

Tratamiento de la Enfermedad Inflamatoria Intestinal Canina con Células Madre Mesenquimales

Mesenchymal Stem Cells for Treatment of Canine Inflammatory Bowel Disease

Blanca Anega de Alvarado, Estefanía Romero Leal,
Elena Usón García, J.M. Usón-Casaús y E.M. Pérez Merino

Universidad de Extremadura

Resumen

Siguiendo los estudios que demuestran la eficacia de la administración de células madre para el tratamiento de la enfermedad de Crohn humana, en este estudio evaluamos la factibilidad de esta terapia en la enfermedad inflamatoria intestinal (IBD) canina. Once pacientes de la especie canina diagnosticados de IBD fueron infundidos por vía intravenosa con células madre mesenquimales alogénicas. Se calcularon los índices clínicos CIBDAI (Jergens et al., 2003) y CCECAI (Allenspach, Wieland, Gröne, y Gaschen, 2007) antes y seis semanas después de la terapia y en el índice endoscópico CIBDEI (Pérez-Merino et al., 2015) antes y entre 90-120 días, comparándose mediante la prueba de Wilcoxon. La infusión fue segura y sin efectos secundarios en ningún paciente. La remisión clínica se consiguió en 9/11 perros y la endoscópica en 4/11. Se encontraron diferencias significativas antes y después del tratamiento en los tres índices. Una sola infusión de células madre mejoró la clínica y las lesiones macroscópicas gastrointestinales en perros con IBD.

Palabras clave: células madre, IBD canino, índices clínicos, endoscopia.

Abstract

Following the studies pertaining the administration efficiency of Mesenchymal stem cells (MSCs) as treatment for Crohn's Human syndrome, this study aims to determine the feasibility of this therapy in dogs with inflammatory bowel disease (IBD). Eleven dogs with confirmed IBD received one ASC intravascular (IV) infusion. The clinical CIBDAI & CCECAI indexes were measured before and after six weeks since the administration of the treatment and the endoscopic CIBDEI index was also measured before and between the 90th-120th days since administration of the treatment. All values were compared through the Wilcoxon test. No acute reaction to ASC infusion and no side effects were reported during follow-up in any dog. Clinical remission occurred in 9/11 dogs and 4/11 passed the endoscopic one. Notable differences were found between before and after treatment in the values of the all studied indexes. A single infusion of ACS improved the clinical referral and the gastrointestinal injuries in dogs with IBD.

Keywords: stem cell, canine inflammatory bowel disease, clinical activity index, endoscope.

Trabajo presentado en las XII Jornadas Complutenses, XI Congreso Nacional de Investigación en Ciencias de la Salud para Alumnos Pregraduados y XVI Congreso de Ciencias Veterinarias y Biomédicas.

Querriamos agradecer a la Doctora Eva María Pérez Merino y al Doctor Jesús Usón-Casaús de la Unidad de Cirugía de la Facultad de Veterinaria de Extremadura, por toda la ayuda que nos han proporcionado y por su tiempo dedicado.

Introducción

La enfermedad inflamatoria intestinal (inflammatory bowel disease o IBD) canina es una patología gastrointestinal idiopática, crónica, recidivante e inmunomediada, siendo la causa más común de enteritis crónica en perros (Albert E Jergens y Simpson, 2012).

Su tratamiento es un desafío puesto que implica el uso de por vida de fármacos inmunosupresores como la ciclosporina (Allenspach et al., 2006) o los corticosteroides (A.E. Jergens et al., 2010). Sin embargo, cierto número de pacientes no responden del todo a los fármacos y recaen después de semanas o meses de terapia, provocando a la vez efectos adversos a tener en cuenta. Todas estas razones justifican la búsqueda de nuevas terapias.

Las células madre han sido aplicadas con éxito a pacientes humanos de enfermedad de Crohn refractarios a otras terapias, tanto localmente para el tratamiento de la forma fistulosa (García-Olmo et al., 2009) como de forma sistémica para la forma luminal (Forbes et al., 2014).

Basándonos en estos antecedentes, planteamos la hipótesis según la cual las células madre mesenquimales derivadas de tejido adiposo (adipose-derived stem cells o ASC) podrían ser útiles en el tratamiento de la IBD canina.

Nuestros objetivos por tanto han sido:

- Evaluar la seguridad de la infusión intravenosa de células madre mesenquimales alogénicas derivadas de tejido adiposo en pacientes con IBD
- Evaluar los cambios en la clínica de pacientes caninos con IBD confirmada tras la aplicación de las ASC.
- Evaluar los cambios endoscópicos macroscópicos a nivel digestivo producidos por el tratamiento con células madre en estos pacientes.

Metodología

El ensayo se llevó a cabo en el Hospital Clínico Veterinario de la Universidad de Extremadura (HCV-Fundación Universidad Sociedad) y todos los propietarios dieron su consentimiento informado por escrito. Los pacientes incluidos debían padecer IBD confirmado mediante criterios estandarizados (Jergens y Simpson, 2012).

