

# Terapia con células madre en cirrosis

Jéssica María Londoño Agudelo<sup>1</sup>, César Daniel Niño Pulido<sup>1</sup>, Natalia Andrea Hoyos Vanegas<sup>1</sup>, Juan Carlos Restrepo Gutiérrez<sup>2,3</sup>

## RESUMEN

En este artículo se presenta una revisión de la literatura sobre las células madre como terapia para la cirrosis hepática, con énfasis en describir la situación científica actual y las implicaciones clínicas de los avances. Se ha propuesto la terapia celular en cirrosis por la escasez de donantes de hígado y las complicaciones derivadas de la terapia inmunosupresora. Las células madre se pueden obtener de diferentes fuentes como el blastocisto, la médula ósea e incluso hepatocitos maduros; pero la capacidad de proliferación y diferenciación de cada uno de estos tipos celulares es distinta y, entre otras consideraciones, es lo que va a definir su utilidad clínica final. En la literatura se encuentran varios estudios en modelos animales y en seres humanos que evalúan la seguridad y factibilidad de esta técnica en cuanto a la mejoría de la fibrosis, la capacidad de diferenciación y replicación celulares y algunos parámetros clínicos. Los resultados, aunque alentadores, se deben interpretar con cuidado. En conclusión, antes de aceptar esta modalidad terapéutica se requieren estudios de mejor calidad y con homogeneidad metodológica porque su uso aún es controversial.

## PALABRAS CLAVE

*Células Madre; Cirrosis Hepática; Trasplante Celular*

## SUMMARY

### Stem cell therapy in cirrhosis

We present a review of the literature on stem cells as therapy for cirrhosis. We emphasize on a description of the present scientific status of the field and its clinical implications. Cell therapy has been proposed in view of the shortage of liver organ donors, and the complications of immunosuppressive therapy. Stem cells may be obtained from different sources such as the blastocyst, bone marrow and even mature hepatocytes. The ability to proliferate and differentiate varies among these cell types. Such variations, among other factors, influence their clinical utility. The safety and feasibility of this technique to improve fibrosis, the ability of

---

<sup>1</sup> Estudiante de Medicina, Universidad de Antioquia, Medellín, Colombia.

<sup>2</sup> MD, Esp, MSc, PhD. Profesor Titular Departamento de Medicina Interna, Universidad de Antioquia, Facultad de Medicina, Medellín, Colombia.

<sup>3</sup> Unidad de Hepatología y Trasplante Hepático, Hospital Pablo Tobón Uribe, Medellín, Colombia.

Correspondencia: Juan Carlos Restrepo Gutiérrez; jcrestrepo@une.net.co

Recibido: octubre 26 de 2010

Aceptado: mayo 23 de 2011

the cells to differentiate and replicate, and some clinical parameters have been assessed in both animal models and human beings. Results, although encouraging, should be carefully interpreted. In conclusion, further studies are required on stem cell therapy for cirrhosis because it is still a controversial field.

## KEY WORDS

*Cell Transplantation; Liver Cirrhosis; Stem Cells*

## INTRODUCCIÓN

La mortalidad por cirrosis en Colombia se calculó para 2007 en 5,8 por 100.000 habitantes (1), se calcula que aproximadamente el 60% de los pacientes con cirrosis progresan a la descompensación en 10 años (2) y que entre 5% y 7% se descompensan anualmente (3), lo cual representa una morbilidad significativa. Además, el tratamiento sintomático y de las complicaciones en los estadios avanzados de la enfermedad es de alto costo. El trasplante hepático se ha establecido como el único tratamiento curativo, pero tiene limitaciones como la escasez de donantes (en Estados Unidos más de 97.000 pacientes están en lista de espera y en el período de 2001 a 2005 murieron 7.000 pacientes de dicha lista) (4), los altos costos en que incurren los pacientes trasplantados, la necesidad de terapia inmunosupresora de por vida que conlleva grandes inconvenientes y una morbilidad importante, entre otras.

Aunque el hígado se puede autorregenerar, esta capacidad se ve limitada en dos situaciones: una gran pérdida de masa celular por un daño hepático crónico y la inhibición de la replicación (5,6). En tales casos, los mecanismos de regeneración hepática no suplen las células lesionadas y ocurre, como mecanismo compensatorio, la formación de tejido fibroso, lo que en un estadio avanzado se denomina cirrosis (7). En este escenario aparecen las células madre como candidatas para el tratamiento de la enfermedad hepática crónica.

Las células madre son una herramienta potencial para el tratamiento de cualquier enfermedad por su capacidad de regenerar los tejidos por medio de

procedimientos poco invasivos y con bajas tasas de complicaciones. Actualmente hay muchos estudios sobre este tema, y específicamente en cirrosis se encuentra información suficiente para justificar la posible utilización terapéutica de este grupo celular (8). Este artículo pretende dar una mirada a esta modalidad terapéutica con una revisión de la literatura actual, haciendo énfasis en las ventajas y desventajas de la terapia y en su aplicabilidad clínica.

## ¿Qué son las células madre?

Las células madre son indiferenciadas (no tienen la estructura específica de ningún tejido); teóricamente tienen las siguientes características (9):

- Son capaces de proliferar (a menudo luego de largos períodos de quiescencia) y de autorregenerarse.
- Se pueden autosostener.
- Pueden producir un gran número de progenies diferenciadas y funcionales, proceso llamado diferenciación.
- Regeneran un tejido luego de un daño.
- Tienen flexibilidad para la elección de estas opciones.

Las células madre pueden clasificarse de diversas formas, dependiendo de su origen y su capacidad de diferenciación:

### 1. Según su origen:

- Adultas:* tienen potencial para diferenciarse en un tipo de célula determinada pero aún no lo han hecho. Son específicas de órgano, aunque se ha visto que de igual manera pueden diferenciarse en otros tejidos.
- Embrionarias:* son las pertenecientes al blastocisto, tienen la capacidad de diferenciarse en cualquier tipo de célula, es decir, una capacidad de regeneración infinita por lo que son las de mayor potencial de autorregeneración, plasticidad y reproducción; sin embargo, tienen las desventajas de ser las células con mayor potencial tumorigénico y las que plantean el mayor desafío para llevarlas hasta hepatocitos bien diferenciados y funcionales.

