

CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES Y MEDICINA REGENERATIVA EN LA CIRROSIS HEPÁTICA

ESTEBAN FIORE, EDUARDO PICAZO, JORGE AQUINO*, GUILLERMO MAZZOLINI*

Instituto de Investigaciones en Medicina Traslacional, Universidad Austral-CONICET, Derqui-Pilar, Buenos Aires, Argentina

Resumen Las células madre mesenquimales (MSCs) son células multipotentes con capacidad de auto-renovación, presentes en diferentes tejidos del organismo. En los últimos años se ha avanzado significativamente en su estudio debido a su potencial terapéutico en medicina regenerativa. Las MSCs se caracterizan por migrar selectivamente a sitios de injuria y remodelación y por su capacidad para evadir al sistema inmunitario y colaborar en la reparación tisular mediante la secreción de factores tróficos. Numerosos estudios pre-clínicos y clínicos analizan su potencial efecto terapéutico en la cirrosis hepática con resultados alentadores. Diversas evidencias experimentales sugieren que este efecto podría ser superior si se utilizaran MSCs como vehículo de genes terapéuticos. En este trabajo se revisa el rol de las MSCs en medicina regenerativa y su empleo en estudios clínicos y pre-clínicos, con énfasis en su potencial como vehículo de genes terapéuticos.

Palabras clave: células madre mesenquimales, medicina regenerativa, terapia génica, cirrosis hepática

Abstract *Mesenchymal stem cells and regenerative medicine in liver cirrhosis.* Mesenchymal stem cells (MSCs) are multipotent cells with self-renewal capacity which are present in diverse tissues. Recently, significant progresses have been made in the field of MSCs because of its therapeutic potential in regenerative medicine. MSCs selectively migrate toward sites of damage and remodeling, and have the ability to evade the immune system and to promote tissue repair through the production of a number of growth factors and cytokines. Many pre-clinical and clinical studies have been carried out to study its therapeutic effect in liver cirrhosis with promising results. In addition, experimental studies showed that this therapeutic effect can be improved by engineering MSCs to produce therapeutic genes. In this work, the role of MSCs in regenerative medicine and its clinical and pre-clinical applications are reviewed, with an emphasis on its potential as vehicles for therapeutic genes.

Key words: mesenchymal stem cells, regenerative medicine, gene therapy, hepatic cirrhosis

En los últimos años se ha avanzado significativamente en el uso de las células madre mesenquimales, también llamadas células estromales mesenquimales (MSCs), como estrategia terapéutica en diversas patologías, entre ellas la cirrosis hepática¹⁻³. Las MSCs han sido descritas como una fuente circulante de células madre adultas de origen mesodérmico⁴. Estas células presentan propiedades inmunosupresoras y anti-inflamatorias junto con una especial capacidad de migrar hacia sitios de injuria o remodelación. En respuesta al daño tisular, las MSCs serían capaces de cubrir las demandas de regeneración de órganos o tejidos. Por estas propiedades, la aplicación de estas células representa un campo de trabajo prometedor para la medicina, en investigaciones tanto básicas como aplicadas.

Características generales de las MSCs

De acuerdo con la Sociedad Internacional de Terapia Celular (*International Society for Cellular Therapy*, ISCT)⁵ los requisitos mínimos para definir a las MSC humanas son:

- capacidad de adherirse al plástico en cultivo;
- capacidad de diferenciarse hacia adipocitos, osteocitos o condrocitos;
- expresión de marcadores de superficie de origen mesenquimal: CD105, CD73 y CD90;
- ausencia de expresión de marcadores de linaje hematopoyético: CD45, CD34, CD14 o CD11b, CD79a o CD19 y el antígeno leucocitario humano (HLA) clase II.

Las MSCs fueron aisladas inicialmente a partir de la médula ósea⁶ y luego se lograron obtener cultivos con propiedades similares a partir de diferentes tejidos u órganos fetales y adultos. Por ejemplo, se ha informado el aislamiento de MSCs a partir de sangre periférica, tejido adiposo, músculo esquelético, pulmón, hígado, páncreas, pulpa dental, cerebro, membrana sinovial, bazo y timo⁷, entre otros. No obstante, algunos tejidos carecen de utilidad como fuentes de MSCs en vistas a su aplicación en investigación clínica por la facilidad de su aislamiento

Recibido: 24-V-2016

Aceptado: 26-VIII-2016

*Investigadores del CONICET (Consejo Nacional de Investigaciones Científicas y Técnicas)

Dirección postal: Dr. Guillermo D. Mazzolini, Instituto de Investigaciones en Medicina Traslacional, Universidad Austral-CONICET, Av. Pte. Perón 1500, 1629 Derqui-Pilar, Buenos Aires, Argentina
e-mail: gmazzoli@austral.edu.ar

y accesibilidad a un número adecuado de células⁹. Por ejemplo, aunque estas células puedan ser aisladas a partir de sangre periférica, solo pueden obtenerse en muy pequeñas cantidades, por lo que las fuentes de elección son la médula ósea y el tejido adiposo⁹⁻¹¹. También pueden obtenerse MSCs desde tejidos extraembrionarios como placenta¹², amnios¹³ y cordón umbilical. Sobre este último, se han establecido cultivos a partir de todo el tejido¹⁴, del tejido conectivo mesenquimático o "gelatina de Wharton"¹⁵ o de la sangre contenida en el cordón umbilical¹⁶. Las ventajas de utilizar estos tejidos neonatales es su amplia disponibilidad y ausencia de cuestionamientos éticos ya que se utiliza material que normalmente se descarta y también una mayor capacidad proliferativa, vida útil y capacidad de diferenciación de estas MSCs en comparación con las obtenidas a partir de tejidos adultos^{17, 18}.

Fisiológicamente, las dos funciones principales que cumplirían *in vivo* las células que contribuyen con los cultivos de MSCs serían las de soporte, tanto de la reparación de tejidos dañados como de la hematopoyesis¹⁹. Al incorporarse a tejidos dañados las MSCs pueden diferenciarse en componentes del tejido conectivo, colaborar con la vasculogénesis, y/o secreción de citoquinas y factores de crecimiento, lo que facilitaría el proceso de cicatrización¹⁹.

