

De kunstlever: klaar voor toepassing bij patiënten?

Anno 2016 beschikt een intensive care-arts over een aantal kunstmatige organen om patiënten met falende organen te ondersteunen. Voorbeelden zijn de kunstnier en de hart-longmachine. Voor patiënten met ernstig leverfalen, bij wie de enige levensreddende behandeling tot op heden een transplantatie met een donorlever is, zijn kunstlevers in ontwikkeling. Deze kunstlevers zijn ofwel gebaseerd op apparatuur die eiwitgebonden toxische stoffen verwijderen uit het bloed van de patiënt met bijvoorbeeld albumine dialyse, ofwel maken gebruik van bioreactoren gevuld met functionerende levercellen, de zogenoemde bioartificiële lever. Theoretisch gezien heeft de bioartificiële lever de grootste potentie om levensduur verlengend te werken. Ook uit klinisch onderzoek blijken de resultaten veelbelovend, maar deze zijn nog onvoldoende om al tot algemeen klinisch gebruik over te gaan.

Chamuleau RAFM. De kunstlever: klaar voor toepassing bij patiënten?

Ned Tijdschr Tandheelkd 2016; 123: 243-247

doi: 10.5177/ntvt.2016.05.16100

Inleiding

Anno 2016 beschikt een intensive care-arts over een aantal kunstmatige organen om patiënten met falende organen te ondersteunen. Voor een falende nier is er hemodialyseapparatuur, voor ernstige ademhalingsmoeilijkheden is er kunstmatige ventilatie, voor een falend hart zijn een aorta ballonpomp of zelfs een kunsthart mogelijk, voor een gecombineerd hart-longfalen is er een hart-longmachine en voor patiënten met een short bowel syndroom (kortedarmsyndroom) totale parenterale voeding. Echter, voor een patiënt met ernstig leverfalen is er nog geen apparatuur in de kliniek beschikbaar. In dit artikel wordt ingegaan op het ziektebeeld bij ernstig leverfalen en een overzicht gegeven van onderzoek met kunstlevers.

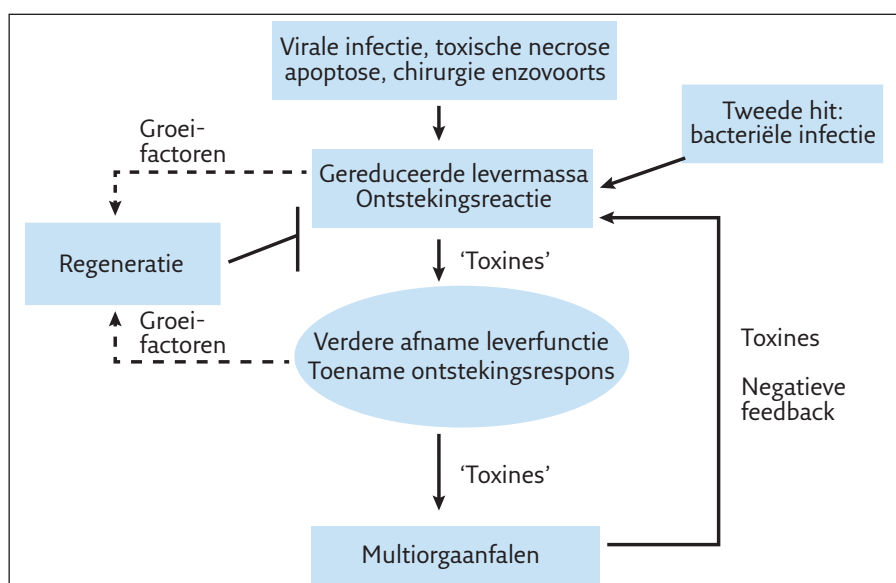
Ernstig leverfalen

Ernstig leverfalen kan op verschillende manieren ontstaan, en wel door een acuut leverfalen (ALF) of een acute verslechtering bij chronisch leverlijden (acuut op chronisch leverlijden; ACLF). ALF is een plotselinge levensbedreigende verslechtering van een lever die tevoren gezond was. Dit kan bijvoorbeeld optreden als complicatie van een acute virale hepatitis, maar onder andere ook bij geneesmiddellintoxicatie, geneesmiddelallergie, de ziekte van Wilson, acute zwangerschapsleververvetting en paddenstoel-

vergiftiging. ACLF is een plotselinge verslechtering van een toch al gecompromitteerde leverfunctie. Bijvoorbeeld een cirrosepatiënt die een ernstige bloeding in de tractus digestivus of een bacteriële infectie (sepsis) krijgt.

