

## USO DEL COLÁGENO II EN OSTEOARTRITIS

Autores: Kalayan G, Beltramo D, Giménez O.  
Córdoba - Octubre de 2006

### INTRODUCCIÓN

La artrosis es una de las enfermedades que con mayor frecuencia afecta a las articulaciones de la población adulta. Existe una relación directa entre el envejecimiento y la prevalencia de la enfermedad, que puede alcanzar hasta el 70% de la población mayor de 40 años.

El inicio de los síntomas es insidioso, la rigidez matinal rara vez dura más de 30 min, la presencia de rigidez post inactividad suele ser muy intensa, el dolor al movimiento aumenta con el uso de las articulaciones y cede con el reposo, el engrosamiento y deformación visible es lentamente progresiva. Al avanzar la enfermedad el dolor se hace más intenso, la capacidad funcional articular disminuye y, con el tiempo, aparece dolor en reposo. El derrame articular leve puede presentarse en cualquier momento de la enfermedad. No hay manifestaciones sistémicas. Es importante destacar que los cambios radiológicos no se correlacionan con cambios en los síntomas ni en la función.

El examen articular puede mostrar la presencia de osteofitos, crepitación, disminución de la amplitud de movimiento y derrame articular.

Las articulaciones afectadas más frecuentemente son las interfalángicas distales, la primera carpometacarpiana, las rodillas, las caderas, la columna cervical y lumbar.

Biología del cartílago: El cartílago es un tejido viscoelástico que proporciona a la articulación resistencia y baja fricción entre las superficies articulares, lo cual permite soportar fuerzas de compresión minimizando su efecto en el hueso subcondral<sup>1,2,3</sup>, es un tejido compuesto por una sola clase de células, el condrocito y la matriz intracelular. Los elementos estructurales de esta matriz incluyen los proteoglicanos y la malla de fibras colágenas que son los responsables de la extraordinaria elasticidad. El cartílago articular está aislado de las células medulares por la zona calcificada, lo cual hace imposible tener acceso a su vascularidad, debido a esta escasa irrigación sanguínea el cartílago articular tiene pocas posibilidades propias de reparación, ya que la respuesta a un daño de cualquier tejido del organismo está en dependencia de la hemorragia, la formación del coágulo de fibrina y la participación de mediadores y factores de crecimiento. Por esta razón, todo trauma que afecte los condrocitos y la matriz extracelular, que no penetre al hueso subcondral tiene poca o ninguna capacidad de reparación; la única reacción de reparación espontánea que ocurre en la zona superficial es la proliferación transitoria de los condrocitos cerca de los bordes del defecto.<sup>4,5</sup>

La ruptura de la zona superficial incrementa considerablemente la permeabilidad del tejido así como las fuerzas de compresión sobre la misma y constituye uno de los primeros cambios en la osteoartritis degenerativa. La destrucción de esta zona favorece la liberación de moléculas cartilaginosas dentro del líquido sinovial lo cual estimula la respuesta inmune e inflamatoria.<sup>6,7</sup> Los efectos a largo plazo del daño cartilaginoso localizado está en dependencia de la capacidad de los condrocitos y de la

matriz para sobrevivir. Cuando el daño mecánico solo afecta la matriz y no a los condrocitos existe grandes posibilidades de que los condrocitos puedan sintetizar una nueva matriz y restaurar las propiedades normales. Sin embargo, si ocurre la lesión de condrocitos el proceso de reparación es más limitado. Como resultado de este daño del cartílago se transmite una mayor cantidad de fuerzas al hueso subcondral con el consiguiente engrosamiento y rigidez de la placa subcondral, este incremento en la rigidez del hueso subcondral facilita mayor impacto y estrés en el cartílago restante lo que crea un círculo vicioso entre la degeneración cartilaginosa y la rigidez subcondral.<sup>8</sup>

La integridad del cartílago depende entonces de los condrocitos. El recambio (turnover) de la matriz normal es lento, en especial del colágeno. El tejido se mantiene por un control del balance de las actividades anabólicas y catabólicas. Existe un flujo continuo hacia el líquido sinovial de moléculas sintetizadas y degradadas.

Las fibras de colágeno están compuestas principalmente de colágeno tipo II y pequeñas cantidades de colágenos tipo V, VI, IX y XI. La síntesis y degradación de las macromoléculas de la matriz intercelular permanece constante durante la vida adulta y sólo cambia lentamente con el avance de la edad.

El colágeno es una proteína insoluble importante para el mantenimiento de la estructura del organismo. Las fibras colágenas han sido halladas en cartílago, tendones, ligamentos, piel, córnea, vasos sanguíneos, huesos, membrana basal y tejido conectivo. Se ha evidenciado la alteración de la síntesis de colágeno II en pacientes con OA.<sup>9</sup> Se ha demostrado que el colágeno tipo II induce artritis experimental<sup>10</sup> y se encuentra unido y estabilizado por uniones covalentes con el colágeno IX, este último otorga propiedades compresivas y cohesivas al cartílago, y se ha demostrado que mutaciones en el gen del colágeno IX representan factor de riesgo para osteoartritis.<sup>11</sup> La expresión del gen para colágeno II y IX se correlaciona con cambios ultraestructurales en el cartílago, en modelos de artrosis temprana.<sup>12</sup> Son de particular interés los defectos genéticos descritos en el gen estructural del colágeno tipo II en pacientes con forma familiar de la enfermedad, quienes presentaban una mutación de base única que produjo la sustitución de arginina por cisteína en la posición 519 de la cadena  $\alpha 1$  del colágeno tipo II.<sup>13</sup>

La administración oral de colágeno II fue utilizada en Artritis Reumatoidea donde se demostró un descenso significativo de TNF- $\alpha$  (citokina proinflamatoria) y una mejoría clínica manifestada al disminuir la rigidez matinal, el dolor y la inflamación de las articulaciones dañadas.<sup>14,15</sup>

Teniendo en cuenta la presencia de colágeno II en el cartílago y su eficacia demostrada en AR se realizó este estudio con el objetivo de evaluar el uso de colágeno II en Artrosis.

