. Se liga al receptor tipo 1 produciendo un mecanismo inhibitor de la actividad de la IL-1. Las concentraciones de IL-1Ra en el líquido sinovial de pacientes con OA son elevadas, pero no lo suficiente como para inhibir la IL-1 y suprimir la inflamación (Ruiz, 2002).

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 extra celular llamada IL1Ra 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 la intracelular con menor afinidad. Experimentos in vivo han descubierto que se necesita de 100 a 200 veces más de lo normal de IL-1Ra para inhibir la actividad de IL-1 β , esta concentración normalmente no alcanza a presentarse en la OA, por lo cual habría una relativa deficiencia de IL-1Ra manteniéndose los niveles de actividad de IL-1 β en la articulación (Martel-Pelletier *et al.*, 1999).

2.5.4. Interleucina 2 (IL-2). Es una proteína producida por células T-CD4 principalmente y por las T-CD8 \dagger en menor cantidad. Actúa por medio de los receptores IL-R α , IL-R β y IL-R γ , utilizando la vía intracelular JAK/STAT (Familia Janus de tirosinocinasas/factores de transcripción) para estimular el crecimiento y proliferación de linfocitos-T y células-B. Induce la producción de otras citocinas como el IFN γ y FNT β , resultando en la activación de los monocitos, neutrófilos, y células natural killer (NK). IL-2 contribuye para la generación y propagación de las

respuestas inmunológicas específicas del antígeno (Raeburn *et al.*, 2002). Normalmente no se detecta en las lesiones agudas (Lin *et al.*, 2000). A pesar que los estudios *in vitro* indican que la IL-2 es pro inflamatoria, genera un efecto antihiperalgésico en su inyección intraplantar (Song *et al.*, 2000).

La IL-2 ha sido estudiada en aplicaciones clínicas como la terapia oncológica, inmunodeficiencia y rechazo a los trasplantes (Barros *et al.*, 2011).

2.5.5. Interleucina 4. Es una glucoproteína con propiedades antiinflamatorias, producida por linfocitos T-CD4, mastocitos, eosinófilos y basófilos. Posee acción sobre los linfocitos T y B, células NK, mastocitos, sinoviocitos y células endoteliales, utilizando la vía JAK/STAT. Induce la diferenciación de linfocitos B, para producir IgG e IgE, son inmunoglobulinas importantes en respuestas alérgicas y antihelmínticas (Sommer y White, 2010). Actúa sobre los macrófagos activados reduciendo los efectos de las citocinas IL-1, TNF- α , IL-6 e IL-8, inhibiendo la producción de radicales libres de oxígeno, aumenta la susceptibilidad de los macrófagos a los efectos de los glucocorticoides (Curf *et al.*, 1997).

IL-4 posee potencial terapéutico en situaciones clínicas como: osteoartritis, linfoma y asma (Yorimitsu *et al.*, 2008).

2.5.6. Interleucina 6 (IL-6). Es una glucoproteína segregada por distintos tipos de células como lo son los monocitos, eosinófilos, macrófagos, hepatocitos y la glía. La IL-1 y TNF α son potentes inductores (Sommer y White, 2010). Causa fiebre y activa el eje hipotálamo-hipofisario-adrenal utilizando los receptores alfa (IL-R α) y la subunidad gp130 (glucoproteína 130, miembro de la superfamilia de receptor de

citocinas de la clase I). Tiene una relación estructural con la IL-4, eritropoyetina, factor inhibidor de leucemia y factor neurotrófico ciliar (Curfset *al.*, 1997).

Es una citocina pro inflamatoria que genera la madurez y la activación de la neutrófilos, madurez de los macrófagos y la diferenciación/mantenimiento de los linfocitos T citotóxicos y las células natural killer (Lin *et al.*, 2000). Activa los astrocitos y la microglía, regulando la expresión de los neuropéptidos posterior a la lesión neuronal, contribuyendo para su regeneración (Curfset *al.*, 1997). También ejerce propiedades antiinflamatorias durante la lesión, por liberar receptores solubles de FNT (sFNTRs) y el receptor antagonista de la IL-1 (IL-1Ra) (Raeburn *et al.*, 2002).

