SIMPOSIO EDITORIALE «FEGATO ARTIFICIALE»

Ann. Ital. Chir., LXXI, 3, 2000

G. AZZENA

Direttore Sezione di Patologia Speciale Chirurgica, Dipartimento di Medicina Clinica e Sperimentale dell'Università di Ferrara

Introduzione

Il quadro clinico noto come insufficienza epatica acuta (IEA) è la risultante dello sconvolgimento massivo delle principali funzioni fisiologiche del fegato, che a causa della sua estrema gravità, è gravata da una elevata mortalità (1). Il trapianto di fegato rappresenta oggi il trattamento definitivo dell'IEA (2), ma a causa della scarsità di donazioni, anche in rapporto all'incremento delle indicazioni al trapianto, esso non può sempre essere attuato. Esiste quindi la necessità di fornire un trattamento di supporto al paziente con IEA, fino alla disponibilità di un fegato da trapiantare o, nella migliore delle ipotesi, fino a quando il quadro clinico non dia segni di miglioramento, grazie alle ben note capacità rigenerative del fegato. Altre potenziali indicazioni ad un trattamento di supporto epatico temporaneo sono rappresentate dalla c.d. primary nonfunction dopo trapianto di fegato e dagli episodi ricorrenti di insufficienza epatica acuta in pazienti affetti da epatopatia cronica, mentre di grande utilità sarebbe la disponibilità di un sistema di supporto epatico per il trattamento post-operatorio di pazienti sottoposti ad epatectomie maggiori per traumi epatici o patologia maligna primitiva o secondaria.

La creazione e lo sviluppo di sistemi di supporto epatico sono attualmente limitati dalle scarse conoscenze nel campo della fisiopatologia dell'IEA, dall'eterogeneità della popolazione dei pazienti e dalla molteplicità della eziopatogenesi, dalla mancanza di indici globali di funzionalità epatica, così come di fattori prognostici universalmente accettati.

Insufficienza epatica acuta

L'IEA è caratterizzata dalla rapida comparsa di ittero, di gravi disturbi della coagulazione e dall'insorgenza di coma, in pazienti apparentemente non affetti da pregressa patologia epatica. Questo stato patologico che riflette un severo danno necrotico alle cellule del fegato può essere causato da una infezione virale, dall'assunzione di farmaci epatolesivi, da avvelenamento da funghi o dall'assunzione di sostanze tossiche non meglio identifi-

Riassunto

L'insufficienza epatica acuta può essere seguita dalla rapida morte del paziente senza che le misure terapeutiche messe in atto possano modificare il decorso clinico. In tali pazienti, i sistemi artificiali di detossificazione del sangue si sono dimostrati scarsamente efficaci. Infatti, un efficace sistema di supporto epatico deve fornire funzioni essenziali come la reazione di fase I od ossidativa, in cui sostanze tossiche liposolubili vengono rese idrosolubili ad opera degli enzimi del citocromo P450 e NADPH-riduttasi, nonché quella di fase II grazie alla quale tali sostanze sono coniugate ed escrete. Tale sistema di supporto epatico dovrebbe essere di ausilio in pazienti affetti da insufficienza epatica fulminante fino al trapianto di fegato (cosiddetto trattamento ponte), mentre potrebbe aumentare la sopravvivenza dei pazienti non sottoponibili al trapianto. I recenti progressi della biologia cellulare e delle tecniche di coltura in vitro permettono oggi di utilizzare gli epatociti isolati a scopo clinico, essendo diventati l'elemento più importante dei sistemi bioartificiali di supporto epatico, o fegato bioartifciiale (FBA). Alcuni modelli di FBA sono attualmente in fase di sperimentazione clinica negli Stati Uniti ed in Europa e presto saranno a disposizione i risultati dei primi studi prospettici controllati.

Parole chiave: Insufficienza epatica acuta, fegato bioartificiale, epatociti isolati, bioreattori per epatociti.

Summary

ARTIFICIAL LIVER

Acute liver failure is a life-threatening condition since conventional medical treatments have little effect on survival. Artificial liver support systems based on blood detoxification alone have proven to be ineffective. A liver support system should carry out essential functions such as the phase I reaction in which lipid-soluble toxic substance are rendered water-soluble by the enzyme system of the cytochrome P450 and NADPH-cytochrome reductase, and are therefore conjugated by the phase II reaction, before excretion. Liver support systems should be capable of sustaining patients until an organ is available for liver transplantation (bridging treatment), or improving the survival in patients for whom liver transplantation is not a therapeutic option. Recent advances in cell biology and tissue culture techniques have led the way for potential clinical use of isolated hepatocytes so that they are now an important element

of bioartificial liver (BAL) support devices. Some of these BAL are currently under clinical investigation in the USA and Europe, and the results of the prospective controlled trials will be soon available.
Key words: Acute liver insufficiency, bioartificial liver, isolated hepatocytes, hepatocyte bioreactors.

