

Gingivoestomatitis crónica felina y terapia celular

La GECF tiene un porcentaje importante de pacientes que se muestran refractarios a los tratamientos tradicionales.

La terapia celular inmunomoduladora con MSC ha demostrado ser novedosa, segura y simple para estos pacientes.

**Antonio J. Villatoro Jiménez^{1,2},
Fernando Fariñas Guerrero¹
y José Becerra Ratia^{2,3}**

¹ImmuneStem. Instituto de Inmunología Clínica y Terapia Celular. Málaga. www.immunestem.com

²Labret. Laboratorio de Bioingeniería y Regeneración Tisular. Departamento de Biología Celular. Facultad de Ciencias. Universidad de Málaga. Málaga.

³Bionand. Centro Andaluz de Nanomedicina y Biotecnología. Parque Tecnológico de Andalucía. Málaga.

Imágenes cedidas por los autores

La gingivoestomatitis crónica felina (GECF) es una enfermedad dolorosa y debilitante, frecuente en medicina felina, cuyo manejo es complejo y que supone un alto índice de frustración tanto para el clínico como para el propietario. Se presenta como un proceso oral inflamatorio grave que se prolonga durante meses o años, de origen multifactorial, caracterizado por una respuesta crónica focal o difusa que afecta a encías, mucosa oral y frecuentemente a faringe, lengua y otras estructuras blandas de la boca. Puede alcanzar niveles de prevalencia de hasta el 12 % de la población [1, 2].

Su etiopatogenia es compleja y está poco descrita aún. Existe consenso acerca de un importante componente inmunopatológico, responsable de una respuesta inmunitaria inapropiada en la mucosa oral, secundaria a una estimulación antigénica crónica frente a diferentes factores. Entre estos se incluyen factores ambientales que, sumados a la intervención de algunas bacterias y virus, parecen ser determinantes. Se consideran implicadas varias patologías, entre las que destacan diversos patógenos sistémicos (calicivirus felino, herpesvirus, virus de la leucemia, virus de inmunodeficiencia y *Bartonella*), enfermedades dentales (reabsorción dental felina y enfermedad periodontal), y/o

reacciones de hipersensibilidad (respuesta a bacterias de placa bacteriana y alergias alimentarias) [2-4].

Se ha demostrado un predominio de linfocitos T CD8⁺ sobre T CD4⁺, lo que sugiere una respuesta inmunomediada celular citotóxica altamente destructiva de la lámina propia y del tejido submucoso oral. Histológicamente, se traduce en lesiones consistentes en hiperplasia epitelial, con ulceración y presencia de infiltrado inflamatorio formado principalmente por linfocitos y células plasmáticas.

Se ha descrito infiltración de células T CD3⁺ en epitelio y en la submucosa oral, así como de linfocitos B CD20⁺, principalmente en el estroma subepitelial [4-6] (figura 1).

Los individuos afectados sufren dolor oral grave, sialorrea, halitosis, hiporexia, pérdida del peso, falta de acicalamiento, irritabilidad y disminución de su actividad.

Los individuos afectados sufren dolor oral grave, sialorrea, halitosis, hiporexia, pérdida del peso, falta de acicalamiento, irritabilidad y disminución de su actividad. Además de su manifestación clínica a nivel oral, los gatos con GECF presentan evidencias sistémicas de inflamación como neutrofilia, hipergammaglobulinemia policlonal, alteración de biomarcadores de la inflamación y aumento de la expresión de citocinas proinflamatorias (IL-1 β , TNF, IFN- γ) en suero [5, 7, 8].

Un buen sistema para la evaluación y control de la evolución del tratamiento es el empleo del sistema de puntuación de actividad SDAI (Stomatitis Disease Activity Index) [3, 7] (figura 2) al igual que el control de algunos biomarcadores de la inflamación.

Por su complejidad y, a veces, difícil manejo, se han establecido diferentes estrategias terapéuticas, cuyos objetivos principales son eliminar el dolor y las fuentes de

Figura 2. El sistema de puntuación SDAI (Stomatitis Disease Activity Index) es un buen método para la evaluación y el control de la evolución del tratamiento de la GECF.

