

## Aplicación de células madre en el paciente felino con enfermedad renal crónica.

### Application of stem cells in patients with chronic renal failure feline.

Karol Campos Talandianos <sup>1</sup>MV, Lina Sanz <sup>2</sup> MV.

Recibido: 20 Diciembre 2012.  
Aceptado: 13 Febrero 2013.

#### Resumen

La enfermedad renal crónica (ERC) en el paciente felino es una entidad patológica multifactorial, pero que generalmente es de origen idiopático, que se presenta principalmente en los animales geriátricos y de una alta prevalencia, debido a la mayor esperanza de vida de los mismos en la actualidad. Debido a que los tratamientos médicos actuales para la ERC apuntan a retrasar la progresión de la misma y, en última instancia, a mejorar la calidad y esperanza de vida, y que el único procedimiento que consigue la resolución de dicha afección definitivamente es el trasplante renal, cuya realización no es posible para todos los pacientes, se han hecho cuantiosos esfuerzos por encontrar una solución efectiva para conseguir tal objetivo. En las últimas décadas, se han investigado las propiedades regenerativas que las células madre poseen, para poder aplicarlas en distintos tratamientos de afecciones de órganos con poca o nula capacidad regenerativa. De esta manera, los felinos que padecen de esta enfermedad se podrían beneficiar de tal enfoque terapéutico.

**Palabras clave:** Enfermedad renal crónica, daño túbulo intersticial, IRIS, célula madre, células madre mesenquimales, células madre derivadas del tejido adiposo.

#### Introducción.

El riñón tiene diversas funciones en el mantenimiento de la homeostasis. Los riñones filtran la sangre y, por lo tanto, excretan los desechos metabólicos. También recuperan las moléculas filtradas que son necesarias para el cuerpo, incluyendo las proteínas de bajo peso molecular, agua y electrolitos.<sup>1</sup>

Los riñones responden a los desequilibrios de dichas sustancias en el organismo, específicamente por la alteración de la velocidad

#### Summary

Chronic kidney disease in the feline patient is a multifactorial disease entity, but is usually idiopathic, which occurs primarily in geriatric animals, and a high prevalence due to the longer life expectancy of the same today. Because current medical treatments for CKD aim to delay the progression of disease and ultimately improve the quality of life, and that the only procedure that achieves resolution of the condition is definitely renal transplantation, whose realization is not possible for all patients, there have been considerable efforts to find an effective solution to achieve this goal. In recent decades have investigated the regenerative properties that stem cells possess, in order to apply them in various organ diseases treatments with little or no regenerative capacity. Thus, the cats suffering from this disease could benefit from such a therapeutic approach.

**Keywords:** Chronic kidney disease, tubulointerstitial damage, IRIS, stem cell, mesenchymal stem cells, stem cells derived from adipose tissue

de reabsorción ó de la secreción de éstas. Los riñones también producen hormonas que regulan la presión arterial sistémica y la producción de eritrocitos. Esta variedad de funciones se llevan a cabo a través de una extensa diversidad de tipos celulares, cada uno con respuestas específicas a señales directas e indirectas, dispuestas en un patrón particular para formar la unidad funcional del riñón, la nefrona.<sup>1,2</sup>

La enfermedad renal tiene lugar cuando el 66% de las nefronas de ambos riñones dejan de funcionar, y esta puede desencadenarse de

forma aguda ó crónica. El fallo renal agudo (FRA) es el producto de una disminución brusca de la función renal y, habitualmente, se debe a una agresión isquémica o tóxica. A diferencia, en el fallo renal crónico (FRC) la causa generalmente es difícil de determinar.<sup>2, 3</sup> Las anormalidades clínico-patológicas de la enfermedad renal crónica (ERC) incluyen: falla en la excreción (por ejemplo, productos del metabolismo de las proteínas); falla en la producción (eritropoyetina); falla de activación (1,25 dihidroxicolecalciferol), y fallos de regulación (equilibrio ácido-base, potasio y balance hídrico).<sup>3</sup>

La ERC es una causa importante de morbilidad y mortalidad en los gatos. En un único estudio, en 23 hospitales de docencia veterinaria en Estados Unidos, se encontró que la ERC está presente en el 15-30% de los gatos de más de 15 años.<sup>3</sup> En la actualidad, la única opción de tratamiento definitivo para los gatos con ERC es el trasplante renal debido a que el riñón se ha considerado un órgano extremadamente diferenciado y de bajo potencial proliferativo. Sin embargo, el trasplante renal no es una opción viable para la mayoría de los gatos afectados con ERC y los cuidados de soporte diseñados para estabilizar la función renal y revertir las complicaciones metabólicas son la piedra angular del tratamiento.<sup>3,4,5</sup>

Por otra parte, estos tratamientos paliativos no abordan el proceso de la enfermedad subyacente y progresiva. Pero, aunque la capacidad proliferativa del riñón sea menor que la de otros órganos, la reparación renal es teórica y realmente posible.<sup>4</sup> Lo que queda por determinar es cómo estimular este potencial regenerativo en el riñón dañado y cómo utilizar dicho potencial de la mejor manera. La principal barrera para superar este obstáculo y explorar curas para las enfermedades crónicas es comprender cómo se desarrollan los tejidos, se auto-mantienen y se regeneran cuando se someten a una lesión aguda o crónica. El centro de estos mecanismos fundamentales es la célula madre y cualquier intento para aprovechar la capacidad de regeneración propia del cuerpo requiere una comprensión completa de ésta, dando nacimiento a la ciencia de la medicina regenerativa.<sup>6</sup>

Los efectos de la terapia con células madre mesenquimales (CMM) se han investigado en modelos de roedores con ERC.<sup>7</sup> El método más común para la administración de las células madre es a través de infusión intravenosa.<sup>5</sup> Después de ésta, las CMM son capaces de migrar sistémicamente, en particular a sitios hipoxémicos, donde hay inflamación o lesión tisular; no son propensas a formar tumores y parecen ser bien toleradas a la respuesta inmune del receptor. En la mayoría de los modelos donde se ha inducido experimentalmente la ERC, la administración de CMM ha dado lugar a beneficiosos cambios, a través de una mejoría en los parámetros de

función renal, reducción de la fibrosis renal y de la gloméruloesclerosis.<sup>4,6,8</sup>

La medicina regenerativa ha dado pie para desarrollar nuevas opciones terapéuticas para tratar la ERC en el felino y ha abierto una puerta de inimaginables opciones para la medicina veterinaria, las cuales serán abordadas lo largo de esta revisión.

#### Antecedentes.

El término fallo renal crónico (FRC) se refiere a una lesión renal estructural irreversible de duración determinada, con independencia de la extensión y la causa inicial de la pérdida de nefronas. Representa una definición más amplia que el término "insuficiencia renal crónica", más restringida y a veces imprecisa, y también incluye el estadio inicial preazotémico de la enfermedad.<sup>9</sup> La enfermedad renal crónica (ERC) es un problema de salud importante que afecta a los gatos geriátricos, y la frecuencia con la que se diagnostica se ha incrementado significativamente en la última década. La ERC es uno de los diagnósticos clínicos más comunes en los felinos de mediana/avanzada edad. En los pacientes felinos, la ERC es una de las causas principales de muerte, afectando entre el 1,6% hasta el 20% de todos los gatos. En un único estudio, en 23 hospitales de docencia veterinaria en Estados Unidos se encontró que el FRC está presente en el 15 a 30% de los gatos de más de 15 años.<sup>3</sup> Sus lesiones renales se caracterizan típicamente por una reducción permanente en el número de nefronas funcionales y, además, la ERC puede estar complicada por componentes concomitantes pre-renales y post-renales o enfermedades renales activas que pueden ser reversibles (como por ejemplo pielonefritis o ERC reagudizada).<sup>10,11</sup>

Less<sup>12</sup> y Gregory<sup>2</sup>, definen la ERC como la presencia de anormalidades estructurales o funcionales en uno o ambos riñones, que están presentes durante periodos prolongados, normalmente de 3 meses ó más; y, a diferencia del fallo renal agudo, la causa de ERC habitualmente es difícil de determinar.<sup>2, 10</sup> Debido a la interdependencia de los componentes vasculares y tubulares de la nefrona, el punto final del daño irreversible glomerular y tubular es el mismo. Es decir, el proceso de la enfermedad subyacente puede afectar los distintos componentes de la nefrona: a los glomérulos, túbulos, el tejido intersticial, o la entrega de sangre a la nefrona y, si el daño es irreversible en cualquiera de estos componentes, hacen que la nefrona entera sea afuncional.<sup>13, 14</sup>

Existe una heterogenicidad morfológica entre las nefronas de los riñones afectados por el FRC, con modificaciones que varían desde la atrofia grave y la reposición con tejido conectivo fibroso hasta la hipertrofia marcada. Los cambios histopatológicos no son específicos del proceso y

<sup>1</sup>. Universidad Andrés Bello. [kctalandianos@gmail.com](mailto:kctalandianos@gmail.com)

<sup>2</sup>. Directora Instituto de Medicina Felina HVS. [www.institutodemedicinafelina.cl](http://www.institutodemedicinafelina.cl)

por ello la causa generalmente se desconoce.<sup>15</sup> No obstante, estudios han confirmado que la forma más frecuente de lesión renal en el felino es la nefritis intersticial crónica, que tiene como característica ser de un curso indolente y progresivamente lenta; hoy en día se reconoce además que el daño túbulo intersticial (DTI) juega un rol crítico en la progresión de la enfermedad.<sup>2, 10, 11, 15</sup> Esta es inducida por proteinuria masiva o hipoxia crónica y el empeoramiento del DTI disminuye la tasa de filtración glomerular (TFG), ya que altera la retroalimentación túbulo-glomerular y oblitera los capilares pos-glomerulares, lo que eventualmente llevará a fallo renal.<sup>16</sup> Los cambios patológicos del daño del túbulo intersticial incluyen infiltración mononuclear, injuria tubular y fibrosis intersticial. Es más, estudios detallados en modelos animales han revelado que el complejo mecanismo subyacente del DTI involucra la inducción y proliferación de miofibroblastos. Estos miofibroblastos son responsables de la generación de matriz extracelular y su sobreproducción por la cual puede desencadenarse la esclerosis renal.<sup>16</sup> En la tabla 1 se listan las potenciales causas de FRC en el felino.