MATERIAL Y  
MÉTODOS

**S**e estudiaron 94 pacientes de la provincia de Córdoba 81 mujeres y 13 varones con un promedio de edad de 64 años.

## Criterios de inclusión:

- Diagnóstico de Artrosis de acuerdo a los criterios del Colegio Americano de Reumatología(12)
- Tratamiento con AINEs y corticoesteroides (dosis igual o menor a 10mg/día de prednisona) de acuerdo a las necesidades del paciente
- Consentimiento escrito de los pacientes, quienes fueron informados sobre los eventuales riesgos y beneficios de este tipo de tratamiento.

## Criterios de exclusión:

- Todos los pacientes que hubieran padecido o padeciesen: insuficiencia cardíaca, disfunción hepática (GOT>55mUI/ml), insuficiencia renal (creatinina>2,0mg/dl), enfermedades malignas o procesos infecciosos agudos o crónicos
- Embarazo
- Pacientes con daños articulares irreversibles de las articulaciones afectadas.

A los pacientes estudiados se les administró CBII (suministrado por Laboratorio Química Luar) por vía oral en una dosis de 500 microgramos / día en ayunas de 30 minutos antes de cualquier ingesta durante tres meses. Todos los pacientes fueron examinados al mes 0, 1, 2 y 3 después del inicio del tratamiento. La eficacia del tratamiento se evaluó de acuerdo a los criterios del Colegio Americano de Reumatología. Para cada articulación afectada, se estudio realizó una evaluación global de la actividad de la enfermedad y de la eficacia del tratamiento por parte del paciente y del médico.

Se evaluó en rodilla: dolor, rigidez, crepitación, osteofitos, calor no palpable, crecimiento óseo, dolor óseo y FR; en cadera: dolor, osteofitos femorales o acetabulares, reducción del espacio interarticular (sup. axial y/o medial); en manos: dolor, rigidez en minutos, malestar, deformidad, inflamación, N° de articulaciones afectadas; en columna: dolor y movilidad

La eritrosedimentación globular se determinó por el método de Westergreen y el Factor Reumatoideo por aglutinación de látex e inmunoturbidimetría.

RESULTADOS

**S**e estudiaron 94 pacientes con artrosis los cuales todos cumplieron los tres meses de tratamiento. El dolor se evaluó con la siguiente escala:

Dolor	Nivel
Severo	3
Moderado	2
Leve	1
Ausente	0

Artrosis de Columna:

50 casos (100%): 44 mujeres (88%) y 6 varones (12%).

Edad Promedio: 64 años.

Dolor (Valor Inicial promedio): 2,81

Desviación Estándar: 0,48

Dolor (valor a los 3 meses promedio): 0,77

Desviación Estándar: 0,96



Luego de 3 meses en tratamiento, en el 50% de los casos el dolor de columna estuvo ausente y en el 76% de los casos se presentó como leve o mínimo.

Si se agrupan los valores de nivel de dolor en grupos por edad, podemos observar que en la franja de pacientes de más de 65 años, el promedio de disminución de dolor es aproximadamente de un nivel (1,3); en cambio en la franja de edades desde 35 (para mujeres) y desde 48 (para hombres) hasta 65 años, el promedio de disminución del dolor es de más de 2 niveles (2,3)

Artrosis de Cadera

27 casos: 24 mujeres y 3 varones.

Edad Promedio: 65 años.

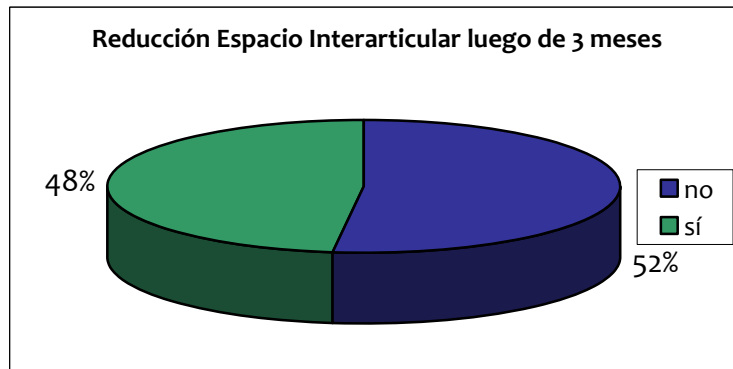
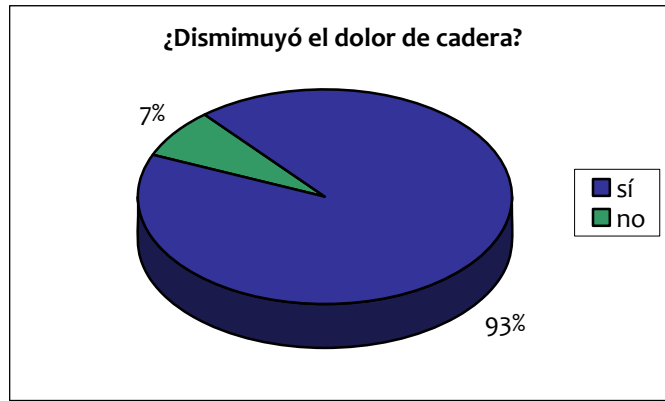
Dolor (Valor Inicial promedio): 2,77

Desviación Estándar: 0,41

Dolor (valor a los 3 meses promedio): 0,78

Desviación Estándar: 0,78

Luego de 3 meses de tratamiento, en el 44% de los casos el dolor de cadera estuvo ausente y en el 78% de los casos se presentó como leve o mínimo.



**Artrosis de Rodilla**

37 casos: 34 mujeres y 3 varones.

Edad Promedio: 68 años.