2.5.7. Interleucina 10 (IL-10). Es un polipéptido no glucosilado, es sintetizado en células inmunológicas y en tejidos neuroendocrinos y neurales (Lin *et al.*, 2000). Su receptor (IL-10R) pertenece a la familia de receptores de citocina de clase II. La producción de la IL-10 se ve perjudicada por citocinas como IL-4, IL-13 y la IFN γ , también por su propia autorregulación (Sommer y White, 2010).

Inhibe las citocinas proinflamatorias, principalmente TNF, IL-1 e IL-6, estimulando la producción endógena de citocinas antiinflamatorias (Zhang y An, 2007). Aumenta la proliferación de mastocitos e impide la producción de IFN γ por las células natural killer (Curfset *al.*, 1997).

Sus efectos de supresión sobre las células Th1 pueden ser clínicamente útiles en la prevención al rechazo de trasplantes y para tratar enfermedades autoinmunes mediadas por células T por ejemplo la esclerosis múltiple y la diabetes mellitus tipo

1 (Lee *et al.*, 2006). También se puede observar un efecto benéfico en la sepsis, artritis reumatoide y soriasis (Asadullah *et al.*, 2004).

2.5.8. Interleucina 13 (IL-13). Sus características estructurales y funcionales son similares a las de la IL-4, a diferencia de la IL-4, no estimula la proliferación de los blastocitos inducidos por mitógeno o clones de linfocitos T y no promueve la expresión de CD8 α en clones de linfocitos T CD4 (Lin *et al.*, 2000).

Es una citocina antiinflamatoria producida principalmente por células T CD4, actúa en linfocitos B y monocitos. Inhibiendo la producción de óxido nítrico y distintas citocinas como: IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, IL-10, IL-12, proteína inflamatoria del macrófago 1 α , IFN α y FNT α . Aumenta la síntesis de IL-1Ra (Curfset *et al.*, 1997).

2.5.9. Interleucina 17 (IL-17). Es una glucoproteína, predominantemente producida por linfocitos T CD4. Es pro inflamatoria y conduce a la formación de IL-6 e IL-8 (quimiocina) y de la molécula de adhesión intercelular de fibroblastos humanos (Sommer y White, 2010).

2.5.10. Metaloproteinasas de la matriz (MMP). Los condrocitos y sinoviocitos al ser estimulados por la IL-1 y el TNF, producen MMPs que conducen al proceso catabólico que lleva a la destrucción del cartílago articular. Las MMPs se dividen en tres grupos de acuerdo a su tipo de actividad: las que son de actividad colagenasa (MMP-1, MMP-8, MMP-13), gelatinasa (MMP-2, MMP-9) y estomelisinina (MMP-3, MMP-10, MMP-11). MMP-13 es la primera MMP involucrada en la degradación del colágeno tipo 2 del cartílago articular. Las MMPs son liberadas como zimógenos inactivados, se activan por desdoblamiento enzimático, el cual depende del nivel enzimático activo (MMPs activas). La producción de

MMPs es regulada por la IL-1 y su control, para tratar de evitar la progresión de la degradación del cartílago articular. Además está a cargo de la presencia de inhibidores tisulares de MMPs (TIMs) y alfa2-macroglobulina (Carmona y Giraldo-Murillo, 2007).

2.5.11. PGE2. Las articulaciones inflamadas producen PGE2, que reduce el contenido de proteoglicanos del cartílago articular, por medio de degradación y disminución de la síntesis. Produce vasodilatación en los capilares sinoviales favoreciendo la inflamación de la membrana sinovial, un aumento en la percepción del dolor por sensibilización de los terminales nerviosos y actúa en la desmineralización ósea. También promueve la liberación del activador de plasminógeno generando plasmina a nivel sinovial, la que actúa como activador de las MMP-3, 10 y 11 (McIlwraith, 2005).

2.6. Tratamiento convencional para la OA

El tratamiento de la OA no sólo debe estar dirigido a contrarrestar la sintomatología clínica, sino que es necesario promover la reparación o disminuir la destrucción del cartílago articular (Malemud *et al.*, 2003).