**Tabla 1.** Algunas de las causas de fallo renal crónico en el felino (Modificado de Polzin, 2010).<sup>10</sup>

|   |
|---|
| <b>Enfermedades renales congénitas o familiares.</b>                              |
| Amiloidosis   |
| Enfermedad poliquística   |
| <b>Adquirida</b>  |
| Infeciosa (bacteriana, micótica, parasitaria, viral)                              |
| Causas metabólicas (hipercalcemia, hipokalemia)                                   |
| Neoplasias (linfoma, carcinoma renal)   |
| Hidronefrosis bilateral   |
| Ureterolitos y nefrolitos   |
| Enfermedades renales proteinúricas (amiloidosis, glomerulopatías primarias, etc.) |
| Secuela de falla renal aguda  |
| Desórdenes túbulo-intersticiales  |
| Exposición crónica a nefrotoxinas (metales pesados, cisplatino, etc.)             |

La fisiopatología de la ECR puede considerarse a nivel orgánico y sistémico. En el riñón el cambio histopatológico fundamental que se produce es la pérdida de nefronas y funcionalmente una disminución de la TFG. La

reducción en la TFG produce un aumento en las concentraciones plasmáticas de sustancias que normalmente son eliminadas del organismo mediante la excreción renal, como por ejemplo el nitrógeno ureico sanguíneo y creatinina.<sup>2, 10, 11, 15</sup>

En roedores la pérdida crítica de masa funcional renal invariablemente lleva a falla de las nefronas restantes, indicando que la ERC progresa a través de mecanismos independientes de la causa inicial. Las elevaciones a largo plazo de la presión intraglomerular son deletéreas en el tiempo. La hipertensión intraglomerular, con la consecuente hiperfiltración glomerular, son el producto de un intento compensatorio para mantener la TFG. Este incremento se produce gracias al aumento en la tasa de filtración por nefrona (las nefronas restantes). Esto produce una disminución en la resistencia arteriolar glomerular con gran dilatación de la arteriola aferente. Así, aumenta la presión y el flujo en el ovillo capilar glomerular. Luego, se expande también en área de superficie del glomérulo sin un incremento correspondiente en el número de células epiteliales glomerulares viscerales terminales (podocitos), las cuales revisten al glomérulo, resultando en una reducción de la densidad celular del epitelio glomerular que contribuye a la injuria del mismo, acompañando a la pérdida de masa renal.<sup>10, 15</sup>

En resumen, la hipertrofia glomerular y la hipertensión intraglomerular llevan a injuria celular y a las degeneraciones estructurales y funcionales que contribuyen a la progresión de la ERC.<sup>14</sup> Además, como la TFG de las nefronas hipertrofiadas intactas aumenta en los pacientes con FRC para tratar de mantener una función renal adecuada, la proteinuria y la glomerulosclerosis en estas nefronas individuales terminan en lesión y pérdida, posiblemente como consecuencia de esta adaptación. La proteinuria solo sucede en las nefronas con alteraciones en los podocitos y representa un signo temprano de injuria hemodinámica renal. De esta forma, la pérdida de la integridad de los podocitos se traduce en pérdida de la conductividad hidráulica, proteinuria y en último término, glomerulosclerosis segmental y focal.<sup>2, 13</sup>

Hay una fuerte asociación entre la hipertensión sistémica y la progresión de la ERC. Y esto se produce, o al menos en parte, a través de la transmisión de la hipertensión sistémica sin oposición en el lecho capilar glomerular, resultando en lesiones glomerulares.<sup>17</sup>

Ross & col.<sup>15</sup> establecen que la proteinuria promueve el daño renal por diversos caminos. Algunos de los mecanismos propuestos son: toxicidad mesangial, sobrecarga e hiperplasia tubular, toxicidad mediante proteínas específicas tales como la transferrina, e inducción de moléculas proinflamatorias como la proteína 1 quimioatrayente de monocitos (MCP-1). Además, la acumulación de proteínas filtradas a causa de

la reabsorción tubular de agua en la nefrona distal puede dar lugar a formación de cilindros que obstruyen el lumen de las nefronas.<sup>10, 11</sup>

El conjunto de manifestaciones clínicas conocido como síndrome urémico, se cree que se genera, en parte, como resultado del aumento de las concentraciones plasmáticas de las sustancias de desecho. Los componentes del síndrome urémico son desequilibrios de sodio y agua, anemia, intolerancia a los carbohidratos, alteraciones neurológicas y del aparato gastrointestinal, osteodistrofia, incompetencia inmunológica y acidosis metabólica.<sup>18</sup>

Además de la excreción de desechos metabólicos y del mantenimiento del equilibrio de líquidos y electrolitos, los riñones también funcionan como órganos endocrinos y catalizan diversas hormonas peptídicas.<sup>2</sup> Por ello, las alteraciones hormonales también desempeñan un papel en la patogénesis de la ERC. Un ejemplo de ello es la disminución en la producción de eritropoyetina (EPO) y calcitriol, lo que contribuye al desarrollo de anemia no regenerativa e hiperparatiroidismo, respectivamente.<sup>13, 14</sup> Sin embargo, al igual que en la nefrona, algunos de los cambios patológicos se desarrollan debido a la instauración de mecanismos compensatorios. La osteodistrofia, por ejemplo, se desarrolla para intentar mantener las concentraciones de calcio y fósforo plasmáticos dentro de los rangos fisiológicos.<sup>10</sup>

**Diagnóstico del fallo renal crónico felino.**

El diagnóstico se basa principalmente en el conjunto de información recopilada a través de la historia del paciente, edad, signología clínica y exámenes complementarios.<sup>2</sup>

**Signos clínicos.**

La enfermedad renal felina puede presentarse con signos vagos e inespecíficos, como por ejemplo, el propietario puede notar que su gato duerme más de la cuenta o que muestra una menor actividad física. Estos signos son vagos y pueden erróneamente atribuirse a que el gato se ha vuelto perezoso a una edad avanzada. Además, muchos gatos en estadios tempranos de la enfermedad pueden ser asintomáticos o mostrar una signología muy sutil. Sin embargo, se describen como los signos más notables: antecedentes de pérdida de peso, poliuria/polidipsia en un tercio de los casos, baja puntuación de la condición corporal, anemia no regenerativa en un tercio de los casos y riñones pequeños e irregulares. Dada esta signología poco decisiva se prefiere realizar un "screening" mediante exámenes de laboratorio de rutina dirigido hacia los felinos mayores de 10 años.<sup>9, 19</sup>

**Exámenes de laboratorio, imagenológicos e histopatológicos.**

Principalmente, se realizan hemograma, perfil bioquímico, urianálisis y una ecografía abdominal. En el hemograma el hallazgo más común de pesquisar es la anemia normocítica-normocrómica arregenerativa. La severidad de la anemia es proporcional a la pérdida de función renal. La causa de la anemia en este caso es multifactorial y puede ser exacerbada por afecciones concomitantes y malnutrición. Evidencia clínica y experimental demostraron que la vida media de los eritrocitos es menor bajo un ambiente urémico, además de pérdidas sanguíneas y cambios fibróticos en la médula ósea.<sup>12, 20</sup>

En los exámenes de bioquímica sanguínea, la azotemia es un hallazgo frecuente de encontrar y se define como el aumento del NUS, el aumento de creatinina, o ambos. Muchos productos de desecho del catabolismo proteico son excretados primariamente por la filtración glomerular. De esta manera, los niveles de estos componentes estarán elevados cuando falla esta función. Sin embargo, deben ser interpretados con precaución y en conjunto con los signos clínicos, examen físico y los demás resultados de laboratorio, ya que pueden variar según la ingesta de proteínas, deshidratación, desnutrición, entre otros.<sup>20</sup>

La hiperfosfatemia se presenta en la mayoría de los casos de ERC, debido a que los riñones juegan un rol crucial en la regulación del balance de fósforo y son la ruta primaria que permite la excreción de este ión. Si la ingesta de fósforo a través de la dieta permanece constante, una disminución de la TFG llevará a una retención del fósforo y, finalmente, a una hiperfosfatemia. La consecuencia primaria de la retención de fósforo y la hiperfosfatemia es la progresión del fallo renal.<sup>15</sup>

Una asociación entre ERC e hipokalemia ha sido revelada por diversos estudios en el felino. Estos indican que una dieta con restricción en sodio en gatos con ERC promueve una adecuada kaliuresis que produce hipokalemia por la activación del sistema renina angiotensina aldosterona SRAA, previamente inducida por la restricción de Na+. También, otros factores han sido relacionados como por ejemplo la ingesta reducida de alimentos y la permanente deshidratación, ambos frecuentes en el felino con ERC, que promueven el desarrollo ó la mantención de la hipokalemia. Otros hallazgos son la hipermagnesemia, hipercalcemia o hipocalcemia.

