

Efek Pemberian Sel Punca Terhadap Sirosis Hepatis: Telaah Kritis Uji Pada Hewan Coba dan Uji Klinis

Ervina Julien Sitanggang

ABSTRACT

Liver cirrhosis is an advanced stage of liver fibrosis which is accompanied by hepatic vasculature distortion. Until now, the most effective treatment for liver cirrhosis is the liver transplantation. Limited donors for transplantation and the long-term adverse effects become the problems with liver transplantation. Infusion of stem cells as an alternative treatment has been investigated and has shown promising results. Research in mice and rats showed that stem cell infusion could improve liver functions and hepatocyte integrity, and decrease the fibrotic area. Clinical trials also showed significant improvement of liver functions and clinical conditions. Nevertheless, further investigation is needed to elucidate the mechanism of the therapeutic effect of the stem cells.

Keywords: liver cirrhosis, fibrosis, stem cell, animal model, clinical trial

Departemen Histologi Fakultas
Kedokteran Universitas HKBP
Nommensen

Korespondensi: Ervina Julien
Sitanggang, email:
ervinajulien@uhn.ac.id

Diterima: Juni 2017
Direvisi: Agustus 2017
Disetujui: September 2017

ABSTRAK

Sirosis merupakan tahap yang lebih lanjut dari fibrosis hati yang disertai dengan distorsi pembuluh darah hepatis. Sampai sekarang, penatalaksanaan yang paling efektif bagi sirosis hepatis adalah transplantasi hati. Terbatasnya jumlah donor untuk transplantasi dan efek samping jangka panjangnya menjadi masalah yang timbul pada transplantasi hati. Pemberian sel punca sebagai terapi alternatif banyak diteliti dan menunjukkan hasil yang menjanjikan. Penelitian pada mencit dan tikus menunjukkan bahwa pemberian sel punca dapat memperbaiki fungsi hati, memperbaiki integritas hepatosit, dan penurunan area fibrosis. Uji klinis juga menunjukkan adanya perbaikan yang signifikan dari fungsi hati dan perbaikan secara klinis. Namun demikian, penelitian-penelitian masih perlu dilakukan untuk mengetahui mekanisme yang mendasari efek terapi sel punca tersebut.

Kata kunci: sirosis hepatis, fibrosis, sel punca, hewan coba, uji klinis

PENDAHULUAN

Sirosis hepatitis adalah perubahan histologis hepar yang ditandai oleh pembentukan nodul-nodul regeneratif yang dibatasi oleh penumpukan jaringan ikat fibrotik sebagai respons terhadap cedera hati kronis. Sirosis yang tak terkompensasi akan mengakibatkan penyakit hati tahap akhir.¹

Di Amerika Serikat, prevalensi sirosis hepatitis diperkirakan 400.000.¹ Pada tahun 2004, berdasarkan data dari Global Health Observatory of the World Health Organization, angka kematian akibat sirosis di negara-negara maju seperti Amerika Serikat dan Inggris masing-masing adalah 7,3 dan 9,1 per 100.000 penduduk. Di Indonesia sendiri, angka kematian akibat sirosis adalah 13,9 per 100.000 penduduk.²

Sampai sekarang, penatalaksanaan yang paling efektif bagi sirosis hepatitis adalah transplantasi hati. Namun, terbatasnya jumlah donor untuk transplantasi menjadi masalah yang mengakibatkan kematian banyak pasien yang menunggu transplantasi.³ Transplantasi juga memerlukan immunosupresi seumur hidup dan dapat terjadi efek samping jangka panjang termasuk gagal ginjal kronis, penyakit limfoproliferatif pasca-transplantasi, dan komplikasi kardiovaskular. Dengan demikian, pendekatan baru diperlukan untuk penatalaksanaan sirosis hati. Sekarang ini, terapi sel menawarkan solusi alternatif dari transplantasi hati utuh maupun parsial.⁴⁻⁶ Banyak studi telah terfokus untuk meneliti beragam sel punca yang dapat diisolasi dengan menggunakan prosedur noninvasif atau invasif minimal untuk menghasilkan hepatosit baik in vitro maupun in vivo. Dalam artikel ini, penulis menelaah beberapa penelitian yang telah dilakukan secara in vivo pada tikus dan mencit, dan uji klinis, yang berfokus kepada efek terapeutik pemberian sel punca pada sirosis hati dan mekanisme yang mendasari efek tersebut.