El tratamiento de la OA equina se puede dividir en médico y quirúrgico. Modalidades como, reposo, terapia física, acupuntura, entre otros pueden formar parte del tratamiento general (Malone, 2002). Tradicionalmente el tratamiento de la OA en equinos ha sido con el uso de antiinflamatorios no esteroideos y corticoesteroides intraarticulares, tanto en artritis aguda como crónica. Actualmente tiene gran aceptación el uso de ácido hialurónico, glicosaminoglicanospolisulfatados y pentosanpolisulfato, en la clínica equina.

Generalmente estas sustancias son combinadas con corticoesteroides intraarticulares (Malone, 2002).

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; se presenta pérdida basofílica y disminución en la intensidad de la tinción con O safranina, necrosis de condrocitos e hiper celularidad, 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 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 (MacLeod, 2001).

Sauer *et al;* (1994) observaron una inhibición en la expresión de IL-1Ra y de la IL-1 en condrocitos tratados con dexametasona. Esto se observa cuando se inyecta periódicamente una articulación, al comienzo existe una buena respuesta a la terapia con corticoesteroides, al irse repitiendo las inyecciones se observa una disminución entre los intervalos de inyección en el tratamiento. Lo que significa que a mayor número de inyecciones con corticoesteroides en una articulación más

corto se hace el efecto terapéutico y más pronto se necesita ser tratada la articulación (Platvoet, 2011).

2.7. Terapia regenerativa

Consiste en sanar los tejidos de manera que estos vuelvan a su estado bioquímico original y retornen a sus características biomecánicas previas a la lesión. Existen varios tipos de terapias regenerativas, en las que se incluye, el plasma rico en plaquetas (PrP), células madre (aspirado de médula ósea), suero autólogo condicionado (ACS) y proteína antagonista del receptor de interleucina 1 (IRAP) (Fortier *et al.*, 2011a).

2.8. Plasma rico en plaquetas

Existen varias formas de preparación del PrP, en todas sus formas la concentración final de plaquetas del PrP varía entre 2 a 8 veces mayor a la concentración basal. El concepto de que PrP puede funcionar como tratamiento en patologías articulares (Figura 7), se basa en el rol fisiológico que tienen las plaquetas en la sanación de 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 son liberados cuando las plaquetas son activadas en el sitio de la lesión. El PrP también contiene glóbulos blancos con expresión de citocinas que aumentan la degradación del tejido. Lo que nos sugiere que la óptima preparación del 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 (Mishra *et al.*, 2009).



Figura 7. Obtención y aplicación de plasma rico en plaquetas (tomada de Wehling *et al.*, 2007).

2.9. Aspirado de médula ósea (BMC)

El concentrado de médula ósea se genera por centrifugado del aspirado de la médula ósea. Su ventaja sobre el PrP es que contiene células madres mesenquimáticas que han demostrado utilidad en la regeneración del cartílago y otros tejidos del sistema musculo esquelético. El BMC contiene plaquetas, por lo tanto es una fuente de factores de crecimiento derivados de plaquetas (PDGF) y factor de crecimiento transformante β (TGF- β) (Fortier *et al.*, 2011b).

2.9.1. Suero autólogo condicionado (ACS). Se produce por la incubación de sangre venosa con esferas de vidrio impregnadas con sulfato de cromo, lo que aumenta la concentración de PDGFs y TGF- β , aparte de un aumento en la concentración de IL-1Ra (Fortier *et al.*, 2011a).

2.9.2. Mecanismos para la aplicación terapéutica de IL-1Ra. Existen dos tipos de mecanismos para la aplicación de IL-1Ra: terapia génica y proteína recombinante (IRAP).