Antes del tratamiento, se calcularon los índices CIBDAI (Clinical Inflammatory Bowel Disease Activity Index) y CCECAI (Canine Chronic Enteropathy Clinical Activity Index) descritos por Jergens et al. (2003) y Allenspach et al. (2007) respectivamente (Tabla 1). Así mismo se realizó

Tabla 1

Cálculo de los índices CIBDAI y CCECAI mediante la puntuación de la severidad de seis signos gastrointestinales en el caso del primero y de los mismos más otros tres en el caso del segundo.

Signos		1 (medio)	2 (moderado)	3 (severo)	
C	Actividad	Ligera disminución	Moderada disminución	Severa disminución	
I	C	Apetito	Ligera disminución	Moderada disminución	Severa disminución
B	C	Vómito	1 /semana	3 / semana	> 3 veces /semana
D	E	Heces	Lig blandas	Blandas	Líquidas
A	C	Frecuencia heces	2-3 veces/día	4-5 veces/día	> 5 veces/día
I	A	Pérdida peso	> 5%	5-10%	> 10%
	I	Albúmina	1.5-1.9 g/dL	1.2-1.4 g/dL	<1.2g/dL
		Ascitis	Leve	Moderada	Severa
		Prurito	Ocasional	Regular	Siempre

Tabla 2

Cálculo del índice CIBDEI asignando durante la exploración endoscópica una puntuación a cada tramo digestivo según la severidad de las lesiones observadas. La suma de las puntuaciones de todos los tramos será la puntuación CIBDEI total.

Lesiones a evaluar		Locpuntuación	Localización
C	Hiperemia	0 = ninguna	Estómago
I	Engrosamiento de la mucosa	1 = leve	Duodeno
B	Textura de la mucosa	2 = moderada	Ileon
D	Erosión	3 = grave	Colon
E	Friabilidad		

Tabla 3

Comparación de los índices analizados antes y después del tratamiento. Los valores se expresan como la media y el rango intercuartil 25-75%. Los valores de *P* han sido hallados mediante el Test de Wilcoxon.

Índice	Pre-tratamiento	Post-tratamiento	P
CIBDAI	10.00 (6.50-12.00)	1.00 (0.00-1.00)	0.004
CCECAI	11.00 (7.00-12.50)	1.00 (0.00-1.00)	0.004
CIBDEI	22.00 (19.00-25.50)	6.00 (4.50-10.0)	0.004

una endoscopia completa del tracto digestivo cuantificando el grado de lesión mediante el CIBDEI (Canine IBD Endoscopic Index) desarrollado específicamente para este estudio (Tabla 2).

Tras la confirmación histológica de la IBD, los pacientes recibieron una única dosis de ASC diluidas en un volumen de 125-250 ml de suero salino fisiológico e infundidas durante 15-20 minutos mediante una cánula intravenosa periférica en la vena cefálica a una dosis de 2×10^6 células/kg de peso vivo. Los animales se monitorizaron durante la infusión de las ASC y durante 60 minutos después de su administración.

Los pacientes se reevaluaron desde el punto de vista clínico a los 45 días tras la terapia y se realizó una nueva endoscopia entre 90 y 120 días tras el tratamiento, hallándose en cada caso los nuevos índices CIBDAI, CCECAI y CIBDEI.

Se utilizó el test de Wilcoxon para evaluar las diferencias en los tres índices antes y después del tratamiento, y se definió la remisión como una reducción del 75% o más de las puntuaciones de los índices respecto a correspondientes valores pre-tratamiento.

Resultados

En todos los casos la administración de la terapia fue exitosa y sin efectos colaterales.

Seis semanas tras el tratamiento los índices CIBDAI ($P=0.004$) y CCECAI ($P=0.004$) disminuyeron significativamente (Tabla 3). La remisión clínica sucedió en 9 de 11 pacientes y los dos restantes mostraron una respuesta parcial con reducción de los índices entre el 69.2 y el 71.4%.

El análisis estadístico del CIBDEI identificó una reducción estadísticamente significativa en el grado de lesión macroscópica del tracto digestivo antes y tres meses después del tratamiento ($P=0.004$) (Tabla 3). La remisión endoscópica (reducción $\geq 75\%$ de la puntuación CIBDEI inicial) se produjo en cuatro de los once pacientes. Los siete pacientes restantes mostraron una respuesta parcial con la reducción del CIBDEI de entre 44,8% y 73,3%.

Discusión

La aplicación de células madre como tratamiento en veterinaria es un campo limitado aunque cada día más amplio. A pesar de su éxito en las enfermedades autoinmunes en humana y a pesar de los ensayos clínicos en pacientes con enfermedad de Crohn (García-Olmo et al., 2009) (Forbes et al., 2014) but requires prior myeloconditioning. Mesenchymal stromal cells (MSCs, este es el primer estudio que describe su aplicación sistémica en una enfermedad autoinmune canina. Las pautas seguidas para su aplicación y los resultados obtenidos son similares a los observados en estos pacientes humanos con enfermedad inflamatoria intestinal. El tratamiento convencional con corticoides en la especie canina, arroja resultados de respuesta clínica variable, entre el 50% (Allenspach, Wieland, Gröne, y Gaschen, 2007) y el 75% (García-Sancho, Rodríguez-Franco, Sainz, Mancho, y Rodríguez, 2007) y hasta el 80% (A.E. Jergens et al., 2010) cuando se combina con metronidazol. Con este tratamiento biológico se obtienen tasas incluso superiores, añadiendo la ventaja de eliminar el tratamiento de por vida y sus efectos adversos.

