

Terapia celular hepática: tipos celulares potencialmente útiles para el trasplante

A. Bonora-Centelles^{a,b}, E. Pareja^b, M.J. Gómez-Lechón^{a,b,c}, J. Mir^b y J.V. Castell^{a,b,c,d}

^aUnidad de Hepatología Experimental. Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

^bUnidad de Terapia Celular Hepática. Hospital Universitario La Fe. Valencia. España.

^cCIBEREHD.

^dDepartamento de Bioquímica y Biología Molecular. Facultad de Medicina. Universidad de Valencia. Valencia. España.

INTRODUCCIÓN

La posibilidad de aplicar estrategias similares a las que de forma natural usa el organismo para la renovación de las células en un tejido dañado es la idea central que subyace detrás del concepto de *terapia celular y medicina regenerativa*. La terapia celular hepática está condicionada por la accesibilidad de los tipos celulares apropiados para este fin. En el presente trabajo, se hace una revisión de los distintos tipos celulares con aplicación potencial para el trasplante celular hepático, y se examinan sus características y posibilidades de aplicación, así como su diferenciación a hepatocitos. Tanto las células madre adultas de origen hepático o extrahepático, las células madre de origen embrionario, o los hepatocitos diferenciados son posibles candidatos. La accesibilidad de las células, junto con el conocimiento que nos permita diseñar protocolos de diferenciación hepática in vitro, son los factores limitantes. Actualmente, los hepatocitos adultos aislados de hígados humanos descartados para trasplante son la opción más realista, a corto plazo, con vistas a la terapia celular hepática.

LOS PRINCIPIOS DE LA TERAPIA CELULAR HEPÁTICA: ¿QUÉ CÉLULAS SERÍA POSIBLE UTILIZAR?

El trasplante hepático y la enfermedad hepática terminal

El trasplante de órganos ha sido uno de los grandes logros médicos del siglo xx. El trasplante alogénico de hígado, introducido en la práctica clínica a mediados de la década

de 1980, ha supuesto el avance terapéutico más relevante y eficaz para tratar las enfermedades hepáticas en su estadio terminal. Las técnicas quirúrgicas, junto con el desarrollo y la terapia adecuada de fármacos inmunodepresores, han hecho posible que el trasplante hepático sea una opción terapéutica integrada en la práctica clínicoquirúrgica habitual de los grandes centros hospitalarios. Sus resultados son excelentes, con una supervivencia en torno al 70% a los 5 años postrasplante. Precisamente ha sido ese éxito lo que ha hecho del trasplante una opción terapéutica accesible a muchos pacientes, sólo condicionada, hoy día, por la limitación en la disponibilidad de órganos adecuados.

Las enfermedades hepáticas degenerativas afectan, por término medio, al 17,5% de la población mundial¹. De ellos, alrededor de un 1-2% evoluciona de manera que se hace necesario el trasplante hepático. Estas cifras, muy por encima de la actual tasa de donaciones, generan un desfase entre el número de pacientes que podría beneficiarse del trasplante hepático y la actual disponibilidad de órganos, lo que resulta en un aumento gradual de la lista de espera. Pese a que España es uno de los países con una de las tasas de donación más elevada en el ámbito mundial, la mortalidad de pacientes en lista de espera para trasplante hepático (en torno al 8%) continúa ascendiendo.

¿Sanar, reponer o regenerar?

La posibilidad de aplicar estrategias terapéuticas similares a las que de forma natural usa el organismo para renovar las células dañadas ha generado un notable interés científico, y se han acuñado nuevos términos, como *medicina regenerativa y terapia celular*. El principio en el que se apoya la terapia celular es en el trasplante de células, en lugar del órgano entero, con el fin de lograr la recuperación de la capacidad funcional del órgano. Esta es la

Correspondencia: J.V. Castell Ripoll.
Unidad de Hepatología Experimental. Hospital Universitario La Fe.
Avda. Campanar, 21. 46009 Valencia. España.
Correo electrónico: jose.castell@uv.es

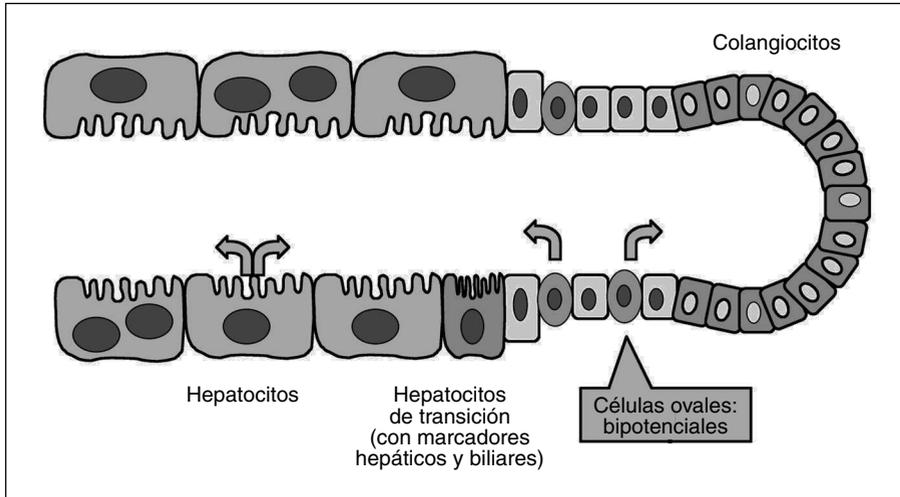


Fig. 1. Nicho celular intrahepático y sus componentes celulares.

opción terapéutica potencialmente más prometedora para actuar de una manera eficaz y resolutoria en enfermedades degenerativas, allí donde el trasplante de órgano entero no es posible.