2.10. Terapia génica

Su objetivo es transferir moléculas terapéuticas que codifican genes a los tejidos intraarticulares para convertirse en sitios endógenos de síntesis de proteína terapéutica, puede ser en las células sinoviales o los condrocitos del cartílago articular. Estos genes son transferidos por vectores virales o no virales. Los virus más utilizados son, Adenovirus y Herpesvirus. Los cuales se pueden emplear de forma directa (*in vivo*) o indirecta (*ex vivo*) (Robbins *et al.*, 2003). La síntesis de IL-1Ra por las células modificadas genéticamente provee una protección mayor y más continúa contra IL-1, mientras que el IRAP se torna menos efectivo progresivamente (Gouze *et al.*, 2003). La combinación de la terapia génica con factores del crecimiento que estimulan la síntesis de la matriz cartilaginosa, para bloquear la acción de IL-1 tiene efectos de restauración de los niveles de proteoglicano sobre el cartílago (Nixon *et al.*, 2005).

Debido a sus limitaciones por el uso de vectores para la transferencia génica de IL-1Ra se le ha prestado más atención al uso del IRAP.

2.10.1. Terapia con IRAP

Es un concepto desarrollado en Alemania bajo el nombre de Orthokine®, corresponde a una terapia de ACS, luego se desarrolla en E.E.U.U. bajo el nombre de IRAP®. Desde el año 2001 es utilizado como tratamiento para la osteoartritis en equinos y otras condiciones inflamatorias (Weinberger, 2008).

2.10.2. Preparación

La IL-1Ra se obtiene a partir de la extracción de sangre de entera del animal (Figura 8), se extraen 50 ml de sangre en una jeringa que contiene microesferas de vidrio impregnadas con sulfato de cromo. El sulfato de cromo estimula a los leucocitos periféricos y plaquetas a producir IL-1Ra, también produce otras citocinas, cuya concentración varía dependiendo el individuo. Luego se incuba a 37°C durante 24 horas, después se centrifuga por 10 minutos a 3700 rpm. Para extraer el suero 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 el suero lentamente sin eritrocitos (Figura 9). Se filtra el suero con un filtro de .22 µm y se distribuye en jeringas de 5 ml. En promedio se colectan de 20 a 25 ml de suero, por lo tanto se obtienen de 5 a 6 dosis de IRAP (Figura 10). Las dosis varían de acuerdo a la articulación a tratar. Las dosis se pueden utilizar en fresco o congelar para su uso posterior (Weinberger, 2008).



Figura 8. Extracción de sangre para IRAP (tomada de Platvoet, 2011).



Figura 9. Separación del plasma y las plaquetas (tomada de Platvoet, 2011).



Figura 10. Jeringa con IRAP (tomada de Baños *et al.*, 2009).

2.10.3. Mecanismo de acción

Restaura la articulación y la función del cartílago articular, bloqueando la IL-1 funciona como una terapia antiinflamatoria. IRAP compite con la IL-1 por el sitio de unión al receptor de la IL-1, así evitando que cause la inflamación (Platvoet, 2011).

Se considera que un exceso en la cantidad de IL-1Ra de 10 – 1,000 veces más que la IL-1 sería efectiva para bloquear todos los receptores a la IL-1 presentes en el tejido (Wehling *et al.*, 2007).

Se ha demostrado que en el suero producido por el proceso de incubación (Orthokine) con sangre humana, se incrementaron 140 veces los niveles de IL-1Ra, también hubo un incremento en el factor de crecimiento fibroblástico 2 (FGF-2) y TGF- β 1, otros factores que aumentaron fueron IGF-1 y PDGT (Wehling *et al.*, 2007). IRAP no puede revertir un daño articular permanente, pero sirve para prevenir futuras inflamaciones y reducir el progreso de la enfermedad (Frisbie, 2005).

2.11. Aplicación en la osteoartritis

Su uso es recomendado en OA que van de leves a moderados, especialmente en articulaciones que no se quieren inyectar continuamente con corticoesteroides (Figuras 11 y 12). Para el tratamiento de OA (Cuadro 1), se realizan de dos a tres tratamientos intra-articulares con un intervalo de 7 días (Frisbie, 2005).



Figura 11. Aplicación de IRAP en menudillo (tomada de Baños *et al.*, 2009).



Figura 12. Aplicación de IRAP en rodilla (tomada de Platvoet, 2011).

Cuadro 1. Protocolo de tratamiento desarrollado para el uso de IRAP en el tratamiento de enfermedades articulares en el equino (tomado de Weinberger, 2008).

