

---

## FOIE BIOARTIFICIEL

---

D. SAMUEL

Centre Hépatobiliaire, Hôpital Paul Brousse, Université Paris Sud, CRI 9804, Upres virus Hépatotropes et cancers, Villejuif

Correspondance :  
Pr Didier SAMUEL  
Centre Hépatobiliaire Hôpital Paul Brousse  
12 Av. PV Couturier 94800 Villejuif  
Fax 01-45-59-38-57  
e mail : didier.samuel@pbr.ap-hop-paris.fr

---

### Résumé

En l'absence de transplantation hépatique d'urgence la mort survient dans 80 % des cas d'hépatite fulminante (150 en France chaque année). Pendant l'attente de la transplantation une assistance hépatique artificielle est nécessaire. Parmi les nombreuses méthodes utilisées, les systèmes de foie bioartificiel sont un progrès manifeste. Les résultats d'un essai clinique de phase I/II (10 malades inclus) sont rapportés. Tous les patients ont pu être transplantés secondairement et 8 étaient vivants avec un recul supérieur à 2 ans.

**Mots clés** : fulminant hepatitis/ bioartificial liver / liver transplantation

---

L'hépatite fulminante est définie par la survenue au cours d'une hépatite aiguë, chez une personne n'ayant pas de maladie du foie connue, de troubles de conscience (encéphalopathie) moins de 3 mois après le début de l'ictère (1). Dans tous les cas, l'encéphalopathie est associée à un effondrement des facteurs de coagulation synthétisés par le foie. L'évolution est caractérisée par la survenue d'un œdème intra cérébral responsable d'une hypertension intracrânienne potentiellement mortelle (2). En l'absence de transplantation hépatique d'urgence, la mort survient dans 80% des cas. Cette maladie touche 150 patients par an en France, et représente la forme la plus sévère des hépatites aiguës principalement virales. Cette maladie est particulièrement propice à l'utilisation d'un système de support hépatique bioartificiel en raison de la brutalité du tableau, des capacités de régénération hépatique, de l'absence de maladie hépatique chronique sous jacente, et des difficultés thérapeutiques de contrôle de l'œdème cérébral, complication principale de cette maladie. La place d'un support hépatique bioartificiel dans la prise en charge des hépatites fulminantes, est soit dans l'attente d'une transplantation, soit dans l'attente d'une régénération hépatique.

La transplantation hépatique a révolutionné le traitement de l'hépatite fulminante, permettant d'obtenir un taux de

### Abstract

#### Bioartificial liver

Without emergency liver transplantation death occurs in 80% of the cases of fulminant hepatitis (150 per year in France). The use of artificial liver assist devices is necessary while awaiting transplantation. Among the various methods used, bioartificial liver systems are an obvious progress. Results of a clinical phase I/II trial (including 10 patients) are analysed. All patients subsequently underwent liver transplantation and were alive with a 2 year-follow-up.

**Key words** : fulminant hepatitis/bioartificial liver/ liver transplantation

---

survie après transplantation de 60-70% à 1 an (3). Notre Centre a été pionnier international en 1986 en développant le premier programme de transplantation hépatique d'urgence dans cette maladie (4), et notre expérience de 139 patients transplantés pour hépatite fulminante a été rapportée récemment (5). La survie des patients après transplantation était de 68% à 1 an et de 61% à 5 ans. En France, si un patient atteint d'hépatite fulminante répond aux critères de transplantation, il est inscrit en liste d'attente nationale de l'Etablissement Français des Greffes (EFG) dite de superurgence qui lui donne priorité absolue. Cette procédure permet d'obtenir un greffon hépatique en 1 à 4 jours. Le délai est plus court pour les patients du groupe sanguin A que O. Bien que la transplantation hépatique soit un progrès majeur dans la prise en charge de ces patients, plusieurs éléments négatifs doivent être considérés: 1) Quinze pour cent des patients pour lesquels la transplantation est indiquée décèdent en liste d'attente, principalement de complications de l'œdème cérébral; 2) La survie après transplantation est significativement inférieure à celle des patients transplantés pour maladie chronique du foie (3); ceci est dû à la gravité de l'état clinique des pa-

tients, à la survenue de morts encéphaliques conséquences de l'œdème cérébral même après la transplantation, et à l'utilisation de greffons soit de qualité moyenne, soit de groupes sanguins ABO incompatibles à hauts risques respectivement de non fonction du greffon et de rejet sévère (6, 7).

