



ARTÍCULO ESPECIAL

Terapia celular hepática en el tratamiento de las metabopatías congénitas en niños

E. Pareja^{a,*}, C. Ribes^b, M.J. Gómez-Lechón^c, M. Cortes^a, J.J. Vila^a, J. Dalmau^b, V. Ibáñez^a, B. Polo^b, J.V. Castell^c y J. Mir^c

^a Unidad de Cirugía y Trasplante Hepático, Unidad de Terapia Celular Hepática, Hospital Universitario La Fe de Valencia, Valencia, España

^b Unidad de Hepatogastroenterología Pediátrica y Trasplante Hepático, Hospital Universitario La Fe de Valencia, Valencia, España

^c Unidad de Hepatología Experimental, Unidad de Terapia Celular Hepática, Hospital Universitario La Fe de Valencia, Valencia, España

Recibido el 4 de febrero de 2013; aceptado el 21 de mayo de 2013

Disponible en Internet el 27 de julio de 2013

PALABRAS CLAVE

Trasplante hepático;
Criopreservación;
Trasplante de
hepatocitos;
Errores congénitos
del metabolismo;
Insuficiencia hepática
aguda

Resumen El trasplante hepático (TH) es el único tratamiento efectivo existente para las enfermedades hepáticas en fase terminal. La desproporción entre demanda y oferta de órganos constituye su principal limitación, planteando la necesidad de buscar alternativas de tratamiento.

El trasplante de hepatocitos humanos o trasplante celular hepático (TCH) constituye, en el momento actual, la mejor opción terapéutica puente al restablecimiento de la función hepática o al trasplante hepático. Consiste en trasplantar hepatocitos humanos totalmente diferenciados a un órgano receptor, en cantidad suficiente para que estos sobrevivan y restauren la función hepática normal, basándose en la capacidad de regeneración hepática.

El TCH consta básicamente de 4 pasos: el aislamiento de los hepatocitos a partir de injertos hepáticos descartados para TH, la preparación de las suspensiones celulares, la criopreservación de los hepatocitos aislados y, finalmente, su implante en el receptor.

Esta terapia se ha llevado a cabo en pacientes con insuficiencia hepática aguda de distintas etiologías con intención de sustituir o servir de puente al TH y en el tratamiento de pacientes pediátricos con errores congénitos del metabolismo con objetivo de reemplazar el déficit enzimático causante de la enfermedad.

En el Hospital La Fe de Valencia hemos puesto en marcha una Unidad de Terapia Celular Hepática y llevado a cabo el primer TCH en España, abriendo una nueva línea de trabajo dentro del Programa de Trasplante Hepático.

© 2013 Asociación Española de Pediatría. Publicado por Elsevier España, S.L. Todos los derechos reservados.

* Autor para correspondencia.

Correos electrónicos: pareja_eug@gva.es, gomez_mjo@gva.es (E. Pareja).

KEYWORDS

Liver transplant;
Cryopreservation;
Hepatocyte
transplantation;
Inherited metabolic
diseases;
Acute liver failure

Liver cell therapy in the treatment of inborn errors of metabolism in children

Abstract Liver transplantation has been remarkably effective in the treatment of patients with end-stage liver disease. However, disparity between solid-organ supply and increased demand is the main limitation, resulting in longer waiting times and an increase in the mortality of transplant recipients. This situation creates the need to seek alternatives to orthotopic liver transplantation. Hepatocyte transplantation or liver cell transplantation has been proposed as the best method to support patients, a bridge to restore liver function or liver transplant.

The procedure consists in transplanting individual cells in a recipient organ in enough quantity to survive and restore the function. The capacity of hepatic regeneration constitutes the biological basis of hepatocyte transplantation. Liver cell transplantation is carried out by means of the isolation of hepatocytes from donor liver rejected for orthotopic transplantation, to prepare a cell suspension for infusion, cryopreservation and, finally, hepatocytes are implanted into the recipient.

This may be an optional therapeutic procedure in some patients with inborn errors of metabolism, fulminant hepatic failure, and acute and chronic liver failure, as a bridge to orthotopic liver transplantation.

The first hepatocyte transplantation in Spain was performed in the Cell Therapy Unit of the Hospital La Fe of Valencia, creating a new research line in the transplant program.

© 2013 Asociación Española de Pediatría. Published by Elsevier España, S.L. All rights reserved.

Introducción

La terapia celular hepática o trasplante de hepatocitos (TCH) se considera hoy en día una estrategia terapéutica de vanguardia complementaria al trasplante de órgano sólido. Pese a que en el momento actual, el TCH no constituye una opción terapéutica definitiva, es aplicable a pacientes con insuficiencia hepática aguda, con intención de sustituir o servir de puente al trasplante hepático (TH) y a pacientes pediátricos con errores congénitos del metabolismo, en los cuales la enzima deficitaria se exprese en el hepatocito.

Determinados niños con enfermedades metabólicas congénitas, resultado de un déficit enzimático hepático, aun siendo candidatos potenciales para la realización de un TH, pueden ver limitado su acceso a esta opción terapéutica¹. En los últimos años, el TCH se propone como una alternativa terapéutica prometedora para este tipo de afecciones. Tras el implante de los hepatocitos, es esperable que se produzca un aumento de la actividad enzimática deficitaria, que se traduce en una mejoría de la condición clínica del paciente, de la gravedad de la enfermedad y, por ende, de su calidad de vida. El TCH se ha llevado a cabo con resultados clínicos satisfactorios en el tratamiento de pacientes pediátricos afectados de diferentes metabolopatías, tales como el síndrome de Crigler-Najjar I, deficiencias del factor VII, defectos de ciclo de la urea, glucogenosis tipo Ia y Ib, hipercolesterolemia familiar y la enfermedad de Refsum, entre otros, cuando el TH no constituye la primera opción terapéutica²⁻¹⁹ (tabla 1).