cate (3). La drammaticità dello stato clinico ha suggerito il termine di insufficienza epatica fulminante; questi casi sono relativamente rari, calcolabili in circa 250 pazienti all'anno in Italia (2000/anno negli U.S.A.). Uno stato di IEA può anche svilupparsi nel corso di una malattia cronica del fegato, tipicamente la cirrosi epatica, allorquando la riserva funzionale dell'organo, già ridotta a causa dello stato patologico di base, non è più sufficiente a mantenere un adeguato stato di compenso metabolico. Questa situazione di scompenso acuto in corso di epatopatia cronica, rappresenta la maggioranza dei casi di insufficienza epatica acuta che giungono all'osservazione del medico. Infine, tipiche situazioni di IEA sono rappresentate dallo stato di scompenso metabolico cui va incontro un paziente epatopatico cronico che ha subito un intervento chirurgico, anche di minore entità, oppure pazienti in cui lo stato di scompenso sia causato da un grave trauma o da turbe emodinamiche cardiocircolatorie.

Nonostante i recenti progressi nella comprensione dei meccanismi fisiopatologici che stanno alla base dell'IEA, la creazione di unità di terapia intensiva epatologica e la messa in atto di molteplici misure terapeutiche, la mortalità per insufficienza epatica fulminante varia dal 50 all'80%, a secondo della causa (1-3). L'aumento della pressione intracranica rappresenta la ragione principale dello stato di coma ingravescente e spesso irreversibile, in pazienti con insufficienza epatica fulminante (4). Per i pazienti che vanno incontro ad insufficienza epatica acuta in corso di malattia cronica del fegato, il decorso clinico è meno drammatico e le misure terapeutiche intensive che vengono messe in atto fanno sì che tali episodi, anche se ripetuti, possano essere superati con il solo trattamento medico. Anche in questi casi però, la mortalità è elevata, intorno al 35-40% ed è causata principalmente da sanguinamento gastrointestinale, da complicanze tossico-infettive, fino allo stato di sepsi o da insufficienza funzionale di altri organi, principalmente a carico del rene.

Negli ultimi dieci anni, il trapianto di fegato ha rivoluzionato in maniera radicale la terapia di gran parte delle malattie epatiche acute e croniche. In particolare, il trapianto di fegato è oggi indicato nel trattamento dell'insufficienza epatica fulminante e nel trattamento di gran parte delle forme di cirrosi epatica primitiva, mentre si discute ancora sull'indicazione al trapianto nei casi di cirrosi epatica alcolica. Sfortunatamente, il trapianto di fegato è limitato dalla scarsità di donazioni di organi. Questo problema assume particolare gravità soprattutto nei casi di insufficienza epatica fulminante, in quanto il reperimento dell'organo e l'esecuzione del trapianto, vanno effettuati in regime d'urgenza ed entro poche ore dall'insorgenza del quadro clinico. Per questa ragione esiste la necessità di sperimentare sistemi artificiali di supporto epatico, che possano servire ad assistere il paziente con insufficienza epatica fulminante, fino al reperimento dell'organo ed al trapianto. Tali sistemi artificiali possono essere utilizzati anche nei pazienti con insufficienza epatica acuta in corso di epatopatia cronica, al fine di far superare lo stato di scompenso ed eventualmente di poter portare il paziente al trapianto di fegato in una situazione ottimale, qualora ne sia stata precedentemente posta l'indicazione.

Il fegato bioartificiale

A causa delle peculiarità organo-funzionali del fegato, paragonabile ad una fabbrica chimica che presiede alla sintesi di gran parte delle proteine del sangue, alla produzione ed escrezione della bile ed alla detossificazione del sangue, la emodialisi non si è dimostrata in grado di risolvere il quadro clinico di IEA, in quanto la rimozione di piccole molecole tossiche circolanti non è sufficiente a correggere lo stato tossico. Per sostituire, almeno in parte, le molteplici e complesse funzioni biosintetiche e detossificanti del fegato, si è da tempo pensato all'impiego della cellula epatica. Si è così utilizzata la perfusione extracorporea di fegati prelevati da animali (maiale, babbuino), a mezzo di circolazione crociata con il paziente (5, 6). Dopo più di vent'anni di tentativi in questo senso, tale metodica si è però dimostrata scarsamente efficace, in quanto si è scontrata con la ridotta praticità e con la limitazione della durata di ogni trattamento (7).

Un approccio alternativo è rappresentato dal fegato bioartificiale. Esso è costituito da un bioreattore al cui interno sono mantenuti epatociti precedentemente isolati per mezzo di digestione enzimatica del parenchima epatico (8) e successivamente coltivati *in vitro*. Il sangue del paziente viene sottoposto a plasmaferesi e successivamente fatto circolare attraverso il bioreattore contenente al suo interno alcune decine di miliardi di epatociti di maiale, precedentemente isolati e coltivati in vitro. A tutt'oggi sono stati trattati con il fegato bioartificiale negli Stati Uniti 30 pazienti con insufficienza epatica acuta e/o fulminante (9), mentre in Europa l'esperienza è stata più limitata (10, 11).