### **Les supports hépatiques bioartificiels**

Il y a donc un besoin d'une méthode d'assistance hépatique artificielle permettant d'attendre la transplantation ou de maintenir le malade en vie jusqu'à régénération de son foie et guérison de son hépatite.

Dans ces 30 dernières années, de nombreuses tentatives médicales d'assistance hépatique ont été tentées: la plasmaphérèse, la plasmaphérèse à haut volume, l'exsangui-no-transfusion, l'hémodialyse ou l'hémofiltration sur membrane de polyacrylonitrile, l'hémoperfusion sur membrane de Charbon, les traitements par corticoïdes, par prostaglandines. Aucun de ces traitements n'a amélioré la survie (8). La raison en est que ces systèmes étaient basés sur le principe du rein artificiel, visant à épurer les toxines. Le foie cependant n'est pas uniquement un filtre mais est un organe essentiellement de synthèse et de métabolisme. Ces procédés se sont révélés insuffisants.

Le progrès vient de l'utilisation des systèmes de foie dit "bio-artificiel". Plusieurs techniques sont à l'étude: la transplantation d'hépatocytes, actuellement encore au stade expérimental a été utilisée chez l'homme essentiellement pour le traitement de maladies métaboliques, mais n'a été utilisée pour le traitement de l'insuffisance hépatique aiguë que dans de très rares cas avec des résultats limités. La perfusion de foie de porc ex-vivo en faisant passer le sang du malade à travers un foie de porc isolé est une technique assez simple, mais elle est limitée dans sa durée par des phénomènes de rejet survenant sur le foie de porc avec agrégation plaquettaire, non fonctionnement du foie d'animal après 6 ou 7 heures. Ceci nécessite donc l'utilisation successive de foies prélevés chez le porc pour un patient. Au plan clinique, une amélioration neurologique transitoire a été notée (9), mais des épisodes hypotensifs, une thrombopénie ont été notés. La diffusion de cette technique est par ailleurs limitée par la nécessité de disposer à proximité d'animaux d'élevage scientifique, et par le contexte d'urgence qui rend difficile l'obtention des critères maximums de sécurité sanitaire.

Les foies dit "bio-artificiels" où le plasma ou le sang du patient est "épuré" dans un circuit extra-corporel sur une membrane d'hémodialyse ou d'hémofiltration contenant des hépatocytes sont actuellement en développement expérimental chez l'animal et l'homme. Il est important de rappeler que l'on ne sait pas à l'heure actuelle cultiver et maintenir viables des hépatocytes humains normaux. Ainsi, les hépatocytes qui peuvent être utilisés dans ces systèmes sont actuellement de deux sortes :

- soit des hépatocytes d'origine humaine obtenus à partir de lignées tumorales qui ont une possibilité de croissance spontanée illimitée. Ceux-ci posent le problème du risque de contact entre le patient et les lignées de cellules tumorales, et sont moins fonctionnels que des hépatocytes normaux. Un système de foie bio-artificiel

extracorporel sur lequel le sang du patient passe à travers une membrane semi perméable où sont placées dans l'espace extracapillaire (de l'autre côté de la membrane) des cellules hépatiques humaines d'origine tumorale a été utilisé dans quelques cas chez l'homme aux États-Unis (10) et en Grande Bretagne avec des résultats non concluants (11), ce système est actuellement arrêté ;

- Les autres systèmes sont à base d'hépatocytes de porc, animal qui peut être élevé facilement et dans des conditions sanitaires de qualité dans des fermes d'élevage à visée scientifique. Plusieurs systèmes sont en cours d'évaluation chez l'animal, 2 systèmes sont en cours d'évaluation chez l'homme, celui développé par Démétriou et al (12), à Los Angeles et celui développé par Gerlach et al (13) à Berlin.

Le foie bio-artificiel est utilisé à l'hôpital Paul Brousse, dans le cadre d'un protocole d'étude, chez les patients atteints d'hépatite fulminante en attente de transplantation hépatique.

Ce système a été développé à partir des travaux du Professeur Achilles Démétriou, au Cedars Sinai à Los Angeles par la firme américaine Circe Biomedical. Il s'agit d'un système extracorporel comprenant deux parties principales : 1) un système de plasmaphérèse permettant de séparer le plasma du patient, 2) le système proprement dit de foie bio-artificiel sur lequel le plasma du patient va passer à travers un filtre à charbon puis à travers le filtre à fibres creuses (capillaires) contenant les hépatocytes de porc. Ces hépatocytes ont été préparés à partir de foie de porcs élevés dans des fermes spécialisées à but scientifique. Ces hépatocytes ont subi les tests de sécurité microbiologique et virale demandés par la Food and Drug Administration (FDA) et par les autorités sanitaires françaises, ces hépatocytes sont cryopréservés et sont gardés cryopréservés. La cryopréservation est une garantie sanitaire puisque l'utilisation des hépatocytes ne se fait que lorsque tous les examens virologiques et bactériens chez les animaux sources sont négatifs.