Propiedades de las MSCs aplicadas a la regeneración hepática

Son numerosos los trabajos y estudios clínicos en los que se utilizan MSCs aisladas a partir de distintas fuentes como herramienta en medicina regenerativa (<https://clinicaltrials.gov>). Además del hecho de que sea posible aislar MSCs en cantidades significativas, expandirlas y manipularlas en condiciones *in vitro*, las MSCs presentan una serie de propiedades particulares que despierta un gran interés con miras al tratamiento de diversas enfermedades degenerativas y, particularmente, en la cirrosis hepática¹.

La cirrosis es la causa número uno de trasplante hepático, siendo éste el único tratamiento médico curativo en la actualidad^{3, 20}. La cirrosis hepática se origina por diferentes causas (alcohol, virus de hepatitis B o C, autoinmunidad, alteraciones metabólicas, etc.) a través de un proceso crónico caracterizado por ciclos repetidos de necrosis de hepatocitos/colangiocitos, inflamación y cicatrización²¹ lo que resulta en la acumulación de componentes de la matriz extracelular, con abundante colágeno fibrilar. Las células estrelladas hepáticas (CEHs) son el principal componente celular involucrado en la generación de fibrosis hepática²⁰. Estas células, normalmente en estado quiescente, pueden activarse durante el daño hepático y secretar una serie de citoquinas y factores de crecimiento, entre ellos el factor de crecimiento derivado de

plaquetas (PDGF) y el factor transformador del crecimiento $\beta 1$ (TGF- $\beta 1$), con conocido efecto pro-fibrogénico^{20, 21}. Asimismo, los macrófagos hepáticos o células de Kupffer, también cumplen un rol preponderante en la fibrogénesis hepática ya que secretan TGF $\beta 1$, PDGF, factor de necrosis tumoral α (TNF α) e interleuquina 1 β (IL-1 β), que estimulan la activación de las CEHs y reclutan células inflamatorias que exacerban el estímulo fibrogénico^{20, 22}. Sin embargo, existen evidencias que sugieren que los macrófagos, tanto residentes como infiltrantes, también podrían participar en la resolución de la fibrosis hepática si el daño se interrumpe^{22, 23}. Teniendo en cuenta que la fibrogénesis involucra un estado inflamatorio crónico y a procesos degenerativos producto de la apoptosis y/o necrosis de células parenquimatosas, las MSCs emergen como una alternativa terapéutica para el tratamiento de la cirrosis hepática. Las MSCs tienen la capacidad de migrar y reclutarse con selectividad en tejidos dañados, de promover la reparación de estos tejidos fundamentalmente mediante la secreción de factores tróficos y citoquinas, de diferenciación y de modular el sistema inmunológico, lo que también ocurre en el contexto de la fibrosis hepática.

Capacidad migratoria de las MSCs hacia sitios de injuria e inflamación

Las MSCs han sido propuestas como una potente herramienta celular en los mecanismos de reparación tisular por la capacidad de estas células de migrar hacia sitios de injuria e inflamación²⁴⁻²⁶. Consistente con ello, se ha observado en pacientes con cáncer o cirrosis hepática que células capaces de generar cultivos de MSCs se movilizan desde la médula ósea por el flujo sanguíneo en cantidades significativamente superiores que en individuos sanos²⁷⁻²⁹. Asimismo, en el microambiente que se genera durante el proceso fibrogénico se producen altos niveles de citoquinas que han sido involucradas en la migración de las MSCs, como el factor de crecimiento del endotelio vascular (VEGF), PDGF, TGF- $\beta 1$, proteína quimioattractante de monocitos, interleuquina-8, TNF- β , IL-1 β , interleuquina-6 (IL-6), factor derivado de las células del estroma 1 (SDF-1)¹⁷. Si bien se desconocen en gran medida los mecanismos mediante los cuales las MSCs interaccionan con los capilares del tejido dañado, se ha postulado que serían similares a los descritos para la migración y extravasación leucocitaria. Las MSCs expresan numerosos receptores de citoquinas y factores de crecimiento que han sido previamente caracterizados en la migración de leucocitos y células madre hematopoyéticas³⁰. Se ha sugerido que la mayoría de los ligandos que se unen a estos receptores en las MSCs inducen quimiotaxis, migración transendotelial, activación de moléculas de adhesión y actividad de metaloproteasas en las MSCs^{31, 32}. Esta capacidad migratoria de las MSCs

se ha comprobado en modelos experimentales de fibrosis hepática luego de su aplicación sistémica (intravenosa), habiéndose observado que se reclutan mayormente en el hígado fibrótico en comparación con controles sin daño hepático^{17, 33}. Esta capacidad migratoria de las MSCs es importante en medicina regenerativa, ya que podrían ser utilizadas diferentes vías de administración dependiendo del tejido dañado. Por ejemplo, en hígado puede realizarse de forma intravenosa, intra-arterial hepática o por la vena porta, con resultados terapéuticos heterogéneos dependiendo de la vía de administración utilizada³⁴

Capacidad pro-regenerativa por diferenciación a hepatocitos

Como se mencionó anteriormente, las MSCs pueden incorporarse a tejidos dañados, diferenciarse en componentes del tejido conectivo y colaborar en la reparación tisular^{5, 9}. Otra característica importante de las MSCs radicaría en la capacidad de diferenciarse en tipos celulares de las tres capas embrionarias. De hecho, aparte de linajes celulares de origen mesodérmico, se ha informado que las MSCs podrían diferenciarse en cardiomiocitos, células endoteliales, neuronas y células epiteliales y/o adquirir algunas de sus propiedades⁷. Particularmente, existe abundante evidencia científica que sugiere que MSCs obtenidas de médula ósea³⁵⁻³⁷, tejido adiposo³⁸⁻⁴⁰ o cordón umbilical^{41, 42}, entre otras fuentes, podrían diferenciarse en células con características similares a hepatocitos mediante protocolos de diferenciación en condiciones *in vitro*. Estos protocolos consisten en el cultivo de las MSCs durante 7-9 días suplementadas con factor de crecimiento hepatocitario (HGF), factor de crecimiento de fibroblastos 1 y 4 (FGF1 y FGF4), oncostatina M, dexametasona, insulina-transferrina-selenito (ITS), nicotinamida y/o dimetilsulfóxido²⁶, o mediante el co-cultivo con hepatocitos^{26, 43}. Independientemente del protocolo utilizado, estos estudios coinciden en que los hepatocitos derivados de las MSCs expresan diversos marcadores característicos de hepatocitos inmaduros, como α -fetoproteína, o maduros, como albúmina, α -1-antitripsina, citoqueratina 18, citocromo P450, factor nuclear 4 alfa de hepatocito^{1, 26}. Estas células se comportan fisiológicamente como hepatocitos, siendo capaces de almacenar glucógeno, metabolizar urea, producir albúmina e incorporar lipoproteínas de baja densidad^{1, 26}. Si bien estos resultados apoyan la capacidad de diferenciación de las MSCs a hepatocitos en condiciones *in vitro*, continúa siendo controversial que este evento ocurra al ser transplantadas *in vivo* ya que se estima que su contribución a la masa celular total sería muy baja (menor al 1%)^{44, 45}, por lo que este mecanismo no explicaría el efecto anti-fibrótico y pro-regenerativo de las MSCs en el contexto de la cirrosis hepática.