La elaboración de este manuscrito tiene por objeto realizar una puesta al día y difundir en el ámbito científico el estado actual del TCH en el tratamiento de los pacientes pediátricos con errores congénitos del metabolismo, aportando nuestra experiencia al respecto y poniendo a disposición de los distintos grupos de trabajo la posibilidad de acceso a esta nueva modalidad terapéutica actualmente utilizada con éxito en nuestro hospital.

Trasplante de hepatocitos

El TCH se fundamenta en trasplantar células totalmente diferenciadas, los hepatocitos, en un número suficiente para que sean capaces de sobrevivir y restaurar las funciones hepáticas. La terapia celular hepática tiene como objetivo la recuperación y el mantenimiento de las funciones hepáticas hasta disponer de un órgano compatible, sustituyendo de forma temporal la función de los hepatocitos. En los niños con errores congénitos del metabolismo, el objetivo es reemplazar el déficit enzimático causante de la enfermedad, bien como puente al TH o bien hasta conseguir una recuperación de la función enzimática, suficiente para mejorar la situación clínica del paciente. En el fallo hepático agudo (viral, por tóxicos, etc.), el TCH trata de ser una alternativa terapéutica parcial o total al trasplante convencional basado en la extraordinaria capacidad replicativa del hepatocito de regeneración permitiría ganar tiempo hasta la eventual recuperación de la población celular perdida²⁻¹⁹.

Con el objetivo de desarrollar esta iniciativa terapéutica de vanguardia, se creó en nuestro hospital, en el año 2007, la Unidad de Terapia Celular Hepática (UTCH), cuyo objetivo fundamental es trasladar la investigación básica a la clínica²⁰. Esta unidad, constituida por un equipo multidisciplinar, está integrada por el Servicio de Hepatología Infantil, la Unidad de Cirugía y Trasplante Hepático Adulto e Infantil y la Unidad de Hepatología Experimental; cuenta con la acreditación de sus instalaciones de acuerdo con la normativa europea EN-ISO 14644 sobre salas limpias y locales anexos, obteniendo el informe de conformidad con dicha norma, procediendo a la validación de la Sala Limpia como ISO clase 6 y las zonas anexas ISO clase 7. La UTCH dispone de la infraestructura necesaria para realizar el aislamiento, la caracterización y la criopreservación de los hepatocitos, así como la aplicación clínica de los mismos.

Hemos establecido procedimientos optimizados, a fin de obtener hepatocitos humanos de la máxima calidad,

Tabla 1 Experiencia en trasplante de hepatocitos

Metabolopatía	Edad	N.º células	Viabilidad (%)	Tipo células	Respuesta	Evolución
S. Crigler-Najjar 1						
Fox et al., 1998	10 a	7,5	90	F	↓50% Bb	TH 4 a
Darwish et al., 2004	8 a	7,5	ND	F/C	↓40% Bb	TH 20 m
Ambrosino et al., 2005	9 a	7,5	60-80	F	↓30% Bb	TH 5 m
Dhawan et al., 2006	18 m	4,3	ND	C	↓40% Bb	TH 8 m
	42 m	2,1	ND	F/C	No claro beneficio	
Allen et al., 2008	8 a	1,42	93	F	↓30% Bb	TH 11 m
					↓ fototerapia	
Lysy et al., 2008	9 a	6,1	80	F/C	↓35% Bb 6m	En lista de TH
	1 a	2,6	83	F/C	↓25% Bb, ↓fototerapia	TH 4 m
Hipercolesterolemia Familiar						
Grossman et al., 1995		1-3,2	90-95	F	↓20% LDL en 3 pac	ND
	7-41 a					
Déficit de factor VII						
Dhawan et al., 2004	3 m	1,1	80-90	C	↓70% F. VII 6 m	TH 7 m
	35 m	2,2	50-90	F/C	↓70% F. VII 6 m	TH 8 m
Glucogenosis tipo Ia						
Muraca et al., 2002	47 a	2	ND	F	Dieta N	ND
Lee et al., 2007	18 a	6	ND	ND	N G6P a 7 m	ND
Enfermedad de Refsum						
Sokal et al., 2003	4 a	2	50-90	F/C	↓Ac pipenólico 8 m	ND
Colostasis familiar intrahepática progresiva tipo II						
Dhawan et al., 2006	32 m	0,2	60	F	No beneficio	TH 5 m
	16 m	0,4	87	F	No beneficio	TH 14 m
OTC						
Strom et al., 1997	5 y	1	ND	F	↓NH4 ↑ tolera proteínas	Exitus 42 d
Horslem et al., 2003	10 h	9	51-94	F/C	↓NH4 ↑urea	TH 6 m
Stephenne et al., 2005	14 m	2,4	89	C	↓NH4 ↑urea	TH 6 m
Puppi et al., 2008	1 d	1,6	85-95	F/C	↓NH4 ↑urea	TH auxiliar 7 m
Meyburg et al., 2009	6 h	0,6	71	C	↓NH4 ↑ tolera proteínas	Exitus 4 m
	9 d	0,6	64	C		En lista TH
Deficiencia ASL						
Stephenne et al., 2006	42 a	4,9	81-90	F/C	↓NH4	TH 18 m
Citrulinemia						
Meyburg et al., 2009	38 m	1,5	74	C	N NH4. ↑40% urea	ND
Deficiencia de CPS1						
Meyburg et al., 2009	2,5 m	1,4	77	C	↓NH4 ↑ urea	En lista de TH

a: años; Bb: bilirrubina; C: congeladas; F: frescas; G6P: glucosa 6 fosfatasa; h: horas; m: meses; N: normal; ND: no disponible; TH: trasplante hepático.

