

Disertační práce

MUDr. Jakub Fichtl

Plzeň 2016

Univerzita Karlova v Praze

Lékařská fakulta v Plzni

Chirurgická klinika

Téma: Regenerace jaterního parenchymu pomocí aplikace hematopoetických progenitorových buněk po embolizaci portálního řečiště u nemocných s primárně inoperabilními metastázami kolorektálního karcinomu do jater.

MUDr. Jakub Fichtl

Školitel: Prof. MUDr. Vladislav Třeška, DrSc.

Plzeň 2016

1. Prohlášení k autorství

Předkládaná práce byla vypracována samostatně pod vedením školitele Prof. MUDr. Vladislava Třešky, DrSc. Práce se skládá ze tří hlavních částí. V první části se věnujeme teoretickým a literárním údajům o současných všeobecných znalostech o stavbě jater a poznatkům o jaterní regeneraci. Ve druhé části jsme se zaměřili na současné možnosti léčby metastáz kolorektálního karcinomu do jater, třetí částí je klinická studie. V této části představujeme náš pilotní projekt regenerace jaterního parenchymu pomocí kmenových buněk a prezentujeme první výsledky. Celá klinická studie vznikala jen díky dobré multioborové spolupráci. Proto bych rád poděkoval nejen kolegům z Chirurgické kliniky Fakultní nemocnice (FN) Plzeň, ale i lékařům Kliniky zobrazovacích metod. Dále se na projektu podílelo Hematoonkologické oddělení a Oddělení nukleární medicíny FN Plzeň.

Souhlasím s půjčováním disertační práce.

V Plzni 2016

MUDr. Jakub Fichtl

2.Poděkování

Rád bych poděkoval všem, kteří se zasloužili o vznik této práce, musel bych však vyjmenovat desítky lidí, nesměl bych zapomenout na běžné nelékařské pracovníky přes střední zdravotnický personál až k lékařům z mnoha různých oborů. Všechny zde jmenovat nelze, a tak bych chtěl všem poděkovat společně. Zjeména bych pak chtěl poděkovat Prof.MUDr.Ondřeji Topalčanovi DrSc. a jeho týmu z oddělení nukleární medicíny, všem kolegům z radiologie, kteří se podíleli na projektu a to zejména As.MUDr.Hynkovi Mírkovi PhD., MUDr. Petru Durasovi a MUDr.Františkovi Šlaufovi, v neposlední řadě hematoonkologům pod vedením Doc.MUDr. Daniela Lysáka PhD.

Na tomto místě bych chtěl vyzdvihnout několik zásadních momentů, které mě dovedli k chirurgii a k mému mírně specifickému přístupu k medicíně. Prvním impulzem byly hodiny chirurgické propedeutiky s As. MUDr. Václavem Šimánkem PhD., pod jehož vedením jsem se ještě jako ne zcela vyspělý medik rozhodl pro velkou chirurgii. Druhým zásadním momentem pro mě bylo, po nástupu na chirurgickou kliniku FN Plzeň, setkání s As. MUDr. Alanem Sutnarem PhD. Byl to právě on, kdo mě provedl prvními kroky chirurga, byl pro mě nejen učitelem a kamarádem, ale hlavně častým kritikem. Právě jeho drobná kritika mě stále motivuje k tomu, abych nezapomněl, že přes nutnost dokonalé znalosti teorie a vlastních pacientů je v chirurgii zásadní stálá pokora. Bohužel se dnes oba již věnují jiným starostem než práci učitelů a chirurgů. Přesto, díky výbornému odbornému i profesnímu vedení prof. MUDr. Vladislava Třešky DrSc., je možné se na Chirurgické klinice FN Plzeň nadále učit spoustu nových dovedností a spolupracovat s vynikajícími chirurgy, zejména s Doc. MUDr. Tomášem Skalickým PhD. a Doc. MUDr. Josefem Vodičkou PhD. Díky kolegům stále vidím mnoho věcí, které bych se měl naučit a které mně ještě nadále zbývají k tomu, abych i já o sobě mohl v budoucnu prohlásit, že jsem dobrým chirurgem.

Na závěr, ale ne nakonec, musím poděkovat mému školiteli prof. MUDr. Vladislavu Třeškovi DrSc. Bez šance, kterou jsem od něj dostal, kdy jsem se mohl před lety připojit k jaternímu týmu Chirurgické kliniky FN Plzeň, bych se možná vydal jiným směrem a zcela jistě by nevznikl ani tento klinický výzkum. Jeho profesionalita a přístup jsou pro mě vždy velkým osobním vzorem. Víím, že občas se mnou musí mít velkou trpělivost, ale ani Řím nebyl postaven za jeden den.

3. Obsah

I. Obecný úvod

| | |
|---|-----------|
| 1. Prohlášení k autorství | 3 |
| 2. Poděkování | 4 |
| 3. Obsah..... | 5 |
| 4. Seznam zkratk | 7 |
| 5. Abstrakt..... | 9 |
| 6. Summary | 11 |
| 7. Úvod | 13 |
| 8. Cíl disertační práce | 17 |
| 9. Embryogeneze jater | 18 |
| 10. Anatomie jater | 20 |
| 10.1. Obecná anatomie | 20 |
| 10.2. Hepatocyt | 21 |
| 10.3. Cévní zásobení jater | 22 |
| 10.4. Žluč | 24 |
| 10.5. Lymfatická drenáž | 25 |
| 10.6. Nervové zásobení | 26 |
| 10.7 – Možnosti metastazování do jater..... | 26 |
| 11. Regenerace jater | 27 |
| 12. Kmenové buňky..... | 30 |