Índice de actividad GECF	0	1	2	3
Propietario. Media de apetito, actividad, aseo.				
Propietario. Percepción del confort				
Inflamación mucosa bucal maxilar				
Inflamación mucosa bucal mandibular				
Inflamación encía maxilar				
Inflamación encía mandibular				
Inflamación lateral al arco glosopalatino				
Inflamación de glándula salivar molar				
Inflamación orofaríngea				
Inflamación lingual y/o sublingual				
TOTAL (máximo = 30)				

Apetito: 3 = come mal, solo de la mano; 2 = solo comida húmeda; 1 = comida seca pero menos de lo normal; 0 = come normal.
Nivel de actividad: 3 = no le interesan la gente o las otras mascotas y se pasa la mayor parte del tiempo durmiendo; 2 = bajo nivel de actividad pero juega ocasionalmente cuando se estimula; 1 = juega espontáneamente; 0 = nivel normal de juego y actividad.
Aseo: 3 = no se asea; 2 = se asea ocasionalmente pero no como antes; 1 = sobreacicalamiento; 0 = acicalamiento normal.
Confort: evaluar como 0 el nivel máximo de confort y como 3 el nivel mínimo.

Lommer MJ. Efficacy of cyclosporine for chronic, refractory stomatitis in cats: A randomized, placebo-controlled, double-blinded clinical study. J Vet Dent. 2013.

infección o inflamación crónica en la boca. Estas terapias producen mejoría parcial o temporal, pero no su curación total. En general engloban desde la eliminación de piezas dentarias hasta la administración de analgésicos, antibióticos, corticoesteroides e inmunomoduladores de forma continua y prolongada, con efectos adversos descritos [2, 5, 9].

Por otro lado, alrededor de un 30 % de los casos se muestran refractarios a los tratamientos convencionales, cuya progresión clínica lleva a un importante deterioro y debilitamiento del animal, con pronóstico muy pobre ante la falta de otras opciones terapéuticas [1, 2, 5].

Células madre mesenquimales (MSC)

En los últimos años se han desarrollado de manera exponencial, en multitud de patologías, diferentes estrategias terapéuticas englobadas bajo el concepto de medicina regenerativa [10, 11].

Dentro de esta especialidad, han sido las células madre las que han despertado mayor interés en la comunidad científica, debido a sus interesantes y prometedores resultados en el tratamiento de diferentes patologías que actualmente tienen mala o inexistente solución. Sirva como dato que actualmente existen en medicina humana más de 6.200 estudios clínicos, que emplean diferentes tipos de célula madre como elemento terapéutico (www.clinicaltrial.org).

Recordamos que una célula madre es un tipo de célula indiferenciada que, independientemente de su origen, presenta siempre estas dos características [12]:

- Capacidad de autorrenovación, que da origen a células hijas o clones de características idénticas a su progenitora.
- Potencialidad o capacidad de continuar la vía de diferenciación para la cual está programada, originando células de uno o más tejidos maduros y diferenciados.

De todos los tipos de células madre existentes, las más utilizadas en veterinaria son las células madre mesenquimales, también llamadas células madre del estroma mesenquimal (MSC). Las MSC son células indiferenciadas multipotentes, de origen no hematopoyético, con capacidad de autorrenovación, localizadas en diversos tejidos adultos o extraembrionarios, y procedentes de la capa embrionaria del mesodermo, y de ahí su nombre [12, 13].

La médula ósea y tejido adiposo son las principales fuentes de MSC en terapia celular veterinaria, fundamentalmente por la facilidad de obtención de estos tejidos y su abundancia en los mismos. Indicar, que dependiendo del tejido de origen, como la especie y características individuales, manifiestan diferencias respecto a cantidad, proliferación, capacidad de diferenciación, fenotipado, propiedades inmunomoduladoras, etc. [13-16]. El artículo *Conceptos básicos sobre terapia celular con células madre*, publicado en el número 175 de Argos, contiene más información al respecto. ►