Hay 2 vías posibles de actuación en la terapia celular hepática que difieren en la estrategia de su aplicación: *a*) el trasplante de *células somáticas diferenciadas*, funcionales (hepatocitos), en número suficiente para poder asumir las funciones metabólicas del órgano dañado²⁻⁵, y *b*) el trasplante de *células progenitoras hepáticas*, que den origen a hepatocitos funcionales en el propio órgano dañado, y así contribuir a recuperar su función^{6,7}.

Los avances recientes de la biología celular y molecular han sentado las bases para que la terapia basada en el uso de células hepáticas diferenciadas (hepatocitos adultos), o células progenitoras diferenciadas a hepatocitos, sean una idea verosímil y realizable. La capacidad de las células progenitoras de multiplicarse, y al tiempo diferenciarse a tipos celulares específicos, en función del entorno y estímulos que reciban, hace percibir a estas últimas como un recurso potencialmente inagotable de células hepáticas utilizables para trasplante celular. Sin embargo, la terapia de células progenitoras hepáticas es muy complejo, y nuestro actual grado de conocimiento no es equiparable al que se posee en terapias celulares aplicados a otros órganos. En la raíz del problema está nuestro conocimiento, todavía insuficiente, de los mecanismos que llevan a la diferenciación de las células progenitoras hacia el hepatocito adulto.

Los hepatocitos son células diferenciadas terminales que poseen todas las capacidades metabólicas características del hígado, pero que, sin embargo, tienen una capacidad proliferativa *in vitro* muy baja. Por tanto, no es viable expandirlas de forma significativa, y su obtención, con vistas a la terapia celular, debe hacerse a partir de tejido hepático adulto. No obstante, los hepatocitos adultos son, hoy día, la única forma de terapia celular que se ha podido aplicar con éxito en humanos²⁻⁵.

CÉLULAS PROGENITORAS HEPÁTICAS: EL NICHOS HEPÁTICO

Una característica que diferencia al hígado de otros órganos es su notable y aparentemente ilimitada capacidad de autorregeneración, cuando parte del tejido hepático desaparece por resección del parénquima o muerte celular de los hepatocitos. La regeneración hepática es una respuesta del hígado ante el daño tisular. Durante el proceso regenerativo hepático, diferentes poblaciones celulares alojadas en el hígado, incluidos los hepatocitos adultos, inician un proceso proliferativo. La magnitud de la respuesta mitótica es proporcional a la cantidad de parénquima dañado, y la regeneración cesa cuando se ha restaurado el tamaño original del hígado^{8,9}.

Un fenómeno regenerativo de este tipo ha dado pie a hipotetizar la existencia de células progenitoras intrahepáticas capaces de dar origen a los distintos tipos celulares hepáticos y, al mismo tiempo, autopropetarse, y que, por tanto, tendrían las características de células troncales o *stem cells* adultas^{10,11}. Las células troncales presentes en los tejidos adultos son multipotenciales, en el sentido de que pueden dar origen a distintos tipos celulares de un mismo origen embrionario. Las células que se encuentran próximas al estadio final de diferenciación y sólo pueden dar origen a células de un único tejido se denominan *células progenitoras*.

La existencia real de células progenitoras hepáticas se cuestionó durante muchos años debido a la capacidad que presentan los hepatocitos y los colangiocitos, por separado, de proliferar tras un daño hepático. Las primeras candidatas fueron unas células situadas en los canales de Hering, junto a los ductos biliares terminales, y que por su forma característica se denominaron *células ovals*^{12,13}. Las células ovals se consideran hoy día células progenitoras bipotenciales, es decir, capaces de dar lugar a células parenquimales (hepatocitos) y a las del epitelio biliar (colangiocitos). Las células ovals constituyen una reserva de regeneración que se activa, bien después de un daño masivo, bien cuando la proliferación de los hepatocitos

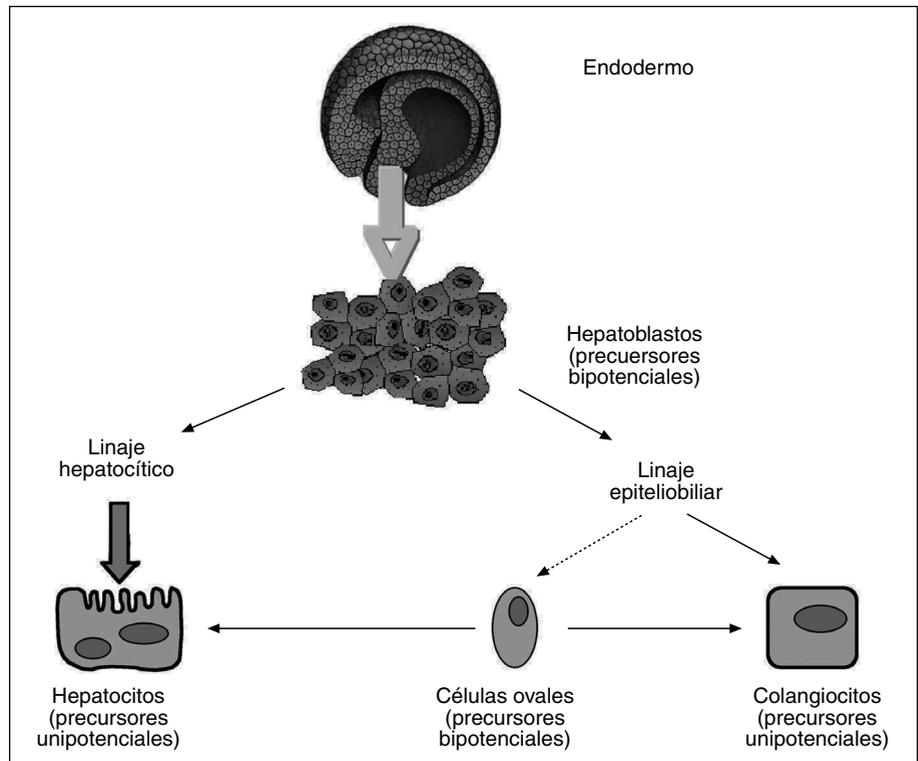


Fig. 2. Desarrollo ontogénico del hígado y linajes celulares implicados.

está bloqueada^{9,12,14}. Estas células colonizan el parénquima dando lugar a la aparición de pequeños núcleos de hepatocitos altamente basófilos, y desaparecen cuando el parénquima se reconstruye de forma gradual (fig. 1).