<sup>10, 11</sup>

Dentro de los exámenes imagenológicos, las radiografías simples pueden mostrar la presencia de riñones de pequeño tamaño, presencia de síndrome "riñón grande - riñón pequeño" y urolitos radiodensos en riñones, uréteres, vejiga

o uretra. La ecografía renal generalmente revela cortezas renales difusamente hiperecoicas con pérdida del límite cortico-medular normal.<sup>2</sup>

Finalmente, la biopsia renal no se solicita rutinariamente en la práctica clínica pese a su importancia y a recomendarse principalmente en las fases iniciales de enfermedad renal, pero se realiza principalmente cuando los exámenes de laboratorio revelan ó indican un estadio precoz de enfermedad renal y cuando sus resultados tengan una alta probabilidad de modificar el manejo, mediante un diagnóstico preciso, junto con la estimación pronóstica.<sup>21</sup> Las preparaciones histopatológicas muestran algún grado de pérdida de túbulo con reemplazo por fibrosis y mineralización, glomerulosclerosis y atrofia glomerular, y grupos de células mononucleares en el interior del intersticio asociadas al tejido conectivo fibroso de reposición.<sup>10, 12, 21</sup>

**Estadificación de la enfermedad renal crónica.**

La sociedad internacional de interés renal (IRIS) ha introducido un sistema de estadificación para la clasificación y estratificación de los felinos con ERC (Tabla 2). El propósito del sistema de estadificación es facilitar la aplicación de un guía práctica clínica para la evaluación y el manejo de cada estadio del ERC.<sup>22</sup>

Los pacientes son asignados a una etapa específica de enfermedad renal basada sobre la función renal como la determinación de la concentración de creatinina sérica. Además, el paciente se sub clasifica según su presión arterial sistólica y a la presencia o ausencia de proteinuria.<sup>22</sup> Aunque los valores de corte específicos son inherentemente arbitrarios, la estadificación es de utilidad para el establecimiento de un pronóstico y el manejo de los pacientes felinos con ERC.<sup>10, 15</sup>

Tabla 2. Clasificación de la enfermedad renal crónica en felinos según la IRIS.<sup>22</sup>

| Principales estadios en función de la creatinina sérica | Creatinina (µmol/ L)                          |
|---|---|
| I No azotémica  | < 140 (1.6 mg/ dL) (con signos de nefropatía) |
| II Azotemia renal leve                                  | 141-250 (1.6-2.8 mg/ dL)                      |
| III Azotemia renal moderada                             | 251-440 (2.9-5.0 mg/ dL)                      |
| IV Azotemia renal grave                                 | >440 (>5.0 mg/ dL)                            |
| Subestadios en función de la proteinuria                | PUC   |
| NP No proteinúrica                                      | <2.0  |
| BP Proteinúrica límite                                  | 2.0-4.0                                       |
| P Proteinúrica  | >4.0  |
| Subestadios en función de la hipertensión               | PAS (mg mmHg)                                 |
| NH No hipertensiva                                      | <150  |
| HL Hipertensiva límite                                  | 150-179 (Sin signos extrarrenales de HT)      |
| HCC Hipertensiva con complicaciones                     |   |
| HSC Hipertensiva sin complicaciones                     | >150 (Signos extrarrenales de HT)             |
| HND Hipertensión no determinada                         | >180 (Sin signos extrarrenales de HT)         |
|   | PA no medida                                  |

PUC: Cociente entre proteína urinaria y creatinina. PAS: Presión arterial sistólica. HT: hipertensión.

**Manejo médico de la enfermedad renal crónica.**

El tratamiento de la ERC en general debe incluir una terapia específica, prevención y tratamiento de las complicaciones de una función renal disminuida, el manejo de condiciones de comorbilidad, y una terapia diseñada para retrasar la pérdida de función renal.<sup>2, 10</sup> La progresión de la ERC se debe a la lesión renal inducida por el propio proceso de la nefropatía primaria, a las inadaptaciones funcionales (que llevan a la progresión inherente de la nefropatía crónica) y a la superposición de condiciones urémicas.<sup>23</sup> Debido a que los problemas suelen ir apareciendo de manera secuencial, se sugiere clasificar a los pacientes felinos según la IRIS, e instaurar el manejo médico pertinente a cada estadio. En la tabla 3 se esquematiza el enfoque diagnóstico y terapéutico según el estadio IRIS.

ERC en este estadio no se basa obviamente en la observación de azotemia renal, ya que el gato tiene una concentración normal de creatinina sérica, pero el clínico puede descubrir una nefropatía a partir de indicios obtenidos a través de imagenología, la presencia de hipertensión sistémica, o mediante resultados del urianálisis (proteinuria, bacteriuria, cilindruria, disminución de la densidad urinaria)<sup>23</sup> Si se pesquiza la ERC en este estadio precoz, el objetivo del diagnóstico es identificar la causa primaria de afección renal (por medio de biopsia, ecografía, radiografía, RM y TAC) y, por consecuencia, el tratamiento va dirigido a tratar el proceso patológico primario (por ejemplo administrar antibióticos frente a una pielonefritis). Además, se recomienda un seguimiento de los niveles de creatinina sérica para evaluar modificaciones futuras en el tratamiento.<sup>19</sup>

Tabla 3. Consideraciones diagnósticas y terapéuticas de acuerdo a la estadificación de la ERC según IRIS.<sup>10, 22</sup>

| Consideración                        | Estadios según la IRIS |     |     |     |
|--------------------------------------|------------------------|-----|-----|-----|
|                                      | I                      | II  | III | IV  |
| Evaluación de la enfermedad primaria | +++                    | +++ | ++  | +   |
| Evaluación de la progresión          | +++                    | +++ | +++ | +   |
| Evaluación del paciente              | ++                     | ++  | +++ | +++ |
| Tratamiento específico               | +++                    | +++ | ++  | +   |
| Tratamiento nefroprotector           | +                      | +++ | +++ | +   |
| Tratamiento sintomático              | +                      | +   | +++ | +++ |

**Tratamiento según estadio IRIS.**

*Estadio I: enfermedad renal crónica felina no azotémica.*

Según Elliot<sup>23</sup>, nefropatía primaria es cualquier proceso que dañe el riñón. Serían ejemplos la pielonefritis bacteriana, la nefropatía hereditaria, neoplasia y la nefropatía hipertensiva. Por desgracia, en la práctica veterinaria identificamos con frecuencia las consecuencias de una destrucción notable del tejido renal (por ejemplo, azotemia renal o pérdida de la capacidad de concentración de la orina) pero no la causa de la destrucción.<sup>10</sup> Quizá esto se deba a que el proceso patológico primario se identifica con más facilidad en las primeras etapas de la nefropatía crónica, pero se obvian estos primeros estadios de la ERC en pacientes cuando existe lesión pero la función renal es adecuada.<sup>2</sup> Este estadio, al que se denomina ERC no azotémica, se define como el estadio inicial de la enfermedad renal crónica felina, en el que un proceso mórbido primario daña el tejido renal, pero respuestas renales compensatorias ocultan tanto la lesión como su efecto en el paciente clínico. El diagnóstico de

*Estadio II: azotemia renal leve.*

El segundo estadio de la ERC, denominada azotemia renal leve, aparece cuando hay una pérdida de tejido renal suficiente como para que exista azotemia sin que haya signos clínicos. Se ha establecido que durante este estadio, la *caracterización del ritmo de progresión* de la enfermedad se convierte en una consideración diagnóstica importante y el tratamiento se concentra, en general, en los agentes *nefroprotectores* que pueden retrasar esta progresión (por ej. reducción del fósforo alimentario o inhibición de la enzima convertidora de la angiotensina). Se ha demostrado que la velocidad de la progresión suele ser lenta en gatos (de meses a años), pero errática y más rápida en perros (de semanas a meses)<sup>23</sup>

*Estadio III: azotemia renal moderada.*

El tercer estadio de la ERC felina, la azotemia renal moderada, es un estadio de transición. Durante éste, es vital enfocar el diagnóstico y el tratamiento en la *progresión* de la enfermedad, pero en la última parte del estadio III suelen

presentarse signos clínicos de uremia, primero de una manera intermitente. Programadas de manera sistemática, las *evaluaciones exhaustivas del paciente* son, por tanto, esenciales. El tratamiento de los gatos en estadio III se centraría en medidas *nefroprotectoras* como la modificación alimentaria, la administración de antihipertensores y de inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina.<sup>10, 15</sup> En una etapa posterior de este estadio el foco terapéutico empieza a desplazarse hacia el *tratamiento sintomático*.<sup>14</sup>