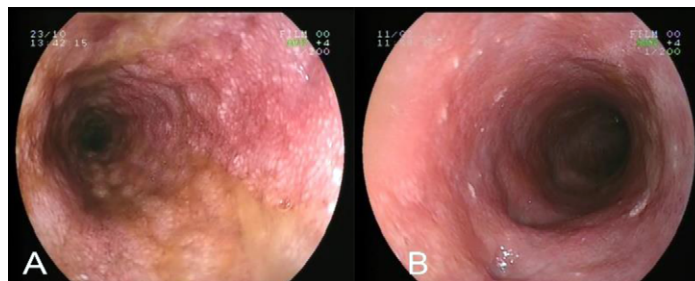


Figura 1. Imagen endoscópica del duodeno antes (A) y tres meses después del tratamiento con células madre (B).

El mecanismo de acción de las células madre sobre el sistema inmune hoy en día aún no es del todo conocido. Aunque las células madre mesenquimales pueden diferenciarse en distintos tipos celulares, cada vez más estudios sugieren que no es esa su verdadera contribución a la curación de las lesiones digestivas. Más bien parecen funcionar a través la mediación celular y sus efectos terapéuticos no parecen depender de cuantas llegan al territorio a cicatrizar, sino de su capacidad para inhibir la respuesta inmune patológica y liberar factores tróficos que modular el entorno y favorecen la reparación de los tejidos (Nagaishi, Arimura, y Fujimiya, 2015).

La limitación de este estudio es la falta de grupo control de comparación de esta terapia con el tratamiento convencional, aunque existen datos abundantes sobre la capacidad y limitaciones del tratamiento tradicional. Esta, por tanto, parece ser una alternativa interesante y esperanzadora.

Conclusiones

La infusión única de células madre mesenquimales de origen adiposo alogénicas es segura en el paciente canino con IBD, mejorando la sintomatología y las lesiones macroscópicas del tracto digestivo.

Referencias

- Allenspach, K., Rüfenacht, S., Sauter, S., Gröne, A., Steffan, J., Strehlau, G., & Gaschen, F. (2006). Pharmacokinetics and clinical efficacy of cyclosporine treatment of dogs with steroid-refractory inflammatory bowel disease. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 20(2), 239–244. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2006.tb02852.x>
- Allenspach, K., Wieland, B., Gröne, A., & Gaschen, F. (2007). Chronic enteropathies in dogs: Evaluation of risk factors for negative outcome. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(4), 700–708. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2007.tb03011.x>
- Forbes, G. M., Sturm, M. J., Leong, R. W., Sparrow, M. P., Segarajasingam, D., Cummins, A. G., ... Herrmann, R. P. (2014). A Phase 2 study of allogeneic mesenchymal stromal cells for luminal Crohn's disease refractory to biologic therapy. *Clinical Gastroenterology and Hepatology*, 12(1), 64–71. <https://doi.org/10.1016/j.cgh.2013.06.021>
- García-Olmo, D., Herreros, D., Pascual, I., Pascual, J. A., Del Valle, E., Zorrilla, J., ... Pascual, M. (2009). Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula. *Diseases of the Colon & Rectum*, 52(1), 79–86. <https://doi.org/10.1007/DCR.0b013e3181973487>
- García-Sancho, M., Rodríguez-Franco, F., Sainz, A., Mancho, C., & Rodríguez, A. (2007). Evaluation of clinical, macroscopic, and histopathologic response to treatment in nonhypoproteinemic dogs with lymphocytic-plasmacytic enteritis. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 21(1), 11–17.
- Jergens, A. E., Crandell, J., Morrison, J. A., Deitz, K., Pressel, M., Ackermann, M., ... Evans, R. (2010). Comparison of oral prednisone and prednisone combined with metronidazole for induction therapy of canine inflammatory bowel disease: A randomized-controlled trial. *Journal of Veterinary Internal Medicine*, 24(2), 269–277. <https://doi.org/10.1111/j.1939-1676.2009.0447.x>
- Jergens, A. E., & Simpson, K. W. (2012). Inflammatory bowel disease in veterinary medicine. *Frontiers in Bioscience*, 4, 1404–1419. <http://doi.org/10.2741/e470>
- Nagaishi, K., Arimura, Y., & Fujimiya, M. (2015). Stem cell therapy for inflammatory bowel disease. *Journal of Gastroenterology*, 50(3), 280–286. <https://doi.org/10.1007/s00535-015-1040-9>