



ARTÍCULO DE REVISIÓN

Tratamiento con células madre para la enfermedad de Crohn

Ingrid Ordás, Orlando García-Bosch, Elena Ricart, Julián Panés.

Departamento de Gastroenterología, Hospital Clínico de Barcelona, IDIBAPS, CIBERehd. Barcelona, España.

Recibido: Marzo 2010. Aceptado: Marzo 2010

PALABRAS CLAVE

Enfermedad de Crohn;
Terapia celular; Células madre hematopoyéticas;
Trasplante autólogo;
Trasplante alogénico;
España.

Resumen

A pesar de una correcta optimización en el uso de los tratamientos actualmente disponibles para el manejo de los pacientes con enfermedad de Crohn, existe una proporción de pacientes que presentan refractariedad a estas terapias y la cirugía representa el único medio de controlar el proceso inflamatorio. Además, en algunos pacientes la cirugía tampoco se puede considerar una alternativa válida ya sea por la extensión o por la localización de las lesiones. En los últimos años se ha producido un notable avance en el desarrollo de nuevas alternativas terapéuticas siendo la aplicación de la terapia celular la que más resultados prometedores ha ofrecido hasta la actualidad. El trasplante de células madre, hematopoyéticas o mesenquimales, ya se ha aplicado en humanos en múltiples enfermedades graves crónicas de base autoinmune o inflamatoria, con resultados positivos. Las células madre se caracterizan por ser células indiferenciadas que a través de su replicación tienen la capacidad de diferenciarse en células maduras especializadas. Las propiedades inmunomoduladoras de estas células y su capacidad de regeneración de tejidos les confieren un potencial terapéutico en enfermedades crónicas de base autoinmune e inflamatoria. El trasplante de células madre ha demostrado ser eficaz para la inducción y el mantenimiento de la remisión clínica en casos de enfermedad de Crohn grave refractaria. Sin embargo, este es un tratamiento no exento de posibles complicaciones por lo que debe ser considerado sólo en pacientes seleccionados y debe realizarse en centros con experiencia.

KEY WORDS

Crohn's disease; Cell therapy; Hematopoietic stem cell; Autologous transplant; Allogenic transplant; España.

Stem cell treatment for Crohn's disease

Abstract

Although an optimized use of current available treatments for the management of Crohn's disease, there is a subset of patients who will not respond to these therapies. Furthermore, there are selected cases in which surgery cannot be considered a valid

Correspondencia: Dr. Julián Panés. Departamento de Gastroenterología. Hospital Clínico de Barcelona. Villarroel 170. 08036 Barcelona, España. Teléfono: (+34) 932275418; Fax: +34 93227 9387. Correo electrónico: jpanes@clinic.ub.es

alternative, either due to the extension and / or to the location of the lesions. In recent years, there has been a great amount of data supporting the development of new and alternative therapies, such as cell therapy that have provided promising results to date. Stem cell transplant, hematopoietic or mesenchimal has already been applied in humans in cases of severe and chronic diseases with positive results. Stem cells are undifferentiated cells that through replication have the capability of both, self-renewal and differentiation into mature specialized cells. The immunomodulatory properties of these cells and their ability to regenerate tissues confers them a potential therapeutic benefit in immune-mediated conditions. Hematopoietic stem cell transplant has been proved effective for induction and maintenance of clinical remission of severe, refractory Crohn's disease. However, this treatment is not exempt of potential toxic effects and should thus be considered only in selected cases and performed in experienced centers.