estableciendo criterios de calidad y control que aseguran la conservación y el almacenamiento de las células, así como un adecuado control de calidad de las mismas tras la descongelación, de forma previa a la realización del TCH²¹⁻²⁷. La preparación de estas células en gran escala se realiza bajo condiciones de buena práctica de *producción (Good Manufacturing Practices [GMP])*, de forma que los hepatocitos obtenidos son aptos y seguros para su administración a humanos^{23,25,28}. El adecuado almacenamiento de las células en bolsas permite un fácil uso posterior y facilita la aplicación clínica.

La actividad clínica de nuestra Unidad está centrada en niños con errores congénitos del metabolismo y pacientes

con insuficiencia hepática aguda, con o sin hepatopatía de base. El Programa de Trasplante Celular Hepático en el Hospital La Fe de Valencia se inició en mayo del año 2008. Hasta el momento actual, se han llevado a cabo 9 TCH: 5 adultos con clínica de insuficiencia hepática aguda de distinta etiología y 4 pacientes pediátricos con errores congénitos del metabolismo.

Indicaciones del trasplante celular hepático

La indicación más aceptada en el momento actual para la realización del TCH la constituyen los errores congénitos del

Tabla 2 Indicaciones del trasplante celular hepático: enfermedades potencialmente tratables

1. <i>Fallo hepático agudo/fulminante</i>
2. <i>Enfermedades metabólicas</i>
Crigler-Najjar
Trastornos del ciclo de la urea
Dislipidemias
Déficit hereditario de factor VII
Enfermedad por almacenamiento de glucógeno tipo 1°
Hiperoxaluria primaria
Aciduria orgánica
Aminoaciduria
Déficit de alfa-1-antitripsina
Hiperamonemia
3. <i>Otras enfermedades genéticas</i>
Enfermedad de Wilson
Tirosinemia tipo 1
Protoporfiria eritropoyética
Lipoidosis (Niemann Pick...)
Adrenoleucodistrofia ligada al x
Amiloidosis familiar
Fibrosis quística
Enfermedad de Refsum
Galactosemia
Enfermedades lisosomales
Oxalosis
4. <i>Alteraciones de la coagulación: hemofilia A y B; déficit de proteína C y S; déficit del factor VII</i>
5. <i>Alteraciones inmunológicas: angioedema hereditario</i>

metabolismo²⁻¹⁹. La **tabla 2** muestra una lista de los desórdenes genéticos de origen hepático que cursan con disfunción hepática.

En nuestra UTCH, la indicación para TCH en los niños con errores congénitos del metabolismo se realiza basándose en el nivel de gravedad de la metabolopatía, el pronóstico de la enfermedad y los beneficios esperados. En todos los casos, las medidas terapéuticas tomadas con anterioridad habían fracasado, no siendo capaces de estabilizar la enfermedad, presentando los pacientes un deterioro progresivo de los parámetros analíticos y clínicos.

Otras indicaciones para el TCH comprenden el fallo hepático fulminante, la cirrosis hepática en pacientes que presentan episodios de descompensación aguda y la insuficiencia hepática severa tras resección hepática^{29,30,19,31-33}.

Nuestro objetivo se centra en la identificación de pacientes susceptibles de TCH en la población controlada, tanto en el Hospital Infantil La Fe como en el conjunto de la Comunidad Valenciana. Tras realizar esta evaluación, hemos clasificado a los pacientes en distintos niveles (**tabla 3**). Con el fin de intentar ofrecer esta terapia de vanguardia a todos los pacientes susceptibles de beneficiarse de este tratamiento, hemos elaborado un protocolo para difundir y aplicar este tratamiento.

Tabla 3 Pacientes susceptibles de trasplante celular hepático

Nivel 1a	Pacientes con enfermedad hepática o metabólica, sin tratamiento alternativo en la actualidad y con mala situación clínica y/o mala calidad de vida
Nivel 1b	Pacientes con fallo hepático fulminante, como puente a la recuperación espontánea o como puente al TH
Nivel 2a	Pacientes con enfermedad hepática o metabólica, sin tratamiento alternativo en la actualidad, con situación clínica estable (aceptable control metabólico), con pronóstico a medio-largo plazo desfavorable y/o mala calidad de vida
Nivel 2b	Pacientes con alteración hepática o metabólica, que pese a tratamiento específico (dietético, fototerápico, farmacológico) presentan situación clínico- metabólica inestable y mala calidad de vida
Nivel 3	Pacientes con alteración hepática o metabólica, en los que, pese a una situación clínica estable con tratamiento específico, el trasplante de hepatocitos puede ser una alternativa terapéutica de mayor eficacia. La aceptación de estos pacientes como candidatos será postergada según resultados en pacientes previos

Técnica del trasplante celular hepático

La obtención de los hepatocitos humanos es un proceso complejo por la escasez de fuentes aptas de tejido hepático para el aislamiento celular, la infraestructura necesaria para llevar a cabo dicho aislamiento y la conservación de los hepatocitos.

