

# Nuevos tratamientos inmunomoduladores en medicina veterinaria

En este artículo describimos la enorme utilidad clínica de una de las capacidades más sorprendentes de la terapia celular con células madre mesenquimales: su capacidad inmunorreguladora.

**Antonio J. Villatoro Jiménez y Fernando Fariñas Guerrero**  
ImmuneStem: Instituto de Inmunología Clínica y Terapia Celular. Málaga  
immunestem@immunestem.com  
www.immunestem.com  
Imágenes cedidas por los autores

El tratamiento de enfermedades de origen inmunomediado representa un reto terapéutico en multitud de especialidades veterinarias en las que estamos limitados por el empleo de determinados productos (corticosteroides e inmunomoduladores), que muchas veces tienen que ser administrados de por vida, con importantes efectos secundarios y pocas alternativas curativas.

Las células madre mesenquimales (MSC) son células indiferenciadas multipotenciales, no hematopoyéticas, con capacidad de autorrenovación, localizadas en diversos tejidos adultos o extraembrionarios, que proceden de la capa embrionaria del mesodermo. Además de su función como reservorio de células indiferenciadas para la regeneración de los tejidos donde se ubican, cada vez hay más evidencias de que su mecanismo de acción se realiza por efectos inmunomoduladores y antiinflamatorios, mediante la liberación de una gran variedad de sustancias bioactivas con efectos autocrinos y paracrinos.

Entre todos sus mecanismos de acción, la habilidad 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 inmunidad innata como 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- $\beta$ , etc.), que varía con la especie y la fuente celular (figura 1).

La influencia sobre la inmunidad innata se ejerce a través de la secreción de IDO, PGE2 y TGF- $\beta$  que actúan sobre las células NK suprimiendo su proliferación, la producción de citoquinas y su citotoxicidad frente a diversos objetivos. Disminuyen la función y maduración de las células dendríticas, mediada por la IL-6 producida por las propias MSC, lo que conlleva una falta de respuesta de las células T.

Además son capaces de reprogramar los macrófagos de un fenotipo proinflamatorio M1 hacia un fenotipo antiinflamatorio M2, capaz de regular la respuesta inmunitaria.

Sobre la inmunidad adaptativa demuestran un aspecto muy interesante de inmunorregulación por su amplia capacidad de acción tanto sobre la inmunidad celular (Th1) como la humoral (Th2).

Hay factores limitantes, como la edad y enfermedades concomitantes, que tienen un impacto negativo en la calidad y capacidad regenerativa de las MSC.

Se considera que uno de los mayores mecanismos de inmunomodulación por las MSC es la regulación de las células T, tanto los CD4<sup>+</sup> colaboradores, como los CD8<sup>+</sup> citotóxicos, realizada de forma primaria vía secreción de factores solubles. Inhiben la proliferación de las células T, tanto *in vitro* como *in vivo*, al detener su división, y disminuyen la secreción de citoquinas inflamatorias por parte de diferentes poblaciones de células inmunes al suprimir la respuesta de las células T vírgenes y de memoria.

Las MSC no solo suprimen las funciones Th1, sino también la Th17 a través de

factores solubles y de contacto celular, al igual que inhiben los linfocitos T CD8<sup>+</sup> citotóxicos vía secreción de PGE2, IDO y TGF- $\beta$ . Por otro lado, también regulan la respuesta de las células T desplazando la respuesta inmunitaria de Th1 a Th2.

Respecto a la inmunidad humoral (Th2), modulan las funciones de los linfocitos B mediante la supresión de la diferenciación celular y la producción de inmunoglobulinas por las células plasmáticas.

Su capacidad inmunorreguladora también se complementa gracias a su importante potencial para promover la generación y mantenimiento de la actividad de diferentes tipos de células T reguladoras.

Las MSC también presentan la habilidad de migración y anidamiento hacia el lugar de la lesión en respuesta a las sustancias allí liberadas.

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, ya que escapan del reconocimiento y la acción de células T y NK.

En veterinaria las principales fuentes de MSC en terapia celular son las que proceden de médula ósea y tejido adiposo. Entre ellas muestran diferencias respecto a cantidad, proliferación, capacidad de diferenciación, fenotipado, propiedades inmunomoduladoras, etc.

Otro aspecto de gran interés para su uso clínico es la existencia de factores limitantes como la edad y enfermedades concomitantes, que tienen un impacto negativo en la calidad y capacidad regenerativa de las MSC.

