

INTRODUCCIÓN A LAS CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES

Las células madre mesenquimales son células indiferenciadas capaces de dividirse y diferenciarse en las células especializadas propias de cada tejido. Estas células se encuentran de forma natural en muchos tejidos adultos, con el objetivo de reparar lesiones y regenerar el tejido, como por ejemplo en la médula ósea, desde donde dichas células mesenquimales se encargan de reparar fracturas y regenerar el hueso.

El uso de células madre mesenquimales como tratamiento en diversas patologías es un campo que está teniendo mucho éxito en los ensayos clínicos en medicina humana y su uso clínico en veterinaria está cada día más extendido. Son muchas las especialidades que ya están aprovechando sus propiedades regeneradoras, antiinflamatorias, inmunomoduladoras y paracrina junto con la ausencia de efectos adversos para mejorar la salud y detener enfermedades de difícil manejo.

1. USOS TERAPÉUTICOS DE LAS CÉLULAS MADRE EN MEDICINA VETERINARIA

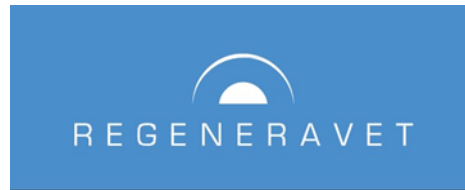
Las células madre mesenquimales ejercen sus efectos beneficiosos mediante varias **vías de acción**.

La primera es mediante la **reparación y regeneración** de los tejidos lesionados, convirtiéndose en células especializadas que crean de nuevo el tejido dañado. Sin embargo, esta función no la hacen en todos los tejidos con el mismo éxito, por lo que en algunas patologías siempre serán más efectivas que en otras.

La segunda es su importante **efecto antiinflamatorio**, actuando con más potencia que los fármacos antiinflamatorios conocidos, y sin efectos adversos destacables.

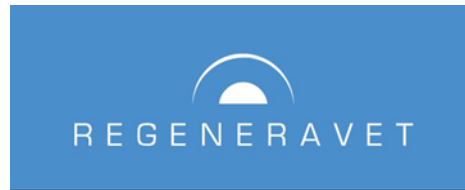
El tercer modo de actuar se debe a sus **propiedades inmunomoduladoras**, que regulan el sistema inmune del organismo para controlar enfermedades inmunomediadas y actúan favoreciendo una mejor respuesta de este.

Y por último, uno de los más importantes es su **efecto paracrino**, ya que son capaces de liberar factores que estimulan a las células del propio tejido a recuperar un metabolismo y una funcionalidad fisiológica y a reparar los daños.



Todos estos mecanismos de acción las hacen beneficiosas para patologías como:

- **Artrosis:** donde los estudios realizados en animales y humanos observan una mejoría del cartílago, y lo que es más importante, de los síntomas derivados del daño de este, disminuyendo el dolor y aumentando la movilidad de la articulación.
- **Defectos óseos:** el tratamiento con células madre, por su gran capacidad de diferenciarse a hueso, tiene un elevado porcentaje de éxito en fracturas y no-uniones óseas, incluso se ha utilizado para tratar la necrosis avascular de la cabeza femoral. Para su correcto uso en defectos óseos en la mayoría de las ocasiones se utiliza un andamiaje de Colágeno I junto con las células madre autólogas.
- **Lesiones tendinosas y ligamentosas:** Es uno de los tejidos en los que las células madre mesenquimales tienen más efectos, y existen muchos estudios en veterinaria, principalmente en caballos, que avalan sus beneficios frente al mejor tratamiento existente, disminuyendo de forma significativa las recaídas de los pacientes tratados y consiguiendo una recuperación y vuelta a la vida deportiva del 85% de los caballos frente a un 16% de los caballos no tratados.
- **Lesión medular y del sistema nervioso:** además de estar avalado su uso en diversos estudios, nuestra experiencia en Regeneravet® en el tratamiento de lesiones medulares constata que las células madre mesenquimales son capaces de regenerar el tejido nervioso de manera funcional. Esto permite que un animal con lesión medular, tanto aguda como crónica, pueda recuperar sensibilidad y movilidad.
- **Reepitelización:** Por sus efectos regeneradores y paracrinos las células madre estimulan la reparación de heridas crónicas, neovascularizan los tejidos y favorecen la neoformación del tejido evitando la indeseada cicatriz. Una de las aplicaciones con más éxito en humana es la reparación de fistulas perianales recidivantes, donde se ha conseguido más de un 75% de curación.
- **Enfermedades inflamatorias:** Por sus efectivas propiedades antiinflamatorias están indicadas en procesos intestinales crónicos, muy frecuentes en animales, así como en todas las patologías que cursen un proceso inflamatorio.
- **Insuficiencia renal:** Hay estudios que han observado efectos beneficiosos de la aplicación de esta terapia en animales con problemas renales, tanto agudos como crónicos, mejorando los parámetros de estudio y la calidad de vida del paciente.
- **Diabetes:** Aunque los estudios todavía son preliminares, se ha comprobado que las células madre de pacientes diabéticos tienen una gran capacidad de diferenciación hacia células productoras de insulina, creando células tipo b, e inclusive islotes de Langerhans. En los casos clínicos tratados a través de Regeneravet® hasta el momento, los animales han mejorado significativamente disminuyendo las dosis de insulina y eliminando síntomas como la poliuria/polidipsia.



