

# Revisión de la evidencia científica sobre el uso terapéutico de células madre en medicina felina

**Yaiza Gómez-Mejías**

*LdaVet MANZCVS (Medicine of Cats) MRCVS*

*RCVS AP (Feline Medicine)*

*Acr AVEPA Medicina Felina*

*ISFM Academy Member*

*La GATERA Medicina Felina*

## Resumen

Entre las patologías del gato doméstico existen muchas de origen inmunomediado, por lo que existe un interés creciente en el uso de células madre en algunas para las que aún no se han encontrado tratamientos curativos o libres de efectos secundarios. El volumen de datos disponibles sobre el potencial terapéutico de las células madre parece haber crecido durante las dos últimas décadas.

Sin embargo existen obstáculos que dificultan su investigación y su uso en algunas áreas. En esta revisión se hace en primer lugar un repaso de la clasificación, los mecanismos de acción y las guías actuales de regulación sobre el uso de células madre en veterinaria. En segundo lugar se aborda el resumen y análisis de las publicaciones científicas relevantes.

## Review of evidence-based therapeutic use of mesenchymal stem cells in feline medicine

**Abstract:** The aetiology of a significant number of feline diseases is immune-mediated. There is a growing interest in the use of stem cells in some of them for which curative treatments have not yet been found. The volume of data available on the therapeutic potential of stem cells appears to have grown dramatically over the past two decades. However, there are obstacles that hinder its research and use in some areas. The first half of this review includes a summary of the classification of stem cells, mechanisms of action and current regulatory guidelines on its use in veterinary medicine. In the second half, the results of relevant scientific publications are summarised.

**Palabras clave:** células madre felinas, revisión literaria, gingivoestomatitis felina, asma felino, enteropatía crónica felina, enfermedad renal felina, queratitis eosinofílica felina

**Keywords:** feline stem cells, update review, feline chronic gingivostomatitis, feline asthma, feline chronic enteropathy, feline renal disease, feline eosinophilic keratitis

El uso de terapias con células madre despierta un gran interés debido a sus efectos inmunomoduladores y al amplio rango de áreas terapéuticas en las que su aplicación es posible. Los esfuerzos se hacen patentes sobre todo en la investigación de aquellas enfermedades para las que no existen tratamientos curativos. Las células madre felinas se mencionaron por primera vez en la literatura científica en 2002, en un estudio en el que se describían su aislamiento y la caracterización en células extraídas de la médula ósea felina<sup>1</sup>.

### Clasificación

Las células madre son células indiferenciadas capaces de autorrenovarse y especializarse. Se clasifican según la fuente de obtención y la fase de diferenciación.

**Dependiendo de la fase de diferenciación** las células madre se clasifican en varios tipos:

Las células totipotentes sólo se encuentran en fases muy tempranas del desarrollo embrionario y pueden diferenciarse formando células capaces de generar un nuevo individuo completo.

- Las células pluripotentes son capaces de transformarse en cualquier tipo de célula adulta, pero no embrionarias. Al reprogramar células que ya están diferenciadas, se pueden generar células pluripotentes inducidas<sup>2</sup>, pero aún no contamos con herramientas que permitan practicar un uso seguro de estas células. Con frecuencia, durante el proceso de transducción, se producen alteraciones cromosómicas que aumentan el riesgo de aparición de tumores.
- Las células multipotentes mantienen cierta capacidad de diferenciación, pero ésta estará determinada por la capa germinal de la que proviene. Las células madre hematopoyéticas pueden transformarse en células del sistema inmune, en eritrocitos y plaquetas. Las células mesenquimales (MSC del inglés mesenchymal stem cells) pueden diferenciarse en hueso, cartílago, ligamento, tendón, tejido adiposo, piel, músculo y tejido conectivo.

Las MSC adultas se utilizan más a menudo porque el uso de células embrionarias resulta controvertido desde el punto de vista ético. Las fuentes más utilizadas son la médula ósea y el

tejido adiposo porque contienen una mayor cantidad de MSC que otros tejidos. La obtención de MSC derivadas del tejido adiposo es más fácil y su potencial proliferativo es superior al de las MSC derivadas de la médula ósea<sup>3</sup>. De ahí que se utilicen con mayor frecuencia. Las MSC pueden diferenciarse en células especializadas y funcionales, migrar a diferentes áreas con lesiones, contribuir al crecimiento de otras células madre y moderar la respuesta del sistema inmune<sup>4,5</sup>.

En medicina veterinaria existe aún cierta falta de estandarización en el aislamiento, el cultivo y la caracterización de las MSC y la variedad de tejidos utilizados es amplia.

Dependiendo del origen las MSC pueden ser autólogas o alogénicas. Las autólogas son extraídas del propio paciente. El aislamiento y la expansión de estas MSC consumen tiempo y recursos económicos, pero aún más inconveniente resulta el hecho de que la edad y la enfermedad del paciente pueden afectar a la potencia de sus propias MSC. Por eso existe un interés mayor en el uso de células alogénicas, es decir, MSC extraídas de otro individuo. El riesgo principal del uso de MSC alogénicas es la reacción inmunológica que puede inducir en el recipiente. Las moléculas del complejo mayor de histocompatibilidad presente en la superficie de las células exógenas pueden ser reconocidas por las células T del sistema inmune, lo que puede dar lugar a reacciones citotóxicas. Por este motivo, las autólogas son las MSC más utilizadas en veterinaria.

En cualquier caso la inmunogenicidad de las MSC es un campo en el que aún queda mucho por estudiar. Se contempla también el uso de MSC xenogénicas, es decir, procedentes de otras especies. En un estudio preliminar<sup>6</sup> reciente no se observaron efectos adversos cuando se administraron MSC derivadas de sangre periférica de caballo a 10 gatos.