II. Metastázy kolorektálního karcinomu

| | |
|--|-----------|
| 13. Současné možnosti zobrazení metastáz kolorektálního karcinomu | 38 |
| 13.1 Sonografie | 38 |
| 13.2 Počítačová tomografie | 41 |
| 13.3 Magnetická rezonance | 43 |
| 13.4 PET - CT..... | 44 |

| | |
|---|-----------|
| 14. Současné možnosti chirurgické léčby CLM..... | 46 |
| 15. Operační přístup a techniky resekcí..... | 50 |
| 16. Komplikace resekční léčby CLM..... | 54 |
| 17. Abláční (destrukční) metody léčby..... | 56 |
| 17.1 Alkoholizace..... | 56 |
| 17.2 Radiofrekvenční ablace..... | 57 |
| 17.3 Kryoablace..... | 58 |
| 17.4 Mikrovlnná a laserová ablace..... | 59 |
| 17.5 NanoKnife..... | 61 |
| 17.6 Emprint..... | 62 |
| 18. Možností zvýšení resekability CLM..... | 64 |
| 18.1 Embolizace portální žíly..... | 64 |
| 18.2. ALPPS..... | 64 |
| 18.3 Onkologická léčba u nemocných s CLM..... | 67 |
| 18.3.1 Chemoterapie..... | 67 |
| 18.3.2 Lokoregionální chemoterapie..... | 69 |
| 18.3.3 Transarteriální chemoembolizace..... | 70 |
| 18.3.4 Transarteriální radioembolizace..... | 71 |
| 18.3.5 Biologická terapie..... | 73 |
| 19. Sledování nemocných..... | 77 |
| 20. Etická otázka použití kmenových buněk v naší studii..... | 78 |
| <u>III.Samotný klinický výzkum</u> | |
| 21. Úvod..... | 80 |
| 22. Metodika..... | 81 |
| 22.1 Soubor nemocných..... | 81 |
| 22.2 Statistika..... | 82 |
| 22.3 Zkoumané parametry..... | 83 |
| 22.4 Provedení..... | 83 |
| 22.5 Sledování..... | 86 |
| 22.6 Demografie..... | 87 |
| 23. Výsledky..... | 88 |

| | |
|---|------------|
| 24. Diskuze..... | 100 |
| 25. Závěr..... | 105 |
| 26. Použitá literatura | 107 |
| 27. Seznam publikační činnosti autora..... | 113 |
| 28. Seznam obrázků | 115 |
| 29. Seznam tabulek | 117 |

4. Seznam zkratek

ALP – alkalická fosfatáza

ALPPS - Associating liver partion and portal vein ligation for staged hepatectomy

ATB – antibiotika

Bq - Becquerel

Ca++ - iont vápníku

CEUS - Contrast sonography - kontrastní sonografie

CLM – colorectal liver metastases (metastázy kolorektálního karcinomu)

CT – Computer tomography - počítačová tomografie

CUSA - Cavitron ultrasonic surgical aspirator

ČR – Česká republika

DEB - drug eluting beads

DFI – disease free interval - interval do objevení recidivy onemocnění

EGF – epidermal growth factor - epidermální růstový faktor

EGFR – epidermal growth factor receptor - receptor pro epidermální růstový faktor

EKG – elektrokardiogram

ERCP - endoskopická retrográdní cholangiografie

ERH – extensive right hepatectomy - rozšířená pravostranná hemihepatektomie

FLRV – future liver remnant volume - předpokládaný zbytek jaterního parenchymu po resekci

FN – fakultní nemocnice

GGT – gamaglutamyl transferáza

GSF - granulocyty stimulující faktor

H⁺ - iont vodíku

HAI – hepatic arterial infusion - jaterní arteriální infuze

HGF – hepatocyte growth factor - růstový faktor pro hepatocyty

HNF – hepatocyte nuclear factor - jaterní nukleární faktor

HPC – hematopoietic progenitor cells - hematopoetické progenitorové buňky

CHOPN – chronická obstrukční plicní nemoc

CHT – chemoterapie

ICG – indocyanin green - indocyaninová zeleň

IL– interleukin

IRE - ireverzibilní elektroporace

JT – jaterní testy

K⁺ - iont draslíku

KB – kmenové buňky

K-ras - Kirsten rat sarkoma viral oncogene homolog

KRCa – kolorektální karcinom

MHz – megaHerz

μm – mikrometr

MR - magnetická rezonance

MWA – microwave ablation - mikrovlnná ablace

Na⁺ - iont sodíku

NKB - nádorové kmenové buňky

PET - pozitronová emisní tomografie

PST - papilosfinkterotomie

PVE – portal vein embolization - embolizace portální žíly

PVL – portal vein ligation - ligace portální žíly

RFA – radiofrekvenční ablace

RH – right hepatectomy - pravostranná hemihepatektomie

RTG – rentgenové vyšetření

TACE – transarteriální chemoembolizace

TARE – transarteriální radioembolizace

Tc-MAA – techneciem značený makroagregát lidského albuminu

TGF – transforming growth factor - transformující růstový faktor

TNF – tumor necrosis factor - tumor nekrotizující faktor

USG – ultrasonografie

W - watt

5. Abstrakt

Úvod: Důvodem nemožnosti provést resekci jater pro metastázy kolorektálního karcinomu je většinou nedostatečný zbytek jaterního parenchymu po jaterní resekci (future liver remnant volume - FLRV). Současnou standardní metodou zvýšení FLRV je embolizace větve portální žíly (PVE) na straně nádoru, a pak odloženě po hypertrofii neembolizovaného laloku resekce jater. Bohužel u některých pacientů nedochází k nárůstu objemu jater i přes dokonale provedenou PVE. U jiných dochází během doby potřebné k hypertrofii k progresi metastatického postižení. Proto se snažíme nalézt vhodný způsob, jak podpořit růst zbylého jaterního parenchymu a urychlit hypertrofii druhostranného jaterního laloku. Urychlením regenerace chceme zabránit možnému růstu nádoru v jaterním parenchymu. Z našich předchozích zkušeností (IGAMZ NS 10240) vyplývá, že nadějí je cesta aplikace hematopoetických progenitorových buněk (HPC – adultních kmenových buněk) po předchozí PVE do neembolizované větve portální žíly. Tyto buňky nejen urychlují jaterní regeneraci, ale i zlepšují jaterní funkce, což je důležité zejména u nemocných po neadjuvantní chemoterapii (steatohepatitida či steatofibróza) a s primárně poškozeným parenchymem (steatóza, cirhóza).

