

Trabajo Fin de Grado
Grado en Farmacia

**Nuevos enfoques terapéuticos
para el tratamiento de la
artritis reumatóide mediante
inmunomodulación con
células madre
mesenquimales: desde la
terapia celular hasta la terapia
libre de células**

2022-2023

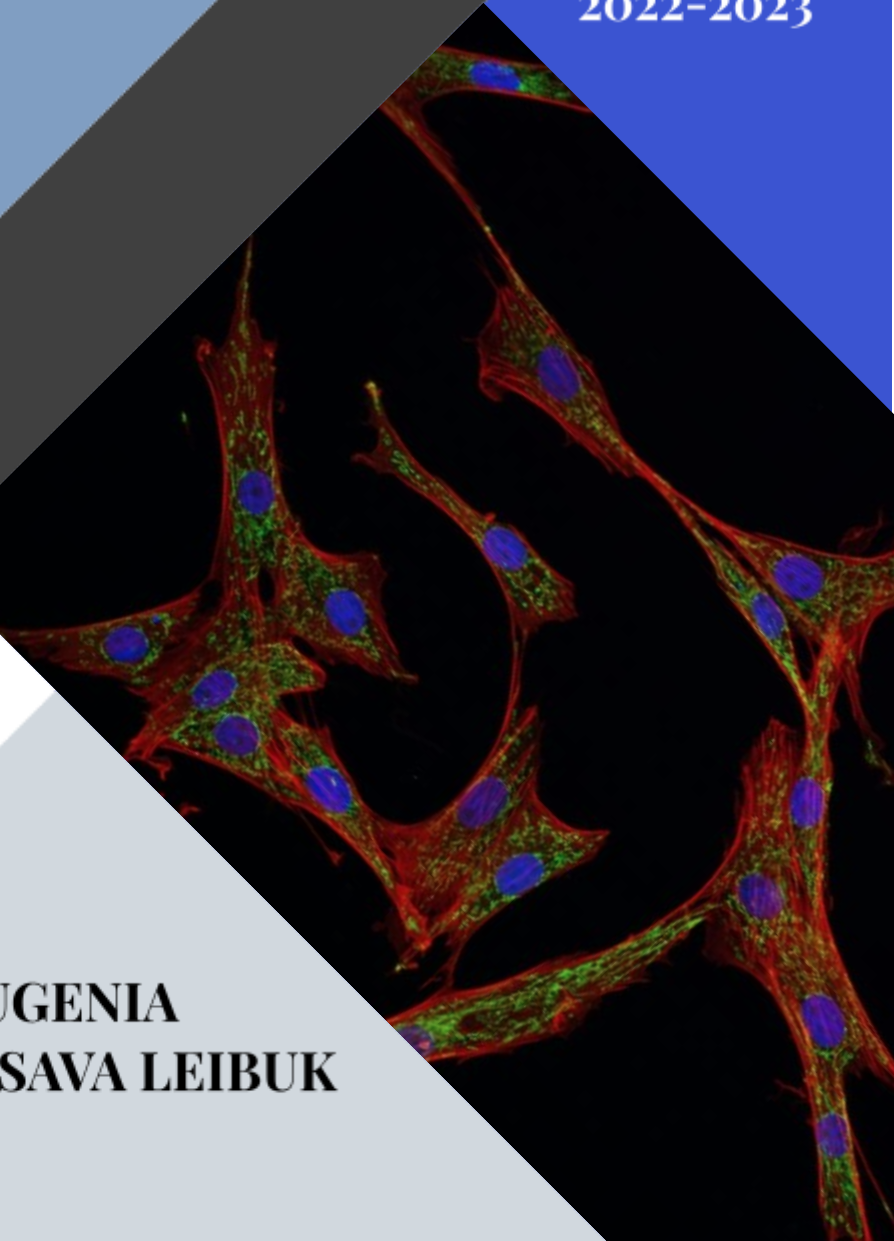


Universidad
del País Vasco

Euskal Herriko
Unibertsitatea

FARMAZIA
FAKULTATEA
FACULTAD
DE FARMACIA

**EUGENIA
RAZANTSAVA LEIBUK**



Índice:

Glosario de abreviaturas

Resumen

1. Introducción.....	1
2. Objetivos.....	4
3. Desarrollo.....	5
3.1 Metodología.....	5
3.2 Fisiopatología de la AR.....	5
3.3. Células Madre Mesenquimales y su efecto inmunomodulador.....	7
3.3.1 MSCs.....	7
3.3.2 Acción inmunomoduladora de las MSCs.....	9
3.3.2.1. Regulación de la Respuesta Inmune Innata.....	9
3.3.2.2 Regulación de la Respuesta Inmune Adaptativa.....	10
3.3.3 Secretoma.....	11
3.3.3.1. Principal responsable de la inmunomodulación mediada por las MSCs..	11
3.3.3.2 Enriquecimiento del secretoma: estrategias de precondicionamiento....	11
3.4 MSCs y derivados en el tratamiento de la artritis reumatoide.....	13
3.4.1 Terapia celular.....	14
3.4.2 Terapia libre de células.....	17
4. Conclusiones.....	20
5. Bibliografía.....	21

Glosario de abreviaturas:

- ACPA: anticuerpo anti-proteína cíclica citrulinada
- AINEs: antiinflamatorios no esteroides
- Anticuerpo Anti-CCP: anticuerpo antipéptido cíclico citrulinado
- APC: célula presentadora de antígeno (*Antigen presenting cell*)
- AR: artritis reumatoide
- DC: célula dendrítica
- ER: epítipo reumatóide
- EVs: vesículas extracelulares
- FAMES: fármacos modificadores de la enfermedad
- Fas-L: ligandos Fas
- FKN: fractalquina
- FLS: sinoviocitos semejantes a fibroblastos (*Fibroblast-like synoviocytes*)
- FR: factor reumatoide
- Gal-1: galectina tipo 1
- Gal-3: galectina tipo 3
- G-CSF: factor estimulador de colonias de granulocitos
- HLA: antígeno leucocitario humano (Human leukocyte antigen)
- HLA-DR: antígenos leucocitarios humano isotipo DR
- HLA-G: antígeno leucocitario humano G
- IDO: indoleamina 2,3-dioxigenasa
- IL: interleuquina
- IL-1: interleuquina 1
- IL-2: interleuquina 2
- IL-6: interleuquina 6
- IL-17: interleuquina 17
- IL-25: interleuquina 25
- IL-10: interleuquina 10
- IL-1Ra: receptor antagonista de la interleuquina 1
- IFN- γ : interferón gamma
- INF α : interferón alfa
- LPS: lipopolisacáridos
- LT: linfocitos T
- LTh: linfocitos T *helper*
- MAPK: protein quinasas mitógeno activadas
- MHC (I y II): complejo Mayor de Histocompatibilidad 1 y 2

- miRNA: micro ácido ribonucleico
- MMP: matriz Metaloproteinasa
- MSC: célula madre mesenquimal (*Mesenchymal stem cell*)
- MSCs: células madre mesenquimales
- NF-κB: factor nuclear kappa B
- NK: *natural killer*
- NO: óxido nítrico
- NO sintasa: óxido nítrico sintasa
- PADI4: peptidil Arginina Deiminasa tipo IV
- PAMPs: patrones moleculares asociados a daño (*Pathogen associated molecular patterns*)
- PCR: proteína C reactiva
- PD-L1: ligando letal programado 1
- PGE2: prostaglandina E2
- Poly(I:C): ácido policitidílico (*Polycytidylic acid*)
- SEC: cromatografía por exclusión de tamaño
- SM: síndrome metabólico
- STAT3: activadores de transcripción-3
- TFF: filtración tangencial
- TGF-β: factor de crecimiento transformante
- Th1: linfocito T *helper* 1
- Th2: linfocito T *helper* 2
- Th17: linfocito T *helper* 17
- TLR: receptores tipo Toll (*Toll Like Receptors*)
- TLR3: receptor tipo Toll tipo 3
- TLR4: receptor tipo Toll tipo 4
- TNF-6: factor de necrosis tumoral 6
- TNFα: factor de necrosis tumoral alfa
- TNFβ: factor de necrosis tumoral beta
- TSG-6: gen estimulador del factor de necrosis tumoral 6
- Treg: linfocitos T reguladores
- VSG: velocidad de sedimentación globular

Resumen:

Actualmente, el empleo de células madre mesenquimales (MSCs) y sus derivados para el tratamiento de enfermedades como la artritis reumatoide, representa una nueva alternativa terapéutica ante una eficacia insuficiente de las terapias convencionales actuales, que solo tratan de paliar los síntomas de la enfermedad.

En esta revisión se expondrá la fisiopatología de la artritis reumatoide como base para comprender el funcionamiento y aplicación de los tratamientos más novedosos empleando MSCs y el secretoma derivado de ellas. Se evaluarán estudios que han utilizado dichas terapias. Primeramente, la terapia celular, que presenta buena bioseguridad y duración del efecto. Por otro lado, la terapia libre de células, donde al poder extraer el secretoma *in vitro* y poder estandarizar los protocolos de fabricación, se ofrece una mayor velocidad para poder llevar su paso a clínica en un futuro.

En conclusión, se ponen de manifiesto las ventajas de los tratamientos inmunomoduladores, destacando la terapia libre de células como nuevo enfoque prometedor para el tratamiento de pacientes con artritis reumatoide, aunque para ello serán necesarios estudios más exhaustivos con los que se aseguren su eficacia, sus efectos a largo plazo y su bioseguridad.

1. Introducción

La artritis reumatoide (AR) es una enfermedad inflamatoria sistémica, de carácter autoinmune y crónico, que ocasiona inflamación de la membrana sinovial en numerosas articulaciones. Causa dolor, rigidez y pérdida de movilidad, viéndose acompañada por una destrucción posterior del cartílago y del hueso y conllevando al desarrollo de una deformidad articular. Además, se acompaña en numerosas ocasiones por manifestaciones extraarticulares tales como anemia, vasculitis, pleuritis, pericarditis o xerostomía, contribuyendo todo ello a un deterioro funcional que aminora la calidad de vida del paciente. Puede incluso llegar a disminuir su esperanza de vida, aumentando la mortalidad de los pacientes de dos a tres veces debido a patologías asociadas como enfermedades coronarias, infecciosas o neoplasias malignas (1).

