

CÓMO AFECTAN LAS VARIABLES DEL DONANTE EN EL AISLAMIENTO DE HEPATOCITOS HUMANOS PRIMARIOS A PARTIR DE RESECCIONES HEPÁTICAS



ESTELA SOLANAS ¹, ELENA MARTÍNEZ-CRESPO ², CARLOS SOSTRES ², ALEJANDRO SERRABLO ³, AGUSTÍN GARCÍA-GIL ², FRANCISCO J. ARANGUREN ², PILAR JIMÉNEZ⁴, TRINIDAD SERRANO ².

¹ Instituto Investigación Sanitaria de Aragón, Instituto Aragonés de Ciencias de la Salud, Zaragoza, Spain
² Instituto Investigación Sanitaria de Aragón, Hospital Clínico Universitario Lozano Blesa, Zaragoza, Spain
³ Instituto Investigación Sanitaria de Aragón, Hospital Universitario Miguel Servet, Zaragoza, Spain
⁴ Instituto Investigación Sanitaria de Aragón, CIBERehd, Zaragoza, Spain



INTRODUCCIÓN

Una mayor disponibilidad de hepatocitos humanos primarios funcionales resulta imprescindible para el avance en el trasplante de hepatocitos humanos como alternativa o puente al trasplante ortotópico, así como para desarrollar hígados artificiales y estudios "in vitro".

OBJETIVOS

Estudiar las variables derivadas del paciente-donante que pueden afectar al número y calidad de los hepatocitos humanos aislados de resecciones hepáticas.

RESULTADOS

- La viabilidad de los hepatocitos aislados se correlacionó negativamente con la edad del paciente ($r=-0,23$, $p<0,05$) y resultó un 7,72% menor para las resecciones de hepatectomías por enfermedad maligna, un 4,10% menor en los casos con quimioterapia previa y un 6,02% menor si la cirugía se realizaba con maniobra de pringle (siendo el daño proporcional al tiempo total de clampaje ($r=-0,36$, $p<0,05$)) (Figura 1).

- El rendimiento celular se correlacionó negativamente con los niveles séricos de triglicéridos ($r=-0,512$, $p<0,05$) y enzimas hepáticas: AST, ($p=0,086$), ALT ($p=0,067$), GGT ($p<0,01$) y FA ($p=0,075$), siendo los coeficientes de correlación de $r=-0,512$, $-0,225$, $-0,240$, $-0,462$, respectivamente. Las resecciones de hígados con enfermedad maligna rindieron un 50,4% menos hepatocitos / g de tejido (Figura 2).

