

## CELULAS PROGENITORAS HEPATICAS

ALICIA S. LORENTI

*Instituto de Ciencias Básicas y Medicina Experimental, Hospital Italiano, Buenos Aires*

**Resumen** La existencia de células progenitoras hepáticas ha sido discutida durante mucho tiempo, hasta que diversos estudios sobre la patogénesis de las enfermedades hepáticas, revelaron su existencia. Los hepatocitos que forman parte del parénquima muestran diferencias morfológicas, bioquímicas y funcionales, así como también en su capacidad de proliferación y en los patrones de expresión de genes. Los hepatocitos y las células ductales biliares tienen un origen embriológico común: las células endodérmicas multipotenciales, que migran y se diferencian por señales recibidas del mesénquima portal. La regeneración hepática se produce normalmente a través de la activación de células maduras. Cuando el daño hepático es demasiado extenso, se produce la activación de células progenitoras ubicadas en el canal de Hering, que dan origen a las células ovales. Hay marcadores antigénicos específicos de estas células, y otros compartidos con células fetales. Existen en el hombre células con características similares a las ovales descritas en roedores. Una nueva dimensión en este tema, es el hallazgo de la obtención de células hepáticas a partir de células progenitoras de médula ósea. En este sentido, fueron realizados diversos trabajos con modelos animales y también en el hombre. Estos trabajos, así como otros referidos a obtención de otros tipos celulares a partir de médula ósea, indicarían que las células hematopoyéticas podrían ser células itinerantes, capaces de sufrir una diferenciación específica de tejido. El proceso de activación de células progenitoras para generar nuevos hepatocitos y células ductulares biliares, tiene fundamental importancia en temas relacionados con la patofisiología del hígado, como el cáncer y la reparación del parénquima hepático masivamente destruido.

**Palabras clave:** células progenitoras, hepatocitos, regeneración hepática, células ovales

**Abstract** *Hepatic stem cells.* The presence of hepatic stem cells had been postulated for a long time, until several papers on the pathogenesis of hepatic diseases have recently revealed their presence. Hepatocytes belonging to liver parenchyma show morphological, biochemical and functional differences, as well as different proliferation capacity and pattern of gene expression. Hepatocytes and ductal biliar cells have a common embryologic origin: the endodermic multipotential cells, that migrate and differentiate in response to signals received from the portal mesenchyma. Hepatic regeneration is normally produced through activation of mature cells. However, when the hepatic damage is very extensive, the activation of facultative stem cells localized in the Hering canal, produces the oval cells, with bipotential capacity. Specific antigenic markers for these cells and others shared with fetal cells have been developed. Cells with characteristics similar to those oval cells described in rodents were found in the human liver. A new insight on this subject has opened up with the obtention of hepatic cells from bone marrow stem cells. In this sense, several experiments were carried out using animal and human models. These and others performed with different cellular types obtained from bone marrow, indicate that hematopoietic stem cells could be itinerant cells subject to tissue specific differentiation. The activation of stem cells in order to generate new hepatocytes and ductal biliar cells, is relevant in terms of the study of the pathophysiology of several diseases, such as cancer or the regenerative activity of hepatic parenchyma after masive destruction.

**Key words:** stem cells, hepatocytes, hepatic regeneration, oval cells

Durante varias décadas, los investigadores han dudado acerca de la existencia real de células progenitoras hepáticas. Es a partir de los últimos años, que esas dudas comenzaron a despejarse, a partir de evidencias surgidas de estudios en ratas, y del desarrollo de la bio-

logía celular aplicada a la patogénesis de las enfermedades del hígado humano. Además, nuevos y excitantes hallazgos indicarían que en algunos órganos, como el cerebro y médula ósea, residirían células con capacidad para diferenciar en diferentes tipos celulares hepáticos.

Recibido: 2-V-2001

Aceptado: 2-VII-2001

Dirección postal: Dra. Alicia Lorenti, Hospital Italiano, Potosí 4240, 1199 Buenos Aires, Argentina  
Fax: (54-11) 4959-0200

e-mail: alorenti@hitalba.edu.ar

**Estructura del parénquima hepático adulto**

La unidad estructural y funcional del parénquima hepático es el acino, el cual está construido alrededor del tracto

portal y la vena central. Está formado por seis grupos de tractos portales, cada uno con una vénula portal, una arteriola hepática y un ducto biliar, ubicados alrededor de la vena central. La sangre fluye desde las vénulas portales y las arteriolas hepáticas, en el tracto portal, a través de los sinusoides que rodean las placas de hepatocitos, hasta la vena central.

