

FÍGADO BIOARTIFICIAL

JORGE REIS

Unidade de Cuidados Intensivos Gastrenterológicos. Hospital Santa Maria. Lisboa

RESUMO

A hepatite fulminante permanece sem tratamento médico eficaz, com taxas de mortalidade próximas de 90%. O transplante hepático é a única alternativa terapêutica que pode salvar estes doentes. Contudo, a escassez de órgãos acaba por restringir o número dos doentes que são realmente transplantados. Com o intuito de manter estes doentes sem lesões neurológicas até que seja efectuado o transplante, ou, idealmente, até que decorra a regeneração hepática, surgiram os sistemas artificiais de suporte hepático. Inicialmente estes sistemas eram constituídos unicamente por um sistema de depuração, tendo o seu funcionamento sido aperfeiçoado com a introdução duma entidade funcional, no sentido duma maior aproximação à fisiologia do fígado.

SUMMARY

Bioartificial liver

Fulminant hepatic failure remains without satisfactory medical treatment and with a mortality rate of nearly 90%. Liver transplantation is the only chance to save these patients. However, there is a shortage of donors and many patients die before transplantation. It is thus necessary to develop a liver support system to help maintain patients alive, neurologically intact until an organ becomes available for transplantation, or ideally until hepatic regeneration. Early systems had only a depuration function, but now these systems include hepatocytes to replace most hepatic functions.

INTRODUÇÃO

Apesar dos desenvolvimentos que quase diariamente surgem nas áreas da Hepatologia e dos Cuidados Intensivos, a hepatite fulminante permanece sem tratamento médico adequado, com uma mortalidade que se aproxima dos 90%. Em 1990, faleceram nos Estados Unidos da América mais de 27.000 pessoas por falência hepática, das quais cerca de 10% por formas agudas, potencialmente reversíveis, como as que resultaram da ingestão de drogas hepatotóxicas ou de hepatites virais¹. Com a progressiva implementação do transplante hepático nestas situações, a taxa de sobrevivência a longo prazo, num estudo recente, atingiu os 92% nos doentes transplantados². Contudo a escassez de órgãos disponíveis para transplante, um problema mundial ainda não resolvido, leva a que a maioria dos doentes propostos para transplante hepático morram enquanto aguardam dador, estimando-se que apenas 10% destes sejam realmente transplantados². Por outro lado, o tempo que decorre entre a decisão de efectuar o transplante até à ocorrência

de lesões irreversíveis é curto. Torna-se por isso necessário o desenvolvimento de um sistema de suporte artificial que mantenha os doentes vivos e neurologicamente *intactos* até que seja efectuado o transplante ou, idealmente, até à recuperação *espontânea*. Em teoria, o fígado dos doentes com lesão hepática aguda é potencialmente reversível mantendo todo o seu potencial de regeneração e, quando recupera, fá-lo de forma completa, sem doença residual. Estes doentes passam a ter, após a recuperação, uma expectativa de vida semelhante à da população em geral, evitando assim os inconvenientes da imunossupressão e do *follow-up* durante o resto da vida a que os doentes submetidos a transplante hepático ficam sujeitos.

REVISÃO HISTÓRICA

O desenvolvimento de órgãos artificiais pode considerar-se como uma das áreas que mais revolucionaram a Medicina nos últimos anos. A substituição temporária do coração e pulmões permitiu verdadeiros *milagres* em

cirurgia cardíaca; a hemodiálise revolucionou o prognóstico da insuficiência renal aguda e crónica. Em termos de suporte hepático a implementação de um sistema eficaz de fígado artificial tem sido muito mais difícil. A explicação é simples: nenhum dos órgãos até agora substituídos com sucesso é particularmente complexo. O coração é um órgão que *apenas* tem como função bombear sangue, os rins são filtros e os pulmões são membranas. Nesta linguagem o que chamar ao fígado?

Mais cientificamente, o fígado tem funções biológicas de síntese (factores da coagulação, albumina ...), desintoxicação (toxinas endógenas e exógenas) e reguladoras do metabolismo dos hidratos de carbono, gorduras e hormonas. Em face desta complexidade, é compreensível que as tentativas até agora efectuadas de substituição da função hepática não tenham sido completamente satisfatórias, com a óbvia excepção do transplante.