Cíle projektu: Hlavním cílem práce je snaha o zvýšení operability nemocných s metastázami kolorektálního karcinomu do jater pomocí nové metody urychlení regenerace jater pomocí aplikace kmenových buněk. Druhým cílem je objektivizovat vliv PVE a nové metody PVE a aplikace HPC na nemocné, zda jsou

tyto metody pro nemocného bezpečné a nepředstavují riziko časně či pozdní progresy nádoru. Dalším cílem projektu je zhodnotit vliv předoperačních hladin růstových faktorů na růst FLRV nebo možnou progresi nádoru, a tím zhodnotit možnou prognózu nemocného stran úspěšnosti radikálního chirurgického výkonu a naopak zjistit jaké faktory ukazují spíše na progresi nádorového onemocnění v játrech. Tento projekt je v ČR ojedinělý a navazuje na zkušenosti získané předchozími grantovými projekty v rámci Chirurgické kliniky FN Plzeň. Hlavním cílem práce zůstává snaha o zvýšení operability nemocných s metastázami kolorektálního karcinomu do jater provedením nové metody urychlení regenerace jater pomocí aplikace kmenových buněk.

Metodika: Retrospektivně jsme zhodnotili skupinu primárně inoperabilních nemocných, u kterých jsme použili k hypertrofii jaterního parenchymu kombinaci dvou metod a to PVE a aplikace kmenových buněk. Tuto skupinu jsme následně ještě porovnali se skupinou nemocných (též 18 pacientů), kde ve stejném časovém intervalu byla použita k hypertrofii jaterního parenchymu jen samotná PVE. V přesně daných časových intervalech jsme stanovovali hodnoty interleukinů a růstových faktorů v krevním séru. Tyto hodnoty jsme následně statisticky zpracovali. Studie probíhala od června 2010 do prosince 2014.

Výsledky: Průměrný věk nemocných v době provedení PVE s aplikací HPC. byl 64 let. V zastoupení pohlaví převládali muži (13 tj. 72 %) k ženám (5 tj. 28 %). Zásadním ukazatelem pro nás byly hodnoty hypertrofie jaterního parenchymu před PVE. Celkový objem jater (TLV) byl 1719 ml (866-2121 ml). Průměrnou hodnotou FLRV bylo 539 ml (179-880 ml), tedy 31 % (19-45 %). TLV se po PVE a aplikaci HPC příliš nezměnil (1721 ml). Naopak výrazně se změnila hodnota FLRV, před resekcí byla 698 ml (o 30 %) tj. 41 % TLV. Radikální operaci postoupilo 14 nemocných, po PVE a aplikaci HPC jsme tedy byli schopni provést radikální výkon u celkem 77 % nemocných. Z růstových faktorů jsme zjistili statistickou významnost pro růst metastáz u IL8 a TGF α , pro FLRV u IL2, IL8, IGF a EGF, pro předpokládanou úspěšnost resekce pak u EGF, HGF, VEGF, IGF, IL 2, IL6, IL8 a TGF α .

Závěr: Přes malé počty nemocných můžeme říci, že embolizace portální žíly a aplikace hematopoetických kmenových buněk je novou, relativně bezpečnou a nadějnou metodou pro indikovanou skupinu nemocných s generalizací kolorektálního karcinomu do jater.

6. Summary

Introduction: The reason for the inability of performing the liver resection for colorectal carcinoma metastasis is usually insufficient remnant liver parenchyma after liver resection (future liver remnant volume - FLRV). The current standard method of increasing FLRV is the embolization of the branch of portal vein (portal vein embolization - PVE) on the side of the tumor, and then suspended after hypertrophy of the non-embolised lobe liver resection. Unfortunately, there are some patients who do not increase liver volume despite perfectly executed PVE. Besides that, FLRV occurs during the time necessary for hypertrophy progression of metastatic disease.

Therefore, we are trying to find the appropriate way to encourage the growth of remaining liver parenchyma and accelerate hypertrophy of the contralateral liver lobe.

From our previous experience (IGA MZ NS 10240), it is possible to be optimistic that there hope is the way of hematopoietic progenitor cells (HPC - adult stem cells) after previous PVE to non-embolised branches of the portal vein. These cells do not only accelerate liver regeneration, but are also able to improve its function (function of the liver) which is especially important for patients after neoadjuvant chemotherapy (steatohepatitis or steatofibrosis), and for patients with primarily damaged parenchyma (steatosis, cirrhosis).

Goals of the project: The main goal is the effort to increase the operability of colorectal liver metastases by a new method which accelerates liver regeneration with the use of stem cells. The second goal is to objectify the impact of PVE and of the new method PVE and applications of HPC on diseased livers, and to determine whether these methods are safe for the patient and do not pose a risk of early or late tumor progression. Another goal of the project is to evaluate the effect of preoperative levels of growth factors on the growth of the FLRV or possible tumor progression, and thereby evaluate the potential patient's prognosis through successful radical surgery and vice-versa to determine what factors indicate tumor progression in the liver. This project is unique to the Czech Republic and builds on the experience gained from previous grant projects within the Department of Surgery at the University Hospital in Pilsen. The main objective remains the effort to increase the operability of patients with metastatic colorectal carcinoma to the liver by performing the new method of accelerating liver regeneration by using stem cells.

Methodology: We reviewed retrospectively the group of primarily inoperable patients in whom we used to hypertrophy of the liver parenchyma combination of the two methods and that PVE and application of stem cells. This group was subsequently been flattened with the group of patients (18 patients also), wherein the same time interval was used to hypertrophy of the liver parenchyma only the PVE. In exact time intervals were determined the values of the interleukins and of the growth factors. These values were statistically processed. The study ran from June 2010 to December 2014.