Si una célula *progenitora* es la que presenta una capacidad elevada de autorreplicación y de dar origen a un tipo celular, cabría considerar al hepatocito adulto como célula progenitora hepática unipotencial. Los hepatocitos, aunque habitualmente permanecen quiescentes, pueden activarse para producir una progenie cuya única opción de diferenciación es la hepatocítica, y ocasionalmente ductal. Es posible que la metaplasia ductal vista en enfermedades colestásicas refleje una posible capacidad bipotencial de los hepatocitos.

De este modo, en el nicho progenitor intrahepático encontramos hepatocitos adultos «unipotenciales» (capaces de dar origen sólo a hepatocitos), hepatocitos transitorios «bipotenciales», células ovas «bipotenciales» y colangiocitos «unipotenciales». Todos ellos, en conjunto, constituyen una población celular de reserva, lista para repoblar el hígado cuando se requiera (fig. 1).

Se ha indicado la existencia de 2 posibles factores implicados en el proceso de regeneración hepática tras daño hepático, que controlaría la participación de células ovas y de hepatocitos: *light* y *tweak*^{15,16}. El primero de ellos parece estar implicado en la proliferación de los hepatocitos adultos, mientras que el segundo controlaría la división y la diferenciación de las células ovas a hepatocitos¹⁵. No se conocen el papel y la relevancia real de las células progenitoras hepáticas (ovales) en los procesos de reparación tisular. Posiblemente, venga de la mano de es-

tudios in vitro de los mecanismos moleculares y los procesos de regulación implicados en la expansión y la diferenciación de esta población celular^{14,17}.

El origen de las células ovas tampoco está inequívocamente definido y su posible origen, bien embrionario o de médula ósea, es tema de discusión¹⁸⁻²⁰. El hecho de que en el feto sean los *hepatoblastos* progenitores de hepatocitos adultos y células epiteliales biliares, califica a estas células como progenitoras bipotenciales (fig. 2). Sin embargo, no se ha podido confirmar si de ellas derivan las que en el estadio adulto retienen su bipotencialidad (células ovas).

CÉLULAS TRONCALES EMBRIONARIAS Y SU DIFERENCIACIÓN A HEPATOCITOS

En el ser humano, el hígado aparece como un órgano diferenciado a partir de la cuarta semana de embarazo. Surge a partir de un divertículo del endodermo donde la parte superior da origen al parénquima hepático y la inferior al conducto y vesícula biliares.

La morfogenia y la especificación hepáticas dependen fundamentalmente de 2 rutas de señalización²¹⁻²³: a) el mesodermo cardíaco, que se encuentra en su proximidad inmediata, induce una respuesta morfogenética en el endodermo por medio de factores de crecimiento fibroblásticos (FGF). Junto a esto, proteínas morfogenéticas óseas secretadas desde el mesénquima del septo transversal inducen a las células del endodermo ventral hacia su diferenciación a hepatoblastos, y b) factores de crecimiento del tipo HGF (factor de crecimiento hepático), involucrado en la regeneración hepática tras un daño tisular, tienen

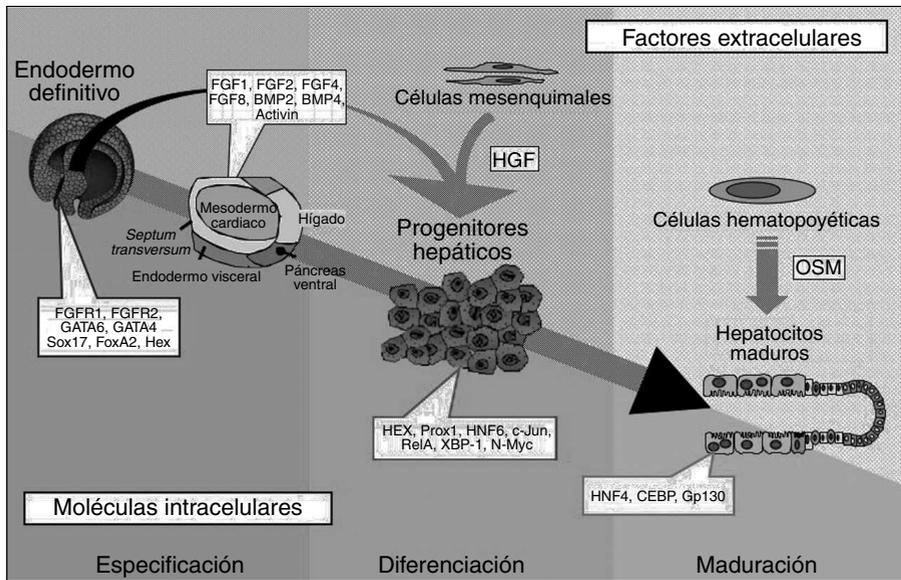


Fig. 3. Diferenciación hepática a partir del endodermo definitivo. Factores extracelulares y moléculas intracelulares implicados.