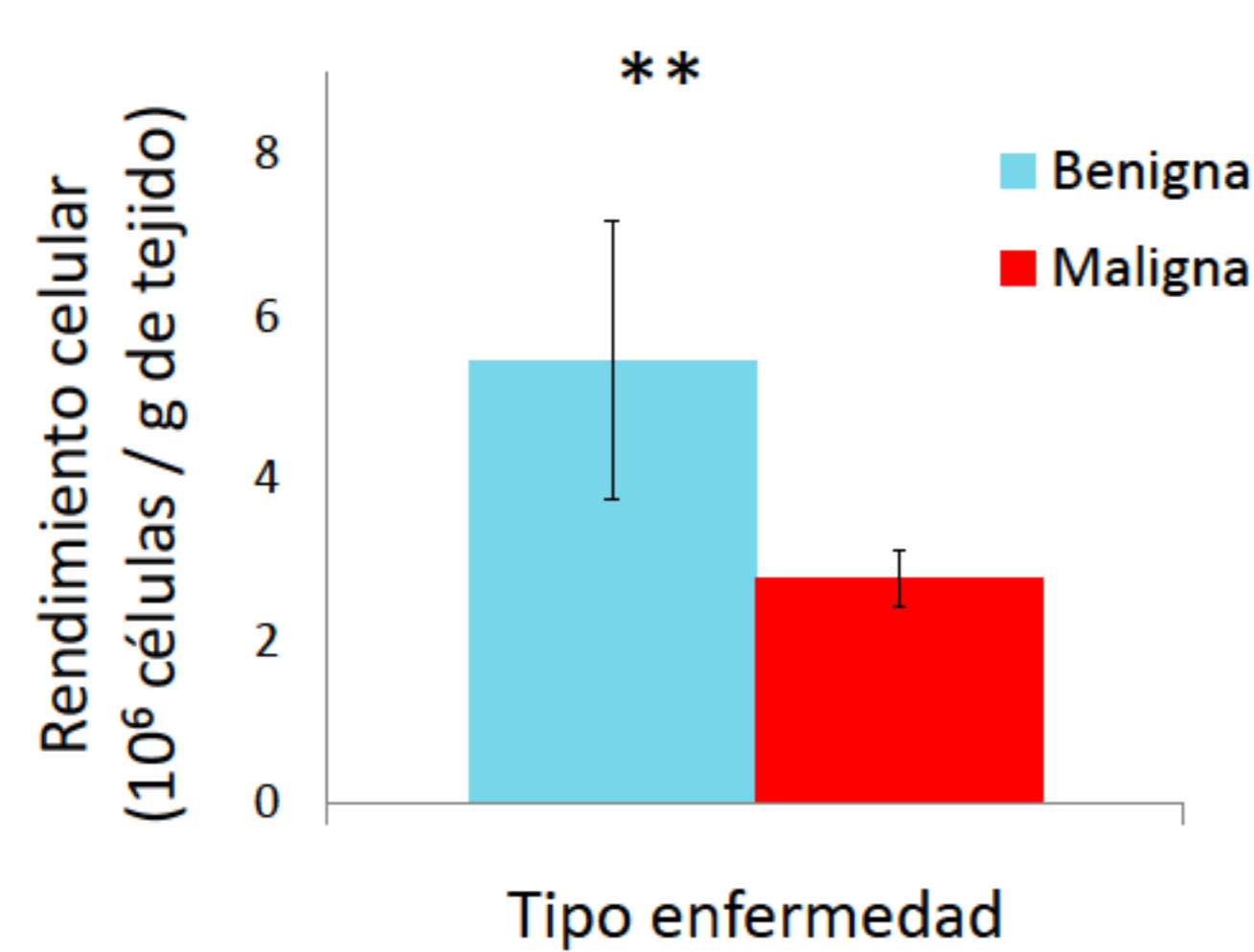


Figura 2. Efecto del tipo de enfermedad, motivo de la cirugía, sobre el rendimiento celular del aislamiento (10⁶ hepatocitos viables /g de tejido) (media \pm ee). ** ($P<0,01$)

PACIENTES Y MÉTODOS

-76 Aislamientos de hepatocitos humanos a partir de resecciones hepáticas de pacientes sometidos a hepatectomía parcial (bajo consentimiento informado y aprobación del Comité Ético de Investigación Clínica de Aragón)

- Método de aislamiento: **técnica de perfusión en dos pasos con colagenasa**

- **Recogida de variables relativas a los pacientes hepatectomizados :**

- Edad, sexo, función hepática del paciente previa a la cirugía (Serología, enfermedad hepática subyacente)
- Motivos de la cirugía (Enfermedad benigna /Enfermedad neoplásica).
- Tratamientos previos a la cirugía (quimioterapia previa, tipos)
- Tipo de cirugía (con/sin maniobra pringle), tiempos de isquemia durante la cirugía

- **Recogida de variables relativas a la calidad del aislamiento y de los hepatocitos aislados:**

- Viabilidad (n=76) y calidad de los hepatocitos aislados tras 16 horas en cultivo (actividad MTT, adhesión celular y producción de albúmina, n=34).
- Estudio de relación entre variables cuantitativas por el coeficiente de correlación de Pearson o por el coeficiente de correlación de Spearman; Estudio de la relación entre variables cualitativas y cuantitativas por test de t-student y U de Mann-Whitney