Desde el punto de vista celular, el hígado está compuesto fundamentalmente por células epiteliales, entre las cuales los hepatocitos constituyen la fracción más abundante, y una fracción menor, que corresponde a las células que forman los ductos y ductulos biliares<sup>1</sup>. Los hepatocitos están organizados en placas del espesor de una sola célula, y de 0.3-0.5 mm de longitud, conteniendo hasta 20 células, como se muestra esquemáticamente en la Figura 1. Las placas están rodeadas a ambos lados por endotelio sinusoidal. Los hepatocitos muestran marcadas diferencias morfológicas, bioquímicas y funcionales, según su localización en las placas. Son más pequeños cerca del tracto portal, y van aumentando en su tamaño, cuanto más cerca están de la vena central. También hay variaciones en los patrones de expresión de genes dentro del acino, como así también en la ploidía y el potencial de crecimiento. Los hepatocitos cercanos al tracto portal son diploides y muestran el mayor potencial de crecimiento. En la zona intermedia, entre el tracto portal y la vena central, son tetraploides y con capacidad de crecimiento intermedia. Cerca de la vena central son tetraploides u octaploides, y su capacidad de crecimiento es mucho menor. Un modelo de explicación para este tipo de patrón celular, tiene que ver con la maduración celular, en la cual las células progenitoras están localizadas en, o están muy cercanas a los ductulos biliares o canales de Hering, también conocidos como colangiolos, y van sufriendo un proceso de diferenciación terminal unidireccional que termina en la vena central<sup>2,3</sup>.

### Crecimiento embrional y posnatal del hígado

Los hepatocitos y las células epiteliales del ducto biliar tienen un origen embriológico común, a partir de una célula fundadora: el hepatoblasto, que a su vez deriva de células endodérmicas multipotenciales encontradas en el divertículo hepático, que aparece como un engrosamiento del intestino anterior adyacente al corazón en desarrollo y proyectándose en el septo transversal<sup>4</sup>. El desarrollo del hígado a partir del divertículo depende de interacciones entre las células endodérmicas y el mesodermo que las rodea. Esta interacción es indispensable para la formación del hígado. 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 se diferencian en hepatocitos, y en el caso de las células que están en contacto con el mesénquima del tracto portal, se diferencian en células ductales biliares. La Figura 2 muestra esta secuencia temporal en el desarrollo embrionario del hígado de rata. En dicho esquema puede verse también la ubicación del canal de Hering, que contiene células incompletamente diferenciadas, que retienen la capacidad bipotencial para diferenciarse en hepatocitos y en células epiteliales biliares<sup>5, 6</sup>.

### Regeneración hepática

El hígado adulto es un órgano esencialmente quiescente, que tiene capacidad de regeneración después de una injuria o resección quirúrgica. De hecho, mucho de lo que se sabe acerca de la regeneración del hígado deriva de los clásicos modelos experimentales de resección

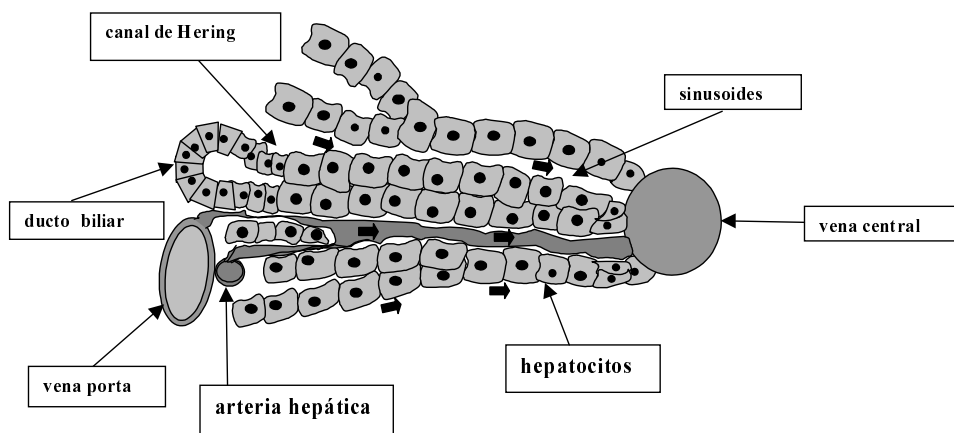


Fig. 1.- Esquema de parte de un acino hepático, donde se muestra la circulación (flechas negras) de la sangre desde la rama de la vena porta y de la arteria hepática, hacia la vena central, a través de los sinusoides