BMP: bone morphogenic protein; CEBP: CCAAT/Enhancer binding protein; c-Jun: protein kinase c-Jun; FGF: fibroblastic growth factor; FGFR: fibroblastic growth factor receptor; FoxA2: Forkhead box A2; GATA: GATA-binding protein; Gp130: glicoprotein 130; Hex: hematopoietically expressed homeobox; HGF: hepatocyte growth factor; HNF: hepatocyte nuclear factor; N-Myc: oncogene N-Myc; OSM: oncostatin M; Prox1: prospero-related homeobox gene 1; RelA: v-Rel Avian reticuloendotheliosis viral oncogene homolog A; Sox17: Sry-related HMG-Box gene 17; XBP: X-box binding protein.

también un papel determinante en la inducción del proceso de diferenciación hepáticos, junto a los glucocorticoides²⁴. En la maduración y la diferenciación terminal, la oncostatina (OSM) y los glucocorticoides desempeñan un papel muy importante. Ambos inducen cambios morfológicos y la expresión de marcadores de diferenciación hepáticos²⁴ (fig. 3).

La adherencia celular a una matriz extracelular, y una densidad celular elevada que facilite los contactos célula-célula, son asimismo de vital importancia para la diferenciación celular hacia hepatoblasto²⁵. Factores proteicos asociados con la matriz extracelular, como el factor de crecimiento epidérmico (EGF) y el factor de crecimiento transformante alfa, están implicados en la diferenciación celular inducida por la matriz. Los hepatoblastos (bipotenciales) migran a través del septo transversal, y comienzan a diferenciarse, regulados por las señales que reciben del mesénquima portal: los hepatoblastos que no están en contacto con el mesénquima diferencian en hepatocitos, y en el caso de las células que están en contacto con el mesénquima del tracto portal, diferencian a células ductales biliares. Así pues, se distingue una población que sólo expresa marcadores hepáticos (alfafetoproteína, albúmina); una segunda población que expresa marcadores de células biliares (citoqueratina 19), y una tercera que mantiene la expresión de marcadores hepáticos como biliares (hepatoblastos).

Un mejor conocimiento de la compleja red de señales implicadas en el desarrollo y diferenciación celular del hígado (fig. 3) ha permitido diseñar protocolos de diferenciación hepática in vitro de células troncales embrionarias (*stem*) hacia fenotipo hepático. Estas células provienen de la masa interna del blastocisto. En un extremo de la cavidad interna (*blastocela*), que está rodeada por la capa exterior de células (*trofoblasto*), hay una *masa celular interna* de aproximadamente 30 células. Estas células son *pluripotenciales*, en el sentido de que son capaces de dar

origen a todas las células de un organismo, pero no a un ser completo.

Ha sido posible generar, a partir de estas células humanas embrionarias, linajes celulares con características hepáticas diferenciadas, bien de forma más o menos espontánea²⁶⁻²⁸, o gracias a procesos complejos de adición secuencial de factores exógenos, que se sabe que están implicados en la diferenciación celular²⁹⁻³¹. La adición secuencial de factores exógenos trata de reproducir lo que acontece durante las fases de «especificación», «diferenciación» y «maduración» en el desarrollo embrionario del órgano, con lo cual se logra una diferenciación más eficaz y homogénea.

TRANSDIFERENCIACIÓN DE CÉLULAS DE DISTINTO ORIGEN EMBRIONARIO A HEPATOCITOS

En los tejidos adultos hay poblaciones celulares localizadas en nichos regenerativos que son multipotenciales, es decir, con capacidad para diferenciarse a células del órgano o tejido en el que residen. Sin embargo, evidencias experimentales recientes han demostrado que también poseen un cierto carácter pluripotencial, lo que ha dado origen al concepto de *plasticidad celular*: capacidad de una célula madre adulta para generar tipos celulares de origen embrionario diferente al suyo³².

Los posibles mecanismos que subyacen tras los fenómenos de plasticidad celular podrían ser varios: a) la existencia en el mismo tejido de células madre de distinta estirpe, cada una con distintas capacidades; b) fenómenos de fusión celular entre las células madre provenientes de otros tejidos y células residentes; c) desdiferenciación, hacia un estadio celular anterior, seguido por la diferenciación hacia células de distinta estirpe, y d) existencia en nichos de células madre indiferenciadas, remanentes del tejido embrionario.

Se ha descrito para varios tipos celulares la posibilidad de inducir la transdiferenciación de células pluripotenciales de distintos tejidos hacia un fenotipo hepático (fig. 4).

Células progenitoras hematopoyéticas

Hay evidencias de que las células madre hematopoyéticas pueden contribuir a la regeneración hepática durante el fallo hepático agudo. Con estímulos apropiados, esta población celular es capaz de diferenciarse hacia un linaje epitelial, como parece deducirse del hecho de que el trasplante de células de médula ósea de un sexo a un animal del otro sexo resulta en la aparición de hepatocitos del sexo del donante de médula¹⁸. Asimismo, células madre hematopoyéticas de médula ósea, con fenotipo Lin-, cKit+, Thy-1, Sca-1, son capaces de regenerar un hígado murino en un modelo de daño hepático fulminante. Asimismo, células hematopoyéticas permitieron recuperar la plena función hepática en un modelo animal de tirosinemia I³³. A partir de estas y similares evidencias, y en que las células ovals expresan algunos marcadores de superficie tradicionalmente asociados a células madre hematopoyéticas (c-kit, Thy-1, CD34), se indicó un posible origen hematopoyético de las células ovals^{18,20}.