Producción de factores por parte de las MSCs en la regeneración hepática

Considerando lo descrito en la sección anterior, numerosos trabajos proponen que gran parte de las mejoras funcionales de las MSCs en modelos de lesión *in vivo* se debería a la acción paracrina de distintos factores liberados de manera soluble⁴⁶⁻⁴⁹ o contenidos dentro de microvesículas o exosomas^{50, 51}. Además, dependiendo de su interacción con otros tipos celulares, particularmente del sistema inmune, pueden modificar el patrón de los factores liberados⁴⁹. La capacidad de promover la reparación de tejidos se ha observado en diversas patologías que afectan al hígado, páncreas, cerebro, corazón, hueso, cartílago y pulmón^{7, 52}. Particularmente, esta potencialidad regenerativa ha sido demostrada en modelos de daño hepático, tanto agudo como crónico, a partir de la administración de MSCs aisladas de distintas fuentes tisulares⁵³⁻⁶². Se ha observado en el contexto de la fibrosis hepática que las MSCs pueden producir elevadas concentraciones de factores de crecimiento y citoquinas con efecto antiapoptótico como SDF-1, VEGF, HGF y factor de crecimiento similar insulina tipo 1 (IGF-I)⁴⁹. Pueden secretar HGF, factor de crecimiento del endotelio, IL6, factor de crecimiento nervioso y TGF- α , que estimulan la proliferación de hepatocitos y aumentan su funcionalidad celular, lo que es consistente con los elevados niveles de secreción de albúmina y urea alcanzados luego del trasplante de MSCs⁶³. Además de los hepatocitos, EGF y HGF pueden estimular la proliferación y diferenciación de las células progenitoras hepáticas⁶⁴ y pueden producir VEGF, que estimulan la angiogénesis necesaria en la regeneración hepática⁶⁵. Por otro lado, secretan IL-10, HGF e IGF-I que reducen la fibrogénesis por inhibición de la activación y proliferación de las CEHs^{1, 26}. Las MSCs también secretan factores que inducen remodelación de la matriz extracelular (MEC) y quimioquinas que atraen distintos tipos celulares del sistema inmunitario, los que a su vez podrían intervenir en las funciones de las mismas⁴⁹.

Por otro lado, se ha publicado que los mecanismos paracrinos de las MSCs pueden ser mediados por microvesículas o exosomas que contienen proteínas, ARN y otros componentes^{50, 51}. Estas microvesículas tienen efectos similares a las de las células que las producen en la reparación de tejidos, proliferación celular y modulación de la respuesta inmunitaria^{48, 51}. Su administración en modelos experimentales de daño agudo y crónico indujo la regeneración y redujo la fibrosis hepática^{66, 67}.

Propiedades inmunomoduladoras de las MSCs

El proceso fibrogénico, como se describió previamente, incluye fases inflamatorias por lo que también las MSCs podrían evitar la progresión de la fibrosis por modu-

lación de dichos eventos. Las MSCs expresan bajos niveles de moléculas de HLA de clase I y no expresan moléculas de clase II⁶⁸, por lo que se consideran células inmuno-privilegiadas que pueden evadir la respuesta inmunitaria, convirtiéndolas en excelentes candidatos para los trasplantes autólogos y alogénicos^{69,70}. En este sentido, se ha demostrado que las MSCs tienen un efecto inmunosupresor sobre células de inmunidad adaptativa e innata, incluyendo linfocitos T, B y células NK. Las MSCs pueden suprimir la actividad de linfocitos T CD8⁺ citotóxicos por inhibición directa de su proliferación y por el incremento de la proporción relativa entre linfocitos T CD4⁺ colaboradores de tipo II y CD4⁺ reguladores⁷¹. A su vez la influencia de las MSCs sobre los linfocitos T podría indirectamente suprimir las funciones de los linfocitos B debido a que la activación de estos últimos depende de la actividad de los primeros⁷². Esto se suma a la influencia directa de las MSCs sobre las células B mediante interacciones célula-célula y la secreción de citoquinas⁷³. Como se ha mencionado previamente, las MSCs pueden modular la inmunidad innata incluyendo monocitos, macrófagos, células dendríticas, células NK y neutrófilos. En estudios *in vitro* se demostró que las MSCs pueden direccionar la actividad de los macrófagos haciendo que cambien de un perfil pro-inflamatorio a otro anti-inflamatorio. Los macrófagos producen citoquinas estimuladoras de la respuesta inmunitaria como TNF- α , IL-6, IL-1 β y especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno; dependiendo del contexto pueden cambiar a un perfil anti-inflamatorio reduciendo la expresión de estas citoquinas y aumentando la expresión de IL-10 y TGF β ⁷⁴⁻⁷⁶. Asimismo, las MSCs pueden tener efectos inhibitorios sobre la maduración de las células dendríticas⁶⁸ y sobre la función de las células NK, mediado en este último caso por indoleamina 2,3-dioxigenasa y prostaglandina E2. Estos factores suprimirían la proliferación mediada por IL-2, su actividad citolítica, y la producción de citoquinas⁷⁷. Estudios *in vitro* demostraron que las MSCs pueden inhibir la apoptosis, la expresión de moléculas de adhesión, la capacidad de migrar y reducir la intensidad del estallido respiratorio y la activación inapropiada del metabolismo oxidativo de los neutrófilos⁷⁸.