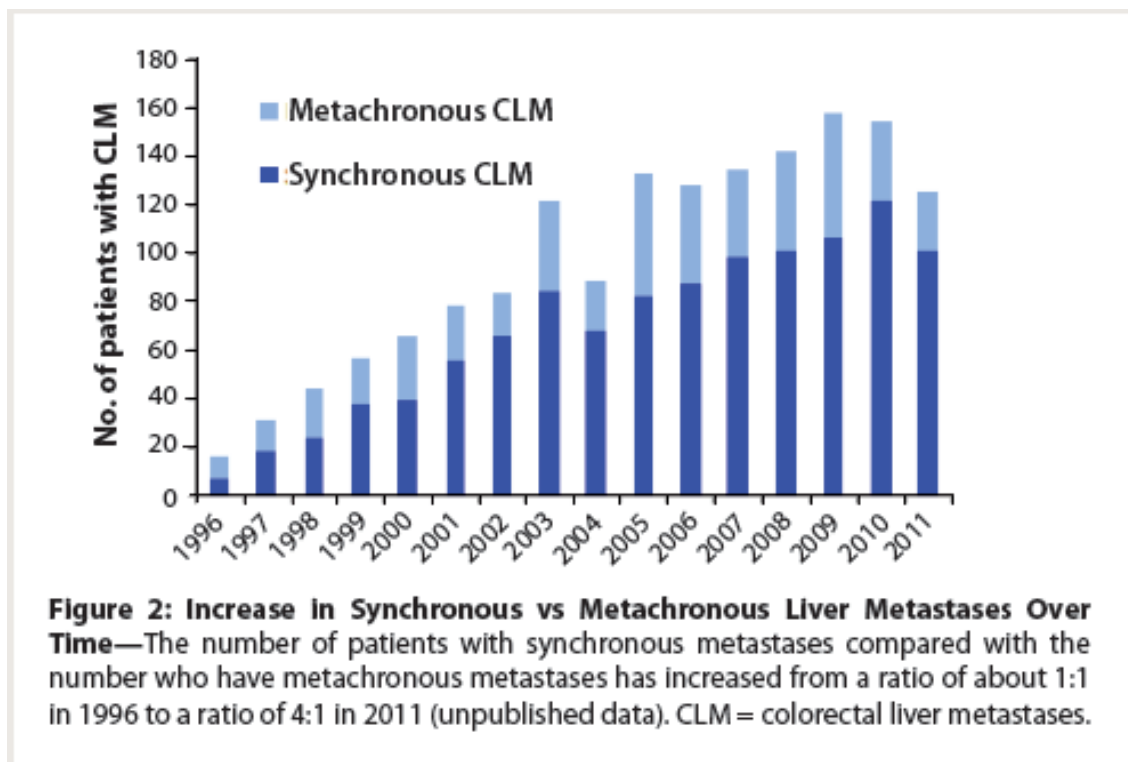
Results: The average age of patients the in the date of implementation PVE was 64 years. The gender representation was dominated by men (13-72%) to women (5-28%). A key indicator for us were the values hypertrophy of the liver parenchyma before PVE with HPC. The total liver volume (TLV) was 1719 ml (866-2121 ml). FLRV average value was 539 ml (179-880 ml), 31% (19-45%). TLV has not changed much after PVE and after the application of HPC (1721 ml). In contrary the value of FLRV has been significantly changed, before the resection

was 698 ml (30%), i.e. 41% of the TLV. Radical surgery was proceeded by 14 patients after PVE and application HPC, so we were able to perform radical surgery in a total of 77% of the patients. From growth factors, we found a statistical significance for the growth of metastases in IL8 and TGF α for FLRV at IL2, IL8, IGF and EGF for the predicted percentage resection then with EGF, HGF, VEGF, IGF, IL-2, IL6, IL8 and TGF α .

Conclusion: Despite the small number of patients we may say that the portal vein embolization and application of hematopoietic stem cell is the new, relatively safe and promising method for exactly indicated patients with primary non-resectable colorectal liver metastases.