PEMBAHASAN

Sirosis Hepatis

Sirosis hepatitis adalah perubahan histologis hepar yang ditandai oleh pembentukan nodul-nodul regeneratif yang dibatasi oleh penumpukan jaringan ikat fibrotik sebagai respons terhadap cedera hati kronis.¹ Sirosis hepatitis merepresentasikan kerusakan hati kronis tahap akhir yang mengakibatkan gangguan pada fungsi hati dan hipertensi portal.⁷

Pada fibrosis hati terjadi enkapsulasi atau penggantian jaringan yang mengalami cedera dengan parut yang kaya dengan serat kolagen. Sirosis merupakan tahap yang lebih lanjut dari

fibrosis hati yang disertai dengan distorsi pembuluh darah hepatik. Sirosis ditandai dengan akumulasi progresif kolagen tipe I dan III pada parenkim hati, termasuk celah Disse, dengan akibat 'kolagenisasi' sinusoid. Hal tersebut mengakibatkan gangguan pertukaran antara hepatosit dan plasma, dan regulasi aliran darah intrahepatik, yaitu terjadi pengalihan (*shunting*) pasokan darah portal dan arterial langsung ke vena-vena sentralis. Konsekuensi klinis utama sirosis adalah gangguan fungsi hati, peningkatan resistensi intrahepatik (hipertensi portal) dan perkembangan karsinoma hepatoselular.^{1,7}

Secara histologis, sirosis ditandai dengan septum-septum fibrotik terovaskularisasi yang menghubungkan daerah portal satu sama lain dan dengan vena sentralis, sehingga membentuk pulau-pulau hepatosit yang dikelilingi septum fibrotik.¹

Pemberian Sel Punca pada Sirosis Hepatis

Dalam usaha mencari sumber sel baru dalam terapi sel penyakit hati, penelitian-penelitian telah dilakukan untuk dapat menghasilkan hepatosit dari sel punca ekstra hepatik. Sel punca dipikirkan sebagai alternatif sumber sel berdasarkan aspek ketersediaan, potensi perbanyakan dan diferensiasinya. Keuntungan potensial yang bisa diperoleh dari sel punca sebagai sumber transplantasi sel hati yaitu kapasitas membarui diri (*self-renewal*) dan kemampuan menghasilkan jaringan, serta kemungkinan penggunaan sumber sel punca autolog untuk ekspansi dan diferensiasi sel.

Penelitian pada mencit dan tikus menunjukkan bahwa pemberian sel punca dapat memperbaiki sirosis walaupun mekanismenya masih terus diteliti. Beberapa uji klinis pemberian sel punca pada pasien sirosis yang telah dilakukan terutama bertujuan menilai keamanan dan peninjauan aplikasi klinis transplantasi sel punca.

Uji pada Hewan Coba

Tabel 1 merangkum studi preklinik pemberian sel punca yang bersumber dari luar hepar. Terdapat 12 studi pada hewan coba mengenai pemberian sel punca menggunakan mencit dan tikus. Kepada hewan-hewan tersebut diberikan karbon tetraklorida (CCl₄), dimethylnitrosamine (DMN), atau thioacetamide (TAA) untuk menginduksi fibrosis hati. Secara keseluruhan, kelompok hewan yang diberi sel punca mengalami perbaikan fungsi hati, perbaikan integritas hepatosit dan penurunan area fibrosis. Perbaikan fungsi hati dibuktikan melalui peningkatan kadar albumin, fibrinogen, amonium.