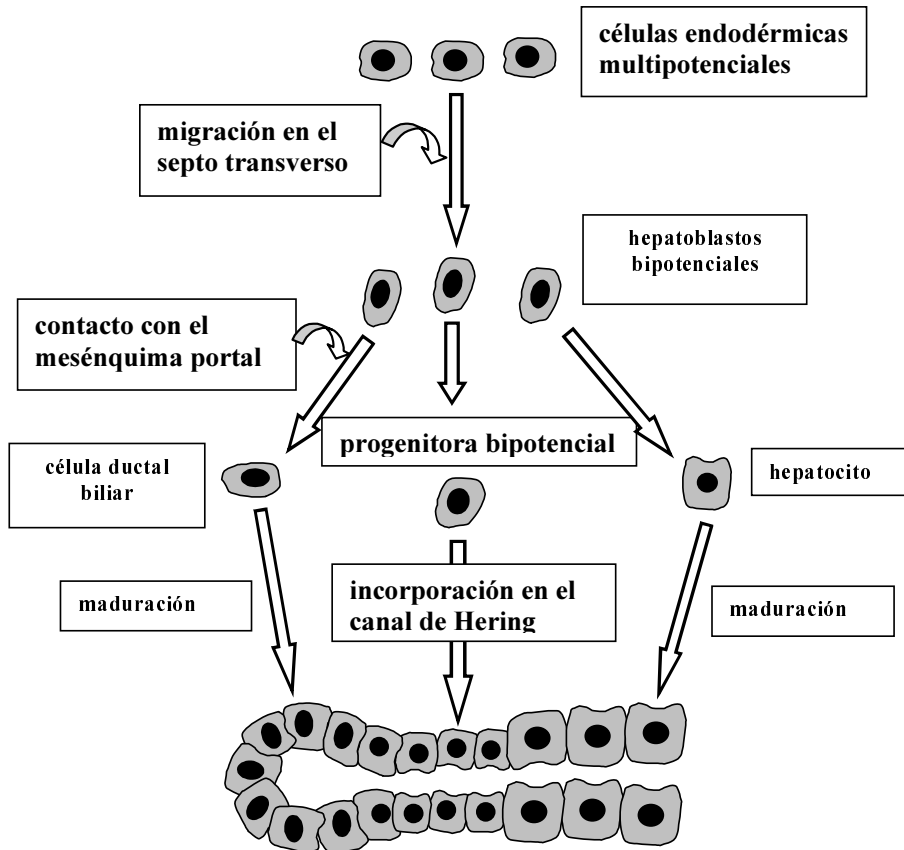


Fig. 2.- Esquema del origen y diferenciación de hepatocitos y células ductales biliares, a partir de células endodérmicas multipotenciales que migran en el septo transverso, dando origen a hepatoblastos bipotenciales. Se menciona también el origen de células incompletamente diferenciadas, con capacidad progenitora bipotencial, que se incluyen en el canal de Hering. (Esquema modificado a partir del diagrama de Stem Cells, por CS Potten (ed), 1997).

de dos tercios de la masa del hígado. El proceso comienza con la activación de la proliferación de hepatocitos maduros (quiescentes hasta ese momento) en primer término, y más tardíamente, de otros tipos celulares, como las células epiteliales biliares, y las endoteliales sinusoidales<sup>7, 8</sup>. Sin embargo, si el daño hepático es demasiado extenso, ya sea por injuria tóxica o hepatectomías parciales reiteradas, y si se inhibe la entrada de los hepatocitos maduros en el ciclo celular por carcinógenos o hepatotoxinas, la regeneración hepática se produce a través de la activación de células progenitoras hepáticas, que dan origen a las llamadas células ovasales. Estas células tienen capacidad clonogénica (capacidad de proliferación) y bipotencial (capacidad de diferenciarse en dos tipos de células: linaje hepatocitario y epitelial biliar)<sup>9</sup>. En el hígado adulto, el compartimiento de células ovasales se activaría sólo cuando la capacidad proliferativa de las células parenquimatosas se ha agotado. En la Figura 3 se ilustra la hipótesis del desarrollo

de células ovasales a partir de células progenitoras facultativas localizadas en el canal de Hering.