El efecto inmunomodulador de la terapia con MSC ha demostrado una importante mejoría del cuadro clínico de la DAC gracias a sus efectos sobre la inhibición de la activación de células T y B, liberación de citoquinas antiinflamatorias, disminución de la producción de IL-4 e INF- $\gamma$  y la producción de IgE.

Gracias a su resistencia a la criopreservación permiten la creación de bancos celulares que facilitan la logística necesaria para estas terapias avanzadas con una rápida iniciación del tratamiento, lo que evita la extracción de tejido, seleccionando a los mejores candidatos donantes, y permite personalizar la terapia.

Actualmente la inmunoterapia con MSC se emplea con éxito como elemento terapéutico en diferentes patologías de origen inmunomediado, tanto en humanos como en animales, existiendo un importante número de estudios clínicos en medicina humana en el tratamiento de multitud de patologías inmunomediadas ([www.clinicaltrials.gov](http://www.clinicaltrials.gov)).

Vamos a comentar este tipo de patologías en las que actualmente están más descritos su empleo clínico y su efectividad.

## Inmunoterapia con MSC en oftalmología

Como ya se vio en un capítulo anterior de esta especialidad (Argos 176), la inmunoterapia con MSC ha supuesto una gran revolución en el tratamiento de patologías inmunomediadas con malas alternativas terapéuticas que afectan al ojo, como la queratoconjuntivitis seca, queratitis proliferativa felina, queratopatías y uveitis inmunomediadas, etc.

## Inmunoterapia con MSC en dermatología

El empleo de MSC de diferentes fuentes representa en la actualidad una realidad terapéutica en el tratamiento de algunas dermatosis inmunomediadas de difícil curación, tanto en medicina humana como veterinaria.

### Dermatitis atópica

La dermatitis atópica canina (DAC) es una enfermedad multifactorial crónica que presenta bastantes similitudes con la enfermedad humana. Es la dermatopatía más frecuente del perro.

Se caracteriza por una disfunción de la barrera de la piel donde se describen alteraciones de su composición lipídica (ceramidas) y proteica (filagrina), del estrato córneo y pérdida de agua transepidérmica, que predispone a una mayor penetración de alérgenos. La piel de individuos atópicos tiende a producir menos antimicrobianos (defensinas, catelicidinas, etc.), con la predisposición a la infección secundaria típica de esta patología. Agen-

tes infecciosos como *Staphylococcus pseudintermedius*, *Staphylococcus intermedius* y *Malassezia pachydermatis*, agravan el cuadro de la DAC (piodermas y otitis), y producen fenómenos de sensibilización alérgica frente a estos gérmenes, induciendo grandes cantidades de anticuerpos IgE.

Los queratinocitos tienen un importante papel inmunológico; actúan como células primordiales para el establecimiento de procesos inflamatorios cutáneos y pueden llegar a producir una serie de citoquinas que desencadenan todo el proceso.

Desde el punto de vista inmunopatológico, la DAC es compleja e involucra muchos tipos de células y vías inflamatorias en su desarrollo, progresión y patología. En la DAC los animales atópicos muestran una tendencia patológica a la producción de IgE específica para alérgenos, lo que