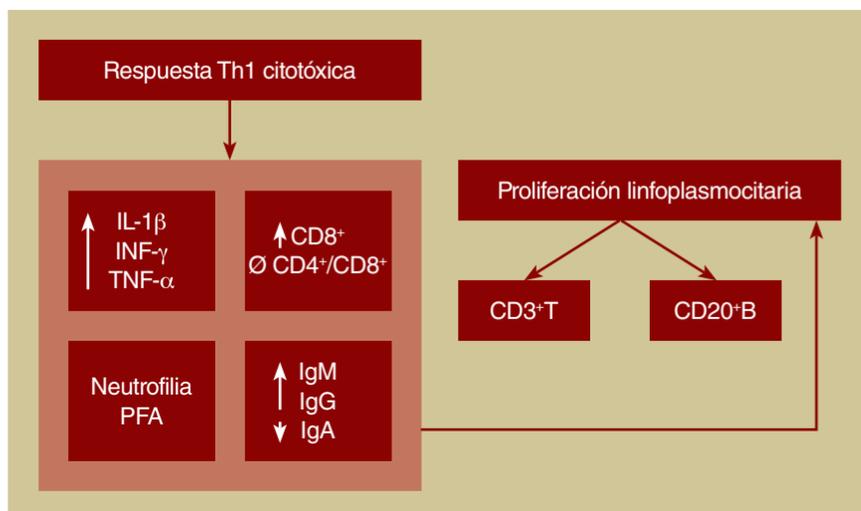


Figura 1. Inmunopatología de la GECF. Se trata de una respuesta polarizada frente a diferentes agentes que desencadena un cuadro sistémico de inflamación, con incremento de determinadas citocinas proinflamatorias, desequilibrio del ratio CD4⁺/CD8⁺ por incremento de estos últimos, neutrofilia, alteración de biomarcadores de la inflamación e hipergammaglobulinemia policlonal. Localmente se traduce en lesiones en la mucosa oral: hiperplasia epitelial, ulceración y presencia de infiltrado inflamatorio formado principalmente por linfocitos y células plasmáticas.

► Las MSC desempeñan un papel fundamental como reservorio de células indiferenciadas para la regeneración/ reparación de los tejidos donde se ubican. Por otro lado, existen cada vez más evidencias de que su mecanismo de acción conlleva efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios, mediante la liberación de una gran variedad de sustancias bioactivas con efectos autocrinos y paracrinos englobados en el concepto de secretoma [12, 17-19].

Entre todos sus mecanismos de acción, la capacidad de modular el sistema inmunitario desempeña un papel fundamental en casi todos los efectos terapéuticos atribuidos a estas células. Dicha influencia es ejercida tanto sobre la inmunidad innata como sobre la adaptativa, a través de diferentes mecanismos, como es el contacto directo célula a célula y la secreción de diferentes sustancias solubles (IDO, NO, IL-10, PGE₂, TGF-β, etc.), que varían con la especie y la fuente celular [14, 18-21] (figura 3).

Además, presentan la habilidad de migración y anidamiento hacia el lugar de la lesión en respuesta a las sustancias allí liberadas [14, 22, 23]. Por otro lado, gracias a su consideración de inmunoprivilegiadas, por la falta de expresión de MHC-II y moléculas coestimuladoras (CD40, CD80 y CD86), pueden emplearse de manera alogénica, al escapar del reconocimiento y acción de células T y NK, ya que no son

reconocidas como extrañas por el sistema inmunitario del receptor [13, 14].

Por su capacidad inmunorreguladora, actualmente la inmunoterapia con MSC es empleada con éxito como elemento terapéutico en diferentes patologías inmunomediadas, tanto en humanos como en animales [13, 24]. Específicamente en la especie felina, la terapia celular con MSC representa una eficaz alternativa en el tratamiento de patologías como la enfermedad intestinal crónica [25], el asma felino [26], la queratitis eosinófila felina [27] o la insuficiencia renal crónica [28, 29].

Cabe remarcar que cada vez existe mayor cantidad de evidencias de que la calidad de las MSC se ve alterada por factores como la edad, la medicación, el estado sanitario del donante o el padecimiento de otras patologías concomitantes, lo cual obliga a una buena evaluación del caso clínico y a la personalización de su terapia para asegurarnos la mayor posibilidad de éxito [16, 30, 31].