Indicaciones	Protocolo tratamiento
Articulación interfalángiana distal	D: 4-6ml; N: 2-3 veces, I: 8-14 días
Articulación interfalángiana proximal	D: 2-4ml, N: 2-3 veces, I: 8-14 días.
Articulación metacarpofalángica	D: 4-6ml, N: 2-3 veces, I: 8-14 días.
Articulación Carpo (una sección)	D: 2-4ml, N: 2-3 veces, I: 8-14 días.
Articulación humeroradiocubital	D: 4-6ml, N:2-3 veces, I: 8-14 días
Articulación escapulohumeral	D: 4-6ml, N:2-3 veces, I: 8-14 días.
Articulación tarsometatarsiana	D: 1-2ml, N: 2-3 veces, I: 8-14 días
Articulación tarso	D: 6-8ml, N: 2-3 veces, I: 8-14 días
Articulación femorotibiopatelar	D: 4-8 ml, N: 2-3 veces, I: 8-14 días.
Articulación acetabulofemoral	D: 4-8ml, N: 2-3 veces, I: 8-14 días.

D: dosis, N: número total de dosis, I: intervalo entre dosis.

Después de la inyección se debe vendar la articulación por dos días, y mantener al caballo en reposo absoluto durante 3 días, se comienza con caminatas a mano durante 30 a 45 minutos, después una semana montado a paso, sigue con otra semana montado a paso y trote, antes de regresar a su programa de entrenamiento (Figura 13). En algunos casos se suelen utilizar herraduras correctivas (Platvoet, 2011).



Figura 13. Pura Sangre Ingles tras aplicación con IRAP (tomada de Baños *et al.*, 2009).

2.12. Ventajas del uso de IRAP

- 1) Existe un riesgo al rechazo del tratamiento muy bajo, debido a que es preparado con la propia sangre del paciente.
- 2) Su preparación es simple y rápida.
- 3) Su uso no tiene riesgo en la presentación de laminitis en comparación al tratamiento intraarticular con corticoesteroides.
- 4) Puede utilizarse en competencias, ya que no se muestra en el antidoping.
- 5) Se puede utilizar en caballos que no estén teniendo una buena respuesta a otros tratamientos para OA (Wehling *et al.*, 2007; Platvoet, 2011).

2.13. Desventajas del uso de IRAP

- 1) Tiene un costo muy elevado.
- 2) Se han reportado algunas reacciones adversas al inyectar IRAP, 24 horas después del tratamiento se observó, irritación, calor y dolor, en el sitio de la inyección.
- 3) Su vida media intraarticular es corta (Frisbie, 2005; Platvoet, 2011).

3. CONCLUSIONES

La IL-1 es la citosina responsable de la degradación cartilaginosa articular mientras que el TNF- α contribuye más al dolor asociado al daño articular. La membrana sinovial es la clave en la producción de efectos inflamatorios en la osteoartritis. Por lo tanto el receptor antagonista de la IL-1 es producido como una respuesta a infección o inflamación para inhibir competitivamente la inflamación local que es producida por la IL-1, un desbalance entre ambos nos predispone a una OA o distintas enfermedades inflamatorias. El tratamiento con el IL-1Ra es considerado medicina regenerativa, esta consiste en sanar los tejidos dañados de manera que estos vuelvan a su estado bioquímico previo a la lesión y retornen a sus características biomecánicas previas. Algunos de los tratamientos regenerativos incluyen el plasma rico en plaquetas, suero autólogo acondicionado y el aspirado de médula ósea. En cuanto al IL-1Ra existen dos mecanismos de aplicación: proteína recombinante (IRAP) o terapia génica. En la medicina deportiva se utiliza IRAP para el tratamiento de la osteoartritis, enfermedad navicular, artropatía de la articulación interfalangiana distal, entre otros, obteniendo buenos resultados. Considerando las ventajas y desventajas del uso de IRAP, se considera que es una terapia regenerativa que promete grandes beneficios en el tratamiento de distintas patologías.