Células mesenquimales de la médula ósea

La médula ósea es un tejido derivado del mesodermo embrionario, constituido por un sistema celular hematopoyético complejo, embebido en una matriz extracelular compleja. Las células madre mesenquimales (MSC) se encuentran en el compartimiento estromal adherente de la médula ósea y representan una fracción minoritaria de la población celular total nucleada (0,0001-0,001%). Se han descrito diferentes marcadores celulares (SH2, SH3, CD90, CD106, CD44, CD71, CD120a) que permiten identificar y aislar las células MSC. Esta población celular, que no expresa los marcadores típicos de las células hematopoyéticas HSC, CD34, CD45, CD14, presenta una plasticidad celular notable³⁴. Con respecto a la diferenciación hepática, recientemente se han publicado estudios que demuestran la generación de células con fenotipo hepático a partir de MSC: la combinación de FGFb, EGF, HGF OSM y Dex es capaz de inducir en estas células la expresión de marcadores típicamente hepáticos^{35,36}.

Side population

En la médula ósea, se ha descrito un subtipo celular denominado *cell side population* (SP), caracterizado por una capacidad de efluir el colorante Hoechst 33342, dependiente del verapamilo³⁷. También se han aislado células SP de muchos tejidos y tienen características de células multipotentes. Evidencias experimentales indican que células con fenotipo SP, aisladas de la fracción no parenquimal de hígado humano, pueden dar origen a hepatocitos³⁸.

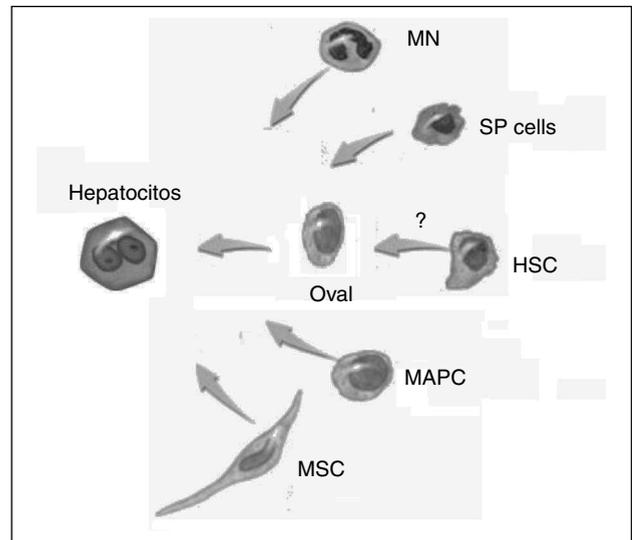


Fig. 4. Poblaciones celulares de origen extrahepático implicadas en fenómenos de transdiferenciación a fenotipo hepático. HSC: células madre hematopoyéticas; MAPC: células progenitoras adultas multipotenciales; MN: monocitos; MSC: células madre mesenquimales; SP: células side population.

Células progenitoras multipotenciales adultas

Las denominadas células progenitoras multipotenciales adultas (MAPC), presentes en la médula ósea, se han descrito como auténticas células pluripotenciales, con una capacidad de diferenciación muy similar a las células madre embrionarias³⁴. Las MAPC son capaces de proliferar in vitro sin aparente envejecimiento (más de 120 ciclos celulares). Al igual que las células madre embrionarias, las MAPC expresan Oct-4 nanog y rex-1, factores necesarios para mantener a una célula en un estado proliferativo e indiferenciado.

Ha sido posible diferenciar estas células, cultivadas sobre matrigel y estimuladas con FGF-4 y HGF, hacia un fenotipo adulto con la consiguiente expresión de marcadores característicos de hepatocitos (HNF3β, GATA4, CK19, transtirretina, AFP y posteriormente CK18, HNF4 y HNF1α y albúmina). Las células así diferenciadas no sólo adquirieron morfología hepática (forma poligonal, binucleadas), sino que también expresaron actividades funcionales típicamente hepáticas: secretaron al medio urea y albúmina, capturaron LDL y acumularon glucógeno y citocromo P450 inducible por fenobarbital³⁹. Si los resultados de este grupo, que se han cuestionado, se confirmaran, MAPC podrían ser una fuente ideal para terapias celulares de enfermedades hepáticas.

Células mesenquimales, no procedentes de médula ósea

Estudios recientes han identificado también en el estroma adiposo una población de células madre (en inglés, *adipo-*

se derived stem cells)⁴⁰. El tejido adiposo, como la médula ósea, deriva del mesénquima embrionario, y sus células tienen más capacidad proliferativa que las MSC aisladas de la médula ósea. A partir de lipoaspirados humanos de tejido adiposo, se puede aislar una población celular que, como las células de la médula ósea, es capaz de diferenciarse a linajes osteogénicos, adipogénicos, miogénicos y condriogénicos⁴¹. Sus características *in vitro* e *in vivo*, similares en muchos aspectos a los de la médula ósea, hace que estas células puedan diferenciarse hacia fenotipo hepático^{35,42}.

Otras células

Además de la médula ósea y del tejido adiposo antes mencionados, se ha demostrado la existencia de células madre adultas pluripotenciales de origen neural⁴³ y muscular⁴⁴. Asimismo, ha sido posible identificar células multipotentes en la epidermis⁴⁵.

Recientemente, ha sido posible «retrodiferenciar» fibroblastos en cultivo hacia un fenotipo de célula troncal embrionaria. Las células denominadas *células pluripotentes inducidas* pueden ser diferenciadas a células de distinta ontogenia embrionaria. De confirmarse estos resultados, estaríamos ante la posibilidad de poder generar células madre embrionarias a partir de células somáticas adultas⁴⁶.

Otro caso interesante lo constituye la «retrodiferenciación» de células diferenciadas terminales, tal es el caso de los monocitos de sangre periférica humana, a fenotipo hepático humano⁴⁷.