## Mecanismos de acción

Inicialmente se pensó que la importancia terapéutica de las MSC residiría en su potencial regenerativo. Sin embargo su efecto inmunomodulador parece mucho más útil. Existen varias actividades a través de las cuales producen este efecto<sup>7</sup>:

- a. El efecto paracrino: las MSC provocan cambios funcionales en células inmunes a través de factores solubles. De esta manera, pueden alterar el curso y las consecuencias de una enfermedad en particular a través de la manipulación del sistema inmune del individuo.
- b. La secreción de vesículas extracelulares: las MSC son capaces de transferir moléculas a través de vesículas que brotan y se desprenden de la membrana plasmática. Estas vesículas contienen microARN, ARN mensajero, proteínas y mitocondrias que pueden desplazarse a otros lugares del organismo. Estas vesículas también tienen cierta actividad inmunomoduladora. Sin embargo el contacto célula a célula con la MSC parece indispensable para que otros efectos inmunomoduladores se produzcan y aún carecemos de técnicas estandarizadas para el aislamiento y purificación de estas vesículas. Un estudio reciente<sup>8</sup> utiliza la espectrometría de masas para, entre otras cosas, caracterizar el proteoma de estas vesículas en gatos. Las moléculas solubles y las vesículas extracelulares con actividad paracrina de las CM se agrupan bajo el término "secretoma". En este estudio se investigan y comparan los componentes y perfiles proteicos de los secretomas y exosomas felinos. Los exosomas son nanovesículas de origen endocítico que transportan diferentes tipos de proteínas, lípidos y micro ARN entre otras moléculas. El origen celular y las diferentes condiciones fisiológicas y patológicas influyen en su función. En este estudio las MSC aisladas a partir del tejido adiposo de 3 gatos fueron positivas a los marcadores CD29, CD44, CD73, CD90 y MHC-1 y negativas a CD23, CD45 y MHC-II. Se identificaron 239 proteínas en el secretoma y 228 proteínas en el exosoma de las MSC. Las proteínas del secretoma se localizaron en las regiones extracelulares y en el citoplasma. Las proteínas exosomales, en la membrana, el citoplasma y el citosol. Las primeras parecen estar principalmente implicadas en mecanismos metabólicos endocrinos e inmunológicos y en la síntesis proteica del retículo endoplasmático. Las proteínas exosomales están asociadas a los mecanismos de apoptosis, endocitosis, puentes intercelulares, activación plaquetar y otras vías de señalización.

- c. La inmunomodulación mediada por apoptosis: se cree que la mera presencia de la MSC induce una actividad moduladora en otras células.
- d. La transferencia mitocondrial: además de la transferencia de vesículas extracelulares, las MSC son capaces del transferir orgánulos a través de nanotúbulos.

En presencia de tejido dañado, se activa la expresión de determinadas quimiocinas en la parte externa de la membrana celular de la MSC, que les sirven para seguir las señales de migración. Lo ideal en general es que las MSC se inyecten en localmente en el lugar de la lesión, pero hay ocasiones en las que esta forma de administración no es viable (por ejemplo cuando una inyección en el parénquima de un órgano resulta demasiado invasiva) y la vía intravenosa puede suponer una ventaja si el anidamiento se produce de manera correcta. El anidamiento está relacionado con factores mecánicos, quimiocinas, citocinas y factores de crecimiento. Para que las MSC lleguen hasta el lugar donde se ha producido el daño debe producirse la salida desde la circulación, pasar por un secuestro pulmonar y liberarse de nuevo al torrente sanguíneo. Lo que provoca este atrapamiento pulmonar parece no ser sólo el tamaño de las MSC, sino también la interacción con el endotelio pulmonar a través de la expresión y activación de las integrinas<sup>9</sup>. Existen otras vías de administración posibles como la intraperitoneal<sup>10</sup> e intraarterial<sup>11</sup>.

## Regulación

A diferencia de la medicina humana, la veterinaria no cuenta con una lista de criterios para la identificación de MSC. Existen varios aspectos que se estudian al caracterizarlas. Algunos de ellos son la adherencia al plástico, la morfología celular (fibroblastos) durante el cultivo y los marcadores de superficie celular. La mayoría de las MSC felinas presentan marcadores tipo CD44, CD90, CD 105 y no presentan CD45, HLA-DR<sup>12</sup>. Esto ocurre tanto en MSC obtenidas de tejido adiposo como en aquellas obtenidas a partir de médula ósea.

Las guías estadounidenses<sup>13</sup> sobre el uso de terapias regenerativas establecen que sólo las células madre autólogas de tipo II (productos autólogos mínimamente manipulados para uso

homólogo en animales que no son de producción) deben utilizarse en casos clínicos, a menos que se haya obtenido la aprobación de la FDA. También indica que en la comunicación con el cliente, la publicidad o los sitios web, los veterinarios involucrados en el uso de la medicina regenerativa y los proveedores de productos, equipos y servicios de laboratorio deben abstenerse de hacer afirmaciones que no estén totalmente respaldadas por datos publicados revisados por pares.

En las guías europeas<sup>14</sup> sobre el uso de MSC en veterinaria se habla exclusivamente de células alogénicas. Tanto el número de potenciales indicaciones terapéuticas de las células madre como el de vías de administración, hacen imposible abarcar en un documento todos los parámetros que necesitan monitorizarse en los estudios de evaluación y eficacia. Por eso se especifica que en el diseño de los ensayos clínicos se necesita una aproximación individual a cada caso. En estas guías se desaconseja la administración de MSC alogénicas a un animal con propietario sin disponer de la información suficiente acerca de los posibles efectos secundarios.

Respecto al diseño de los estudios necesarios, se describe entre otras cosas, la necesidad de aportar información muy detallada sobre el desarrollo y la caracterización de los productos y un dossier incluyendo todos los estudios y la descripción de los efectos, dosis, etc. Una vez que se establecen la dosis y la frecuencia de administración, el siguiente paso es una prueba de seguridad del producto en un grupo de animales sanos con al menos un grupo control. Todos estos estudios son sumamente costosos, lo cual obstaculiza la investigación.