Dolor (Valor Inicial promedio): 2,76

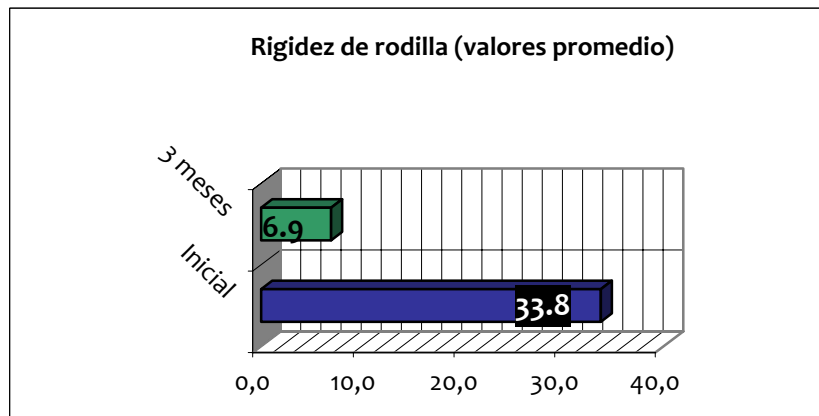
Desviación Estándar: 0,43

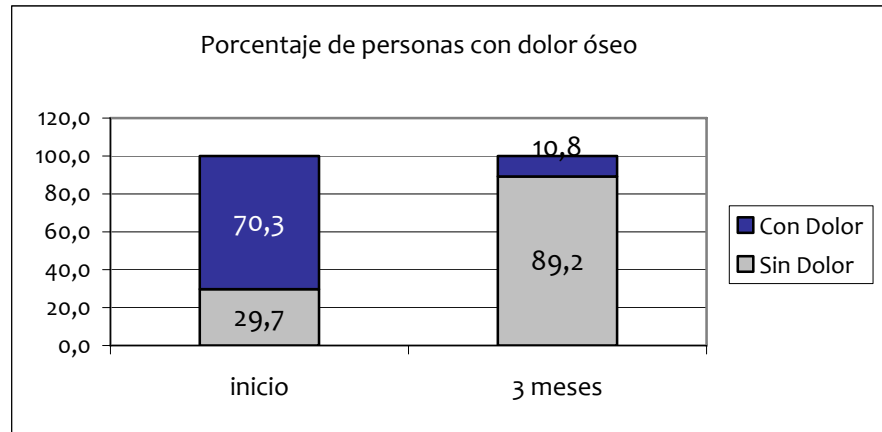
Dolor (valor a los 3 meses promedio): 0,78

Desviación Estándar: 0,81

De todos los casos, solamente un paciente no modificó el grado de dolor.

Luego de 3 meses en tratamiento, en el 46% de los casos el dolor de rodilla estuvo ausente y en el 76% de los casos se presentó como leve o mínimo.





Artrosis de Mano

8 casos: 7 mujeres y 1 varón.

Edad Promedio: 59 años.

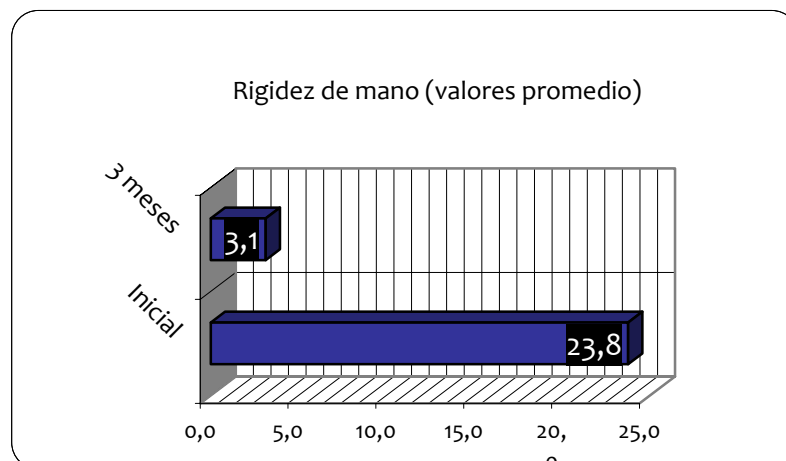
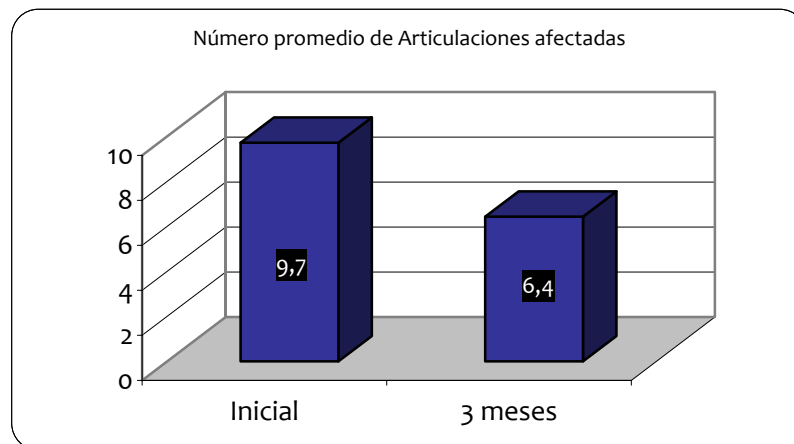
Dolor (Valor Inicial promedio): 2,37