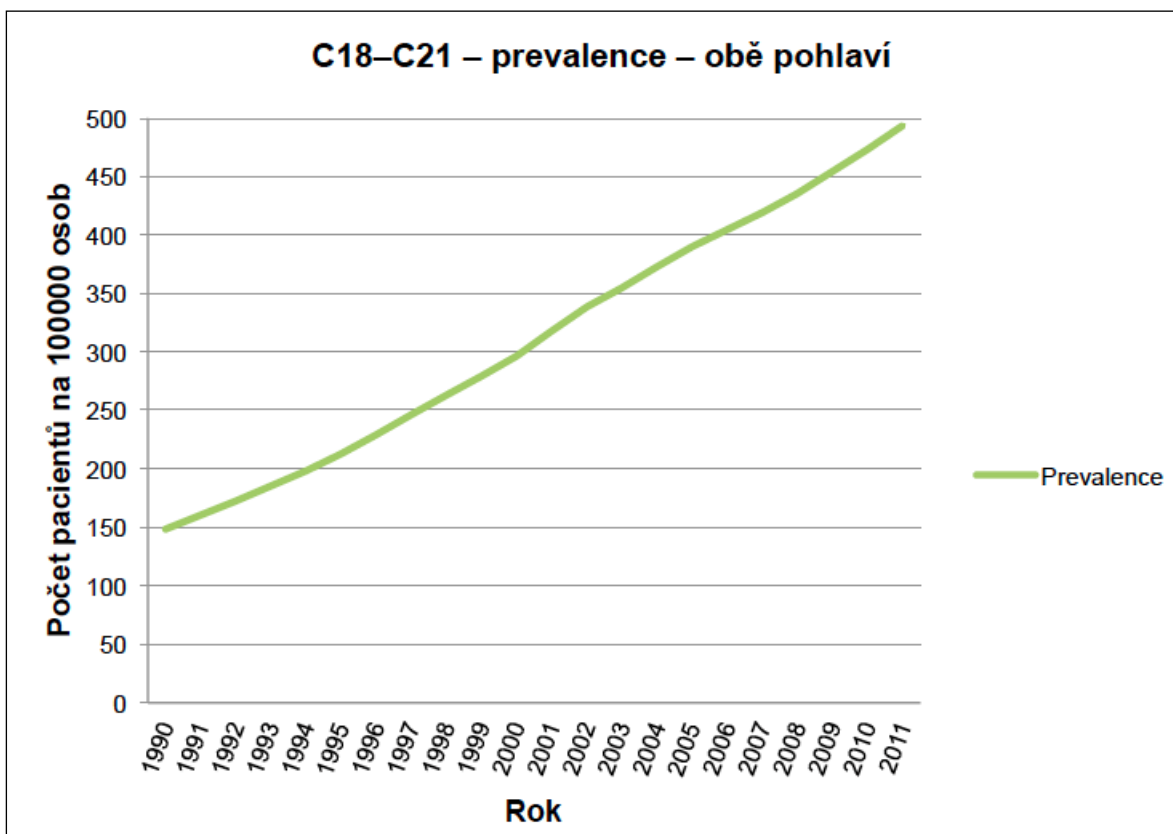
7. Úvod

Kolorektální karcinom (KRCa) je jedním z nejčastějších zhoubných nádorů, jedná se o celosvětově druhé nejčastější maligní onemocnění, a proto v dnešní době představuje závažný socioekonomický problém. Incidence se v současnosti přesouvá stále více do mladších věkových skupin. Metastázy kolorektálního karcinomu do jater (CLM) jsou velmi časté. Přibližně 30-60 % nemocných s diagnózou KRCa má v době stanovení diagnózy přítomné synchronní metastázy a u dalších nemocných se vyvinou metastázy metachronní. V posledních letech narůstá incidence synchronních metastáz do jater při diagnóze primárního nádoru na tlustém střevě (obr. 1).



Obr.1 Vzestup počtu synchronních CLM převzato z Cancer network.

V České republice v roce 2011 dosáhla prevalence hodnoty 51 833 osob a ve srovnání s obdobím před deseti lety, tedy před rokem 2001, vzrostla o 60 % (32 486 osob) (obr. 2). Zásadní je stále údaj o mortalitě, která dosahuje ročně cca 4 tisíce případů z cca 8 tisíc nově diagnostikovaných pacientů [56]. Tito nemocní umírají zejména pod obrazem generalizace do jater či plic. Předmětem chirurgické léčby, která je základním článkem multimodální léčby, jsou pak zejména pacienti s generalizací do jater po odstranění primárního nádoru na střevě.

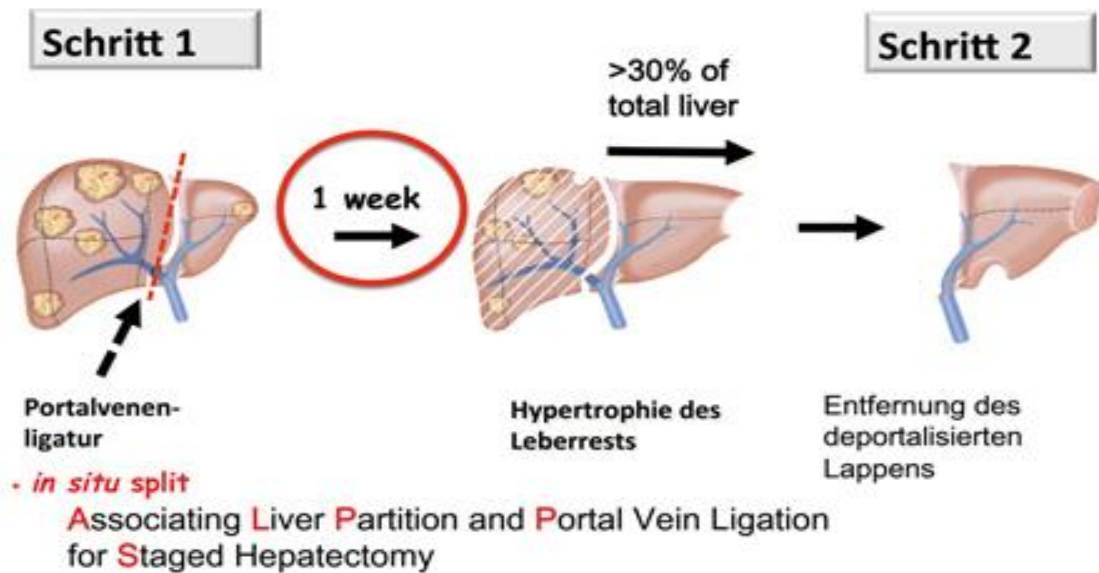


Obr.2 Prevalence KRCa v ČR převzato z Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR.

Základem současné léčby je radikální chirurgická resekce CLM, ta nabízí nemocným kvalitní 5ti leté přežívání ve 38-56 % [16,19]. Nicméně primární operabilita v současnosti zůstává i ve velkých centrech jen 20-25 % [30]. Hlavním problémem nízké resekability CLM je malý zbytek parenchymu po jaterní resekci FLRV (future liver remnant volume), ten představuje zásadní ukazatel operability. U zdravé jaterní tkáně jsme schopni bezpečně resekovat až 75-80 % jaterního parenchymu. Zde je tedy FLRV mezi 20-25 % dostatečný. U většiny nemocných s kolorektálním karcinomem jsou však vlivem chemoterapie či jiného onemocnění játra poškozena. Jako o bezpečné tak mluvíme o resekci do 60-65 % parenchymu. V posledních letech se proto hledají možnosti jak zvýšit FLRV. Metod, jak zmíněného cíle dosáhnout, bylo v současnosti vyvinuto několik. Zlatým standardem je nyní embolizace větve portální žíly (PVE) na straně metastatického

postižení KRCa. Po nárůstu objemu druhostranného jaterního laloku je pak možné ve druhé době provést kurativní resekci jater. Interval pro potřebnou hypertrofii se pohybuje mezi 14 a 72 dny [41]. Nicméně u řady nemocných (cca 20-40 %) nedochází přes úspěšně technicky provedenou PVE k hypertrofii. U jiných během doby potřebné k hypertrofii dochází k progresi základního onemocnění. Určitou možností zvýšení regenerační schopnosti jater a zlepšení jejich funkce, především u nemocných s předchozím postižením parenchymu, například prolongovanou chemoterapií, steatózou, fibrózou atd., je aplikace kmenových buněk těsně po provedení PVE [3]. Obdobnou klinickou studii provádíme jako jediné pracoviště v České republice. Dalším zásadním a neméně důležitým kritériem moderní jaterní chirurgie je mortalita. Za přijatelnou míru považujeme na našem pracovišti hodnotu < 3 % u velkých resekcí. U menších výkonů je třeba specifickou mortalitu držet téměř na nule. Myslíme si, že ve specifických podmínkách českého zdravotnictví je nepřijatelná vysoká mortalita (12-25 %) po extenzivních jaterních výkonech typu ALPPS (Associating liver partion and portal vein ligation for staged hepatectomy) [53] (obr. 3).