O desenvolvimento dum sistema eficaz de suporte hepático tem constituído um estimulante desafio à investigação ao longo das últimas décadas, em áreas tão diversas como a biologia celular e a biotecnologia incluindo importantes melhoramentos em técnicas de cultura de tecidos.

Pode considerar-se que Kolff em 1955 e Kiley em 1958³ foram os pioneiros na introdução de um sistema de depuração mecânica (hemodiálise), com o objectivo de tratar doentes com insuficiência hepática. Dos cinco doentes por eles tratados, verificou-se que em quatro (80%), houve melhoria da encefalopatia, não tendo contudo havido qualquer benefício em termos de sobrevida.

Em 1976, 20 anos depois, Opolon et al, utilizaram também a hemodiálise no tratamento de 24 doentes com hepatite fulminante, mas introduzindo no sistema uma membrana de poliácridonitrilo que permite a depuração de substâncias com um peso molecular até 15000, o que inclui a maioria das moléculas que, à luz do conhecimento actual, estão associadas ao desenvolvimento de encefalopatia (EPS). Neste estudo, cinco doentes (20,8%), todos eles em EPS grau III/IV no início do tratamento, recuperaram completamente.

Outros autores valendo-se de métodos arcaicos como a circulação cruzada com animais ou humanos, ou a perfusão em fígado de cadáveres tiveram resultados semelhantes aos anteriores⁴⁻⁶. Resultados aparentemente mais animadores foram obtidos com transfusões de grande volume, embora a população tratada tivesse sido muito heterogénea não tendo sido efectuado qualquer estudo controlado. Em estudos recentes⁷, também a plasmaferese mostrou ser eficaz na recuperação do coma hepático e na melhoria significativa dos parâmetros da coagulação

de doentes com insuficiência hepática aguda.

Em 1974, Gazzard⁸ ao publicar os resultados obtidos em doentes tratados por hemoperfusão em carvão, criou uma grande expectativa no meio médico, já que, parecia finalmente estar encontrado um método que produzisse bons resultados de forma consistente. Nos anos que se seguiram, assistiu-se à implementação deste método como método padrão no suporte de doentes com falência hepática, na maioria dos centros especializados. Continuava, contudo, a não haver estudos controlados que demonstrassem haver um benefício inequívoco em termos de sobrevida.

Roger Williams e o seu grupo efectuaram pela primeira vez, um estudo randomizado em que foram englobados 137 doentes com o diagnóstico de hepatite fulminante⁹. Neste estudo, demonstraram que a taxa de sobrevida e a incidência de complicações eram semelhantes nos doentes tratados com hemoperfusão com carvão ou com medidas gerais de suporte. No entanto verificaram que as taxas de sobrevida global eram superiores às obtidas em estudos anteriores, e do mesmo modo, que o tempo que mediou entre a proposta de transplante hepático e a morte também era maior. Estes dados foram interpretados como sendo o resultado da prática de Medicina Intensiva de excelente qualidade, nomeadamente da monitorização apertada do edema cerebral que foi considerado *causa maior* de morte nestes doentes¹⁰.

Com este trabalho encerrou-se a fase da depuração mecânica isolada como forma de tratar estes doentes (*Quadro I*).

Quadro I - Mortalidade e resolução da encefalopatia associadas aos sistemas de depuração mecânicos.

Ano	Método	Melhoria da EPS	Sobrevida
1955	Hemodiálise	4/5	0/5
1957	Hemaferese	7/7	5/7
1959	Hemodiálise cruzada com cão	1/1	0/1
1964	Circulação cruzada Humano-Humano	2/3	1/3
1965	Perfusão em fígado de porco	8/8	0/8
1966	Perfusão em fígado de cadáver	4/5	1/5
1968	Plasmaferese	3/3	0/3
1972	Hemoperfusão por carvão	11/12	10/12
1976	Hemodiálise (poliacridonitrilo)	13/24	5/24
Total		68%	28%

Da análise do quadro anterior, pode-se inferir um efeito benéfico destes métodos no *status* neurológico dos doentes com falência hepática aguda, não sendo contudo, suficiente para alterar de forma significativa a sua taxa de sobrevivida.