Se trata de una patología que puede aparecer a cualquier edad, siendo la franja más común entre 30 y 50 años. La prevalencia a nivel mundial oscila entre el 0,3% en África y Asia y el 3% en algunas tribus americanas y esquimales, encontrando en Europa valores intermedios. A nivel nacional se estima una prevalencia desde 0,3% hasta 1,6%, afectando a 5 de cada 1.000 adultos, tal y como indica la *figura 1*. Los resultados muestran una frecuencia cuatro veces mayor en mujeres que en hombres y en un entorno urbano en comparación con uno rural (2).



Figura 1. Prevalencia mundial de la AR mostrada en unidades por cada 100 habitantes en diferentes regiones geográficas (2).

Actualmente, la etiología de la enfermedad es desconocida, a pesar de que se considera que podría desencadenarse la sintomatología con mayor facilidad en personas predispuestas genéticamente. Existen un conjunto de genes situados en los loci del Sistema del Antígeno Leucocitario Humano (HLA) clase II, en concreto los alelos HLA-DR1 y los subtipos DR4 y DR10 del cromosoma 6 que forman parte del complejo Mayor de Histocompatibilidad tipo II (MHC-II). Dichos alelos comparten una secuencia de aminoácidos determinada denominada Epítipo Reumatóide (ER), cuya presencia se repite y se asocia a la patogenia de la AR (3).

Además de los factores genéticos, en el desarrollo de la enfermedad participan factores ambientales como el tabaco; el sexo (como se mencionaba anteriormente, las mujeres son más propensas que los hombres), así como factores relacionados con el estilo de vida como obesidad, sedentarismo, exceso de consumo de carnes rojas, alcohol o estrés (4).

Por otro lado, cabe destacar que presentar signos como dislipemia, hipertensión o resistencia a la insulina, propios del denominado síndrome metabólico (SM), puede aumentar el riesgo a desarrollar AR por la presencia de citoquinas proinflamatorias comunes a ambos. También se presume que padecer SM en pacientes con AR podría complicar la patología, debido a que se relaciona con un aumento de riesgo de padecer enfermedades cardiovasculares, consideradas principal causa de muerte en pacientes con AR (5).

Así, el diagnóstico se realiza en base a las manifestaciones clínicas del paciente, encontrándose entre las principales la sinovitis clínica, la rigidez matutina, el dolor y la artritis simétrica. Se observa también la presencia de marcadores serológicos de inflamación en fase aguda como PCR (proteína C reactiva), VSG (velocidad de sedimentación globular), autoanticuerpos como Anti-CCp (anticuerpo antipéptidos cíclico citrulinado) o FR (factor reumatoide), TNF- α (factor de necrosis tumoral alfa) o bien la presencia de ILs (interleucinas) proinflamatorias como son la Interleuquina 2 (IL-2) o la Interleuquina 6 (IL-6), acompañándose de signos de daño radiológico (6).

Una vez establecido el diagnóstico, se procede al tratamiento de primera línea, que trata en su mayoría de paliar los síntomas y controlar el brote inflamatorio. Este se inicia en la fase temprana con la administración de AINES (Antiinflamatorios No Esteroides) y glucocorticoides, controvertidos por su perfil de efectos adversos y, en ocasiones, su escasa respuesta. Seguidamente, se procede a la administración de FAMEs (Fármacos

Antiinflamatorios Modificadores de la Enfermedad) clásicos o no biológicos, que modulan la respuesta del sistema inmune con un amplio abanico de mecanismos de acción. Un ejemplo muy utilizado es el metotrexato, análogo del ácido fólico y cuyo mecanismo de acción es actuar como inhibidor de la dihidrofolato reductasa. Se encarga de inhibir la proliferación de los linfocitos T y B, así como de suprimir la liberación de ciertos factores proinflamatorios como IL-1, interferón gamma (IFN- γ) o TNF α , ejerciendo con ello un potente efecto antiinflamatorio, a la vez que citotóxico, por lo que establecer una correcta posología es importante para el paciente. Este fármaco se administra acompañado por otros que fomentan su efecto antiinflamatorio. Tal es el caso de la sulfasalazina, inhibidor de la vía de la lipoxigenasa en el metabolismo del ácido araquidónico gracias a la producción del leucotrieno. Otro ejemplo de fármaco administrado junto al metotrexato es la leflunomida, inhibidor de la dihidrooroato deshidrogenasa, que inhibe la síntesis pirimidinas y la proliferación de linfocitos autoinmunes (7-11).

Si la patología sigue su curso, se continúa la terapia con FAMEs biológicos, siendo estos anticuerpos o proteínas de fusión con un mecanismo de acción específico sobre una diana específica. Pueden ser fármacos anti TNF α como el etanercept, rituximab, adalimumab, anakinra o bien fármacos anti ILs proinflamatorias: anti IL-2, anti IL-6 o anti fractalquina (FKN), que actúan haciendo que ciertas células inmunes no se activen. Estos tratamientos convencionales tratan de controlar el brote inflamatorio, pero no suponen un tratamiento efectivo a largo plazo, que junto con los efectos adversos que ocasionan, descritos en la *tabla 1*, hacen necesaria la búsqueda de nuevos enfoques terapéuticos (12-14).

Tabla 1. Efectos adversos más comunes de los tratamientos convencionales para el tratamiento de la AR (12-14).

Tratamiento farmacológico	Efectos adversos
AINEs	Alteraciones gastrointestinales, renales, cardíacos, retención de líquidos, reacciones alérgicas.
Glucocorticoides	Síndrome de Cushing, Presión arterial elevada, cambios de humor, problemas de memoria, psicológicos y de comportamiento
FAMEs clásicos	Toxicidad, problemas para respirar, descamación, hemorragias, fatiga, fiebre, prurito, convulsiones, cansancio intenso
FAMEs biológicos	Reacción en el sitio de inyección, cefalea, infecciones, mareos, recidivas inflamatorias.
Cirugía	Infecciones nosocomiales, rechazo del injerto.

AINEs: Antiinflamatorios no esteroideos; FAMEs: Fármacos modificadores de la enfermedad

Desde hace unos años, la necesidad de tratar la patología y no solamente paliar los síntomas, ha abierto camino a la investigación de nuevos enfoques terapéuticos para la AR. La búsqueda de tratamientos eficaces, duraderos y adecuada bioseguridad ha llevado a tratamientos que emplean MSCs y sus derivados. Estas células se caracterizan por ser multipotenciales, pudiendo diferenciarse en diversos linajes celulares. Además, poseen una capacidad inmunomoduladora e inmunoevasiva, idónea para el tratamiento de la AR, puesto que no solamente reducen el brote inflamatorio, sino que contribuyen a evitar futuros brotes disminuyendo la autoinmunidad y, por consiguiente, las lesiones articulares (15).

Los tratamientos a base de MSCs comienzan con una extracción, aislamiento y expansión de las células necesarias. Existen dos estrategias diferentes: la terapia celular y la terapia libre de células, en la que se utiliza el secretoma derivado de la MSCs, resultando un procedimiento prometedor, pero aún con mucho camino por explorar (15).

2. Objetivos

La AR es una enfermedad inflamatoria sistémica de carácter autoinmune y crónico, para la cual los tratamientos existentes hasta la fecha no han mostrado la eficacia necesaria y además muchos de ellos han presentado numerosos efectos adversos. Por ello, en la actualidad se están investigando terapias alternativas que mejoren el tratamiento.

En esta revisión bibliográfica, se explorará el uso de las MSCs y sus productos derivados de ellas como una alternativa terapéutica para el tratamiento de la AR. Para ello, en primer lugar, se presentarán los diferentes mecanismos inmunopatológicos implicados en la enfermedad. Seguidamente se determinarán las características de las MSCs y los productos que liberan, así como su forma de obtención y cómo su actividad inmunomoduladora puede resultar de utilidad en el tratamiento de la AR. Adicionalmente, se revisarán estrategias de preconditionamiento utilizadas para potenciar la liberación de dicho secretoma inmunomodulador. Finalmente, se discutirán estudios en los que se emplee la terapia celular o la terapia libre de células a base de su secretoma para el tratamiento de la AR.

3. Desarrollo

3.1 Metodología

Para alcanzar los objetivos propuestos, se elaboró una revisión bibliográfica de artículos científicos utilizando diferentes bases de datos como Pubmed, Google Scholar, Cochrane o Academia. Para ello se utilizaron palabras clave mediante una serie de operadores booleanos como: "Arthritis AND mesenchymal stem cells", "Rheumatoid arthritis AND secretome", "RA NOT terapia celular" o "RA AND immunomodulation".

3.2 Fisiopatología de la AR

Tal y como se ha mencionado anteriormente, la AR presenta una etiología multifactorial, en la cual se incluyen factores genéticos, ambientales como el tabaquismo e infecciones bacterianas o virales. Estos y otros factores aún desconocidos, podrán provocar una pérdida de tolerancia del organismo a proteínas propias, la cual tiene lugar debido a alteraciones de la regulación post-transcripcional de proteínas. Dicho proceso se desencadena debido a que el enzima peptidil arginina deiminasa tipo IV (PADI4), que cataliza el proceso de conversión del aminoácido arginina a citrulina, exagera su función. La excesiva formación de citrulina es detectada y considerada por el organismo como algo nocivo, con lo que comienza la generación de la respuesta autoinmune con la formación de anticuerpos anti-citrulina (ACPA) en el tejido linfóide secundario. Al unirse ACPA con el residuo de citrulina se ocasiona la activación del complemento y se promueve la liberación de citoquinas proinflamatorias así como de células T y B de la médula ósea o tejidos linfoides (16).

Así, las células presentadoras de antígenos (APC) se encargan de presentar autoantígenos como ACPA o FR a las células T, activando las células T vírgenes, Th1, Th17 y Th2. Las células Th1, que poseen una elevada capacidad de secretar el factor de necrosis tumoral (TNF) proinflamatorio, provocan con ello la activación de los macrófagos. Los linfocitos Th17 producen interleucinas proinflamatorias como IL-17, IL-1 y TNF- α , que actúan a nivel de condrocitos, osteoclastos y fibroblastos. Así debido a la liberación en cascada de citoquinas proinflamatorias, los condrocitos liberan enzimas secretoras de colágeno y matriz-metaloproteínasa (MMP) generando un proceso proliferativo del tejido sinovial denominado *pannus* que conduce a la inflamación del tejido sinovial o sinovitis y que, posteriormente dará lugar a la destrucción de la matriz extracelular. Se promueve a su vez la actividad de los osteoclastos y fibroblastos, acelerando el proceso de remodelación ósea (17,18).