Uso de las MSCs en el tratamiento de la fibrosis hepática

La cirrosis se caracteriza por ciclos de lesión-inflamación-cicatrización que distorsionan la arquitectura hepática y originan nódulos de regeneración, que conllevan a insuficiencia hepatocelular y graves alteraciones en la circulación esplácnica. Diversos estudios realizados en modelos experimentales animales (revisados por Usunier y col.⁷⁹) sugieren que las MSCs podrían ser utilizadas para revertir el proceso fibrótico e inducir regeneración

hepática^{19,79}. Por ejemplo, el trasplante de MSCs redujo la expresión y producción de colágeno tipo I y III, la expresión de citoquinas pro-fibrogénicas como TGF- β 1, α -SMA y TNF- α y la activación de las CEHs⁸⁰; al mismo tiempo que redujo la apoptosis y estimuló la proliferación de hepatocitos y la angiogénesis⁸¹⁻⁸³.

Por otro lado, en los últimos años se han realizados numerosos ensayos clínicos con MSCs en pacientes cirróticos (revisado por Eom y col.^{84,84}). Si bien existe una gran heterogeneidad entre los distintos estudios respecto a la fuente de las células, la vía de administración, la dosis transplantada y los diseños experimentales, todos estos estudios demostraron que la terapia con MSCs fue factible y segura⁸⁴. En general, los estudios clínicos demostraron una mejora en la calidad de vida y la función hepática, evaluada por estudios bioquímicos (niveles de bilirrubina, albúmina y transaminasas hepáticas, etc), o indicadores pronósticos, como mejora en la escala MELD (*Model for End-stage Liver Disease*) y Child-Pugh. En algunos pacientes fue posible detectar una mejoría del grado de fibrosis histológico⁸⁴. Asimismo, algunos estudios sugieren que la administración de las MSCs modula la respuesta inmunitaria en los pacientes⁸⁵⁻⁸⁸. En pacientes que recibieron el tratamiento con MSCs aumentó la proporción de células CD4⁺ reguladoras y disminuyó la de células T CD8⁺ circulatorias, como así también los niveles séricos de citoquinas pro-inflamatorias (IL6, TNF α) y antiinflamatorias (IL10) se detectaron disminuidas y aumentadas, respectivamente^{86,87}. Si bien los resultados clínicos comunicados permiten proyectar el uso de las MSCs como herramienta terapéutica en la cirrosis hepática en un futuro no muy lejano, se necesitan estudios más robustos y homogéneos en cuanto a condiciones óptimas del tratamiento, condiciones de cultivo, fuente celular, dosis y vía de administración.

MSCs como vehículo de genes terapéuticos

La capacidad de las MSCs de migrar preferencialmente a sitios de lesión e injuria sumado a que son capaces de evadir y modular la respuesta del sistema inmunológico las convierte en excelentes potenciales transportadores de vectores terapéuticos. Con el objetivo de aumentar la eficacia terapéutica, se las han utilizado como vehículo de genes terapéuticos en modelos experimentales de diversas patologías, incluyendo cirrosis hepática¹⁹. En la fibrosis hepática experimental, por ejemplo, se observó que la aplicación de MSCs modificadas genéticamente con plásmidos o adenovirus que codifican el gen del factor de crecimiento hepatocitario (HGF), resultó en una reducción en la acumulación de colágeno y en un aumento de la migración de las MSCs hacia el tejido lesionado^{89,90}. También se ha reportado que la aplicación de MSCs transducidas con un adenovirus que codifica para el factor inhibidor del plasminógeno en ratas cirróticas mejora la función

hepática de la aplicación de MSCs sin transducir^{91, 92}. Los mecanismos involucrados serían: reducción del grado de fibrosis y de la activación de las CEHs, expresión de TGF- β 1 y colágeno I y III; aumento en la expresión de metaloproteasas y HGF y de la proliferación de hepatocitos. Por otro lado, la aplicación de MSCs sobre-expresando IL-10 en un modelo experimental de daño crónico inducido por tetracloruro de carbono, redujo el grado de inflamación y fibrogénesis hepática estimulando la proliferación de células parenquimatosas y mejoría de la funcionalidad hepática⁹³. En este sentido, recientemente demostramos el potencial terapéutico del uso de MSCs modificadas genéticamente para sobre-expresar IGF-I en un modelo murino de cirrosis experimental⁹⁴.

MSCs de médula ósea sobre-expresando IGF-I como estrategia terapéutica en la cirrosis hepática experimental

En la insuficiencia hepatocelular durante la cirrosis se produce una disminución progresiva de la producción hepática de IGF-I llegando a ser indetectable en la enfermedad avanzada⁹⁵. IGF-I es una potente hormona cito-protectora secretada por múltiples tejidos; sin

embargo, el 90% del IGF-I circulante es producido en el hígado⁹⁵. Estudios en modelos experimentales de cirrosis mostraron que la administración de IGF-I recombinante (rIGF-I) mejora la función hepática, reduciendo el estrés oxidativo y disminuyendo la fibrosis⁹⁶. Un estudio piloto en pacientes cirróticos tratados durante 4 meses con una dosis diaria de rIGF-I (100 mg/kg peso corporal) mostró un aumento en los niveles de albúmina y mejora de la función hepática. Sin embargo, el restablecimiento de los niveles de IGF-I en pacientes cirróticos requiere el uso de altas dosis de esta proteína, lo que conlleva un alto costo del tratamiento y resultados limitados⁹⁷. En este contexto, se plantea como una alternativa utilizar MSCs de médula ósea de ratón transducidas con un adenovirus codificante para IGF-I (AdIGF-I-MSCs) en un modelo experimental de cirrosis⁹⁴. La aplicación sistémica de una única dosis de éstas redujo el grado de fibrosis hepática en un grado superior al producido por las MSCs *naïve* o expresando un gen reportero. Asimismo, se demostró que este efecto se debería en gran medida a la reducción de la activación de las CEHs, a un cambio en la funcionalidad de los macrófagos hepáticos y a la inducción de regeneración hepática (Fig. 1). Estos mecanismos que se desencadenarían durante las primeras 24 horas posteriores a la