Zowel ALF als ACLF kennen een hoge mortaliteit: 60-80%, afhankelijk van de oorzaak en de expertise van het behandelende centrum. Anno 2016 is levertransplantatie, orthotoop of auxiliair, nog steeds de enige levensreddende behandeling (Sgroi et al, 2009). Door donorschaarste komt een geschikte donorlever niet altijd op tijd beschikbaar en overlijdt een aantal patiënten die op de wachtlijst voor een donorlever staat. Er is dus dringend behoefte aan een kunstlever om deze patiënten in leven te houden totdat transplantatie mogelijk wordt of totdat spontaan herstel van de zieke lever optreedt; de lever heeft immers een ongekende regeneratiecapaciteit. Het bekende voorbeeld daarvan is dat bij ratten na een partiële leverresectie van 66% de resterende leverkwabben weer in 10 dagen aangroeiden tot het oorspronkelijke volume (Higgins en Anderson, 1931). Ook de menselijke lever heeft een grote regeneratiecapaciteit, alleen duurt de aangroei enkele weken in plaats van dagen.

Ernstig leverfalen is een complex ziektebeeld: alle functies van de lever zoals eiwitsynthese, ontgiftiging, handhaven van de lichaamshomeostase en immunologische afweer schieten tekort, wat leidt tot multi-orgaanfalen inclusief nierinsufficiëntie (hepatorenaal syndroom) en hepatische encephalopathie (verminderde cognitieve functies in verschillende graderingen eindigend in levercoma). Afbeelding 1 geeft een schematisch overzicht van de complexe pathofysiologische processen die daarbij een rol spelen.



Afb. 1. Pathofysiologie van ernstig leverfalen.

1. Totale compensatie van de falende synthetische, ontgiftende en stofwisselingsactiviteit
2. Stimuleren van leverregeneratie
3. Het tegengaan van multi-orgaanfalen
4. Veiligheid
5. Kosteneffectief
6. Gemakkelijk beschikbaar en hanteerbaar

Tabel 1. Wenselijke eigenschappen van de ideale kunstlever (naar Bañares et al, 2013).

Kunstleversystemen

De afgelopen 10 tot 20 jaar zijn er diverse kunstleversystemen onderzocht, experimenteel maar ook klinisch. Kunstlevers kunnen grofweg in 2 categorieën worden verdeeld: systemen zonder levercellen en systemen die niet gebruiken van functionerende levercellen (Stadlbauer en Jalan 2007; Phua en Lee 2008; Sgroi et al 2009; Shalimar en Acharya, 2015). Tabel 1 geeft een opsomming van de eisen waaraan een ideale kunstlever zou moeten voldoen.

Kunstleversystemen die behandelen zonder levercellen zijn gebaseerd op verwijdering van toxische stoffen uit het bloed of plasma van de patiënt. Dit gebeurt dan door middel van dialyse of adsorptie van wateroplosbare stoffen en/of verwijdering van eiwitgebonden stoffen aan albumine, zogenoemde albuminedialyse. Ook is onderzocht of gehele

of gedeeltelijke plasmavervanging heilzaam kan werken. Het is langzamerhand duidelijk geworden dat deze 'non-cell based' kunstlevers geen positief effect hebben op de overleving van ALF- en ACLF-patiënten, ofschoon ze wel de ernst van de hepatische encephalopathie en van het hepatorenaal syndroom kunnen verminderen. Dit is de conclusie van een uitgebreide meta-analyse door Zheng et al (2013).

De algemeen geldende opvatting is dat de op cellen gebaseerde kunstlever, ook wel bioartificiële lever (BAL) genoemd, de aanpak van keuze is. Een BAL is een bioreactor beladen met functionerende levercellen die buiten het lichaam wordt aangesloten op de bloedcirculatie van de patiënt en daar zijn ondersteunende activiteit heeft. Van de BAL wordt verwacht dat hij niet alleen toxische stoffen onschadelijk maakt, maar ook nuttige stoffen (eiwitten, groeifactoren, cytokines enzovoorts) aan de patiënt toedient. De meeste BAL-systemen zijn gebaseerd op 'hollow fiber cartridges' met cellen aan de ene zijde van de fibermembraan en bloed of plasma aan de andere zijde (Park en Lee, 2005).

