



MODELOS HEPÁTICOS EN 3 DIMENSIONES: EL FUTURO PARA EL CRIBADO DE FÁRMACOS EN FASES PRECLÍNICAS

Solo 1 de cada 10 fármacos que entran en fase de ensayos clínicos logra obtener la aprobación regulatoria. La industria farmacéutica enfrenta un reto constante: el alto porcentaje de fármacos que fracasan en las fases clínicas a pesar de haber mostrado resultados prometedores en las fases preclínicas. La toxicidad hepática y la falta de eficacia son las principales causas de este fracaso.



NATALIA SÁNCHEZ ROMERO, PhD
R&D Director en BeCytes Biotechnologies.

La brecha entre los resultados preclínicos y los clínicos pone de manifiesto la limitada capacidad predictiva de los modelos preclínicos actuales, que incluyen cultivos celulares en 2 dimensiones (2D) y estudios en animales.

¿Qué ocurre con los modelos preclínicos tradicionales?

Los cultivos en 2D de hepatocitos humanos resultan útiles para realizar estudios rápidos y sencillos de metabolismo y toxicidad, sin embargo, no son capaces de reproducir la compleja fisiología del hígado humano. En los cultivos en monocapa los hepatocitos acaban desdiferenciándose, lo que conlleva una disminución de su actividad metabólica y una pérdida de la estabilidad de las enzimas encargadas de la metabolización de fármacos, como el citocromo P450. Un correcto funcionamiento de estas enzimas es clave para predecir los efectos de un fármaco a largo plazo.

Reproducir las interacciones célula-célula y célula-matriz extracelular a las que están sometidos los hepatocitos en su entorno ayuda a conservar su funcionalidad e incrementar su potencial predictivo. Los cultivos en monocapa no son compatibles con este tipo de interacciones. Además, la actividad metabólica de los hepatocitos también se ve favorecida por la introducción en los modelos de células no parenquimales, que representan el 30% de la población del hígado. La

presencia de estos tipos celulares aumenta la expresión de los citocromos en comparación con un cultivo monotípico.

A pesar de uso extendido en los ensayos preclínicos, la experimentación en animales conlleva diferencias inter-especies en la expresión de enzimas hepáticas y en la respuesta a los fármacos. Los resultados no siempre predicen de manera fiable la seguridad y eficacia en humanos. Sumado a las implicaciones éticas, la inversión temporal y los altos costes, la necesidad de desarrollar modelos preclínicos alternativos fiables y fisiológicamente relevantes es urgente.

Ante esta problemática, los modelos hepáticos *in vitro* en 3 dimensiones (3D) han surgido como una estrategia para imitar de forma más precisa la estructura y función del hígado humano, proporcionando un entorno fisiológicamente relevante para el cribado de fármacos.

Los esferoides muestran el doble de sensibilidad en la predicción de hepatotoxicidad inducida por fármacos en comparación con otros modelos *in vitro*

Los esferoides y los organoides son modelos en 3D que permiten que los hepatocitos mantengan su morfología, polaridad y función durante períodos de tiempo prolongados. Su distribución tridimensional permite el contacto célula-célula, y en algunos casos el contacto célula-matriz extracelular.



Aunque en ocasiones ambos términos se usan de forma indistinta para denominar los agregados tridimensionales esféricos, existen diferencias clave entre ellos.

Los esferoides se utilizan ampliamente en el cribado de fármacos y las pruebas de toxicidad; son técnicamente menos complejos y más rentables para generar muchas muestras, ya que suelen incluir un único tipo celular y se autoorganizan en ausencia de un sustrato específico, usando técnicas como las placas de ultra-baja adhesión. Esto permite el cribado de alto contenido para probar nuevos fármacos en etapas preclínicas.

En el caso del daño hepático inducido por medicamentos (DILI, por sus siglas en inglés), un estudio reciente revela que los esferoides de hepatocitos humanos primarios tienen un poder predictivo mayor que los cultivos en monocapa. Los esferoides son 2-3 veces más sensibles en la detección de hepatotoxicidad en fármacos que generan DILI con dosis repetidas.

Los organoides, por su parte, presentan una mayor complejidad histológica y son capaces de replicar, a pequeña escala, la arquitectura y funciones esenciales del hígado fidedignamente. Se derivan a partir de células progenitoras, como células madre pluripotentes inducidas, embrionarias o adultas, que, al ser expuestas a medios de cultivo con factores específicos, se organizan y diferencian para generar estructuras que imitan el tejido hepático tal como ocurre *in vivo*. Para ello

requieren un entorno rico en matriz, como el Matrigel.

También es posible derivar organoides a partir de biopsias de tejido, lo que permite generar modelos a partir de células de paciente, ofreciendo una potente herramienta para la medicina personalizada. Estos organoides presentan un alto nivel de estabilidad genética y mantienen las características de su tejido de origen. Proporcionan un modelo más preciso para estudiar las respuestas a los fármacos y adaptar los tratamientos.

