

Sistemi artificiali di supporto epatico: stato dell'arte



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

P. PAZZI, R. SCAGLIARINI

Servizio di Gastroenterologia ed Endoscopia Digestiva
Azienda Ospedaliera Arcispedale S. Anna, Ferrara

Introduzione

Il razionale dell'impiego di sistemi di supporto epatico extracorporeo nel trattamento dell'insufficienza epatica, acuta o cronica, è rappresentato dalla loro potenziale capacità di vicariare completamente o in parte le funzioni del fegato. Tali sistemi di supporto possono essere biologici, bio-artificiali (ibridi) od artificiali (non biologici). I sistemi biologici sono fondati sulle cellule del fegato, quali gli epatociti isolati umani od animali, ma anche sull'impiego dell'intero fegato di animali impiegato in circolazione crociata extracorporea. I sistemi bio-artificiali si avvalgono sia di componenti biologiche, come gli epatociti, che di componenti artificiali. Infine i supporti puramente artificiali sono costituiti da sistemi basati su membrane sintetiche porose selettive o su sostanze sintetiche adsorbenti. I sistemi biologici di supporto epatico hanno la potenziale capacità di svolgere funzioni detossicanti e bio-sintetiche, mentre i sistemi puramente artificiali esplicano soltanto funzioni di detossificazione, la cui rilevanza è sottolineata dal ruolo centrale giocato da numerose sostanze tossiche nella patogenesi dell'insufficienza epatica acuta e cronica. Probabilmente, il sistema ideale di supporto epatico dovrebbe essere ibrido, comprendendo quindi sia componenti artificiali che componenti biologiche, allo scopo di ottimizzarne l'efficacia vicariante la funzione epatica. Attualmente, i sistemi di supporto epatico rappresentano promettenti trattamenti sperimentali dell'insufficienza epatica e il loro impiego può essere tentato in pazienti nei quali il trattamento convenzionale sia risultato inefficace. Il loro ruolo specifico, nel contesto della complessa gestione del paziente affetto da insufficienza epatica, è rappresentato, nelle forme acute dal *bridging* ver-

Riassunto

I tentativi di effettuare un efficace trattamento di supporto epatico extracorporeo in pazienti affetti da insufficienza epatica acuta si sono basati sull'impiego dell'emodialisi, dell'emoperfusione, della plasmaperfusione, dell'adsorbimento su sangue intero o su plasma e della plasma exchange. Dopo più di 30 anni di ricerche in questo campo, i risultati degli studi clinici controllati non hanno però dimostrato un significativo aumento della sopravvivenza in questo tipo di paziente, essendo il trapianto ortotopico di fegato la sola misura terapeutica attualmente riconosciuta efficace. In questo lavoro abbiamo rivisitato i vari sistemi di supporto epatico basati su metodiche puramente artificiali, valutandone i limiti e la efficacia. I progressi nel campo della coltura in vitro degli epatociti isolati, suggeriscono un loro potenziale uso in sistemi di supporto epatico cosiddetti bio-artificiali. Studi recenti indicano come l'integrazione di sistemi puramente artificiali di supporto epatico, come l'adsorbimento del sangue o del plasma su particelle di carbone attivato o su resine neutre od a scambio ionico, con sistemi ibridi basati su cellule epatiche isolate possano migliorare e prolungare l'azione di supporto in caso di insufficienza epatica acuta.

Parole Chiave: Fegato artificiale, sistemi di supporto epatico, emodialisi, emoperfusione, plasmaperfusione, emoadsorbimento, plasma exchange.