Tabel 1. Rangkuman penelitian pemberian sel punca pada model fibrosis hati pada hewan coba

No.	Hewan Coba	Perlakuan→ Fibrosis	Sel Punca yang Diberikan	Hasil			Referensi
				Hepatosit	Fibrosis	Biokimia	
1.	Mencit	CCl ₄	<i>Bone Marrow Cell</i>		- Area fibrosis ↓ - α-SMA ↓ - aktivitas genatolitik kuat	- ALB ↑ - MMP-2, MMP-9, MMP-14 ↑ - TIMP-3 ↓ - Hyp ↓	Sakaida (2004) ¹⁷
2.	Tikus	CCl ₄	<i>HGF-treated Bone Marrow Mesenchymal Cell</i>	<i>BMMC engraftment (+)</i>	Fibrosis ↓	- ALB normal - ALT dan AST ↓	Oyagi (2006) ⁸
3.	Tikus	- CCl ₄ - Dimethylnitrosamine (DMN)	<i>Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cell</i>	Regenerasi hepatosit	- Arsitektur hepar membaik - Akumulasi kolagen ↓ - Fibrosis septal menipis/menghilang - α-SMA ↓	- HA ↓ - LN ↓ - Hyp ↓ - ALT ↓ - TBIL ↓	Zhao (2005) ⁹
4.	Tikus	CCl ₄	<i>Bone marrow-derived Mesenchymal Stem Cell</i>	Kapasitas <i>homing</i> MSC (+)	Kolagen hati ↓	- ALT ↓ (tidak signifikan) - ALB ↑ - Hyp ↓ - Ekspresi gen kolagen ↓ - Ekspresi gen <i>sry</i> (+)	Abdel Aziz (2007) ¹⁰
5.	Tikus	CCl ₄	<i>Human Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell (hBMMSC)</i>	hBMMSC dapat berdiferensiasi menjadi sel-mirip-hepatosit	Hampir tidak ada akumulasi kolagen	ALB, fibrinogen, ammonium ↑	Chang (2009) ¹¹
6.	Tikus	CCl ₄	<i>Autologous Bone Marrow-derived Mononuclear Cells</i>	BMC yang mengekspresikan ALB (+)	Fibrosis ↓	- ALT ↓ - Ekspresi kolagen I ↓ - Ekspresi α-SMA ↓ - TNF-α ↓ - TGF-β ↓	Sun (2011) ¹⁸
7.	Tikus	CCl ₄	<i>Adipose-derived Mesenchymal Stem Cell</i>		Fibrosis ↓	- VEGF ↓, ALT ↓ - AST ↓ - TBIL ↓ - ALB ↑ - Hyp ↓	Wang (2012) ¹²

8.	Mencit	CCl ₄	<i>Bone Marrow Cells</i>		Area fibrosis lebih kecil	- ALB↑ - MMP-9 ↑	Iwamoto (2013) ¹⁹
9.	Tikus	CCl ₄	<i>Autologous Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cell</i>	Indeks Ki-67 ↑ (jumlah hepatosit). BMSC berdiferensiasi menjadi hepatosit fungsional di parenkim hati	Fibrosis ↓	- Hyp ↓ - ALB ↑ - TBIL ↓ - ALT H-7 ↓, H-28 ↑ - AST H-14 dan H-28 ↑ - VEGF ↑ - HGF ↑ - IL-6 ↑ - MMP-9 ↑	Li (2013) ¹³
10.	Mencit	CCl ₄	<i>Mesenchymal Stem Cell + IL-6</i>	- Homing MSC (+) - Hepatosit fungsional meningkat	- Fibrosis ↓ - Glycogen storage ↑	- ALP ↓ - Bilirubin ↓ - Ekspresi Bcl-xl ↑ - Ekspresi Bax, Caspase-3, NFκB, TNF-α ↓	Nasir (2013) ¹⁴
11.	Tikus	CCl ₄	<i>Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cell</i>		- Fibrosis ↓ - Proliferasi kolagen (-) - Skor Metavir ↓	- Normalisasi ALT, AST, ALP - ALB ↑ - Ekspresi Prokolagen I dan III hepatic ↓ - Ekspresi TIMP-1 dan endoglin ↓ - MMP-1 ↑	Motawi (2014) ¹⁵
12.	Tikus	Thioacetamide (TAA) +	<i>Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cell</i>		- Area fibrosis ↓ - Akumulasi kolagen ↓	- AST dan ALT ↓ - Ekspresi kolagen-I dan α-SMA ↓ - Ekspresi TGF-β1 dan Smad2 ↓	Shao (2014) ¹⁶
			<i>Preconditioning : Hepatic Irradiation</i>				