Introducción

El tratamiento de la enfermedad inflamatoria intestinal (EII), que engloba principalmente dos entidades, la colitis ulcerosa y la enfermedad de Crohn (EC), se basa en el uso de agentes antiinflamatorios no específicos como son los aminosalicilatos, los corticoides, los inmunosupresores y los fármacos anti-TNF- α . Los objetivos del tratamiento de la EII incluyen la inducción y el mantenimiento de la remisión clínica a largo plazo libre de corticoides, la cicatrización de las lesiones mucosas y la reducción de complicaciones como por ejemplo la necesidad de cirugía entre otras.¹ Sin embargo, a pesar de la optimización en el uso de tratamientos inmunosupresores y anti-TNF- α , la necesidad de resección intestinal en la EC no se ha modificado en las últimas décadas.² Por otro lado, existe un subgrupo de pacientes a los que no se les puede ofrecer un tratamiento quirúrgico como alternativa válida, ya sea por la extensión o por la localización de las lesiones. Por este motivo son necesarios nuevos enfoques terapéuticos, que en condiciones ideales, deberían poder alterar el curso natural de la enfermedad. La terapia celular, que tiene como objetivo intentar *restablecer el sistema inmunológico*, está siendo considerada como una opción de tratamiento para los pacientes con EC refractaria. Este tipo de terapias no se contemplan como tratamiento de la CU puesto que en caso de refractariedad al tratamiento médico la cirugía es una alternativa adecuada.

En las últimas décadas, tanto en el ámbito clínico como experimental, se ha producido un notable interés por el desarrollo de nuevas terapias celulares para el tratamiento de enfermedades graves mediadas inmunológicamente, incluyendo la EC. Actualmente existen dos líneas de terapia celular, la terapia con células madre y terapias basadas en el uso de células inmunes tolerogénicas (células dendríticas y células T-reguladoras).³ La gran expectación que ha suscitado la terapia con células madre radica en las propiedades biológicas de estas células, en su capacidad de auto-renovación y regeneración de tejidos junto con su capacidad inmunomoduladora.

Tipos de células madre

Las células madre son células indiferenciadas que a través de la replicación tienen la capacidad de diferenciarse en células maduras especializadas.⁴ En términos generales existen dos tipos de células madre, las células madre embrionarias y las células madre adultas. Estas últimas se encuentran en todos los tejidos del organismo y funcionan como un reservorio para sustituir las células dañadas. En la médula ósea coexisten dos tipos de células madre, las células madre hematopoyéticas y las células madre mesenquimales que forman parte de la matriz estructural de la médula ósea, contribuyen a la hematopoyesis y tienen la capacidad de diferenciarse en varias estirpes celulares. Las células progenitoras hematopoyéticas se caracterizan por expresar las glicoproteínas CD34⁺, CD133⁺ o ambas. Los criterios establecidos por la Sociedad Internacional de Terapia Celular para definir las células madre mesenquimales son: 1) adherencia al plástico de cultivo, 2) expresión de CD105, CD73 y CD90, 3) ausencia de expresión de marcadores hematopoyéticos como CD45, CD34, CD14, CD11b, CD19, CD79a y HLA-DR y 4) capacidad de diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y condrocitos.⁵

El fundamento del trasplante con células madre hematopoyéticas consiste en el restablecimiento del sistema inmunológico tras la administración de una quimioterapia que elimina los linfocitos T auto-reactivos y las células memoria para crear una nueva estirpe de linfocitos tolerantes.

Trasplante de células madre hematopoyéticas

La práctica del trasplante de células madre hematopoyéticas como tratamiento primario de algunas enfermedades graves mediadas inmunológicamente (esclerosis múltiple, lupus eritematoso sistémico, entre otros) comenzó a finales de 1990 basándose en años de investigación previa en modelos animales y en el hallazgo de remisiones espontáneas de estas enfermedades en pacientes sometidos

a trasplante por trastornos hematológicos o procesos neoplásicos. En 1993 se reportó el primer caso de un paciente con EC sometido a un trasplante alogénico de células madre hematopoyéticas por un linfoma en el que se consiguió una remisión prolongada de su EC.⁶ Desde entonces se han reportado 25 casos de pacientes con EC sometidos a trasplante de médula ósea por procesos hematológicos o neoplásicos como indicación primaria. En 1995, se estableció un comité internacional para el desarrollo de guías protocolizadas que ha permitido un mejor conocimiento de esta terapia en términos de toxicidad, eficacia y mortalidad asociada.⁷