Summary

ARTIFICIAL LIVER SUPPORT DEVICE: STATE OF THE ART

Previous attempts in improving the outcome of acute liver failure patients were based on extracorporeal artificial systems such as hemodialysis, hemoperfusion, plasmaperfusion, hemoadsorption and plasma exchange. Despite more than 30 years of research and development in this field, an artificial liver has still not become a reality, since purely artificial support systems have shown only minor improvement in patient's survival, and orthotopic liver transplantation is the only effective cure. This review takes a critical look at past and present concepts for an artificial liver support system, evaluating the advantages and disadvantages of the aforementioned techniques. Progress in methods and techniques for maintaining long-term hepatocyte culture in vitro indicate the potential use of isolated liver cells in bio-artificial liver support systems. Recent studies suggest the use of traditional artificial liver support systems, such as

hemoadsorbition or plasma-adsorbition on activated charcoal particles or synthetic ion-exchange or neutral resins to improve and prolong the efficiency of the so-called hybrid or bioartificial liver, in which isolated hepatocytes are used.

Key words: Artificial liver, liver support device, hemodialysis, hemoperfusion, plasmaperfusion, hemoadsorbition, plasma exchange.

so il trapianto di fegato oppure dal supporto temporaneo fino al ripristino spontaneo della funzione epatica. Nelle forme croniche, il supporto temporaneo può consentire il trattamento delle condizioni che hanno determinato l'insorgenza dell'insufficienza epatica acuta, fino al ripristino di una funzionalità epatica compatibile con la vita.

Metodiche di supporto epatico artificiale

I sistemi di supporto epatico artificiale hanno la funzione di vicariare il fegato nella rimozione dal circolo di sostanze tossiche di varia natura, fra cui ammonio, aminoacidi, mercaptani, bilirubina, acidi biliari, endotossine ed altre molecole di basso e medio peso molecolare. Teoricamente, i sistemi emodialitici sono paragonabili alla ultrafiltrazione glomerulare mentre l'emoperfusione su sostanze adsorbenti è assimilabile alla detossicazione epatica.

L'efficacia detossicante di un sistema è fondata da una parte sulle caratteristiche chimiche e fisiche delle sostanze tossiche da rimuovere e dall'altra dalle specifiche proprietà delle membrane o degli adsorbenti impiegati, così come riassunto in Tabella I.

Procedure di tipo emodialitico

I sistemi emodialitici (emodialisi ed emofiltrazione) rimuovono dal circolo sostanze di basso e medio peso molecolare, ma non hanno alcuna efficacia nella detossicazione del sangue da molecole lipofile o legate a proteine.

In passato, l'emodialisi era sembrata promettente per la sua capacità di rimuovere gli ioni ammonio e migliorare il quadro di encefalopatia epatica in pazienti affetti

da cirrosi; il suo impiego anche nell'insufficienza epatica acuta ne aveva confermato l'efficace rimozione di sostanze di basso peso molecolare e dell'ammonio (1). La valutazione dell'emodialisi in un più elevato numero di pazienti affetti da insufficienza epatica acuta non ha peraltro evidenziato significativi miglioramenti della sopravvivenza ed ha sottolineato la necessità di utilizzare membrane modificate, più porose ed in grado di filtrare molecole di dimensioni maggiori (2, 3).

L'emofiltrazione con membrane modificate come il poliacrilonitrile (PAN), consente di eliminare molecole di medio peso molecolare. Il suo impiego in studi clinici di piccole dimensioni e non controllati, in pazienti affetti da insufficienza epatica acuta si è associato ad un tasso di sopravvivenza del 22% (4). Più recentemente sono state impiegate, con risultati interessanti, membrane liquide in grado di rimuovere selettivamente tossine lipofile; tali membrane sono state testate sia *in vitro* che *in vivo* in modelli animali, ed anche preliminarmente in un paziente con insufficienza epatica (5).