CÉLULAS HEPÁTICAS ADULTAS FRENTE A PROGENITORES HEPÁTICOS. SU POTENCIAL APLICABILIDAD EN EL TRASPLANTE CELULAR HEPÁTICO

El trasplante celular es posiblemente la opción terapéutica más prometedora para combatir enfermedades degenerativas, incluidas las hepáticas, que permitiría abordar situaciones para las cuales la única terapia eficaz es el trasplante de órgano, y éste no es posible. Tras esta afirmación, hay una creciente base científica y una visión avanzada del concepto del trasplante. Por similitud al trasplante de órganos, que surgió como intento de recuperar la función reemplazando el órgano dañado en una enfermedad terminal, el trasplante celular pretende alcanzar el mismo objetivo implantando células funcionalmente activas capaces de asumir las funciones metabólicas.

En ciertas enfermedades hepáticas (enfermedades metabólicas), es imaginable pensar que, con el trasplante de una fracción relativamente pequeña de células, sería posible recuperar una capacidad metabólica suficiente⁵. Ello puede hacerse mediante el trasplante de células hepáticas diferenciadas terminales (hepatocitos), o bien mediante progenitores hepáticos de distinto origen que den origen a hepatocitos funcionales, una vez implantados en el órgano enfermo. En el primero de los casos, los hepatocitos

adultos, si bien son plenamente funcionales desde el punto de vista metabólico, su capacidad proliferativa está limitada, lo que necesariamente requiere el trasplante de un número importante de células. Por otro lado, la utilización de progenitores hepáticos contaría con la ventaja de que estas células tienen mucha más capacidad proliferativa; así, una pequeña cantidad de células podría *repoblar* el órgano enfermo y sustituir a las células anteriormente enfermas o deficitarias. Pero, dado que estas células no tienen la capacidad metabólica funcional de los hepatocitos, deben ser capaces de diferenciarse *in situ* a hepatocitos adultos.

Con vistas a su utilización en terapia celular hepática, tanto las células troncales como las progenitoras hepáticas, y las adultas diferenciadas, presentan ventajas potenciales y limitaciones (tabla I). Las células madre (y las progenitoras hepáticas) poseen las características que las convierten en candidatas potenciales para la terapia celular: su capacidad de proliferar y expandirse, y al tiempo diferenciarse, para dar lugar a tipos celulares especializados. En el nivel de mayor proliferación (y menor diferenciación) se encuentran las células madre embrionarias que son capaces de diferenciarse a cualquier tipo celular, incluido el hepático^{7,26-28,31}. Sin embargo, las actuales limitaciones de estas células son 2: *a*) no se ha logrado reproducir el proceso de diferenciación completo hasta hepatocito adulto, y *b*) por su capacidad de proliferación, su utilización clínica tiene un riesgo, nada despreciable, de poder dar origen a neoplasias. Necesariamente, estas líneas tienen que ser heterólogas, con los consiguientes problemas inmunológicos de cara a su aceptación por el huésped, a menos que, como demuestra un estudio reciente, sea posible obtener células con las características de células troncales embrionales humanas, a partir de fibroblastos⁴⁶.

La posibilidad de obtener células progenitoras autólogas, útiles para la terapia celular hepática, permitiría disponer de una fuente de células inmunológicamente compatibles para esta terapia. Las células progenitoras intrahepáticas (células ovals) están presentes en cantidad muy reducida en el hígado^{11,13,14,16,48-50}, y su aislamiento ha de hacerse a partir del propio hígado. No se ha logrado aislarlas y expandirlas *in vitro* de manera eficaz.

Las MSC de médula ósea^{34,35,51} o de tejido adiposo^{35,41,51-53} parecen ser las células que, por su mayor facilidad en la obtención, su relativa facilidad para expandirse *in vitro*, y su capacidad de diferenciarse a hepatocitos, podrían convertirse en fuente de progenitores hepáticos autólogos para la terapia celular. Las MSC de tejido adiposo parece que tienen más capacidad proliferativa que las de la médula ósea, lo que le confiere ventajas objetivas para constituir una fuente de células adultas autólogas. Sin embargo, hoy por hoy, no se está en condiciones de poder utilizarlas para uso clínico en la terapia celular hepática⁵⁴.

El trasplante celular con hepatocitos adultos, a diferencia del xenotrasplante, la terapia génica, o uso de células progenitoras, es una alternativa con mayores posibilidades de trasladarse a la clínica humana con éxito y con resultados

TABLA I. Aspectos generales inherentes a los tratamientos con células madre embrionarias (ES), células progenitoras adultas y células somáticas

Tipos de células	Células madre embrionarias	Progenitoras adultas	Hepatocitos
Origen	Masa interna del blastocisto	Tejidos adultos	Hígado
Tasa de replicación	No limitada	Parcialmente limitada	Limitada
Potencialidad	Pluripotenciales	Pluripotenciales/multipotenciales	Unipotenciales
Accesibilidad	Restringida	Fácil en algunos tejidos (médula, adiposo)	Fácil; limitada por disponibilidad de tejido
Dificultad de expansión	Baja (riesgo diferenciación espontánea no controlada)	Media	Alta (células no proliferantes)
Diferenciación	Muy compleja	Lograda parcialmente	Totalmente diferenciadas
Criopreservación	Posible	Posible	Difícil
Aplicabilidad clínica a casos agudos	No	No	Sí
Aplicabilidad clínica a enfermedades metabólicas	Sí	No, los autólogos	Sí
Rechazo inmunológico	Alta variabilidad	Si es autólogo, no	Baja, controlable
Riesgo de tumorigenesis	Alto, por células parcialmente indiferenciadas	Bajo	Casi nulo

a corto plazo, con los conocimientos actuales^{2,54,55}. Pese a los indudables logros alcanzados²⁻⁵, hay limitaciones que dificultan el hecho que el trasplante celular sea una realidad cotidiana en la terapia de las enfermedades hepáticas: la falta de hepatocitos de calidad suficiente para su uso clínico.