FÍGADO BIOARTIFICIAL

Também chamado sistema híbrido por acoplar uma entidade funcional (hepatocitos) ao sistema de depuração, de modo a que, além da função de desintoxicação, sejam igualmente substituídas de forma eficaz as funções de síntese e de regulação que o fígado habitualmente desempenha.

Os sistemas biologicamente activos têm em comum uma estrutura que suporte, os hepatocitos, e um mecanismo de perfusão continua de plasma ou sangue. Os diferentes protótipos, actualmente em desenvolvimento, têm uma estrutura grosseira semelhante. Em todos estes sistemas, o sangue ou o plasma penetra no sistema, sendo os substratos a ser metabolizados *tratados* pelos hepatocitos que recobrem fibras ocas, usados na maioria dos bioreactores actuais, por onde passa o sangue ou o plasma sendo reintroduzido no doente. Diferem, contudo, entre si: na geometria da estrutura de suporte, na natureza do que é perfundido e na fonte de hepatocitos.

Geometria: Actualmente a grande maioria dos sistemas utiliza um conjunto de fibras ocas, compostas por material semi-permeável, que serve de suporte aos hepatocitos, e por onde é bombeado o sangue ou plasma. Este arranjo geométrico permite uma maior área de contacto das células com o sistema.

Natureza do que é perfundido: A perfusão faz-se com plasma ou com sangue total.

O uso de plasma elimina os efeitos indesejáveis, possíveis quando se utiliza sangue, nomeadamente hemólise, trombocitopénia ou embolização. Por outro lado elimina a necessidade de heparinização, que está formalmente contraindicada em doentes com monitorização da pressão intracraniana. Outra vantagem consiste na possibilidade de ser filtrado antes de ser reintroduzido no organismo, eliminando assim o risco de contaminação celular. Por outro lado, o circuito é consideravelmente mais complexo, tendo o plasma, naturalmente, menor capacidade de oxigenação. A perfusão com sangue total é mais simples, permitindo também, a oxigenação necessária à manutenção de culturas celulares de alta densidade. Fluxos sanguíneos de 75-100 ml/min são suficientes para a manutenção de 200 g de hepatocitos em cultura durante vários dias¹¹.

Hepatocitos: Para ser eficaz, a terapêutica baseada na

utilização de células, deve suplementar a função hepática existente a um nível que satisfaça as necessidades metabólicas do doente. Um fígado adulto pesa \pm 1500 g, contendo aproximadamente 1200 g de hepatocitos. Sabe-se que a encefalopatia ocorre, habitualmente, quando a função hepática cai abaixo de 25-35% do normal. Daí que, qualquer sistema de suporte hepático, deva fornecer o equivalente funcional a várias centenas de gramas de fígado. Idealmente esta entidade funcional seria constituída por hepatocitos humanos; no entanto, para cada tratamento diário é necessário renovar as células do sistema que são de difícil acesso, uma vez que não se conseguiu ainda mantê-las viáveis em cultura, por um período razoável de tempo. Em alternativa, recorreu-se aos hepatocitos animais¹² conseguindo-se deste modo uma maior disponibilidade em células, havendo no entanto, o risco de infecção e/ou imunização. O uso de linhagens celulares monoclonais¹³ proporciona em alternativa, disponibilidade quase permanente, uniformidade e esterilidade, embora a sua utilização seja considerada menos fisiológica e tenha sido sugerido por alguns autores, o risco teórico de implantação tumoral secundária, apesar de não haver casos descritos na literatura.

Foram desenvolvidos diferentes sistemas, sendo a sua constituição básica similar entre eles (*Figura 1*).

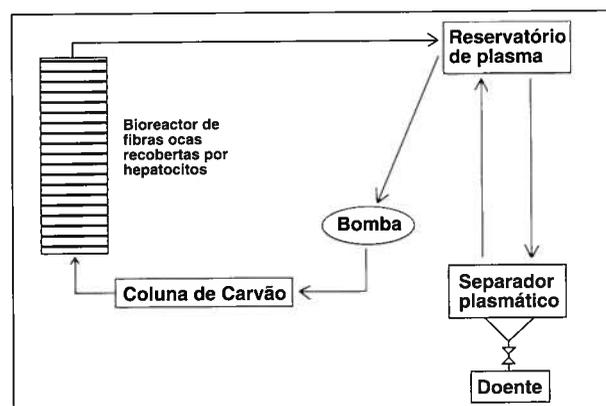


Fig. 1 - Representação esquemática de um sistema de fígado bioartificial.