### Células ovasales

Las células progenitoras hepáticas han sido reconocidas en diversos modelos animales<sup>10</sup>. El nombre, células ovasales, surge de observaciones hechas en trabajos en roedores, en los que se visualizaron como células de forma oval, conteniendo un núcleo ovalado, y una alta relación núcleo-citoplasma.

El concepto de células ovasales comenzó a ganar importancia a partir de estudios de carcinogénesis. Ratas expuestas a un amplio rango de carcinógenos muestran un patrón marcadamente uniforme de cambios, que terminan en el desarrollo de un carcinoma hepatocelular: necrosis diseminada e inflamación, seguidas por la proliferación de hepatocitos. Concomitantemente, comien-

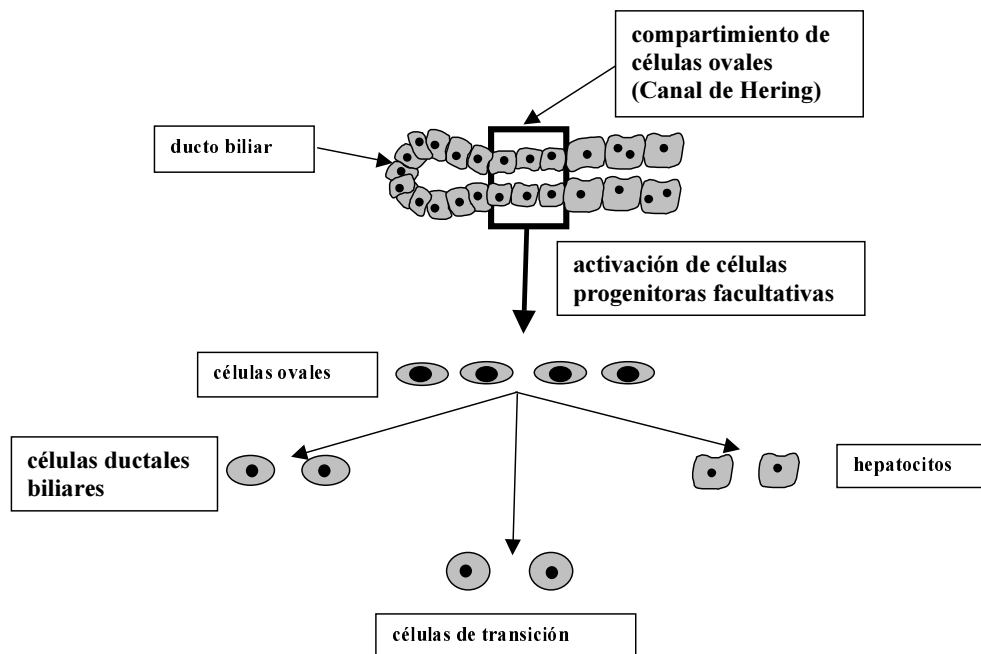


Fig. 3.— Hipótesis de la regeneración hepática a partir de la activación de células progenitoras facultativas localizadas en el canal de Hering. Estas células dan origen a las células ovasales, con capacidad clonogénica y bipotencial, que pueden diferenciarse en hepatocitos y células ductales biliares. (Esquema modificado a partir del diagrama de Stem Cells, por CS Potten (ed), 1997).

za, en la zona del tracto portal, la proliferación de células pequeñas, de citoplasma escaso, núcleo ovoide: las células ovasales. El análisis del desarrollo del hígado y los estudios de poblaciones celulares durante la carcinogénesis, proveyeron los elementos para localizar estas células progenitoras en los canales de Hering en el hígado adulto normal<sup>11</sup>. Las células ovasales se originan en esta región, e invaden el parénquima completo. A medida que ellas proliferan aparecen pequeños núcleos de hepatocitos pequeños, altamente basófilos entre ellas. Las células ovasales van desapareciendo en la medida que el parénquima es gradualmente reconstruido<sup>5</sup>. Las células ovasales en proliferación comprenden un grupo heterogéneo de poblaciones, por lo cual se lo ha llamado "compartimiento de células ovasales"<sup>3</sup>. Este compartimiento, además de las células ovasales, contiene células en transición, que fueron identificadas por características morfológicas, como intermedias entre células ovasales y hepatocitos, como también células con características de ductales biliares<sup>12</sup>, y una variedad de células mesenquémicas. Algunas células ovasales expresan marcadores antigénicos característicos de células progenitoras, así como otros típicos de los hepatocitos y del epitelio biliar adulto. Específicamente las células ovasales expresan algunos marcadores de las células epiteliales del hígado fetal, incluyendo citoqueratinas 7 y 19, alfa-fetoproteína, débilmente albúmina, y OV-6. Han sido desarrollados anticuerpos monoclonales para identificar