Inmunoterapia con MSC en GECF

Recientemente, han comenzado a ver la luz los resultados de la terapia inmunomoduladora con MSC en el tratamiento de esta patología, con buenas expectativas. Se abre una prometedora alternativa terapéutica para aquellos animales con GECF que son

refractarios a los tratamientos convencionales y que no tienen ninguna otra opción [5, 7, 32]. En 2016 fueron descritos los primeros resultados de la terapia celular endovenosa con MSC autólogas en casos de GECF, con una mejoría completa o parcial en el 71 % de los pacientes tratados [5].

Sin embargo, la terapia con células autólogas tiene algunas limitaciones en esta patología, fundamentalmente en casos graves y refractarios, o cuando se da la coexistencia de determinadas enfermedades concomitantes o el paciente está siendo medicado, ya que estos factores tienen un impacto negativo en la calidad, capacidad regenerativa y potencial inmunomodulador de las MSC. Además, esta terapia obliga a un estrés añadido y supone un riesgo anestésico en animales muy depauperados o caquéxicos, al tener que obtener la muestra de tejido adiposo para su procesamiento.

Frente a estas perspectivas, nuestro equipo fue pionero en dar a conocer los resultados preliminares de la terapia celular de MSC alogénica en casos refractarios de GECF, la mayoría de ellos positivos a calicivirus y sin ninguna otra alternativa terapéutica, con un seguimiento de 6 meses, empleando el sistema de puntuación de actividad SDAI. Todos los animales manifestaron un significativo grado de mejoría o remisión clínica, reflejado en la disminución de su sistema de puntuación de actividad SDAI desde valores de inicio 20,1+/-3,4 a 3,8+/-2,5 a los 6 meses. No se manifestaron signos de regresión o empeoramiento, ni complicaciones o efectos secundarios [7] (figura 4).

Este protocolo, gracias a la posibilidad de la criopreservación de las MSC, permitiría la creación de bancos celulares con mayor

calidad y control del producto celular, lo que facilita la logística necesaria para estas terapias. El inicio rápido del tratamiento evita la extracción de tejido del propio paciente, a veces muy deteriorado, seleccionando a los mejores candidatos donantes, para así poder personalizar su terapia.

En este mismo año, Arzi y colaboradores vuelven a publicar la respuesta terapéutica al tratamiento alogénico endovenoso con MSC de pacientes con GECF refractarios, obteniendo una mejoría clínica completa o remisión de los síntomas en un 57 % de sus animales [32].

Vía de administración

Estudios de biodistribución han demostrado que la administración endovenosa permite el rápido anidamiento de las MSC en la mucosa oral lesionada gracias a su capacidad de migración o *homing* hacia los tejidos dañados por el efecto llamada de los propios mediadores inflamatorios liberados *in situ*. Por otro lado, en todos los estudios se ha demostrado la seguridad de la administración celular por esta vía [5, 7, 32].

Mecanismo de acción

Clínicamente, la respuesta terapéutica en estos pacientes se presenta a diferentes niveles.

Oral

Gracias al mecanismo inmunomodulador/regenerador, la acción de las MSC se manifiesta por la involución de las lesiones en la mucosa oral, con una gran mejoría o desaparición completa. Histológicamente, se aprecia un retorno a la arquitectura tisular