- **Patologías inmunomediadas:** En los últimos años se ha comprobado que las células madre mesenquimales son capaces de actuar sobre linfocitos, neutrófilos, Natural Killer... y otras células del sistema inmune, regulando el mismo con un efecto inmunomodulador que las convierte en una terapia realmente eficaz para procesos inmunomediados como la dermatitis atópica, la Gingivoestomatitis felina, la IBD o la queratoconjuntivitis seca entre otras.

Sin embargo, la manifestación clínica y la evolución de estas patologías es diferente en cada animal, razón por la que Regeneravet® diseña tratamientos individualizados y específicos para cada caso. Los estudios existentes han demostrado que la dosis eficaz para alcanzar una correcta ventana terapéutica está en un rango muy amplio de 10^5 - 3×10^6 células por kg de peso, en función de la patología, vía de administración y tipo de animales.

Regeneravet® asesorará a su clínica cuando lo necesite para establecer la dosis adecuada a cada caso en concreto, y siempre tendrá conocimiento del número de células que administra.

2. SELECCIÓN DE PACIENTES Y PROTOCOLO DE EXTRACCIÓN Y CULTIVO CELULAR.

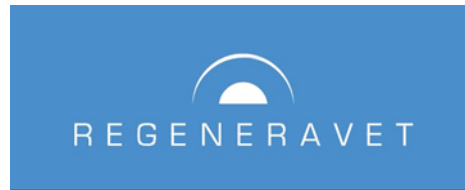
Regeneravet® asesorará a los veterinarios, cuando lo necesiten, sobre el tratamiento adecuado para cada caso clínico, estableciendo el número de dosis óptima, la cantidad de células por dosis y la vía de administración.

Una vez que la clínica Veterinaria se ponga en contacto con la empresa para diseñar y efectuar un tratamiento, o bien obtener células mesenquimales de un animal para su criopreservación de forma preventiva, Regeneravet® efectuará el siguiente protocolo.

2.1 Selección del tratamiento

Se estudiará el caso clínico en concreto y se seleccionarán las mejores opciones de tratamiento, ajustándose tanto al tipo de animal y su patología como a las posibilidades económicas de los propietarios del animal. Dentro de las opciones presentadas se llegará a un consenso con su veterinario y con el dueño que elegirá la opción que mejor se ajuste a él dentro de que todas estarán indicadas para su mascota. Las posibles variaciones de estas opciones serán:

- a. Tipo de tratamiento: Células madre mesenquimales (autólogas o heterólogas) o PRP (sólo ámbito local) son las opciones más frecuentes.
- b. Numero de dosis a administrar: Regeneravet® establecerá un número mínimo de dosis con el Veterinario y un rango de dosis aconsejable a partir de este que se presentará al propietario, en principio, lo normal es que sólo sea necesaria una única dosis, salvo en procesos inmunomediados que se establece un tratamiento general de dos dosis.



c. Criopreservación: La criopreservación de las células de los animales que vayan a ser tratados se realizará en todos los casos y será gratuita.

d. Andamiaje de las células: Las células podrán ser administradas en diferentes “excipientes” los cuales pueden ser neutrales como el suero salino fisiológico, o mejorar el tratamiento como el plasma rico en plaquetas, indicado para algunos casos. Otro de los andamiajes más utilizados es la matriz de colágeno tipo I para la reparación de defecto óseos.