### 2. Capacidad de diferenciación (10):

- Totipotenciales:* tienen capacidad de generar tanto tejidos embrionarios como extraembrionarios.

- b. *Pluripotenciales*: pueden generar células del tejido embrionario, es decir, de las capas germinales.
- c. *Multipotenciales*: se diferencian en un tipo limitado y específico de tejidos, órganos y sistemas. Las células madre adultas pertenecen a este grupo.

Es importante aclarar el término de *células progenitoras*, que se refiere a las descendientes de las células madre pero se diferencian de estas por tener menor plasticidad y porque no se pueden autorregenerar (8); sin embargo, en muchos contextos se utilizan estos términos como sinónimos.

### **Terapia con células madre en cirrosis: ¿en dónde estamos?**

En la tabla 1 se hace una breve descripción de las células que se mencionarán a continuación.

#### **a. Hepatocitos adultos**

El hígado está constituido por varias clases de células, de las cuales los hepatocitos constituyen las dos terceras partes. Las demás células son: las de Kupffer, correspondientes a los macrófagos hepáticos; las estrelladas, o de Ito, que almacenan grasa y cuando se activan por una noxa producen colágeno y matriz extracelular; las de los conductillos biliares o colangiocitos y las endoteliales y de soporte (7).

En condiciones normales los hepatocitos se dividen entre 2.000 y 3.000 veces para mantener la masa hepática, es decir, tienen alta capacidad regenerativa (11). Después de un estímulo de regeneración, tal como la hepatectomía parcial de dos tercios del hígado, la mayoría de los hepatocitos entran rápidamente al ciclo celular y se someten a mitosis simétrica. La masa de células hepáticas se puede restaurar en promedio con menos de dos ciclos de división celular (12) y se ha visto que hay varios factores involucrados en el inicio y la perpetuación de la replicación tales como la IL-6 (interleucina 6), el TNF- $\alpha$  (por la sigla en inglés de *Tumor necrosis factor- $\alpha$* ), el factor de crecimiento de los hepatocitos (HGF, por la sigla en inglés de *Hepatocyte growth factor*), el factor de células madre (*Stem cell factor*), la anti-regulina, IGF-1 (por la sigla en inglés de *Insulin-like growth factor-1*) y la triyodotironina (13).

El problema con este tipo de células es que los hepatocitos adultos son senescentes y tienen una vida media corta (que se explica por la teoría del acortamiento de los telómeros a medida que la célula se divide y envejece) o son inhibidos por la enfermedad en curso del paciente (11), lo cual indica que sería difícil su utilización en la práctica. Por otro lado, es difícil mantener los hepatocitos vivos y funcionales *in vitro* porque toleran poco la criopreservación y es casi imposible su expansión (11). Además, en ratones se ha visto que un hepatocito trasplantado a un hígado enfermo puede replicarse hasta 70 veces y repoblar el hígado del receptor e incluso ser trasplantado de manera seriada (14). El estudio de Gordon y colaboradores (15) en ratones con una inmunodeficiencia combinada grave (SCID, por la sigla en inglés de *Severe combined immunodeficiency*) y utilizando presiones de selección altas, demostró en el 90% repoblación del hígado al ser trasplantados con hepatocitos humanos sanos.

Sin embargo, en el estudio de Kawashita y colaboradores (16) se vio que los ratones trasplantados con hepatocitos adultos inmortalizados, previa irradiación (con el fin de permeabilizar los sinusoides hepáticos e inactivar las células de Kupffer), y a los que se les hizo hepatectomía parcial como estímulo para que los hepatocitos puedan iniciar la replicación, solo mejoraron los niveles de bilirrubina. Por esta razón se ha propuesto, en lugar de estos procedimientos, utilizar el factor de crecimiento hepatotrófico que podría estimular las células hepáticas adultas para repoblar el hígado, lo cual igualmente se ha probado en animales (17).

Además, en modelos animales se ha visto que la ventaja de usar hepatocitos es su potencial de producir clones, es decir, de formar células cuyo destino ya se conoce (dado que son unipotenciales). De funcionar esta teoría, serían más útiles los hepatocitos fetales que los adultos, puesto que los primeros tienen mayor capacidad de proliferación (18).

#### **b. Hepatoblastos fetales**

Este otro tipo de células madre (los hepatoblastos fetales) tienen la ventaja de poder ser preservados por más de 20 meses, a diferencia de las células hepáticas adultas; según el estudio de Oertel y colaboradores (19) estas células tienen una capacidad dual de diferenciación, tanto a hepatocitos como a colangiocitos, lo cual significa que,