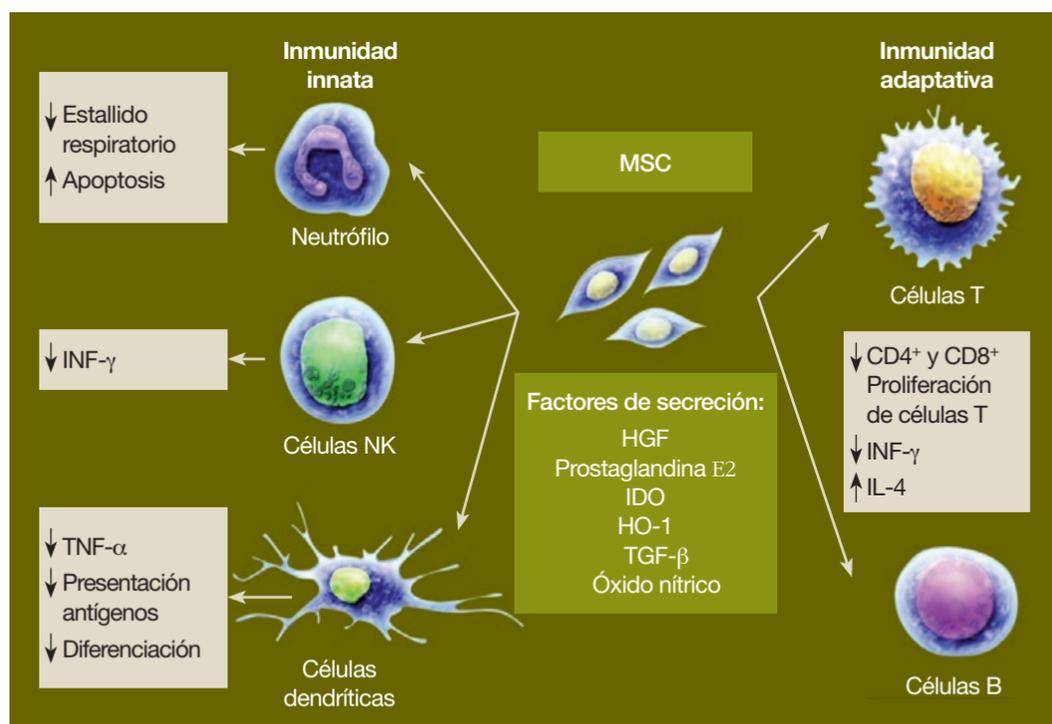


Figura 1. Esquema del efecto inmunomodulador de las MSC sobre las células del sistema inmunitario.



Figura 2. Dermatitis atópica canina refractaria al tratamiento.



Figura 3. El mismo paciente a los tres meses de la terapia inmunomoduladora con MSC.

da como resultado la sensibilización de los mastocitos y la respuesta alérgica (hipersensibilidad tipo D). En su forma aguda, las lesiones cutáneas están asociadas a la presencia de numerosos linfocitos T colaboradores ( $CD4^+$ ) que infiltran el epitelio y la dermis superficial. Estos linfocitos tienen un marcado perfil Th2, especialmente productivo en citoquinas del tipo IL-4, IL-13 e IL-3, entre otras. IL-4 e IL-13 activan la proliferación y diferenciación de linfocitos B que promueven la producción de anticuerpos tipo IgE, mientras que la IL-31 participa activamente en la producción del prurito. Se sospecha que una activación inadecuada de las células T reguladoras (T regs) es una característica inmunológica clave de la respuesta alérgica en esta enfermedad. Se ha encontrado en sangre periférica que el número de células T regs  $CD4^+CD25^+FoxP3^+$  se incrementa en perros con DAC, y esto se correlaciona con los síntomas clínicos, de forma similar a la dermatitis de los seres humanos.

El efecto de las MSC puede regular la inflamación y favorecer la cicatrización, lo que incrementa localmente la liberación del IDO, beneficioso en la terapia de la FAC.

En lesiones crónicas existe una menor expresión de estas citoquinas Th2 y se incrementan otras más acordes con un perfil Th1 como la IL-2 y el interferón- $\gamma$ . En resumen, la DAC comienza siendo una enfermedad típicamente Th2 para posteriormente, y conforme se va cronificando, convertirse en una patología con un perfil mixto Th2/Th1.

En los últimos años se ha descrito el efecto inmunomodulador de la terapia con MSC en modelos animales y en el ser humano y ha demostrado una importante mejoría del cuadro clínico gracias a sus efectos sobre la inhibición de la activación de células T y B, liberación de citoquinas antiinflamatorias (IL-10 y TGF- $\beta$ ), disminución de la producción de IL-4 e INF- $\gamma$ , así como la producción de IgE.

Nuestro grupo (pendiente de publicación) ha demostrado la eficacia terapéutica y seguridad en el empleo de las MSC en perros con DAC refractarios a los tratamientos convencionales. Hemos obtenido una mejoría significativa en los signos clínicos y prurito, así como un alto grado de satisfacción por parte del propietario (figuras 2 y 3).