El trasplante de células madre puede ser alogénico, en el que las células provienen de otro individuo, (consanguíneo o no) o autólogo, en el que las células provienen del mismo paciente que se somete al procedimiento. Teóricamente, el trasplante alogénico debería estar asociado a una mayor probabilidad de curación puesto que se produce una reacción de “injerto contra huésped” que eliminaría las presuntas células T causantes de la enfermedad y se corrige la posible predisposición genética existente.⁸ Sin embargo, debido a la enfermedad del injerto contra el huésped (EICH), el trasplante alogénico se asocia con una mayor morbilidad y mortalidad. Por este motivo, la mayoría de los trasplantes realizados en las enfermedades inflamatorias y autoinmunes son autólogos. Recientemente se han publicado los resultados de un estudio en el que se han identificado tres mutaciones distintas del receptor de la interleucina-10 (IL10R) en pacientes que debutan con una EC a edad muy temprana con refractariedad a tratamientos médicos y quirúrgicos. Concretamente se detalla el caso de un niño con una EC grave, diagnosticada a los tres meses de vida, con historia de proctitis y enfermedad perianal refractaria requiriendo múltiples intervenciones quirúrgicas a lo largo del curso evolutivo de la enfermedad con episodios recurrentes de obstrucción intestinal. A los 9 años de edad fue sometido a un trasplante alogénico usando como donante a un hermano no portador de la mutación del receptor de la IL10. Después del trasplante se produjo una notable mejoría de la enfermedad perianal consiguiendo una remisión clínica prolongada en cuanto a la afectación luminal se refiere.⁹ Este estudio muestra un enfoque curativo de la EC grave refractaria mediante el trasplante alogénico que se justifica sobre la base de que en este caso la causa de la enfermedad podría considerarse de etiología monogénica.

El trasplante autólogo se puede realizar con un régimen de acondicionamiento mieloablativo o no mieloablativo.¹⁰ En el primero se utilizan tratamientos específicos que destruyen la médula ósea por completo lo que resulta en una insuficiencia medular irreversible si no se reinfunden las células madre hematopoyéticas. Después de un régimen no mieloablativo, la recuperación hematopoyética se puede producir sin la infusión de las células madre, sin embargo, el trasplante posterior acorta la mielosupresión inducida por la quimioterapia.¹¹ El argumento esencial a favor de los regímenes no mieloablativos es que la mortalidad relacionada con este

tratamiento debe ser muy baja o nula para enfermedades no malignas habiéndose descrito una mortalidad inferior a 1% con este tipo de régimen. Respecto a la mortalidad, es muy importante resaltar que ésta disminuye cuando el trasplante se realiza en centros de referencia experimentados y los pacientes son adecuadamente seleccionados.

El trasplante de células madre hematopoyéticas incluye varias fases. La fase de movilización, en la que se estimula la producción y liberación de células madre a la sangre periférica mediante el uso de quimioterapia y factores de crecimiento hematopoyético. La fase de aféresis, en la que a través de una vía venosa se recolectan las células madre que se han movilizado desde la médula ósea hacia la sangre periférica. Con esta técnica se logra una muestra hasta diez veces mayor que la obtenida de la médula ósea. Después de cada aféresis, las células madre recolectadas son congeladas y almacenadas utilizando sustancias nutritivas para evitar la muerte celular (fase de criopreservación; procedimiento exclusivo para los trasplantes autólogos). Posteriormente se realiza la fase de acondicionamiento, en la que se utilizan altas dosis de quimioterapia, habitualmente ciclofosfamida y anticuerpos anti-linfocitos (globulina anti-timocítica, ATG) con el propósito de eliminar el estado inmunológico preexistente del paciente y crear un espacio en la cavidad medular para la proliferación de las células madre trasplantadas. La última fase consiste en la infusión, a través de un catéter venoso central, de las células madre hematopoyéticas.