**Tabla 1. Características de las principales poblaciones de células aplicadas a la enfermedad hepática**

Población	Papel en la lesión hepática	Características	Posible aplicación
<b>Hepatocitos adultos</b>	Regeneración del tejido hepático	<ul style="list-style-type: none"> <li>Alta capacidad regenerativa</li> <li>Senescentes</li> <li>Vida media corta</li> <li>Difíciles de mantener <i>in vitro</i></li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Su uso es difícil porque la enfermedad del paciente inhibe su replicación</li> <li>Se podría usar el factor de crecimiento hepatotrófico como alternativa</li> </ul>
<b>Hepatoblastos fetales</b>	Regeneración de hepatocitos y colangiocitos	<ul style="list-style-type: none"> <li>Fácil preservación</li> <li>Alta capacidad regenerativa</li> <li>Dilema ético importante</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Tienen cierto grado de diferenciación, lo cual hace más fácil su manipulación hacia hepatocitos</li> <li>Pueden repoblar incluso sin presión de selección</li> </ul>
<b>Células ovasales / células progenitoras hepáticas del adulto</b>	Regeneración del tejido hepático en condiciones de daño crónico	<ul style="list-style-type: none"> <li>Bipotenciales</li> <li>Posible origen de remanentes fetales o de médula ósea</li> <li>Ubicadas en el conducto de Hering</li> <li>Solo se activan en ciertas enfermedades</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Se han aislado y proliferado exitosamente</li> <li>Se ha demostrado su capacidad regenerativa en modelos animales</li> </ul>
<b>Células mesenquimales</b>	Se convierten en hepatocitos como mecanismo fisiológico de reparación	<ul style="list-style-type: none"> <li>Múltiples fuentes: cordón umbilical, médula ósea o tejido graso</li> <li>Algunos proponen la fusión celular como el mecanismo para la diferenciación fisiológica, aunque otros no lo demuestran</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Mejoran la fibrosis y la función hepática.</li> <li>Se han diferenciado <i>in vitro</i> e <i>in vivo</i> a hepatocitos</li> <li>Disminuyen el estrés oxidativo y aceleran la repoblación de hepatocitos</li> <li>Inducen la apoptosis de las células estrelladas</li> <li>Expresan metaloproteinasas</li> <li>Mucha variabilidad en la capacidad de diferenciación y reproducción de las células provenientes de médula ósea</li> <li>Las células provenientes de cordón umbilical son más predecibles, pero se plantean cuestiones éticas</li> </ul>
<b>Células hematopoyéticas</b>	Disminución de la inflamación	<ul style="list-style-type: none"> <li>Origen en la médula ósea o el cordón umbilical</li> <li>CD34+</li> <li>No se diferencian en hepatocitos funcionales</li> </ul>	<ul style="list-style-type: none"> <li>Disminuyen la inflamación hepática y los niveles de transaminasas y aumentan el factor de crecimiento de hepatocitos</li> </ul>

además de ser jóvenes, tienen el beneficio de un cierto grado de diferenciación que hace más fácil dirigir su destino. No obstante, existe un dilema ético importante que limita el uso de los hepatoblastos provenientes de embriones. En modelos de repoblación de hígados humanos se ha demostrado que estas células pueden repoblar hasta el 14% del hígado sin presión de selección (8). De esta forma, esta modalidad terapéutica tendría implicaciones importantes en la terapia génica para defectos metabólicos y en enfermedades hepáticas terminales.

Igualmente, varios autores han informado el beneficio de trasplantar estas células: Malhi aisló progenitores de hígado fetal, que pudieron ser criopreservados y tenían capacidad de repoblación de modelos animales (20). Nowak demostró que las células de hígado fetal tienen capacidades similares *in vivo* e *in vitro* (21).

### c. Células ovals

Como se ha mencionado anteriormente, los hepatocitos bajo condiciones estresantes agudas responden con una replicación rápida y efectiva; sin embargo, bajo condiciones de daño crónico, si se inhibe la replicación, se activa un grupo de células progenitoras hepáticas del adulto (llamadas células ovals en los roedores). Aunque aún es controversial, en general se acepta la existencia de este compartimento (22) y se han propuesto dos orígenes para esta población: remanentes de hepatoblastos fetales que han permanecido inactivos en el tiempo (8,23) o células procedentes de la médula ósea que se han albergado en el hígado (23-25). Este grupo se ubica en los conductos de Hering (ductos biliares terminales), cerca de la zona uno de la tríada portal (26). Algunos afirman que solo se activan en ciertas enfermedades (alcohólica, viral o hígado graso) (27,28).

De la misma forma que los hepatoblastos, las células ovals son bipotenciales y se han aislado y han proliferado exitosamente *in vitro*. Se ha visto la recuperación del volumen hepático en modelos de animales con hepatectomía o inhibición de la replicación de los hepatocitos por medio del 2-AAF (2-acetil-aminofluoreno), por la activación de las células ovals (15,29). Por otro lado, un estudio reveló que estas células podrían dar origen tanto al carcinoma hepatocelular como al colangiocarcinoma (30).

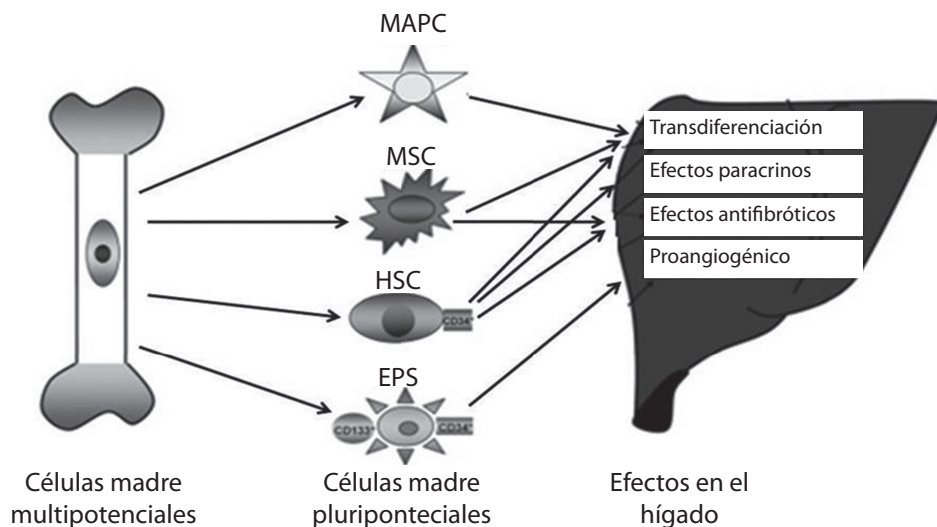
### d. Células de la médula ósea y de otras fuentes

La médula ósea es una fuente importante de células madre, las cuales son de cuatro tipos: mesenquimales, endoteliales, multipotentes y hematopoyéticas. Aún no se sabe con certeza cuál de las subpoblaciones está implicada en la formación de células hepáticas (31) pero varios estudios han demostrado que las células de la médula ósea trasplantadas se convierten en hepatocitos como mecanismo fisiológico de reparación, tanto en modelos animales (32,33) como en seres humanos (34). En la figura 1 se ilustra el rol de las diferentes subpoblaciones derivadas de la médula ósea en la lesión hepática.