Por lo general, la fabricación no incluye la esterilización final del producto o la eliminación o inactivación de virus y parásitos. De ahí que sea necesario un criterio estricto de elección y aceptación de las materias primas. Existe una lista de enfermedades infecciosas y protozoarias para caballos y perros que se deben considerar, pero no para gatos. Se especifica que las pruebas de esterilidad, incluyendo la ausencia de micoplasmas y endotoxinas, deben formar parte del proceso de producción, pero no se exigen técnicas específicas. Aunque no todas las materias primas pasen por pruebas de detección de

microorganismos, cuando éstas no se realicen se debe proporcionar una justificación basada en una evaluación de riesgos. Sin embargo, dado que la vida útil del producto terminado es extremadamente corta, los métodos de control microbiológico tienen muchas limitaciones y con frecuencia no son aplicables. Por todo esto técnicas asépticas en el proceso de producción son indispensables.

Además de las reacciones inmunológicas indeseadas, se ha observado carcinogenicidad en algunos casos de contaminación cruzada con líneas celulares malignas. La biodistribución de las células administradas vía sistémica implica un secuestro pulmonar inicial sin malignidad asociada, pero también se ha observado persistencia de células inoculadas en hígado, riñón y bazo. Hay aún muchos aspectos de la biodistribución que nos son desconocidos. Las guías dan una notable importancia a la homogeneidad de la población celular y la purificación de las preparaciones, a la necesidad de evitar la sobre-expansión de los cultivos celulares y de obtener una validación de las condiciones de cultivo que evite la inestabilidad genética. El principal problema de la carcinogenicidad es que en algunos casos su efecto puede tardar meses o años en manifestarse, por lo que no es posible comprobarlo a través de estudios clínicos. Por otro lado, la migración de las células madre es impredecible. Para compensar este inconveniente, las guías sugieren el uso de agentes osteoinductivos, la administración local de las células madre y el uso de hidrogel, los cuales favorecen la retención local en el sitio de administración.

## Potencial terapéutico en la clínica veterinaria

Para redactar esta revisión se realizó una búsqueda de estudios clínicos con aplicación terapéutica en Enero de 2021 en dos bases de datos (VetMed Resources y PubMed) utilizando los términos "(cats or feline) AND (stem cell therapy) AND (outcome OR result\*)". Los resultados se limitaron inicialmente a publicaciones revisadas por pares en revistas académicas. Se añadieron publicaciones en castellano encontradas al utilizar los términos "células madre" AND "gatos" en el buscador de Google. Se aplicaron los criterios

de exclusión eliminando de la lista los duplicados, las publicaciones no relacionadas con células madre de gatos domésticos, estudios in vitro, reportes de casos y aquellos estudios en los que las células madre felinas en casos de enfermedad natural no eran el tema principal de investigación. Se repasaron cuidadosamente las referencias y finalmente se consideró que, aunque con menor grado de evidencia científica, la inclusión de dos comunicaciones publicadas en congresos científicos y tres estudios experimentales contribuiría positivamente a completar la revisión.

Finalmente se obtuvo una lista de 11 publicaciones acerca de gatos con enfermedad natural, 3 ensayos clínicos en gatos con enfermedad experimental inducida y dos comunicaciones científicas. (Tabla)

## Enfermedad renal

Durante la revisión se encontraron 5 estudios que describen 7 ensayos clínicos en gatos con enfermedad renal crónica y un estudio experimental en 15 gatos con enfermedad renal aguda.

La enfermedad renal crónica (ERC) afecta a un número significativo de gatos y, exceptuando el trasplante, no disponemos de un tratamiento definitivo. La habilidad de las MSC para diferenciarse en células renales epiteliales y sus propiedades inmunomoduladoras parecen prometedoras. Se cree que el efecto observado en los estudios de enfermedad renal proviene de mecanismos paracrinos, antiinflamatorios y de protección de la integridad vascular mediada por el factor de crecimiento endotelial vascular<sup>12</sup>.

Las formas de administración estudiadas hasta ahora incluyen la intravenosa, intraarterial e intrarrenal. El número de sedaciones e intervenciones requeridos en la administración intrarrenal resulta muy inconveniente para su implementación clínica, lo cual ha limitado su investigación. La administración vía intravenosa no es sólo importante porque resulta menos invasiva. También resulta más conveniente para alcanzar los efectos paracrinos<sup>15</sup> deseados.

En un estudio<sup>16</sup> se practicó la inyección de células madre procedentes de médula ósea (2 gatos sanos y 1 gato con ERC) y tejido adiposo (2 gatos con ERC) en el córtex de uno de los riñones de

Referencia Patología	Fuente AU/AL Almacenaje	Vía Frecuencia de dosificación	Tamaño de la muestra	Aleatorizado Grupo control Ciego
Quimby 2011 <sup>16</sup> ERC	AU GR/MO Fresco	Intrarrenal Una sola inyección	5	No No No
Quimby 2013 <sup>17</sup> Estudio 1 ERC	AL GR CRIO	IV 3 inyecciones a intervalos de 2 semanas	6	No No No
Quimby 2013 <sup>17</sup> Estudio 2 ERC	AL GR CRIO	IV 3 inyecciones a intervalos de 2 semanas Dosis alta (x2 dosis estudio I)	5	No No No
Quimby 2013 <sup>17</sup> Estudio 3 ERC	AL GR Cultivadas a partir de tejido adiposo criopreservado	IV 3 inyecciones a intervalos de 2 semanas Dosis alta (x2 dosis estudio I)	3	No No No
Quimby 2016 <sup>18</sup> ERC	AL GR Cultivadas a partir de tejido adiposo criopreservado	IV 3 inyecciones a intervalos de 2 semanas	8	Sí Sí (Estudio cruzado) Sí
Vidane 2017 <sup>19</sup> ERC	AL Embriónicas CRIO	IV 2 inyecciones a intervalos de 3 semanas	9	No No No