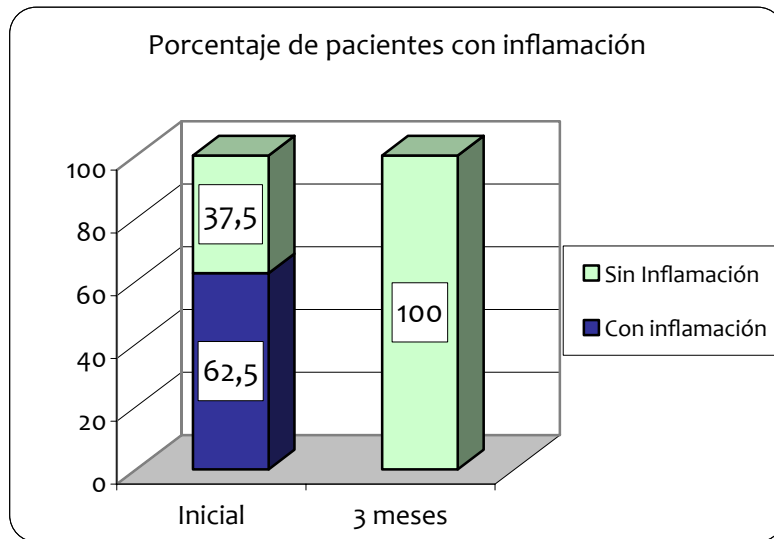
Desviación Estándar: 0,52

Dolor (valor a los 3 meses promedio): 0,5

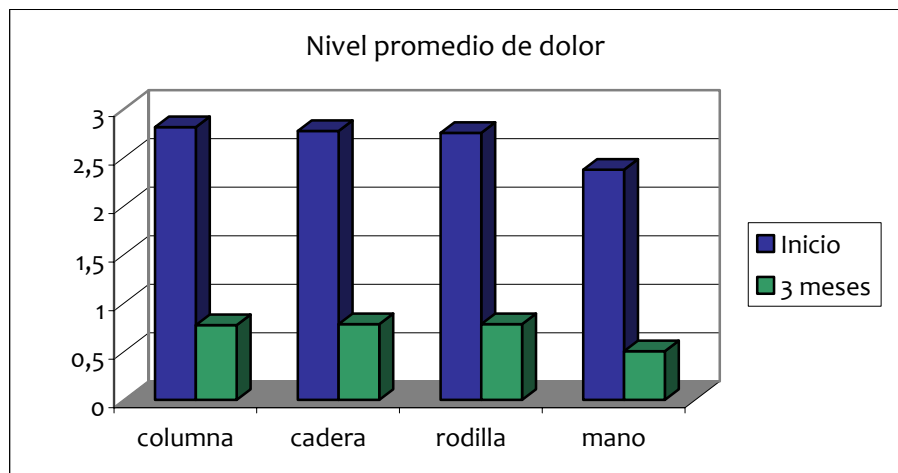
Desviación Estándar: 0,76

Solamente en 2 casos se mantuvo la cantidad de articulaciones afectadas, en todos los demás, disminuyó.





Se puede concluir que la reducción del dolor en los pacientes es significativa, considerando los valores de Desviación Estándar en cada caso.



Cabe destacar que todos los pacientes disminuyeron la ingesta de AINEs durante el tratamiento

## DISCUSIÓN

Lo característico de la OA es la aparición de áreas focales de daño a la integridad del cartílago con fibrosis y pérdida de volumen de éste. Factores mecánicos determinan en gran parte el sitio y gravedad de las lesiones. La destrucción de la matriz es mediada por varias proteinasas. Las principales enzimas involucradas son: las metaloproteinasas (colagenasa, gelatinasa, estromielisina) y las cisteína-proteinasas (catepsinas). Existe un inhibidor tisular natural de las metaloproteinasas, la TIMP (6-tionosina monofosfato). La actividad de las enzimas está controlada por secreción de proenzimas, que necesitan ser activadas por factores como la plasmina y por la cosecreción del TIMP, los que forman complejos que inactivan la proteinasa. El balance de estos factores, controlado por el condrocito, es la vía final común que está comprometida en la destrucción del cartílago. Los condrocitos son dependientes del ambiente químico y mecánico. Ellos responden a hormonas sistémicas (estrógenos) y tienen receptores para diferentes tipos de citoquinas.

Los factores de crecimiento, como el TGF- $\beta$  (transforming growth factor beta) y citoquinas como la interleukina 1 (IL-1) y el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), que derivan del cartílago o del hueso subcondral, son investigados como potenciales controladores de la degradación del cartílago en la OA. Ellos alteran la actividad de síntesis del condrocito y aumentan la producción de proteinasas. En etapas tardías el daño depende directamente de proteinasas presentes en líquido sinovial.

El proteoglicano de la matriz intercelular es muy susceptible a la degradación por varias enzimas proteolíticas (catepsinas, elastasa, estromielisina) y es el componente que se pierde con mayor facilidad, pero al mismo tiempo el proteoglicano es restituido rápidamente por el condrocito, de manera que la lesión irreversible de la artrosis se produciría sólo cuando las fibras de colágeno se degraden debido a que su componente estructural no puede reemplazarse de manera que pueda mantenerse la integridad del tejido. Las investigaciones actuales apuntan sobre los efectos de las citoquinas y los factores de crecimiento en el metabolismo del cartílago.

No existe tratamiento específico para la artrosis. Las medidas terapéuticas están orientadas a preservar la función, controlar el dolor<sup>16,17</sup> y restaurar la función articular. Ningún agente terapéutico probado hasta la fecha puede detener el proceso de degeneración del cartílago.<sup>18,19</sup>



## CONCLUSIÓN

La tolerancia oral ha demostrado en los ensayos clínicos en curso ser segura, atóxica y bien aceptada por los pacientes ante la eventualidad de un tratamiento crónico en OR.

A pesar de algunos aspectos conceptuales que aun quedan por dilucidar, la tolerancia oral se presenta como una alternativa promisoría para el tratamiento sencillo (vía oral) y de menor toxicidad que los actualmente utilizados.

El colágeno bovino tipo II por su efecto inmunomodulador actuaría sobre el metabolismo del condrocito accionando sobre citokinas específicas (IL-4, IL-10, TNF- $\alpha$ , IL-1) que inhiben la actividad de las enzimas responsables de la digestión de la matriz extracelular; de esta manera se haría más lento el proceso, deteniendo y revirtiendo el deterioro del cartílago.