Aún no está claro el mecanismo por el cual las células de la médula ósea se convierten en hepatocitos pero se ha propuesto que uno de ellos es la fusión (se observan hepatocitos aneuploides por fusión de los núcleos), lo que ha generado controversias puesto que la fusión es causa de inestabilidad cromosómica y esta a su vez puede ser mutagénica y tumorigénica (12,35,36).

Por el contrario, Theise y colaboradores (33) hicieron trasplante de médula ósea de donantes machos a ratones hembra que recibieron dosis letales de irradiación; en todos los ratones se observó que luego de dos meses el 2,2% de los hepatocitos en el hígado se derivaban del trasplante (sin que interviniera la fusión), porque eran células con el gen de albúmina y el cromosoma Y específico de los donantes. Sin embargo, en ningún animal se produjo daño hepático grave por la irradiación, por lo cual se concluye que las células de la médula ósea pueden migrar al hígado aun en ausencia de daño grave. Otros estudios han encontrado beneficios con el uso de células de la médula ósea, al disminuir la fibrosis y mejorar los índices de función hepática (25,32,37).

También son de especial importancia las células mesenquimales que se encuentran tanto en la médula ósea como en el hígado fetal, cordón umbilical y tejido graso (38), porque se las ha estudiado ampliamente. Dichas células pueden diferenciarse *in vitro* en hepatocitos cuando se ponen en un medio apropiado para ello; cuando estas células precondicionadas se trasplantan a modelos animales se ubican especialmente en el espacio periportal, se adhieren y mantienen su morfología y la producción específica de células hepáticas (almacenan glicógeno, secretan albúmina y presentan el antígeno HepPar1, específico de hepatocitos humanos) (39). También la diferenciación se puede dar *in vivo*, sin cultivo previo, con factores de crecimiento (40).



**MAPC:** células progenitoras adultas multipotenciales; **MSC:** célula madre mesenquimal; **HSC:** célula madre hematopoyética; **EPC:** célula progenitora endotelial.

**Figura 5. Células madre derivadas de la médula ósea y su efecto en la lesión hepática.** Ante una lesión hepática ocurre proteólisis de la matriz y se liberan a la circulación citocinas, como el factor de células del estroma, que van a la médula ósea donde llevan a la proliferación de células madre que luego van al hígado a cumplir diferentes funciones. Así, las MAPC propician la regeneración hepática y se diferencian a células endoteliales que permiten la neovascularización del tejido lesionado. Las MSC modulan el proceso fibrótico y se diferencian en hepatocitos. Las HSC también permiten la regeneración hepática mediante procesos como la fusión, transdiferenciación y remodelación de la matriz. Por último, las EPC permiten la revascularización del tejido. (Modificada de la revisión de Houlihan [66]. Se conservan las siglas inglesas)

Oyagi y colaboradores (41) demostraron que después del cultivo de células mesenquimales de la médula ósea con el factor de crecimiento de hepatocitos (HGF, por la sigla en inglés de *Hepatocyte growth factor*) por dos semanas, y su trasplante a modelos murinos con daño hepático por CCl<sub>4</sub>, se obtuvo una disminución en los niveles de transaminasas y un aumento en la producción de albúmina.

En el estudio de Kuo y colaboradores se evaluó el efecto de inyectar células madre por vía intravenosa o intraesplénica en modelos murinos con falla hepática fulminante causada por CCl<sub>4</sub>; las células trasplantadas se injertaron en el hígado y se diferenciaron en hepatocitos funcionales, que rescataron los ratones de la falla hepática (lo que se evidenció más en los trasplantados por vía intravenosa). Las células mesenquimales demostraron la disminución del estrés oxidativo en los ratones y aceleraron la repoblación de los hepatocitos, lo que sugirió un efecto paracrino adicional (42).

Asimismo, Lin y colaboradores (43) propusieron un mecanismo para explicar el posible efecto en la reducción de la fibrosis hepática en modelos animales como el utilizado por Kuo (42): demostraron en un modelo *in vitro* de co-cultivo de células del estroma mesenquimal humano (hMSC, por la sigla en inglés de *Human mesenchymal stromal cells*) y células estrelladas humanas, que mediante señales paracrinas las primeras inducen la apoptosis de las segundas (que son responsables de la fibrosis hepática) a través de receptores de membrana y citoplasmáticos como el receptor del factor de crecimiento neural NGF (por la sigla en inglés de *Nerve growth factor*). De esta manera, las células del estroma mesenquimal se proponen como un posible tratamiento antifibrosis para los pacientes con cirrosis.

Otro mecanismo propuesto para la reducción de la fibrosis ha sido la expresión de metaloproteinasas, necesarias para la degradación de la matriz, por parte de las células mesenquimales trasplantadas a hígados con daño hepático fulminante por CCl<sub>4</sub> (40).

También se han hecho trabajos con otras fuentes de células mesenquimales, principalmente con las del cordón umbilical, porque se argumenta que es muy variable la capacidad de reproducción y diferenciación de las células de la médula ósea según el donante, por factores como la edad y la baja cantidad de células madre de algunas muestras, además de la dificultad para obtener estas últimas porque se requieren hospitalización y procedimientos invasivos (44). Yan (45) estudió las células mesenquimales obtenidas de cordón umbilical en modelos de ratones con daño hepático inducido por CCl<sub>4</sub>, y obtuvo disminución en los valores de transaminasas; además, las células trasplantadas disminuyeron la apoptosis de los hepatocitos y facilitaron su proliferación, lo cual concuerda con los estudios ya mencionados en médula ósea.