Los hepatocitos adultos utilizados en el trasplante celular hepático tienen que aislarse a partir del hígado, generalmente a partir de los descartados para trasplante, el excedentario resultante de los procedimientos de reducción hepática para trasplante infantil, o como resultado de un *split*. La causa más frecuente por la que se descarta un órgano ya extraído, cuyos hepatocitos serían utilizables en trasplante celular, es una esteatosis > 50%. Sin embargo, la experiencia propia de nuestro grupo, y la de otros, es que el rendimiento y la calidad funcional de los hepatocitos disminuye notablemente con el grado de esteatosis del órgano, lo que plantea problemas derivados de la calidad y la cantidad de tejido hepático funcional disponible.

Finalmente, la terapia de pacientes mediante trasplante de hepatocitos requiere varias infusiones²⁻⁵, lo que conlleva que los hepatocitos aislados de un órgano deban criopreservarse hasta el momento de su uso. Hay diferencias importantes en cuanto a la viabilidad celular, la adhesión y la funcionalidad de las células criopreservadas, que dependen mucho de la calidad del tejido de partida. Durante el aislamiento de los hepatocitos, la utilización de la colagenasa conlleva cambios drásticos en la expresión del ácido ribonucleico mensajero específicos de hígado, y una alteración significativa de la expresión de genes hepáticos. La criopreservación de hepatocitos con vistas a su uso clínico todavía necesita que se mejoren los procedimientos para reducir la variabilidad entre partidas.

En conclusión, si bien la identificación y la explotación de una línea celular troncal/progenitora hepática, capaz de generar hepatocitos humanos funcionales, tendría importantes implicaciones clínicas, los hepatocitos humanos aislados de hígados son hoy día la única opción realista a corto plazo con vistas a la terapia celular hepática.

BIBLIOGRAFÍA

1. Bellentani S, Tribelli C. The spectrum of liver disease in the general population: lesson from the Dionysos study. *Physiol Rev.* 2001;35:531-7.
2. Fisher RA, Strom SC. Human hepatocyte transplantation: worldwide results. *Transplantation.* 2006;82:441-9.
3. Dhawan A, Mitry RR, Hughes RD. Hepatocyte transplantation for metabolic disorders, experience at King's College hospital and review of literature. *Acta Gastroenterol Belg.* 2005;68:457-60.
4. Dhawan A, Mitry RR, Hughes RD. Hepatocyte transplantation for liver-based metabolic disorders. *J Inherit Metab Dis.* 2006; 29:431-5.
5. Sokal EM. Liver transplantation for inborn errors of liver metabolism. *J Inherit Metab Dis.* 2006;29:426-30.
6. Korbiling M, Estrov Z. Adult stem cells for tissue repair – A new therapeutic concept? *N Engl J Med.* 2003;349:570-82.
7. Wobus AM, Boheler KR. Embryonic stem cells: prospects for developmental biology and cell therapy. *Physiol Rev.* 2005;85: 635-78.
8. Michalopoulos GK, DeFrances MC. Liver regeneration. *Science.* 1997;276:60-6.
9. Vig P, Russo FP, Edwards RJ, Tadrous PJ, Wright NA, Thomas HC, et al. The sources of parenchymal regeneration after chronic hepatocellular liver injury in mice. *Hepatology.* 2006;43: 316-24.
10. Bird TG, Lorenzini S, Forbes SJ. Activation of stem cells in hepatic diseases. *Cell Tissue Res.* 2008;331:283-300.
11. Forbes S, Vig P, Poulosom R, Thomas H, Alison M. Hepatic stem cells. *J Pathol.* 2002;197:510-8.
12. Roskams T. Different types of liver progenitor cells and their niches. *J Hepatol.* 2006;45:1-4.
13. Strain AJ, Crosby HA, Nijjar S, Kelly DA, Hubscher SG. Human liver-derived stem cells. *Semin Liver Dis.* 2003;23:373-84.
14. He ZP, Tan WQ, Tang YF, Zhang HJ, Feng MF. Activation, isolation, identification and in vitro proliferation of oval cells from adult rat livers. *Cell Prolif.* 2004;37:177-87.
15. Fausto N. Tweaking liver progenitor cells. *Nat Med.* 2005;11: 1053-4.
16. Fausto N, Campbell JS. The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation. *Mech Dev.* 2003;120: 117-30.
17. Rogler LE. Selective bipotential differentiation of mouse embryonic hepatoblasts in vitro. *Am J Pathol.* 1997;150:591-602.
18. Alison MR, Poulosom R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, Jacob J, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature.* 2000;406:257.
19. Crosby HA, Strain AJ. Adult liver stem cells: bone marrow, blood, or liver derived? *Gut.* 2001;48:153-4.
20. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, Mars WM, Sullivan AK, Murase N, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science.* 1999;284:1168-70.
21. Kinoshita T, Miyajima A. Cytokine regulation of liver development. *Biochim Biophys Acta.* 2002;1592:303-12.