Las células T a su vez se encargan de activar las células B, así como células plasmáticas que secretan ACPA, los cuales activarán a los neutrófilos y macrófagos provocando una secreción de citoquinas proinflamatorias y aumentando el deterioro condrocítico. También pueden formar un complejo inmunitario que provoca dolor en las articulaciones, contribuyendo a la sinovitis y posterior destrucción ósea, dando lugar a la fase clínica de la AR, tal y como se indica en la *figura 2* (3,16).

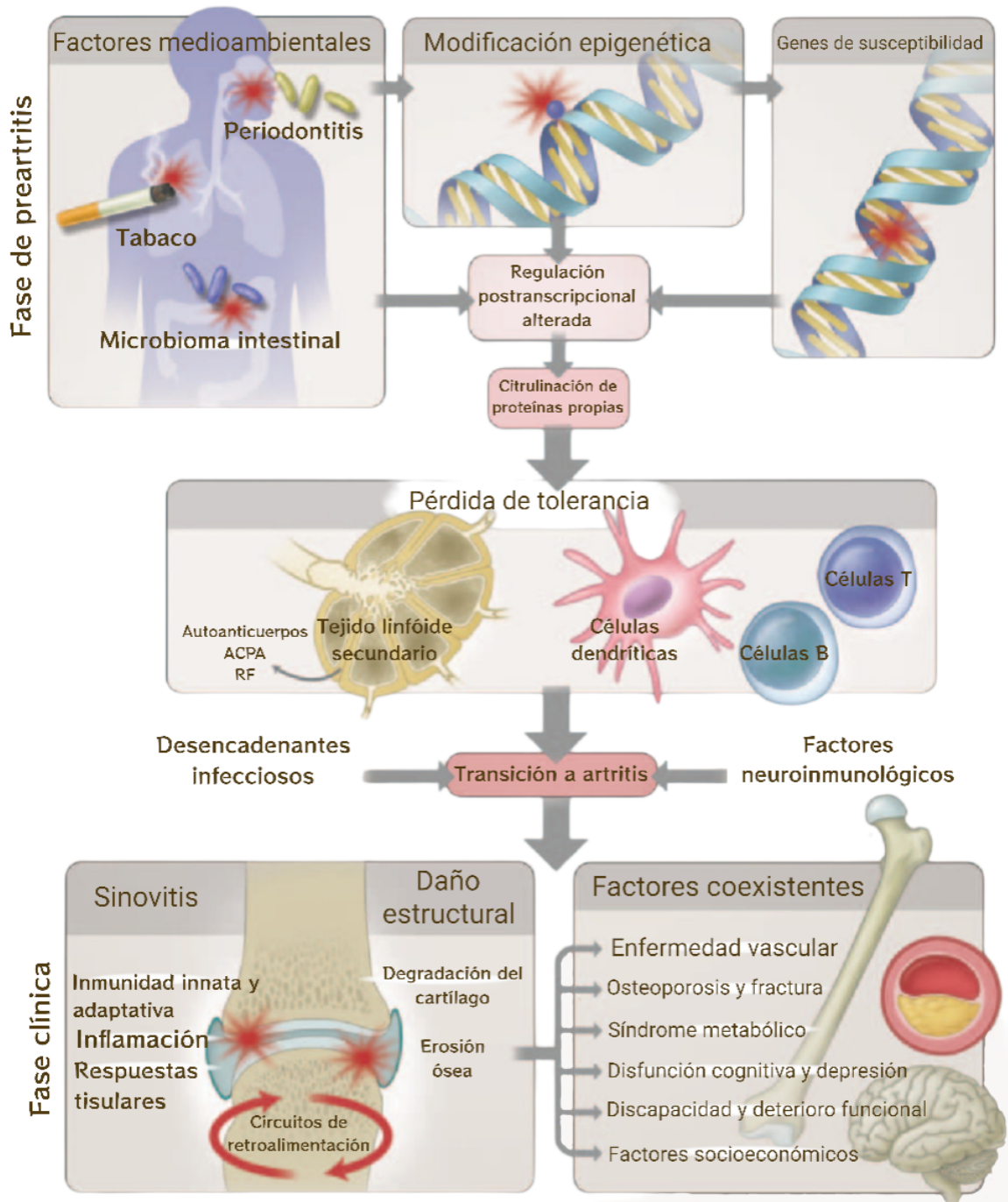


Figura 2. Progresión en el desarrollo de la Artritis reumatoide. Imagen adaptada (16).

El daño osteoarticular puede verse agravado por la coexistencia de patologías como síndrome metabólico o patologías vasculares. Un traumatismo o fractura puede actuar a su vez como posible desencadenante de la respuesta autoinmune, acelerando el transcurso desde la fase pre-clínica a la fase clínica de la AR. Adicionalmente, algunos estudios sugieren que los pacientes con AR podrían tener mayor probabilidad de padecer enfermedades de salud mental como por ejemplo la depresión, debido a que la liberación de citoquinas proinflamatorias interferiría en la síntesis y transmisión monoaminérgica. La plasticidad sináptica también podría verse afectada, por lo que también se sugiere que estos pacientes podrían ser más probables de padecer disfunción cognitiva (16,19).

3. 3. Células Madre Mesenquimales y su efecto inmunomodulador

3.3.1 MSCs

Las MSCs son células estromales no hematopoyéticas multipotenciales con morfología fibroblastoide. Se aíslan de diferentes tejidos como la médula ósea, cordón umbilical o tejido adiposo, siendo el último uno de los más utilizados por su fácil obtención. Se trata de células que pueden diferenciarse en osteoblastos, adipocitos y condrocitos. Gracias a esa capacidad, son ampliamente utilizadas en medicina regenerativa. Se caracterizan por presentar un perfil de inmunogenicidad menor a otros tipos de células debido a que no expresan HLA-DR (excepto si son estimulados por factores inflamatorios como IFN- γ) o moléculas co-estimuladoras como el CD40 o el CD80 (15,20,21).

Las MSCs presentan propiedades inmunomoduladoras ya que regulan la respuesta inmune innata y adaptativa, actuando sobre la activación, maduración, proliferación y la actividad citolítica de células inmunes. Esta actividad inmunomoduladora se puede lograr mediante contacto célula-célula, aunque sobre todo gracias al conjunto de moléculas secretadas por las MSCs al espacio extracelular, tal y como indica la *figura 3*. El conjunto de factores que las MSCs liberan se denomina secretoma. Está formado por dos fracciones: la fracción soluble y la fracción vesicular. El secretoma varía en su composición según los factores presentes en el microambiente celular que le rodea. Es decir, como respuesta a cambios en dicho microambiente, los receptores TLR (*Toll like Receptors*) presentes en la superficie de las MSCs son capaces de reconocer citoquinas del medio, activando un tipo de TLR u otro (15,20).

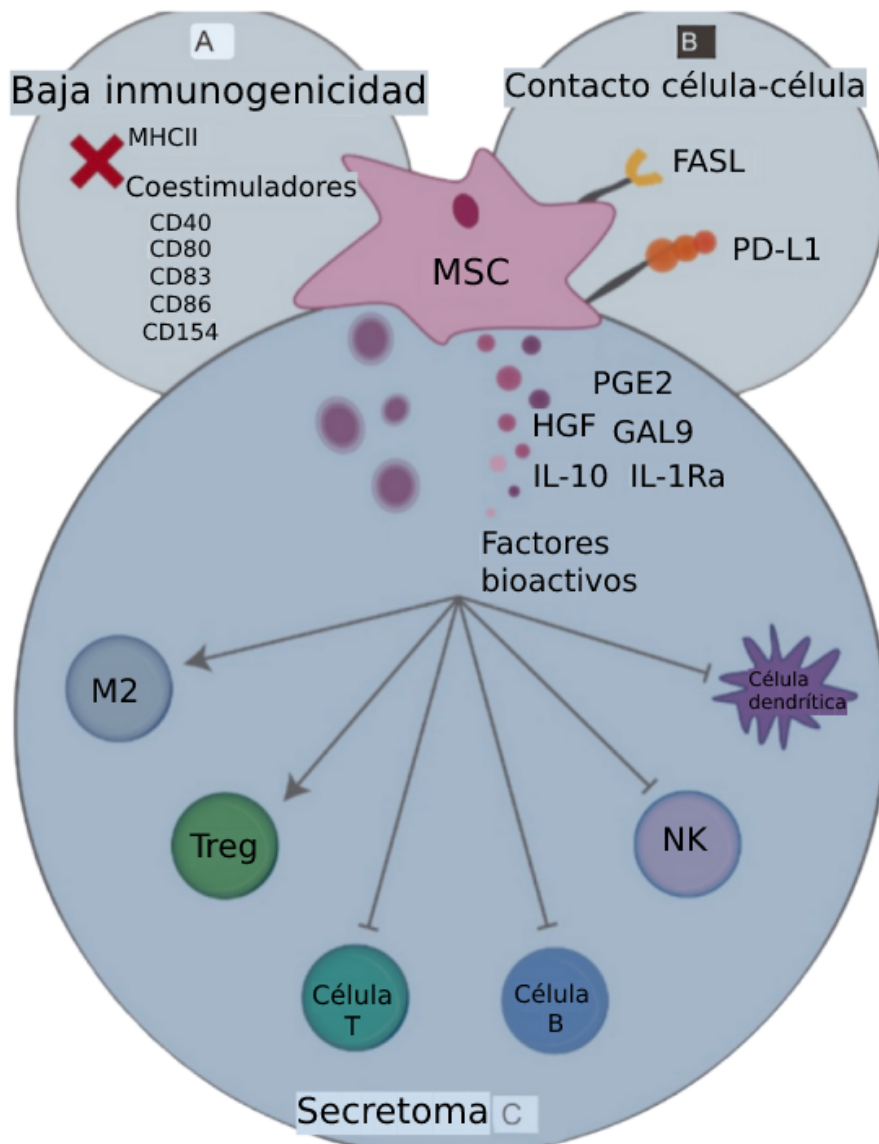


Figura 3. Propiedades inmunomoduladoras de las MSCs. (A) Las MSC presentan una baja inmunogenicidad. Median sus efectos a través de: (B) Interacciones célula-célula o (C) Secreción de EVs o factores bioactivos. Imagen adaptada (15).