Was ist "ALPPS"?



Schnitzbauer/Schlitt Ann Surg 2012

Obr.3 „ALLPS procedura“ převzato z Annals of Surgery

8. Cíl disertační práce

Hlavním cílem naší studie – aplikace kmenových buněk po embolizaci portální žíly, byla snaha dosáhnout zvýšení operability (na cca 70-80 %) u vybrané skupiny nemocných při nulové či co nejnižší mortalitě. Naše nová metoda urychlení regenerace jater pomocí kmenových buněk se tedy snaží míru rizika úmrtí na selhání jater minimalizovat podporou funkce a budoucí regenerace jater aplikací kmenových buněk.

Druhým cílem práce bylo objektivizovat vliv PVE a nové metody PVE a aplikace HPC na nemocné a nádorové onemocnění, zda jsou tyto metody pro nemocného bezpečné a nepředstavují riziko časně či pozdní progresy nádoru. Zajímalo nás, zda aplikace kmenových buněk nebude pro nemocné znamenat zvýšené riziko progresy velikosti metastáz či objevení nových ložisek během doby potřebné k hypertofii (tj. časně riziko) oproti samotné embolizaci portální žíly, ale i možnost pozdní generalizace.

Dalším z vedlejších cílů bylo pomocí sledování růstových faktorů predikovat úspěšnou hypertrofii a operabilitu, tímto jsme chtěli ukázat na možnost předem vyloučit či naopak vybrat pomocí růstových faktorů vhodné nemocné pro multietapové resekce. Růstové faktory totiž dle literatury nepochybně hrají významnou roli v rychlosti růstu FLRV. Chtěli jsme proto i porovnat již celosvětově zavedenou metodu PVE s naší novou metodou, kde jsou navíc aplikovány kmenové buňky a určit pozitiva a negativa obou metod.

Projekt je v ČR ojedinělý. Svou koncepcí ukazuje na nutnost multidisciplinární spolupráce při léčbě nemocných s pokročilými maligními onemocněními. Projekt navazuje na zkušenosti získané předchozími grantovými projekty v rámci Chirurgické kliniky LFUK a FN Plzeň.

9. Embryogeneze jater

Vývoj jater začíná ve třetím týdnu fetálního života, v tomto stadiu má embryo cca 3 mm. Za základ jater považujeme jaterní divertikl (entoderm), ten vzniká vyklenutím předního střeva. Divertikl následně migruje do oblasti septum transversum (ploténka mezi perikardem a stopkou žlučkového váčku). Tento základ jater se při základu duodena zúží, a toto představuje budoucí základ žlučových cest. Vychlípení jaterního základu a jeho další proliferace je indikována a udržována v činnosti okolním mezenchymem. V dalším průběhu vývoje dochází k postupnému prorůstání epitelových trámců a sinusoid, což má v budoucnu za následek vznik typické struktury pro jaterní parenchym. Zbylé vazivové složky jater vznikají právě z materiálu pocházejícího ze septum transversum. Od pátého týdne fetálního života mají játra typický budoucí tvar. Vzhledem k jejich rychlému růstu následně vystupují kaudálně do coelomové dutiny (do budoucí břišní dutiny). V dalším vývoji se dotváří žlučník a dozrávají i zbylé žlučové cesty, postupně se i přesouvá ductus

choledochus zpředu do typické lokalizace za duodenum. I v dospělosti můžeme pozorovat zbytky embryonální tkáně jater (appendix fibroza, kolem vena cava inferior, porta hepatis). Pokud se podíváme na vývoj jater z molekulárního hlediska, bylo prokázáno, že bez kontaktu s mezenchymem se nejsou schopny hepatocyty definitivně diferencovat. Právě mezenchymové buňky stimulují proliferaci jaterního entodermu produkcí známého růstového faktoru pro hepatocyty (HGF), ten se váže na c-met receptor. Naopak proliferace buněk se zastavuje pod vlivem transformujícího růstového faktoru beta. Pro celkový růst jater je nutná exprese faktoru H1x. Již v časných stádiích vývoje je možno v játrech zachytit transkripční faktor HNF3 (hepatic nuclear factor), ten je zodpovědný za spuštění celé kaskády regulačních dějů hepatocytu, na jejímž konci je syntetická funkce jater (albumin).

Během vývoje jater můžeme v parenchymu zastihnout i kmenové buňky krve tvorby. Krev je do jater na začátku vývoje přiváděna žilami žloutkového váčku (vv. omphalomezentericae), tyto žíly postupně zanikají a nahrazuje je v. portae. Laterálně od původních žil žloutkového váčku vedou umblikální žíly, ty odvádějí krev do sinus venosus embryonálního srdce, pravá umblikální žíla postupně zaniká a levá se napojuje do portálního řečiště. Vývoj jaterních žil je jednodušší a vzniká z původního širokého odtoku jater spolu s vývojem dolní duté žíly.

Je nutné ještě zmínit, že v embryonálním vývoji jsou játra i sídlem krve tvorby. Díky tomu zaujímají od 3. týdne do 7. měsíce fetálního života 10 % tělesné váhy. Po narození představují jen 4-5 % hmotnosti těla [7].