#### Estadio IV: azotemia renal grave.

El cuarto estadio de la nefropatía se denomina azotemia renal grave. Los animales en estadio IV de la ERC felina suelen presentar anomalías del equilibrio electrolítico y tienen una capacidad notablemente reducida de afrontar los cambios en la ingesta de líquidos y de sodio.<sup>9</sup> El poco apetito, las náuseas y los vómitos son manifestaciones del síndrome urémico que pueden inducir un balance de calorías y nitrógeno negativo y a la consiguiente pérdida de grasa y masa corporal magra. En este estadio avanzado de la enfermedad renal crónica, suele presentarse una anemia normocítica, normocrómica y arregenerativa, lo cual complica el tratamiento. Los animales con ERC en estadio IV pueden experimentar un deterioro subclínico del sistema inmunitario y de los mecanismos homeostáticos.<sup>10</sup> En este estadio final de la ERC, la *evaluación exhaustiva del paciente* es fundamental y el *tratamiento sintomático* se concentra en la minimización de estas manifestaciones clínicas de la uremia. En general, el tratamiento nefroprotector y el específico son menos fundamentales en este estadio. Mientras que el tratamiento alimentario en este estadio consiste en la reducción del fósforo y las proteínas de la dieta, suele ser más importante (y difícil) garantizar una ingesta calórica adecuada.<sup>22, 23</sup>

Considerando todo lo anterior, se deben abordar también las condiciones de comorbilidad, que son las enfermedades concurrentes distintas de la ERC en sí misma. Dado que los pacientes con ERC suelen ser de mediana/avanzada edad, con mayor frecuencia tienen un número sustancial de condiciones de comorbilidad. Las enfermedades concurrentes de frecuencia en perros y gatos con ERC son las infecciones del tracto urinario, urolitiásis, obstrucción urinaria, enfermedades degenerativas articulares, enfermedades de la cavidad oral y enfermedad cardíaca. Además, el hipertiroidismo y urolitos del tracto urinario superior son comorbilidades comunes e importantes en los felinos con ERC.<sup>2, 14, 15</sup>

#### Hemodiálisis.

La hemodiálisis (HD) es una terapia de reemplazo renal que proporciona un soporte de

estabilidad metabólica a los pacientes que de otro modo morirían desde las ramificaciones pansistémicas de la uremia grave. Esta opción terapéutica ha sido sistemáticamente instaurada en un área geográficamente limitada a la comunidad veterinaria, ya que el servicio se inauguró en 1990 en la Universidad de California en Davis, Hospital Docente de Medicina Veterinaria. Estrictamente hablando, diálisis se refiere al movimiento neto de solutos y agua a través de una membrana semipermeable a lo largo de gradientes de concentración. La HD es el intercambio extracorpóreo de agua y solutos entre la sangre y una solución artificial denominada "dializado" a través de membranas semipermeables, fabricadas con el propósito de eliminar los residuos metabólicos y corregir las alteraciones en los fluidos, electrolitos, y ácido-base debido a los efectos que impone la enfermedad renal.<sup>24, 25</sup>

La HD proporciona beneficios terapéuticos a tres amplias categorías de pacientes veterinarios: (1) Animales con uremia grave y sus alteraciones metabólicas asociadas, (2) Animales con sobrecarga de volumen intratable, y por último, (3) Animales con algunas toxicosis. La mayoría de los animales que se presentan para la HD están demasiado urémicos y no responden a la diuresis estimulada con líquidos intravenosos o bajo manipulación farmacológica. La HD también puede mitigar las manifestaciones clínicas de las enfermedades crónicas en fase terminal de la enfermedad renal cuando el tratamiento convencional fracasa, pero son los pocos propietarios que son financieramente capaces de continuar indefinidamente con la HD.<sup>24, 25, 26</sup> El pronóstico para la recuperación de la uremia aguda en perros o gatos sometidos a HD depende de la etiología, el grado de daño renal, enfermedades concomitantes, y la presencia de afección de múltiples órganos y sistemas. En general, la HD aumenta considerablemente la supervivencia global de perros y gatos con uremia aguda grave más allá de lo que con el tratamiento convencional se puede alcanzar.<sup>24</sup>

#### Trasplante renal.

Presler<sup>27</sup> describe que el trasplante de aloinjerto renal es una modalidad de tratamiento eficaz para los gatos con enfermedad renal en estadio terminal. El primer trasplante exitoso de riñón felino se llevó a cabo en 1987 en la Escuela de Medicina Veterinaria de la Universidad de California, Davis, Estados Unidos. Cientos de éxitos de trasplantes de aloinjertos renales desde entonces se han realizado en los gatos, pero por desgracia este procedimiento se ofrece actualmente en menos de 10 sitios en los Estados Unidos. En un estudio de 66 gatos que recibieron trasplantes de riñón, el 71% de los gatos sobrevivieron hasta el alta. Las condiciones patológicas más comunes identificadas para las que se realiza el trasplante

renal incluyen: nefritis intersticial crónica (48%), riñones poliúísticos (10%), intoxicación con etilenglicol (9%) y fibrosis renal (6%). Debido a la morbilidad, la mortalidad y los gastos asociados con el trasplante, los pacientes candidatos suelen limitarse a aquellos cuya función renal continúa descompensada a pesar del tratamiento médico de apoyo y sintomático agresivo, que debe incluir el tratamiento de proteinuria, hipertensión, hipokalemia, infección de tracto urinario concomitante y manejo del equilibrio hídrico, electrolítico y nutricional.<sup>27</sup>

La función renal y los parámetros hemodinámicos suelen volver a la normalidad de 3 a 5 días después del trasplante. Reportes de complicaciones postoperatorias inmediatas incluyen el rechazo agudo del injerto, hipertensión y signos neurológicos, a pesar de que los actuales protocolos inmunosupresores han disminuido considerablemente la incidencia de episodios de rechazo agudo. A largo plazo, los efectos negativos en receptores de trasplante renal felino incluyen un aumento en la incidencia de infecciones (particularmente infecciones urinarias), neoplasia (con las neoplasias linfoproliferativas diagnosticadas con mayor frecuencia) y diabetes mellitus.<sup>27</sup>

En el presente, la única opción terapéutica que entrega solución definitiva a los felinos que padecen de ERC es el trasplante renal. Sin embargo, este procedimiento no es una opción viable para la gran mayoría de los gatos afectados por lo mencionado anteriormente, y son los manejos paliativos la piedra angular del tratamiento, ya que han sido diseñados para estabilizar la función renal y revertir las complicaciones metabólicas que derivan de la ERC. Sin embargo, estas no apuntan a tratar la causa subyacente de la misma.<sup>5</sup> Así también en medicina humana, el manejo de las enfermedades crónicas está dominada por el uso de medicamentos para aliviar los signos clínicos y no curar la enfermedad.<sup>5, 6</sup>

#### El riñón como blanco terapéutico mediante el tratamiento con células madre.

El riñón se ha considerado un órgano altamente diferenciado del cuerpo, y de hecho su potencial proliferativo es mucho menor, por ejemplo, que el de las células epiteliales del intestino.<sup>28</sup> Esta característica del riñón ha sido confirmada por la incidencia de tumores malignos, ya que el riñón es menos propenso a ser el origen de un tumor de lo que es el tracto gastrointestinal. Es por esto que se le ha tenido siempre como un órgano de baja o nula probabilidad regenerativa. Además, la regeneración celular por sí sola no es suficiente para la regeneración del órgano, en especial para la regeneración renal, ya que éste está compuesto por muchos tipos celulares que funcionan como una unidad tisular y no como células individuales haciendo de él un órgano elaboradamente estructurado y organizado con

una arquitectura sofisticada.<sup>4</sup> Sin embargo, el riñón tiene cierto potencial regenerativo, ya que puede recuperarse de una lesión renal aguda como cuando sufre una necrosis tubular aguda. Por lo tanto, aunque la capacidad del riñón para proliferar es menor que la de otros órganos, la reparación renal es tanto teórica y realmente posible. Lo que queda por determinar es cómo obtener el potencial regenerativo de riñón dañado y cómo utilizar este potencial de la mejor manera.<sup>3</sup> Los avances en las investigaciones indican que en el riñón existe un *pool* de células madre, aún en la vida adulta de los mamíferos, y serían estas las blancas terapéuticas de los factores liberados por las CMM administradas exógenamente.<sup>29</sup>

Las células madre han sido consideradas por mucho tiempo como las células arquetípicas. Su capacidad para dar forma indefinida a células hijas idénticas (auto-renovación) y para dar también lugar a progenies diferenciadas las sitúa en los niveles más altos de la escala celular. Las células madre son capaces de realizar lo mencionado mediante la utilización de dos tipos de división celular: la división celular simétrica y asimétrica. Es durante una ronda de la división celular asimétrica que una célula madre da lugar a dos tipos de células: una célula hija idéntica y con todas las propiedades de una célula madre y el potencial de división, y una célula progenitora que tiene limitado potencial de auto-renovación.<sup>6</sup>

