

Hígado bioartificial. De la biotecnología a la aplicación clínica

MANUEL DE LA MATA,
JOSÉ LUIS MONTERO
Y JUAN CARLOS POZO

Unidad Clínica de Aparato Digestivo
y Unidad de Trasplante Hepático.
Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Puntos clave

El trasplante hepático es el tratamiento de elección del fallo hepático fulminante, pero su aplicabilidad es limitada y la supervivencia con respecto a otras indicaciones es inferior.

El hígado bioartificial (HBA) es un dispositivo de circulación extracorpórea en el que la sangre o plasma del paciente circula a través de un biorreactor que contiene células hepáticas de origen diverso.

El HBA ha sido aplicado con seguridad y resultados esperanzadores en pacientes con hepatitis fulminante y no función primaria del injerto hepático, mejora diversos parámetros metabólicos, pero no se ha demostrado un claro beneficio sobre las funciones de síntesis.

Los futuros modelos de HBA deberán ser más simples, incluir una masa superior de hepatocitos e incluir células de Kupffer.

Las investigaciones actuales en este campo se centran en la obtención de fuentes seguras y permanentes de hepatocitos, en nuevos métodos de preservación y bioencapsulación y en el desarrollo de biorreactores de estructura tridimensional más perfecta.

Introducción

El fallo hepático fulminante (FHF) es un síndrome clínico muy grave, de etiología variable (predominantemente virus y tóxicos), consecuencia del establecimiento de una insuficiencia hepatocelular, a menudo irreversible. En un período de tiempo que suele ser breve se produce encefalopatía hepática, asociada a una coagulopatía grave. El pronóstico es muy grave y la muerte se produce por edema cerebral, infecciones o fallo multiorgánico¹. El FHF es una de las indicaciones indiscutibles de trasplante hepático, pero la aplicabilidad de este procedimiento es reducida² y la supervivencia postrasplante de este grupo de pacientes (50-60%) es claramente inferior a la obtenida en otras indicaciones (80-90%) debido al estado crítico en el que con frecuencia son trasplantados (edema cerebral, insuficiencia renal, infecciones)³.

No se conoce con precisión por qué en estos pacientes no se produce una regeneración eficaz y a tiempo del parénquima hepático. En los últimos años se han diseñado sistemas de soporte, conocidos bajo el nombre genérico de "hígado artificial", con el objetivo de sustituir algunas de las funciones de síntesis o detoxificación del parénquima hepático dañado. El beneficio inmediato de estos dispositivos sería ganar el tiempo necesario para que el proceso de regeneración se llevase a cabo o para obtener una donación que hiciese posible el trasplante. El hígado bioartificial (HBA) se distingue por incluir en estos dispositivos, conocidos como biorreactores, hepatocitos de diverso origen⁴⁻⁶.

Hígado bioartificial

El HBA es el dispositivo de soporte de la función hepática más desarrollado. Este sistema está basado en un cartucho con fibras huecas por las que discurre el plasma o la sangre total del enfermo y un espacio entre ellas, en el que se introducen células, vehiculadas en una matriz, que pueden ser hepatocitos humanos, porcinos o hepatocitos procedentes de líneas humanas inmortalizadas. Las fibras son porosas y permiten un intercambio de moléculas con el plasma o la sangre del paciente (fig. 1).

Se han descrito y publicado resultados sobre tres modalidades de HBA (tabla 1). El modelo más desarrollado se conoce como HepatAssist 2000 (Circe Biomedical, Lexington, MA). En este dispositivo la circulación extracorpórea se establece con plasma del paciente, que atraviesa las fibras porosas del biorreactor. El espacio intersticial está ocupado por células porcinas en cantidad de $6 \cdot 10^9$, que corresponde con una masa crítica de sólo un 2% de la total de un hígado sano⁷. La obtención de hepatocitos de cerdo se lleva a cabo siguiendo un protocolo de extraordinaria seguridad, que permite disponer de los hepatocitos en bolsas criopreservadas para cuando sean necesarios⁸. En la interpretación de los resultados no debe olvidarse que el sistema incluye el paso por una columna de carbón activado.