Trasplante de células madre hematopoyéticas como indicación primaria para la enfermedad de Crohn

Los primeros datos de eficacia del trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas para la EC provienen de un estudio fase I del grupo de Chicago en el que se incluyeron doce pacientes con EC activa moderada-grave (CDAI 250-358), refractaria a los tratamientos convencionales incluyendo los anti-TNF- α .¹² La mayoría de los pacientes habían sido sometidos previamente una o más cirugías. El tratamiento utilizado para la fase de movilización fue ciclofosfamida 2 g/m² junto con G-CSF 10 μ g/kg/día, y para el acondicionamiento se empleó ciclofosfamida 200 mg/kg junto con ATG (equina) 90 mg/kg. Para la obtención de las células madre de sangre periférica se realizó selección positiva de las CD34 $^+$. El seguimiento inicial fue a los seis y doce meses post-trasplante y posteriormente de forma anual incluyendo evaluación clínica y endoscópica. Once de los 12 pacientes trasplantados entraron en remisión clínica sostenida (CDAI < 150) sin precisar tratamiento para el mantenimiento de la remisión y tras un seguimiento medio de 18.5 meses tan sólo un paciente desarrolló recurrencia de la enfermedad a los 15 meses del trasplante. Los hallazgos endoscópicos también mejoraron a lo largo del seguimiento realizado. Todos los pacientes toleraron bien el tratamiento y no hubo muertes relacionadas con el trasplante.

En 2008 se publicaron los resultados de un estudio fase I-II llevado a cabo en Milán en el que se incluyeron cuatro pacientes de similares características.¹³ Todos los pacientes tenían una EC activa en el momento del trasplante (CDAI 258-404), habían fracasado al tratamiento con inmunosupresores y anti-TNF- α y dos de ellos habían requerido múltiples resecciones quirúrgicas. Para la movilización se empleó ciclofosfamida 1.5 g/m² y G-CSF 10 μ g/kg/día y para el acondicionamiento ciclofosfamida 200 mg/kg más ATG (de conejo) 7.5 mg/kg. En este estudio no se seleccionaron las poblaciones celulares. Tres meses después del trasplante todos los pacientes habían alcanzado la remisión clínica y tras un periodo de seguimiento de 16.5 meses tres de los cuatro pacientes incluidos se mantenían en remisión. En este segundo estudio la mortalidad reportada también fue nula.

Los autores del primer estudio publicado en Chicago observaron que se producía una mejora de los síntomas de la EC tras la fase de movilización, hecho que se atribuyó a los posibles efectos inmunomoduladores de los fármacos empleados en esta fase. Sin embargo, en el estudio de Milán, se observó un empeoramiento clínico tras esta fase. Existen dos casos más publicados en la literatura de pacientes con EC en los que hasta que no se realizó el trasplante de células madre hematopoyéticas no se produjo una respuesta clínica de la enfermedad.^{14,15}

Los mecanismos responsables del efecto beneficioso de los tratamientos empleados para el trasplante en la EC no están claramente definidos. Inicialmente es probable que se produzca un efecto beneficioso como resultado de la erradicación de las células T autorreactivas y células memoria a causa de los efectos directos linfoablativos de los fármacos utilizados en la fase de acondicionamiento. Posteriormente se postula que podría producirse un fenómeno de reconstitución autoinmune. Actualmente en Europa, la EBMT (*European Bone Marrow Transplantation*) y la ECCO (*European Crohn's and Colitis Organization*) están llevando a cabo un estudio aleatorizado, fase III, que evalúa la eficacia del trasplante autólogo de células madre en la EC refractaria (*Autologous Stem Cell Transplantation for Crohn's Disease [ASTIC] trial*). En este estudio los pacientes son aleatorizados a recibir el trasplante al cabo de un mes de la fase de movilización, o al año, con el propósito de evaluar si el trasplante añade algún beneficio al efecto de la inmunosupresión utilizada para la movilización.