Prospettive future

I recenti progressi nell'isolamento, coltura *in vitro* e conservazione degli epatociti, nonché gli sviluppi tecnologi-

ci nel campo dei biomateriali, hanno spinto i ricercatori ad una rivalutazione dei sistemi ibridi bioartificiali di supporto epatico. L'impiego della cellula epatica isolata è infatti teoricamente indicato nel trattamento dell'IEA, in quanto essa può fornire sia le funzioni sintetiche che quelle detossificanti. Con queste premesse, oggi vengono portate avanti sperimentazioni pilota negli Stati Uniti ed in Europa. Restano ancora numerosi i punti interrogativi sulla effettiva funzionalità dei sistemi di supporto epatico, nonchè i quesiti sulle indicazioni al trattamento, così come recentemente suggerito da Demetriou (12):

1. Quali sono i criteri per la selezione e la stratificazione dei pazienti e quali sono i parametri clinici per valutare l'efficacia del trattamento?
2. Qual'è il sistema di supporto ottimale da un punto di vista ingenieristico (circuito extracorporeo)?
3. Qual'è la massa cellulare necessaria per ottenere un efficace supporto epatico?
4. Quali cellule vanno usate (epatociti umani o di origine animale, freschi, coltivati in vitro o criopreservati, adulti, fetali o manipolati geneticamente)?
5. Qual'è il rapporto costo/beneficio per i vari sistemi di supporto epatico (rischio di zoonosi, di trasmissione di agenti patogeni, di sensibilizzazione immunitaria)?

Come si evince dai quesiti sopra elencati, il campo di ricerca sul fegato bioartificiale è ancora ampiamente inesplorato e numerosi sono i punti irrisolti. Il *Simposio Editoriale* che segue in queste pagine di Annali Italiani di Chirurgia ha lo scopo di indirizzare alcuni di questi quesiti e di tentare la formulazione di risposte. Il gruppo di medici e ricercatori da me coordinato presso l'Università e l'Arcispedale Sant'Anna di Ferrara ha tentato di definire gli argomenti critici, sia da un punto di vista clinico che più propriamente tecnico, argomenti che rappresentano le sfide per lo sviluppo futuro dei moderni sistemi di supporto epatico.

Bibliografia

1) Tygstrup N., Ranek L.: *Assessment of prognosis in fulminant hepatic failure.* Semin Liver Dis, 6:129-137, 1986.

2) Bismuth H., Samuel D., Gugenheim J.: *Emergency liver transplantation for fulminant hepatitits.* Ann Intern Med, 107:337-341, 1987.

3) Williams R.: *Classification, etiology and considerations of outcome in acute liver failure.* Semin Liver Dis, 16:343-348, 1996.

4) Rozga J., Podesta L., LePage E., Morsiani E., Makowka L., Demetriou A.A.: *Control of cerebral oedema by total hepatectomy and extracorporeal liver support in fulminant hepatic failure.* Lancet, 342:898-899, 1993.

5) Abouna G.M., Cook J.S., Fisher L.M.: *Treatment of acute hepatic coma by ex vivo baboon and human liver perfusion.* Surgery, 71:537-547, 1972.

6) Fox I.J., Langnas A.N., Ozaki C.F.: *Successful application of extracorporeal liver perfusion on the treatment of fulminant hepatic failure: a technology whose time has come.* Am J Gastroenterol, 88:1876-1881, 1993.

7) Chari R.S., Collins B.H., Magee J.C.: *Brief report: treatment of hepatic failure with ex vivo pig-liver perfusion followed by liver transplantation.* N Eng J Med, 331:234-237, 1994.

8) Berry M.N., Friend D.S.: *High yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells: a biochemical and fine structural study.* J Cell Biol, 43:506-520, 1969.

9) Watanabe F.D., Mullon C.J.P., Hewitt W.R., Salomon, B., Rozga J., Demetriou A.A.: *Clinical experience with a bioartificial liver in the treatment of severe liver failure: a phase I clinical trial.* Ann Surg, 225:484-494, 1997.

10) Ellis A., Hughes R., Wendon J.A., Kelly J.H., Sussman N.L., Williams R.: *Pilot-controlled trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure.* Hepatology, 24:1446-1451, 1996.

11) Gerlach J., Busse B., Muller C., Neuhaus P.: *Extracorporeal hybrid liver support system: bridging to liver transplantation (OLT) in a 45 year old female with drug induced fulminant hepatic failure (FHF).* Int J Artif Organs, 19:544-548, 1996.

12) Demetriou A.A.: *Support of the acutely failing liver. State of the art.* Ann Surg, 228:14-15, 1998.

Autore corrispondente:

Prof. Gianfranco AZZENA
Dipartimento di Chirurgia
Sezione di Patologia Speciale Chirurgica dell'Università di Ferrara
Arcispedale Sant'Anna,
Corso Giovecca, 203
44100 FERRARA