La técnica del TCH se basa en la obtención de hepatocitos viables y funcionalmente activos, que se criopreservan, se caracterizan funcionalmente y se almacenan en nitrógeno líquido para ser finalmente implantados en el receptor^{20,22}. La disponibilidad de hepatocitos en número y viabilidad suficiente, con una adecuada calidad metabólica funcional, constituye uno de los aspectos fundamentales que condiciona el éxito de este tratamiento^{20,25,27}.

Fuentes de obtención de hepatocitos

La obtención de hepatocitos para TCH se realiza en colaboración con la Organización Nacional de Trasplantes (ONT)³⁴ a partir de órganos descartados para TH. Los criterios que se exigen para aceptar estos injertos para el aislamiento celular son los mismos que para la donación en el TH. Desde el inicio del programa del trasplante celular en 2008, nuestra Unidad ha llevado a cabo el aislamiento de hepatocitos a partir de donantes descartados para TH por distintos motivos, tales como arteriosclerosis, serología vírica dudosa no confirmada, donantes a corazón parado, split, fibrosis hepática y anoxia cerebral en recién nacido, lo que permite el aprovechamiento de injertos no aptos para el TH

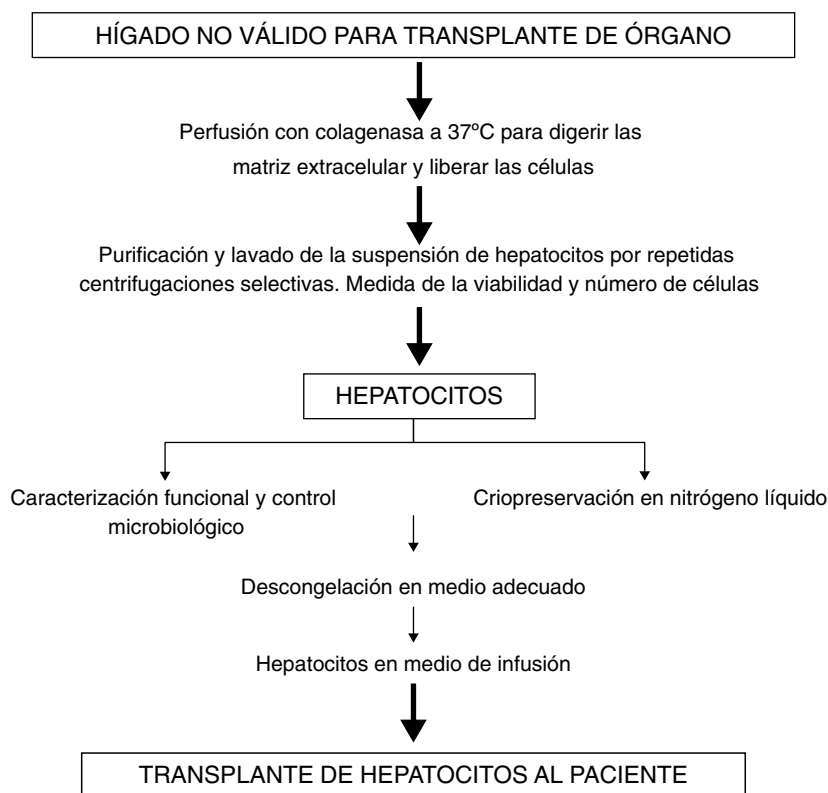


Figura 1 Esquema del proceso de obtención de hepatocitos para a partir de injertos hepáticos descartados para trasplante hepático.

convencional^{29,30,35}, pero que constituyen una buena fuente de obtención de células.

Aislamiento de hepatocitos

Nuestro laboratorio posee un protocolo estandarizado de aislamiento de hepatocitos a partir de biopsias hepáticas quirúrgicas. Este protocolo ha sido optimizado y adaptado para realizar aislamientos a gran escala a partir de órganos descartados para trasplante²². Todos los injertos son perfundidos con Celsior®, dado que en nuestra experiencia su uso produce una mayor preservación del tejido y de la viabilidad celular, en comparación con otros líquidos de preservación²⁸.

El aislamiento de hepatocitos se realiza mediante la perfusión del hígado con colagenasa, enzima proteolítica que permite la digestión del tejido hepático y el aislamiento de sus componentes celulares (fig. 1), con un rendimiento entre 6×10^6 y 2×10^7 hepatocitos vivos/g tejido hepático y una viabilidad media del 89%^{20,22,36}.

Preparación de suspensiones celulares para implante

Tras el aislamiento, las células se resuspenden, bien en el medio de infusión adecuado para ser transplantadas en fresco, o en el medio de congelación si son crioconservadas^{25,36}. Para criopreservar los hepatocitos, utilizamos como medio de congelación solución de Wisconsin (UWS) con 10% de DMSO como agente crioprotector^{24,25}.

En nuestra Unidad, siempre administramos a los pacientes células criopreservadas, ya que ello nos permite efectuar controles microbiológicos exhaustivos, evitando el riesgo

de transmisión de infecciones, la caracterización funcional (capacidad ureogénica y para metabolizar fármacos: isoenzimas del citocromo P450 y enzimas de conjugación) previamente a ser implantados, lo que permite seleccionar la preparación celular más adecuada funcionalmente para cada receptor, y la realización del trasplante de forma programada^{25,36}.