Por ejemplo, la presencia de factores como los lipopolisacáridos (LPS) activa receptores TLR tipo 4 (TLR4), lo que promueve la polarización de las MSCs hacia su fenotipo MSC1, el cual secreta mediadores proinflamatorios. Esto sucede al inicio de la lesión. Las MSCs entonces presentan un fenotipo MSC1 proinflamatorio, con el objetivo de aumentar dichos mediadores, promover la migración de células inmunes hacia la lesión y desencadenar la respuesta inmune. Cuando esto se consigue, el sistema inmune produce niveles altos de citoquinas proinflamatorias como IFN- γ , TNF- α o poly-I:C. Estas

son captadas a través del receptor TLR tipo 3 (TLR3), que contribuye a la polarización de las MSCs hacia su fenotipo MSC2, el cual secreta mediadores antiinflamatorios y regula las células inmunes efectoras, llevando a la inmunomodulación, disminuyendo la inflamación y promoviendo la homeostasis. Esta es la razón por la que la expresión del fenotipo MSC2 da lugar a un secretoma inmunomodulador que podría representar un nuevo enfoque terapéutico para enfermedades inflamatorias inmunomediadas como la AR (15,21).

3.3.2 Acción inmunomoduladora de las MSCs

3.3.2.1. Regulación de la Respuesta Inmune Innata

Diversos factores secretados por las MSC2 son capaces de regular la respuesta de los macrófagos. Por ejemplo, la prostaglandina E2 (PGE2) induce el fenotipo antiinflamatorio de los macrófagos, el M2, por medio de activadores de transcripción-3 (STAT-3). A su vez, STAT-3 promueve la producción de la interleucina 10 (IL-10), una citoquina antiinflamatoria. Por otra parte, la liberación por las MSC2 de indoleamina 2,3-dioxigenasa (IDO), un factor soluble responsable del metabolismo del triptófano, también contribuye a la diferenciación hacia M2. Además, la producción por las MSCs del receptor antagonista de la interleucina 1 (IL-1Ra) inhibe la unión de la misma con su receptor, con lo que inhibe los efectos de dicha interleucina, entre ellos, la diferenciación de los macrófagos a su fenotipo inflamatorio, el M1 (15,22).

Por otro lado, las MSCs secretan diversos factores que limitan la respuesta de las células dendríticas (DCs), las cuales son potentes células presentadoras de antígenos. En primer lugar, las MSCs liberan la proteína del gen 6 inducible por el factor de necrosis tumoral (TSG-6), que ha mostrado tener actividad inmunomoduladora. Este se encarga de inactivar las proteínas quinasas activadas por mitógenos (MAPK) y el factor nuclear kappa B (NF- κ B), inhibiendo la maduración de células dendríticas. También suprime la respuesta a Th1 a la vez que favorece la producción de Treg y la polarización de los macrófagos hacia el fenotipo antiinflamatorio M2. Adicionalmente, la PGE2 que liberan las MSCs también actúa inhibiendo la maduración de las DCs (15,22-24).

Además, las MSC2 son capaces de disminuir la acción de las células natural killer (NK). Esto se consigue gracias a la liberación del factor estimulador de colonias de granulocitos (G-CSF) o el antígeno leucocitario humano G (HLA-G). El HLA-G bloquea la secreción de citoquinas proinflamatorias como IFN- γ , TNF- α , IL1- α , IL1- β , IL-6, IL-7, IL-8, IL-9 e interactúa

con las NK, uniéndose a sus receptores inhibidores y disminuyendo su acción.IDO y PGE2 también regulan las células NK en sinergia con TGF- β 1 y el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF), inhibiendo la secreción de la citoquina proinflamatoria IL-2, que juega un importante papel en la activación de las NK (15,22,23).

3.3.2.2 Regulación de la Respuesta Inmune Adaptativa

Mediante el contacto célula-célula, las MSCs son capaces de modular tanto las respuestas de los linfocitos B como de los T. Un ejemplo de ello es la unión de los ligandos Fas (Fas-L) presentes en la superficie de las MSCs con receptores Fas en los LT, la cual conlleva a su apoptosis. Otro de los ejemplos es el ligando letal programado 1 (PD-L1) que se une a sus receptores PD-1 en los LT, suprimiendo su proliferación así como su degranulación citotóxica. Los efectos de las interacciones de Fas-L y PD-L1 con células B también promueven la apoptosis de estas últimas (15).

En el secretoma derivado de las MSCs, la PGE2 actúa sobre la respuesta inmune adaptativa mediante dos vías distintas. Por una parte, aumenta el AMP cíclico, disminuyendo la producción de IL-2 y su receptor (IL-2R), ejerciendo un efecto regulador sobre las células T. Por otra parte, regula negativamente la hidrólisis del fosfatidil inositol fosfato y la producción de diacilglicerol e inositol fosfato, que participan en la proliferación de células T y la diferenciación hacia LT reguladoras (Treg). Las Treg son LT que suprimen la activación de otras células del sistema inmune (células dendríticas, NK, etc.). Así, controlan la respuesta inmune y favorecen la tolerancia a autoantígenos. Por último, cabe destacar la acción de MSCs en la secreción de marcadores como CD4+ o CD25+, gracias a los cuales se consigue suprimir LT que presentan elevada actividad (15,25).

IDO también es esencial para el efecto inmunomodulador, puesto que reduce los niveles de triptófano causando su depleción y produce metabolitos tóxicos provocando la inhibición de la proliferación de células T y favoreciendo su diferenciación hacia Treg. Por otro lado las MSCs también producen óxido nítrico (NO), que contribuye a inhibir la proliferación de células T y la producción de citoquinas inflamatorias. Por último, cabe destacar la acción inmunomoduladora de otros factores secretados por las MSCs, las galectinas. Galectina 1 (Gal-1), galectina 3 (Gal-3) y galectina 9 (Gal-9) han mostrado suprimir la proliferación de células T y B (15).

3.3.3 Secretoma

3.3.3.1. Principal responsable de la inmunomodulación mediada por las MSCs

La función paracrina llevada a cabo por el secretoma, es considerada la principal responsable del efecto inmunomodulador de las MSCs. Tal y como se ha mencionado anteriormente, se denomina secretoma al conjunto de moléculas secretadas por las MSCs al espacio extracelular, de naturaleza proteica, lipídica o de material genético y que presenta actividad biológica. El secretoma presenta dos fracciones: una soluble formada por factores de crecimiento, citoquinas y enzimas; y una fracción vesicular, que contiene vesículas extracelulares (EVs) que comprenden exosomas, cuerpos apoptóticos y microvesículas (15).

En la fracción soluble, encontramos diversas moléculas con diferentes funciones ya mencionadas anteriormente, como son la PGE₂, IDO, IL-1Ra y TGF- β . Por otro lado, dentro de la fracción vesicular se diferencian, en primer lugar, los cuerpos apoptóticos (procedentes de la apoptosis celular). Son los de mayor tamaño y expresan marcadores como la caspasa 3. En segundo lugar tenemos las microvesículas, que se forman mediante gemación de la membrana plasmática de la célula original y los exosomas, generados por endogemación de la membrana endosomal y liberados al medio extracelular mediante fusión posterior con la membrana. Ambos transportan en su interior material genético (ARN y miARN) y proteínas. Actúan sobre las células diana produciendo interacciones receptor-ligando por tres posibles vías: fusión con la membrana plasmática, endocitosis en la célula diana o interacción de los lípidos de membrana con los de la célula diana, permitiendo desarrollar así su función inmunomoduladora (15,24,26,27).

3.3.3.2 Enriquecimiento del secretoma: estrategias de preacondicionamiento

Como se ha mencionado anteriormente, para el tratamiento de enfermedades inflamatorias inmunomediadas como la AR es necesario que las MSCs presenten un fenotipo MSC2 inmunomodulador. Para ello, es posible seguir diferentes estrategias durante el cultivo *in vitro* de las MSCs. Así, se denominan técnicas de preacondicionamiento a aquellas estrategias efectuadas durante el cultivo de las MSCs *in vitro*, cuyo objetivo es promover la polarización hacia su fenotipo MSC2 inmunomodulador y fomentar con ello la liberación de factores antiinflamatorios (28).

Una de las técnicas empleadas es exponer las MSCs a citoquinas proinflamatorias tales como IFN- γ , TNF- α , IL-1, IL-17, IL-1 β o IL-25. La exposición y sus efectos sobre el contenido del secretoma se recogen en la *figura 4* (28,29).

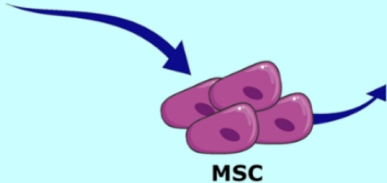
Agentes de preconditionamiento	Efecto sobre el contenido del secretoma
<p>IFN-γ</p> <p>TNF-α</p> <p>IL-1β</p> <p>IL-1α</p> <p>IL-17</p>  <p>MSC</p>	<p>↓ IFN-γ y TNF-α</p> <p>↑ PGE2, HGF, TGF-β1, IDO, HLA-5G, IL-6, IL-10</p> <p>↑ PGE2, IDO</p> <p>↑ PGE2, IDO, G-CSF</p> <p>↑ G-CSF</p> <p>↑ IL-6</p>

Figura 4. Principales efectos de las citoquinas proinflamatorias empleadas en preconditionamiento y sus efectos en el secretoma. Imagen adaptada (29).

El primer ejemplo de ello sería la estimulación de las MSCs con IFN- γ junto con LPS. Con dicha estimulación se fomenta la producción de factores inmunomoduladores como IDO (28,29).

Exponer las MSCs a TNF- α es otra de las opciones, pero en su caso se muestra un efecto inmunomodulador menor comparado a aquel que se da ante la exposición a IFN- γ . Sin embargo, el preconditionamiento con ambas citoquinas juntas (TNF- α e IFN- γ) ha mostrado poseer efecto sinérgico aumentando la síntesis del factor inmunomodulador IDO y de la óxido nítrico sintasa (NO sintasa) (28,30).

Otra posibilidad es el preconditionamiento de las MSCs con ácido policitídílico (poly(I:C)), que ha mostrado resultados positivos en colitis en modelos murinos, puesto que aumenta la actividad de IDO, PGE2, promoviendo la actividad antiinflamatoria de los macrófagos y favoreciendo la diferenciación de LT (linfocitos T) en Treg (28).