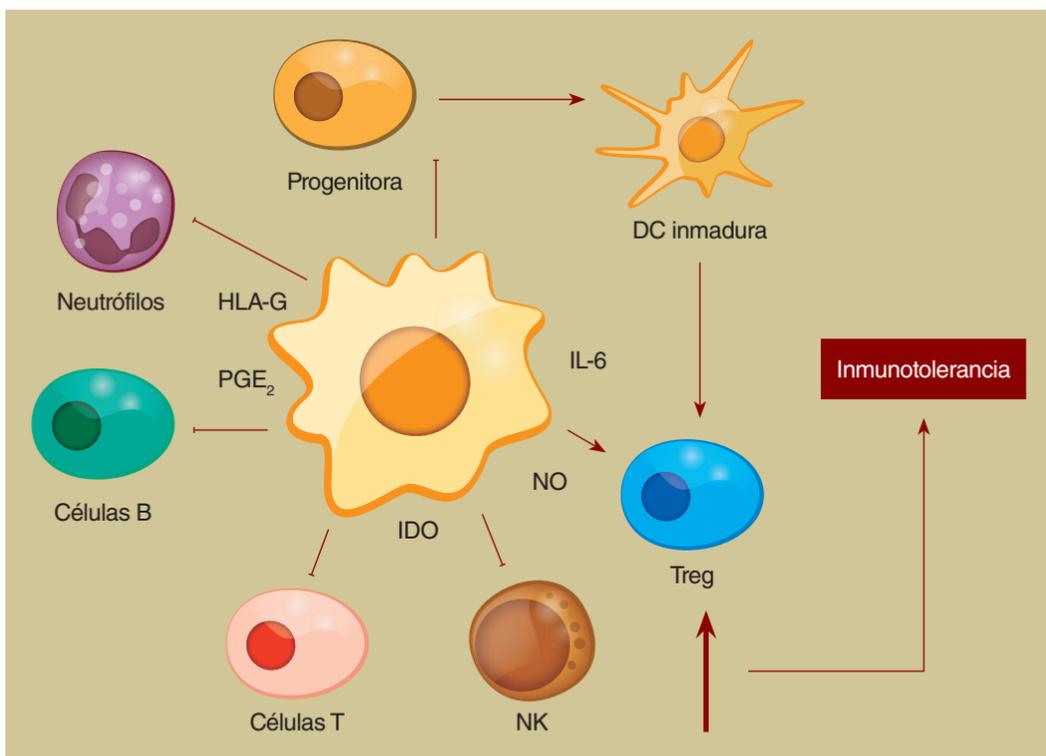
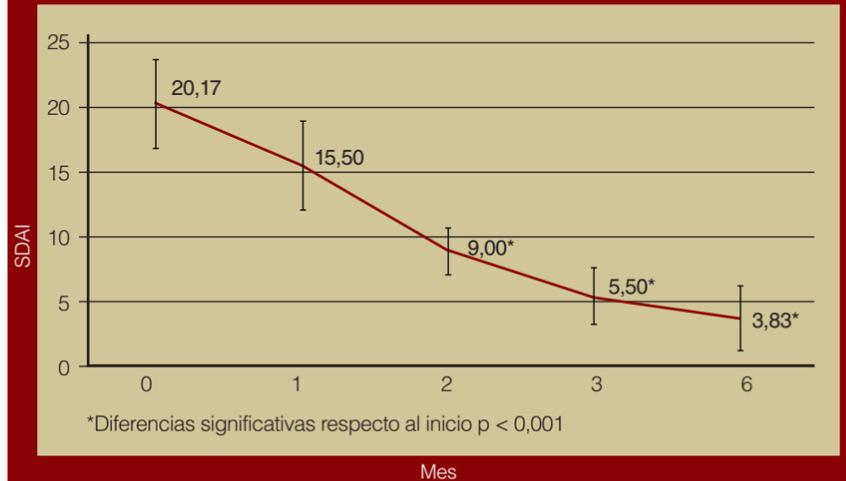


Figura 3. Mecanismo de interacción entre las MSC y las diferentes células del sistema inmunitario. Tras la activación de las MSC, estas segregan mediadores solubles, tales como óxido nítrico (NO), prostaglandina (PGE₂), indolamina 2,3-dioxigenasa (IDO), IL-6 y antígeno leucocítico humano (HLA)-G. Estos mediadores regulan la proliferación y la función de una variedad de células inmunes, así como la inducción de células T reguladoras (TREG) directa o indirectamente, creando un estado de inmunotolerancia.

Figura 4. Resultados de la terapia celular de MSC en casos refractarios de GECF con un seguimiento de 6 meses. Todos los animales manifestaron mejoría clínica estadísticamente significativa o remisión clínica total, reflejado en la disminución de su sistema de puntuación de actividad SDAI.