Embora os resultados, no momento actual, sejam muito encorajadores, com inúmeros relatos de casos bem sucedidos, continua a não haver estudos controlados que comprovem a sua eficácia. Põe-se mesmo em dúvida, se do ponto de vista ético será lícita a realização de um estudo randomizado em que se pretenda comparar um método que parece produzir, de forma sistemática, efeitos benéficos não só no *status* neurológico dos doentes, mas também, provavelmente aumentando a sua sobrevivida; com a simples ausência de terapêutica extracorporeal.

TRANSPLANTE DE HEPATOCITOS ISOLADOS

Com o objectivo de obviar as frequentes falhas no fornecimento de hepatocitos, indispensáveis ao funcionamento dos sistemas bioartificiais, surgiu a ideia de fazer o seu transplante no doente. Quando comparada com o transplante hepático, esta técnica oferece inúmeras vantagens nomeadamente: a possibilidade de um familiar do doente poder doar uma quantidade suficiente de células à manutenção da função hepática sem qualquer inconveniente para ele; um só dador poder teoricamente tratar vários doentes; e as células, ao contrário de todo o órgão, poderem ser criopreservadas para situações futuras. Obviamente o transplante de hepatocitos é muito menos dispendioso que o transplante hepático.

Teoricamente seria o fígado o órgão ideal para a implantação dos hepatocitos. Contudo, verificou-se em animais, que a infusão intraportal levava à sua acumulação nos ramos mais distais da veia porta e sinusóides resultando em extensa necrose hepática, hipertensão portal e pulmonar¹⁴. Foram feitas tentativas em diversos órgãos ou tecidos (tecido celular subcutâneo, músculo, peritoneu, cápsula renal, peritoneu, pulmão e baço)^{15,16}. No entanto, apenas a cavidade peritoneal e o baço têm mostrado ter potencialidades para o efeito^{17,18}.

Uma das grandes dificuldades na viabilidade desta modalidade de suporte funcional, é que a vascularização em redor dos hepatocitos transplantados, necessário à sua viabilidade, demora algumas semanas a estabelecer-se¹⁹, tempo este nem sempre disponível nos doentes com hepatite fulminante. Outra desvantagem é a necessidade de imunossupressão após a implantação alogénica de hepatocitos²⁰. Contudo o desenvolvimento de uma técnica de micro-encapsulação hepatocitária produziu uma forma de isolamento das células transplantadas em relação ao sistema imune do hospedeiro, evitando a necessidade de imunossupressão, com manutenção da função²¹.

PERSPECTIVAS FUTURAS

Apesar de todos os desenvolvimentos aqui enunciados, os sistemas de fígado artificial estão ainda muito longe de atingirem a plenitude das suas potencialidades. Desenvolvimentos biotecnológicos recentes, em áreas como a interacção celular e a bioengenharia, elevaram a investigação de tudo o que possa contribuir para o aperfeiçoamento dos sistemas artificiais de suporte hepático, a um nível excitante. Diversos grupos, dispersos por todo o mundo, continuam a criar e a aperfeiçoar sistemas, tardando um deles a surgir como o ideal, o que se compreende pela complexidade das funções normalmente desempenhadas pelo fígado.

De forma a que a eficácia dos diversos sistemas possa ser comparada entre si, torna-se necessário definir claramente quais são os objectivos do tratamento. É também necessário uniformizar, quer a fonte, quer a massa de hepatocitos a utilizar, já que actualmente diferentes investigadores utilizam diferentes quantidades de tecido hepático extraídos de diversas espécies animais. São igualmente necessários estudos controlados, que serão tanto mais informativos quanto maior uniformidade no estabelecimento e reprodutibilidade dos modelos animais de falência hepática. Por fim, outra área de investigação futura, reside na utilização de tecido hepático fetal, que tem a vantagem de poder ser transplantado sem necessidade de imunossupressão, restam contudo importantes questões éticas a resolver, antes do seu uso indiscriminado.