10. Anatomie jater

10.1. Obecná anatomie

Játra jsou největším parenchymatózním orgánem lidského těla, jedná se vlastně o největší exokrinní žlázu. V dospělosti váží od 1 do 2,5 kg, což představuje cca 2,5 % celkové váhy těla. U mužů bývají o 10-20 % většího objemu než u žen (průměrně 1200 až 1600 ml). Parenchym díky velké řadě metabolických funkcí spotřebovává až 12 % kyslíku z celkové minutové potřeby organismu a teplota dosahuje až k 40 °C. Krevní průtok bývá přibližně 1500 ml za minutu.

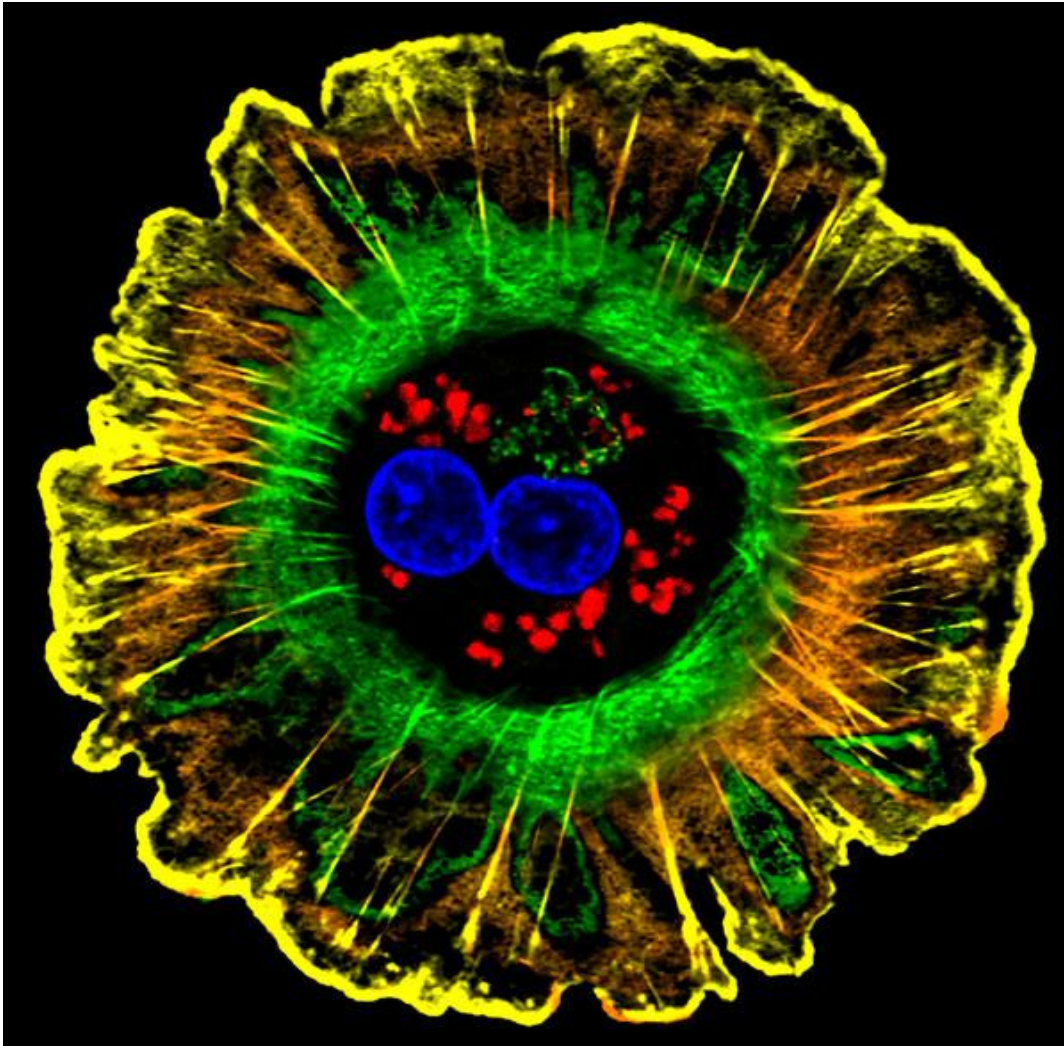
Játra jsou umístěna v pravém horním břišním kvadrantu těsně pod bránicí a jejich ventrální a laterální část je chráněna žebry (obr. 4). Pravá část vyplňuje celou pravou klenbu brániční a levá přesahuje přes střední čáru často až do oblasti medioklavikulární čáry. Anatomicky rozdělujeme jejich povrch na dvě části a to na *facies visceralis*, tj. část obrácená dolů směrem proti břišním orgánům, a *facies diafragmatica*, která je obrácená vzhůru k bránici. Vzhledem k tomu, že se jedná o orgán relativně těžký, je třeba zmínit jeho fixační aparát. Mechanismy fixace jsou: závěs v oblasti *v. cava inferior*, srůst s bránicí v oblasti *area nuda*, podpora okolních orgánů, na něž naléhají, a konečně pevné *ligamentum teres hepatis*. Další význam pro fixaci má atmosférický tlak, proto ostatní peritoneální duplikatury mají jen omezenou důležitost (*lig. falciforme*, *ligg. coronaria*), jiný stav je při otevření dutiny břišní a vzniku vzduchu mezi bránicí a játra.



Obr.4 Játra – uložení převzato z National Institute of General Medical Sciences

10.2. Hepatocyt

Základní stavební jednotkou jater jsou hepatocyty (obr. 5), které představují 78 % objemu jater a 60 % všech buněk tohoto orgánu. Jedná se o epitelovou polyedrickou, jedno či dvojjadernou buňku o rozměrech cca 20-30 μm . Je to buňka s vysokou metabolickou aktivitou a s různými vlastnostmi, které má dle orientace v prostoru. Buňka obsahuje eosinofilní cytoplazmu, četné mitochondrie, drsné a hladké endoplazmatické retikulum. Tyto struktury mají velké množství funkcí, zejména metylaci, oxidaci a konjugaci k úpravě xenobiotik. Dále syntetizuje proteiny potřebné pro buňku, proteiny krevního séra (tj. albuminy, protrombiny, fibrinogeny, lipoproteiny aj.). V hrubých, elektrodenzních granulech buňka skladuje glykogen, který se vytváří nebo degraduje pro potřeby organismu. V neposlední řadě je důležitou funkcí sekrece žluči. Jaterní buňky jsou uspořádány do struktury jaterního lobulu (šestistranného).