Keterangan: ALB: albumin, MMP: matrix metalloproteinase, TIMP: tissue inhibitor of metalloproteinase, Hyp: hydroxyproline, ALT: alanine aminotransferase, AST: aspartate aminotransferase, HA: hyaluronic acid, LN: laminin, TBIL: total bilirubin, α-SMA: alpha smooth muscle actin; TNF α: tumor necrosis factor alpha, TGF β: transforming growth factor beta, VEGF: vascular endothelial growth factor, HGF: hepatocyte growth factor, IL-6: interleukin-6, ALP: alkaline phosphatase, NFκB: nuclear factor kappa B

Tabel 2. Rangkuman uji klinis pemberian sel punca pada sirosis hepatitis

No.	Jumlah Pasien	Stadium sirosis hepatitis	Penyakit Komorbid	Perlakuan			Hasil			Referensi
				<i>SC Infusion</i>	Farmakologi	Klinis	Radiologis	Histologis	Biokimia	
1.	9	Grade B & C (Child-Pugh)		<i>Autologous Bone Marrow Cell</i>	Aminoleban, Livact, Furosemide, Spironolactone	Skor Child-Pugh ↓	USG & CT : asites ↓	Imunohis tokimia : Ekspresi PCNA dan AFP ↑	ALB & Protein total ↑	Terai (2006) ²⁰
2.	4	Skor MELD 11-29		<i>Autologous Bone Marrow-Hematopoietic Stem Cell</i>	Lamivudine, Spironolactone, Furosemide, UDCA	- Edema menetap (2 dari 3 pasien) - Asites menetap (2 dari 3 pasien)	-	-	- ALB ↑ (2 dari 3 pasien) - PT ↓ (2 dari 3 pasien)	Mohamadnejad (2007) ²⁴
3.	4	Skor MELD ≥16		<i>Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell</i>	Spironolactone, Furosemide, Propanolol, Prednisolone, Azathioprine	Edema ↓	CT : volume hepar ↑	-	Skor MELD ↓	Mohamadnejad (2007) ²⁵
4.	5	Grade A & B (Child-Pugh)		<i>Autologous Bone Marrow-derived CD34+ Stem Cell</i>	-		CT : asites ↓ (1 pasien)		- ALB ↑ (3 dari 5 pasien) - Bilirubin ↓ (3 dari 5 pasien)	Levicar (2008) ²⁶
5.	20	Grade B & C (Child-Pugh)	Ca hepatoselular	<i>Autologous Bone Marrow Stem Cell</i>	<i>Liver Resection</i>				- AST ↓, ALT ↓, TBIL ↓ - PT ↓, ALB ↑ - Aktivitas Protrombin ↑	Ismail (2010) ²¹
6.	25	Grade C (Child-Pugh) Skor MELD >19,5		<i>Autologous Mesenchymal Stem Cell</i>		Ensefalopati, jaundice, hematemesis, dan eritema membaik	-	-	- ALB ↑, Kreatinin ↓ - TBIL ↓, - Bilirubin direk ↓ - Skor MELD ↓	El-Ansary (2012) ²²
7.	45	Sirosis Hepatis Dekompensata		<i>Umbilical Cord-derived Mesenchymal Stem Cell</i>		Edema menghilang lebih cepat	USG : Asites ↓		- ALB ↑, CHE ↑, TBIL ↓ - Trombosit ↑ - Laminin ↓, HA ↓, - PIIINP ↓ - Kolagen tipe IV ↓ - HGF↑	Zhang (2012) ²³

Keterangan: ALB: albumin, MELD: model for end stage liver disease, PT: prothrombin time, AST: aspartate aminotransferase, ALT: alanin aminotransferase, CHE: cholinesterase, TBIL: total bilirubin, HA: hyaluronic acid, HGF: hepatocyte growth factor, PIIINP: procollagen III N-terminal propeptide