Las plataformas *organ-on-a-chip* aumentan la reproducibilidad de los cultivos en 3D

Los sistemas *organ-on-a-chip* representan una de las tecnologías más avanzadas en el campo de los modelos 3D. Estos dispositivos microfluídicos imitan las funciones de un órgano humano, como puede ser el hígado, en un entorno controlado. Están diseñados para replicar no solo la estructura, sino también las interacciones dinámicas que ocurren *in vivo*, como el flujo de sangre, los gradientes de oxígeno o la eliminación de desechos.

Para poblar los dispositivos se pueden emplear desde cortes de hígado procedentes de biopsias u organoides preformados en los enfoques *top-down*, hasta hepatocitos primarios, células madre o líneas celulares inmortalizadas en los enfoques *bottom-up*. La generación de organoides



en el interior de los chips de microfluídica permite ir un paso más allá, aumentando la reproducibilidad de estos cultivos en 3D, reduciendo el uso de reactivos debido a su ajustado tamaño y por tanto el coste, y permitiendo ahorrar tiempo en su maduración.

Actualmente se han desarrollado sistemas de *liver-on-a-chip* compuestos por hepatocitos y células de Kupffer capaces de reproducir el metabolismo de fármacos antiinflamatorios, con valores de aclaramiento comparables a los datos recogidos en modelos humanos. También se han diseñado sistemas capaces de modelizar la interacción fármaco-fármaco observada en pacientes tratados con anticuerpos monoclonales antiinflamatorios utilizados para la artritis reumatoide y el hidroxiácido simvastatina.

El futuro del cribado de fármacos está en manos de los nuevos modelos alternativos

Conscientes de la necesidad de generar modelos fiables y del potencial de los modelos alternativos para transformar el futuro de la investigación biomédica, los organismos reguladores abogan por abandonar los ensayos con animales como única referencia para verificar la seguridad y eficacia de los medicamentos.

Alineados con esta visión, 50 grupos de investigación y empresas de 8 países de la Unión Europea, entre las que se encuentra BeCytes Biotechnologies, colaboran para hacer realidad su uso. El proyecto UNLOOC (UNLocking data content of Organ-on-Chips) tiene por objeto desarrollar, optimizar y validar sistemas de *organ-on-a-chip* para diferentes órganos con el fin de sustituir los ensayos en animales y humanos en el descubrimiento de fármacos. Para que esta herramienta se convierta en una realidad, necesitamos avanzar en su automatización, reproducibilidad, escalabilidad y estandarización, haciéndolos accesibles para un uso más amplio en la industria y el mundo académico.

A nivel nacional, HePaPools, proyecto Nuclis I+D financiado por ACCIÓ, busca recrear el hígado *in vitro*, no solo a nivel de sus constituyentes usando células hepáticas humanas primarias, también a nivel estructural en tres dimensiones. BeCytes Biotechnologies y el grupo de Biosensores para la Bioingeniería del Instituto de Bioingeniería de Cataluña (IBEC) colaboran para generar modelos bioimpresos que se conviertan en herramientas precisas y predictivas para impulsar los avances clínicos en el desarrollo de fármacos.

Proyectos como UNLOOC y HePaPools nos acercan a reemplazar los ensayos con animales, abriendo las puertas a un proceso de desarrollo y descubrimiento de fármacos optimizado y seguro.

Referencias

- 1. Sun D, Gao W, Hu H, Zhou S. Why 90% of clinical drug development fails and how to improve it? Acta Pharm Sin B. 2022 Jul;12(7):3049-3062. doi: 10.1016/j.apsb.2022.02.002.
- 2. Gunti S, Hoke ATK, Vu KP, London NR Jr. Organoid and Spheroid Tumor Models: Techniques and Applications. Cancers (Basel). 2021 Feb;13(4):874. doi: 10.3390/cancers13040874
- 3. Ingber DE. Human organs-on-chips for disease modelling, drug development and personalized medicine. Nat Rev Genet. 2022 Aug;23(8):467-491. doi: 10.1038/s41576-022-00466-9
- 4. Leung, C.M., de Haan, P., Ronaldson-Bouchard, K. et al. A guide to the organ-on-a-chip. Nat Rev Methods Primers. 2022 May; 2, 33. doi.org/10.1038/s43586-022-00118-6.
- 5. Li F, Cao L, Parikh S, Zuo R. Three-Dimensional Spheroids With Primary Human Liver Cells and Differential Roles of Kupffer Cells in Drug-Induced Liver Injury. J Pharm Sci. 2020 Jun;109(6):1912-1923. doi: 10.1016/j.xphs.2020.02.021.
- 6. Ma Y, Hu L, Tang J, Guo W, Feng Y, Liu Y, Tang F. Three-Dimensional Cell Co-Culture Liver Models and Their Applications in Pharmaceutical Research. Int J Mol Sci. 2023 Mar;24(7):6248. doi: 10.3390/ijms24076248.
- 7. Marsee A, Roos FJM, Verstegen MMA; HPB Organoid Consortium; Gehart H, de Koning E, Lemaigre F, Forbes SJ, Peng WC, Huch M, Takebe T, Vallier L, Clevers H, van der Laan LJW, Spee B. Building consensus on definition and nomenclature of hepatic, pancreatic, and biliary organoids. Cell Stem Cell. 2021 May;28(5):816-832. doi: 10.1016/j.stem.2021.04.005.