En los animales, se pueden identificar dos amplias clases de células madre: células madre embrionarias (CME), que están presentes en la masa celular interna del embrión y que pueden dar lugar a las tres capas germinales embrionarias (endodermo, mesodermo y ectodermo) y las células madre adultas (somáticas) (CMAs), las cuales son responsables del mantenimiento de los tejidos normales. Los organismos multicelulares requieren la existencia de las CMAs y un mecanismo para su control preciso y así mantener la homeostasis del tejido.<sup>28</sup> En este contexto, se puede considerar a cada sistema de órganos del cuerpo organizado bajo una estructura celular jerárquica. A la cabeza de la jerarquía están las CMAs. Éstas pueden renovarse a sí mismas dentro de un tejido específico durante períodos indefinidos y también tienen la capacidad única de retener el potencial de dividirse asimétricamente en células hijas idénticas, como también en tipos celulares especializados dependiendo de las "instrucciones" del entorno circundante.<sup>6</sup>

Las CME provienen de la Masa Celular Interna (MCI) de un embrión peri-implantado y dan lugar a todas las células de un organismo. Éstas tienen la capacidad de diferenciarse en las células de las tres capas germinales, una propiedad denominada pluripotencial. Al igual que las CMAs, los CME también tienen la capacidad de auto-renovación continua. Debido a su etapa inicial de desarrollo, las CME se consideran "inmunológicamente privilegiadas", es decir,

irreconocibles por el sistema inmunitario del receptor. En comparación con las CME, las CMA se consideran en gran parte como multipotentes, ya que son capaces de producir todos los tipos de células a partir desde el sistema órgano-específico de los cuales derivan. La activación y proliferación de las CMA es el mecanismo más común de regeneración de tejidos en seres humanos y animales.<sup>6</sup> A pesar de que todas las CMA tienen la misma capacidad innata de auto-renovación y mantenimiento de la homeostasis tisular, su actividad depende en gran medida de su "nicho ambiental". Por ejemplo, las CMA del intestino son mucho más proliferativas en comparación con las células madre hematopoyéticas (CMH). En consecuencia, nuestra capacidad para aprovechar el potencial clínico de estas células se ve complicada por la complejidad de estos mecanismos tan estrictos que las controlan. A pesar de esto, las CMA pueden llegar a ser importantes en terapias que buscan el reestablecimiento de la función del tejido lesionado, ya que se consideran con baja capacidad tumorigénica en comparación a las CME y, además, evaden los problemas éticos, políticos y religiosos asociados a las mismas.<sup>30, 31</sup>

#### Células madre mesenquimales y sus atributos.

Recientemente, otro grupo de CMA ha llamado la atención en términos de su potencial terapéutico. Las células madre mesenquimales (CMM) son derivadas de la médula ósea (MO) y residen en lugares ricos en tejido conectivo en regiones no hematopoyéticas de la médula ósea, aunque también pueden obtenerse desde el tejido adiposo (CMM-TA)<sup>32</sup>

A pesar de que la MO es la fuente tradicional de CMM, el número, frecuencia, y la capacidad de diferenciación de las CMM de la MO disminuye significativamente con la edad, por lo que se prefiere obtener las CMM desde el tejido adiposo, según estudios realizados en humanos y en felinos, ya que las CMM derivadas de este crecen rápidamente y su obtención es más sencilla.<sup>33</sup> Ellas dan lugar a la formación de hueso, cartilago, músculo, estroma de médula ósea, tendón, grasa y una variedad de otros tejidos conectivos. Además de su capacidad de diferenciarse en células del linaje mesodérmico, las CMM tienen la capacidad de trans-diferenciarse en células del endodermo y de origen neuro-ectodérmico.<sup>6, 34</sup>

Según Berent<sup>7</sup> estas células son capaces de diferenciarse *in vitro* e *in vivo* en diferentes tipos de células. Éstas se han aislado de tejidos bajo su capacidad para adherirse a las superficies de plástico y de adoptar una morfología de tipo fibroblasto, denominadas unidades formadoras de colonias de fibroblastos (UFC-F). Ellas son atractivas candidatas para la reparación renal porque las nefronas son de origen mesenquimal y pueden conducir a la diferenciación de ambas:

nefronas y conductos colectores. Estudios previos en modelos animales avalan lo sostenido anteriormente y han demostrado que las CMM tienen el potencial de mejorar la recuperación de lesión tubular renal aguda mediante reparación en enfermedades tanto intersticiales como glomerulares.<sup>35</sup> El objetivo perseguido es el de crear un entorno para impedir la inflamación glomerular y tubular y así la progresión de la fibrosis glomerular e intersticial.<sup>36</sup> Además, reportes del uso CMM mediante inyección intra-arterial realizados en modelos de ratas con glomerulonefritis mesangio-proliferativa sostienen que entre el 20 y 50% de los glomérulos mostraron fluorescencia correspondientes a CMM previamente marcadas. Este estudio mostró una reducción del 50% de mesangiólisis, unas 3 a 4 veces más de proliferación intra-glomerular, reducción de la proteinuria en un 28%, aumento de la proliferación de células glomerulares y reconstituciones mesangiales evidentes. Este estudio también documentó que las CMM secretan altas cantidades de factor de crecimiento vascular endotelial y TGF- $\beta$ 1, que tienen propiedades anti-inflamatorias.<sup>29, 35</sup>

En general, las CMM mostraron acelerar notablemente la recuperación glomerular y posiblemente se deba a los efectos paracrinos de los factores de crecimiento liberados. Varios estudios indican que las CMM pueden jugar un papel en la modulación de la respuesta inmune. Las CMM son células presentadoras de antígenos ineficientes y no expresan CMH de clase II o moléculas co-estimuladoras, tales como B7-1, B7-2, CD40 y CD40L. Asimismo, las CMM no estimulan la proliferación de células T en reacciones mixtas de linfocitos y de hecho son capaces de regular hacia abajo respuestas de células T cuando se añaden a cultivos mixtos de linfocitos.<sup>37</sup>

Se ha demostrado que las CMM alteran los perfiles de secreción de citoquinas de las células T vírgenes (*naïve*) y efectoras, células dendríticas (CD) y células asesinas naturales (NK) para inducir un fenotipo antiinflamatorio o más tolerante.<sup>34, 35</sup> Además, cuando están presentes en un microambiente inflamatorio, las CMM inhiben la secreción de interferón (IFN) por parte de las células Th1 y (además disminuir la expresión de los niveles renales y sistémicos de citoquinas tales como IL-1 $\beta$ , IL-6 e FNT-a) NK e inducen la liberación de interleucina 4 y 10 (IL -4 e IL-10, respectivamente) desde las células Th2, promoviendo una conversión desde Th1 hacia Th2.<sup>37</sup> Las CMM inducen "el arresto" o la detención de la división de las células T, inhiben la maduración de las células dendríticas y la proliferación de células B y disminuyen la producción de citoquinas inflamatorias de diferentes poblaciones de células del sistema inmunológico. Estas propiedades inmuno-moduladoras hacen de las CMM, junto con lo mencionado anteriormente, atractivas para su uso (o potencial uso) en el tratamiento de enfermedades caracterizadas por la inflamación y

la autoinmunidad, incluyendo artritis reumatoide, lupus eritematoso sistémico (LES) y la enfermedad renal crónica.<sup>29</sup>

#### Células madre mesenquimales y posibles mecanismos de reparación tisular.

La activación del sistema inmunológico y la inflamación son los protagonistas clave en la respuesta a la lesión ya que permiten los procesos de reparación mediante el retiro de residuos celulares y el inicio de la remodelación tisular.<sup>6</sup> Un mecanismo por el cual la administración de CMM puede contribuir a la reparación de tejidos es mediante una "polarización" del sistema inmunitario a una forma más tolerante, como se describió anteriormente. Esto se produce predominantemente a través de un efecto paracrino mediada por las CMM llamado "*touch and go*", donde estas células migran a la zona de lesión, para secretar factores inmunes y más tarde, dejan el tejido y / o mueren.<sup>32</sup> Además de sus efectos directos sobre las células del sistema inmune, las CMM también puede modular el microambiente tisular afectado, permitiendo la transición desde una respuesta inflamatoria contra la lesión a una respuesta de regeneración de la misma. Además, se ha demostrado que las CMM ejercen efectos anti-fibróticos en modelos animales, y recientemente, que promueven la secreción de metaloproteinasas de la matriz y que reducen la fibrosis ventricular cardiaca después de un infarto de miocardio.<sup>4</sup>

La trans-diferenciación según Reinders,<sup>37</sup> es otro mecanismo que se ha propuesto para explicar la reparación de las células madres. Aunque se ha informado de que las CMM administradas exógenamente pueden injertarse en los túbulos lesionados, hay una creciente evidencia de que el proceso de trans-diferenciación es raro y que probablemente no tiene relevancia terapéutica para la reparación de la lesión renal *in vivo*. En la mayoría de los estudios, el efecto protector de la inyección de las CMM se observa dentro de 24 a 48 horas y, en ese momento, el número de células epiteliales derivadas de las CMM es tan bajo que su papel en la reparación de la nefrona mediante reemplazo de la célula epitelial es muy poco probable.