Otra citoquina evaluada en esta estrategia es la interleucina 1beta (IL-1 β), que administrada con IFN- γ aumenta la producción por las MSCs de IDO, PGE2 y G-CSF, así como reduce citoquinas proinflamatorias (28,31).

Por otra parte, la exposición a la IL-17 muestra una inhibición de la secreción de factores proinflamatorios en células Th1, al igual que la exposición a IL-25. Además, aumentan la

secreción de factores antiinflamatorios como la IL-6 en el secretoma, cuyo efecto provocará un aumento del fenotipo de células T, las Treg (28,32).

El siguiente tipo de estrategia de preconditionamiento es cultivar a las MSCs en estado de hipoxia antes de administrarlas, estableciendo unas condiciones de un 18 a 21% de oxígeno, en cuyo caso se promueve tanto su capacidad regeneradora como la inmunomoduladora. Con ello, se consigue un aumento de la secreción de citoquinas antiinflamatorias y factores de crecimiento como el factor de crecimiento vascular endotelial (VEGF), HGF o factor neurotrófico derivado del cerebro (BDNF). Adicionalmente, se muestran aumentados factores inmunomoduladores comoIDO o PGE2. El estado de hipoxia también es susceptible de modificar la producción de las EVs en el secretoma derivado de las MSCs, lo cual depende del porcentaje de oxígeno y tiempo de exposición (32,33).

Otra estrategia diferente de preconditionamiento es el cultivo tridimensional (3D) de las MSCs, que bien puede ser encapsulación de las MSCs en hidrogeles o bioandamiajes (*scaffolds*), o bien la formación de esferoides. Algunos de los materiales más utilizados para esta estrategia son la fibroneína de seda o el alginato. Se ha observado que al disponer las MSC en este tipo de cultivo se mejora su capacidad inmunomoduladora. Esto se debe a que el cultivo 3D promueve la polarización de las MSCs hacia su fenotipo MSC2. Se ha descrito que este efecto podría estar relacionado con que al no llegar oxígeno a las capas celulares más internas, se genera un microambiente de hipoxia, que favorece la diferenciación, metabolismo y secreción de citoquinas y factores antiinflamatorios como G-CSF, IL1-Ra y PGE2 (26,30,31,34).

3.4 MSCs y derivados en el tratamiento de la artritis reumatoide

Las terapias a partir de MSCs se hallan en auge para el tratamiento de enfermedades inflamatorias inmunomediadas como la AR. Una vez realizadas las técnicas de preconditionamiento se obtiene un cultivo de fenotipo MSC2 (antiinflamatorio), a partir del cual se presentan dos posibles estrategias a seguir: por una lado administrar las MSCs y que estas produzcan *de novo* factores inmunomoduladores de forma continua; y por otro, aislar el secretoma *in vitro* y administrar ese secretoma. Seguidamente, se detallarán las aplicaciones de cada una de ellas (29).

3.4.1 Terapia celular

Dada la notoria resistencia o ineficacia de los tratamientos de primera línea para la AR, la terapia con MSCs presenta una oportunidad atractiva tal y como se ha mostrado en su potencial inmunomodulador. Dichos efectos comprenden varios mecanismos, tal y como observamos en la *figura 5*, incluido el contacto célula-célula y la liberación del secretoma que comprende la fracción vesicular y factores solubles como IL1Ra, IDO, factor de crecimiento transformante beta (TGF- β), PGE2, etc. Cabe destacar que las MSCs son fácilmente aisladas y expandidas *in vitro*. Por último, su administración es sencilla, ya sea por vía intravenosa, subcutánea o intra-articular (23,35,36).

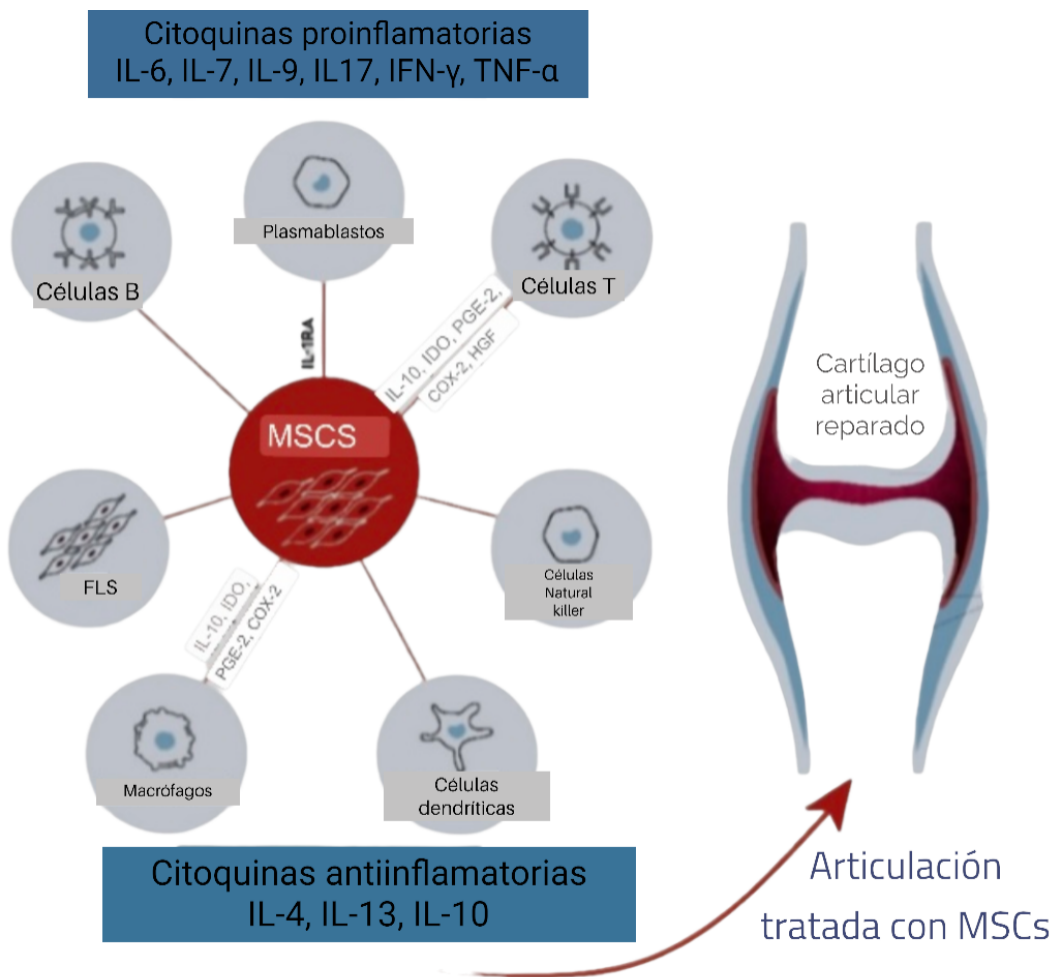


Figura 5. Efectos inmunomoduladores de las MSCs y sus factores secretados en la AR. Imagen modificada (35).

De esta forma y tras el preconditionamiento, se han estudiado varias maneras de administración de las MSCs para conseguir su función inmunomoduladora en terapia celular.

En un estudio se realizó una administración intravenosa de 1×10^6 MSCs autólogas derivadas de la médula ósea, para estudiar sus efectos sobre las Treg, células Th17, PCR, FR y anticuerpos Anti-CCP. En concreto se evaluaron 9 pacientes que padecían una AR a los 1, 6 y 12 meses de la administración de MSCs, y cuyos resultados se muestran en la *figura 6*. En este tiempo se vio una disminución significativa de Th17, acompañado de un relevante incremento de Tregs tras el primer mes. Además, se observaron cantidades decrecientes de anticuerpos anti-CCP y RF en diferentes tiempos de tratamiento (FR en el primer mes y anti-CCP entre 6-12 meses) y una mejoría clínica general (24,37).