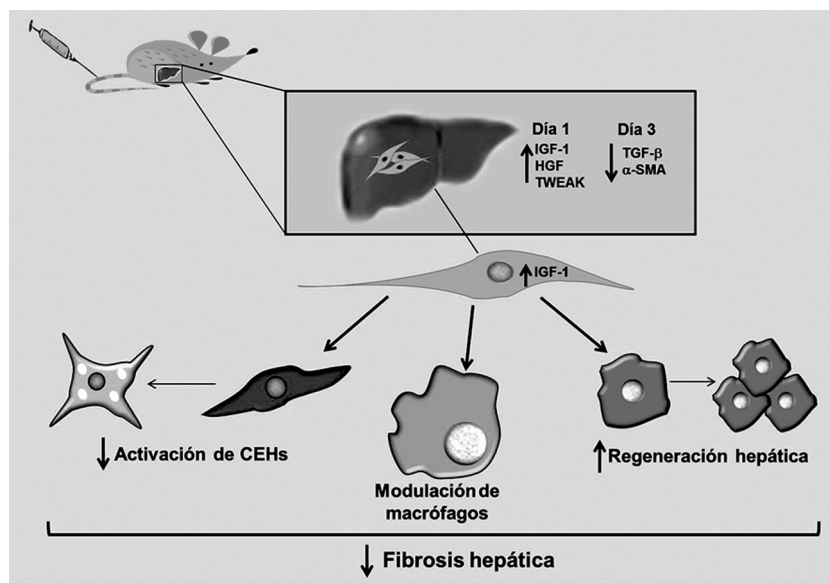


Fig. 1.– Las células madre mesenquimales modificadas genéticamente para sobre-expresar IGF-I reducen la fibrosis hepática

Las células madre mesenquimales transducidas con un adenovirus codificante para IGF-I se reclutan en el hígado fibrótico, inducen la expresión del factor de crecimiento similar a la insulina tipo 1 (IGF-1), factor de crecimiento de hepatocitos (HGF) y factor inductor débil de apoptosis similar al factor de necrosis tumoral (TNF-Weak Inducer of apoptosis) (TWEAK) y (TGF- β 1 suprimen la de genes pro-fibrogénicos (factor transformador del crecimiento (TGF- β 1 y actina α de músculo liso (α -SMA)) al 1er y 3er día posterior al tratamiento, respectivamente. Como resultado, actúan reduciendo la activación de las células estrelladas hepáticas, modulando la actividad de macrófagos y estimulando la regeneración hepática.

administración involucran un aumento de la expresión de IGF-I y HGF en el tejido hepático, los que posiblemente intervengan reduciendo posteriormente la expresión de TGF- β 1 y, por efecto, la activación de las CEHs, al tercer día posterior al tratamiento (Fig. 1). Conjuntamente, estos mecanismos son mediados, al menos en parte, por factores solubles como IGF-I y HGF liberados por las MSCs y probablemente también por hepatocitos y por macrófagos en el contexto del hígado con fibrosis. Finalmente, la aplicación de múltiples dosis de las MSCs transducidas con el adenovirus codificante para IGF-I resultó en un efecto terapéutico superior al de una única dosis, sugiriendo que podrían utilizarse dosis repetidas de estas células sin ser rechazadas por el sistema inmunológico ni generar mecanismos inflamatorios contra los genes terapéuticos.

Comentarios finales

El uso de las MSCs tiene un gran potencial para diversas enfermedades que carecen de un tratamiento eficaz, como la cirrosis hepática. El atractivo especial de las MSCs aplicadas en medicina regenerativa se basa en su capacidad migratoria hacia sitios de injuria y remodelación, de modular la respuesta inflamatoria y de secretar factores que contribuyan en la reparación tisular y que detengan el proceso fibrogénico. Por otra parte, estas características pueden ser aprovechadas para transportar genes con el fin de potenciar su efecto terapéutico, como por ejemplo IGF-I. Estos antecedentes sugieren que una combinación de terapia celular y génica utilizando MSCs genéticamente modificadas podría representar una nueva herramienta terapéutica para el tratamiento de la cirrosis hepática.