Implante de hepatocitos/infusión de hepatocitos

Al igual que en el TH, la realización del TCH debe respetar la compatibilidad ABO, siendo necesario un régimen inmunosupresor (corticoides con inhibidores de la calcineurina) para evitar el rechazo.

El TCH se lleva a cabo en la Unidad de Trasplante Pediátrico, con monitorización exhaustiva de los pacientes. Requiere la infusión manual de hepatocitos humanos en suspensión 5-10 ml/kg por hora¹. Se consideran aspectos clave a la hora de realizar el TCH: la vía de infusión, el número de células administradas por infusión, el número de infusiones y la viabilidad de dichas células. Trasplantamos entre el 5 y el 10% de la masa celular hepática teórica estimada del receptor, mediante infusión vía portal (previa colocación de un port-a-cath en la vena porta) de células criopreservadas, precisando para ello realizar un número variable de infusiones²⁻¹⁹. Es necesario tener en cuenta el número máximo de células por infusión con objeto de evitar efectos secundarios, especialmente la aparición de un aumento de la presión portal.

Se recomienda para el uso clínico hepatocitos con viabilidad superior al 60%, determinada mediante el test de

exclusión del azul tripán, que mide la integridad de la membrana celular³⁷. Con el fin de evaluar la calidad del hepatocito, realizamos en nuestra Unidad una determinación de la funcionalidad de las células, mediante estudio metabonómico de enzimas de biotransformación de fases I y II, y capacidad de ureogénesis^{23,27}. Antes, durante y después del TCH, realizamos un eco-Doppler para el control de la presión portal y la prevención de las posibles complicaciones.

La pauta de inmunosupresión en nuestros pacientes se basa en la administración de un bolo de corticoides de forma previa a la infusión celular seguida de doble terapia con corticoides e inhibidores de la calcineurina (tacrolímús), con niveles entre 5 y 10 ng/ml.

Experiencia y resultados del trasplante celular hepático en pacientes con errores congénitos del metabolismo

Los mayores logros del TCH se han obtenido en niños con errores congénitos del metabolismo. En 1998, se llevó a cabo el primer TCH en una niña de 10 años con enfermedad de Crigler-Najjar tipo I; 9 meses después de la infusión de hepatocitos, la actividad enzimática permanecía estable, recibiendo un injerto hepático posteriormente³.

Las alteraciones en el ciclo de la urea (OTCA) constituyen una de las indicaciones más frecuentes del TCH. Cinco de los 7 pacientes recogidos en la literatura con esta metabolopatía, que han recibido un TCH, han sido sometidos posteriormente a un TH. El grupo de Pittsburgh, tras una revisión, comunica un total de 20 niños sometidos a TCH por errores congénitos del metabolismo (tabla 1); en 11 de ellos la indicación del trasplante celular era como puente al trasplante definitivo, 10 de los cuales recibieron un TH y uno un trasplante auxiliar^{8-10,12,16,18}. En el King's College, el TCH en 2 pacientes con déficit del factor VII tuvo un resultado satisfactorio, que permitió disminuir en un 80% los requerimientos de factor VIIa exógeno. Ambos pacientes recibieron un injerto a los 7 y 8 meses respectivamente^{5,6}. Dos niños con glucogenosis tipo I evolucionaron satisfactoriamente tras el TH, apreciándose una corrección enzimática parcial, una mejoría significativa de las hipoglucemias y una disminución de los niveles de triglicéridos en un 30-40%⁴.

El primer TCH en España se llevó a cabo en el Hospital La Fe de Valencia, en el año 2008. Se trataba de una niña de 12 años con un déficit del ciclo de la urea, diagnosticado en el estudio genético, que evidenció que era portadora de la mutación c.533C >T/p.Thr178Met. La paciente presentaba una alteración neurológica secundaria, restricciones dietéticas severas y múltiples episodios de descompensación responsables de los reiterados ingresos hospitalarios de la paciente. El objetivo del TCH en esta paciente era mejorar su calidad de vida. Se realizaron 2 infusiones portales de células criopreservadas, a través del port-a-cath, con un intervalo de una semana, administrándose un total de $8,7 \times 10^8$ células. Inicialmente, constatamos una disminución de los niveles de amonio y un aumento del índice de Quick, logrando restaurar la ingesta de proteínas a 1 g/kg/día (fig. 2). Sin embargo, la paciente presentó un cuadro séptico que motivó una descompensación clínica con deterioro de la función hepática, falleciendo

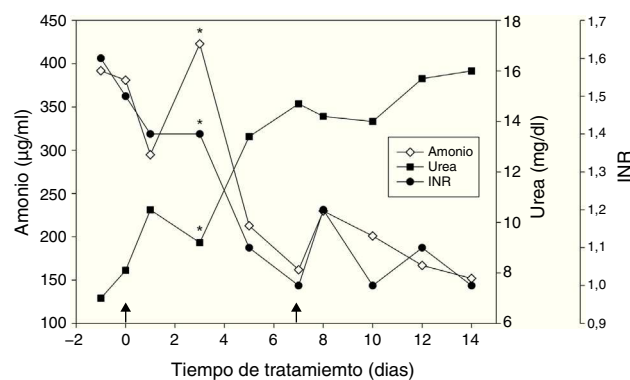


Figura 2 Evolución de las cifras de amonio, urea e INR tras el trasplante celular hepático en la paciente con OTC.

por una aspergilosis masiva al mes del TCH en la Unidad de Cuidados Intensivos¹³.