Een aantal BAL-systemen is klinisch experimenteel toegepast, zij het met wisselend succes (tab. 2). Alle onderzoeken claimen veiligheid van de BAL-behandeling en effectiviteit op de stabilisatie van de hemodynamiek van de patiënt en verbetering van biochemische parameters zoals leverenzymen, bilirubine en ammoniak.

BAL-systeem	Cellen	Aantal patiënten	Diagnose	Resultaat	
HepatAssist (Demetriou et al, 2004)	Varkenslevercellen	n = 171	FHF/SHF/PNF	Gecontroleerd klinisch onderzoek: op overleving geen significant effect	
MELS (Sauer et al, 2003)	Varkenslevercellen	n = 8	ALF	Fase II veilig	
	Humane levercellen	n = 12	ALF/PNF/ACLF	Fase II veilig	
ELAD 1996 (Ellis et al 1996) en www.vitaltherapies.com	C3A-levercellijn	n = 19	ALF	Gecontroleerd klinisch onderzoek: overleving niet significant	
		- VTI 201	n = 18		cirrose
		- VTI 206	n = 62		AILD
		- VTI 301	n = 69		ACLF
AMC-BAL (Van de Kerkhove et al, 2002)	Varkenslevercellen	n = 14	ALF	Fase II veilig	
HBAL (Van de Kerkhove et al, 2004)	Varkenslevercellen	n = 12	ALF	Fase II veilig	
BLSS (Van de Kerkhove et al, 2004)	Varkenslevercellen	n = 4	ALF	Fase II veilig	
TECA-HALSS (Van de Kerkhove et al, 2004)	Varkenslevercellen	n = 3 plus 3	ALF en ACLF	Fase II veilig	
RFB (Van de Kerkhove et al, 2004)	Varkenslevercellen	n = 4 plus 3	ALF en PNF	Fase II veilig	

ACLF = acuut op chronisch leverlijden
 AILD = ernstig alcoholisch leverlijden
 ALF = acuut leverfalen
 FHF = fulminant leverfalen
 PNF = primaire non-functie van het transplantaat
 SHF = subacuut leverfalen

Tabel 2. Gecontroleerde klinische onderzoeken met BAL-systemen.

Naast een aantal fase II-onderzoeken (waarin veiligheid en werkzaamheid bij een klein aantal patiënten werden onderzocht) zijn er 2 gecontroleerde klinische onderzoeken in de onderzoeksliteratuur te vinden (Ellis et al, 1996; Demetriou et al, 2004). In het onderzoek van Demetriou et al (2004) werd het HepatAssist BAL-systeem gebruikt. Dit systeem maakt gebruik van gecryopreserveerde varkenslevercellen. Het systeem werd toegepast bij 171 patiënten (86 controlegroep; 85 experimentele groep met ALF ten gevolge van diverse oorzaken). Bij 'intention to treat'-analyse was er geen significant effect op de overleving. Hiervoor zijn een aantal verklaringen te geven: het HepatAssist-onderzoek maakte gebruik van 1. een betrekkelijk laag aantal gecryopreserveerde varkens hepatocyten (circa 7 miljard per behandeling; dit is minder dan 5% extra levermassa voor een volwassene); 2. een bioreactor met suboptimaal transport van toxische stoffen en substraten over de hollow fiber-membraan; en 3. een inhomogene patiëntenpopulatie bij wie bovendien de overleving werd beïnvloed door wel of geen tijdige levertransplantatie.

Het tweede gecontroleerde klinisch onderzoek maakte gebruik van het BAL-systeem ELAD (Ellis et al, 1996). Dit systeem bestaat uit 4 hollow fiber cartridges elk gevuld met 110 gram cellen zonder lokale extra oxygenatie van de cellen. De ELAD gebruikt een humane levertumorceldlijn (C3A) met een zeer matige differentiatiegraad, onder andere ammoniak producerend in plaats van consumerend. Het systeem werd onderzocht in een klein pilot-onderzoek bij 24 ALF-patiënten. De ELAD leverde geen verbetering van de overleving op. De resultaten van het onlangs met de ELAD uitgevoerde gerandomiseerde fase III-onderzoek (waarbij effectiviteit en veiligheid van een nieuwe behandeling bij grotere groepen patiënten wordt onderzocht) bij 203 patiënten met gedecompenseerd alcoholisch leverlijden zijn nog niet officieel gepubliceerd, maar worden wel vermeld in een persbericht (www.vitaltherapies.com). Hieruit blijkt geen significant effect van de behandeling op de overleving van de patiënten.