#### Pénfigo foliáceo

El pénfigo foliáceo es una enfermedad autoinmunitaria de la piel mediada por anticuerpos y caracterizada por acantolisis. La patogénesis implica la producción de autoanticuerpos IgG4 e IgG1, frente a proteínas de las moléculas de adhesión de los queratinocitos (desmosomas), siendo

la desmogleína I y desmocolina los principales antígenos implicados en humanos y perros. La unión de anticuerpos a dichas moléculas de adhesión interrumpe la cohesión intercelular de los queratinocitos, lo que se traduce en acantolisis y lesiones típicas como ampollas y pústulas intraepidérmicas. El pénfigo foliáceo se ha relacionado con la exposición a fármacos, neoplasias e incluso, con algunas dermatosis de origen alérgico. Tradicionalmente el tratamiento para el pénfigo foliáceo canino ha sido la inmunosupresión, con importantes efectos secundarios y donde solo el 53 % de los casos tratados sobreviven durante más de un año.

Recientemente ha sido publicado el tratamiento de esta patología en un caso refractario a los esteroides en el perro mediante terapia celular con MSC de tejido adiposo y modificadas con el gen CTLA4 (el cual tiene un potente efecto inhibidor de los linfocitos T) lo que incrementa su capacidad inmunosupresora.

#### Lupus eritematoso sistémico

El lupus eritematoso sistémico (LES) es una enfermedad inmunomediada multisistémica, asociada a varios síndromes clínicos como poliartritis, glomerulonefritis, anemia hemolítica, trombocitopenia y dermatopatías. Se caracteriza por la producción de autoanticuerpos frente a diferentes componentes del núcleo celular que desencadenan una respuesta de hipersensibilidad de tipo II (citotóxicos) y III (inmunocomplejos).

En la especie canina ha sido descrita una predisposición genética relacionada con algunos genotipos del antígeno mayor de histocompatibilidad tipo II con un importante riesgo genético de padecerla.

El trasplante alogénico de MSC representa una importante estrategia en el tratamiento de casos refractarios en humanos, con una remisión clínica del 50 % de los pacientes tratados. Se ha demostrado que la estrategia de utilizar MSC procedentes del propio enfermo (trasplante autólogo) es ineficaz, al participar las mismas en el propio proceso de la enfermedad, lo que las hace ineficaces.

En la actualidad existen en medicina humana cinco estudios clínicos con MSC de diferentes fuentes frente al lupus.

#### Forunculosis anal canina (fístulas anales)

La forunculosis anal canina (FAC) es una enfermedad inflamatoria crónica progresiva de origen inmunomediado y caracterizada por el desarrollo de fístulas perianales. Esta enfermedad causa un cuadro clínico devastador con intenso dolor a la defecación y signos graves como colitis, diarrea, constipación y tenesmo, con cambios en el carácter y estado anímico del animal. El perro es considerado como modelo animal superior para las fístulas perianales de la enfermedad de Crohn. En el origen del proceso hay una disfunción del sistema inmuni-

tario con una respuesta patológica Th1 e incremento de la producción de citoquinas IL-2, TNF e INF- $\gamma$ . Dada su etiología inmunomediada el tratamiento actual está basado en el uso de fármacos inmunosupresores, con porcentajes de resolución muy variables, alto índice de recidivas y efectos secundarios por su uso continuado.

Existen multitud de estudios en los que se demuestra que el empleo de MSC, gracias a su efecto inmunomodulador, puede regular la inflamación y favorecer la cicatrización, lo que incrementa localmente la liberación del IDO (indoleamina 2,3 dioxigenasa), responsable de inhibir la proliferación de células T y sus mediadores inflamatorios (IL-2, TNF y INF- $\gamma$ ) (figuras 4 y 5).

En la actualidad en medicina humana en breve se comercializará el primer tratamiento con terapia celular con MSC alogénicas de tejido adiposo para las fístulas perianales en pacientes que tienen la enfermedad de Crohn. Existen además otros nueve estudios clínicos con diferentes tipos de MSC.

La administración de MSC en gatos con asma modula el ambiente local a través de la liberación de diferentes citoquinas con propiedades antiinflamatorias como la IL-10 y "despolariza" la respuesta Th2 frente a los alérgenos.

#### Inmunoterapia en medicina interna

Las MSC han despertado un enorme interés por sus importantes éxitos en el tratamiento de diferentes patologías en medicina interna de origen inmunomediado.

#### Gingivoestomatitis felina

La gingivoestomatitis crónica felina (GCF) es una grave enfermedad oral inflamatoria multifactorial y se estima que afecta hasta al 10 % de la población. Se han descrito numerosos tratamientos cuyo objetivo es eliminar todas las fuentes de infección o inflamación crónica en la boca y que, en general, producen mejorías parciales o temporales, pero raramente producen la curación total. Obliga a un tratamiento de por vida y sin respuesta en un 30 % de los pacientes. El progresivo cuadro clínico lleva a un importante deterioro y debilitamiento del animal que termina por ser sometido a eutanasia.

