



# **UNIVERSIDAD CIENTÍFICA DEL SUR**

## **FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**“XENOTRASPLANTE DE CÉLULAS MADRE MESENQUIMALES  
ADIPOSAS HUMANAS EN HÍGADO CIRRÓTICO DE RATAS”**

**Tesis para Optar el Título Profesional de: MÉDICO VETERINARIO Y  
ZOOTECNISTA**

**CARLOS ENRIQUE CISNEROS HUAMANÍ**

**BACHILLER EN MEDICINA VETERINARIA Y ZOOTECNIA**

**LIMA- PERÚ**

**2014**

## AGRADECIMIENTOS

Agradezco profundamente a Dios quien me dio a mis padres Nelly y Florencio, grandes médicos veterinarios a quienes admiro y respeto por todo su esfuerzo para llevarme a este punto de mi vida.

A mis hermanos Litzia y Luis, ingenieros de profesión y pasión quienes me enseñaron a siempre dar lo mejor de mí mismo y que la familia es muy importante.

A mi segunda mamá: tía Carmencita, mi cuñada Zulema., mis tías Florinda, Norma y Lourdes quienes siempre confiaron en mí y me alentaron en todo proyecto que empecé.

A mi cuñado Oscar, profesional médico san marquino quien entre broma y broma siempre me reto a saber más, a investigar más! Lo logre negro!

A mi director de tesis y rector de la Universidad Científica del Sur el Dr. José Amiel, quien gracias a su gestión nos permitió un gran avance en esta investigación.

A mi asesor de tesis, el Dr. Javier Enciso, quien con su sabiduría y experiencia supo guiarme en cada etapa, orientando mi camino hacia este resultado que comparto con ustedes.

Agradezco también al grupo de investigación por el apoyo incondicional a la Dra. Nathaly Enciso, a mi promoción y colega el Dr. Fredy Fabián, a la secretaria del rectorado Vanesa Quispe, a la técnica de laboratorio de investigación Fabiola Rentería y al buen René Pillihuamán quien siempre tuvo listo el bioterio para poder desarrollar nuestra investigación.

Gracias a todos, considero que es un paso importante en una carrera que espero hacerla brillar y continuar investigando aún más.

## **RESUMEN**

La cirrosis hepática humana es un problema de salud relevante en el mundo por su alta morbi-mortalidad. El tratamiento actual mejora en parte las funciones hepáticas pero no regenera el tejido muerto. El trasplante hepático es la terapia de elección, en Perú, menos del 10% de la demanda es cubierta. Se está evaluando el uso de células madre de diversas fuentes para el tratamiento de la cirrosis hepática. El objetivo de este trabajo fue realizar, xenotrasplante de células madre mesenquimales adiposas humanas (CMMAd-h) en ratas con cirrosis inducida mediante un protocolo establecido en nuestro laboratorio que busca disminuir la tasa de mortalidad experimental, y determinar la distribución tisular de células madre mesenquimales adiposas humanas. Con este fin se trabajó con 30 ratas hembras Holtzman de 180-200g compradas del Instituto Nacional de Salud (INS), distribuidas en 5 grupos de 6 animales. La inducción a cirrosis hepática de los grupos G-II, G-III, G-IV y G-V se realizó mediante 24 aplicaciones de Tioacetamida (TAA) de 200mg/kg de peso vivo por vía

intraperitoneal, una vez por semana; mientras que el G-I recibió por vía intraperitoneal solución salina al 0.9%. G-II recibió 4 días después de las 24 dosis de tioacetamida, silimarina oral a dosis de 100mg/kg de peso vivo por 8 semanas. En G-V se aplicó por la vena caudal lateral, células madre de tejido adiposo humanas de los pasajes 2-5 de cultivo, aisladas y caracterizadas en el Laboratorio de Cultivo Celular de la Universidad Científica del Sur, a dosis de  $1 \times 10^6$  células, en 300  $\mu$ l de PBS, 4 días después de la dosis N°24 de tioacetamida. Los resultados muestran que, en cortes de 5  $\mu$ m de hígados sometidos a inmunohistoquímica empleando un anticuerpo monoclonal anti-núcleo de célula humana, presencia células inmunoreactivas al monoclonal solo en el hígado de todas las ratas del grupo V, mientras que en los grupos I, II, III y IV hubo ausencia de células madre mesenquimales adiposas humanas. La cuantificación de células inmunoreactivas de ratas del G-V, determinó que el tejido fibroso tenía 19.92%, el parénquima 14.54 % y el endotelio de los vasos sanguíneos del tejido fibroso 29.83%. Histológicamente había escaso tejido fibroso en G-V post-trasplante y mayor incremento de peso corporal que los grupos control. Se concluye que, las células madre mesenquimales adiposas humanas al ser trasplantadas por vía endovenosa en ratas con cirrosis hepática, migran y anidan en áreas hepáticas lesionadas, en mayor proporción en los septos del tejido fibroso de hígados cirróticos, evidenciando regeneración del parénquima hepático frente al grupo tratado con silimarina y mayor aumento de peso corporal que los grupos control.

**Palabras Clave:** Tioacetamida, cirrosis hepática, xenotrasplante, células madre mesenquimales adiposas humanas.

## ABSTRACT

Human liver cirrhosis is a significant health problem in the world for its high morbidity and mortality. Current treatment improves liver functions in part but not regenerate dead tissue. Liver transplantation is the therapy of choice; in Perú, less than 10% of the demand is covered. It is evaluating the use of stem cells from various sources for the treatment of liver cirrhosis. The aim of this work was performed, xenograft human adipose mesenchymal stem cells in rats with cirrhosis induced by a protocol established in our laboratory that aims to reduce the rate of mortality experimental, and determine the tissue distribution of mesenchymal stem cells human adipose. To this end we worked with 30 female rats of 180-200g Holtzman purchased from the National Institute of Health (NIH), divided into 5 groups of 6 animals. The induction of liver cirrhosis G-II, G-III, G-IV and G-V groups was performed using 24 applications of thioacetamide (TAA) of 200mg/kg body weight intraperitoneally once a week; while the G-I received intraperitoneal saline 0.9%. G-II received 4 days after 24 doses of

thioacetamide, oral silymarin at doses of 100mg/kg body weight for 8 weeks. In G-V was applied by the lateral tail vein, stem cells from human adipose tissue culture passages 2-5, isolated and characterized in the Cell Culture Laboratory of the Scientific University of the South, at a dose of  $1 \times 10^6$  cells in 300 $\mu$ l of PBS, four days after the dose of thioacetamide N°24. The results show that, in livers 5 $\mu$ m cuts subjected to immunohistochemistry using a monoclonal anti-human cell nucleus, immunoreactive cells into monoclonal present only in the liver of all rats in group V, whereas in group I, II, III and IV there was no human adipose mesenchymal stem cells. Quantification of immunoreactive cells of rats G-V determined that the fibrous tissue was 19.92%, 14.54% parenchyma and endothelium of blood vessels 29.83% fibrous tissue. Histologically there was little fibrous tissue in post-transplantation and G-V greatest increase in body weight than the control groups. We conclude that human being transplanted by intravenous route in rats with liver cirrhosis, adipose mesenchymal stem cells migrate and nest in areas damaged liver, the most in the fibrous tissue septa of cirrhotic livers, showing regeneration of liver parenchyma compared with group treated with silymarin and greater weight gain than the control groups.

**Words Key:** Thioacetamide, liver cirrhosis, xenotransplantation, mesenchymal stem cells human adipose.