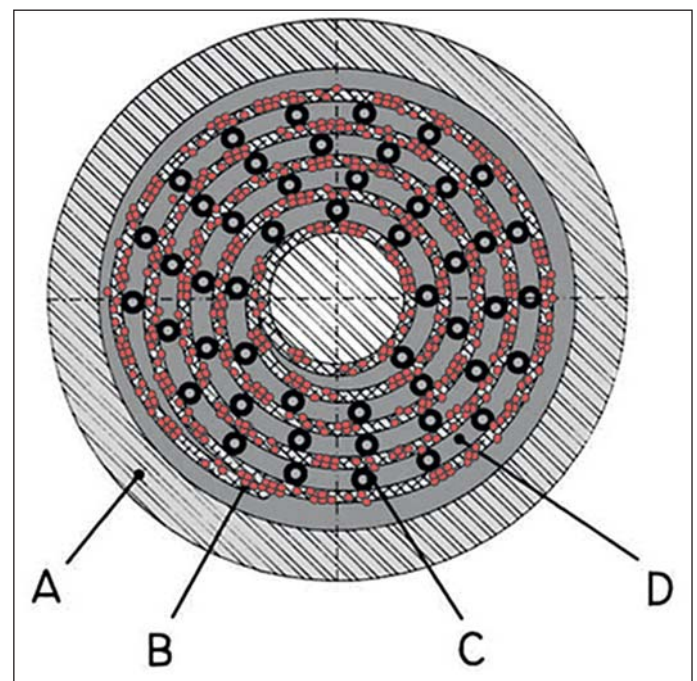
In een recent overzichtsartikel wordt dan ook geconcludeerd dat er nog ruimte is voor verbetering van de behandeling met het BAL-systeem (Bernal et al, 2015).

Ook medici aan het Academisch Medisch Centrum (AMC) in Amsterdam hebben een BAL-systeem ontwikkeld, de zogenoemde AMC-BAL. Deze heeft een origineel en gepatenteerd concept. De levercellen bevinden zich in de bioreactor in een driedimensionale configuratie op een matrix die in concentrische ringen om een harde centrale kern is gewonden. Tussen de lagen van de matrix bevinden zich honderden gascapillairen, die de cellen direct van zuurstof voorzien. Doorstromend plasma van de patiënt in de extracapillaire ruimte komt in direct contact met de cellen zonder tussenkomst van een membraan (afb. 2 en 3). Momenteel onderzoekt men de belading van de AMC-BAL met de commercieel verkrijgbare menselijke levercellijn HepaRG. Deze cellijn is afkomstig van een humaan levercelcarcinoom. Het bijzondere van HepaRG is dat naast een redelijke proliferatiecapaciteit de differentiatiegraad aanzienlijk beter is dan van bijvoorbeeld de C3A cellijn van de ELAD. Bovendien is tumorigeniciteit niet meer aantoonbaar (Hoekstra et al, 2011). Uit dierexperimenteel onderzoek met ratten met ALF bleek dat het AMC-BAL-systeem beladen met HepaRG de levensduur met circa 50% verlengde (Nibourg et al, 2012).

Aangezien een leververvangende BAL zeker het equivalent van 15 miljard goed functionerende levercellen moet bevatten, heeft de productie van HepaRG-cellen in grote hoeveelheden onder 'Good Manufacturing Practice' de hoogste prioriteit bij het Amsterdamse onderzoeksteam. Dan ligt de weg open voor een gecontroleerd klinisch onderzoek bij patiënten met ALF en ACLF. Ondertussen doet het AMC onderzoek naar verdere verbetering van de functionaliteit van de BAL door middel van het kweken van hepatocyten in combinatie met non-parenchymcellen, zoals endotheelcellen, Kupffer-cellen en/of mesenchymale stamcellen (Chamuleau et al, 2005; Zinchenko et al, 2006). Tot



Afb. 2. Zij-aanzicht van de AMC-BAL met in- en uitgang voor medium (cq. plasma) en gas.