\*CRIO= MSC criopreservadas \*ERC: Enfermedad renal crónica \* ERA: Enfermedad renal aguda  
\*Exp: Estudio experimental \* Com: Comunicación científica \*AU: autólogas \* AL: Alogénicas  
\* GR:grasa \* MO: médula ósea \*GER: gingivoestomatitis refractaria \* EIC: enteropatía inflamatoria  
crónica



Duración en meses	Resultados principales
2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Procedimiento seguro.</li> <li>• Reducción leve de la creatinemia</li> </ul>
2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Los efectos adversos de dosis alta (4 millones/ infusión) desaparecen si la grasa es criopreservada antes de extraer las células</li> <li>• Mejoría significativa en creatinemia, pero sin repercusión clínica relevante a las 8 semanas.</li> <li>• No hubo efectos secundarios.</li> </ul>
2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Vómitos y aumento del esfuerzo respiratorio en primera y tercera inyección.</li> <li>• Tendencia a la mejoría en la tasa de filtración glomerular.</li> </ul>
2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• No hubo diferencia en los parámetros renales.</li> <li>• No hubo efectos secundarios.</li> </ul>
2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Seguridad demostrada de infusiones intravenosas repetidas de 2 millones/ kg (grasa previamente criopreservada)</li> <li>• No se observó mejoría significativa de la función renal (8 semanas)</li> </ul>
2	<ul style="list-style-type: none"> <li>• Reducción leve de la creatinina (&lt; 0.5 mg/dl) y aumento de albúmina sérica. Relevancia clínica incierta.</li> </ul>

6 gatos. Uno de ellos se excluyó porque no se pudo monitorizar la función renal. En los dos gatos con ERC (IRIS III) que recibieron una inyección intra-arterial de MSC de origen adiposo se advirtió una mejoría leve en la creatinina, sobre todo a los dos meses de la inyección. Uno de estos dos gatos desarrolló leucemia linfocítica aguda 4 meses después del estudio, pero no se consideró que estuviera relacionada con la inyección de células madre. También se observó hematuria microscópica en uno de los gatos sanos después de la inyección, aunque no se observaron síntomas clínicos.

En un estudio posterior<sup>17</sup>, los mismos investigadores publicaron un artículo que incluye la descripción de tres estudios piloto con células alogénicas extraídas de tejido adiposo y administradas vía endovenosa. A los grupos de estudio 1 y 2 se les inocularon MSC criopreservadas a dosis bajas y altas respectivamente. Al grupo 3 se le inoculó la dosis más alta, pero se utilizaron células cultivadas a partir de tejido adiposo criopreservado. Los efectos adversos observados con dosis intravenosas altas en el grupo 2 no se observaron en el grupo 3. En el primer grupo se observó cierta reducción en los niveles de creatinina, pero ésta se juzgó irrelevante desde el punto de vista clínico.

Como tratamiento de los síntomas digestivos y aumento de la frecuencia respiratoria observados como efectos secundarios en el grupo 2, se utilizaron con éxito maropitant y dexametasona.

Se cree que el microembolismo pulmonar puede representar un posible mecanismo implicado en estos síntomas<sup>12</sup>. El diseño de esta investigación se hizo basándose en estudios hechos en ratones en los que se había observado una mejoría en la función renal. Sin embargo, a pesar de utilizar dosis similares, la enfermedad en ratones era aguda y las células que se utilizaron fueron autólogas. Se sospecha que las MSC autólogas tienen una duración de acción mayor en el organismo. Por otro lado, no se sabe si la criopreservación reduce el efecto de las células madre.

En 2016 Quimby *et al* publicaron un estudio<sup>18</sup> similar, esta vez aleatorio, ciego, incluyendo un grupo control y utilizando exclusivamente la dosis baja de MSC obtenidas a partir del cultivo de grasa criogenizada. Los resultados obtenidos no fueron diferentes.

Referencia Patología	Fuente AU/AL Almacenaje	Vía Frecuencia de dosificación	Tamaño de la muestra	Aleatorizado Grupo control Ciego
Thomson 2019 <sup>20</sup> ERC	AU GR Fracción vascular del estroma criopreservada	IA carótida y femoral. 2 inyecciones a intervalos de 2 semanas.	5	No No No
Rosselli 2016 <sup>21</sup> (Exp) ERA	AL GR, MO & Fibroblastos Fresco	IV Una inyección	15	Sí Sí No
Villatoro 2016 <sup>25</sup> (Com) GER	AL GR ¿?	¿?	6	No No No
Arzi 2016 <sup>26</sup> GER	AU GR Fresco	IV Dos inyecciones a intervalos de 30 días	7	No No No
Arzi 2017 <sup>27</sup> GER	AL GR Fresco	IV Dos inyecciones a intervalos de 30 días	7	No No No
Arzi 2020 <sup>28</sup> GER	AU 13 AL 5 Fresco (a partir de MSC criopreservadas reavivadas en cultivo dentro de las 72 hrs antes de la administración)	IV Dos inyecciones administradas a intervalos de 30 días	18 (uno no completó los 6m de estudio)	No Sí No



Duración en meses	Resultados principales
3	<ul style="list-style-type: none"> <li>Técnica segura, pero requiere formación.</li> </ul>
6 días	<ul style="list-style-type: none"> <li>La administración de dosis altas de MSC o fibroblastos no parecieron influir en el curso de la ERA.</li> </ul>
6	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mejoría clínica significativa con desaparición progresiva del dolor y de las lesiones bucales, reflejado en la disminución del SDAI.</li> <li>Reducción del recuento de neutrófilos</li> </ul>
6	<ul style="list-style-type: none"> <li>Respuesta de 71.4%</li> <li>No hubo recurrencia</li> </ul>
6	<ul style="list-style-type: none"> <li>Respuesta en el 57% a los 20 meses</li> <li>No hubo recurrencia</li> </ul>
6	<ul style="list-style-type: none"> <li>AU 77% mejoría significativa o cura</li> <li>AL 60% 5 presentaron peores resultados en SDAI.</li> <li>Las probabilidades de contaminación parecieron aumentar a partir de las 48 h después de la reactivación celular.</li> </ul>