La fusión exógenamente administrada de CMM con células renales residentes se ha postulado como un posible mecanismo implicado en la reparación, ya que puede dar lugar a intercambio de material genético con la célula huésped y, por lo tanto, restablecer la producción de, por ejemplo, una proteína defectuosa.<sup>29</sup>

Otro mecanismo que podría ser de gran importancia en la reparación tisular es el efecto que ejercen las CMM en la preservación de la microcirculación. En efecto, una microvasculatura funcional ha demostrado que es de crítica

importancia en la prevención de la pérdida epitelial y la fibrosis. Evidencias indican que las CMM podrían estabilizar la formación de vasos sanguíneos y mejorar la angiogénesis *in vitro* e *in vivo* en diferentes modelos de lesión.<sup>35, 36</sup>

La angiogénesis es un complejo proceso controlado por un delicado equilibrio de factores pro-angiogénicos y anti-angiogénicos. El factor de crecimiento endotelial vascular (FCEV) es un regulador clave de la angiogénesis y de la supervivencia de las células endoteliales (CE), y su interacción con VEGFR-2 resulta en la activación de las CE y reclutamiento de leucocitos. Aunque se requieren como paso inicial en la angiogénesis y para la remodelación de la micro-circulación, esta fase de la angiogénesis es un proceso pro-inflamatorio. Sin embargo, las CMM han mostrado producir factores angiogénicos que promueven la estabilización de los vasos y de ese modo podrían estimular la integridad vascular y la angiogénesis fisiológica. Esto puede explicarse por la capacidad de las CMM para producir citoquinas que modulan la función endotelial, tales como el FCEV.<sup>31</sup>

En resumen, las CMM podrían ser protectoras mediante la creación de un microambiente que favorece la estabilización de los vasos y además limitando la angiogénesis inflamatoria patológica.<sup>29</sup>

#### Aplicación de CMM derivadas del tejido adiposo (CMM-TA) en la enfermedad renal crónica.

Es importante mencionar que la terapia con células madre en el riñón puede enfocarse desde dos grandes estrategias. La primera es aplicar células madre renales, es decir, células que están intrínsecamente relacionadas con el mantenimiento del órgano durante la vida del individuo. Con este protocolo se busca el reemplazo directo de las células epiteliales renales en la nefrona, junto con la estimulación de la neo-nefrogénesis. Está técnica es denominada aplicación de células madre intra-renal. Su obtención es compleja y su monitoreo más todavía.<sup>28, 30</sup> El segundo esquema de tratamiento trata de la inoculación de células madre extra-renales, es decir, CMM derivadas de la MO ó del tejido adiposo principalmente, cuyo objetivo más que buscar el reemplazo directo mediante una diferenciación celular, es estimular a las células sobrevivientes a de-diferenciarse e inducir las a proliferar para repoblar el órgano afectado, junto con inmunomodular el ambiente inflamatorio del tejido, además de instaurar un entorno mucho menos hipóxico.<sup>28</sup> Este segundo enfoque es el más descrito en la literatura de la medicina regenerativa.<sup>28</sup>

#### Obtención de las CMM-TA.

Como se menciona anteriormente las

CMM se obtienen preferentemente desde el TA, en el caso del felino, se realiza una biopsia desde el tejido graso intra abdominal para disminuir procesos de esteatitis felina en subcutáneo o bien del tejido graso subcutáneo ventral, justo bajo la cicatriz umbilical, habiendo previamente sedado al paciente según lo describe Quimby & col.<sup>5</sup> Para la preparación de las células del TA que serán sometidas a cultivo, el tejido extraído es molido y luego digerido con colagenasa (1 mg/mL) por 30 min., a 37° C. Luego, la muestra es centrifugada (a 1200 rpm/380 x G, 5 min) para separar la fracción estromal vascular del tejido adiposo remanente. Posteriormente el material de trabajo se coloca en un medio de cultivo para CMM, según lo describe Webb & col.<sup>33</sup>

### Caracterización de las CMM-TA.

Las CMM-TA son incubadas con distintos anticuerpos marcados con un fluoróforo, que se unen a receptores que se describe solo se expresan en éstas células y así se evalúa la expresión de marcadores de superficie mediante citometría de flujo. Generalmente, los marcadores que expresan las CMM-TA son CD44, CD90 y CD105; y una muy pobre expresión de CD4 y CMH II.<sup>32, 33</sup> También se someten a condiciones de cultivo que deben inducir las a expresar distintos linajes celulares, en el caso de las CMM, se comprueba si se diferencian en osteoblastos o adipocitos, según los componentes del medio del cultivo, y de acuerdo a los protocolos descritos por Donizetti & col.<sup>32</sup>

### Administración y seguimiento.

Para realizar una terapia basada en CMM, es crucial que éstas lleguen al sitio de la lesión.<sup>7</sup> Diferentes estudios indican que la entrega de CMM sistémicamente pueden llegar al riñón después de una lesión en el mismo. Como las CMM expresan una variedad de receptores de quimiocinas y moléculas de adhesión, lo más probable es que las quimiocinas sean los reguladores de esta migración preferencial.<sup>37</sup> Existen diversos factores que se han descrito en el control de la migración de las CMM al riñón lesionado, incluyendo CXCR4-SDF y el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF). Además, se ha demostrado al CD44 y ácido hialurónico, como factores cruciales en el reclutamiento de CMM exógenas al tejido renal lesionado y así aumentando la regeneración renal. A partir de estas observaciones, en la mayoría de los estudios con CMM estas se administran a través de vía intravenosa estándar.<sup>28, 36</sup>

Las desventajas de la administración intravenosa sistémica de las CMM puede ser la baja captación en el sitio de la lesión y su atrapamiento en la micro-circulación debido al tamaño relativamente grande de las CMM. Por ejemplo, en ratones, cantidades importantes de CMM

inyectadas intravenosamente quedan atrapadas dentro de los capilares pulmonares, provocando alteraciones pulmonares y hemodinámicas, y detiene el acceso deseado al órgano blanco.<sup>36</sup> Una opción para mejorar la entrega y para evitar la captura de células en el lecho microvascular podría ser administrar concomitante con las CMM, nitroprusiato.<sup>7</sup> Esto ha demostrado que aumenta el pasaje de las células madre a través de los capilares del pulmón y, potencialmente, también facilita el acceso de las células a los órganos lesionados. Alternativamente, las CMM se pueden administrar localmente, por ejemplo, a través de la arteria renal, o directamente en la cápsula renal.<sup>5, 7</sup>

Recientemente, se ha evaluado la viabilidad de la aplicación de CMM derivadas del TA en felinos con fallo renal crónico intrarenalmente, donde concluyen que si bien es posible realizar dicho procedimiento, los pacientes felinos presentan conductas no deseadas por los propietarios, presumiblemente asociadas al estrés al cual se someten, ya que se realizan muchos procedimientos que involucran sedaciones sucesivas, por lo que recomiendan finalmente la aplicación intra-arterial/intravenosa, dado que no es necesario aplicar las CMM directamente en el órgano blanco, ya que estas tienen la capacidad de migrar al sitio lesionado.<sup>5</sup>

Con respecto al seguimiento, es extremadamente complejo y para comprobar la llegada de las CMM al órgano blanco se evalúa principalmente la función del tejido de interés, o a modo experimental, mediante el análisis histológico del mismo. Sin embargo, diversos estudios indican que las CMM se integran escasa o nualmente en el riñón y son sus cualidades paracrinas las involucradas en la mejoría tisular.<sup>32</sup>

### Beneficios de su aplicación.

La mayoría de los fundamentos de la aplicación de CMM en el paciente felino con fallo renal crónico proviene de lo que se ha documentado en la experimentación con modelos de ERC inducida en ratas, o en felinos con ERC, cuyos resultados han demostrado una tendencia a mejorar tanto a nivel histológico como a nivel de funcionalidad renal.<sup>32, 38</sup>

Uno de los estudios más relevantes es el que se documenta en el "simposio de avances en las terapias renales", donde revelan el seguimiento de 25 casos de felinos tratados, al menos por 776 días pos-tratamiento con CMM derivadas del TA, con una dosis promedio de 1,47 X 10<sup>6</sup> CMM/ kg y con el 84% de los pacientes vivos hasta esa fecha de seguimiento. Además el 72,7% de dichos pacientes tuvo una respuesta favorable al tratamiento según los parámetros funcionales renales medidos a través de pruebas de bioquímica sanguínea, donde el NUS cayó en un 19,6% y la creatinina en un 3,8%, y el estadio IRIS pre-

tratamiento en promedio fue calificado en 3.0 y pos tratamiento en 2.8, en un promedio de 450 días. En resumen, se documentó una experiencia que abre grandes expectativas para mejorar la función renal en los felinos afectados, con una tendencia a la mejoría en el gran porcentaje de los pacientes tratados y sin reportes de efectos adversos entre los mismos, lo cual justifica la continuación de las investigaciones del tratamiento con CMM en el felino con fallo renal crónico.<sup>5, 38</sup>