Una tecnica mista, che associa l'uso dell'emodialisi e di sostanze adsorbenti, viene realizzata attraverso l'aggiunta di un adsorbente al dialisato, che consente di ottenere la rimozione delle tossine ancora presenti e di superare i problemi legati alla biocompatibilità dell'emoperfusione. La sospensione di adsorbente attualmente più utilizzata è costituita da polvere di carbone e da una resina a scambio ionico capace di legare l'ammonio. Il limite principale di questo sistema (BioLogic-DT) è quello di rimuovere soltanto i soluti del dialisato senza interferire con tossine, bilirubina o sostanze legate a proteine presenti in circolo. I risultati clinici preliminari hanno evidenziato un miglioramento dell'encefalopatia epatica in pazienti epatopatici cronici con insufficienza epatica acuta (6), mentre in pazienti affetti da insufficienza epatica fulminante i risultati sono stati meno convincenti, anche se è stata comunque evidenziata la capacità di questo sistema di prevenire l'incremento dell'ammoniemia (7). L'impiego controllato di BioLogic-DT, per 6 ore al giorno e per 3 giorni consecutivi in 5 pazienti affetti da epatite alcolica acuta con encefalopatia di grado II-IV, ha dimostrato una elevata biocompatibilità del sistema ed ha confermato la sua efficacia nel ridurre i livelli ammoniemicici rispetto al gruppo di controllo (8). Come atteso, le citochine circolanti non hanno presentato riduzioni significative rispetto ai controlli (8).

Tab. I. SCHEMA RIASSUNTIVO DELLE VARIE TECNICHE DI SUPPORTO EPATICO ARTIFICIALE, IN RAPPORTO AL TIPO DI SOLUTI RIMOSSI DAL SANGUE O DAL PLASMA

Procedure	Soluti
emodialisi	molecole idrofiliche di basso peso molecolare (< 400 Daltons)
emofiltrazione	molecole di medio peso molecolare (400-1500 Daltons)
adsorbimento (su plasma o sangue)	sostanze idrofobiche e molecole legate a proteine
plasma exchange	tutti i soluti plasmatici

La rimozione di tossine legate alle proteine può essere anche effettuata utilizzando sistemi di membrana modificati, che dializzano il sangue contro un dialisato contenente albumina in un sistema denominato molecular adsorbent recirculating system (MARS). L'impiego di questo sistema in pazienti con insufficienza epatica acuta sembrerebbe efficace nel ridurre od eliminare le tossine legate alle proteine e nel migliorare il quadro clinico (9).

Plasmaferesi e plasma exchange

Nella insufficienza epatica acuta, la plasmaferesi seguita da plasma exchange determina la sottrazione dal circolo di tutte le sostanze tossiche o potenzialmente tali, comprese bilirubina, acidi biliari ed endotossine, e contemporaneamente apporta sostanze di possibile effetto benefico che migliorano, fra l'altro, l'assetto coagulativo. La plasmaferesi ad elevati volumi consiste nel prolungare e/o ripetere nel tempo i periodi di emoperfusione, allo scopo di eliminare una maggior quantità di tossine, influenzando anche su quelle presenti nel comparto extracellulare. L'impiego della plasmaferesi ad elevati volumi ha determinato il miglioramento di alcuni parametri clinici e biochimici come il grado del coma, la bilirubinemia e la coagulazione, ma non si è dimostrata efficace nel migliorare la sopravvivenza dei pazienti affetti da insufficienza epatica acuta (10). Il trattamento con plasma exchange si configura pertanto come una possibile modalità di supporto temporaneo del paziente con insufficienza epatica acuta, in attesa del trapianto (11). Peraltro, grazie al continuo sviluppo della tecnologia delle membrane artificiali, attualmente sembra possibile utilizzare questa procedura anche per supportare pazienti per prolungati periodi di tempo (12, 13).

Sistemi che utilizzano sostanze adsorbenti

Attualmente, tutti i sistemi di supporto epatico artificiale, eccetto la plasma exchange, impiegano sostanze adsorbenti. Nei sistemi più frequentemente utilizzati l'emoperfusione su adsorbente può essere effettuata con sangue intero o plasma. Gli adsorbenti disponibili possono essere non specifici, il prototipo dei quali è rappresentato dalle particelle di carbone, oppure selettivi nei confronti di sostanze tossiche circolanti, come le resine sintetiche neutre (XAD-2, XAD-4, XAD-7), a scambio ionico (DOWEX-1) o gel-agarosio, quest'ultimo capace specificamente di legare l'albumina.