Vidane *et al* extrajeron MSC de membranas amnióticas de gato durante procedimientos de esterilización de gatas gestantes<sup>19</sup>. Se inocularon MSC criopreservadas, después de estimar una reducción en la viabilidad de las células de aproximadamente un 7% comparado con el momento antes de la criopreservación. Se observó una mejoría leve en la proteinuria y la densidad urinaria y una reducción leve de la creatinina, pero la relevancia clínica de esta mejoría está aún por determinar, puesto que podría corresponder a la fluctuación habitual de los valores.

En 2019 se administró inyecciones intra-arteriales de fracción vascular estromal (FVE) a 5 gatos<sup>20</sup>. La FVE es uno de los productos iniciales en el procesado del material adiposo que se utiliza para la extracción de MSC y sus efectos inmunomoduladores no se conocen bien. Se monitorizaron los niveles de creatinina y urea y se realizaron pruebas de aclaramiento de io-hexol a 5 gatos con enfermedad renal IRIS III. Algunos sufrían comorbilidades. En dos gatos se advirtió una reducción de los valores de creatinina y en tres, un aumento. En un gato en el que la inyección se realizó vía arteria carótida se observó síndrome de Horner. La técnica demostró ser segura, pero requiere un alto grado de formación. Las limitaciones de la segunda fase impidieron valorar de manera fiable el efecto sobre la función renal, pero en principio no se observaron diferencias significativas. Entre estas limitaciones los autores mencionan la utilización de FVE, la falta de caracterización de las células madre y las diferencias en las dosis administradas.

En un estudio experimental<sup>21</sup> realizado en 2016 se inyectaron células alogénicas, células autólogas y fibroblastos, a 15 gatos con enfermedad renal aguda causada mediante una isquemia de 60 minutos. Se dividieron en tres grupos en los que se utilizaron MSC de origen adiposo, de médula ósea y fibroblastos. En ninguno de los tres casos se observó mejoría en un periodo de 6 días previos a la eutanasia. Sin embargo en un grupo de pacientes caninos con enfermedad renal aguda (ERA) inducida a los que se inyectaron MSC de origen umbilical vía intrarrenal sí se observó una reducción en la creatinina y una mejoría de los índices de necrosis tubular y la esclerosis glomerular<sup>22</sup>.

Referencia Patología	Fuente AU/AL Almacenaje	Vía Frecuencia de dosificación	Tamaño de la muestra	Aleatorizado Grupo control Ciego
Arzi 2020 <sup>30</sup> GER	AU AL Fresco (a partir de MSC criopreservadas reavivadas en cultivo dentro de las 72 hrs antes de la administración)	IV Dos inyecciones administradas a intervalos de 30 días	5 gatos. (en uno de ellos no pudo realizarse) el seguimiento a partir de los 3 meses)	No Sí No
Febre 2020 <sup>31</sup> (Com) GER	AL Células embrionicas CRIO	IV Una sola inyección	8 (6 con extracción total + 2 con extracción parcial)	¿?
Webb & Webb 2015 <sup>32</sup> EIC	AL GR Cultivadas a partir de tejido adiposo criopreservado	IV Dos inyecciones a intervalos de 14 días	7	Sí Sí No
Villatoro 2018 <sup>33</sup> QE	AL GR Cultivadas a partir de tejido adiposo criopreservado	Subconjuntival 2 inyecciones a intervalos de 60 días	5	No No No
Tzril et al 2014 (Exp) Asma > 9 meses	AL GR Cultivadas a partir de tejido adiposo criopreservado	IV 2 Inyecciones a intervalos de 2 meses	5	Sí Sí No
Tzril et al 2016 (Exp) Asma agudo	AI GR CRIO & Cultivadas a partir de tejido adiposo criopreservado	IV 5 inyecciones los días 0,14, 28, 98 y 130	4	Sí Sí No

Duración en meses	Resultados principales
6	<ul style="list-style-type: none"> <li>Ausencia de inmunomodulación y mejoría clínica.</li> </ul>
6	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mejoría a largo plazo en gatos con GE crónica después de extracción parcial o total.</li> </ul>
3	<ul style="list-style-type: none"> <li>El 88.9% mostró mejoría a resolución completa de los signos clínicos.</li> </ul>
11	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mejoría en el 100% de los casos a los 6 meses, sin recurrencia.</li> </ul>
12	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se redujo la remodelación de las vías aéreas a los 8 meses,</li> <li>No se observó una reducción de la inflamación, ni de la hiperreactividad en respuesta a la estimulación alérgica.</li> </ul>
9	<ul style="list-style-type: none"> <li>Reducción de la eosinofilia en lavado broncoalveolar el día 133.</li> <li>A los 9 meses se observó una reducción de la remodelación de las vías aéreas.</li> <li>No se observaron cambios en el grado de inflamación, ni la hiperreactividad en respuesta a la estimulación alérgica.</li> </ul>

## Gingivostomatitis crónica refractaria al tratamiento

La etiología de la gingivostomatitis crónica es multifactorial y se cree que surge de una respuesta inmune inapropiada a la estimulación antigénica oral. El riesgo de gingivostomatitis crónica refractaria al tratamiento se correlaciona con el número de gatos que conviven en el hogar y parece aumentar un 70% por cada gato adicional, probablemente debido a una mayor exposición a virus y a la reducción de la respuesta inmune como consecuencia del estrés<sup>23</sup>. El tratamiento generalmente incluye extracciones dentales y terapia inmunosupresora, pero un número significativo de gatos sigue siendo refractario al tratamiento<sup>24</sup>. Los síntomas clínicos pueden afectar drásticamente la calidad de vida.