Nuestra segunda paciente es una niña de 9 meses, con enfermedad de Crigler-Najjar tipo I, que precisaba fototerapia domiciliaria continua. La confirmación de la enfermedad se realizó mediante la secuenciación del gen UGT1A1, que mostró cambio homocigótico en el nucleótido c.120 del G (p.Trp40CysfsX2). Hasta el momento actual se han realizado 9 infusiones celulares, a través de la vena porta, durante 5 meses, administrando un total de $26,63 \times 10^8$ células (viabilidad 47-75% tras la descongelación). A nivel analítico, hemos objetivado una disminución de la bilirrubina sérica de 28 a 15 mg/dl y han disminuido los requerimientos de la fototerapia, permitiendo un uso intermitente; ello ha supuesto una importante mejoría en la calidad de vida de la niña y, por ende, de la familia, permitiendo la escolarización en un centro especializado¹³. El TCH ha proporcionado estabilidad metabólica a la paciente durante aproximadamente 2 años observándose posteriormente un incremento lento pero progresivo de los niveles de bilirrubina total y no conjugada.

Se realizó el TCH en una tercera paciente, una niña de 6 años con glucogenosis tipo I; presentaba una mutación homocigótica p.Arg83Cys en el exón 2 del gen *G6PC* (i.e., glucogenosis tipo Ia). La paciente presentaba episodios de hipoglucemia muy frecuentes que obligaban al ingreso hospitalario para su control; a nivel analítico se detectaban valores elevados de triglicéridos, colesterol y ácido úrico. Tras el TCH, se ha conseguido estabilizar de los niveles de glucemia, desapareciendo las crisis de hipoglucemia, mejorando todos los parámetros metabólicos especialmente los niveles de ácido láctico; ello ha permitido la escolarización de la paciente normalizando su régimen de vida acorde con su edad. A nivel analítico ha habido una mejora de los parámetros bioquímicos y no ha requerido nuevas hospitalizaciones desde la última infusión hace 4 años y permanece estable desde entonces¹³ (fig. 3).

Ambas pacientes continúan su seguimiento en nuestras consultas, encontrándose estables desde el punto de vista analítico y clínico.

Nuestro cuarto paciente, un niño de 45 días, había sido remitido a nuestro hospital con un diagnóstico de sospecha de tirosinemia tipo Ia. Al ingreso presentaba una alteración de las pruebas de función hepática, especialmente de los factores de coagulación; sin embargo, la

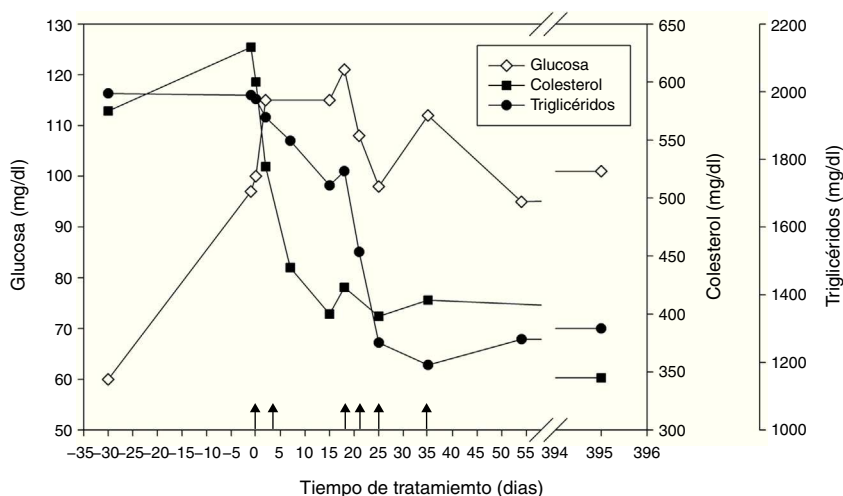


Figura 3 Evolución de la glucemia y las cifras de colesterol y triglicéridos en la paciente con glucogenosis tipo Ia tras el trasplante celular hepático.

succinil acetona en orina era negativa; en espera del estudio genético, se realizaron 2 infusiones de hepatocitos que permitieron estabilizar al paciente (mejoría de la hemostasia). Ante la no respuesta a tratamiento con NTBC, y el estudio genético confirmando que era portador de las mutaciones IVS6-1 G>T y IVS12+5G>A en el gen de la enzima fumarilacetoacetato hidrolasa, se llevó a cabo un trasplante de órgano completo, con evolución favorable posterior¹³, permaneciendo estable desde entonces. Este paciente continúa su seguimiento en nuestras consultas.

Consideraciones actuales del trasplante celular hepático

La terapia celular surge con el reciente desarrollo de la medicina regenerativa; con ella se abren nuevas formas de actuación terapéutica para determinadas enfermedades, cuya causa reside en el deterioro celular de un órgano o tejido, y en las que no está indicado o no es recomendable la realización de un trasplante del órgano sólido.