Il carbone attivato o charcoal è una sostanza caratterizzata da elevata porosità che ne determina il grande potere assorbente non selettivo. L'emoperfusione richiede l'impiego di particelle di charcoal generalmente rivestite con cellulosa, nitrato di cellulosa o gel. Il rivestimento consente di migliorarne sostanzialmente la biocompatibilità,

riducendo la distruzione di piastrine e leucociti ed evitando l'attivazione del complemento. Il charcoal, un adsorbente non polare, rimuove con grande efficienza numerosi soluti non polari, fra cui polipeptidi, mercaptani, acido gamma amino butirrico (GABA), aminoacidi aromatici, fenoli, endotossine ed inibitori della Na-K-ATPasi. Non è invece in grado di eliminare né l'ammonio, né sostanze circolanti legate all'albumina. La presenza di charcoal nei sistemi di supporto epatico sembrerebbe quindi necessaria ma non sufficiente ad espletare una completa ed efficace detossificazione. Dopo i primi promettenti studi, che riportavano una sopravvivenza del 45% in 22 pazienti consecutivi affetti da insufficienza epatica fulminante (14), i successivi trials clinici controllati non hanno evidenziato significativi miglioramenti della sopravvivenza in 137 pazienti affetti da insufficienza epatica ed encefalopatia di III grado, sottoposti a 5 o 10 ore di emoperfusione con charcoal, nei confronti del trattamento convenzionale (15).

Altre sostanze sintetiche adsorbenti sono le resine macroreticolari non-ioniche, o neutre, che possono legare sostanze lipofile o legate all'albumina. In uno studio preliminare, l'amberlite o XAD-7, una resina rivestita da albumina umana al fine di garantirne la biocompatibilità, ha dimostrato di essere in grado di rimuovere bilirubina, acidi biliari ed altre sostanze di medio peso molecolare (16). Successivamente, la sua efficacia è stata anche dimostrata per la rimozione di alcune citochine come l' α -TNE, l'IL-6 e l' α -IFN, molecole queste che non vengono rimosse dal charcoal. D'altra parte, l'amberlite non rimuove le endotossine, sulle quali invece è efficace il charcoal (17). Resine non-ioniche sono state impiegate in pazienti con ittero di varia eziologia, allo scopo di ridurre il livello ematico della bilirubina. A tal proposito, va menzionata la NK-110, una resina sintetica che è stata impiegata in uno studio pilota effettuato in 5 pazienti iperbilirubinemici e che ha determinato una riduzione della bilirubinemia totale fino al 51%, senza provocare significativi effetti indesiderati (18).

In uno studio pilota condotto in 4 pazienti con ittero intrattabile, abbiamo recentemente valutato l'efficacia clinica della plasmaperfusione su una resina neutra, il copolimero stirene-divinilbenzene. Il trattamento ha determinato una riduzione significativa della bilirubinemia totale e coniugata, degli acidi biliari ed un significativo, seppur transitorio, miglioramento del prurito, in assenza di effetti indesiderati (19). In studi preliminari condotti presso il nostro laboratorio, tale resina ha dimostrato *in vitro* una capacità significativamente maggiore del charcoal di legare sia la bilirubina che i sali biliari. Tra questi ultimi, quelli più idrofobici e quindi anche più epatotossici, venivano adsorbiti più efficientemente di quelli più idrofilici (19).