Perbaikan integritas hepatosit dibuktikan dengan penurunan kadar enzim-enzim aspartate aminotransferase (AST) dan alanine aminotransferase (ALT). Penurunan fibrosis dibuktikan secara histopatologis dengan pewarnaan Hematoxylin-Eosin, Masson Trichrome (luas area fibrosis dihitung menggunakan piranti lunak analisis citra), Azan (analisis luas area fibrosis dengan menghitung persentase piksel yang menunjukkan warna biru, yang mencerminkan serat kolagen, terhadap area total hati), atau Sirius Red (luas area fibrosis dihitung menggunakan piranti lunak analisis citra), maupun dengan imunohistokimia. Selain itu, penurunan fibrosis diperlihatkan melalui pemeriksaan gen (RNA) atau protein yang terlibat dalam fibrogenesis, secara biokimiawi, seperti analisis *microarray*, RT-PCR, dan uji kolorimetrik.

Sembilاندari 12 studi ini menggunakan sel punca mesenkim, yang berasal dari sumsum tulang dan adiposa,⁸⁻¹⁶ dan sisanya menggunakan sel punca sumsum tulang yang tidak disortir.¹⁷⁻¹⁹ Seluruh studi pada hewan menunjukkan bahwa pemberian sel punca mengurangi fibrosis dan memperbaiki fungsi hati. Hanya dua dari 12 penelitian yang mencoba menjelaskan mekanisme efek terapi tersebut.

Chang dkk meneliti mekanisme sel punca mesenkim asal sumsum tulang manusia dalam memperbaiki fibrosis hati. Monitoring *in vivo* sel punca dilakukan dengan cara melabel gen beta actin sel punca menggunakan *green fluorescent protein* (GFP).¹¹ Mereka menemukan bahwa sel punca yang mengekspresikan GFP berada di pembuluh darah, sinusoid, dan lobulus hati. Dari hasil *immunostaining* menggunakan antibodi terhadap penanda spesifik hati, yaitu albumin (spesifik manusia), sitokeratin-18 (tidak bereaksi dengan tikus), dan α -fetoprotein (tidak bereaksi dengan tikus), mereka menemukan bahwa sel yang mengekspresikan GFP juga mengekspresikan albumin, sitokeratin-18, dan α -fetoprotein. Hasil tersebut disinyalir sebagai bukti transdiferensiasi sel punca mesenkim menjadi hepatosit. Namun demikian, Chang dkk belum dapat menyingkirkan kemungkinan fusi sel punca mesenkim dan hepatosit host yang dapat menyebabkan ekspresi GFP pada hasil fusi sel, misalnya dengan pemeriksaan sitogenetika untuk mengetahui jumlah set kromosom hepatosit diferensiasi dari sel punca mesenkim atau dengan mendeteksi kimerisme DNA manusia-mencit. Fungsi dari sel yang mengekspresikan GFP juga tidak diperiksa pada penelitian tersebut.

Jalur pensinyalan TGF β 1/Smad penting dalam perkembangan fibrosis hati. Hasil penelitian Shao dkk menunjukkan ekspresi TGF β 1 dan Smad2 menurun secara signifikan setelah transplantasi sel punca mesenkim pada tikus model fibrosis hepar selama tiga minggu.¹⁶

Uji Klinis

Tabel 2 merangkum uji klinis pemberian sel punca pada pasien sirosis hepatitis, yang dilakukan di Jepang, Iran, Inggris, dan Mesir. Semua uji klinis ini mendapat persetujuan dari komite etik setempat. Sebagian dari uji klinis tersebut bertujuan untuk menilai daya guna²⁰⁻²³ dan sebagian lagi keamanan dan peninjauan aplikasi klinis terapi sel punca untuk fibrosis/sirosis hepatitis.²⁴⁻²⁶ Secara keseluruhan, uji-uji klinis tersebut menunjukkan adanya perbaikan yang signifikan dari fungsi hati yang pada beberapa studi ditandai dengan peningkatan kadar albumin serum dan penurunan enzim-enzim AST dan ALT yang menunjukkan perbaikan pada integritas hati. Selain itu, terdapat juga perbaikan secara klinis, terutama ditandai dengan edema yang menurun. Terdapat satu uji klinis yang melaporkan bahwa pemberian sel punca pada pasien sirosis hepatitis tidak aman. Uji klinis yang dilakukan oleh Mohamadnejad dkk tersebut mengikutsertakan empat pasien. Seorang pasien mengalami sindrom hepatorenal setelah menjalani prosedur dan meninggal sebelum transplantasi hati dapat dilaksanakan. Sindrom hepatorenal tersebut kemungkinan terjadi akibat zat radiokontras yang digunakan untuk visualisasi arteri hepatis saat transplantasi sel punca. Uji klinis ini kemudian dihentikan secara prematur. Kematian satu orang pasien tersebut meningkatkan perhatian terkait metodologi yang digunakan dalam pemberian sel punca kepada pasien.