L'essai clinique mis en place au Centre Hépatobiliaire à l'Hôpital Paul Brousse en 1996 et 1997 était un protocole dit de phase I/II, dont le but était d'étudier la tolérance et la faisabilité de ce système chez des patients atteints d'hépatite fulminante en attente de transplantation hépatique. Le Centre Hépatobiliaire de l'Hôpital Paul Brousse a été le deuxième centre au monde et le premier en Europe à expérimenter ce système chez l'homme. Ce protocole a reçu l'aval du CCPPRB et des autorités sanitaires françaises en 1996 (groupe d'experts en sécurité microbiologique et virale de la Direction des Hôpitaux). Dix patients atteints d'hépatite fulminante en attente de transplantation d'urgence ont été inclus dans cet essai clinique (14). Les patients étaient reliés 6 heures par jour à ce système de foie bioartificiel jusqu'à la transplantation. Les patients ont bénéficié de 1 à 3 séances jusqu'à la transplantation. La tolérance hémodynamique a été bonne, marquée par des chutes tensionnelles chez certains patients au démarrage du système, réversibles au remplissage chez tous les patients sauf un qui a dû recevoir des amines pressives pendant 1 heure. Le traitement a été interrompu tempo-

rairement dans 1 cas sur 19 séances et toutes les séances ont été menées à leur terme. La complication la plus fréquente a été la survenue d'hématomes ou d'hémorragie dans 5 cas, secondaires à des manoeuvres invasives dans 4 cas (hémobilie post biopsie hépatique, hémothorax après pose de cathéter de Swann-Ganz, hématome inguinal après gaz du sang, hémorragie cérébrale après pose de capteur de pression intracrânienne) et spontanée (hématome rétropéritonéal) dans un cas. Si la responsabilité des manoeuvres invasives est certaine dans 4 cas, l'anticoagulation (citrates) utilisée dans le système de plasmaphérese peut avoir joué un rôle favorisant chez ces patients ayant des troubles majeurs de coagulation. Il faut souligner cependant que le cas d'hémobilie post biopsie hépatique transjugulaire était une récurrence car une première hémorragie était survenue avant la mise en route du système. Enfin, l'hémorragie cérébrale mortelle chez un patient était pour nous une complication directe de la malposition du capteur de pression intracrânienne placé malencontreusement en position intracrânienne ; ce capteur ayant été mis en place 8 heures après la fin de la seule séance de foie bioartificiel chez cette patiente, après transfusion de plasma frais congelé, la responsabilité du système ne nous paraît pas engagée. Ce type de complications a été décrit par plusieurs auteurs chez les patients atteints d'hépatite fulminante, et explique la controverse à l'utilisation de ces capteurs chez les patients atteints d'hépatite fulminante (15)

Au plan biologique, une baisse significative de la bilirubine et du taux de transaminases sériques, et non significative de l'ammoniémie et de la lactatémie a été constatée. Il n'y a pas eu de remontée des facteurs de coagulation. Au plan clinique, une amélioration neurologique significative a été constatée chez 6 des 10 patients pendant les séances de traitement, cet effet durait jusqu'à 8 heures après la fin de la séance, les 4 autres patients sont restés stables au plan neurologique. Le taux moyen du score de Glasgow a évolué de 6,5 avant traitement à 9,9 après traitement  $p=0,01$ . Deux patients sont sortis du coma pendant le traitement. Tous les patients ont été transplantés et 8 sur 10 étaient vivants avec un recul de plus de 2 ans. Un patient est décédé à J1 d'hémorragie et d'œdème cérébral (voir plus haut), un autre est décédé à 7 mois de complications septiques d'une aplasie post-hépatitique.

Notre expérience confirme les résultats de l'étude menée à Los Angeles où 17 patients sur 18 sont vivants après transplantation hépatique (16).