Le resine a scambio ionico hanno la capacità di adsorbire le citochine ed altre molecole legate all'albumina. Polimeri cationici come le polietileneimine su cellulosa, dotati di elevata biocompatibilità, si sono dimostrati effi-

caci nel rimuovere le citochine e quindi sono risultati di potenziale interesse clinico (20). Anche la Polimixina B sembra efficace nella rimozione delle citochine plasmatiche, ma la sua tossicità ne limita sostanzialmente l'impiego clinico. Resine anioniche sono state utilizzate recentemente nel trattamento dell'ittero intrattabile a varia eziologia, con risultati interessanti. Ad esempio, il BR-350 ha determinato una riduzione marcata della bilirubina, degli acidi biliari e del prurito in studi pilota effettuati su pazienti iperbilirubinemici a varia eziologia, (21, 22). Il suo impiego si è dimostrato efficace e sicuro anche in pazienti con ittero grave, bilirubina totale superiore a 55 mg/dl, ed insufficienza multiorgano post-trapianto epatico (23). Uno studio recente ha però evidenziato una significativa riduzione plasmatica di retinolo dopo l'impiego di BR-350 (24).

Emoperfusione e plasmaperfusione

Nei vari sistemi extracorporei di supporto epatico può essere impiegata sia la perfusione del sistema con sangue intero, emoperfusione, che la perfusione del sistema col solo plasma, plasmaperfusione. L'emoperfusione è invariabilmente associata ad emolisi e piastrinopenia, secondarie al traumatismo meccanico subito dalle cellule ematiche. Inoltre, essa richiede l'impiego di sostanze anticoagulanti che prevengano lo sviluppo di trombi all'interno del circuito extracorporeo. La plasmaperfusione riduce sia l'emolisi che la distruzione di piastrine, ma richiede preliminarmente l'impiego di un separatore di plasma per la plasmaferesi. Una adeguata anticoagulazione è comunque necessaria in entrambe le procedure. Nell'emoperfusione, l'anticoagulazione sistemica viene effettuata con eparina per via endovenosa, somministrata in infusione continua od in boli ed il rischio di sanguinamenti non è comunque elevato. Per la plasmaperfusione, la somministrazione di anticoagulanti è invece locale e viene effettuata con eparina o soluzioni di citrato di sodio, le quali possono determinare ipocalcemia. Anche con l'uso di citrato di sodio, il rischio di sanguinamento è basso.

Biocompatibilità

I sistemi artificiali che comportano il contatto del sangue con elementi non biologici provocano inevitabili alterazioni delle cellule ematiche e possono indurre l'attivazione dei processi coagulativi e del complemento, oltre che dei leucociti e delle piastrine. È evidente che la plasmaperfusione riduce l'insorgenza di queste alterazioni, anche se non le elimina completamente.

La biocompatibilità è un processo largamente sconosciuto, nel quale intervengono svariati fattori legati da una parte alla natura chimico-fisica dell'elemento artificiale non biologico che viene utilizzato, e dall'altra alle pro-

prietà chimico-fisiche del sangue o del plasma circolante comprese le modificazioni fisiopatologiche indotte dalla malattia di base, comprendenti anche l'anticoagulazione indotta farmacologicamente. A questo proposito, la somministrazione di prostaciline potrebbe rivelarsi utile per ridurre l'attivazione piastrinica, mentre è stato ipotizzato che la sostituzione dell'eparina sodica con eparina a basso peso molecolare potrebbe migliorare la biocompatibilità dei sistemi artificiali. Recentemente è stato proposto di utilizzare come anticoagulante per un sistema di supporto bio-artificiale basato su epatociti isolati di maiale, il mesilato nafamostato (6-amino-2-naphthyle-p-guanidino-benzoato, dimethane-sulfonato), con buoni risultati preliminari (24). Peraltro, il rapporto fra l'anticoagulante e la natura delle membrane o degli adsorbenti è probabilmente uno dei problemi più rilevanti della moderna bioingegneria ancora ampiamente sconosciuto.