Dari ketujuh uji klinis ini, hanya satu uji klinis yang menganalisis mekanisme kerja sel punca, yaitu uji klinis yang dilakukan Terai dkk.²⁰ Menurut Terai dkk, sel punca sumsum tulang dapat memberikan efek terapi dengan menginduksi proliferasi hepatosit. Mereka melakukan analisis imunohistokimia dari jaringan biopsi hati untuk α -fetoprotein (AFP) dan *proliferating cell nuclear antigen* (PCNA), yang merupakan penanda proliferasi hepatosit, sebelum dan empat minggu setelah pemberian sel punca. Mereka melaporkan bahwa ekspresi AFP dan PCNA meningkat secara signifikan setelah pemberian sel punca sumsum tulang.

KESIMPULAN

Penelitian pada mencit dan tikus menunjukkan bahwa pemberian sel punca dapat memberikan perbaikan fungsi hati, perbaikan integritas hepatosit, dan penurunan area fibrosis. Uji klinis juga menunjukkan adanya perbaikan yang signifikan dari fungsi hati dan perbaikan secara klinis. Namun demikian, penelitian-penelitian masih perlu terus dilakukan untuk mengetahui mekanisme yang mendasari efek terapi sel punca tersebut.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis berterima kasih kepada dr. Radiana D. Antarianto, M.Biomed, PhD dari Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia atas kontribusinya dalam tulisan ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Schuppan D, Afdhal NH. Liver Cirrhosis. *Lancet*. 2008;371(9615):838-51.
- Age-standardized death rates liver cirrhosis (15+ years) per 100,000 population 2012 [Internet]. [cited 2014 Oct 14]. Available from: http://gamapservers.who.int/gho/interactive_charts/gisah/death_rates_cirrhosis/atlas.html
- Kim WR, Kremers WK. Benefits of "the benefit model" in liver transplantation. *Hepatology*. 2008;48(3):697-8.
- Dhawan A, Mitry RR, Hughes RD. Hepatocyte transplantation for liver-based metabolic disorders. *J Inher Metab Dis*. 2006;29(2-3):431-5.
- Enns GM, Millan MT. Cell-based therapies for metabolic liver disease. *Mol Genet Metab*. 2008;95(1-2):3-10.
- Oertel M, Shafritz D a. Stem cells, cell transplantation and liver repopulation. *Biochim Biophys Acta*. 2008;1782(2):61-74.
- D'Amico G, Malizia G. Cirrhosis of the liver. In: Hawkey CJ, Bosch J, Richter JE, Garcia-Tsao G, Chan FKL, editors. *Textbook of Clinical Gastroenterology and Hepatology* [Internet]. 2nd ed. Blackwell Publishing Ltd; 2012. p. 747-55. Available from: <http://site.ebrary.com/lib/indonesia/docDetail.action?docID=10540933&p00=hepatology>
- Oyagi S, Hirose M, Kojima M, Okuyama M, Kawase M, Nakamura T, et al. Therapeutic effect of transplanting HGF-treated bone marrow mesenchymal cells into CCl4-injured rats. *J Hepatol*. 2006;44:742-8.
- Zhao D, Lei J, Chen R, Yu W, Zhang X, Li S, et al. Bone marrow-derived mesenchymal stem cells protect against experimental liver fibrosis in rats. *World J Gastroenterol*. 2005;11(22):3431-40.
- Aziz MTA, Atta HM, Mahfouz S, Fouad HH, Roshdy NK, Ahmed HH, et al. Therapeutic potential of bone marrow-derived mesenchymal stem cells on experimental liver fibrosis. *Clin Biochem*. 2007;40:893-9.
- Chang Y, Liu J, Lin P, Sun L, Peng C, Luo G, et al. Mesenchymal stem cells facilitate recovery from chemically induced liver damage and decrease liver fibrosis. *Life Sci*. 2009;85(13-14):517-25.