antígenos de células ovasales<sup>13</sup>. Usando estos anticuerpos (OC2 y OC3), se han identificado, en hígados normales, poblaciones de células antigénicamente relacionadas a células ovasales. Estos antígenos, así como otros determinantes antigénicos de superficie, son compartidos entre las células ovasales y las células progenitoras hemopoyéticas, incluyendo c-kit, CD34 y Thy-1 en roedores, y c-kit y CD34 en humanos<sup>14-18</sup>.

La presencia en el hombre, de células similares a las mencionadas en roedores, ha sido un tema de intenso debate<sup>2, 8, 19</sup>. En el hígado humano fetal en desarrollo, la diferenciación de hepatoblastos está regulada por señales surgidas del mesénquima portal. Los hepatoblastos que no están en contacto con éste, maduran en hepatocitos diferenciados. Si bien es conocida la naturaleza bipotencial de los hepatoblastos, no ha sido demostrada su capacidad clonogénica, de modo que no se las puede equiparar a células ovasales o progenitoras<sup>20</sup>. La identidad de células progenitoras hepáticas en el hígado adulto normal, y su participación en respuesta al daño hepático, ha sido puesto de manifiesto en diversas publicaciones<sup>21, 22</sup>. Más aún, se han identificado células ovasales en hepatoblastoma, carcinoma hepatocelular e hígado cirrótico humanos, mediante marcadores originalmente demostrados en células ovasales de rata, incluyendo OV-6. Usando técnicas de doble marcación, se demostró que algunas de estas células co-expresaban marcadores fenotípicos hepatocitarios o biliares<sup>14, 23</sup>.

## Nuevos enfoques de regeneración hepática

Durante varias décadas se dudó de la existencia de las células progenitoras hepáticas. Por qué debería pensarse en la existencia de tales células, si las células maduras diferenciadas del hígado, naturalmente quiescentes, retenían la capacidad de entrar nuevamente en el ciclo celular, dividirse y diferenciarse nuevamente, en respuesta a una injuria tóxica o quirúrgica. Es decir, que la masa normal del hígado puede ser completamente restaurada sin que sea necesaria la contribución de células progenitoras. Sin embargo, como ya fue mencionado, en situaciones de eliminación extremadamente significativa de hepatocitos, o si por alguna razón su crecimiento es inhibido, aparecen las células ovals, producto de la activación del compartimiento de células progenitoras.

A partir de 1999 se agrega una nueva dimensión a esta teoría de las células progenitoras hepáticas, cual es la obtención de células ovals a partir de células progenitoras hematopoyéticas, obtenidas de médula ósea. Las células progenitoras hematopoyéticas migran en el hígado y dan origen a dichas células ovals, hepatocitos y células epiteliales biliares. Petersen y colaboradores<sup>24</sup> estudiaron el origen de las células que reemplazaron el hígado de animales que recibieron trasplante de hígado ortotópico o de médula ósea. La hipótesis planteada fue que las células ovals y otras células hepáticas pueden surgir en la médula ósea, o asociadas a ella. Esta hipótesis fue ensayada a través de tres modelos: 1- trasplante de médula ósea en ratas hembras letalmente irradiadas singéicas, a partir de donantes macho, y detección del cromosoma Y; 2- trasplante de médula ósea de donantes positivos para dipeptidil-peptidasa IV, una enzima presente en los espacios canaliculares biliares entre hepatocitos, en animales receptores hembra negativos para esa enzima; 3- trasplante de hígado en ratas receptoras que expresan el antígeno L21-6, a partir de donantes alogéneos que no expresan ese antígeno. En cada modelo, se demostró la posibilidad de que células asociadas a la médula ósea puedan actuar, bajo condiciones fisiopatológicas, como progenitoras de diversos tipos de células hepáticas. Los autores documentaron la aparición de células ovals y de hepatocitos derivados del donante en los animales receptores.