Demetriou et al han publicado su experiencia con este dispositivo en un estudio de fase I/II en pacientes con FHF en estadio de encefalopatía avanzada⁷. La mayoría correspondía a pacientes con hepatitis fulminante, pero incluyó también

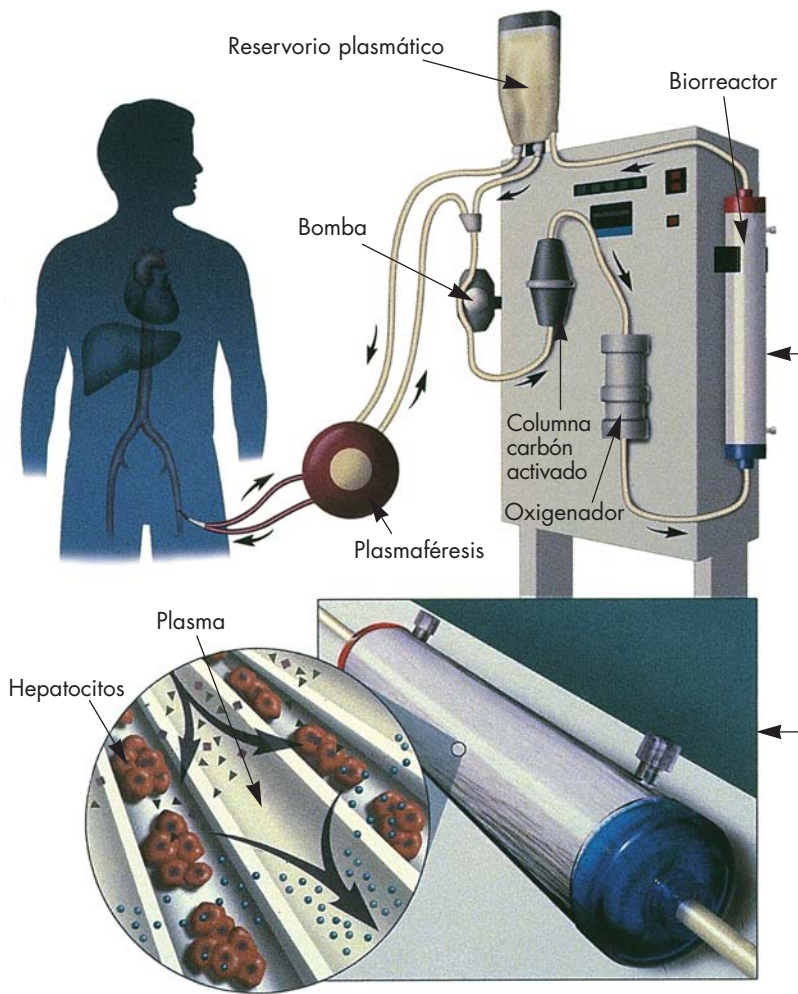


Figura 1. HepatAssist. Esquema del dispositivo en su conjunto y detalle del biorreactor.

algunos casos de no función primaria (NFP) del injerto hepático. Aunque no se trataba de un estudio controlado, los resultados fueron muy alentadores. La presión intracraneal disminuyó tras las sesiones de tratamiento y mejoraron los índices de lesión neurológica. Se observó un impacto favorable sobre diversos aspectos metabólicos, como la glucosa, urea, amonio, enzimas, pero no se pudo constatar una mejoría de los indicadores de síntesis como la albúmina o la actividad de protrombina. También se han publicado resultados prometedores en un subgrupo de pacientes con FHF inducido por paracetamol⁹. Recientemente se ha comunicado el

Tabla 1. Hígado bioartificial. Masa crítica de células

Sistema	Células	N.º	Gramos	Masa (%)
HepatAssist	Hepatocitos porcinos	$6 \cdot 10^9$	30	2
ELAD	Línea hepática humana Inmortalizada	$4 \cdot 10^{10}$	200	15
Gerlach	Hepatocitos porcinos	$1 \cdot 10^{11}$	500	33

primer análisis de un estudio prospectivo y aleatorizado que incluye a 171 pacientes y demuestra la utilidad del sistema, en especial en los casos de FHF de curso fulminante y asociados a paracetamol¹⁰. Un sistema similar al anteriormente descrito, en el que se utilizaban también hepatocitos de cerdo criopreservados, ha demostrado su eficacia en un modelo experimental de FHF en cerdos¹¹.

Una variante de este sistema, de resultados todavía no definitivos, conocida como ELAD (*Extracorporeal Liver Assist Device*) (Vitagen) ha utilizado una línea celular de hepatoblastoma (C3A), pero en una nueva versión, ésta ha sido sustituida por una línea no tumoral inmortalizada. La experiencia es aún escasa¹². Gerlach ha descrito también un sistema, estructuralmente más complejo, con hepatocitos de cerdo, en cantidad de $1 \cdot 10^{11}$, lo cual representa un 33% de la masa media hepática (500 g). La experiencia publicada, en pacientes con FHF y en cirrosis hepática, también es muy limitada¹³.