Del mismo modo, las células mesenquimales que vienen del tejido graso, seleccionadas con base en la expresión de CD105 (endoglina), también son capaces de producir hepatocitos *in vitro* cuando se las cultiva con factores de crecimiento como el de los hepatocitos (HGF) y el de fibroblastos, y parecen ser funcionales al trasplantarlas a modelos de ratones con una lesión producida por el CCl<sub>4</sub>. Tienen la ventaja de ser abundantes y de estar fácilmente disponibles (46).

Al mismo tiempo se han llevado a cabo algunos trabajos con células hematopoyéticas de cordón umbilical que no han dado resultados positivos. En el estudio de Saéz-Lara y colaboradores (47) se trasplantaron células CD34+ (hematopoyéticas) de cordón en ratones con un modelo de cirrosis inducida por tiocetamida, y luego de 60 días no se observó ninguna célula adherida al hígado de dichos animales. Por otro lado, algunos estudios demuestran beneficio pero no detectan la diferenciación de las células madre a hepatocitos funcionales, como es el caso del de Tsai y colaboradores (48) que trasplantaron células de cordón en un modelo de daño por CCl<sub>4</sub> y demostraron merma en la inflamación hepática y en los niveles de transaminasas y aumento del factor de crecimiento de hepatocitos y de otros estimulantes del crecimiento de las células hepáticas, pero en el estudio patológico observaron que las células trasplantadas no se habían diferenciado en hepatocitos funcionales sino que se dispersaron en el tejido conectivo.

A pesar de esto, todavía hay controversias respecto al verdadero papel de las células madre en el hígado,

especialmente las de la médula ósea. Existen muchos informes, como los ya mencionados, sobre su papel beneficioso en la reducción de la fibrosis en el hígado cirrótico; sin embargo, no solo los hepatocitos se pueden originar de la médula ósea, algunos estudios han verificado que estas células madre también dan origen a las células de Kupffer, las endoteliales sinusoidales y, al menos en parte, las estrelladas (que tienen fenotipo de miofibroblastos y expresan marcadores de músculo liso, responsables de la fibrosis en el daño crónico) (49-51).

Paradójicamente, en cuanto a este último tipo celular la evidencia es creciente (51-56). En el estudio de Russo y colaboradores (51) se encontró que el 70% de las células productoras de colágeno en el hígado provenían de la médula ósea, al observar el hígado de modelos murinos con daño crónico, previamente trasplantados con células de médula ósea.

### Aplicación clínica

No se han realizado muchos estudios en humanos porque aún no hay un consenso que avale el uso clínico de la terapia con células madre en enfermedades hepáticas. En general los estudios que se han publicado son de fase I, o sea, investigaciones sobre la seguridad de la terapia en las que no se espera encontrar ningún beneficio. Lyra hizo injerto de células madre provenientes de médula ósea a 10 pacientes en lista de espera para trasplante hepático. La infusión se asoció con elevación de la albúmina (de  $3,47 \pm 0,5$  a  $3,73 \pm 0,5$  g/dL) y reducción de la bilirrubina (de  $2,19 \pm 0,9$  mg/dL a  $2,10 \pm 1,0$  mg/dL) y del INR (de  $1,48$  [SD =  $0,2$ ] a  $1,43$  [SD =  $0,23$ ]) (57).

Por otra parte, en un estudio llevado a cabo por Ismail y colaboradores (58) se tomaron 20 pacientes con cirrosis y carcinoma hepatocelular del lóbulo derecho y por asignación aleatoria se distribuyeron en dos grupos, uno para recibir terapia con células madre autólogas, y el otro, para placebo. Después de tres semanas de la infusión todos fueron sometidos a resección quirúrgica y seguidos durante 12 semanas. Los pacientes con infusión preoperatoria de células madre tuvieron mejores resultados en cuanto a los parámetros de función hepática (AST, ALT, TP, albúmina y bilirrubina total) y la condición clínica y no sufrieron complicaciones posoperatorias; en contraste, los pacientes del grupo placebo tuvieron deterioro en especial aumento de la

bilirrubina total y peor condición clínica. Concluyeron que la terapia preoperatoria con células madre puede mejorar los desenlaces en los pacientes a quienes se les va a hacer una resección hepática.

Otros estudios han sido igualmente seguros y han mejorado la albúmina, bilirrubina, creatinina, INR y/o el puntaje MELD (por la sigla en inglés de *Model for end-stage liver disease*) con la infusión de células madre (17,59-63). En contraste, como en los demás asuntos tratados en esta revisión, también en humanos hay controversia porque algunos estudios no muestran resultados o argumentan poca seguridad de la terapia; por ejemplo: no se demostró beneficio en pacientes con déficit congénito de ornitina-transcarbamilasa trasplantados con células madre (64); y en el estudio de Mohamadnejad y colaboradores (65) la mejoría de los parámetros clínicos de los pacientes fue variable y murió un paciente cirrótico por síndrome hepatorenal cuando se le administraron células CD34+ (hematopoyéticas) por la arteria hepática. Aunque no se sabe cuál es el mecanismo por el que ocurre la mejoría en todos estos pacientes trasplantados con células madre, se presume que es el mismo observado en los modelos animales (57).

Es importante resaltar que los efectos adversos de esta terapia, evidenciados básicamente en estudios a corto plazo, son: dolor en el sitio de la punción, náuseas, fiebre y eritema. En los estudios en que se ha administrado el factor estimulante de colonias de macrófagos (para promover la migración de células madre derivadas de la médula ósea) se presenta una esplenomegalia transitoria que, sin embargo, no se ha asociado a ruptura esplénica. Por último, *in vitro* se ha visto que las células ovales y las mesenquimales tras cultivo prolongado pueden desarrollar una transformación maligna (66).