AGRADECIMENTO

A Paula Alexandrino, pelas inúmeras críticas e sugestões, sem as quais este trabalho não teria sido executável.

BIBLIOGRAFIA

1. National center for health statistics: Births, marriages, divorces and deaths for 1990. Monthly Vital Statistics Report 1991; 39: 1-14
2. ASCHER NL, LAKE JR, EDMOND JC, ROBERTS JP: Liver transplantation for fulminant hepatic failure. Arch Surg 1993; 128: 677-82
3. KILEY JE, PENDER JC, WELCH HF, WELCH CS: Ammonia intoxication treated by hemodialysis. N Engl J Med 1958; 259: 1156-61
4. KIMOTO S: The artificial liver experiments and clinical application. ASAIO Trans 1959; 5: 102-10
5. EISEMAN B, LIEM DS, RAFFUCCI F: Heterologous liver perfusion in treatment of hepatic failure. Ann Surg 1965; 162: 329-45
6. KINARE SG: Use of perfused cadaveric liver in the management of hepatic failure. Surgery 1966; 59: 774-81
7. MUNOZ SJ, BALLAS SK, MORITZ MJ: Perioperative management of fulminant hepatic failure with therapeutic plasmapheresis. Transplant Proc 1989; 21: 3535-6
8. GAZZARD BG, WESTON MJ, MURRAY IM: Charcoal haemoperfusion in the treatment of fulminant hepatic failure. Lancet 1974; 1: 1301-7
9. O'GRADY JG, GIMSON AE, O'BRIEN CJ, PUCKNELL A, HUGHES RD, WILLIAMS R: Controlled trials of charcoal hemoperfusion and prognostic factors in fulminant hepatic failure. Gastroenterology 1988; 94: 1186-92
10. BIHARI D: On the Demise of the Artificial Liver Gastroenterology 1989; 96: 551-52
11. SUSSMAN NL, KELLY JH: Extracorporeal liver assist in the treatment of fulminant hepatic failure. Blood Purification 1993; 11: 170-174
12. NEUZIL DF, ROZGA J, MOSCIONI AD: Use of a novel bioartificial liver in a patient with acute liver insufficiency. Surgery 1993; 113: 340-3
13. ELLIS AJ, WENDON J, HUGHES R, LANGLEY P, SUSSMAN NL, KELLY JH: A controlled trial of the Hepatix extracorporeal liver assist device (ELAD) in acute liver failure. Hepatology 1994; 20: 140A
14. RIVAS P, FABREGA AJ, SCHWARTZ D, DIGIANTIS W, POLLAK R: Preservation and transplantation of purified canine hepatocytes. Transpl Proc 1992; 24: 2833-6
15. FULLER BJ: Transplantation of isolated hepatocytes. J Hepatology

1988; 7: 368-76

16. SANDBICHLER P, THEN P, VOGEL W, ERHART R, DIETZE O, PHILADELPHY H: Hepatocellular transplantation into the lung for temporary support of acute liver failure in the rat. *Gastroenterology* 1992; 102: 605-9

17. DIXIT V, DARVASI R, ARTHUR M, BREZINA M, LEWIN K, GITNICK G: Restoration of liver function in Gunn rats without immunosuppression using transplanted microencapsulated hepatocytes. *Hepatology* 1990; 12: 1342-9

18. MOSCIONI AD, CHOWDHURY JR, BARBOUR R, BROWN LL: Human liver cell transplantation: prolonged function in athymic-Gunn

and athymic analbuminemic hybrid rats. *Gastroenterology* 1989; 96: 1546-51

19. DEMETRIOU AA, REISNER A, SANCHEZ J, LEVENSON SM, MOSCIONI AD, CHOWDHURY J: Transplantation of microcarrier-attached hepatocytes into 90% partially hepatectomized rats. *Hepatology* 1988; 8: 1006-9

20. DEMETRIOU AA, WHITING J, LEVENSON SM: New method of hepatocyte transplantation and extracorporeal liver support. *Ann Surg* 1986; 204: 259-71

21. DIXIT V: Transplantation of isolated hepatocytes and their role in extrahepatic life support systems. *Scand J Gastroent* 1995; 30:101-10