2.2 Extracción de células madre mesenquimales (CMM)

Una vez establecido el tipo de procedimiento, el veterinario extraerá una mínima cantidad de grasa, o médula ósea si así se ha establecido, y se enviará al laboratorio.

A la llegada de la muestra, Regeneravet® realizará el aislamiento de células madre mesenquimales.

- Se realizarán los controles de calidad (Ver punto 4)
- Se multiplicarán hasta obtener el número de células deseado y se separarán en las diferentes dosis. Todas las dosis se identificarán mediante un número de entrada único.

Este proceso durará entre 14 y 25 días.

Se fijará con el cliente el día para el envío de las dosis necesarias para su administración al animal y el resto se almacenarán en criopreservación. Los envíos de dosis irán acompañados por el protocolo específico de aplicación.

3. CRIOPRESERVACIÓN

Las células almacenadas se criopreservan siguiendo un protocolo de congelación progresiva, (6 a 12 horas a -80°C) y tras ello se introducen en nitrógeno líquido, de forma que pueden conservarse hasta más de 10 años para las dosis consecutivas o futuras.

Cuando se requieran nuevas dosis, éstas se recuperarán del nitrógeno líquido, se someterán a un protocolo de descongelación. Una vez que las células alcancen la confluencia, se levantarán, se someterán a dos lavados para eliminar el medio de cultivo y se re-suspenderán en el “excipiente” elegido, tanto por el veterinario como el propietario del animal.

4. CONTROL DE CALIDAD

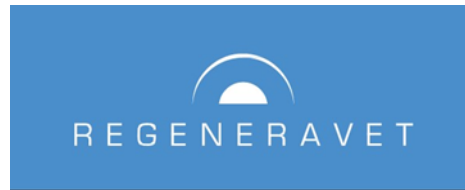
La producción de células madre mesenquimales tendrá varios puntos clave de control de calidad:

4.1. En la primera siembra de la muestra se observará el correcto crecimiento de las células para comprobar que no existe contaminación microbiológica. En el caso de haberla, además de observarse mediante una comprobación microscópica, se advertiría la turbidez del medio de cultivo, señal de contaminación, lo que llevaría al desecho del producto.

Regeneravet®

Avda. das Mariñas 323 15172 Perillo - Oleiros (A Coruña)

Tel: 981 913 299 e-mail: seaslab@seaslab.es



4.2. Se realizará un control de la multipotencialidad de las células haciéndolas diferenciarse hacia líneas osteogénica y adipogénicas.

4.3. Por último, tras la criopreservación, siempre se volverá a realizar el primer control de calidad.

5. MEDIDAS DE SEGURIDAD E HIGIENE.

En cuanto a las medidas de seguridad se seguirán las directrices establecidas en el manual de seguridad de la OMS y la seguridad y buenas prácticas de laboratorio establecidas por el Instituto Nacional de Seguridad e Higiene en el Trabajo.

6. ANDAMIAJE y COADYUVANTES DE LAS CÉLULAS MADRE

Muchos de los beneficios de las células madre pueden verse potenciados por ciertos tipos de andamiaje o coadyuvantes, y en algunas patologías es recomendable, aunque no imprescindible, utilizarlos.

6.1 Matriz de colágeno tipo I

Es uno de los andamiajes más utilizados para la reparación de defecto óseos. Se usa como matriz en la zona de defecto óseo sobre la que se infiltran las células para lograr una eficacia óptima en el tratamiento.

6.2 Plasma rico en plaquetas (PRP):

En su aplicación junto con las células madre, existen evidencias de que el contenido de agentes de las plaquetas afecta a la movilización, adhesión, proliferación, supervivencia, activación y diferenciación de las células madre mesenquimales.

Tiene la limitación de que para la preparación del PRP, la muestra debe llegar al laboratorio antes de 4 horas, por lo que Regeneravet® solo lo ofrece en ámbito local, existiendo la posibilidad también de que sea la propia clínica la que lo prepare.

6.3 Suero autólogo:

Como tratamiento para úlceras corneales y otras lesiones oftalmológicas. Se recomienda realizarlo en la propia clínica veterinaria, sin embargo Regeneravet® lo pone también a su disposición.

Fecha revisión del documento: Octubre 2018 -

Dra. Ángela Vela Anero

Veterinaria especialista en Terapia Celular

Regeneravet®

Avda. das Mariñas 323 15172 Perillo - Oleiros (A Coruña)
Tel: 981 913 299 e-mail: seaslab@seaslab.es