Para terminar, uno de los principales problemas al considerar el uso de células madre es el dilema ético frente a la utilización de células embrionarias, porque para obtenerlas habría que destruir embriones humanos. Este dilema muy seguramente no va a tener una pronta solución puesto que históricamente tiene implicaciones morales y religiosas, y parece casi imposible crear una política única aceptable para todos; el estudio de otras fuentes de células madre, como las que hemos mencionado (células madre adultas, de cordón umbilical, de la médula ósea, entre otras) y la utilización de tecnologías diversas y novedosas (transferencia nuclear, transferencia nuclear alterada

y partenogénesis) pueden brindar fuentes alternativas que ayuden a superar este obstáculo (4,67).

### **Cáncer y células madre**

En la revisión de Houlihan (66) se encontró un estudio en el que implantaron células madre autólogas CD133+ en la vena porta de pacientes con hepatocarcinoma u otras neoplasias malignas; en algunos se incrementó la regeneración hepática previa a la hepatectomía y así la cirugía fue más conservadora; en los otros pacientes con seguimiento promedio de 45 días no se desarrolló malignidad. Sin embargo, estudios en animales han demostrado el desarrollo de hepatocarcinoma a partir de células mesenquimales y ovales después de un período variable de cultivo.

### **CONCLUSIÓN**

El tratamiento de la cirrosis hepática en general se basa en el control de la progresión y la prevención de las complicaciones, lo cual conlleva en muchos casos ofrecer el trasplante hepático como única alternativa. Todo esto representa un costo alto, tanto en materia económica como de la calidad de vida de los pacientes, por lo cual la terapia celular es una opción terapéutica llamativa. En esta revisión de la literatura se puede concluir que la terapia con células madre está aún en fases experimentales en modelos animales, con resultados, aunque alentadores, variables. Por otro lado, en humanos los estudios son escasos, con bajo número de pacientes y en general solo han evaluado los efectos adversos, la seguridad, la factibilidad y algunas variables clínicas y bioquímicas. No es posible llegar a una conclusión certera sobre este tema, puesto que la literatura es controversial y contradictoria; se puede afirmar que hacen falta nuevos estudios con asignación aleatoria y cegamiento y seguimientos por períodos de tiempo más prolongados para intentar demostrar su potencial beneficio. Por ahora la terapia con células madre para los pacientes cirróticos parece ser segura, aunque no hay certeza sobre su beneficio clínico, es costosa y está poco disponible.

### **REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS**

1. Pan American Health Organization. Regional Core Health Data Initiative. Table Generator System



- [Internet]. [cited 2010 Dec 1]; Available from: <http://www.paho.org/english/sha/coredata/tabulator/newtabulatorfirst.htm>
2. Ginés P, Quintero E, Arroyo V, Terés J, Bruguera M, Rimola A, et al. Compensated cirrhosis: natural history and prognostic factors. *Hepatology*. 1987;7(1):122-8.
  3. D'Amico G, Garcia-Tsao G, Pagliaro L. Natural history and prognostic indicators of survival in cirrhosis: a systematic review of 118 studies. *J Hepatol*. 2006 Jan;44(1):217-31.
  4. Shapiro RS. Future issues in transplantation ethics: ethical and legal controversies in xenotransplantation, stem cell, and cloning research. *Transplant Rev (Orlando)*. 2008 Jul;22(3):210-4.
  5. Evarts RP, Nagy P, Nakatsukasa H, Marsden E, Thorgeirsson SS. In vivo differentiation of rat liver oval cells into hepatocytes. *Cancer Res*. 1989 Mar 15;49(6):1541-7.
  6. Tatematsu M, Ho RH, Kaku T, Ekem JK, Farber E. Studies on the proliferation and fate of oval cells in the liver of rats treated with 2-acetylaminofluorene and partial hepatectomy. *Am J Pathol*. 1984 Mar;114(3):418-30.
  7. Dan YY, Yeoh GC. Liver stem cells: a scientific and clinical perspective. *J Gastroenterol Hepatol*. 2008 May;23(5):687-98.
  8. Potten CS, Loeffler M. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development*. 1990 Dec;110(4):1001-20.
  9. Potten CS, Loeffler M. Stem cells: attributes, cycles, spirals, pitfalls and uncertainties. Lessons for and from the crypt. *Development*. 1990 Dec;110(4):1001-20.
  10. Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology*. 2004 Jun;39(6):1477-87.
  11. Fausto N. Liver regeneration and repair: hepatocytes, progenitor cells, and stem cells. *Hepatology*. 2004 Jun;39(6):1477-87.
  12. Kallis YN, Alison MR, Forbes SJ. Bone marrow stem cells and liver disease. *Gut*. 2007 May;56(5):716-24.
  13. Michalopoulos GK, Khan Z. Liver regeneration, growth factors, and amphiregulin. *Gastroenterology*. 2005 Feb;128(2):503-6.
  14. Overturf K, Al-Dhalimy M, Ou CN, Finegold M, Grompe M. Serial transplantation reveals the stem-cell-like regenerative potential of adult mouse hepatocytes. *Am J Pathol*. 1997 Nov;151(5):1273-80.
  15. Gordon GJ, Coleman WB, Hixson DC, Grisham JW. Liver regeneration in rats with retrorsine-induced hepatocellular injury proceeds through a novel cellular response. *Am J Pathol*. 2000 Feb;156(2):607-19.
  16. Kawashita Y, Guha C, Moitra R, Wang X, Fox JJ, Roy-Chowdhury J, et al. Hepatic repopulation with stably transduced conditionally immortalized hepatocytes in the Gunn rat. *J Hepatol*. 2008 Jul;49(1):99-106.
  17. Alison MR, Choong C, Lim S. Application of liver stem cells for cell therapy. *Semin Cell Dev Biol*. 2007 Dec;18(6):819-26.
  18. Sandhu JS, Petkov PM, Dabeva MD, Shafritz DA. Stem cell properties and repopulation of the rat liver by fetal liver epithelial progenitor cells. *Am J Pathol*. 2001 Oct;159(4):1323-34.
  19. Oertel M, Menthena A, Chen Y-Q, Shafritz DA. Properties of cryopreserved fetal liver stem/progenitor cells that exhibit long-term repopulation of the normal rat liver. *Stem Cells*. 2006 Oct;24(10):2244-51.
  20. Malhi H, Irani AN, Gagandeep S, Gupta S. Isolation of human progenitor liver epithelial cells with extensive replication capacity and differentiation into mature hepatocytes. *J Cell Sci*. 2002 Jul 1;115(Pt 13):2679-88.
  21. Nowak G, Ericzon B-G, Nava S, Jaksch M, Westgren M, Sumitran-Holgersson S. Identification of expandable human hepatic progenitors which differentiate into mature hepatic cells in vivo. *Gut*. 2005 Jul;54(7):972-9.
  22. Sell S. Heterogeneity and plasticity of hepatocyte lineage cells. *Hepatology*. 2001 Mar;33(3):738-50.
  23. Menthena A, Deb N, Oertel M, Grozdanov PN, Sandhu J, Shah S, et al. Bone marrow progenitors are not the source of expanding oval cells in injured liver. *Stem Cells*. 2004 Jan;22(6):1049-61.
  24. Oh S-H, Witek RP, Bae S-H, Zheng D, Jung Y, Piscaglia AC, et al. Bone marrow-derived hepatic oval cells differentiate into hepatocytes in 2-acetylaminofluorene/partial hepatectomy-induced liver regeneration. *Gastroenterology*. 2007 Mar;132(3):1077-87.
  25. Wulf GG, Luo K-L, Jackson KA, Brenner MK, Goodell MA. Cells of the hepatic side population contribute to liver regeneration and can be replenished with bone marrow stem cells. *Haematologica*. 2003 Apr;88(4):368-78.