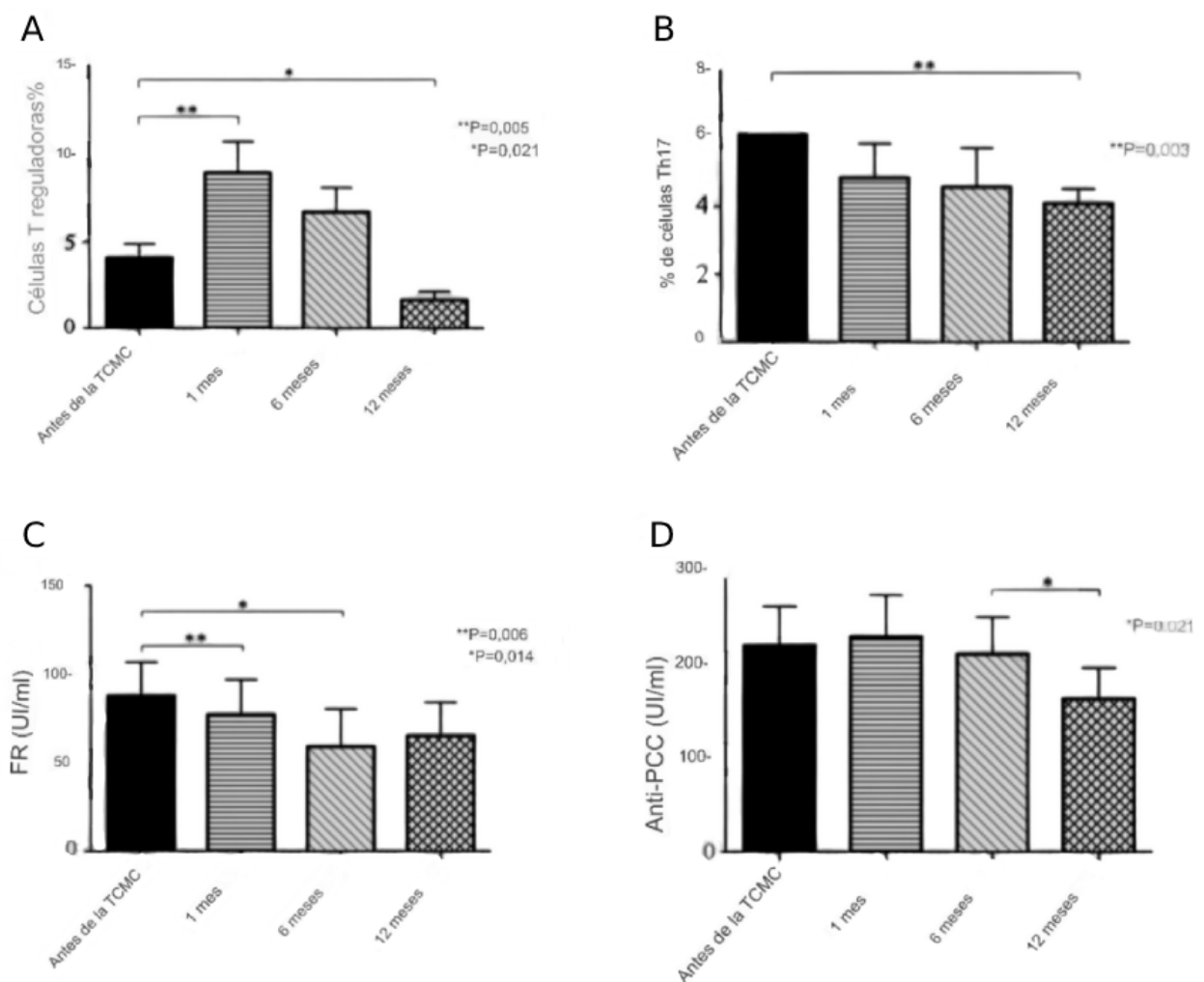


Figura 6. Efectos inmunomoduladores de una administración intravenosa de MSCs autólogas en pacientes con AR refractaria. (A) Se muestra un aumento inicial de LTreg ; (B) disminución en células Th17; (C) disminución del factor reumatoide (FR); (D) disminución en el anticuerpo Anti-CCP. Imagen adaptada de (37).

Sin embargo, se demostró que la administración alogénica de MSCs era más beneficiosa que la administración autóloga. En estudios preclínicos se observó que las MSCs son capaces de suprimir la inflamación mediante ya sea la interacción con el sistema inmune de manera directa (célula-célula) o bien mecanismos paracrinos (37).

Se ha descrito también un ensayo clínico en fase 1 en el que se tomaron como muestra pacientes con AR resistentes al metotrexato o cuyo tratamiento con este no fue suficiente. En este estudio se administraron por infusión intravenosa MSCs alogénicas derivadas del cordón umbilical. Al igual que en estudios vistos anteriormente, se mostró una amplia secreción de citoquinas antiinflamatorias como IL-10 que inhibieron la proliferación de linfocitos T y B, así como la maduración de los macrófagos. Se vio un aumento en la generación de Treg y macrófagos de fenotipo M2. Así mismo se observó un significativo descenso de citoquinas proinflamatorias como IL-1 β , IL-6, IL-8 y TNF- α . Cabe destacar que este ensayo mostró niveles de seguridad aceptables pero se concluyó que eran necesarios más ensayos para asegurar la efectividad en un mayor número de participantes, durante una mayor duración del tratamiento y con interacción con otros tratamientos de la AR como los FAME, así como una comparación con un posible grupo placebo (38).

En otro ensayo clínico en fase 1-2 a un grupo de muestra de 30 pacientes con AR se le dividió por la mitad entre grupo con placebo administrado y grupo con tratamiento. Al segundo grupo se le administró una inyección intraarticular de 40 millones de MSCs autólogas provenientes de la médula ósea en la articulación de la rodilla. Se observaron los resultados durante un año, tiempo en el cual se vio una mejora de la sintomatología y la inflamación, pero no se pudo asegurar la eficacia a largo plazo ni la seguridad debido al límite de tiempo y número de pacientes involucrados (39).

Adicionalmente, en otro ensayo clínico en fase 1/2 se compararon grupos de pacientes con AR a los que se les trasplantaron 1×10^6 MSCs xenogénicas murinas. A un grupo se le administraron MSCs en monoterapia, y al segundo, además, se le incluyó IFN- γ , evaluando los resultados a lo largo de 3 meses. Se obtuvo una mejor respuesta en el tratamiento combinado debido a la estimulación de las MSCs por parte de dicha citoquina proinflamatoria en el organismo del paciente. A esto le acompañaron estudios de seguridad en el tratamiento en un plazo de 12 meses tras su administración, sin efectos adversos observados (40).

Por último, cabe destacar un estudio en fase 1/2 en el que se incluyó un complejo de péptidos extraídos del hueso de ciervo y la semilla del melón a la administración de MSCs. En un grupo de pacientes se comparó el tratamiento de MSCs con dicho complejo, administrando vía intravenosa 24 mg del complejo al día durante una semana junto con 40 mL con 4×10^7 de MSCs, con MSCs en monoterapia (administrando la misma dosis de MSCs) y con un grupo placebo. Se observó una disminución en factores como PCR, FR y Anti-CCP en el grupo tratado con el complejo. También se percibió, tal como se muestra en la *Figura 7*, un significativo aumento en la secreción de factores antiinflamatorios como HGF o PGE2 (41).

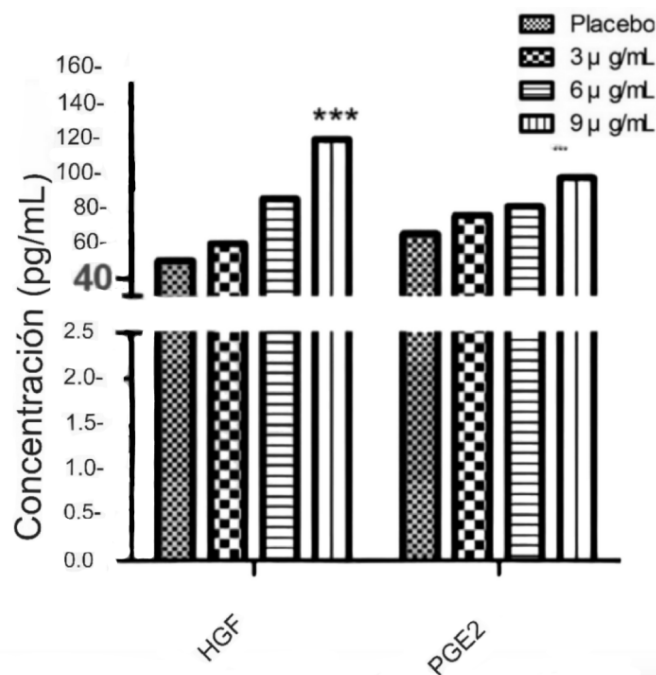


Figura 7. Aumento significativo de factores antiinflamatorios HGF (factor de crecimiento de hepatocitos y PGE2 (Prostaglandina 2) en el tratamiento con el complejo de péptidos (extraído del hueso del ciervo y la semilla del melón) con MSCs a concentraciones crecientes del péptido. Imagen adaptada (41).

3.4.2 Terapia libre de células

La terapia libre de células o “*cell free therapy*” se presenta como una alternativa novedosa que aprovecha las características inmunomoduladoras de las MSC2, pero no necesita la administración de las propias células para su efecto. Esto se debe a que el efecto inmunomodulador lo ejerce la administración del secretoma completo o bien una fracción del mismo (42,43).

Este tipo de enfoque terapéutico presenta numerosas ventajas. Para comenzar, su perfil de seguridad es elevado, puesto que no se administran células sino su fracción, lo que facilita su traslado a clínica. Esto a su vez disminuye el riesgo de generar efectos adversos que sí podrían suceder en terapia celular, minimizando, por ejemplo, el riesgo por embolia o formación de trombo, o bien el de rechazo al injerto. Para finalizar, una ventaja adicional es que se puede caracterizar el contenido del secretoma previamente a la administración (44).

En la terapia libre de células, es esencial como primer paso el aislamiento del secretoma derivado de las MSCs. Para su obtención, se realiza en un primer paso un cultivo de MSCs *in vitro*. Se incuba el cultivo para favorecer la proliferación y liberación tanto de los factores solubles como las EVs al medio, que a partir de ese momento se denominará medio condicionado, como podemos ver en la *figura 8*. En este medio podemos encontrar el denominado debris celular (células apoptóticas). Para retirar las células apoptóticas, se realiza una centrifugación, en la que estas precipitan y se recoge el sobrenadante, donde quedará el secretoma. A partir de este punto nos podremos quedar con todo el secretoma o proceder a extraer una fracción del mismo. Para la última opción, se aislará la fracción vesicular del secretoma mediante ya sea ultracentrifugación, ultrafiltración, cromatografía por exclusión de tamaño (SEC) o filtración tangencial (TFF), entre otras (24).

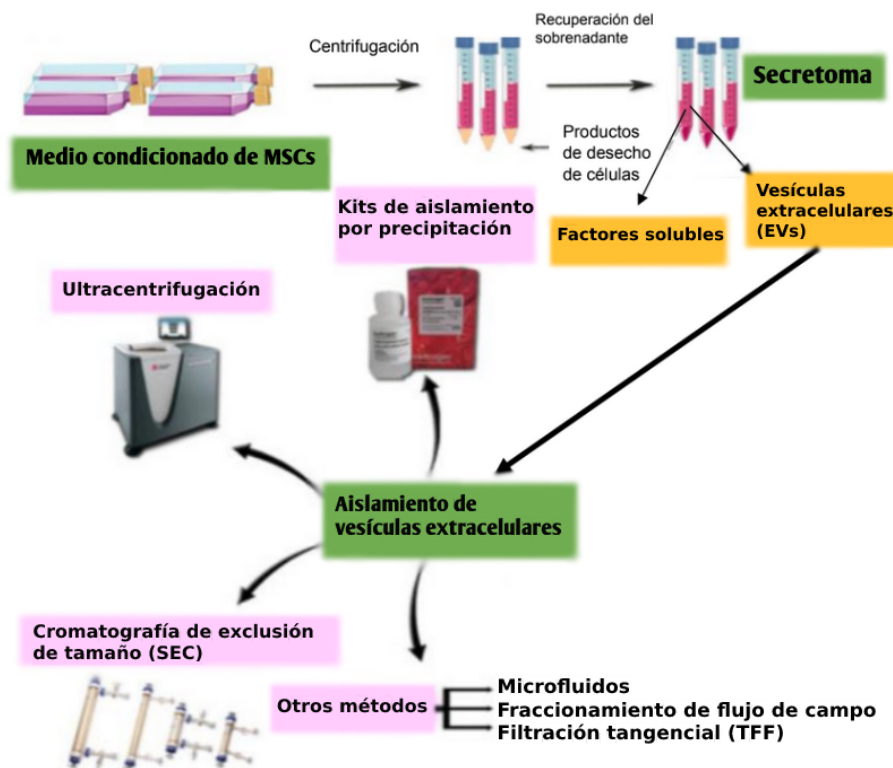


Figura 8. Aislamiento y preparación del secretoma derivado de las MSCs. Imagen adaptada (24).