### Consideraciones.

De acuerdo con Goldring & col.<sup>39</sup> es evidente que las terapias basadas en células traen consigo nuevos retos de seguridad biológica que no se pueden abordar utilizando los procedimientos analíticos desarrollados para las drogas de bajo peso molecular u otros productos biofarmacéuticos. Una dificultad particular es la capacidad de monitorizar la biodistribución celular, ya que una vez administrada, las células pueden ser esencialmente indistinguibles de las células del receptor. La capacidad de rastrear las células terapéuticas es clave para una evaluación objetiva del riesgo con respecto a la formación de tejido ectópico o de tumorigenicidad. La capacidad para determinar la biodistribución de células administradas plantea problemas técnicos, como el control del destino de las células exógenas, y esto requerirá el desarrollo de nuevas tecnologías. Además, la detección de células fuera del lugar deseado puede requerir un mecanismo para su eliminación, que de nuevo puede no ser técnicamente viable en la actualidad.<sup>31, 40</sup>

Una de las principales preocupaciones con la terapia con células madre es el potencial tumorigénico.<sup>41, 42</sup> La entrega de una célula con potencial ilimitado para la renovación y la capacidad de diferenciarse en cualquier tipo de célula trae consigo un cierto recelo que no está asociado a ninguna otra clase de tratamiento farmacológico. El hallazgo de que las células madre indiferenciadas, introducidas en animales inmunocomprometidos, son capaces de formar teratomas (son tumores que se componen de una matriz azarosa de distintos tipos de células somáticas, a veces dispuestas en los tejidos, y que normalmente corresponde a las tres capas germinales) hace hincapié en la importancia de abordar este problema.<sup>39</sup> Por otra parte, si las células contienen anomalías genéticas, estos podrían desarrollar teratocarcinomas (que son tumores compuestos de un teratoma junto con células madre indiferenciadas persistentemente), lo cual es de esperar que tenga un alto grado de malignidad.<sup>41</sup>

Otro punto con respecto a las consideraciones de seguridad que debe ser abordado por los proveedores de terapia con células madre (principalmente los laboratorios especializados) es el tema de la inmunogenicidad.<sup>42</sup>

Aunque hay gran cantidad de información que respalda el "status" de las CM como privilegiadas inmunológicamente, cualquier célula extraña introducida en un paciente será sometida a vigilancia inmunológica por el organismo del paciente receptor. Pero en parte, este problema a sido resuelto mayoritariamente al utilizar terapias con CM autólogas (es decir, extraídas desde el mismo paciente a tratar), sin embargo, no todos los pacientes pueden ser sometidos a extracciones de CM, y deben recibir CM alogénicas (o sea, desde un donante distinto al receptor), con lo cual el riesgo de potencial rechazo desde el sistema inmunológico persiste.<sup>33, 38</sup> Finalmente, el acuerdo de cuál es la dosificación precisa para lograr el efecto deseado sin ocasionar efectos adversos es otro de los conflictos con el cual debe enfrentarse el investigador al plantear instaurar una terapia con CM, ya que la curva dosis respuesta utilizada para cualquier otro fármaco no es traspasable a la aplicación de CM.<sup>45</sup>

Para los tratamientos con células madre, no es lo más apropiado un enfoque regulador basado en los productos farmacéuticos convencionales. Las decisiones se deberían tomar sobre una base donde se evalúa caso a caso, utilizando un abordaje donde se equilibran el riesgo-beneficio del paciente.<sup>5, 39</sup>

### Células madre y sus perspectivas a futuro.

El desafiante campo de la medicina regenerativa ofrece innumerables potenciales utilidades y, desde que se aislaron por primera vez las células madre embrionarias en 1998 por James Thompson, a la fecha gran cantidad de información se ha generado a través de estudios en laboratorios y la utilización de animales experimentales.<sup>46</sup> Luego de haber demostrado que las células diferenciadas pueden ser inducidas a volver a un estado parecido a las células madre embrionarias (conocidas como células madre pluripotenciales inducidas, CMPI), las expectativas de posibles aplicaciones y posteriores estudios se acrecentaron inimaginablemente.<sup>47, 48</sup> El uso de CMPI tiene muchas ventajas. No sólo esquiva el uso éticamente desafiante de embriones, sino que también evita el riesgo potencial de rechazo inmune durante el tratamiento de la enfermedad con células madre. Esto sugiere que las CMPI podrían permitir que cada paciente tenga un banco personalizado de las CMPI, para un uso futuro.<sup>6</sup> En síntesis, estas células permitirán estudiar la farmacocinética de drogas en órganos o tejidos fabricados artificialmente, reducir el número de animales experimentales, investigar la fisiopatología de distintas enfermedades y serán un grandioso aporte para la medicina regenerativa al permitir crear un "pool" de células individualizadas para cada paciente. Una desventaja de este tipo de células es que necesitan de un vector viral para que este inserte un segmento de ADN para que dichas células puedan volver a un estado similar a

las de la CME, con lo cual el riesgo de mutaciones o aberraciones genéticas es probable.<sup>6, 8, 31</sup>

Con respecto a las terapias con CM, es evidente que gran cantidad de investigaciones están dirigidas hacia esa modalidad, ya que la evidencia está a favor de las hipótesis de regeneración o mejorías funcionales de los tejidos tratados tanto en enfermedades agudas como crónicas, y en el caso particular del tratamiento con CM en el paciente felino con ERC, los estudios avalan un alentador enfoque terapéutico, sin embargo quedan muchos detalles y dudas por esclarecer, para poder establecer con solidez este protocolo de tratamiento.<sup>8, 29 32, 33, 37, 38, 39</sup>

Los gatos se han utilizado ampliamente para estudios de fisiología y fisiopatología, especialmente del sistema nervioso y ofrecen una oportunidad críticamente importante para la investigación en cuanto a la terapia de trasplante de células madre en trastornos neurológicos. Los gatos, además, son modelos para aproximadamente 60 enfermedades hereditarias humanas incluidas las enfermedades de almacenamiento lisosomal, diabetes, los trastornos del músculo cardíaco, enfermedad del riñón poliquístico y atrofia retiniana<sup>49</sup>; y, por otra parte, representan buenos modelos para estudiar las enfermedades de origen viral (Virus de la Leucemia felina y el Virus de la Inmunodeficiencia Felina), junto con distintos tipos de cáncer. Esto apunta a que los felinos con ERC tratados con células madre, junto con beneficiarse de dicho tratamiento, entregarán valiosa información de este procedimiento que servirá futuramente en el mejoramiento de la aplicación de células madre en la ERC en los seres humanos.<sup>34</sup>

## Conclusiones

Los métodos diagnósticos para detectar la ERC en el felino se basan en un conjunto de herramientas debido a la signología vaga que presentan los pacientes, y cuyo objetivo es pesquisarla lo más temprano posible, ya que los tratamientos tendrán mayores probabilidades de enlentecer la progresión de la ERC, y quizás aplicar la terapia con CM en el felino en un estadio temprano tenga resultados más satisfactorios debido a la mayor cantidad de tejido renal funcional, lo que permitirá una mayor proliferación celular y a su vez una mayor reposición del tejido normal. En todo caso, antes de su aplicación, el paciente debe estar controlado en cuanto a su hidratación, nutrición, equilibrio electrolítico, presión arterial, proteinuria y posible infección del tracto urinario concomitante. Dado que se contraindican con presencia de infección o neoplasia, el manejo integral del paciente y la biopsia renal asociada al procedimiento mejorarán el conocimiento de la técnica y su rendimiento.

La aplicación de células madre de origen mesenquimal puede ser beneficiosa en

el tratamiento de la ERC, ya que inducen un microambiente propicio para la activación de la proliferación celular propia del tejido afectado, inhibiendo los efectos inflamatorios propios de la injuria. Las CMM-TA presentan más ventajas que las CMM de la MO, ya que su obtención es más sencilla y su tasa proliferativa en cultivos celulares es mayor. Es necesario continuar con estudios que permitan esclarecer aún más el modo de funcionamiento y de control que poseen las CM, para aplicarlos en futuras investigaciones de una manera eficiente y que permita evidenciar sólidamente su utilización, ya que permanecen todavía sin establecerse definitivamente cual es la dosis adecuada para cada tipo de tratamiento, en qué situaciones la probabilidad de originar teratomas es mayor o, si se llegasen a desarrollar, cómo se daría solución a tales problemas que los investigadores aún no logran determinar.

El campo de las células madre ha abierto una tremenda oportunidad de desarrollo de nuevas técnicas de experimentación, tratamiento y aplicación en distintos ámbitos de la medicina. En el caso de la medicina veterinaria, la aplicación de CMM-TA ha demostrado ser una potencial alternativa para recuperar la función renal normal en los pacientes felinos que padecen ERC y las expectativas para este protocolo terapéutico prometen ser los fundamentos de las futuras investigaciones en el campo de la medicina regenerativa. El felino presenta grandes oportunidades para generar información que permita entender de mejor manera el funcionamiento de las células madre en el tratamiento de la ERC, cuyo aporte beneficiará también a la aplicación de este tratamiento en los seres humanos.