Cuatro publicaciones revisadas por pares y dos comunicaciones fueron encontradas durante esta revisión.

En 2016 Villatoro *et al* publican una comunicación en el Congreso del Colegio Andaluz de Veterinarios sobre el uso de células madre alogénicas en 6 gatos con gingivostomatitis felina<sup>25</sup>. Los resultados son bastante alentadores en todos ellos.

En 2016 y 2017 Arzi *et al* demuestran una mayor eficacia del tratamiento intravenoso con células madre autólogas<sup>26</sup> (71.4% respuesta clínica) frente a las alogénicas<sup>27</sup> (57% respuesta clínica) en dos grupos de 7 gatos.

En el primer estudio<sup>26</sup> se demostró la inmunomodulación mediante regulación de la activación de los linfocitos T, las proteínas séricas y los niveles de citocinas y se sugirió la ausencia de células CD8lo como biomarcador para predecir la respuesta a la terapia con MSC. En el segundo estudio<sup>27</sup>, en el que se evaluó el resultado del uso de MSC alogénicas, los efectos de la terapia fueron menores y tuvieron efecto mucho más tarde. Se observaron reacciones adversas auto-limitantes en 2 gatos durante la inoculación del preparado. Estos estudios no incluyeron grupos control, no son aleatorizados y se realizaron en un solo centro.

Los autores emprendieron dos nuevos estudios publicados en 2020. Uno de ellos<sup>28</sup> evaluó en el efecto de inyecciones intravenosas de células madre alogénicas (n=5) y autólogas (n=13) en

gatos con gingivostomatitis refractaria en diferentes centros. A diferencia de los anteriores, en este estudio se incluyeron resultados de diferentes centros universitarios y privados. Los resultados mostraron que estas células de origen adiposo mantuvieron su viabilidad, fenotipo y función a pesar del transporte. Las probabilidades de contaminación parecieron aumentar a partir de las 48h después de la reactivación celular. La respuesta a la terapia fue positiva en un porcentaje similar a los obtenidos en los estudios descritos anteriormente. En el 77% de los gatos tratados con células autólogas y el 60% de los gatos tratados con células alogénicas se observó mejoría o curación.

En comparación con gatos que no respondieron a la terapia, los gatos que respondieron tuvieron porcentajes más bajos de CD8lo antes y a los tres meses del tratamiento, por lo que se sugiere su potencial uso como biomarcador. Se demostró una reducción significativa de las concentraciones de globulinas circulantes y una disminución de células T CD3+ y células B CD20+ en la mucosa oral.

Los efectos adversos reportados incluyeron edema de la extremidad en la que se inoculó el preparado en 4 gatos. En dos se administró difenhidramina y el edema se solucionó en unas horas. Otro desarrolló necrosis dérmica que necesitó reconstrucción quirúrgica. Dos de ellos experimentaron un aumento de la frecuencia respiratoria durante la administración que se resolvió de manera espontánea y otros dos mostraron vómitos y diarrea inmediatamente después del tratamiento. Los autores reportaron que habían decidido dejar de trabajar con células autólogas como consecuencia del efecto perjudicial del virus sincitial felino en las células adiposas<sup>29</sup>.

En el segundo estudio<sup>30</sup> de 2020 se evaluaron los efectos de la terapia en gatos sin extracción dental completa. No se observó una respuesta clínica positiva en tres gatos. En dos gatos sólo se observó una respuesta leve. En ninguno de ellos se observó inmunomodulación.

En una comunicación<sup>31</sup> sobre un estudio piloto francés publicada también en 2020 se sugirió que una única inoculación con MSC neonatales criopreservadas es segura y provoca una mejoría a largo plazo en gatos con gingivostomatitis

crónica que han pasado por extracción parcial (n 2) o total (n 6).

## Enteropatía crónica

La enteropatía crónica más frecuente es la enteritis inflamatoria idiopática, cuya etiología está posiblemente asociada a problemas en la inmunidad de la mucosa y a la pérdida de tolerancia a ciertos antígenos.

Un estudio<sup>32</sup> aleatorio con grupo control valoró la respuesta al tratamiento de inyecciones intravenosas de MSC alogénicas frescas en siete gatos con síntomas de enfermedad inflamatoria intestinal. No se observaron efectos adversos y, según los propietarios, 5 de los 7 gatos mostraron mejoría o resolución completa de los signos clínicos a las 4-8 semanas del tratamiento. Los otros 2 gatos también mostraron una mejoría modesta pero persistente. Sólo se efectuó el diagnóstico histopatológico en 3 gatos, de entre los cuales se observó enteritis linfoplasmácica solamente en dos.

## Queratitis eosinofílica (QE)

Se cree que la etiología de estas lesiones está relacionada con un mecanismo inmunomediado a partir de la estimulación antigénica. La recurrencia y los efectos adversos de la terapia son frecuentes.

En el único estudio publicado hasta ahora se describe el tratamiento de la QE mediante dos aplicaciones subconjuntivales MSC alogénicas criopreservadas durante con un intervalo de 2 meses en cinco gatos con QE unilateral refractaria<sup>33</sup>. No se observaron efectos adversos y todos los gatos mostraron una remisión completa a los 6 meses que se mantuvo estable durante al menos 11 meses. Al igual que en los casos de gingivostomatitis refractaria, algunas tardaron meses en resolverse.

## Asma

Al igual que en la especie humana, el asma felino está caracterizado por obstrucción del flujo de aire, hiperreactividad de las vías aéreas bajas, inflamación eosinofílica y remodelación bronquial. Esta reacción de hipersensibilidad está mediada por linfocitos Th2. Hasta el momento

el tratamiento de elección consiste en terapia con glucocorticoides y broncodilatadores. Sin embargo aún no contamos con un tratamiento que cure o prevenga el asma.