El TCH presenta como ventajas el hecho de no ser un proceso quirúrgico mayor, con menor morbilidad, mortalidad y coste, y ser una terapia mucho menos invasiva que el TH convencional, ofreciendo la posibilidad de maximizar recursos, al poder utilizar un mismo donante para varios receptores. La posibilidad de criopreservar los hepatocitos permite su disponibilidad para ser utilizados en el momento en que sean necesarios, haciendo posible efectuar el procedimiento de manera semiprogramada. Permite recuperar y mantener las funciones hepáticas hasta disponer de un injerto adecuado y sustituir temporalmente la función de los hepatocitos, hasta lograr la recuperación suficiente de la función enzimática o como puente al TH. La necesidad de inmunosupresión a largo plazo es menor y se suspende a largo plazo, con la consiguiente disminución de morbilidad asociada a efectos secundarios.

Por otra parte, la consolidación del procedimiento de TCH en todas sus vertientes y el dominio de los aspectos técnicos, fundamentalmente, abren perspectivas terapéuticas de enorme impacto científico sanitario y social. Así,

en un futuro, las células hepáticas podrían ser modificadas genéticamente «in vitro» para regular funciones específicas. Presumiblemente, la manipulación génica podría realizarse utilizando células del propio paciente, lo que equivaldría a un trasplante autólogo, que no requeriría tratamiento inmunosupresor posterior.

Sin embargo, la principal limitación del TH reside en la falta de fuentes adecuadas para la obtención de hepatocitos viables y funcionales. Existe, por otra parte, un desconocimiento de los mecanismos que permiten la integración y supervivencia de los hepatocitos implantados, no teniendo un conocimiento exacto de la eficacia clínica del TH. Los resultados del TCH están limitados por la baja eficiencia de la integración de las células trasplantadas en el receptor; sin embargo, en el momento actual, resulta muy difícil realizar una previsión respecto la duración de la efectividad del TCH, dado que los casos que han recibido un TCH son muy heterogéneos en lo que respecta al diagnóstico, la situación clínica en el momento del trasplante celular y los protocolos terapéuticos utilizados.

En el momento actual se plantea la necesidad de realizar ensayos clínicos controlados en humanos, que permitan resolver las dudas técnicas y metodológicas y obtener una evidencia científica sobre la eficacia clínica real a medio y largo plazo.

Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener ningún conflicto de intereses.

Bibliografía

1. Dhawan A, Strom SC, Sokal E, Fox IJ. Human hepatocyte transplantation. *Methods Mol Biol.* 2010;640:525–34.
2. Stéphane X, Najimi M, Sibille C, Nassogne MC, Smets F, Sokal EM. Sustained engraftment and tissue enzyme activity after liver cell transplantation for argininosuccinate lyase deficiency. *Gastroenterology.* 2006;130:1317–23.
3. Fox IJ, Chowdhury JR, Kaufman SS, Goertzen TC, Chowdhury NR, Warkentin PI, et al. Treatment of the Crigler-Najjar