4. LITERATURA CITADA

- Andrades, A. 2012. La artritis en el caballo, ¿una patología fatal? PV Argos. : 40
- Asadullah, K., Sabat, R., Friedrich, M. 2004. Interleukin-10: an important immunoregulatory cytokine with major impact on psoriasis. *Curr Drug Targets Inflamm Allergy*. 3:85-192.
- Baltzer, A. W., Moser, C., Jansen, S. A., Krauspe, R. 2009. Autologous conditioned serum (Orthokine) is an effective treatment for knee osteoarthritis. *Osteoarthritis and Cartilage*. 17:152-160.
- Baños, A., De Guindos, I., Varela, M. y Santiago, I. 2009. Proteína antagonista de interleuquina-1 (IRAP) para el tratamiento de enfermedades articulares en los caballos de carreras. *Revista Complutense de Ciencias Veterinarias*. 3(2):299-306.
- Barros, C. M., Kimiko, R., Machado, A., Gerola, L. R. y Salomao, R. 2011. Citocinas y Dolor. *Revista Brasileira de Anestesiologia*. 61(2):139-142.
- Bernad, M. 2007. Actualización en Artrosis. *Actualizaciones El Médico*. Ed.Saned: 7-9.
- Bertone, A. L., Palmer, J.L. 2001. Synovial fluid cytokines and eicosanoids as markers of joint disease in horses. *Veterinary Surgery*. 30:528-538.
- Boom, R., Brama, P.A.J., Kiers, G.H. 2004. The influence of repeated arthrocentesis and exercise on matrix metalloproteinase and tumour necrosis factor α activities in normal equine joints. *Equine Veterinary Journal*. 36(2):155-159.
- Cabal-Hierro, L., Lazo, P. S. 2012. Signal transduction by tumor necrosis factor receptors. *Cellular Signalling*. 24(6):1297-1305.
- Caggiano, N., Rolando, J., Polli, M., Perrone, G., Marino, M., De Simone, E., Chiappe, B.A. 2013. Citoquinas, Metaloproteinasas y Bisfosfonatos: claves para el control de la enfermedad articular degenerativa en el equino. *Rev. Electrónica de Veterinaria*. 14(7):1-21.
- Carmona, J.U., Giraldo-Murillo, C.E. 2007. Fisiopatología y tratamiento convencional de la osteoartritis en el caballo. *Vet.Zootec*. 1(1):60-73.
- Coppo, J.A. y Mussart, N.B. 2000. Apoyatura bioquímica al diagnóstico veterinario, Casuística registrada tras 25 años de funcionamiento de un servicio de análisis clínicos. *Rev Vet*. 10(11):34-39.

- Curfs, J.H., Meis, J.F. y Hoogkamp-Korstanje, J.A. 1997. A primer on cytokines: sources, receptors, effects, and inducers. *ClinMicrobiol Rev.* 10:742-780.
- Dinarello, Ch.A. 1996. Biologic basis for interleukin-1 in disease. *Blood.*87 (20):95-147.
- Fernandes, J.C., Martell-Pelletier, J. Pelletier, J.P. 2002. The role of cytokines in osteoarthritis pathophysiology. *Biorheology.* 39(2):237-246.
- Fortier, L., Sundman, E., Schnabel, L., Cole, B., Bosweel, S., Karas, V., 2011b. 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.
- Fortier, L., Barker, J., Cole, B., Strauss, E. y McCarel, T. 2011a. The Role of Growth Factors in Cartilage Repair. *Clinical Orthopaedics and Related Research.*469:2706-2715.
- Fortier, L.A., Mohammed, H. O., Lust, G. 2004. Insulinlike growth enhances cell-based repair of articular cartilage. *Journal of Bone and Joint Surgery (Br),* 84(2):276-288.
- Fox, B. A. y Stephens, M. M. 2010. Treatment of knee osteoarthritis with Orthokine-derived autologous conditioned serum. *Expert Reviews.* 6(3):335-345.
- Frisbie D. 2005. Future Directions in Treatment of Joint Disease in Horses. *Veterinary Clinics Equine Practice.* 21:713-724.
- Giri, J. G., Loddedico, P. T., Mizel, S. B. 1995. Studies on the synthesis and secretion of interleukin 1. *Inmunol.* 134:346-349.
- Gouze J, Gouze E, Palmer G, Liew V, Pascher A, Betz O, Thornhill T, Evans C, Grodzinsky A, Ghivizzani S. 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.
- Jackman, BR. 2006. Review of Equine Distal Hock Inflammation and Arthritis. *Memorias de AAEP.* Oakdale, CA.
- Kim, D.Y., Taylor, H. W. y Moore, R.M. 2003. Articular chondrocyte apoptosis in equine osteoarthritis. *The Veterinary Journal.*166:52-57.