Conclusioni

Da alcuni anni, i sistemi artificiali di supporto epatico hanno acquisito un nuovo significato, che li colloca in un'ottica diversa rispetto al passato. Infatti, qualora questi sistemi vengano impiegati nel trattamento del paziente epatopatico critico, essi non possono, da soli, modificare sostanzialmente il quadro clinico e la sopravvivenza, avendo come limite principale quello di svolgere una funzione esclusivamente detossificante e peraltro anche parziale e limitata nel tempo. Anche se probabilmente l'associazione di più sistemi artificiali di supporto epatico potrà in futuro espletare funzioni detossificanti più complesse ed efficaci sul plasma od il sangue di pazienti affetti da insufficienza epatica, ciò continuerà a rappresentare solo uno dei vari aspetti terapeutici necessari per un efficace intervento di supporto epatico. Attualmente, l'interesse per i sistemi extracorporei di supporto epatico è rivolto al loro impiego all'interno di sistemi più complessi, costituiti cioè da una componente biologica, le cellule epatiche, che espletano funzioni sintetiche, metaboliche e di biotrasformazione e da una o più componenti artificiali, sia emodialitiche che di emoperfusione su sostanze sintetiche adsorbenti. Infatti, oltre alla attività detossificante sul sangue od il plasma del paziente affetto da insufficienza epatica acuta, queste componenti artificiali possono, almeno in parte, vicariare alla mancanza dell'emuntorio biliare assente nei bioreattori che contengono epatociti isolati, contribuendo ad aumentare l'efficienza metabolica delle cellule stesse e quindi dell'intero sistema di supporto. In questa prospettiva di maggior efficienza e durata, è sperabile che i futuri sistemi bio-artificiali di supporto epatico possano essere utilizzati non soltanto per trattamenti *bridging* al trapianto di fegato, ma anche come modalità terapeutica a sé stante degli episodi ricorrenti di insufficienza epatica acuta in pazienti con epatopatia cronica.