Conflicto de intereses: Ninguno para declarar

Bibliografía

- Fiore EJ, Mazzolini G, Aquino JB. Mesenchymal stem/stromal cells in liver fibrosis: Recent findings, old/new caveats and future perspectives. *Stem Cell Rev* 2015; 11: 586-97.
- Sutton MT, Bonfield TL. Stem cells: innovations in clinical applications. *Stem Cells Int* 2014; 2014: 516278.
- Schuppan D, Kim YO. Evolving therapies for liver fibrosis. *J Clin Invest* 2013; 123: 1887-901.
- Minguell JJ, Erices A, Conget P. Mesenchymal stem cells. *Exp Biol Med (Maywood)* 2001; 226: 507-20.
- Dominici M, Le Blanc K, Mueller I, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy* 2006; 8: 315-7.
- Friedenstein AJ, Chailakhjan RK, Lalykina KS. The development of fibroblast colonies in monolayer cultures of guinea-pig bone marrow and spleen cells. *Cell Tissue Kinet* 1970; 3: 393-403.
- Li M, Ikehara S. Bone-marrow-derived mesenchymal stem cells for organ repair. *Stem Cells Int* 2013; 2013: 132642.
- da Silva Meirelles L, Chagastelles PC, Nardi NB. Mesenchymal stem cells reside in virtually all post-natal organs and tissues. *J Cell Sci* 2006; 119: 2204-13.
- Pittenger MF, Mackay AM, Beck SC, et al. Multilineage potential of adult human mesenchymal stem cells. *Science* 1999; 284: 143-7.
- Kang SK, Lee DH, Bae YC, Kim HK, Baik SY, Jung JS. Improvement of neurological deficits by intracerebral transplantation of human adipose tissue-derived stromal cells after cerebral ischemia in rats. *Exp Neurol* 2003; 183: 355-66.
- Wan C, He Q, Li G. Allogenic peripheral blood derived mesenchymal stem cells (MSCs) enhance bone regeneration in rabbit ulna critical-sized bone defect model. *J Orthop Res* 2006; 24: 610-8.
- In 't Anker PS, Scherjon SA, Kleijburg-van der Keur C, et al. Isolation of mesenchymal stem cells of fetal or maternal origin from human placenta. *Stem Cells* 2004; 22: 1338-45.
- Marcus AJ, Coyne TM, Rauch J, Woodbury D, Black IB. Isolation, characterization, and differentiation of stem cells derived from the rat amniotic membrane. *Differentiation* 2008; 76: 130-44.
- Majore I, Moretti P, Stahl F, Hass R, Kasper C. Growth and differentiation properties of mesenchymal stromal cell populations derived from whole human umbilical cord. *Stem Cell Rev* 2011; 7: 17-31.
- Karahuseyinoglu S, Cinar O, Kilic E, et al. Biology of stem cells in human umbilical cord stroma: in situ and in vitro surveys. *Stem Cells* 2007; 25: 319-31.
- Broxmeyer HE, Srour E, Orschell C, et al. Cord blood stem and progenitor cells. *Methods Enzymol* 2006; 419: 439-73.
- Bayo J, Marrodan M, Aquino JB, Silva M, Garcia MG, Mazzolini G. The therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stromal cells on hepatocellular carcinoma. *Liver Int* 2014; 34: 330-42.
- Hass R, Kasper C, Bohm S, Jacobs R. Different populations and sources of human mesenchymal stem cells (MSC): A comparison of adult and neonatal tissue-derived MSC. *Cell Commun Signal* 2011; 9: 12.
- Aquino JB, Bolontrade MF, Garcia MG, Podhajcer OL, Mazzolini G. Mesenchymal stem cells as therapeutic tools and gene carriers in liver fibrosis and hepatocellular carcinoma. *Gene Ther* 2010; 17: 692-708.
- Friedman SL. Mechanisms of hepatic fibrogenesis. *Gastroenterology* 2008; 134: 1655-69.
- Lee YA, Wallace MC, Friedman SL. Pathobiology of liver fibrosis: a translational success story. *Gut* 2015; 64: 830-41.
- Ranera B, Remacha AR, Alvarez-Arguedas S, et al. Effect of hypoxia on equine mesenchymal stem cells derived from bone marrow and adipose tissue. *BMC Vet Res* 2012; 8: 142.
- Thomas JA, Pope C, Wojtacha D, et al. Macrophage therapy for murine liver fibrosis recruits host effector cells improving fibrosis, regeneration, and function. *Hepatology* 2011; 53: 2003-15.
- Kidd S, Spaeth E, Dembinski JL, et al. Direct evidence of mesenchymal stem cell tropism for tumor and wounding microenvironments using in vivo bioluminescent imaging. *Stem Cells* 2009; 27: 2614-23.
- Francois S, Bensidhoum M, Mouisseddine M, et al. Local irradiation not only induces homing of human mesenchymal stem cells at exposed sites but promotes their widespread engraftment to multiple organs: a study of their quantitative distribution after irradiation damage. *Stem Cells* 2006; 24: 1020-9.
- Keung EZ, Nelson PJ, Conrad C. Concise review: genetically engineered stem cell therapy targeting angiogenesis and tumor stroma in gastrointestinal malignancy. *Stem Cells* 2013; 31: 227-35.