- Kusch, K.A. 2013. Proteína Antagonista de Receptores de Interleukina (IRAP) y sus Aplicaciones en la Traumatología Equina. Memorias. Universidad de Buenos Aires, Facultad de Ciencias Veterinarias.
- Lee, M., Park, H., Youn, J. 2006. Interleukin-10 plasmid construction and delivery for the prevention of type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci.* 1079:313-319.
- Lin, E., Calvano, S.E. y Lowry, S.F. 2000. Inflammatory cytokines and cell response in surgery. *Surgery.* 127:117-126.
- Locksley, R.M., Killeen, N. y Lenardo, M.J. 2001. The TNF and TNF receptor superfamilies: integrating mammalian biology. *Cell.* 104(4):487-501.
- MacLeod, J. 2001. Chondrocytic response to joint inflammation and corticosteroids. Proceedings of a workshop on equine immunology. Santa Fe, Nuevo Mexico.
- Malemud, C. J., Islam, N., Haqqi, T.M. 2003. Pathophysiological mechanisms in osteoarthritis lead to novel therapeutic strategies. *Cells Tissues and Organs.* 174(1-2):34-48.
- Malone, E.D. 2002. Managing chronic arthritis. *Veterinary Clinics: Equine.* 18:411-437.
- Martel-Pelletier, J., Alaaeddine, N., Pelletier, J.P. 1999. Cytokines and their role in the pathophysiology of osteoarthritis. *Frontiers in Bioscience.* 4:694-703.
- 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.
- May, S.A., Hook, R. E. y Lees, P. 1990. The characterisation of equine interleukin-1. *Veterinary Immunology and Immunopathology.* 24:169-175.
- McIlwraith, C.W., Trotter, G.W. 1996. Joint disease in the horse. Philadelphia: WB Saunders Company. p.40-70.
- McIlwraith, C.W. 2001. Disease processes of synovial membrane, fibrous capsule, ligaments, and articular cartilage. AAEP proceed 47, San Diego, California, USA. 142-156.
- McIlwraith, C. W. 2005. From Arthroscopy to Gene Therapy - 30 Years of Looking in Joints. Proceedings of the Annual Convention of the AAEP, Seattle, Washington, USA. : 65-113.
- McIlwraith, C.W. 2002. Arthroscopic Surgery for Osteochondral Chip Fragments and Other Lesions Not Requiring Internal Fixation in the Carpal and Fetlock

of the Equine Athlete: What Have We Learned in 20 Years. *Clinical Techniques in Equine Practice*. 1:200-210.