En un estudio experimental<sup>34</sup> se utilizaron 4 gatos en el grupo control (que recibieron un preparado inyectable de PBS) y 5 gatos en el grupo tratado con células madre. El asma se indujo experimentalmente en gatos de laboratorio mediante la exposición a un aerosol fabricado con alérgeno de hierba bermuda durante 9 meses antes de la inoculación de células madre.

Se utilizaron un esquema de puntuación clínica y una escala analógica visual para valorar los cambios clínicos, un recuento de eosinófilos a partir de muestras obtenidas a través del lavado broncoalveolar para evaluar el grado de inflamación, estudio de la ventilación mecánica para valorar la función pulmonar e imágenes de TAC para valorar la remodelación de las paredes bronquiales. También se analizaron las concentraciones de IgE, IL-10 y linfocitos CD4+ para valorar los efectos del tratamiento en la respuesta inmunológica.

Aunque no hubo cambios en la inflamación de las vías aéreas o la hiperreactividad en respuesta a la estimulación alérgica, sí se redujo la remodelación de las vías aéreas.

En otro estudio<sup>15</sup> experimental en el que la sensibilización a la hierba bermuda fue inducida poco antes de la inoculación de células madre, los porcentajes de eosinofilia en lavado traqueoalveolar fueron inicialmente mayores en los gatos tratados con células madre que en aquellos que recibieron placebo. Sin embargo a los 9 meses, este porcentaje se redujo significativamente en los primeros (6% en el grupo tratado vs 20% en el grupo control), sugiriendo un efecto inmunomodulador a largo plazo.

## Conclusión

Existe evidencia científica acerca de la terapia con MSC en medicina felina. Sin embargo, existe un número más bien bajo de estudios disponibles, que dificulta la predicción de la eficacia y los efectos adversos en gatos, especialmente a largo plazo. El número de individuos utilizados en los ensayos es muy pequeño y se observa una falta de estandarización de los diferentes productos y dosis en los ensayos clínicos. Es probable que sea necesaria la implicación de un mayor número de equipos de investigación para reducir posibles sesgos que surgen cuando la mayoría de las publicaciones sobre un tema concreto están publicados por los mismos autores.

El uso de las células autólogas y alogénicas no parece por ahora una opción fácil o totalmente segura, por lo que parece lógico que la investigación se centre en los mecanismos de acción y la identificación de biomarcadores y parámetros clínicos para alcanzar un mayor efecto terapéutico, así como en los posibles efectos de la terapia de MSC en gatos con enfermedades concurrentes.

## Referencias

1. Martin DR, Cox NR, Hathcock TL, *et al.* Isolation and characterization of multipotent mesenchymal stem cells from feline bone marrow. *Exp Hematol* 2002;30:879.
2. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of Pluripotent Stem Cells from Mouse Embryonic and Adult Fibroblast Cultures by Defined Factors. *Cell*. 2006; 126(4):663–76
3. Webb TL, Quimby JM, Dow SW. In vitro comparison of feline bone marrow derived and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. *J Feline Med Surg* 2012;14:165–8.
4. English K, Barry FP, Mahon BP. Murine mesenchymal stem cells suppress dendritic cell migration, maturation and antigen presentation. *Immunol Lett* 2008;115:50–8.
5. McIntosh KR, Frazier T, Rowan BG, *et al.* Evolution and future prospects of adipose-derived immunomodulatory cell therapeutics. *Expert Rev Clin Immunol* 2013;9:175–84.
6. Deboschere Y, Depuydt E, Pauwelyn G, Beerts C, Van Hecke L, Verhaert L, Duchateau L, Saunders J, Tack L, Spaas JH. Safety and immunomodulatory properties of equine peripheral blood-derived mesenchymal stem cells in healthy cats. *Vet Immunol Immunopathol*. 2020 Sep;227:110083
7. Voga M, Adamic N, Vengust M, Majdic G. Stem Cells in Veterinary Medicine-Current State and Treatment Options. *Front Vet Sci*. 2020 May 29;7:278.
8. Villatoro AJ, Martín-Astorga MDC, Alcoholado C, Sánchez-Martín MDM, Becerra J. Proteomic Analysis of the Se-