Villatoro A.J., Fariñas F. Gingivostomatitis crónica felina: la terapia celular inmunomoduladora como nueva alternativa terapéutica. Andalucía Veterinaria Oct- Dic 2016.

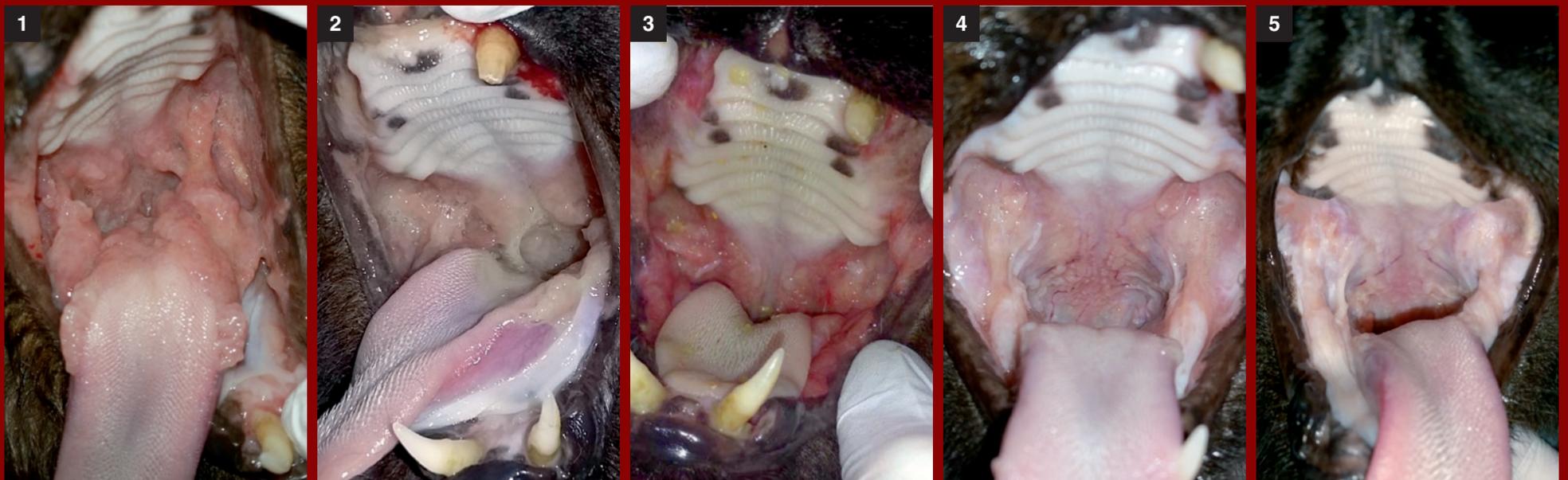


Figura 5. Imágenes de la evolución clínica durante 18 meses de paciente con GECF refractaria y positivo a calicivirus tratado con inmunoterapia con MSC. A) Inicio. B) Dos semanas. C) Un mes. D) 4 meses. E) 18 meses. SDAI inicio 24. Peso inicio 2,8 kg. Tratamiento previo: exodoncias, AINE, corticoesteroides, antibioterapia, ciclosporina, interferón omega y buprenorfina. Resultado a los 18 meses: SDAI 2. Peso 3,9 kg.

lar normal, con la desaparición del cuadro típico de proliferación linfoplasmocitaria con ulceraciones, hiperplasia e inflamación. Sintomatológicamente, se manifiesta en una disminución del dolor, hipersalivación y halitosis, con disminución en la dificultad a la masticación e incremento del lamido y acicalamiento.

Sistémico

A través de su mecanismo paracrino, con efecto inmunorregulador/antiinflamatorio, se ha demostrado modulación sobre la respuesta polarizada Th1, al disminuir el número de células T CD8⁺ equilibrando el ratio CD4/CD8, además de la disminución de las citocinas proinflamatorias en suero.