- syndrome type I with hepatocyte transplantation. *N Engl J Med*. 1998;338:1422-6.
4. Muraca M, Gerunda G, Neri D, Vilei MT, Granato A, Feltracco P, et al. Hepatocyte transplantation as a treatment for glycogen storage disease type 1a. *Lancet*. 2002;26:317-8.
 5. Dhawan A, Mitry RR, Hughes RD, Lehec S, Terry C, Bansal S, et al. Hepatocyte transplantation for inherited factor VII deficiency. *Transplantation*. 2004;78:1812-4.
 6. Grossman M, Raper SE, Kozarsky K, Stein EA, Engelhardt JF, Muller D, et al. Successful ex vivo gene therapy directed to liver in a patient with familial hypercholesterolaemia. *Nat Genet*. 1994;6:335-41.
 7. Ambrosino G, Varotto S, Strom SC, Guariso G, Franchin E, Miotto D, et al. Isolated hepatocyte transplantation for Crigler-Najjar syndrome type 1. *Cell Transplant*. 2005;14:151-7.
 8. Stéphenne X, Najimi M, Smets F, Reding R, de Ville de Goyet J, Sokal EM. Cryopreserved liver cell transplantation controls ornithine transcarbamylase deficient patient while awaiting liver transplantation. *Am J Transplant*. 2005;5:2058-61.
 9. Horslem SP, McCowan TC, Goertzen TC, Warkentin PI, Cai HB, Strom SC, et al. Isolated hepatocyte transplantation in an infant with a severe urea cycle disorder. *Pediatrics*. 2003;111:1262-7.
 10. Enns GM, Millan MT. Cell-based therapies for metabolic liver disease. *Mol Genet Metab*. 2008; 95:3-10.
 11. Lysy PA, Najimi M, Stephenne X, Bourgois A, Smets F, Sokal EM, et al. Liver cell transplantation for Crigler Najjar syndrome type I: Update and perspectives. *World J Gastroenterol*. 2008;14:3464-70.
 12. Sokal EM, Smets F, Bourgois A, Van Maldergem L, Buts JP, Reding R, et al. Hepatocyte transplantation in a 4-year-old girl with peroxisomal biogenesis disease: Technique, safety, and metabolic follow-up. *Transplantation*. 2003;76:735-8.
 13. Ribes-Koninckx C, Ibars EP, Agrasot MA, Bonora-Centelles A, Miquel BP, Vila Carbó JJ, et al. Clinical outcome of hepatocyte transplantation in four paediatric patients with inherited metabolic diseases. *Cell Transplant*. 2012;21:2267-82.
 14. Lee KW, Lee JH, Shin SW, Kim SJ, Joh JW, Lee DH, et al. Hepatocyte transplantation for glycogen storage disease type Ib. *Cell Transplant*. 2007;16:629-37.
 15. Darwish AA, Sokal E, Stephenne X, Najimi M, De Ville de Goyet J, Reding R, et al. Permanent access to the portal system for cellular transplantation using an implantable port device. *Liver Transpl*. 2004;10:1213-5.
 16. Meyburg J, Das AM, Hoerster F, Lindner M, Kriegbaum H, Engelmann G, et al. One liver for four children: First clinical series of liver cell transplantation for severe neonatal urea cycle defects. *Transplantation*. 2009;87:636-41.
 17. Meyburg J, Hoerster F, Schmidt J, Poeschl J, Hoffmann GF, Schenk JP. Monitoring of intraportal liver cell application in children. *Cell Transplant*. 2010; 19:629-38.
 18. Puppi J, Tan N, Mitry RR, Hughes RD, Lehec S, Mieli-Vergani G, et al. Hepatocyte transplantation followed by auxiliary liver transplantation—a novel treatment for ornithine transcarbamylase deficiency. *Am J Transplant*. 2008;8:452-7.
 19. Strom SC, Fisher RA, Thompson MT, Sanyal AJ, Cole PE, Ham JM, et al. Hepatocyte transplantation as a bridge to orthotopic liver transplantation in terminal liver failure. *Transplantation*. 1997;63:559-69.
 20. Pareja E, Martínez A, Cortés M, Bonora A, Moya A, Sanjuán F, et al. Hepatic cell transplantation. Technical and methodological aspects. *Cir Esp*. 2010;87:139-47.
 21. Strom SC, Jirtle RL, Jones RS, Novicki DL, Rosenberg MR, Novotny A, et al. Isolation, culture, and transplantation of human hepatocytes. *J Natl Cancer Inst*. 1982;68:771-8.
 22. Gómez-Lechón MJ, Donato T, Ponsoda X, Fabra R, Trullenque R, Castell JV. Isolation, culture and use of human hepatocytes in drug research. En: *In vitro methods in pharmaceutical research*. London: Academic Press; 1997. p. 129-53.
 23. Bonora-Centelles A, Donato MT, Lahoz A, Pareja E, Mir J, Castell JV, et al. Functional characterization of hepatocytes for cell transplantation: Customized cell preparation for each receptor. *Cell Transplant*. 2010;19:21-8.
 24. Bonora-Centelles A, Jover R, Donato MT, Lahoz A, Pareja E, Castell JV, et al. Desarrollo, análisis y optimización de modelos celulares hepáticos para estudios de fármaco-toxicología y terapia celular. *An R Acad Nac Farm*. 2008;74:283-306.
 25. Gómez-Lechón MJ, Lahoz A, Jiménez N, Bonora A, Castell JV, Donato MT, et al. Evaluation of drug-metabolizing and functional competence of human hepatocytes incubated under hypothermia in different media for clinical infusion. *Cell Transplant*. 2008;17:887-97.
 26. Serralta A, Donato MT, Orbis F, Castell JV, Mir J, Gómez-Lechón MJ, et al. Functionality of cultured human hepatocytes from elective samples, cadaveric grafts and hepatectomies. *Toxicol In Vitro*. 2003;17:769-74.
 27. Donato MT, Lahoz A, Montero S, Bonora A, Pareja E, Mir J, et al. Functional assessment of the quality of human hepatocyte preparation for cell transplantation. *Cell Transplantation*. 2008;17:1211-9.
 28. Serralta A, Donato MT, Martínez A, Pareja E, Orbis F, Castell JV, et al. Influence of preservation solution on the isolation and culture of human hepatocytes from liver grafts. *Cell Transplant*. 2005;14:837-43.
 29. Habibullah CM, Syed IH, Qamar A, Taher-Uz Z. Human fetal hepatocyte transplantation in patients with fulminant hepatic failure. *Transplantation*. 1994;58:951-2.
 30. Strom SC, Fisher RA, Rubinstein WS, Barranger JA, Towbin RB, Charron M, et al. Transplantation of human hepatocytes. *Transplant Proc*. 1997;29:2103-6.
 31. Bilir BM, Guinette D, Karrer F, Kumpe DA, Krysl J, Stephens J, et al. Hepatocyte transplantation in acute liver failure. *Liver Transplantation*. 2000;6:32-40.
 32. Khan AA, Habeeb A, Parveen N, Naseem B, Babu RP, Capoor AK, et al. Peritoneal transplantation of human fetal hepatocytes for the treatment of acute fatty liver of pregnancy: A case report. *Trop Gastroenterol*. 2004;25:141-3.
 33. Fisher RA, Strom SC. Human hepatocyte transplantation: Worldwide results. *Transplantation*. 2006;82:441-9.
 34. ONT Results (Spanish National Transplant Organization) 2012. [consultado 1 Mar 2012]. Disponible en: <http://www.ont.es>
 35. Smets F, Najimi M, Sokal EM. Cell transplant in the treatment of liver diseases. *Pediatr Transplant*. 2008;12:6-13.
 36. Terry C, Dhawan A, Mitry RR, Hughes RD. Cryopreservation of isolated human hepatocytes for transplantation: State of the art. *Cryobiology*. 2006;53:149-59.
 37. Baur H, Kasperek S, Pfaff E. Criteria of viability of isolated liver cells. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*. 1975;356:827-38.