Cabe destacar que al tratarse de un enfoque terapéutico tan novedoso y en creciente investigación, actualmente no disponemos de un gran número de estudios, siendo estos ensayos en fase preclínica.

Para comenzar, en un estudio que experimentó con 8 especies de la estirpe porcina, se inocularon por vía subcutánea 0,4 ml/kg de seroalbúmina bovina en los días 0, 14 y 21, induciendo sinovitis y respuesta inmune mediada por antígenos. Tras el día 28, las articulaciones carpianas izquierdas fueron tratadas como control, mientras que en las de la parte derecha se realizó una inyección intraarticular de 500 μ L a concentración 500 μ g de proteína por inyección de la fracción vesicular del exosoma. En los resultados observados se observó una disminución de los niveles sinoviales de factores proinflamatorios como TNF- α , IL-1, IL-6 o IL-17, así como un aumento en Treg y células B reguladoras (Breg), logrando una disminución de autoanticuerpos séricos. También se vio un aumento en la secreción de Gal-1, ayudando esto a inhibir la progresión de la AR (45,46).

Otros estudios han mostrado el potencial terapéutico de la fracción vesicular del secretoma en modelos de ratones con AR inducida. Para obtener las EVs, se procedió a técnicas de aislamiento a partir de un cultivo MSCs. Se realizaron técnicas de precondicionamiento, presentando las MSCs a factores como TNF- α e IFN- γ y se inyectaron posteriormente las EVs en volúmenes de 30 μ L a concentraciones crecientes por vía subcutánea en la cola de los ratones. Los efectos descritos, como vemos en la *figura 9*, mostraron una inhibición en la diferenciación de linfocitos Th1 y activación de APCs. También se mostraron aumentos en la expresión de IL-10 y DC reguladoras, disminuyendo el desarrollo de células Th1 y Th17 y con ello, su efecto inflamatorio, así como la expresión de IL-2 y IFN- γ (47,48).

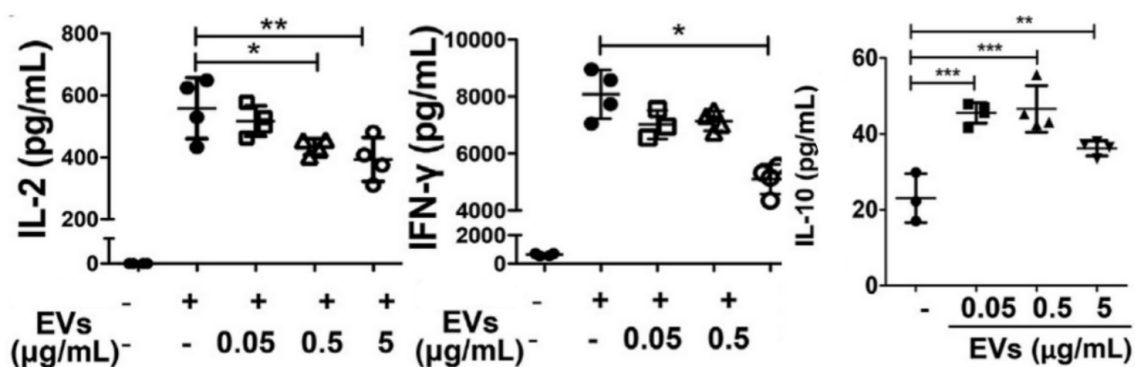


Figura 9. Efectos del tratamiento de AR de la terapia con secretoma derivado de MSCs en ratones. Se muestra una disminución significativa de factores proinflamatorios IFN- γ e IL-2; se acompaña de un aumento significativo de IL-10 antiinflamatoria. Imagen adaptada (47).

En otro estudio preclínico en ratas, se trató de evaluar la eficacia de la terapia a base de micro RNA (miRNA) exosomal derivado de MSCs. Para ello se indujo una AR colágeno dependiente a lo largo de 4 semanas, tras lo cual comenzó el tratamiento, realizado por vía intraarticular. Se establecieron dos grupos, diferenciándose entre un grupo placebo al que se le inoculó 100 mL de solución salina y un grupo a evaluar al cual se le inocularon 100 mL de solución que contenían 50 mg de miRNA exosomal, aislados mediante ultracentrifugación. La administración se efectuó dos veces por semana. También se estableció un grupo control con ratas sin AR inducida. Los resultados en el grupo tratado con miRNA exosomal mostraron una disminución significativa de la concentración de factores proinflamatorios PGE2, IL-1 β , TNF- α y NO tanto serológicos como a nivel sinovial (49).

Por todo lo expuesto, a pesar de presentar resultados de eficacia satisfactoria, estudios más exhaustivos son necesarios para optimizar la posología y la dosis, asegurando el mantenimiento de la función inmunomoduladora del secretoma o de las EVs de este por más tiempo (50).

4. Conclusiones

Actualmente, el estudio y desarrollo de terapias basadas en el uso de MSCs y sus productos se encuentra en auge para todo tipo de patologías cuyas terapias pueden ser mejoradas gracias a su acción inmunomoduladora así como regeneradora. Tal es el caso de la artritis reumatoide.

La utilización de MSCs tanto en terapia celular, como la progresión hasta la terapia libre de células presenta resultados que solventan las desventajas de las terapias utilizadas tradicionalmente como tratamiento de primera línea. Estas novedosas terapias no solamente tratan de forma sintomática, sino que abordan la patología desde el comienzo del desarrollo de la autoinmunidad.

Resultados en estudios empleando terapia celular muestran una gran eficacia en la inmunomodulación, pero también la necesidad de evaluar los resultados de dicho tratamiento a largo plazo.

A su vez, los resultados observados empleando el secretoma derivado de las MSC indican una capacidad inmunomoduladora elevada, con la ventaja de que se consigue la estandarización de los resultados con mayor facilidad, pudiendo prever los resultados tras la administración, lo que podría facilitar el uso de la terapia en un mayor número de pacientes y acelerar su posible futuro paso a clínica y comercialización.

Sin embargo, al tratarse de un enfoque terapéutico novedoso, es de gran necesidad continuar realizando un mayor número de estudios, para indagar mejor en el funcionamiento de la terapia, determinar su potencial terapéutico y observar los efectos de la misma a largo plazo, evaluando en mayor medida su seguridad.

Con ello y aun siendo necesarias más investigaciones futuras, la terapia con MSCs y sus derivados en el tratamiento de la AR demuestra ser un enfoque beneficioso gracias a sus propiedades inmunomoduladoras. Estudios sobre terapia celular tanto como sobre la terapia libre de células respaldan su eficacia y seguridad, consiguiendo controlar el brote inflamatorio y abordar la patología desde su origen de manera prometedora para un aumento en la calidad de vida del paciente.

5. Bibliografía:

- (1) Carmona L. Epidemiología de la artritis reumatoide Artritis reumatoide en España. Estudios de la SER. Rev Esp Reumatol 2002;29(3):86.
- (2) Volumen 14, Número 2 Sociedad Española de Reumatología. 2018.
- (3) Mueller A, Payandeh Z, Mohammadkhani N, Mubarak SM, Zakeri A, Bahrami AA, et al. Avances recientes en la comprensión de la patogenia de la artritis reumatoide: nuevas estrategias de tratamiento.
- (4) Movasat Hajkhan A, Turrión Nieves A, Bohorquez Heras C, Pérez Gómez A. Tratamiento de la artritis reumatoide. Medicine - programa de formación médica continuada acreditado 2017;12(28):1626-1638.
- (5) Residente E, Dávalos-De La Cruz AP, Flores-Chávez A, Hernández-Cuervo P, Romero-Moreno JR, Félix-Hernández F, et al. rr143d.
- (6) Maldonado-Correa CP, Leiva Goicochea JE, Segura Plasencia NM. SOBREPESO -OBESIDAD ASOCIADO A MAYORES NIVELES PLASMÁTICOS DE MARCADORES INFLAMATORIOS EN PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE OVERWEIGHT-OBESITY ASSOCIATED TO HIGHER LEVELS OF INFLAMMATORY

MARKERS IN PATIENTS WITH RHEUMATOID ARTHRITIS RESUMEN. Acta Médica Orreguiana Hampi Runa 2019;19(1):135.

(7) Stanish W, McCormack R, Forriol F, Mohtadi N, Pelet S, Desnoyers J, et al. Novel Scaffold-Based BST-CarGel Treatment Results in Superior Cartilage Repair Compared with Microfracture in a Randomized Controlled Trial. Journal of bone and joint surgery. American volume 2013 Sep 18,;95(18):1640-1650.

(8) Hernández C, G. vol33_4FarmacosArtritisReu. Inf Ter Nac Salud 2009;33:99.

(9) Equipo de redacción de I. Metotrexato en vademecum.[Internet] 2014; [citado el 6 de enero de 2023]. Disponible en: <https://www.iqb.es/cbasicas/farma/farma04/m035.htm>.

(10) Sulfasalazina [Internet]. Pediamecum AEP. 2020 [citado 25 diciembre 2022]. Disponible en: <https://www.aeped.es/comite-medicamentos/pediamecum/sulfasalazina>

(11) Carretero M. Leflunomida [Internet]. Actualidad científica, Medicamentos de vanguardia. 2020 [citado 31 diciembre 2022]. Disponible en: https://www.google.com/url?sa=i&rct=j&q=&esrc=s&source=web&cd=&cad=rja&uact=8&ved=0CAMQw7AJahcKEwjo06Gh-uP8AhUAAAAAHQAAAAQAw&url=https%3A%2F%2Fwww.elsevier.es%2Findex.php%3Fp%3Drevista%26pRevista%3Dpdf-simple%26pii%3D12004190%26r%3D4&psig=AOvVaw0FdQZP92FHSJymjIM_XQPn&ust=1674778423254625

(12) Curtis JR, Emery P, Karis E, Haraoui B, Bykerk V, Yen PK, et al. Etanercept or Methotrexate Withdrawal in Rheumatoid Arthritis Patients in Sustained Remission. Arthritis Rheumatol 2021 -03-24;73(5):759.