Estudios recientes demuestran un predominio de las células  $CD8^+$  sobre las  $CD4^+$ , lo que sugeriría una respuesta inmunomediada celular citotóxica altamente destructiva hacia la lámina propia



Figura 4. Forunculosis anal canina refractaria de dos años de duración.



Figura 5. El mismo animal a los cuatro meses de la terapia celular inmunomoduladora con MSC.

► y tejido subcutáneo de la mucosa oral. Este tipo de respuesta podría ser compatible con una etiología vírica. Los gatos con FCG suelen tener evidencia sistémica de inflamación, con neutrofilia, hipergammaglobulinemia policlonal y aumento de la expresión de citoquinas proinflamatorias en suero.

La administración de MSC a gatos con FCG refractaria a la terapia convencional es segura y eficaz y constituye una interesante alternativa terapéutica al conseguir

la remisión clínica completa o reducción de la gravedad de esta patología y resolución histológica de las lesiones orales (figuras 6 y 7).

Los animales que respondieron al tratamiento con MSC mostraron un efecto inmunomodulador sistémico que se evidenció por un descenso de las células T CD8+ circulantes y una normalización de la proporción CD4/CD8, disminución del recuento de neutrófilos y de las concentraciones de citoquinas proinflamato-

rias en suero (IL-1b e IFN- $\gamma$ ). También se apreció un incremento en la concentración sérica de IL-6.

#### Enfermedad intestinal inflamatoria crónica

La enfermedad intestinal inflamatoria crónica es una patología común en perros y gatos que, al igual que en otras enfermedades autoinmunitarias, muestra un importante componente genético que conduce a una reacción autoinmune

inapropiada en el tracto digestivo, condicionada por alteraciones en la microbiota, factores ambientales y anomalías de la respuesta inmunológica, resultado de una disfunción de la barrera intestinal y pérdida de tolerancia a los antígenos intestinales. Los protocolos de tratamiento actuales presentan a veces escasa respuesta clínica, frecuentes recaídas y efectos secundarios por la medicación inmunosupresora empleada.

El tratamiento con MSC ha sido descrito como una alternativa terapéutica segura y eficaz en el tratamiento de esta enteropatía tanto en perros y gatos como en humanos (enfermedad de Crohn) con un alto porcentaje de remisión del cuadro clínico.

#### Asma felina

El gato es una especie que desarrolla de manera natural y frecuente asma (hasta el 5 % de la población), con gran similitud a la especie humana, manifestando cuadros recurrentes, hiperreactividad de las vías respiratorias, obstrucción del flujo de aire, inflamación eosinofílica y remodelación.

La administración de MSC a gatos con GCF refractaria a la terapia convencional es segura y eficaz y constituye una interesante alternativa terapéutica.

### En continuo estudio

Gracias a su efecto inmunorregulador, el empleo de MSC como alternativa terapéutica, ha demostrado un enorme interés en la comunidad científica. Fruto de ello es la existencia en la actualidad de unos 57 estudios clínicos en medicina humana para el tratamiento de diferentes patologías inmunomediadas entre las que destacan: esclerosis múltiple, diabetes tipo 1, hepatitis autoinmune y anemia aplásica inmunomediada, entre otras.

Específicamente en medicina veterinaria nuestros resultados en enfermedades como las nefropatías inmunomediadas, diabetes tipo 1, anemias inmunomediadas o patologías autoinmunes del sistema nervioso, como la mielopatía degenerativa, son muy alentadores.

La inmunoterapia con MSC ha demostrado ser una alternativa terapéutica efectiva, fácil, segura y poco invasiva en el tratamiento de aquellos casos refractarios, o como complemento a las terapias convencionales frente a patologías de origen inmunomediado.