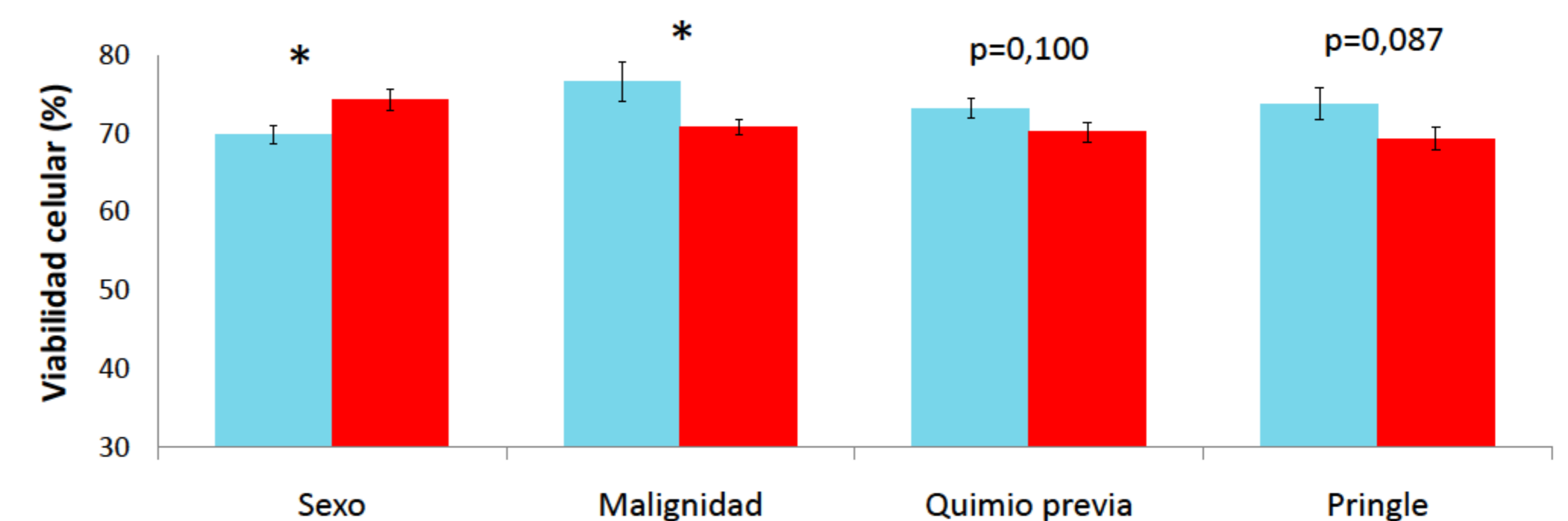


Figura 1. Viabilidad de los hepatocitos tras el aislamiento (%) (media \pm ee). En barras azules valores para sexo varón, enfermedad benigna, sin quimioterapia previa y sin maniobra de pringle en la cirugía. En barras rojas sexo mujer, enfermedad maligna, con quimioterapia previa y con maniobra de pringle. * ($p<0,05$)

- El porcentaje de adhesión de los hepatocitos aislados a placa se vio afectada negativamente también por la malignidad de la enfermedad (14,3% menor con malignidad), si bien ésta no afectó ni la MTT ni la producción de albúmina de los hepatocitos cultivados. (Figura 3)

- La producción de albúmina se correlacionó negativamente con los niveles séricos de AST ($p<0,05$), ALT ($p<0,01$) y GGT ($p<0,05$) ($r=-0,657$, $-0,750$, $-0,775$, respectivamente).