Un trabajo similar fue realizado en ratones<sup>25</sup>. Los autores realizaron dos tipos de experiencias: 1- ratones hembra, letalmente irradiados, que recibieron trasplante de médula ósea completa, a partir de donantes macho, y fueron sacrificados a los días 1, 3, 5 y 7, y 2, 4 y 6 meses pos-trasplante; 2- ratones hembra que recibieron trasplante de células de médula ósea de donantes macho, pero previamente purificadas, y fueron sacrifi-

cadadas a los 8 meses. En ambos casos (médula ósea completa y purificada), fueron encontradas células compatibles con hepatocitos, en los hígados de los animales receptores, positivos para cromosoma Y y para mRNA de albúmina, a partir del día 7 pos-trasplante, en aproximadamente el 2.2% del total de hepatocitos.

En otro trabajo<sup>26</sup>, se inyectaron intravenosamente, células de médula ósea de ratón adulto, altamente purificadas por técnicas de selección (*cell sorter*), y transgénicas para el gen *lacZ* de *Escherichia coli*, en ratones deficientes en la enzima fumarilacetato-hidrolasa (FAH), un modelo animal de tirosinemia fatal hereditaria tipo I. Tres semanas después del trasplante, 4 de 9 animales sobrevivieron, observándose la restauración de la función bioquímica del hígado enfermo. A los 7 meses, esos animales fueron sacrificados, y en los hígados de todos ellos se encontraron nódulos de crecimiento con tinción positiva para beta-galactosidasa, en un 30-50% de la masa total del hígado, demostrándose que esas células provenían de la médula ósea del donante. Los nódulos de crecimiento consistían en pequeñas colonias de alrededor de 50 hepatocitos, o colonias grandes de más de  $1 \times 10^5$  células, en ambos casos morfológicamente normales, que expresaban la enzima FAH. Los autores no pudieron demostrar si esas células eran las originalmente injertadas, o su progenie.

Han sido publicados dos estudios hechos en humanos, que confirman los resultados obtenidos en roedores. En uno de ellos<sup>27</sup>, se obtuvieron especímenes de hígado de dos pacientes femeninas, receptoras de médula ósea de donantes masculinos, y de 4 pacientes masculinos, receptores de trasplante ortotópico de hígado, a partir de donantes femeninos, los cuales fueron analizados usando técnicas de hibridización por fluorescencia in situ (FISH) para el cromosoma Y, e inmunohistoquímica para citoqueratinas 8, 18 y 19. En el caso de las pacientes transplantadas con médula ósea, si bien no tenían historia previa de enfermedad hepática, el examen post-mortem indicó la presencia en sus hígados, de hepatocitos y células ductulares biliares provenientes de los donantes. Esto indicaría que, aún en ausencia de injuria severa, las células podrían movilizarse a un nivel basal, a modo de fenómeno fisiológico. En los pacientes masculinos que recibieron trasplante de hígado de donantes femeninos, fueron identificados en el hígado, acúmulos de hepatocitos conteniendo el cromosoma Y, un tiempo después del trasplante. Los autores plantean dos explicaciones a estos fenómenos: por un lado, que las células progenitoras hepáticas pasan a través de la circulación y se intercalan en los cordones preexistentes, directamente como hepatocitos, sin un estadio intermedio de células tipo-ovales. Por otro lado, que las células progenitoras extrahepáticas entran como intermediarias tipo-ovales, quizás a través de los

canales de Hering. La subsiguiente expansión y diferenciación produciría la formación de los acúmulos de hepatocitos ya mencionados.

La identidad de las células extrahepáticas capaces de desarrollar en células hepáticas no es aún conocida, pero el injerto de células a partir de médula ósea CD34 positiva, sugeriría que las células progenitoras hematopoyéticas podrían presentar este potencial.

En otro trabajo<sup>28</sup>, se analizó también la posibilidad de usar células progenitoras hemopoyéticas humanas para generar hepatocitos de reemplazo en un tejido dañado. El daño crónico en el hígado de pacientes tratados con trasplante de médula ósea promovería la colonización y amplificación de células progenitoras hemopoyéticas exógenas. Los autores postulan además, que, en casos de daño crónico del hígado, éste podría ser colonizado por células hemopoyéticas tanto endógenas como exógenas.