- Mishra, A., Tummala, P., King, A. 2009. Buffered platelet-rich plasma enhances mesenchymal stem cell proliferation and chondrogenic differentiation. *Tissue Engineering Part C Methods*.15:431-435.
- Morris, E.A., McDonald, B.S., Webb, A. C. y Rosenwasser, L.J. 1990. Identification of interleukin-1 in equine osteoarthritic joint effusion. *American Journal of Veterinary Research*.51:59-64.
- Nixon, A., Haupt, J., Frisbie, D., Morisset, S., McIlwraith, C.W., Robbins, P., Evans, C., Ghivizzani, S. 2005. Gene-mediated restoration of cartilage matrix by combination insulin-like growth factor-I/interleukin-1 receptor antagonist therapy. *Gene Therapy*. 12:177-186.
- Oppenheim, J.J., Kevacs, E.J., Mat Sushima, K. y Durum, S.K. 1996. There is more than one interleukin-1. *Inmunol Today*. 162:501-515.
- Platt, D. 1996. Articular cartilage homeostasis and the role of growth factors and cytokines in regulating matrix composition. In: McIlwraith C.W.; Trotter G.W. *Joint disease in the horse*. Philadelphia: WB Saunders Company. : 29-40.
- Platvoet, C. 2011. The success of IRAP treatment in degenerative joint disease in Swedish racehorses. *Memorias. Facultad de Ciencias Veterinarias. Szentlsvá University, Suecia*.
- Raeburn, C.D., Sheppard, F., Barsness, K.A. 2002. Cytokines for surgeons. *Am J Surg*. 183: 268- 273.
- Robbins, P.D., Evans, C.H., Chernajovsky, Y. 2003. Review: Gene therapy for arthritis. *Gene Therapy*. 10:902-911.
- Ruiz, B.P. 2002. Antagonista del receptor de IL-1. *Rev. Esp. Reumatol*. 29(3):120-124
- Sauer, J., Arzt, E., Gumprecht, H. 1994. Expression of interleukin-1 receptor antagonist in human pituitary adenomas in vitro. *Endocrinol Metab*. 79: 1857- 1863.
- Schett, G. 2007. Erosive arthritis. *Arthritis Res Ther*. 9(1):1-6.
- Sommer, C., y White, F. 2010. Cytokines, Chemokines, and Pain, in: Beaulieu P, Lussier D, Porreca F, *Pharmacology of Pain*. 1st Ed, Seattle, IASP Press. :279-302.

- Song, P., Zhao, Z.Q., y Liu, X.Y. 2000. Expression of IL-2 receptor in dorsal root ganglion neurons and peripheral antinociception. *Neuroreport*. 11:1433-1436.
- Swift, A. 2012. Osteoarthritis 1: physiology, risk factors and causes of pain. *Nursing Times*. 108:12-15.
- Thrall, D.E. 2001. Tratado de Diagnóstico Radiológico Veterinario. Tercera Edición. Editorial Inter-Médica, Buenos Aires. Argentina. :230-235.
- Tung, J.T., Arnold, C.E. y Alexander, L.H. 2002. Evaluation of the influence of prostaglandin E2 on recombinant equine interleukin-1stimulated matrix metalloproteinases 1, 3, and 13 and tissue inhibitor of matrix metalloproteinase 1 expression in equine chondrocyte cultures. *American Journal of Veterinary Research*. 63(7):987-993.
- Van den Boom, R., Van de Lest, C.H., Bull, S., Brama, R., Van Weeren, P.R., y Barneveld, A. 2005. Influence of repeated arthrocentesis and exercise on synovial fluid concentrations of nitric oxide, prostaglandin E2 and glycosaminoglycans in healthy equine joints. *Equine Vet J*. 37:250-256.
- Van Miert, A.S.J. 2002. Present concepts on the inflammatory modulators with special reference to cytokines. *Veterinary Research Communications*. 26:111-126.
- Wehling, P., Moser, C., Frisbie, D., McIlwraith, C.W., Kawcak, C.E., Krauspe, R., y Reinecke, J.A. 2007. Autologous Conditioned Serum in the Treatment of Orthopedic Diseases. *Biodrugs*. 21(5):323-332.
- Weinberger, T. 2008. Clinical experience with ACS/Orthokine/IRAP in horses. *Equine Sports Medicine*. 3:1-5.
- Weledji, E.P. 2014. Cytokines and the metabolic response to surgery. *Journal of clinical and cellular immunology*. 5(2):1-5.
- Wright-Carpenter, T., Klein, P., Schäferhoff, P., Appell, H.J., Mir, L.M., Wehling, P. 2004. Treatment of muscle injuries by local administration of autologous conditioned serum. *Int. J SportsMed*. 25: 588-593.
- Yorimitsu, M., Nishida, K. y Shimizu, A. 2008. Intra-articular injection of interleukin-4 decreases nitric oxide production by chondrocytes and ameliorates subsequent destruction of cartilage in instability-induced osteoarthritis in rat knee joints. *Osteoarthritis Cartilage*. 16:764-771.
- Zhang, J.M., An, J. 2007. Cytokines, inflammation, and pain. *Int Anesthesiol Clin*. 45:27-37.