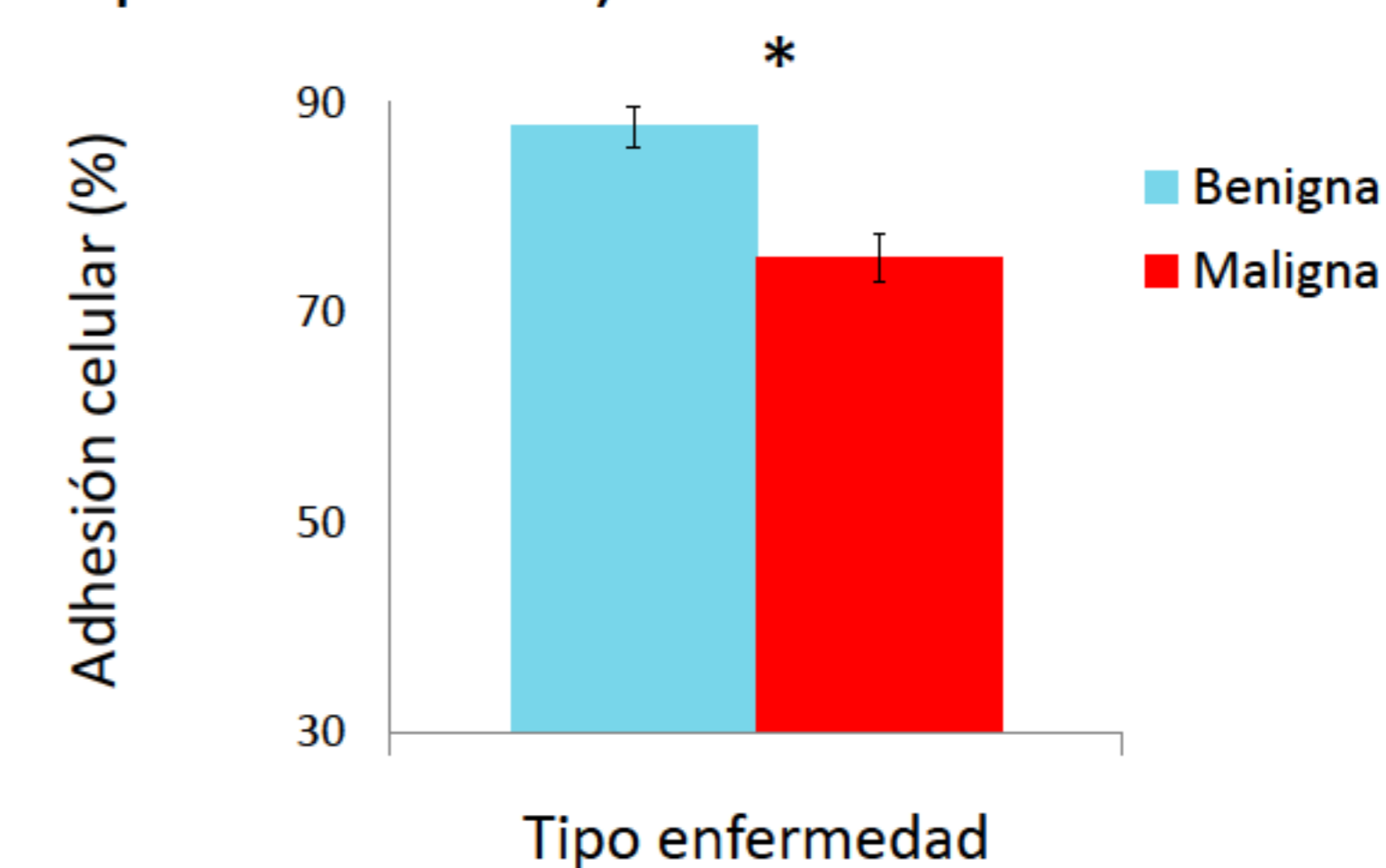


Figura 3. Efecto del tipo de enfermedad, motivo de la cirugía, sobre la adhesión de los hepatocitos aislados a placa de cultivo (media \pm ee). * ($p<0,05$)

SUMARIO Y CONCLUSIONES

Factores como la edad del paciente hepatectomizado, la malignidad o no de la enfermedad, la quimioterapia previa, la isquemia del parénquima hepático durante la hepatectomía y valores analíticos indicativos de una peor función hepática influyen en la cantidad y/o calidad final de los hepatocitos aislados de resecciones hepáticas