- Wang Y, Lian F, Li J, Fan W, Xu H, Yang X, et al. Adipose derived mesenchymal stem cells transplantation via portal vein improves microcirculation and ameliorates liver fibrosis induced by CCl4 in rats. *J Surg Res*. 2012;10(58):1-10.
- Li T, Zhu J, Ma K, Liu N, Feng K, Li X, 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(2):1161-73.
- Nasir GA, Mohsin S, Khan M, Shams S, Ali G, Khan SN. Mesenchymal stem cells and Interleukin-6 attenuate liver fibrosis in mice. *J Transl Med*. 2013;11:1-10.
- Motawi TMK, Atta HM, Sadik NAH, Azzam M. The therapeutic effects of bone marrow-derived mesenchymal stem cells and simvastatin in a rat model of liver fibrosis. *Cell Biochem Biophys*. 2014;68(1):111-25.
- Shao C, Chen S, Dong T, Chai H. Transplantation of bone marrow e derived mesenchymal stem cells after regional hepatic irradiation ameliorates thioacetamide-induced liver fibrosis in rats. *J Surg Res*. 2014;186(1):408-16.
- Sakaida I, Terai S, Yamamoto N, Aoyama K, Ishikawa T, Nishina H, et al. Transplantation of Bone Marrow Cells Reduces CCl4 - Induced Liver Fibrosis in Mice. *Hepatology*. 2004;40(6):1304-11.
- Sun CK, Chen CH, Kao YH, Yuen CM, Sheu JJ, Lee FY, et al. Bone marrow cells reduce fibrogenesis and enhance regeneration in fibrotic rat liver. *J Surg Res*. 2011;169(1):e15-26.
- Iwamoto T, Terai S, Hisanaga T. Bone-marrow-derived cells cultured in serum-free medium reduce liver fibrosis and improve liver function in carbon-tetrachloride-treated cirrhotic mice. *Cell Tissue Res*. 2013;351(3):487-95.
- Terai S, Ishikawa T, Omori K, Aoyama K, Marumoto Y, Urata Y, et al. Improved Liver Function in Patients with Liver Cirrhosis After. *Stem Cells*. 2006;24:2292-8.
- Ismail A, Fouad O, Abdelnasser A, Chowdhury A, Selim A. Stem cell therapy improves the outcome of liver resection in cirrhotics. *J Gastrointest Cancer*. 2010;41(1):17-23.
- El-ansary M, Abdel-aziz I. Phase II Trial : Undifferentiated Versus Differentiated Autologous Mesenchymal Stem Cells Transplantation in Egyptian Patients with HCV Induced Liver Cirrhosis. *Stem Cells Rev Reports*. 2012;8:972-81.
- Zhang Z, Lin H, Shi M, Xu R, Fu J, Lv J, et al. Human umbilical cord mesenchymal stem cells improve liver function and ascites in decompensated liver cirrhosis patients. *J Gastroenterol Hepatol*. 2012;27:112-20.
- Mohamadnejad M, Namiri M, Bagheri M, Hashemi SM, Ghanaati H. Phase 1 human trial of autologous bone marrow-hematopoietic stem cell transplantation in patients with decompensated cirrhosis. *Arch Iran Med*. 2007;13(24):3359-63.
- Mohamadnejad M, Alimoghaddam K, Mohyeddin-Bonab M, Bagheri M, Bashtar M, Ghanaati H, et al. Phase 1 Trial of Autologous Bone Marrow Mesenchymal Stem Cell Transplantation in Patients with Decompensated Liver Cirrhosis. *World J Gastroenterol*. 2007;10(4):459-66.
- Levičar N, Pai M, Habib NA, Tait P, Jiao LR, Marley SB. Long-term clinical results of autologous infusion of mobilized adult bone marrow derived CD34+ cells in patients with chronic liver disease. *Cell Prolif*. 2008;41:115-25.