- cretome and Exosomes of Feline Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Animals (Basel)*. 2021 Jan 24;11(2):295
9. Wang S, Guo L, Ge J, Yu L, Cai T, Tian R, *et al*. Excess integrins cause lung entrapment of mesenchymal stem cells. *Stem Cells*. (2015) 33:3315–26.
  10. Parys M, Nelson N, Koehl K, Miller R, Kaneene JB, Kruger JM, *et al*. Safety of intraperitoneal injection of adipose tissue-derived autologous mesenchymal stem cells in cats. *J Vet Intern Med*. (2016) 30:157–63.
  11. Thomson AL, Berent AC, Weisse C, Langston CE. Intra-arterial renal infusion of autologous mesenchymal stem cells for treatment of chronic kidney disease in cats: Phase I clinical trial. *J Vet Intern Med*. 2019 May;33(3):1353-1361.
  12. Quimby JM. Stem Cell Therapy. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 2019 Mar;49(2):223-231. doi: 10.1016/j.cvsm.2018.10.001. Epub 2018 Dec 24
  13. American Veterinary Medical Association policy on therapeutic use of stem cells and regenerative medicine. 2017. Available at: <https://www.avma.org/KB/Policies/Pages/Therapeutic-Use-of-Stem-Cells-and-Regenerative-Medicine.aspx>. Accessed 14th February 2021
  14. Guidance of the Ad Hoc Expert Group on Veterinary Novel Therapies (ADVENT) of the European Medicines Agency's (EMA) Committee for Medicinal Products for Veterinary Use. Available <https://www.ema.europa.eu/en/veterinary-regulatory/research-development/scientific-guidelines/novel-therapies> Accessed 14th February 2021
  15. Togel, F., Weiss, K., Yang, Y., Hu, Z., Zhang, P., & Westenfelder, C. (2007). Vasculotropic, paracrine actions of infused mesenchymal stem cells are important to the recovery from acute kidney injury. *American Journal of Physiology. Renal Physiology*, 292, F1626–F1635.
  16. Quimby JM, Webb TL, Gibbons DS, Dow SW. Evaluation of intrarenal mesenchymal stem cell injection for treatment of chronic kidney disease in cats: a pilot study. *J Feline Med Surg*. 2011 Jun;13(6):418-26.
  17. Quimby JM, Webb TL, Habernicht L, *et al*. Safety and efficacy of intravenous infusion of allogeneic cryopreserved mesenchymal stem cells for treatment of chronic kidney disease in cats: results of three sequential pilot studies. *Stem Cell Res Ther* 2013;4(2):48.
  18. Quimby JM, Webb TL, Randall E, Marolf A, Valdes-Martinez A, Dow SW. Assessment of intravenous adipose-derived allogeneic mesenchymal stem cells for the treatment of feline chronic kidney disease: a randomized, placebo-controlled clinical trial in eight cats. *J Feline Med Surg*. 2016 Feb;18(2):165-71.
  19. Vidane AS, Pinheiro AO, Casals JB, *et al*. Transplantation of amniotic membrane derived multipotent cells ameliorates and delays the progression of chronic kidney disease in cats. *Reprod Domest Anim* 2017;52(Suppl 2):316.
  20. Thomson AL, Berent AC, Weisse C, *et al*. Intra-arterial renal infusion of autologous mesenchymal stem cells for treatment of chronic kidney disease in cats: phase I clinical trial. *J Vet Intern Med* 2019;33(3):1353.
  21. Rosselli DD, Mumaw JL, Dickerson V, *et al*. Efficacy of allogeneic mesenchymal stem cell administration in a model of acute ischemic kidney injury in cats. *Res Vet Sci* 2016;108:18–24.
  22. Lee SJ, Ryu MO, Seo MS, *et al*. Mesenchymal Stem cells contribute to improvement of renal function in a canine kidney injury model. *In Vivo* 2017;31:1115–24.
  23. Peralta S, Carney PC. Feline chronic gingivostomatitis is more prevalent in shared households and its risk correlates with the number of cohabiting cats. *Journal of Feline Medicine and Surgery*. 2019;21(12):1165-1171.
  24. Winer JN, Arzi B, Verstraete FJ. Therapeutic Management of Feline Chronic Gingivostomatitis: A Systematic Review of the Literature. *Front Vet Sci*. 2016 Jul 18;3:54.
  25. Villatoro-Jiménez AJ, Fariñas-Guerrero, F. Gingivostomatitis crónica felina: la terapia celular inmunomoduladora como nueva alternativa terapéutica. *Proceedings Congreso Andaluz de Veterinarios Especialistas en Animales de Compañía Oct-Dic 2016* p 69-68
  26. Arzi B, Mills-Ko E, Verstraete FJ, *et al*. Therapeutic efficacy of fresh, autologous mesenchymal stem cells for severe refractory gingivostomatitis in cats. *Stem Cells Transl Med* 2016;5(1):75.
  27. Arzi B, Clark KC, Sundaram A, *et al*. Therapeutic efficacy of fresh, allogeneic mesenchymal stem cells for severe refractory feline chronic gingivostomatitis. *Stem Cells Transl Med* 2017;6(8):1710.
  28. Arzi B, Peralta S, Fiani N, Vapniarsky N, Taechangam N, Delatorre U, Clark KC, Walker NJ, Loscar MR, Lommer MJ, Fulton A, Battig J, Borjesson DL. A multicenter experience using adipose-derived mesenchymal stem cell therapy for cats with chronic, non-responsive gingivostomatitis. *Stem Cell Res Ther*. 2020 Mar 13;11(1):115.
  29. Arzi B, Taechangam N, Lommer MJ, Walker NJ, Loscar MR, Borjesson DL. Stem cell therapy prior to full-mouth tooth extraction lacks substantial clinical efficacy in cats affected by chronic gingivostomatitis. *J Feline Med Surg*. 2020 Oct 29 1-5 Epub ahead of print. PMID: 33118849
  30. Arzi B, Kol A, Murphy B, Walker NJ, Wood JA, Clark K, *et al*. Feline foamy virus adversely affects feline mesenchymal stem cell culture and expansion: implications for animal model development. *Stem Cells Dev*. 2015;24(7):814–23.
  31. Febre B, Maddens S, Robert C, Rakic R, Plantier N, Saulnier N. Single infusion of allogeneic neonatal Mesenchymal stromal cells to manage refractory feline gingivostomatitis- A clinical pilot study *Abstracts / Cytotherapy* 22 (2020) S26-S186
  32. Webb TL, Webb CB. Stem cell therapy in cats with chronic enteropathy: a proof-of-concept study. *J Feline Med Surg* 2015;17(10):901.
  33. Villatoro AJ, Claros S, Fernandez V, *et al*. Safety and efficacy of the mesenchymal stem cell in feline eosinophilic keratitis treatment. *BMC Vet Res* 2018;14(1):116.
  34. Trzil JE, Masseur i, Webb TL, *et al*. Long-term evaluation of mesenchymal stem cell therapy in a feline model of chronic allergic asthma. *Clin Exp Allergy* 2014; 44: 1546–1557.
  35. Trzil JE, Masseur i, Webb TL, *et al*. Intravenous adipose-derived mesenchymal stem cell therapy for the treatment of feline asthma: a pilot study. *J Feline Med Surg* 2016; 18: 981–990.
  36. Villatoro AJ, Martín-Astorga MDC, Alcoholado C, Sánchez-Martín MDM, Becerra J. Proteomic Analysis of the Secretome and Exosomes of Feline Adipose-Derived Mesenchymal Stem Cells. *Animals (Basel)*. 2021 Jan 24;11(2):295.