26. Forbes S, Vig P, Poulsom R, Thomas H, Alison M. Hepatic stem cells. *J Pathol.* 2002 Jul;197(4):510-8.
27. Lowes KN, Brennan BA, Yeoh GC, Olynyk JK. Oval cell numbers in human chronic liver diseases are directly related to disease severity. *Am J Pathol.* 1999 Feb;154(2):537-41.
28. Roskams T, Yang SQ, Koteish A, Durnez A, DeVos R, Huang X, et al. Oxidative stress and oval cell accumulation in mice and humans with alcoholic and nonalcoholic fatty liver disease. *Am J Pathol.* 2003 Oct;163(4):1301-11.
29. Petersen BE, Zajac VF, Michalopoulos GK. Hepatic oval cell activation in response to injury following chemically induced periportal or pericentral damage in rats. *Hepatology.* 1998 Apr;27(4):1030-8.
30. Lee J-S, Heo J, Libbrecht L, Chu I-S, Kaposi-Novak P, Calvisi DF et al. A novel prognostic subtype of human hepatocellular carcinoma derived from hepatic progenitor cells. *Nat Med.* 2006 Apr;12(4):410-6.
31. Theise ND, Krause DS. Bone marrow to liver: the blood of Prometheus. *Semin Cell Dev Biol.* 2002 Dec;13(6):411-7.
32. Mallet VO, Mitchell C, Mezey E, Fabre M, Guidotti J-E, Renia L, et al. Bone marrow transplantation in mice leads to a minor population of hepatocytes that can be selectively amplified in vivo. *Hepatology.* 2002 Apr;35(4):799-804.
33. Theise ND, Badve S, Saxena R, Henegariu O, Sell S, Crawford JM, et al. Derivation of hepatocytes from bone marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology.* 2000 Jan;31(1):235-40.
34. Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, Teperman L, et al. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology.* 2000 Jul;32(1):11-6.
35. Thorgeirsson SS, Grisham JW. Hematopoietic cells as hepatocyte stem cells: a critical review of the evidence. *Hepatology.* 2006 Jan;43(1):2-8.
36. Wang X, Willenbring H, Akkari Y, Torimaru Y, Foster M, Al-Dhalimy M, et al. Cell fusion is the principal source of bone-marrow-derived hepatocytes. *Nature.* 2003 Apr 24;422(6934):897-901.
37. Sakaida I. Autologous bone marrow cell infusion therapy for liver cirrhosis. *Journal of gastroenterology and hepatology.* 2008 Sep;23(9):1349-53.
38. Arévalo Romero JA, Páez Guerrero DM, Rodríguez Pardo VM. Células madre mesenquimales: características biológicas y aplicaciones clínicas. *NOVA.* 2007 Dec;5(8):177-84.
39. Aurich I, Mueller LP, Aurich H, Luetzkendorf J, Tisljar K, Dollinger MM, et al. Functional integration of hepatocytes derived from human mesenchymal stem cells into mouse livers. *Gut.* 2007 Mar;56(3):405-15.
40. Chang Y-J, Liu J-W, Lin P-C, Sun L-Y, Peng C-W, Luo G-H, et al. Mesenchymal stem cells facilitate recovery from chemically induced liver damage and decrease liver fibrosis. *Life Sci.* 2009 Sep 23;85(13-14):517-25.
41. Oyagi S, Hirose M, Kojima M, Okuyama M, Kawase M, Nakamura T, et al. Therapeutic effect of transplanting HGF-treated bone marrow mesenchymal cells into CCl4-injured rats. *J Hepatol.* 2006 Apr;44(4):742-8.
42. Kuo TK, Hung S-D, Chuang C-H, Chen C-T, Shih Y-RV, Fang S-CY, et al. Stem cell therapy for liver disease: parameters governing the success of using bone marrow mesenchymal stem cells. *Gastroenterology.* 2008 Jun;134(7):2111-21, 2121.e1-3.
43. Lin N, Hu K, Chen S, Xie S, Tang Z, Lin J, et al. Nerve growth factor-mediated paracrine regulation of hepatic stellate cells by multipotent mesenchymal stromal cells. *Life Sci.* 2009 Aug 12;85(7-8):291-5.
44. Wu KH, Zhou B, Mo XM, Cui B, Yu CT, Lu SH, et al. Therapeutic potential of human umbilical cord-derived stem cells in ischemic diseases. *Transplant Proc.* 2007 Jun;39(5):1620-2.
45. Yan Y, Xu W, Qian H, Si Y, Zhu W, Cao H, et al. Mesenchymal stem cells from human umbilical cords ameliorate mouse hepatic injury in vivo. *Liver Int.* 2009 Mar;29(3):356-65.
46. Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, Tokuhara M, Takeshita F, Quinn G, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes. *Hepatology.* 2007 Jul;46(1):219-28.
47. Sáez-Lara MJ, Frecha C, Martín F, Abadía F, Toscano M, Gil A, et al. Transplantation of human CD34+ stem cells from umbilical cord blood to rats with thioacetamide-induced liver cirrhosis. *Xenotransplantation.* 2006 Nov;13(6):529-35.
48. Tsai P-C, Fu T-W, Chen Y-MA, Ko T-L, Chen T-H, Shih Y-H, et al. The therapeutic potential of human umbilical mesenchymal stem cells from Wharton's jelly in the treatment of rat liver fibrosis. *Liver transplantation : official publication of the American Association for the Study of Liver Diseases and the*