## BIBLIOGRAFIA

- 1- Patel V, Issever AS, Burghardt A, Larb A, Ries M. Micro CT evaluation of normal and Osteoarthritic bone structure in human knee specimens. *J Orthop Res* 2003;21(1):6-13.
- 2- Huang W, Anugri B, Torres JH, LeBaron RG. Temporal effects of cell adhesion on mechanical characteristic of the single chondrocyte. *J Orthop Res* 2003;21(1):88-95
- 3- Gebhaed PM, Gebrsitz A, Bau B, Eger W. Quantification of expression levels of cellular differentiation Harmers does not support a general shift in the cellular phenotype of osteoarthritic chondrocytes. *J Orthop Res* 2003;21(1):96-101.
- 4- Sellers RS, Pelusa D, Morris EA. The effect of recombinat human bone morphogenetic protein - 2 (Rh BMP - 2) on the healing of full thickness defects on articular cartilage. *J Bone Joint Surg (Am)* 1997;79(11):1452-63.
- 5- Horas V, Pelinkovic D, Herr G, Aigner T, Schnettler R. Autologous chondrocyte implantation and osteochondral cylinder transplantation in cartilage repair of the knee joint. A prospective, comparative trial. *J Bone Joint Surg (Am)* 2003;85(2):185-92.
- 6- Aigner T, Dietz V, Stoss H, Mark K. Differential expression of collagen types I, II, III and X in human osteophytes. *Lab Invest* 1995;73(2):236-43.
- 7- Reddi AH. Role of morphogenetic proteins in skeletal tissue engineering and regeneration. *Mat Biotechnol* 1998;16(4):247-52
- 8- Olsen BR. Collagen IX *Int J Biochem Cell Biol* 1997 Apr;29 (4):555-8
- 9- Fred Nelson, Leif Dahlberg, Sheila Laverty, Agnes Reiner, Isabelle Pidoux, Mirela Ionescu, Graeme L. Fraser, Emerson Brooks, Michael Tanzer, Lawrence C. Rosenberg, Paul Dieppe, and A. Robin Poole. Evidence for Altered Synthesis of Type II Collagen in Patients with Osteoarthritis. *Clin. Invest. Volume 102, Number 12, 1998, 2115-2125*
- 10- Trentham DE, Townes AS, Kang AH. *J Exp Med* 146, 857 (1977)
- 11- Courtenay JS, Dallman MJ, Dayan AD, Martin A, Mosedale B, *Nature* 283, 666 (1980); E.S.Cathcart et al.; *Lab Invest* 54, 26 (1986)
- 12- Lefkoe TP, Nalin AM, Clark JM, Reife RA, Sugai J, Sandell LJ. Gene expression of collagen types IIA and IX correlates with ultrastructural events in early osteoarthrosis: new applications of the rabbit meniscectomy model. *J Rheumatol* 1997 Jun;24 (6): 1155-63
- 13- Eyre DR, Weis MA, Moskowitz RW. Cartilage expression of a type II collagen mutation in an inherited form of osteoarthritis associated with a mild chondrodysplasia. *J Clin Invest.* 1991; 87:357-61
- 14- Ausar, S. F., Beltramo, D. M., Castagna, L. F., Quintana, S., Silvera, E., Kalayan, G., Reviglione, M., Landa, C. A. and Bianco, I. D. 2001. Treatment of rheumatoid arthritis by oral administration of bovine tracheal type II collagen. *Rheumatol. Int.* 20:138
- 15- Trentham D.E.; Dynesius – Trentham R.A.; Orav E.J.; Combitchi D.; Lorenzo C.; Sewell K.L.; Hafler D.A.; Weiner H.L. Effect of oral administration of type II collagen on rheumatoid arthritis. *Science* 1994; 261: 1727-1730
- 16- Doig PA, Purbrick KA, Hare JE, McKeown DB. Clinical efficacy and tolerance of meloxicam in dogs with chronic osteoarthritis. *Can Vet J.* 2000 Apr; 41(4): 296-300.
- 17- Rindone JP, Hiller D, Collacott E, Nordhaugen N, Arriola G. Randomized, controlled trial of glucosamine for treating osteoarthritis of the knee. *West J Med.* 2000 Feb; 172(2): 91-94.
- 18- Streitberger K, Witte S, Mansmann U, Knauer C, Krämer J, Scharf HP, Victor N. Efficacy and safety of acupuncture for chronic pain caused by gonarthrosis: A study protocol of an ongoing multi-centre randomised controlled clinical trial. *BMC Complement Altern Med.* 2004; 4: 6. published online before print March 24, 2004
- 19- McAlister VC. Is topical treatment of osteoarthritis site-specific? *CMAJ.* 2005 Mar 1; 172(5): 617.

**ADMINISTRACION ORAL DE COLAGENO TIPO II  
COMO TRATAMIENTO DE LA ARTRITIS REUMATOIDEA**

Autores: Reviglione M.\*; Kalayan G.I.\*; Ausar S.F.\*; Quintana S.M.C.\*; Silvera E.R.\*;  
Landa C.A.\*\*; Beltramo D.M.\*\*; Bianco I.D.\*\*; Castagna L.F.\*\*; Fernández A.\*