Actúan como “medicamento inteligente” por lo que el éxito de sus resultados dependerá del adecuado estudio persona-

lizado del paciente y de la coordinación entre el especialista veterinario en terapia celular y el especialista clínico, fundamental para determinar el momento clínico de la aplicación de la terapia, el tipo celular a emplear, dosis, pauta de administración, medicación complementaria, etc.



science photos/shutterstock.com



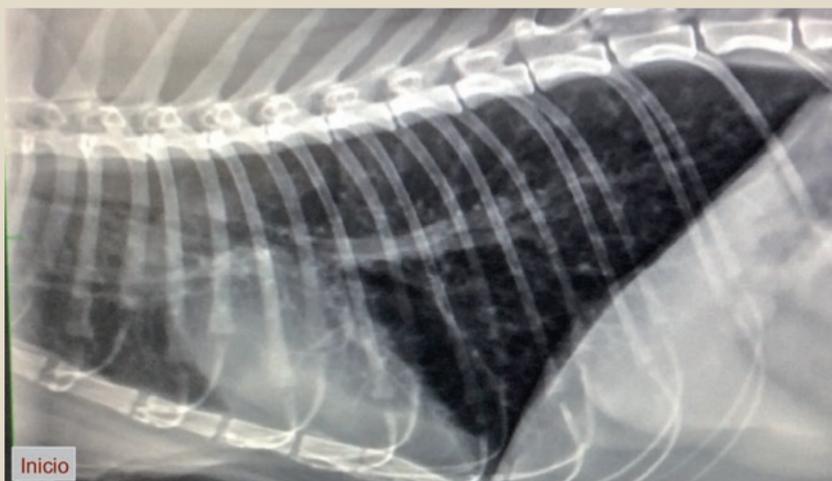
Inicio

Figura 6. Boca de un paciente con gingivostomatitis felina muy grave y refractaria a los tratamientos.



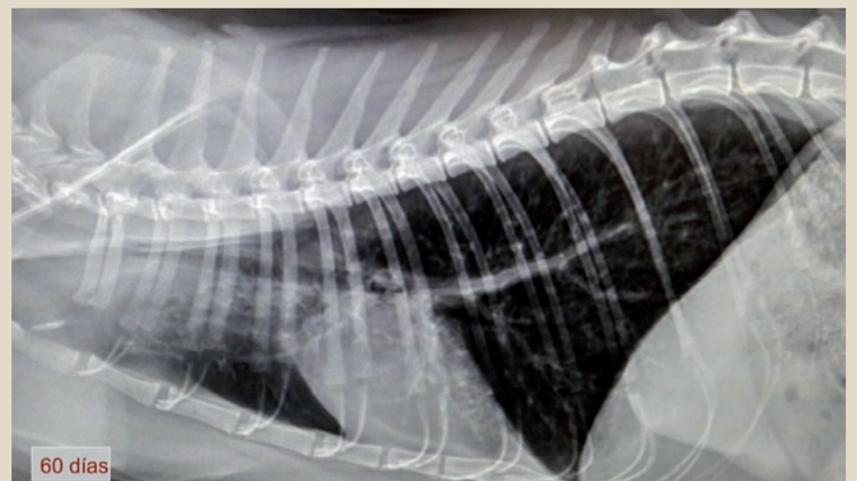
4 meses

Figura 7. Boca del mismo paciente con muy notable mejoría a los cuatro meses de la terapia inmunomoduladora con MSC.



Inicio

Figura 8. Imagen radiográfica de un gato con un cuadro grave de asma con importante remodelación del árbol bronquial.



60 días

Figura 9. Imagen radiográfica del mismo animal a los 60 días del tratamiento inmunomodulador con MSC.

Inmunopatológicamente se produce una respuesta Th2 que origina una reacción de hipersensibilidad tipo I o alérgica frente a alérgenos ambientales con liberación de IL-4 e IL-5. Estas citoquinas facilitan la producción de IgE por los linfocitos B, la proliferación de mastocitos (responsables de la respuesta inmediata) y el crecimiento y activación de los eosinófilos (responsables de la respuesta tardía y del daño sobre el árbol bronquial).

Actualmente se ha demostrado que la administración de MSC en pacientes con asma modula el ambiente local a través de la liberación de diferentes citoquinas con propiedades antiinflamatorias, como la IL-10, y “despolariza” la respuesta Th2 frente a los alérgenos. En gatos con asma el uso de MSC constituye una interesante arma terapéutica en el tratamiento a largo plazo de esta patología, ya que mejora la sintomatología del cuadro clínico y el número de crisis y disminuye la remodelación del árbol bronquial por la propia enfermedad (figuras 8 y 9). □

Bibliografía disponible en [www.argos.grupoasis.com/bibliografias/inmunomoduladores178.doc](http://www.argos.grupoasis.com/bibliografias/inmunomoduladores178.doc)