Estos hallazgos, así como otros referidos a células de médula ósea que derivaron en músculo esquelético o cardíaco<sup>29-31</sup>, o en células mesenquimáticas<sup>32</sup>, indicarían que algunas células progenitoras hemopoyéticas podrían ser células itinerantes capaces de sufrir una diferenciación específica de tejido.

El tratamiento de enfermedades hepáticas con células progenitoras hematopoyéticas puede tener considerables ventajas sobre el uso de hepatocitos para ese mismo fin, dado que constituyen una fuente relativamente fácil de células: pueden ser obtenidas de donante vivos, con procedimientos moderadamente invasivos.

## Conclusión

El recambio de hepatocitos y células ductulares biliares es prácticamente nulo en el hígado adulto normal. La reparación, después de un daño hepático, es efectuada a través de la proliferación de poblaciones de células diferenciadas de cada tipo. Sin embargo, cierto tipo de daño extremo, puede llevar a la activación de células poco diferenciadas: las células progenitoras, produciéndose su proliferación y acumulación, seguida por la diferenciación en hepatocitos y células ductulares biliares.

Estas observaciones muestran que el hígado, más que un sistema estático de células con funciones metabólicas, es un tejido dinámico, en el cual las células parenquimatosas y sus precursoras, llevan a cabo un amplio y variado, pero a la vez, estrictamente regulado, camino de proliferación y/o diferenciación. El proceso de activación de células progenitoras para generar nuevos hepatocitos y células ductulares biliares tiene capital importancia en dos temas fundamentales de la patofisiología del hígado: el cáncer y la reparación del parénquima hepático masivamente destruido.

## Bibliografía

1. Weibel ER, Stäubli W, Gnägi HR, Hess FA. Correlated morphometric and biochemical studies on the liver cell. I. Morphometric model, stereologic methods, and normal morphometric data for rat liver. *J Cell Biol* 1969; 42: 68-91.
2. Brill S, Holst P, Sigal S, Zvibel I, Fiorino A, Ochs A, Somasundaran U, Reid LM. Hepatic progenitor populations in embryonic, neonatal, and adult liver. *PSEBM* 1993; 204: 261-9.
3. Fausto N. Liver Stem Cells. In: Arias IM, Boyer JL, Fausto N (eds). *The liver: Biology and Pathobiology* New York: Raven Press Ltd, 1994, p 1501-18.
4. Langman, J. Porción caudal del intestino anterior. In *Embriología Médica Baltimore Williams and Wilkins* (Nueva Editorial Interamericana), 1976, p 258-9.
5. Grisham JW, Thorgeirsson SS. In CS Potten (eds). *Stem cells*. London: Academic Press, 1997, p. 233-82.
6. Rabes HM, Bücher T, Hartmann A, Linke I, Dünnwald M. Clonal growth of carcinogen-induced enzyme-deficient preneoplastic cell populations in mouse liver after [<sup>14</sup>C] dimethylnitrosamine injection. *Cancer Res* 1982; 42: 3220-7.
7. Fausto N. Liver regeneration. *J Hepatol* 2000; 32: 19-31.
8. Strain AJ, Crosby HA. Hepatic stem cells. *Gut* 2000; 46: 743-5.
9. Dabeva MA, Shafritz DA. Activation, proliferation and differentiation of progenitor cells into hepatocytes in the D-galactosamine model of liver regeneration. *Am J Pathol* 1993; 143: 1606-20.
10. Evarts RP, Nagy P, Marsden E, Thorgeirsson SS. A precursor-product relationship exists between oval cells and hepatocytes in rat liver. *Carcinogenesis* 1987; 8: 1727-40.
11. Theisse ND, Saxena R, Portmann BC, et al. The canals of Hering and hepatic stem cells in humans. *Hepatology* 1999; 30: 1425-33.
12. Sarraf C, Lalani E, Golding M, Anikulmar TV, Poulosom R, Alison M. Cell behavior in the acetylaminofluorene-treated regenerating rat liver. Light and electron microscopic observations. *Am J Pathol* 1994; 145: 1114-26.
13. Hixson DC, Faris RA, Thompson NL. An antigenic portrait of the liver during carcinogenesis. *Pathobiology* 1990; 58: 65-7.
14. Baumann U, Crosby HA, Ramani P, Kelly DA, Strain AJ. Expression of stem cell receptor c-kit in normal and diseased paediatric liver. *Hepatology* 1999; 30: 112-7.
15. Fujio K, Evarts RP, Marsden ER, Thorgeirsson S. Expression of stem cell factor and c-kit during liver regeneration from putative stem cells in adult rat. *Lab Invest* 1994; 70: 511-6.
16. Lemmer ER, Shephard EG, Blakolmer K, Kirsch RE, Robson SC. Isolation from human fetal liver of cells co-expressing CD34 haematopoietic stem cell and CAM5.2 pancytokeratin markers. *J Hepatol* 1998; 29: 450-4.
17. Omori N, Omori M, Evarts R, Teramoto T, Miller M, Thorgeirsson S. Partial cloning of rat CD34 cDNA and expression during stem cell-dependent liver regeneration in the rat. *Hepatology* 1997; 26: 720-7.
18. Petersen BE, Goff JP, Greenberger JS, Michalopoulos GK. Hepatic oval cells express the haemopoietic stem cell marker Thy-1 in the rat. *Hepatology* 1997; 27: 433-45.
19. Roskams T, De Vos R, Van Eyken P, Myazaki H, Van Damme B, Desmet V. Hepatic OV-6 expression in human liver disease and rat experiments: evidence for hepatic progenitor cells in man. *J Hepatol* 1998; 29: 455-63.
20. Strain AJ, Hill DJ, Swenne I, Milner RDG. The regulation