**C.I.D.I. ( Centro de Investigación y Diagnóstico en Inmunopatología )  
Hospital San Roque - Córdoba**

**CEPROCOR (Centro de Excelencia en Productos y Procesos de Córdoba)**

**CÓRDOBA - ARGENTINA – Agosto de 1998**

USO DEL  
COLÁGENO TIPO II  
EN LA ARTRITIS  
REUMATOIDEA

La Artritis Reumatoidea es una enfermedad autoinmune (autoagresión), que afecta las articulaciones produciendo principalmente la destrucción del tejido sinovial en forma crónica. Su presentación y evolución son muy variadas, desde casos leves o poco aparentes a casos agresivos con severo compromiso general. Afecta aproximadamente al 1% de la población mundial siendo dos a tres veces más frecuente en mujeres. Aunque la causa de la Artritis Reumatoidea es desconocida se han identificado distintos tipos de células y mediadores químicos que participan activamente en la respuesta inflamatoria autoinmune. La hipótesis actual sostiene que la inflamación crónica en la Artritis Reumatoidea es mediada por la activación antígeno-dependiente de células T que infiltran la membrana sinovial. Dicho proceso inflamatorio podría autoperpetuarse conduciendo a una reabsorción del cartílago y hueso, con una degradación característica de los componentes de la matriz extracelular como los glicosaminoglicanos, proteoglicanos y el colágeno tipo II. Los linfocitos T que participan en la reacción inflamatoria articular observada son del tipo T “helper” 1 CD4+ y producen interleuquina 2 (IL-2) e interferón gamma (INF- $\gamma$ ), citoquinas que participan en el desencadenamiento de la respuesta inmune crónica contra autoantígenos, uno de los cuales puede ser el colágeno tipo II.

Los agentes terapéuticos disponibles para el tratamiento de la Artritis Reumatoidea, como antiinflamatorios no esteroideos (AINEs), antipalúdicos, sales de oro, citostáticos, esteroides, etc., son útiles para controlar los síntomas de la Artritis pero son a menudo tóxicos y no detienen el proceso evolutivo de la enfermedad. Los efectos colaterales de estos medicamentos limitan su uso en estadios tempranos e interfieren con su uso prolongado.

La identificación de los mediadores químicos de la respuesta inmune activa en la Artritis Reumatoidea ha permitido el diseño racional de agentes biológicos potencialmente benéficos para esta enfermedad. Dentro de estos se encuentran anticuerpos monoclonales contra marcadores de superficie de ciertos tipos celulares y formas inhibitorias de ciertas citoquinas. Dado que se ha demostrado la importancia de la presencia de células T activadas en AR, varias de las estrategias terapéuticas que se están ensayando apuntan hacia una modulación de la función de los linfocitos T. En este sentido, la tolerancia oral – habilidad para suprimir la respuesta inmune hacia un antígeno por administración oral previa – descrita por Wells en 1911, ha demostrado ser efectiva en varios modelos animales de enfermedades autoinmunes humanas como en encefalitis alérgica experimental, uveítis y esclerosis múltiple. La administración oral de Colágeno tipo II para inducir tolerancia para el tratamiento de la Artritis Reumatoidea ha sido evaluada en varios estudios clínicos en diferentes países (p.ej.:U.S.A.) con resultados promisorios que nos indujeron a realizar un estudio para evaluar el efecto y la seguridad del Colágeno tipo II.

MATERIAL Y  
MÉTODOS

Se estudiaron 22 pacientes (19 mujeres y 3 varones) cuya edad promedio fue  $48,5 \pm 10,4$  años que fueron reclutados en el Centro de Investigación y Diagnóstico en Inmunopatología (C.I.D.I.) del Hospital San Roque de la Ciudad de Córdoba.

Criterios de inclusión: - diagnóstico de AR de acuerdo a los criterios del Colegio Americano de Reumatología(12) – tratamiento con AINEs y corticoesteroides (dosis igual o menor a 10mg/día de prednisona) de acuerdo a las necesidades del paciente – inicio de la enfermedad entre los 16 y 65 años – consentimiento escrito de los pacientes, quienes fueron informados sobre los eventuales riesgos y beneficios de este tipo de tratamiento.

Criterios de exclusión: - todos los pacientes que hubieran padecido o padeciesen: insuficiencia cardíaca, disfunción hepática (GOT>55mUI/ml), insuficiencia renal (creatinina>2,0mg/dl), enfermedades malignas o procesos infecciosos agudos o crónicos – embarazo – pacientes que recibían citostáticos y/o antipalúdicos – pacientes con daños articulares irreversibles de las articulaciones afectadas.

A los pacientes estudiados se les administró CBII (suministrado por Laboratorio Química Luar) por vía oral en una dosis de 500 microgramos/día en ayunas de 30 minutos antes de cualquier ingesta durante tres meses. Todos los pacientes fueron examinados al mes 0, 1, 2 y 3 después del inicio del tratamiento. La eficacia del tratamiento se evaluó de acuerdo a los criterios del Colegio Americano de Reumatología(12). Se midió el número de articulaciones inflamadas, el número de articulaciones doloridas, duración de la rigidez matinal, tiempo para recorrer 15 metros, fuerza de compresión manual y una evaluación global de la actividad de la enfermedad y de la eficacia del tratamiento por parte del paciente y del médico.

Para monitorear posibles efectos adversos a la terapia, mensualmente se realizó un examen clínico completo y se incluyeron las siguientes pruebas de laboratorio de rutina: hemograma completo, niveles séricos de glucosa, colesterol total, HDL y LDL; triglicéridos, calcio, fósforo, ácido úrico, GOT y GPT, FAL; urea y creatinina.

Como análisis especiales se determinó mensualmente: eritrosedimentación globular por el método de Westergreen; niveles séricos de proteína C reactiva y Factor Reumatoideo por aglutinación de látex e inmunoturbidimetría; complejos inmunes circulantes, componentes C3 y C4 del complemento e inmunoglobulinas G, A y M totales por difusión radial simple; recuento diferencial de subpoblaciones linfocitarias linfocitos (Li) Li CD3+, CD4+, CD8+ por IFI y Li B por inmunofluorescencia directa. A los meses 0 y 4 de tratamiento se cuantificaron en suero TGF- $\beta$ 1 factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ) IL-2 e IL-4 por ELISA. Todas las muestras fueron analizadas por CEPROCOR (Centro de Excelencia en Productos y Procesos Córdoba) al menos por duplicado.