Afb. 3. Dwarsdoorsnede van de AMC-BAL. A = polycarbonaat huls; B = non-woven polyester matrix met levercellen; C = oxygenatie capillair; D = extracapillaire ruimte.

nu toe geeft het kweken van HepaRG onder driedimensionale omstandigheden (zoals in de BAL) de grootste verbetering van functionaliteit ten opzichte van monolayer kweken.

De beschikbaarheid van een goed functionerende BAL op het moment dat een ALF-patiënt hem nodig heeft, vereist een complexe logistiek. Functionerende BAL-systemen moeten standby zijn in het laboratorium. Dit is weliswaar kostbaar, maar niet onmogelijk. Onder optimale perfusie-omstandigheden zijn HepaRG-BAL-systemen enkele weken houdbaar. Er wordt ook onderzoek gedaan naar de mogelijkheid of cryopreservatie deze logistiek eenvoudiger kan maken.

Naast ontwikkelingen op het gebied van de BAL worden ook andere leververvangende behandelingen wereldwijd onderzocht, zoals leverceltransplantatie en implanteerbare levers ('tissue engineering') (Soto-Gutiérrez et al, 2006; Sgroi et al, 2009; Takebe et al, 2013; Lee et al, 2015). Uitgebreide behandeling hiervan valt buiten de scope van dit artikel, maar in het kort komt het erop neer dat leverceltransplantatie (in de peritoneale holte, in de milt of rechtstreeks in de lever) veelbelovend lijkt voor bijvoorbeeld patiënten met aangeboren stofwisselingsziekten van de lever (Sgroi et al, 2009). Het verkrijgen van voldoende goed functionerende levercellen en duurzame repopulatie van de lever zijn waarschijnlijk oplosbare problemen. Bij het gebruik van embryonale of geïnduceerde pluripotente stamcellen ligt echter het gevaar van tumorigeniciteit op de loer. Leverceltransplantatie daarentegen als behandeling van ALF lijkt weinig kansrijk, omdat het vooralsnog onmogelijk is voldoende grote hoeveelheden cellen (10-15 miljard) te implanteren.

De ontwikkeling van implanteerbare in het laboratorium gemaakte levers is in een fascinerende experimentele fase. Bij muizen en ratten zijn al interessante resultaten bereikt met *in vitro* geproduceerde levertjes (organoiden) van humane levercellen op artificiële of biologische matrices. Problematisch is nog de aansluiting van een dergelijke lever op de bloedcirculatie van de patiënt en de constructie van een effectieve galafvoer.

Conclusie

Anno 2016 beschikken intensive care-artsen nog maar mondjesmaat over orgaanondersteunende apparatuur voor patiënten met ernstig leverfalen. Albuminedialyse en plasmavervanging ondersteunen de falende ontgiftende werking van de zieke lever, maar zijn niet levensduurverlengend. De BAL is in opkomst. Hij heeft zijn veiligheid en effectiviteit in dierexperimenten en fase II/III-onderzoeken bewezen, maar moet zijn levensduurverlengende werking in de kliniek nog bewijzen. Implanteerbare levers door middel van tissue engineering zijn in een vroege experimentele fase en veelbelovend.

Voorlopig is levertransplantatie nog steeds de enige levensreddende behandeling voor de patiënt met acuut leverfalen, maar de BAL ligt op de stip!