International Liver Transplantation Society. 2009 May;15(5):484-95.

49. Cassiman D, Barlow A, Vander Borgh S, Libbrecht L, Pachnis V. Hepatic stellate cells do not derive from the neural crest. *Journal of hepatology*. 2006 Jun;44(6):1098-104.
50. Kisseleva T, Uchinami H, Feirt N, Quintana-Bustamante O, Segovia JC, Schwabe RF, et al. Bone marrow-derived fibrocytes participate in pathogenesis of liver fibrosis. *J Hepatol*. 2006 Sep;45(3):429-38.
51. Russo FP, Alison MR, Bigger BW, Amofah E, Florou A, Amin F, et al. The bone marrow functionally contributes to liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2006 May;130(6):1807-21.
52. Brittan M, Chance V, Elia G, Poulson R, Alison MR, MacDonald TT, et al. A regenerative role for bone marrow following experimental colitis: contribution to neovascuogenesis and myofibroblasts. *Gastroenterology*. 2005 Jun;128(7):1984-95.
53. Direkze NC, Hodivala-Dilke K, Jeffery R, Hunt T, Poulson R, Oukrif D, et al. Bone marrow contribution to tumor-associated myofibroblasts and fibroblasts. *Cancer Res*. 2004 Dec 1;64(23):8492-5.
54. Forbes SJ, Russo FP, Rey V, Burra P, Ruge M, Wright NA, et al. A significant proportion of myofibroblasts are of bone marrow origin in human liver fibrosis. *Gastroenterology*. 2004 Apr;126(4):955-63.
55. Ishii G, Sangai T, Oda T, Aoyagi Y, Hasebe T, Kanomata N, et al. Bone-marrow-derived myofibroblasts contribute to the cancer-induced stromal reaction. *Biochem Biophys Res Commun*. 2003 Sep 12;309(1):232-40.
56. Lin W-R, Brittan M, Alison MR. The role of bone marrow-derived cells in fibrosis. *Cells Tissues Organs*. 2008 Jan;188(1-2):178-88.
57. Lyra AC, Soares MBD, da Silva LFM, Fortes MF, Silva AGP, Mota AC de A, et al. Feasibility and safety of autologous bone marrow mononuclear cell transplantation in patients with advanced chronic liver disease. *World J Gastroenterol*. 2007 Feb 21;13(7):1067-73.
58. Ismail A, Fouad O, Abdelnasser A, Chowdhury A, Selim A. Stem cell therapy improves the outcome of liver resection in cirrhotics. *J Gastrointest Cancer*. 2010 Mar;41(1):17-23.
59. Kharaziha P, Hellström PM, Noorinayer B, Farzaneh F, Aghajani K, Jafari F, et al. Improvement of liver function in liver cirrhosis patients after autologous mesenchymal stem cell injection: a phase I-II clinical trial. *Eur J Gastroenterol Hepatol*. 2009 Oct;21(10):1199-205.
60. Levicar N, Pai M, Habib NA, Tait P, Jiao LR, Marley SB, et al. Long-term clinical results of autologous infusion of mobilized adult bone marrow derived CD34+ cells in patients with chronic liver disease. *Cell Prolif*. 2008 Feb;41 Suppl 1:115-25.
61. Mohamadnejad M, Alimoghaddam K, Mohyeddin-Bonab M, Bagheri M, Bashtar M, Ghanaati H, et al. Phase 1 trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis. *Arch Iran Med*. 2007 Oct;10(4):459-66.
62. Pai M, Zacharoulis D, Milicevic MN, Helmy S, Jiao LR, Levicar N, et al. Autologous infusion of expanded mobilized adult bone marrow-derived CD34+ cells into patients with alcoholic liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol*. 2008 Aug;103(8):1952-8.
63. Muraca M, Gerunda G, Neri D, Vilei M-T, Granato A, Feltracco P, et al. Hepatocyte transplantation as a treatment for glycogen storage disease type 1a. *Lancet*. 2002 Jan 26;359(9303):317-8.
64. Terai S, Ishikawa T, Omori K, Aoyama K, Marumoto Y, Urata Y, et al. Improved liver function in patients with liver cirrhosis after autologous bone marrow cell infusion therapy. *Stem Cells*. 2006 Oct;24(10):2292-8.
65. Mohamadnejad M, Namiri M, Bagheri M, Hashemi SM, Ghanaati H, Zare Mehrjardi N, et al. Phase 1 human trial of autologous bone marrow-hematopoietic stem cell transplantation in patients with decompensated cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2007 Jun 28;13(24):3359-63.
66. Houlihan DD, Newsome PN. Critical review of clinical trials of bone marrow stem cells in liver disease. *Gastroenterology*. 2008 Aug;135(2):438-50.
67. Kastenbergl ZJ, Odorico JS. Alternative sources of pluripotency: science, ethics, and stem cells. *Transplant Rev (Orlando)*. 2008 Jul;22(3):215-22.