## RESULTADOS

Se estudiaron 22 pacientes con AR (Tabla I) los cuales todos cumplieron los tres meses de tratamiento. Al analizar los datos clínicos se observó una marcada disminución tanto en el número de articulaciones inflamadas como en el dolor de las mismas (Gráfico I) ya que de un promedio de  $15 \pm 9$  articulaciones inflamadas antes del tratamiento sólo  $3,0 \pm 3,0$  fue el promedio a los tres meses ( $p < 0,001$ ). También se registró una disminución del tiempo de rigidez matinal (Gráfico II) de  $50 \pm 34$  minutos disminuyó a  $1,2 \pm 3,8$  minutos ( $p < 0,001$ ), asimismo fue muy significativa la disminución del tiempo de recorrer 15 metros (Gráfico III) ya que de un promedio de  $20 \pm 3,9$  disminuyó a  $15 \pm 2,3$  segundos ( $p < 0,001$ ). El índice de inflamación articular fue categorizado como leve o ausente, moderado o severo, el 80% de los pacientes mejoraron su sintomatología pasando de moderado o severo a leve o ausente ( $p < 0,001$ ). También hubo una disminución en el índice de sensibilidad articular o dolor articular ya que el 90% de los pacientes mejoraron clínicamente ( $p < 0,001$ ).

En cuanto a los datos de laboratorio se observó una disminución significativa del FR (Gráfico IV) de un valor medio inicial de  $163 \pm 215$  a  $112 \pm 171$  a los tres meses ( $p < 0,05$ ). No hubo diferencias estadísticamente significativas en la determinación de IL-1, IL-10 y TNF- $\alpha$ , tampoco las hubo en la determinación de proteína C reactiva y eritrosedimentación globular (Gráfico V). El TNF- $\alpha$  disminuyó significativamente (Gráfico VI) de  $15,9 \pm 28,9$  a  $1,76 \pm 3,40$  ( $p < 0,002$ ).

Cabe destacar que todos los pacientes disminuyeron la ingesta de AINEs durante el tratamiento

## DISCUSIÓN

Entre las nuevas estrategias estudiadas para el tratamiento de la AR se encuentran el uso de AC. Monoclonales(13), análogos de ligandos de moléculas estimuladoras y antagonistas de receptores de citoquinas. Pese a los efectos promisorios observados en experimentos con modelos animales, este tipo de terapéutica tiene la desventaja de que sus efectos son de vida muy corta y se requiere la administración local en forma crónica del agente terapéutico para sostener el efecto. En este contexto, la tolerancia oral, demostrada inicialmente en modelos animales, actualmente en estudios en humanos(15), ha demostrado ser segura, atóxica y muy bien aceptada por los pacientes ante la eventualidad de un tratamiento crónico. El presente trabajo no sólo corrobora estos beneficios sino que provee la evidencia experimental que indica que el CBII puede mejorar significativamente las manifestaciones clínicas y bioquímicas, especialmente la rigidez matinal y el número de articulaciones inflamadas en la Ar activa. Es importante destacar que en este estudio no se observaron reacciones adversas al CBII ni exacerbación de la enfermedad (la PCR y la eritrosedimentación globular no se alteraron significativamente a lo largo de los tres meses de tratamiento). Por el contrario, las evidencias clínicas muestran resultados positivos significativamente diferentes a los del inicio del tratamiento en el 90% de los pacientes estudiados.

Al igual que sucede con la tolerancia inmunológica, la tolerancia oral involucra múltiples mecanismos y no un único evento inmunológico. Los mecanismos propuestos señalan que dosis altas de antígenos inducirían anergia o delección clonal (estado que puede ser revertido con la adición de IL-2), mientras que múltiples dosis bajas de antígeno inducirían a una inmunosupresión activa mediada por una respuesta de tipo Th<sub>2</sub>(16) (secretoras de IL-4 e IL-10) y Th<sub>3</sub> (secretoras de TGF- $\beta$ ). Este último proceso se denomina supresión activa (“bystander suppression”) e implica que el antígeno administrado por vía oral puede disminuir (“down regulation”) una enfermedad autoinmune órgano-específica siempre y cuando el mismo sea un constituyente del tejido blanco y que sea capaz de inducir estos linfocitos regulatorios. Dado que las células regulatorias inducidas por el antígeno administrado por vía oral segregan citoquinas con actividad antiinflamatoria que no son particularmente específicas para ese antígeno, estas pueden disminuir o eliminar la inflamación en el microambiente que se encuentre localizado el antígeno administrado oralmente. Por ello no es necesario que el CBII sea el antígeno primario desencadenante de AR.

Lo anteriormente expuesto hace promisorio la aplicación potencial de este tipo de estrategia terapéutica para el tratamiento de procesos órgano-específicos a través de la administración oral de antígenos del órgano afectado en condiciones que puedan atravesar el tracto digestivo y estimular convenientemente las células T reguladoras en el tejido linfóide asociado a mucosas(17).

## CONCLUSIÓN

**N**uestro estudio demostró que la administración oral de CBII podría ser utilizada como tratamiento seguro, efectivo y sin efectos colaterales en el tratamiento de AR. Los cambios clínicos y bioquímicos observados indican que existe una importante contribución en la modulación de la respuesta inmune de los pacientes, aunque en un estudio abierto como el presente siempre debe ser considerada la contribución del efecto placebo. Por lo expuesto, aunque se ha demostrado la eficacia clínica y bioquímica, aún resta definir aspectos tales como la dosis óptima y la estrategia a adoptar para el tratamiento a largo plazo. La total ausencia de efectos adversos sumada a la magnitud de los efectos benéficos observados indica que debería continuarse con un estudio fase II para AR y que potencialmente podría extenderse a otras patologías autoinmunes.