Literatuur

- * *Bañares R, Catalina MV, Vaquero J.* Liver support systems: will they ever reach prime time? *Curr Gastroenterol Rep* 2013; 15: 312.
- * *Bernal W, Lee WM, Wendon J, Larsen FS, Williams R.* Acute liver failure: A curable disease by 2024? *J Hepatol* 2015; 62: S112-S120.
- * *Chamuleau RA, Deurholt T, Hoekstra R.* Which are the right cells to be used in a bioartificial liver? *Metab Brain Dis* 2005; 20: 327-335.
- * *Demetriou AA, Brown RS, Busuttill RW, et al.* Prospective, randomized, multicenter, controlled trial of a bioartificial liver in treating acute liver failure. *Ann Surg* 2004; 239: 660-670.
- * *Ellis AJ, Hughes RD, Wendon JA, et al.* Pilot-controlled trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure. *Hepatology* 1996; 24: 1446-1451.
- * *Higgins GM, Anderson RM.* Restoration of the liver of the white rat following partial surgical removal. *AMA Arch Pathol* 1931; 12: 186.
- * *Hoekstra R, Nibourg GA, Hoeven TV van der, et al.* The HepaRG cell line is suitable for bioartificial liver application. *Int J Biochem Cell Biol* 2011; 43: 1483-1489.
- * *Kerkhove MP Van de, Di Florio E, Scuderi V, et al.* Phase I clinical trial with the AMC-bioartificial liver. *Int J Artif Organs* 2002; 25: 950-959.
- * *Kerkhove MP Van de, Hoekstra R, Chamuleau RA, van Gulik TM.* Clinical application of bioartificial liver support systems. *Ann Surg* 2004; 240: 216-230.
- * *Lee SY, Kim HJ, Choi D.* Cell sources, liver support systems and liver tissue engineering: alternatives to liver transplantation. *Int J Stem Cells* 2015; 8: 36-47.
- * *Nibourg GA, Chamuleau RA, Hoeven TV van der, et al.* Liver progenitor cell line HepaRG differentiated in a bioartificial liver effectively supplies liver support to rats with acute liver failure. *PLoS One* 2012; 7: e38778.
- * *Park JK, Lee DH.* Bioartificial liver systems: current status and future perspective. *J Biosci Bioeng* 2005; 99: 311-319.
- * *Phua J, Lee KH.* Liver support devices. *Curr Opin Crit Care* 2008; 14: 208-215.
- * *Sauer IM, Kardassis D, Zeillinger K, et al.* Clinical extracorporeal hybrid liver support - phase I study with primary porcine liver cells. *Xenotransplantation* 2003; 10: 460-469.
- * *Sgroi A, Serre-Beinier V, Morel P, Bühler L.* What clinical alternatives to whole liver transplantation? Current status of artificial devices and hepatocyte transplantation. *Transplantation* 2009; 87: 457-466.
- * *Shalimar, Acharya SK.* Management in acute liver failure. *J Clin Exp Hepatol* 2015; 5: S104-S115.
- * *Soto-Gutiérrez A, Kobayashi N, Rivas-Carrillo JD, et al.* Reversal of mouse hepatic failure using an implanted liver-assist device containing ES cell-derived hepatocytes. *Nat Biotechnol* 2006; 24: 1412-1419.
- * *Stadlbauer V, Jalan R.* Acute liver failure: liver support therapies. *Curr Opin Crit Care* 2007; 13: 215-221.
- * *Takebe T, Sekine K, Enomura M, et al.* Vascularized and functional human liver from an iPSC-derived organ bud transplant. *Nature* 2013; 499: 481-484.
- * *Zheng Z, Li X, Li Z, Ma X.* Artificial and bioartificial liver support systems for acute and acute-on-chronic hepatic failure: A meta-analysis and meta-regression. *Exp Ther Med* 2013; 6: 929-936.
- * *Zinchenko YS, Schrum LW, Clemens M, Cogger RN.* Hepatocyte and kupffer cells co-cultured on micropatterned surfaces to optimize hepatocyte function. *Tissue Eng* 2006; 12: 751-761.

Summary

(Bio)artificial liver support: ready for the patient?

In 2016, an intensive-care physician has at his disposal a number of artificial organs for the support of patients with organ failure. Examples are the artificial kidney and the heart-lung machine. Artificial livers are being developed for patients with severe liver failure whose lives can only be saved at the present time by a transplant with a donor liver. These artificial livers are based either on a device that removes toxic materials from the patient's blood with, for example, albumin dialysis, or make use of bio-reactors filled with functioning liver cells, the so-called bio-artificial liver. In theory, the bio-artificial liver has the greatest potential to increase life expectancy. The results of clinical studies are also very promising. They are not yet sufficient, however, to permit general clinical use.

Bron

R.A.F.M. Chamuleau

Uit de afdeling Hepatologie van het Academisch Medisch Centrum/Universiteit van Amsterdam

Datum van acceptatie: 8 maart 2016

Adres: dr. R.A.F.M. Chamuleau, AMC, postbus 22.660, 1100 DD Amsterdam
r.a.chamuleau@amc.uva.nl

Verantwoording

De auteur van dit artikel, dr. R.A.F.M. Chamuleau, is cso van HepArt, het spin-off bedrijf van het AMC dat de exclusieve licentie heeft van de AMC-BAL.

Voor het onderzoek naar de AMC-BAL wordt subsidie ontvangen: EU FP7 subsidie, nr 304914-1, acronym BALANCE.