(13) Burmester GR, Pope JE. Novel treatment strategies in rheumatoid arthritis. The Lancet 2017 -06-10;389(10086):2338.

(14) Abbasi M, Mousavi MJ, Jamalzahi S, Alimohammadi R, Bezvan MH, Mohammadi HH, et al. Strategies toward rheumatoid arthritis therapy; the old and the new. Journal Cellular Physiology 2018 -12-07;234(7):10018.

(15) Gonzalez-Pujana A, Igartua M, Santos-Vizcaino E, Hernandez RM. Mesenchymal stromal cell based therapies for the treatment of immune disorders: recent milestones and future challenges. Expert Opinion on Drug Delivery 2020 -01-16;17(2):189.

(16) Firestein G, McInnes IB. Inmunopatogénesis de la artritis reumatoide.

(17) McInnes IB, Schett G. The Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. The New England journal of medicine 2011 Dec 08,;365(23):2205-2219.

(18) CM López-Benítez¹, FA Pláceres U¹, EJ Alonzo¹ y MA Rodríguez B¹. PAPEL PATOGENICO DE LOS FIBROBLASTOS EN LA MEMBRANA SINOVIAL DE PACIENTES CON ARTRITIS REUMATOIDE. [Internet]. 2001 [Citado el 10 de noviembre de 2022]. Disponible en:

http://ve.scielo.org/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0798-04692001000100006

- (19)** Nerurkar L, Siebert S, McInnes IB, Cavanagh J. Rheumatoid arthritis and depression: an inflammatory perspective. *The Lancet Psychiatry* 2018 -10-23;6(2):164.
- (20)** MSCs: the 'other' bone marrow stem cells. [Internet]. [Citado el 16 de octubre de 2022]. Disponible en: <https://www.eurostemcell.org/mscs-other-bone-marrow-stem-cells>.
- (21)** Andrea J, Romero A, Diana I, Páez M, Vivana G, Pardo MR. 41150809. 2007.
- (22)** Rossello-Gelabert M, Gonzalez-Pujana A, Igartua M, Santos-Vizcaino E, Hernandez RM. Clinical progress in MSC-based therapies for the management of severe COVID-19. *Cytokine & growth factor reviews* 2022 Jul 06,.
- (23)** Liu Y, Yin Z, Zhang R, Yan K, Chen L, Chen F, et al. MSCs inhibit bone marrow-derived DC maturation and function through the release of TSG-6. *Biochem Biophys Res Commun* 2014;450(4):1409-1415.
- (24)** Munoz-Perez E, Gonzalez-Pujana A, Igartua M, Santos-Vizcaino E, Hernandez RM. Mesenchymal Stromal Cell Secretome for the Treatment of Immune-Mediated Inflammatory Diseases: Latest Trends in Isolation, Content Optimization and Delivery Avenues. *Pharmaceutics* 2021 Oct 27,;13(11):1802.
- (25)** Jarvinen L, Badri L, Wettlaufer S, Ohtsuka T, Standiford TJ, Toews GB, et al. Lung Resident Mesenchymal Stem Cells Isolated from Human Lung Allografts Inhibit T Cell Proliferation via a Soluble Mediator. *The Journal of immunology (1950)* 2008 Sep 15,;181(6):4389-4396.
- (26)** Vukman KV, Försönits A, Oszvald Á, Tóth EÁ, Buzás EI. Mast cell secretome: Soluble and vesicular components. *Seminars in cell & developmental biology* 2017 Jul;67:65-73.
- (27)** Pachler K, Lener T, Streif D, Dunai ZA, Desgeorges A, Feichtner M, et al. A Good Manufacturing Practice–grade standard protocol for exclusively human mesenchymal stromal cell–derived extracellular vesicles. *Cytotherapy* 2017;19(4):458-472.
- (28)** Andrews S, Maughon T, Marklein R, Stice S. Priming of MSCs with inflammation-relevant signals affects extracellular vesicle biogenesis, surface markers, and modulation of T cell subsets. *Journal of immunology and regenerative medicine* 2021 Aug;13:100036.
- (29)** Ren G, Zhang L, Zhao X, Xu G, Zhang Y, Roberts AI, et al. Mesenchymal Stem Cell-Mediated Immunosuppression Occurs via Concerted Action of Chemokines and Nitric Oxide. *Cell Stem Cell* 2008 Feb 07,;2(2):141-150.
- (30)** Haseli M, Castilla-Casadiago DA, Pinzon-Herrera L, Hillsley A, Miranda-Munoz KA, Sivaraman S, et al. Immunomodulatory functions of human mesenchymal stromal cells are enhanced when cultured on HEP/COL multilayers supplemented with interferon-gamma. *Materials Today Bio* 2022 Jan;13:100194.
- (31)** Song Y, Dou H, Li X, Zhao X, Li Y, Liu D, et al. Exosomal miR-146a Contributes to the

Enhanced Therapeutic Efficacy of Interleukin-1 β -Primed Mesenchymal Stem Cells Against Sepsis. *Stem Cells* 2017 -02-05;35(5):1208.

(32) Ceruso A, Gonzalez-Pujana A, Igartua M, Santos-Vizcaino E, Hernandez RM. Latest advances to enhance the therapeutic potential of mesenchymal stromal cells for the treatment of immune-mediated diseases. *Drug Deliv and Transl Res* 2021;11(2):498-514.

(33) Vizoso FJ, Eiro N, Cid S, Schneider J, Perez-Fernandez R. Mesenchymal Stem Cell Secretome: Toward Cell-Free Therapeutic Strategies in Regenerative Medicine. *International Journal of Molecular Sciences* 2017 Aug 25;18(9):1852.

(34) Nii T, Tabata Y. Immunosuppressive mesenchymal stem cells aggregates incorporating hydrogel microspheres promote an in vitro invasion of cancer cells. *Regenerative Therapy* 2021 Dec;18:516-522.

(35) Sarsenova M, Issabekova A, Abisheva S, Ruts kaya-Moroshan K, Ogay V, Saparov A. Mesenchymal Stem Cell-Based Therapy for Rheumatoid Arthritis. *IJMS* 2021;22(21).

(36) Liu G, Kawaguchi H, Ogasawara T, Asawa Y, Kishimoto J, Takahashi T, et al. Optimal Combination of Soluble Factors for Tissue Engineering of Permanent Cartilage from Cultured Human Chondrocytes. *The Journal of biological chemistry* 2007 Jul 13;282(28):20407-20415.

(37) Ghoryani M, Shariati-Sarabi Z, Tavakkol-Afshari J, Ghasemi A, Poursamimi J, Mohammadi M. Amelioration of clinical symptoms of patients with refractory rheumatoid arthritis following treatment with autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cells: A successful clinical trial in Iran. *Biomedicine & pharmacotherapy* 2019 Jan;109:1834-1840.

(38) Park EH, Lim H, Lee S, Roh K, Seo K, Kang K, et al. Intravenous Infusion of Umbilical Cord Blood-Derived Mesenchymal Stem Cells in Rheumatoid Arthritis: A Phase Ia Clinical Trial. *Stem Cells Translational Medicine* 2018 -08-15;7(9):636.

(39) Shadmanfar S, Labibzadeh N, Emadedin M, Jaroughi N, Azimian V, Mardpour S, et al. Intra-articular knee implantation of autologous bone marrow-derived mesenchymal stromal cells in rheumatoid arthritis patients with knee involvement: Results of a randomized, triple-blind, placebo-controlled phase 1/2 clinical trial. *Cytotherapy (Oxford, England)* 2018;20(4):499-506.

(40) He X, Yang Y, Yao M, Yang L, Ao L, Hu X, et al. Combination of human umbilical cord mesenchymal stem (stromal) cell transplantation with IFN- γ treatment synergistically improves the clinical outcomes of patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases* 2020 Oct;79(10):1298-1304.

(41) Qi T, Gao H, Dang Y, Huang S, Peng M. Cervus and cucumis peptides combined umbilical cord mesenchymal stem cells therapy for rheumatoid arthritis. *Medicine* 2020

-07-10;99(28).

(42) Hou Y, Li J, Guan S, Witte F. The therapeutic potential of MSC-EVs as a bioactive material for wound healing. *Engineered Regeneration* 2021;2:182-194.

(43) Gurunathan S, Kang M, Jeyaraj M, Qasim M, Kim J. Review of the Isolation, Characterization, Biological Function, and Multifarious Therapeutic Approaches of Exosomes. *Cells* 2019 Apr 03;;8(4):307.

(44) Klimak M, Nims RJ, Pferdehirt L, Collins KH, Harasymowicz NS, Oswald SJ, et al. Immunoengineering the next generation of arthritis therapies. *Acta biomaterialia* 2021 Oct 01;;133:74-86.

(45) Casado JG, Blázquez R, Vela FJ, Álvarez V, Tarazona R, Sánchez-Margallo FM. Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes: Immunomodulatory Evaluation in an Antigen-Induced Synovitis Porcine Model. *Frontiers in Veterinary Science* 2017;4:39.

(46) Shen Z, Huang W, Liu J, Tian J, Wang S, Rui K. Effects of Mesenchymal Stem Cell-Derived Exosomes on Autoimmune Diseases. *Front Immunol* 2021 -09-27;12.

(47) Rani S, Ryan AE, Griffin MD, Ritter T. Mesenchymal Stem Cell-derived Extracellular Vesicles: Toward Cell-free Therapeutic Applications. *Molecular Therapy* 2015 May;23(5):812-823.

(48) Cosenza S, Toupet K, Maumus M, Luz-Crawford P, Blanc-Brude O, Jorgensen C, et al. Mesenchymal stem cells-derived exosomes are more immunosuppressive than microparticles in inflammatory arthritis. *Theranostics* 2018;8(5):1399.

(49) Zheng J, Zhu L, Iok In I, Chen Y, Jia N, Zhu W. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells-secreted exosomal microRNA-192-5p delays inflammatory response in rheumatoid arthritis. *International immunopharmacology* 2020 Jan;78:105985.

(50) Noack M, Miossec P. Selected cytokine pathways in rheumatoid arthritis. *Semin Immunopathol* 2017;39(4):365-383.