BIBLIOGRAFÍA

- 1- Sewell K.L.; Trentham D.E.; Pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Lancet* 1993; 341: 283-286
- 2- Bucht A.; Larsson P.; Weisbrot L.; Thorne C.; Pisa P.; Smedegard G. *Clin Exp Immunol* 1996; 103: 357-367
- 3- Kingsley G.; Lanchburry J. and Panayi G. *Immunol Today* 1996; 17: 9-11
- 4- Wraith D.C.; *Clin Exp Immunol* 1996; 103: 349-352
- 5- Wells H.G. Studies on the chemistry of anaphylaxis, III; experiments with isolated proteins, especially those of hen's egg. *J Infect Dis* 1911; 8: 147-171
- 6- Nagler – Anderson C.; Bober L.A.; Robinson M.E.; Siskind G.W.; Thorbecke G.J. Suppression of type II collagen-induced arthritis by intragastric administration of soluble type II collagen. *Proc Natl Acad Sci USA* 1986; 83: 7443-7446
- 7- Chen Y.; Kuchroo V.K.; Inobe J.; Hafler D.A.; Weiner H.L. Regulatory T cell clones induced by oral tolerance suppression of autoimmune encephalomyelitis. *Science* 1994; 265: 1237-1240
- 8- Bitar D.M. & Whitacre C.C.; *Cell Immunol* 1988; 112: 364-370
- 9- Nussenblatt R.B.; Caspi R.R.; Mahdi R.; Chan C.C.; Roberge F.; Lider O. & Weiner H.L. Inhibition of S-antigen induced experimental autoimmune uveoretinitis by oral induction of tolerance with S-antigen. *J Immunol* 1990; 144: 1689-1695
- 10- Weisner C.C.; Mackin G.A.; Matsui M. Orav E.J.; Khomy S.J.; Dawson D.M.; Double blind pilot trial of oral tolerization with myelin antigens in multiple sclerosis *Science* 1993; 259: 1321-1324
- 11- Trentham D.E.; Dynesius – Trentham R.A.; Orav E.J.; Combitchi D.; Lorenzo C.; Sewell K.L.; Hafler D.A.; Weiner H.L. Effect of oral administration of type II collagen on rheumatoid arthritis. *Science* 1994; 261: 1727-1730
- 12- Arnett F.C.; Edworthy S.M.; Bloch D.A.; Mc Shane D.J.; Fries J.F.; Cooper N.S.; Healey L.A.; Kaplan S.R.; Liang M.H.; Luthra H.S.; Medsger T.A.Jr; Mitchell D.M.; Neustadt D.H.; Pinals R.S.; Schaller J.G.; Sharp J.T.; Wilder R.L.; Hunder G.G.; *Arthritis Rheum* 1988; 31: 315-324
- 13- Felson D.T.; Anderson J.J.; Boers M.; Bombardier C.; Chernoff M.; Fried B.; Furst D.; Glodsmith C.; Kieszak S.; Lightfoot R.; Paulus H.; Tugwell P.; Weinblatt M.; Widmark R.; Williams H.J.; Wolfe F.; *Arthritis Rheum* 1993; 36: 729-740
- 14- Whitcup S.M.; De Barge L.R.; Caspi R.R.; Harning R.; Nussenblatt R.B. & Chan C.C. Treatment of autoimmune uveitis. *Clin Immunol Immunopathol Annuals of the New York Academy of Sciences* 1993 696: 307-315
- 15- Whitacre C.C.; Gienapp I.E.; Orosz C.G.; Bitar D. Oral tolerance in experimental autoimmune encephalomyelitis, III: evidence for clonal anergy. *J Immunol* 1991; 147: 2155-2163
- 16- Friedman A.; Weiner H.L.; Induction of anergy or active suppression following oral tolerance is determined by antigen dosage *Proc Natl Acad USA* 1994; 91: 6688-6692
- 17- Richman L.K.; Graeff A.S.; Yarchan R.; Strober W.: Simultaneous induction of antigen feeding. *J Immunol* 1981; 126: specific IgA helper T cells and IgG suppressor T cells in the murine Peyer's patch after protein 2079-2083

*Título* : Administración oral de colágeno II como tratamiento de la Artritis Reumatoidea.

*Autores*: **M. Reviglione, G.I. Kalayan, S.F. Ausar, S.M. Quintana, E.R. Silvera, C.A. Landa, D.M. Beltramo, I.D. Bianco, L.F. Castagna.**

*Lugar* : C.I.D.I. - Hospital San Roque y CEPROCOR. Córdoba. Argentina. Agosto de 1998.

**Resumen:**

*Objetivo*: Evaluar el efecto y la seguridad de la administración oral de colágeno II como tratamiento de la Artritis Reumatoidea.

*Material y método*: En una fase I se estudiaron 20 (veinte) pacientes que presentaban artritis reumatoidea a quienes se les administró colágeno tipo II de origen bovino por vía oral durante un periodo de tres meses. Se les realizó una valoración clínica según los criterios de la Asociación Americana de Reumatología y controles de laboratorio que incluía rutinas completas y el dosaje de FR, PCR, IL-1, TNF-a, TFB, IL-10 y VSG; los pacientes fueron evaluados al inicio del tratamiento y mensualmente durante tres meses.

*Resultado*: Se observó una mejoría clínica a partir de los dos meses de iniciado el tratamiento; el número de articulaciones inflamadas disminuyó de forma significativa, como así también la rigidez matinal y el tiempo para recorrer 15 metros. El FR presentó una disminución significativa de  $164 \pm 215$  a  $112 \pm 171$  con un  $p < 0,05$ , y el TNF-a presentó una disminución significativa con una  $p < 0,002$ . Los otros valores de laboratorio no presentaron variaciones significativas. No se observaron efectos tóxicos atribuibles al tratamiento.

*Conclusión*: En esta fase I del estudio se puede afirmar que el colágeno II constituye una alternativa válida para el tratamiento de la artritis reumatoidea.

El colágeno tipo II bovino y los reactivos de laboratorio utilizados fueron provistos por LABORATORIOS QUIMICA LUAR.

El control de calidad del colágeno tipo II bovino fue realizada por CEPROCOR.