## Referencias bibliográficas.

1. Verlander JW. "Renal physiology". En: Cunningham JG. Textbook of veterinary physiology. 4<sup>ta</sup> edición. Elsevier. USA; 2009: 527-562.
2. Gregory GF. "Alteraciones del aparato urinario". En Nelson RW & Couto C G. Medicina interna de pequeños animales. 4<sup>ta</sup> edición. Editorial Elsevier. España; 2012: 607-656.
3. White JD, Malik R; Norris, JR. Review: Feline chronic kidney disease: Can we move from treatment to prevention?. The Veterinary Journal; 2011, 190: 317-322.
4. Iwatani H, Imai E. Kidney repair using stem cells: myth or reality as a therapeutic option?. J Nephrol; 2010, 23 (02): 143-146.
5. 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. Journal of Feline Medicine and Surgery; 2011, 13: 418-426.
6. Gattegno-Ho D, Argyle SA, Argyle DJ. Review: Stem cells and veterinary medicine: Tools to understand diseases and enable tissue regeneration and drug discovery. The Veterinary Journal; 2012, 191:19-27.

7. Berent A. Intra-arterial delivery of Mesenchymal Derived Stem Cells in Veterinary Patients. Advanced Renal Therapies Symposium 2012, The Animal Medical Center, New York, NY.
8. Perin L, Da Sacco S, De Filippo RE. Regenerative medicine of the kidney. Advanced Drug Delivery Reviews; 2011, 63: 379-387.
9. Francey T. La enfermedad renal crónica. Cómo tratar la enfermedad renal crónica en el gato. Waltham focus; 2005; 15 (1): 28-30.
10. Polzin DJ. Chronic Kidney Disease. In: Ettinger SJ, Feldman EC. Textbook of veterinary internal medicine. 7<sup>ma</sup> edición. Editorial Elsevier. USA; 2010: 1822-1872.
11. Polzin DJ. Chronic Kidney Disease in Small Animals. Vet Clin Small Anim; 2011, 41:15-30.
12. Lees GE. Early diagnosis of renal disease and renal failure. Vet Clin Small Anim; 2004, 34 : 867-885.
13. Gayton AC, Hall JE. "Nefropatías". En: Tratado de fisiología médica. 11<sup>ava</sup> edición. Editorial Elsevier. España; 2006c: 404-414.
14. Bartges JW. Chronic Kidney Disease in Dogs and Cats. Vet Clin Small Anim; 2012, 42: 669-692.
15. Ross SJ, Polzin DJ, Osborne CA. Clinical Progression of Early Chronic Renal Failure and Implications For Management. In: August JR. Consultations in feline internal medicine. 5<sup>ta</sup> edición. Editorial Elsevier. USA; 2006: 365-374.
16. Yabuki A, Mitani S, Fujiki M, Misumi K, Endo Y. Comparative study of chronic kidney disease in dogs and cats: Induction of myofibroblasts. Research in Veterinary Science; 2010, 88: 294-299.
17. Syme HM. La enfermedad renal crónica. Diagnóstico y tratamiento de la hipertensión felina. Waltham focus; 2005, 15(1): 31-37.
18. Elliot DA. Nutritional Management of Chronic Renal Disease in Dogs and Cats. Vet Clin Small Anim; 2006, 36:1377-1384.
19. Grauer FG. Early Detection of Renal Damage and Disease in Dogs and Cats. Vet Clin Small Anim; 2005, 35: 581-596.
20. Heyne R. Diagnóstico laboratorial de la enfermedad renal en el gato. Waltham focus; 2008, 18(2):16-22.
21. Vaden SL. Renal Biopsy of Dogs and Cats. Clin Tech Small Anim Pract; 2005, 20:11-22.
22. Brown SA. La enfermedad renal crónica ¿Hay alguna novedad en el tratamiento de la enfermedad renal crónica felina?. Waltham focus;2005, 15 (1): 2-6.
23. Elliot J. El gato azotémico. Waltham focus; 2008 a, 18 (2): 8-15.
24. Fischer JR, Pantaleo V, Francey T, Cowgill LD. Veterinary hemodialysis: advances in management and technology. Vet Clin Small Anim; 2004, 34 : 935-967.

25. Acierno MJ. Continuous renal replacement therapy in dogs and cats. Vet Clin Small Anim; 2011, 41: 135-146.
26. Cooper RL, Labato MA. Peritoneal dialysis in veterinary medicine, Vet Clin Small Anim; 2001, 41: 97-113
27. Pressler BM. Transplantation in Small Animals. Vet Clin Small Anim; 2010, 40: 495-505.
28. Reule S, Gupta S. Kidney regeneration and the role of stem cells. Organogenesis; 2011, 7 (2): 135-139
29. Bussolati B, Hauser PV, Carvalhosa R, Camussi G. Contribution of Stem Cells to Kidney Repair. Current Stem Cell Research & Therapy; 2009, 4: 2-8.
30. Pleniceanu O, Steinberg H, Dekel B. Concise Review: Kidney Stem/Progenitor Cells: Differentiate, Sort Out, or Reprogram?. Stem cells; 2010, 28:1649-1659.
31. Perin L, Giuliani S, Sedrakyan S, Da Sacco R, De Filippo. Stem cell and regenerative science applications in the development of bioengineering of renal tissue. Pediatr Res; 2008; 63 (5) 467-471.
32. Donizetti C, Semedo P, Burgos M, Cenedeze MA, Costa DM, Reis MA, Pacheco A, Olsen N, Câmara S. Adipose tissue-derived stem cell treatment prevents renal disease progression. Cell transplantation; 2009, DOI: 10.3727/096368911X623925.
33. Webb TL, Quimby JM, Dow SW. In vitro comparison of feline bone marrow-derived and adipose tissue-derived mesenchymal stem cells. Journal of feline medicine and surgery; 2012, 14: 165.
34. Martin DR, Cox NR, Hathcock TL, Niemeyer GP, Bake HJ. Isolation and characterization of multipotential mesenchymal stem cells from feline bone marrow. Experimental Hematology; 2002, 30: 879-886.
35. Hopkins C, Li J, Rae F, Little M. Stem cell options for kidney disease. J Pathol; 2009, 217: 265-281.
36. Lin F. Renal repair: role of bone marrow stem cells. Pediatr Nephrol; 2008, 23:851-861.
37. Reinders MEJ, Fibbe WE, Rabelink TJ. Multipotent mesenchymal stromal cell therapy in renal disease and kidney transplantation. Nephrol Dial Transplant; 2010, 25: 17-24.
38. Harmon R. Feline Chronic Kidney Disease: Cell Therapy Perspectives, Advanced Renal Therapies Symposium 2012, The Animal Medical Center, New York, NY.
39. Goldring C, French N, McBlane J, Duffy P, Hanley N, Park K, Kelly L, Narayanan G, Benvenisty N, Kitteringham N, Patel S, Andrews P, Kurth J, Reinhardt J, Ben-David U, Ladenheim D, Rossi A, Eakins R, Laverty H, Sharpe M. Assessing the Safety of Stem Cell Therapeutics. J Cell Stem Cell; 2011, DOI 10.1016/j.stem.2011.05.012.
40. Stephenson E, Ogilvie CM, Patel H, Cornwell G, Jacquet L, Kadeva N, Braude P, Ilic D. Safety paradigm: genetic evaluation of therapeutic grade human embryonic stem cells. J R Soc Interface; 2010, 7 (Suppl 6): S677-S688.

41. Anisimov SV, Morizane A, Correia AS. Risks and mechanisms of oncological disease following stem cell transplantation. *Stem Cell Rev*; 2010, 6:411–424.
42. Blum B, Benvenisty N. Clonal analysis of human embryonic stem cell differentiation into teratomas. *Stem Cells*; 2007, 25: 1924–1930.
43. Blum B, Benvenisty N. The tumorigenicity of human embryonic stem cells. *Adv Cancer Res*; 2008, 100: 133–158.
44. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood*; 2005, 105:1815–1822.
45. Hyun I, Lindvall O, Ahrlund-Richter L, Cattaneo E, Cavazzana-Calvo M, Cossu G, De Luca M, Fox IJ, Gerstle C, Goldstein RA. New ISSCR guidelines underscore major principles for responsible translational stem cell research. *Cell Stem Cell*; 2008, 3: 607–609.
46. Thomson JA, Itskovitz-Eldor J, Shapiro S, Waknitz MA, Swiergiel J, Marshall VS, Jones JM. Embryonic stem cell lines derived from human blastocysts. *Science*; 1998, 282:1145–1147.
47. Takahashi K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from mouse embryonic and adult fibroblast cultures by defined factors. *Cell*; 2006, 126: 663–676.
48. Takahashi K, Tanabe K, Ohnuki M, Narita M, Ichisaka T, Tomoda K, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from adult human fibroblasts by defined factors. *Cell*; 2007, 131: 861–872.
49. Griffin B, Baker HJ. Domestic cats as laboratory animals. In: Fox J, Anderson L, Lowe F, Quimby F. *Laboratory Animal Medicine*. 2<sup>nd</sup> edition. Academic Press. New York; 2001: 460-484.