Aunque el trasplante autólogo de células madre hematopoyéticas ofrece resultados prometedores para el tratamiento de la EC refractaria, éste sigue siendo un tratamiento en fase de investigación, no exento de posibles complicaciones, que deja esta opción como alternativa para un número considerablemente reducido de pacientes en los que la enfermedad no es susceptible de ser controlada mediante resección quirúrgica.

Células madre mesenquimales

Recientemente, en el seno de la terapia celular basada en el uso de células madre, y con un enfoque menos agresivo,

se está aplicando el trasplante (autólogo o alogénico) de células madre mesenquimales para el tratamiento de enfermedades como la esclerosis múltiple, la enfermedad del injerto contra el huésped y la EC.

Las células mesenquimales se pueden obtener de cualquier tejido conectivo, incluyendo la médula ósea y el tejido adiposo. Estas células se caracterizan por poseer un fenotipo no inmunogénico y, por lo tanto, su uso en trasplantes alogénicos podría no requerir de inmunosupresión previa.

La capacidad pluripotente de las células mesenquimales (pueden diferenciarse en múltiples estirpes celulares), su relativa facilidad para expandirse en cultivo, así como sus propiedades inmunomoduladoras hacen que este tipo de células madre sea una prometedora fuente para promover la regeneración de tejidos dañados *in vivo*.¹⁶ En modelos animales se ha observado que tras el trasplante de células mesenquimales, éstas poseen la capacidad de migrar hacia los tejidos dañados. Si bien los mecanismos subyacentes a la migración de estas células no están del todo aclarados, la evidencia sugiere que tanto las quemocinas como sus receptores y las moléculas de adhesión estarían implicados en este proceso. Las células mesenquimales ejercen importantes funciones inmunomoduladoras siendo capaces de regular la respuesta inmune innata que juega un papel clave en la patogénesis de la EC. En particular, las células mesenquimales inhiben la diferenciación de las células dendríticas, la activación de células T, la proliferación de células B y la quimiotaxis.¹⁷⁻²⁰ Se ha observado que las células mesenquimales obtenidas de tejido adiposo ejercen un efecto inmunosupresor *in vitro* inhibiendo la proliferación celular periférica de células mononucleares y la producción de IFN- γ mientras que incrementan la secreción de IL-10.²¹ Una de las ventajas que ofrecen las células mesenquimales procedentes de tejido adiposo frente a las procedentes de la médula ósea es que las primeras son más fácilmente accesibles para su obtención. En humanos, disponemos de resultados recientes alentadores de un estudio fase II, multicéntrico, aleatorizado y controlado con placebo, que ha evaluado la eficacia y seguridad de la administración local de células mesenquimales provenientes de adipocitos para el tratamiento de fistulas perianales complejas incluyendo pacientes con y sin EC.²²

A pesar de que el tratamiento con células madre mesenquimales ha demostrado ejercer una acción inmunomoduladora en varios tipos de enfermedades de etiología autoinmune y en modelos animales de enfermedad inflamatoria intestinal, la eficacia de esta terapia para el tratamiento de la EC refractaria se encuentra todavía en etapas muy preliminares.

Referencias

1. Allez M, Lemann M, Bonnet J, Cattan P, Jian R, Modigliani R. Long term outcome of patients with active Crohn's disease exhibiting extensive and deep ulcerations at colonoscopy. Am J Gastroenterol 2002;97:947-953.