Limitaciones del hígado artificial

Los actuales dispositivos son prometedores, pero tienen limitaciones serias en su potencial eficacia:

1. No se ha demostrado que mejoren las funciones de síntesis, debido a la insuficiente masa crítica de hepatocitos que hasta la fecha incorpora el dispositivo¹⁴. Se espera que en los próximos años nuevos modelos logren aumentar el número de células y la capacidad sintética del biorreactor.
2. Los sistemas actuales sólo han incluido hepatocitos en los cartuchos que atraviesan el plasma o la sangre del paciente. Se ha prescindido de las células de Kupffer, esenciales por sus múltiples funciones y sus relaciones con los hepatocitos en las complejas redes de citocinas.
3. La complejidad de los dispositivos es también un factor negativo para la difusión del sistema. Se necesita personal muy bien entrenado en la manipulación de células criopreservadas, aféresis y diálisis. El procedimiento debe realizarse en una unidad de cuidados intensivos, en la que se añaden además todos los sistemas de monitorización habituales en estas salas.

Áreas de investigación

Existe un gran interés en el desarrollo de nuevos modelos de HBA, más simples y eficaces.

1. Una de las áreas más atractivas es la búsqueda de una fuente segura de hepatocitos en cantidad abundante y permanentemente disponible¹⁴. Hoy día se está investigando en la obtención de líneas celulares inmortalizadas, conseguidas a partir de hepatocitos humanos (NKNT-3, OUMS-29)^{15,16}.
2. La modulación de la función del hepatocito incluido en el

sistema es igualmente un foco de atención. Se buscan medios de cultivo suplementarios, biomatrices más adecuadas, y se experimenta sobre las ventajas de los cocultivos de hepatocitos con células de Kupffer. La bioencapsulación de los hepatocitos es en sí misma todo un campo de desarrollo, que repercutirá en la mejora de los bancos de hepatocitos¹⁷.

3. También debe mejorarse la estructura física del biorreactor, tanto en su conformación tridimensional como en las cualidades físicas de los materiales empleados. Los nuevos biorreactores deberán también proporcionar funciones más acordes con las del hígado sano, superando las que son simplemente de detoxificación.

Riesgos del hígado bioartificial

Aunque existe una gran controversia sobre el riesgo de transmisión de zoonosis, los estudios publicados han descartado la transmisión de retrovirus porcinos a los pacientes que recibieron tratamiento con este sistema¹⁸. Por otra parte, a pesar de las membranas incorporadas, se ha demostrado la aparición de xenoanticuerpos frente al epítipo Gal después de dos o más sesiones de tratamiento, pero hasta la fecha no existen evidencias de reacciones inmunológicas adversas para el paciente¹⁹.

Nuevas aplicaciones del hígado bioartificial

El grupo de pacientes que hasta la fecha ha sido objeto de estudio (FHF y NFP) es en la práctica reducido. Entre las potenciales aplicaciones de este procedimiento se podrían incluir los pacientes sometidos a resecciones hepáticas amplias, con la intención de favorecer la regeneración del parénquima restante en mejores condiciones, y sobre todo a los pacientes con cirrosis hepática en fase de insuficiencia hepatocelular grave tras diversos factores precipitantes. Especial mención merecen los enfermos con hepatitis aguda alcohólica grave, que rara vez pueden ser trasplantados debido a su estado crítico.

Bibliografía



● Importante ●● Muy importante

- Metaanálisis
- Ensayo clínico controlado
- Epidemiología

1. De la Mata M, Montero JL, Fraga E, Muntané J, Miño G. Fallo hepático fulminante. *Medicine* 2000;8:599-605.
2. Mas A, Salmeron JM, Tost J. Applicability of liver transplantation in fulminant hepatic failure. En: Arroyo V, Bosch J, Bruix J, Ginés P, Navasa M, Rodés J, editors. *Therapy in hepatology*. Barcelona: Ars Médica, 2001; p. 159-65.
3. Devlin J, Williams R. Prognosis and consideration of transplantation. En: Lee W, Williams R, editors. *Acute Liver Failure*. Cambridge: Cambridge University Press, 1997; p. 173-85.
4. ●● Sundback CA, Vacanti JP. Alternatives to liver transplantation: From hepatocyte transplantation to tissue-engineered organs. *Gastroenterology* 2000;