27. Fernandez M, Simon V, Herrera G, Cao C, Del Favero H, Minguell JJ. Detection of stromal cells in peripheral blood progenitor cell collections from breast cancer patients. *Bone Marrow Transplant* 1997; 20: 265-71.
28. Lorenzini S, Isidori A, Catani L, et al. Stem cell mobilization and collection in patients with liver cirrhosis. *Aliment Pharmacol Ther* 2008; 27: 932-9.
29. Tondreau T, Meuleman N, Delforge A, et al. Mesenchymal stem cells derived from CD133-positive cells in mobilized peripheral blood and cord blood: proliferation, Oct4 expression, and plasticity. *Stem Cells* 2005; 23: 1105-12.
30. Spaeth E, Klopp A, Dembinski J, Andreeff M, Marini F. Inflammation and tumor microenvironments: defining the migratory itinerary of mesenchymal stem cells. *Gene Ther* 2008; 15: 730-8.
31. Ponte AL, Marais E, Gallay N, et al. The in vitro migration capacity of human bone marrow mesenchymal stem cells: comparison of chemokine and growth factor chemotactic activities. *Stem Cells* 2007; 25: 1737-45.
32. Ko IK, Kean TJ, Dennis JE. Targeting mesenchymal stem cells to activated endothelial cells. *Biomaterials* 2009; 30: 3702-10.
33. Li Q, Zhou X, Shi Y, et al. In vivo tracking and comparison of the therapeutic effects of MSCs and HSCs for liver injury. *PLoS One* 2013; 8: e62363.
34. Eom YW, Shim KY, Baik SK. Mesenchymal stem cell therapy for liver fibrosis. *Korean J Intern Med* 2015; 30: 580-9.
35. Ayatollahi M, Soleimani M, Tabei SZ, Kabir Salmani M. Hepatogenic differentiation of mesenchymal stem cells induced by insulin like growth factor-I. *World J Stem Cells* 2011; 3: 113-21.
36. He H, Liu X, Peng L, et al. Promotion of hepatic differentiation of bone marrow mesenchymal stem cells on decellularized cell-deposited extracellular matrix. *Biomed Res Int* 2013; 2013: 406871.
37. Piryaei A, Valojerdi MR, Shahsavani M, Baharvand H. Differentiation of bone marrow-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells on nanofibers and their transplantation into a carbon tetrachloride-induced liver fibrosis model. *Stem Cell Rev* 2011; 7: 103-18.
38. Aurich H, Sgodda M, Kaltwasser P, et al. Hepatocyte differentiation of mesenchymal stem cells from human adipose tissue in vitro promotes hepatic integration in vivo. *Gut* 2009; 58: 570-81.
39. Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, et al. Adipose tissue-derived mesenchymal stem cells as a source of human hepatocytes. *Hepatology* 2007; 46: 219-28.
40. Sun J, Yuan Y, Qin H, et al. Serum from hepatectomized rats induces the differentiation of adipose tissue mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells and up-regulates the expression of hepatocyte growth factor and interleukin-6 in vitro. *Int J Mol Med* 2013; 31: 667-75.
41. Prasajak P, Leeanansaksiri W. Developing a New Two-Step Protocol to Generate Functional Hepatocytes from Wharton's Jelly-Derived Mesenchymal Stem Cells under Hypoxic Condition. *Stem Cells Int* 2013; 2013: 762196.
42. Cui L, Zhou X, Li J, et al. Dynamic microRNA profiles of hepatic differentiated human umbilical cord lining-derived mesenchymal stem cells. *PLoS One* 2012; 7: e44737.
43. Luk JM, Wang PP, Lee CK, Wang JH, Fan ST. Hepatic potential of bone marrow stromal cells: development of in vitro co-culture and intra-portal transplantation models. *J Immunol Methods* 2005; 305: 39-47.
44. Sato Y, Araki H, Kato J, et al. Human mesenchymal stem cells xenografted directly to rat liver are differentiated into human hepatocytes without fusion. *Blood* 2005; 106: 756-63.
45. Dai LJ, Li HY, Guan LX, Ritchie G, Zhou JX. The therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on hepatic cirrhosis. *Stem Cell Res* 2009; 2: 16-25.
46. Parekkadan B, van Poll D, Suganuma K, et al. Mesenchymal stem cell-derived molecules reverse fulminant hepatic failure. *PLoS One* 2007; 2: e941.
47. Ishikawa H, Jo J, Tabata Y. Liver anti-fibrosis therapy with mesenchymal stem cells secreting hepatocyte growth factor. *J Biomater Sci Polym Ed* 2012; 23: 2259-72.
48. Stoltz JF, de Isla N, Li YP, et al. Stem cells and regenerative medicine: Myth or reality of the 21th Century. *Stem Cells Int* 2015; 2015: 734731.
49. Meirelles Lda S, Fontes AM, Covas DT, Caplan AI. Mechanisms involved in the therapeutic properties of mesenchymal stem cells. *Cytokine Growth Factor Rev* 2009; 20: 419-27.
50. Yu B, Zhang X, Li X. Exosomes derived from mesenchymal stem cells. *Int J Mol Sci* 2014; 15: 4142-57.
51. Vallabhaneni KC, Penfornis P, Dhule S, et al. Extracellular vesicles from bone marrow mesenchymal stem/stromal cells transport tumor regulatory microRNA, proteins, and metabolites. *Oncotarget* 2015; 6: 4953-67.
52. Brooke G, Cook M, Blair C, et al. Therapeutic applications of mesenchymal stromal cells. *Semin Cell Dev Biol* 2007; 18: 846-58.
53. van Poll D, Parekkadan B, Cho CH, et al. Mesenchymal stem cell-derived molecules directly modulate hepatocellular death and regeneration in vitro and in vivo. *Hepatology* 2008; 47: 1634-43.
54. Balber AE. Concise review: aldehyde dehydrogenase bright stem and progenitor cell populations from normal tissues: characteristics, activities, and emerging uses in regenerative medicine. *Stem Cells* 2011; 29: 570-5.
55. Ortiz LA, Dutreil M, Fattman C, et al. Interleukin 1 receptor antagonist mediates the antiinflammatory and antifibrotic effect of mesenchymal stem cells during lung injury. *Proc Natl Acad Sci USA* 2007; 104: 11002-7.
56. Hematti P. Role of mesenchymal stromal cells in solid organ transplantation. *Transplant Rev (Orlando)* 2008; 22: 262-73.
57. Li T, Zhu J, Ma K, et al. Autologous bone marrow-derived mesenchymal stem cell transplantation promotes liver regeneration after portal vein embolization in cirrhotic rats. *J Surg Res* 2013; 184: 1161-73.
58. Li J, Zhang L, Xin J, et al. Immediate intraportal transplantation of human bone marrow mesenchymal stem cells prevents death from fulminant hepatic failure in pigs. *Hepatology* 2012; 56: 1044-52.
59. Li DL, He XH, Zhang SA, Fang J, Chen FS, Fan JJ. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells promote hepatic regeneration after partial hepatectomy in rats. *Pathobiology* 2013; 80: 228-34.
60. Zhang S, Chen L, Liu T, et al. Human umbilical cord matrix stem cells efficiently rescue acute liver failure through paracrine effects rather than hepatic differentiation. *Tissue Eng Part A* 2012; 18: 1352-64.
61. Kaibori M, Adachi Y, Shimo T, et al. Stimulation of liver regeneration after hepatectomy in mice by injection of bone marrow mesenchymal stem cells via the portal vein. *Transplant Proc* 2012; 44: 1107-9.
62. Jung J, Choi JH, Lee Y, et al. Human placenta-derived mesenchymal stem cells promote hepatic regeneration in CCl4-injured rat liver model via increased autophagic mechanism. *Stem Cells* 2013; 31: 1584-96.
63. Kiss J, Urban VS, Dudics V, Vas V, Uher F. [Mesenchymal stem cells and the immune system-immunosuppression without drugs?]. *Orv Hetil* 2008; 149: 339-46 (Abstract).