Les patients vivants de notre étude ont été testés à distance pour la détection de l'ADN PERV dans les lymphocytes et de l'AC anti-PERV dans le sérum. Tous ont été testés négatifs (17)

### **Le développement des systèmes de foie bioartificiel**

Cette première étude montre un effet favorable, tout au moins au plan neurologique. Ces résultats nécessitent confirmation: une étude de phase 2-3 multicentrique internationale randomisée (comparant ce traitement au

traitement conventionnel) jusqu'à la transplantation hépatique utilisant le même système et les mêmes cellules a commencé dans plusieurs centres aux Etats-Unis et en Europe. Par ailleurs, des systèmes différents de support hépatique bioartificiel extracorporel contenant des cellules hépatiques porcines sont en développement chez l'animal et chez l'homme (13, 18). Les systèmes de support hépatique bioartificiel doivent se développer dans plusieurs directions:

a) Augmenter le nombre de cellules qui est actuellement faible (5 à 10 milliards de cellules) ;

b) Déterminer si l'inclusion de cellules hépatiques non hépatocytaires (cellules de Kupfer, cellules endothéliales) a un avantage clinique ;

c) Confirmer l'innocuité sanitaire des cellules porcines: En effet, le risque de transmission d'un rétrovirus porcine endogène (PERV) du porc à l'homme a été évoqué. Une infection d'une lignée cellulaire humaine par le PERV a été possible uniquement *in vitro* dans des conditions particulières (inhibition du complément, lignée cellulaire PK, système de coculture) (19), cependant, aucun cas de transmission à l'homme n'a été démontré (17, 20, 21). Récemment la recherche de PERV RNA, de PERV DNA et d'Ac anti PERV a été effectuée chez l'ensemble des patients ayant été en contact avec des cellules porcines (y compris nos patients). Il a été montré chez 23 patients sur 160 la présence d'un microchimérisme, c'est à dire la présence d'ADN porcine chez l'homme, mais dans aucun cas n'a été trouvé de PERV RNA ou DNA et aucun cas de transmission de ce rétrovirus n'a été démontré. Les études ultérieures doivent de toute façon maintenir un suivi virologique rigoureux ;

d) Déterminer les indications de ces systèmes: l'hépatite fulminante est actuellement la meilleure indication, les indications raisonnables sont certains cas de non fonction du greffon hépatique, et l'anhépatie (après ablation chirurgicale du foie, éventualité exceptionnelle par exemple en cas de nécrose hépatique). La place d'un système de support hépatique bioartificiel extracorporel dans le traitement de l'insuffisance hépatique après hépatectomie chirurgicale et de l'insuffisance hépatique aiguë sur hépatopathie chronique sera à évaluer dans un avenir plus lointain avec des systèmes plus performants.

En conclusion, les systèmes de supports hépatiques bioartificiels, sont en cours de développement dans le traitement de l'hépatite fulminante. Leur but actuel n'est pas de remplacer la transplantation mais d'attendre un greffon dans de meilleures conditions et d'améliorer la survie des patients après transplantation. Seules les xénocellules porcines peuvent à l'heure actuelle être utilisées en l'absence de lignée hépatocytaire humaine. D'autres systèmes vont se développer avec des membranes différentes, un plus grand nombre de cellules. L'amélioration neurologique observée chez un certain nombre de patients atteints d'hépatite fulminante doit permettre d'attendre la transplantation hépatique dans de meilleures conditions et d'en améliorer le résultat.