- 118:438-42.
5. ●● Allen WA, Hassaneim T, Bathia SN. Advances in bioartificial liver devices. *Hepatology* 2001;34:447-55.
6. ● Tzanakakis ES, Hess DJ, Sielaff TD, Hu WS. Extracorporeal tissue engineered liver-assist devices. *Annu Rev Biomed Eng* 2000;2:607-32.
7. ● Watanabe F, Mullon CJ-P, Hewitt W, Arkadopoulos N, Kahaku E, Eguchi S, et al. Clinical experience with a bioartificial liver (BAL) in the treatment of severe liver failure: A phase I clinical trial. *Ann Surg* 1997;225:484-94.
8. Jamal HZ, Weglarz TC, Sandgren EP. Cryopreserved mouse hepatocytes retain regenerative capacity in vivo. *Gastroenterology* 2000;118:390-4.
9. Detry O, Arkadopoulos N, Ting P, Kahaku E, Eguchi S, Khalili T, et al. Clinical use of a bioartificial liver in the treatment of acetaminophen-induced fulminant hepatic failure. *Am Surg* 1999;65:934-8.
10. ● Salmeron JM, Mas A, de la Mata M, Montero JL, Pozo JC, Rodés J y Grupo Internacional para el estudio del SHBA con HepatAssist en la IHAG. Soporte hepático bioartificial (SHBA): Interim análisis de un estudio prospectivo, aleatorizado, controlado, multicéntrico y dirigido a evaluar la eficacia del sistema HepatAssist en el tratamiento de la insuficiencia hepática aguda grave (IHAG). *Gastroenterol Hepatol* 2002;25(Supl 1):61.
11. Cuervas-Mons V, Colas A, Rivera J, Prados E. In vivo efficacy of a bioartificial liver in improving spontaneous recovery from fulminant hepatic failure: A controlled study in pigs. *Transplantation* 2000;69:337-44.
12. Ellis AJ, Hughes RD, Wendon JA, Dunne J, Langley PG, Kelly JH, et al. Pilot-controlled trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure. *Hepatology* 1996;24:1446-51.
13. Gerlach JC, Encke J, Hole O, Muller C, Courtney JM, Neuhaus P. Hepatocyte culture between three dimensionally arranged biomatrix-coated independent artificial capillary system and sinusoidal endothelial cell co-culture compartments. *Int J Artif Organs* 1994;17:301-6.
14. ● Tsiaoussis J, Newsome PN, Nelson LJ, Hayes PC, Plevis JN. Which hepatocyte will it be? Hepatocyte choice for bioartificial liver supports. *Liver Transplantation* 2001;7:2-10.
15. Kobayashi N, Fujiwara T, Westerman K, Inoue Y, Sakaguchi M, Noguchi H, et al. Prevention of acute liver failure in rats with reversibly immortalized human hepatocytes. *Science* 2000;287:1258-62.
16. Kobayashi N, Miyazaki M, Fukaya K, Inoue Y, Sakaguchi M, Uemura T, et al. Transplantation of highly differentiated immortalized human hepatocytes to treat acute liver failure. *Transplantation* 2000;69:202-7.
17. Chang TM. Bioencapsulated hepatocytes for experimental liver support. *J Hepatol* 2001;34:148-9.
18. ● Pitkin Z, Mullon C. Evidence of absence of porcine endogenous retrovirus (PERV) infection in patients treated with a bioartificial liver support system. *Artif Organs* 1999;9:829-33.
19. Baquerizo A, Mhoyan A, Kearns-Jonker M, Arnaout WS, Shackleton C, Busuttill RW, et al. Characterization of human xenoreactive antibodies in liver failure patients exposed to pig hepatocytes after bioartificial liver treatment: An *ex vivo* model of pig to human xenotransplantation. *Transplantation* 1999;67:5-18.

Bibliografía recomendada

Allen WA, Hassaneim T, Bathia SN. Advances in bioartificial liver devices. *Hepatology* 2001;34:447-55.

Excelente y amplia revisión sobre el estado actual de los métodos biológicos de soporte de la función hepática. Se describe las fuentes y tipos celulares, y los modelos de biorreactores que los albergan.

Sundback CA, Vacanti JP. Alternatives to liver transplantation: From hepatocyte transplantation to tissue-engineered organs. *Gastroenterology* 2000;118:438-42.

En este trabajo se revisan las alternativas al trasplante en pacientes con hepatitis fulminante. Junto al HBA, se discute el potencial del trasplante de hepatocitos y del sistema de diálisis con albúmina (MARS).

Tsiaoussis J, Newsome PN, Nelson LJ, Hayes PC, Plevis JN. Which hepatocyte will it be? Hepatocyte choice for bioartificial liver supports. *Liver Transplantation* 2001;7:2-10.

Análisis muy completo de las posibles fuentes de obtención de hepatocitos para los dispositivos de soporte de la función hepática, con las limitaciones actuales. Se detalla la necesidad de investigar en medios de cultivos, bioencapsulación y cocultivos con células no parenquimatosas.