64. Li WL, Su J, Yao YC, et al. Isolation and characterization of bipotent liver progenitor cells from adult mouse. *Stem Cells* 2006; 24: 322-32.
65. Wang L, Wang X, Wang L, et al. Hepatic vascular endothelial growth factor regulates recruitment of rat liver sinusoidal endothelial cell progenitor cells. *Gastroenterology* 2012; 143: 1555-63 e2.
66. Li T, Yan Y, Wang B, et al. Exosomes derived from human umbilical cord mesenchymal stem cells alleviate liver fibrosis. *Stem Cells Dev* 2013; 22: 845-54.
67. Tan CY, Lai RC, Wong W, Dan YY, Lim SK, Ho HK. Mesenchymal stem cell-derived exosomes promote hepatic regeneration in drug-induced liver injury models. *Stem Cell Res Ther* 2014; 5: 76.
68. Prockop DJ, Oh JY. Mesenchymal stem/stromal cells (MSCs): role as guardians of inflammation. *Mol Ther* 2012; 20: 14-20.
69. Le Blanc K, Samuelsson H, Lonnie L, Sundin M, Ringden O. Generation of immunosuppressive mesenchymal stem cells in allogeneic human serum. *Transplantation* 2007; 84: 1055-9.
70. Le Blanc K, Ringden O. Immunomodulation by mesenchymal stem cells and clinical experience. *J Intern Med* 2007; 262: 509-25.
71. Aggarwal S, Pittenger MF. Human mesenchymal stem cells modulate allogeneic immune cell responses. *Blood* 2005; 105: 1815-22.
72. Augello A, Tasso R, Negrini SM, et al. Bone marrow mesenchymal progenitor cells inhibit lymphocyte proliferation by activation of the programmed death 1 pathway. *Eur J Immunol* 2005; 35: 1482-90.
73. Corcione A, Benvenuto F, Ferretti E, et al. Human mesenchymal stem cells modulate B-cell functions. *Blood* 2006; 107: 367-72.
74. Maggini J, Mirkin G, Bognanni I, et al. Mouse bone marrow-derived mesenchymal stromal cells turn activated macrophages into a regulatory-like profile. *PLoS One* 2010; 5: e9252.
75. Dayan V, Yannarelli G, Billia F, et al. Mesenchymal stromal cells mediate a switch to alternatively activated monocytes/macrophages after acute myocardial infarction. *Basic Res Cardiol* 2011; 106: 1299-310.
76. Foey AD. Masters of Immune Activation, Suppression and Deviation. In: Immune Response Activation. Edited by Guy Huynh Thien Duc. ISBN 978-953-51-1374-4, 2014.
77. Spaggiari GM, Capobianco A, Abdelrazik H, Becchetti F, Mingari MC, Moretta L. Mesenchymal stem cells inhibit natural killer-cell proliferation, cytotoxicity, and cytokine production: role of indoleamine 2,3-dioxygenase and prostaglandin E2. *Blood* 2008; 111: 1327-33.
78. Raffaghella L, Bianchi G, Bertolotto M, et al. Human mesenchymal stem cells inhibit neutrophil apoptosis: a model for neutrophil preservation in the bone marrow niche. *Stem Cells* 2008; 26: 151-62.
79. Usunier B, Benderitter M, Tamarat R, Chapel A. Management of fibrosis: the mesenchymal stromal cells breakthrough. *Stem Cells Int* 2014; 2014: 340257.
80. Banas A, Teratani T, Yamamoto Y, et al. IFATS collection: in vivo therapeutic potential of human adipose tissue mesenchymal stem cells after transplantation into mice with liver injury. *Stem Cells* 2008; 26: 2705-12.
81. Wang Y, Lian F, Li J, et al. Adipose derived mesenchymal stem cells transplantation via portal vein improves microcirculation and ameliorates liver fibrosis induced by CCl4 in rats. *J Transl Med* 2012; 10: 133.
82. Nasir GA, Mohsin S, Khan M, et al. Mesenchymal stem cells and Interleukin-6 attenuate liver fibrosis in mice. *J Transl Med* 2013; 11: 78.
83. Zhang Z, Lin H, Shi M, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve liver function and ascites in decompensated liver cirrhosis patients. *J Gastroenterol Hepatol* 2012; (27, Suppl 2): 112-20.
84. Eom YW, Kim G, Baik SK. Mesenchymal stem cell therapy for cirrhosis: Present and future perspectives. *World J Gastroenterol* 2015; 21: 10253-61.
85. Mohamadnejad M, Alimoghaddam K, Mohyeddin-Bonab M, et al. Phase 1 trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cell transplantation in patients with decompensated liver cirrhosis. *Arch Iran Med* 2007; 10: 459-66.
86. Wang L, Li J, Liu H, et al. Pilot study of umbilical cord-derived mesenchymal stem cell transfusion in patients with primary biliary cirrhosis. *J Gastroenterol Hepatol* 2013; 28 Suppl 1: 85-92.
87. Xu L, Gong Y, Wang B, et al. Randomized trial of autologous bone marrow mesenchymal stem cells transplantation for hepatitis B virus cirrhosis: regulation of Treg/Th17 cells. *J Gastroenterol Hepatol* 2014; 29: 1620-8.
88. Ma XR, Tang YL, Xuan M, Chang Z, Wang XY, Liang XH. Transplantation of autologous mesenchymal stem cells for end-stage liver cirrhosis: a meta-analysis based on seven controlled trials. *Gastroenterol Res Pract* 2015; 2015: 908275.
89. Ishikawa H, Jo JI, Tabata Y. Liver anti-fibrosis therapy with mesenchymal stem cells secreting hepatocyte growth factor. *J Biomater Sci Polym Ed* 2011.
90. Kim MD, Kim SS, Cha HY, et al. Therapeutic effect of hepatocyte growth factor-secreting mesenchymal stem cells in a rat model of liver fibrosis. *Exp Mol Med* 2014; 46: e110.
91. Sun C, Li DG, Chen YW, et al. Transplantation of urokinase-type plasminogen activator gene-modified bone marrow-derived liver stem cells reduces liver fibrosis in rats. *J Gene Med* 2008; 10: 855-66.
92. Avital I, Inderbitzin D, Aoki T, et al. Isolation, characterization, and transplantation of bone marrow-derived hepatocyte stem cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2001; 288: 156-64.
93. Lan L, Chen Y, Sun C, Sun Q, Hu J, Li D. Transplantation of bone marrow-derived hepatocyte stem cells transduced with adenovirus-mediated IL-10 gene reverses liver fibrosis in rats. *Transpl Int* 2008; 21: 581-92.
94. Fiore EJ, Bayo JM, Garcia MG, et al. Mesenchymal stromal cells engineered to produce IGF-I by recombinant adenovirus ameliorate liver fibrosis in mice. *Stem Cells Dev* 2015; 24: 791-801.
95. Bonefeld K, Moller S. Insulin-like growth factor-I and the liver. *Liver Int* 2011; 31: 911-9.
96. Castilla-Cortazar I, Garcia M, Muguera B, et al. Hepatoprotective effects of insulin-like growth factor I in rats with carbon tetrachloride-induced cirrhosis. *Gastroenterology* 1997; 113: 1682-91.
97. Conchillo M, de Knecht RJ, Payeras M, et al. Insulin-like growth factor I (IGF-I) replacement therapy increases albumin concentration in liver cirrhosis: results of a pilot randomized controlled clinical trial. *J Hepatol* 2005; 43: 630-6.