22. Zaret KS. Liver specification and early morphogenesis. *Mech Dev.* 2000;92:83-8.
23. Zaret KS. Hepatocyte differentiation: from the endoderm and beyond. *Curr Opin Genet Dev.* 2001;11:568-74.
24. Kamiya A, Kinoshita T, Miyajima A. Oncostatin M and hepatocyte growth factor induce hepatic maturation via distinct signaling pathways. *FEBS Lett.* 2001;492:90-4.
25. DiPersio CM, Jackson DA, Zaret KS. The extracellular matrix coordinately modulates liver transcription factors and hepatocyte morphology. *Mol Cell Biol.* 1991;11:4405-14.
26. Lavon N, Yanuka O, Benvenisty N. Differentiation and isolation of hepatic-like cells from human embryonic stem cells. *Differentiation.* 2004;72:230-8.
27. Duan Y, Catana A, Meng Y, Yamamoto N, He S, Gupta S, et al. Differentiation and enrichment of hepatocyte-like cells from human embryonic stem cells in vitro and in vivo. *Stem Cells.* 2007;25:3058-68.
28. Rambhatla L, Chiu CP, Kundu P, Peng Y, Carpenter MK. Generation of hepatocyte-like cells from human embryonic stem cells. *Cell Transplant.* 2003;12:1-11.
29. Gouon-Evans V, Boussemart L, Gadue P, Nierhoff D, Koehler CI, Kubo A, et al. BMP-4 is required for hepatic specification of mouse embryonic stem cell-derived definitive endoderm. *Nat Biotechnol.* 2006;24:1402-11.
30. Liedtke C, Streetz KL. Hepatocytes from embryonic stem cells: Prometheus revisited? *Hepatology.* 2007;45:829-30.
31. Cai J, Zhao Y, Liu Y, Ye F, Song Z, Qin H, et al. Directed differentiation of human embryonic stem cells into functional hepatic cells. *Hepatology.* 2007;45:1229-39.
32. Poulson R, Alison MR, Forbes SJ, Wright NA. Adult stem cell plasticity. *J Pathol.* 2002;197:441-56.
33. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, Reitsma M, Dohse M, Osborne L, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nat Med.* 2000;6:1229-34.
34. Jiang Y, Jahagirdar BN, Reinhardt RL, Schwartz RE, Keene CD, Ortiz-Gonzalez XR, et al. Pluripotency of mesenchymal stem cells derived from adult marrow. *Nature.* 2002;418:41-9.
35. Talens-Visconti R, Bonora A, Jover R, Mirabet V, Carbonell F, Castell JV, et al. Hepatogenic differentiation of human mesenchymal stem cells from adipose tissue in comparison with bone marrow mesenchymal stem cells. *World J Gastroenterol.* 2006;12:5834-45.
36. Lee KD, Kuo TK, Whang-Peng J, Chung YF, Lin CT, Chou SH, et al. In vitro hepatic differentiation of human mesenchymal stem cells. *Hepatology.* 2004;40:1275-84.
37. Challen GA, Little MH. A side order of stem cells: the SP phenotype. *Stem Cells.* 2006;24:3-12.
38. Hussain SZ, Strom SC, Kirby MR, Burns S, Langemeijer S, Ueda T, et al. Side population cells derived from adult human liver generate hepatocyte-like cells in vitro. *Dig Dis Sci.* 2005;50:1755-63.
39. Schwartz RE, Reyes M, Koodie L, Jiang Y, Blackstad M, Lund T, et al. Multipotent adult progenitor cells from bone marrow differentiate into functional hepatocyte-like cells. *J Clin Invest.* 2002;109:1291-302.
40. Fraser JK, Wulur I, Alfonso Z, Hedrick MH. Fat tissue: an underappreciated source of stem cells for biotechnology. *Trends Biotechnol.* 2006;24:150-4.
41. Zuk PA, Zhu M, Ashjian P, De Ugarte DA, Huang JI, Mizuno H, et al. Human adipose tissue is a source of multipotent stem cells. *Mol Biol Cell.* 2002;13:4279-95.
42. Taléns-Visconti R, Bonora A, Jover R, Mirabet V, Carbonell F, Castell JV, et al. Human mesenchymal stem cells from adipose tissue: differentiation into hepatic lineage. *Toxicol In Vitro.* 2007;21:324-9.
43. Clarke DL, Johansson CB, Wilbertz J, Veress B, Nilsson E, Karlstrom H, et al. Generalized potential of adult neural stem cells. *Science.* 2000;288:1660-3.
44. Qu-Petersen Z, Deasy B, Jankowski R, Ikezawa M, Cummins J, Pruchnic R, et al. Identification of a novel population of muscle stem cells in mice: potential for muscle regeneration. *J Cell Biol.* 2002;157:851-64.
45. Toma JG, Akhavan M, Fernandes KJ, Barnabe-Heider F, Sadi-kot A, Kaplan DR, et al. Isolation of multipotent adult stem cells from the dermis of mammalian skin. *Nat Cell Biol.* 2001;3:778-84.
46. Takahashi K, Okita K, Nakagawa M, Yamanaka S. Induction of pluripotent stem cells from fibroblast cultures. *Nat Protoc.* 2007;2:3081-9.
47. Ruhnke M, Ungefroren H, Nussler A, Martin F, Brulport M, Schormann W, et al. Differentiation of in vitro-modified human peripheral blood monocytes into hepatocyte-like and pancreatic islet-like cells. *Gastroenterology.* 2005;128:1774-86.
48. Matthews VB, Yeoh GC. Liver stem cells. *IUBMB Life.* 2005;57:549-53.
49. Lazaro CA, Rhim JA, Yamada Y, Fausto N. Generation of hepatocytes from oval cell precursors in culture. *Cancer Res.* 1998;58:5514-22.
50. Alison MR, Vig P, Russo F, Bigger BW, Amofah E, Themis M, et al. Hepatic stem cells: from inside and outside the liver? *Cell Prolif.* 2004;37:1-21.
51. Baksh D, Song L, Tuan RS. Adult mesenchymal stem cells: characterization, differentiation, and application in cell and gene therapy. *J Cell Mol Med.* 2004;8:301-16.
52. 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;46:219-28.
53. Schaffler A, Buchler C. Concise review: adipose tissue-derived stromal cells—basic and clinical implications for novel cell-based therapies. *Stem Cells.* 2007;25:818-27.
54. Nussler A, Konig S, Ott M, Sokal E, Christ B, Thasler W, et al. Present status and perspectives of cell-based therapies for liver diseases. *J Hepatol.* 2006;45:144-59.
55. Tosh D, Strain A. Liver stem cells—prospects for clinical use. *J Hepatol.* 2005;42 Suppl 1:S75-84.