## Références

1. BERNUAU J, RUEFF B, BENHAMOU JP. Fulminant and subfulminant liver failure: definition and causes. *Semin Liv Dis* 1986; 6 : 97-106.
2. WARE A.J., D'AGOSTINHO A, COMBES B. Cerebral oedema : a major complication of massive hepatic necrosis. *Gastroenterology* 1971; 61: 877-84.
3. BISMUTH H, SAMUEL D, CASTAING D, WILLIAMS R, PEIREIRA SP. Liver transplantation for patients with acute liver failure. *Semin Liv Dis* 1996; 16: 415-25
4. BISMUTH H, SAMUEL D, GUGENHEIM J, CASTAING D, BERNUAU J, RUEFF B, BENHAMOU J.P. Emergency liver transplantation for fulminant hepatitis. *Ann Int Med* 1987 ; 107 : 337-41.
5. BISMUTH H, SAMUEL D, CASTAING D et al.. Orthotopic liver transplantation in fulminant and subfulminant hepatitis. The Paul Brousse experience. *Ann Surg*, 1995; 222 : 109-19
6. GUGENHEIM J., SAMUEL D., REYNES M., BISMUTH H. Liver transplantation across ABO blood group barrier. *Lancet* 1990 ; 336: 519-23.
7. FARGES O, KALIL A, SAMUEL D, SALIBA F, ARULNADEN JL, DEBAT P, BISMUTH A, CASTAING D, BISMUTH H. The use of ABO incompatible grafts in liver transplantation: a life saving procedure in highly selected patients. *Transplantation* 1995; 59: 1124-33
8. HUGHES RD, WILLIAMS R. Use of bioartificial and artificial liver support devices. *Semin Liver Dis* 1996; 16: 435-44
9. CHARI RS, COLLINS BH, MAGE E JC, DIMAIO JM, KIRK AD, HARLAND RC, MC CANN RL, PLATT JL, MEYERS WC. Treatment of hepatic failure with ex-vivo pig-liver perfusion followed by liver transplantation. *N Engl J Med* 1994; 331; 234-7
10. SUSSMAN, NL, CHONG MG, KOUSSAYER T, HE DE, SHANG TA, WHISENHAND HH, KELLY JH. Reversal of fulminant hepatic failure using an extracorporeal liver assist device. *Hepatology* 1992; 16: 60-5.
11. ELLIS AJ, HUGHES RD, WENDON J, DUNNE J, LANGLEY PG, KELLY JH, GISLASON GT, SUSSMAN N, WILLIAMS R. Pilot controlled trial of the extracorporeal liver assist device in acute liver failure. *Hepatology* 1996; 24: 1446-51
12. ROZGA J, WILLIAMS F, RO MS, NEUZIL DF, GIORGIO TD, BACKFISCH G, MOSCIONI AD, HAKIM R, DEMETRIOU AA. Development of a bioartificial liver: properties and function of a hollow-fiber module inoculated with liver cells. *Hepatology* 1993; 17: 258-65
13. GERLACH J, ENCKE J, HOLE O, MÜLLER C, RYAN CJ, NEUHAUS P. Bioreactor for a larger scale hepatocyte in vitro perfusion. *Transplantation* 1994; 58: 984-8
14. SAMUEL D, ICHAI P, FERAY C, SALIBA F, AZOULAY D, ARULNADEN JL, DEBAT P, GIGOU M, ADAM R, BISMUTH A, CASTAING D, BISMUTH H. Neurological improvement during bioartificial liver sessions in patients with acute liver failure awaiting transplantation. *Transplantation* 2002 ; 73 : 257-62
15. BLEI AT, OLAFSON S, WEBSTER S, LEVY R. Complications of intracranial pressure monitoring in fulminant hepatic failure. *Lancet* 1993; 341: 157-8.
16. WATANABE FD, MULLON CJP, HEWITT WR, ARKADOPoulos N, KAKAHU E, EGUCHI S, KHALILI T, ARNAOUT W, SHACKLETON CR, ROZGA J, SOLOMON B, DEMETRIOU AA. Clinical experience with a bioartificial liver in the treatment of severe liver failure. A phase I clinical trial. *Ann Surg* 1997; 225: 484-94.
17. PARADIS K, LANGFORD G, LONG Z, HENEINE W, SANDSTROM P, SWITZER WM, CHAPMAN LE, LOCKEY C, ONIONS D, THE XEN 111 STUDY GROUP, OTTO E. Search for cross species transmission of porcine endogenous retrovirus in patients treated with living pig tissue. *Science* 1999; 285: 1236-41
18. FLENDRIG LM, CHAMULEAU RA, MAAS MA, DAALHUISSEN J, HASSET B, KILTY CG, DOYLE S, LADIGES NC, JORNING GG, LA SOIE JW, SOMMEIJER D, TE VELDE AA. Evaluation of a novel bioartificial liver in rats with complete liver ischemia: treatment efficacy and species -specific alpha-GST detection to monitor hepatocyte viability. *J Hepatol* 1999; 30:311-20
19. PATIENCE C, TAKEUCHI Y, WEISS RA; Infection of human cells by an endogenous retrovirus of pig. *Nat Med* 1997; 3: 282-6.
20. HENEINE W, TIBELL A, SWITZER WM, SANDSTROM P, VASQUEROSALES G, MATHEWS A, KORSGREN O, CHAPMAN LE, FOLKS TM, GROTH C. No evidence of infection with porcine endogenous retrovirus in recipients of porcine islet-cell xenografts. *Lancet* 1998; 352: 695-9
21. PATIENCE C, PATTON GS, TAKEUCHI Y, WEISS RA, McCLURE MO, RYDBERG L, BREIMER ME. No evidence of pig DNA or retroviral infection in patients with short-term extracorporeal connection to pig kidneys. *Lancet* 1998; 352: 699-701