Bibliografia

- 1) Kiley J.E., Welch H.F., Pender J.C. et al.: *Removal of blood ammonia by haemodialysis*. Proc Soc Exp Biol Med, 91:489-90, 1956.
- 2) Benhamou J.P., Rueff B., Sico C.: *Severe hepatic failure: a critical study of current therapy*. In: *Liver and drugs*, Orlandi F., Jezequel A.M. eds., New York. Academic Press, p. 213-8, 1992.
- 3) Opolon P., Lavallard M.C., Huguet C. et al.: *Haemodialysis versus cross haemodialysis in experimental liver coma*. Surg Gynecol Obstet. 142:845-54, 1976.
- 4) Opolon P.: *Large pore haemodialysis in fulminant hepatic failure*. In: *Artificial liver support*, Brunner G., Schmidt F.W. eds. Berlin, Springer-Verlag, p. 141-6, 1981.
- 5) Konstantin P., Chang J., Otto V. et al.: *Artificial liver*. Artif Org, 16:235-42, 1992.
- 6) Ash S.R., Blake D.E., Carr D.J. et al.: *Clinical effects of a sorbent suspension dialysis system in treatment of hepatic coma (the BioLogic DT)*. Int J Artif Org, 17:657-62, 1994.
- 7) Hughes R.D., Pucknell A., Routley D. et al.: *Evaluation of the BioLogic DT sorbent-suspension dialyser in patients with fulminant hepatic failure*. Int J Artif Org, 17:657-62, 1994.
- 8) Ellis A.J., Hughes R.D., Nicholl D. et al.: *Temporary extracorporeal liver support for severe acute alcoholic hepatitis using BioLogic-DT*. Int J Artif Org, 22:27-34, 1999.
- 9) Stange J., Ramlow W., Mitzner S. et al.: *Dialysis against a recycled albumin solution enables the removal of albumin-bound toxins*. Artif Org, 17:809-13, 1993.
- 10) Tygstrup N., Larsen F.S., Hansen B.A.: *Treatment of acute liver failure by high volume plasmapheresis*. In: *Acute liver failure*, Lee W.M., Williams R. eds. Cambridge, Cambridge University Press, p. 267-77, 1997.
- 11) Agishi T., Nagakawa Y., Teraoka Y. et al.: *Plasma exchange as a rescue strategy for hepatic failure*. ASAIO J, 40:77-9, 1994.
- 12) Yoshida M., Sekiyama K., Iwamura Y. et al.: *Development of reliable artificial liver support (ALS)-plasma exchange in combination with haemodiafiltration using high-performance membranes*. Dig Dis Sci, 38:469-476, 1993.
- 13) Philip J., Jaffrin M.Y., Ding L.H.: *Hemolysis reduction in plasmapheresis by module design: operating with pulsed flow filtration enhancement*. Int J Artif Org, 16:100-107, 1993.
- 14) Gazzard B.G., Westom M.J., Murray-Lyon I.M. et al.: *Charcoal hemoperfusion in the treatment of fulminant hepatic failure*. Lancet, 251:1301-7, 1974.
- 15) O'Grady J.G., Gimson A.E.S., O'Brien C.J. et al.: *Controlled trials of charcoal hemoperfusion and prognostic factors in fulminant hepatic failure*. Gastroenterology, 94:1186-92, 1988.
- 16) Bihari D., Hughes R.D., Gimson A.E.S. et al.: *Effects of serial resin hemoperfusion in fulminant hepatic failure*. Int J Artif Org, 6:299-302, 1983.
- 17) Nagaki M., Hughes R.D., Lau J.Y.N. et al.: *Removal of endotoxin and cytokines by adsorbents and the effect of plasma protein binding*. Int J Artif Org, 14:43-50, 1991.
- 18) Chen C.Z., Yu Y.T., Song J.C. et al.: *Clinical trials for removal of bilirubin by high-capacity nonionic adsorbent*. Artif Org, 17:76-8, 1993.
- 19) Pazzi P., Puviani A.C., Lodi A. et al.: *Bilirubin and bile acids removal by non-ionic adsorbent resin*. Int J Artif Org, 21:654, 1998.
- 20) Falkenhagen D., Mitzner S., Loth F. et al.: *Endotoxin removal by polymeric adsorbents. Potential application in medicine*. In: *Polymers in medicine and surgery*. Kronenthal R.L., Oser Z., Martin E. eds. London, Plenum Press, p. 165-71, 1994.
- 21) Geiger H., Klepper J., Lux P. et al.: *Biochemical assessment and clinical evaluation of a bilirubin adsorbent column (BR-350) in critically ill patients with intractable jaundice*. Int J Artif Org, 15:35-9, 1992.
- 22) Alarabi A.A., Wikstrom B., Loof L. et al.: *Treatment of pruritus in cholestatic jaundice by bilirubin and bile acid-adsorbing resin column plasma perfusion*. Scand J Gastroent, 27:223-6, 1992.
- 23) Otto R., Rupprecht H., Born G. et al.: *Plasma separation and bilirubin adsorption after complicated liver transplantation: a therapeutic approach to excessive hyperbilirubinemia*. Transplantation, 65:434-7, 1998.
- 24) Ihara H., Shino Y., Hashizume N. et al.: *Decline in plasma retinol in unconjugated hyperbilirubinemia treated with bilirubin adsorption using anion-exchange resin*. J Nutr Sci Vitaminol, 44:329-36, 1998.
- 25) Fujioka H., Eguchi S., Sugiyama N. et al.: *Efficacy of nafamostat mesilate for improving the performance of a bioartificial liver using porcine hepatocytes*. Int J Artif Org, 22:505-510, 1999.

Autore corrispondente:

Dott. Paolo PAZZI
 Servizio di Gastroenterologia ed Endoscopia
 Digestiva, Azienda Ospedaliera Sant'Anna,
 Corso Giovecca, 203
 44100 FERRARA
 Tel.: 0532.236.448