2. Cosnes J, Nion-Larmurier I, Beaugerie L, Afchain P, Tiret E, Gendre JP. Impact of the increasing use of immunosuppressants in Crohn's disease on the need for intestinal surgery. *Gut* 2005;54:237-241.
3. Salas A, Ricart E, Panés J. Cell therapies for inflammatory bowel diseases. *Expert Rev Gastroenterol Hepatol* 2009;3:321-324.
4. Burt RK, Loh Y, Pearce W, Beohar N, Barr WG, Craig R, et al. Clinical applications of blood-derived and marrow-derived stem cells for nonmalignant diseases. *JAMA* 2008;299:925-936. Review.
5. Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, Slaper-Cortenbach I, Marini F, Krause D, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006;8:315-317.
6. Drakos PE, Nagler A, Or R. Case of Crohn's disease in bone marrow transplantation. *Am J Hematol* 1993;43:157-158.
7. Gratwohl A, Passweg J, Bocelli-Tyndall C, Fassas A, van Laar JM, Farge D et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases. *Bone Marrow Transplant* 2005;35:869-879.
8. Marmont AM. Immunoablation followed or not by hematopoietic stem cells as an intense therapy for severe autoimmune diseases. New perspectives, new problems. *Haematologica* 2001;86:337-345.
9. Glocker EO, Kotlarz D, Boztug K, Gertz EM, Schäffer AA, Noyan F et al. Inflammatory bowel disease and mutations affecting the interleukin-10 receptor. *N Engl Med* 2009;361:2033-2045.
10. Burt RK, Marmont A, Oyama Y, Slavin S, Arnold R, Hiepe F, et al. Randomized controlled trials of autologous hematopoietic stem cell transplantation for autoimmune diseases: the evolution from myeloablative to lymphoablative transplant regimens. *Arthritis Rheum* 2006;54:3750-3760.
11. Statkute L, Verda L, Oyama Y, Traynor A, Villa M, Shook T, et al. Mobilization, harvesting and selection of peripheral blood stem cells in patients with autoimmune diseases undergoing autologous hematopoietic stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2007;39:317-329.
12. Oyama Y, Craig RM, Traynor AE, Quigley K, Statkute L, Halverson A, et al. Autologous hematopoietic stem cell transplantation in patients with refractory Crohn's disease. *Gastroenterology* 2005;128:552-563.
13. Cassinotti A, Annaloro C, Ardigzone S, Onida F, Della Volpe A, Clerici M, et al. Autologous haematopoietic stem cell transplantation without CD34+ cell selection in refractory Crohn's disease. *Gut* 2008;57:211-217.
14. Scime R, Cavallaro AM, Tringali S, Santoro A, Rizzo A, Montalbano L et al., Complete clinical remission after high-dose immune suppression and autologous hematopoietic stem cell transplantation in severe Crohn's disease refractory to immunosuppressive and immunomodulator therapy. *Inflamm Bowel Dis* 2004;10:892-894.
15. Kreisel W, Pothoff K, Bertz H, Schmitt-Graeff A, Ruf G, Rasenack J et al. Complete remission of Crohn's disease after high-dose cyclophosphamide and autologous stem cell transplantation. *Bone Marrow Transplant* 2003;32:337-340.
16. Uccelli A, Moretta L, Pistoia V. Mesenchymal stem cells in health and disease. *Nat Rev Immunol* 2008;8:726-736.
17. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005;105:1815-1822.
18. Jiang XX, Zhang Y, Liu B, Zhang SX, Wu Y, Yu XD, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit differentiation and function of monocyte-derived dendritic cells. *Blood* 2005;105:4120-4126.
19. Beyth S, Borovsky Z, Mevorach D, Liebergall M, Gazit Z, Aslan H, et al. Human mesenchymal stem cells alter antigen-presenting cell maturation and induce T-cell unresponsiveness. *Blood* 2005;105:2214-2219.
20. Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, Giunti D, Cappiello V, Cazzanti F, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood* 2006;107:367-372.
21. Gonzalez-Rey E, Anderson P, González MA, Rico L, Büscher D, Delgado M. Human adult stem cells derived from adipose tissue protect against experimental colitis and sepsis. *Gut* 2009;58:929-939.
22. Garcia-Olmo D, Herreros D, Pascual I, Pascual JA, Del-Valle E, Zorrilla J, et al. Expanded adipose-derived stem cells for the treatment of complex perianal fistula: a phase II clinical trial. *Dis Colon Rectum* 2009;52:79-86.