- of DNA synthesis in human fetal hepatocytes by placental lactogen growth hormone and insulin-like growth factor/ somatomedin.C. *J Cell Physiol* 1987; 132: 33-40.
21. De Vos R, Desmet V. Ultrastructural characteristics of novel epithelial cell types identified in human pathologic liver with chronic ductular reaction. *Am J Pathol* 1992; 140: 1441-50.
  22. Roskams T, De Vos R, Desmet V. Undifferentiated progenitor cells in focal nodular hyperplasia of the liver. *Histopathology* 1996; 28: 291-9.
  23. Crosby HA, Hubscher SG, Joplin R, Kelly D, Strain AJ. Immunolocalisation of OV-6, a putative stem cell marker in human fetal and diseased paediatric liver. *Hepatology* 1998; 28: 980-5.
  24. Petersen BE, Bowen WC, Patrene KD, et al. Bone marrow as a potential source of hepatic oval cells. *Science* 1999; 284: 1168-70.
  25. Theisse ND, Badve S, Saxena R, et al. Derivation of hepatocytes from bone-marrow cells in mice after radiation-induced myeloablation. *Hepatology* 2000; 31: 235-40.
  26. Lagasse E, Connors H, Al-Dhalimy M, et al. Purified hematopoietic stem cells can differentiate into hepatocytes in vivo. *Nature Med* 2000; 6: 1229-34.
  27. Theisse ND, Nimmakayalu M, Gardner R, et al. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000; 32: 11-6.
  28. Alison MR, Poulosom R, Jeffery R, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 2000; 406: 257.
  29. Ferrari G, Cusella G, Angelis D, et al. Muscle regeneration by bone marrow-derived myogenic progenitors. *Science* 1998; 279: 1528-30.
  30. Gussoni E, Soneoka Y, Strickland CD, Buzney EA, Khan MK. Dystrophin expression in the mdx mouse restored by stem cell transplantation. *Nature* 1999; 401: 390-4.
  31. Orlic D, Kajstura J, Chimenti S, et al. Bone marrow cells regenerate infarcted myocardium. *Nature* 2001; 410: 701-5.
  32. Pereira RF, Halford KW, O'Hara MD, et al. Cultured adherent cells from marrow can serve as long-lasting precursor cells for bone, cartilage, and lung in irradiated mice. *Proc Natl Acad Sci USA* 1995; 92: 4857-61.

-----

*Not only the Sicilian, but the whole of his Italian journey demonstrates how time-bound even a genius like Goethe could not avoid being. We think in vain that we are free to look and see and appreciate everything on earth. Even the most gifted of us can never get much beyond what he was taught to understand during his formative years.*

No sólo el de Sicilia sino todo su viaje a Italia demuestra como aún un genio como Goethe no pudo evitar estar atado a su tiempo. Pensamos en vano que somos libres de ver, mirar y apreciar todo en la tierra. Aún el más dotado de nosotros nunca podrá llegar mucho más allá de lo que se le enseñó a entender durante sus años de formación.

Bernard Berenson (1865-1959)

*The Passionate Sightseer, from the diaries 1947 to 1956.* Simon and Schuster: New York, 1960, p 128