En animales que responden a la terapia celular se ha observado un incremento en los niveles séricos de IL-6. La IL-6 es una citocina con actividad pleiotrópica, involucrada tanto en respuesta proinflamatoria como en la antiinflamatoria. Esta citocina es la mayor reguladora del balance entre células efectoras Th17 y células T reguladoras (Tregs). Las células Th17 desempeñan un papel clave en la patogénesis de importantes enfermedades autoinmunitarias humanas y animales, mientras que las Tregs se encargan de mantener un estado de tolerancia y de restringir una excesiva respuesta por parte de las células T.

Alrededor del 30 % de los casos se muestran refractarios a los tratamientos convencionales y conlleva a un importante deterioro y debilitamiento del animal, con pronóstico muy pobre ante la falta de otras opciones terapéuticas.

Una de las múltiples funciones de la IL-6 es producir un estado de inmunotolerancia mediante inducción de la producción de IL-21, la cual a su vez induce la liberación de IL-10. Esta última citocina es capaz de frenar la generación de células efectoras Th1/Th17, bloqueando así el daño inmunomediado tisular. Por otro lado, la propia IL-21 tiene capacidad de inhibición de la diferenciación de nuevas células T CD8⁺.

Cabe indicar que la IL-6 también es secretada por MSC procedentes de tejido adiposo en el perro, caballo y gato [14].

Sintomatológicamente, el cuadro de inflamación sistémica que manifiestan los pacientes con GECE grave y/o refractaria, se ve disminuido al normalizarse parámetros como la neutrofilia, globulinas, disminución de citocinas proinflamatorias y otros biomarcadores de inflamación. Esto se refleja en las patologías concomitantes que suelen acompañar a este proceso, lo que finalmente permite una mejoría clínica general significativa, con aumento del apetito, peso, normalización de otros parámetros sanguíneos y disminución/eliminación de medicación (figura 5).

La mejoría clínica de la terapia celular con MSC se manifiesta en un intervalo que varía entre 3 semanas y 6 meses [5, 7, 32].

Selección del paciente y manejo terapéutico

Se debe tener en cuenta que la adecuada respuesta terapéutica a la inmunoterapia con MSC en gatos con GECE dependerá de la adecuada selección del paciente, que nos va a permitir evaluar su idoneidad y personalizar su protocolo terapéutico, para conseguir una importante mejoría clínica del proceso o su remisión total, además de minimizar o eliminar la medicación.

Entre los parámetros determinantes de cara al resultado y pronóstico de esta terapia, se encuentra la edad, medicación actual, la infección por virus (fundamentalmente calicivirus), el padecimiento de algunas enfermedades concomitantes (insuficiencia renal, entre otras), las exodoncias previas y los niveles de diferentes marcadores de inflamación fundamentales para el pronóstico y control de la evolución del proceso.

En la clínica diaria, muchos de los pacientes tratados con inmunoterapia con MSC son individuos muy graves y con un estado sanitario muy deplorado. Esto obliga con frecuencia a complementar con medicación adecuada hasta conseguir el efecto inmunorregulador de la terapia celu-

lar, o prescribirla esporádicamente frente a alguna recaída. La selección farmacológica es muy importante para no interferir el mecanismo de actuación de las MSC ni complicar el cuadro clínico del paciente.

Conclusiones

La terapia tradicional de la GECE grave y/o refractaria está basada principalmente en exodoncias, analgesia, antibioterapia, antiinflamatorios e inmunomoduladores, con un porcentaje importante de pacientes (hasta el 30 %), que se muestran refractarios a estos tratamientos y tienen muy pobre pronóstico.

La terapia celular inmunomoduladora con MSC ha demostrado ser un tratamiento

novedoso, seguro y simple para gatos con GECE grave y/o refractaria, y se ha convertido en una interesante alternativa terapéutica al conseguir una importante mejoría clínica e, incluso, su remisión. Por otro lado, facilita la retirada de medicación y, por ende, sus efectos adversos, disminuyendo su coste económico e incrementando significativamente la calidad de vida del paciente.

La adecuada selección del paciente, protocolo terapéutico y seguimiento es crucial para obtener los mejores resultados. □

Bibliografía disponible en www.argos.grupoasis.com/bibliografias/gingivoestomatitis193.doc