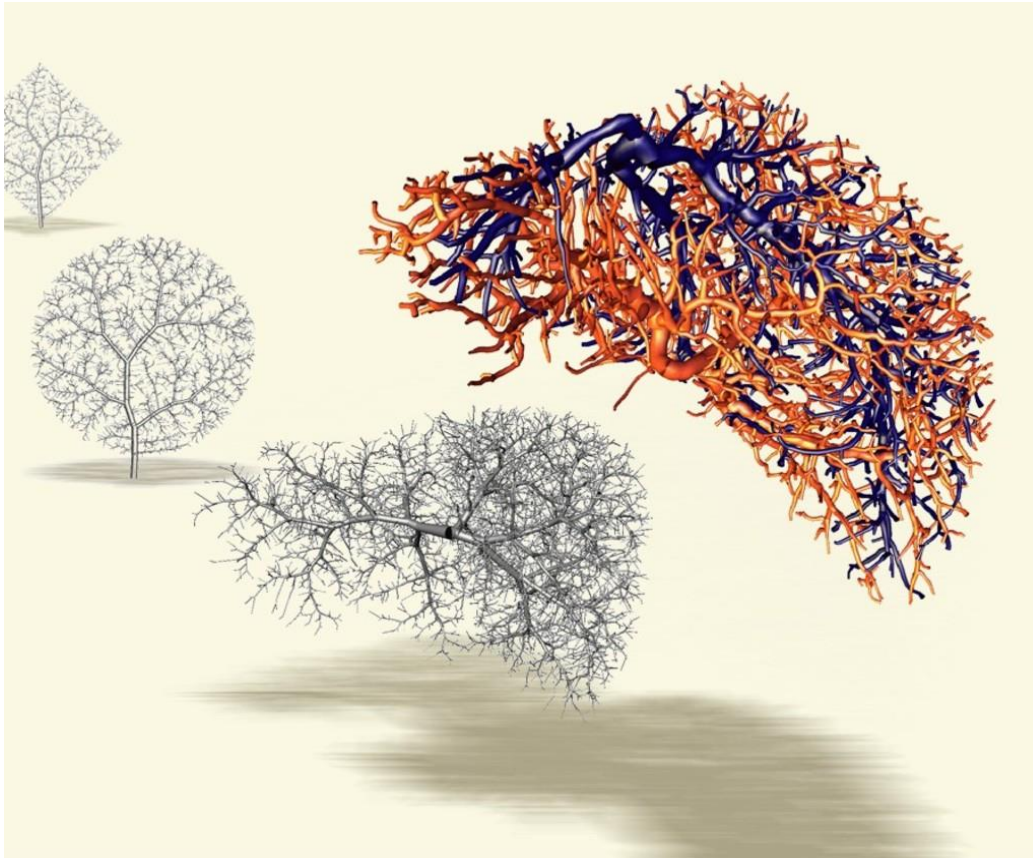


Obr.5 Hepatocyt – zvětšeno elektromovým mikroskopem převzato z National Institute of General Medical Sciences.

10.3. Cévní zásobení jater

Pro chirurga má zásadní význam cévní zásobení jater, které představuje velmi složitou cévní síť (obr. 7). Rozeznáváme dvě hlavní složky. První představuje funkční oběh, zde je krev bohatá na látky k metabolickému zpracování v jaterních buňkách, ten je reprezentován v. portae. Druhou je složka nutritivní, ta zajišťuje zásobení okysličenou arteriální krví cestou a. hepatica propria. Vena portae probíhá do jater cestou hepatoduodenálního ligamenta (uložena vzadu). Šíře této

tenkostěnné žíly je přibližně 15 mm. Je vytvořena větvemi žil odvádějícími krev z nepárových orgánů dutiny břišní (žaludku, střeva, pankreatu, sleziny). Vrátnicová žíla vede krev z drobných kapilár do velkého kmene a pak se opět, po vstupu do jater, rozpadá a končí v drobných jaterních kapilárách. Hovoříme o tzv. „portálním oběhu“. (obdobně např. u hypofýzy). Arteria hepatica propria je konečnou tepnou a. hepatica communis, ta odstupuje jako jedna ze tří větví z coeliackého trunku (vedle a. lienalis a a. gastrica sinistra). Do jater, stejně jako portální žíla, přichází cestou hepatoduodenálního ligamenta, uložena je vpředu a vlevo. Díky tomu, že krev přitékající portální žilou má ještě stále vysoký obsah kyslíku, je a. hepatica poměrně tenká, cca 4-6 mm v průměru. Vyživuje zejména žlučové cesty, stěny velkých žil a vazivo. Na výživě hepatocytů se podílí jen asi z 15-20 %. Její kompetní přerušení přesto způsobí nekrózu jaterní tkáně. Pro chirurga zůstává zajímavostí, že podvaz jen jedné z větví k nekrotám nevede. Po vstupu do porta hepatis se jak v. portae, tak a. hepatica dále větví a hlouběji do parenchymu jdou jejich jednotlivé větve. Samozřejmě existuje velké množství anatomických variet, z nichž je například časté tepenné zásobení levého laloku jater cestou levé gastrické tepny. Větve portální žíly a jaterní tepny pak prochází parenchymem společně se žlučovým systémem, mluvíme zde proto o tzv. jaterní triádě. Větvením vznikají a. a v. interlobulares, circumlobulares a nakonec vstupují do sinusoid. V centru jaterního lalůčku probíhá v. centralis, tou začíná odtokový systém jater. Venae centrales se spojují do v. sublobulares a ty dále do jaterních žil. Ty jsou zpravidla tři – pravá, střední a levá. Jaterní žíly po krátkém výstupu z jater ústí přímo do v. cava inferior. Venae hepaticae jsou pevně fixovány k jaternímu parenchymu tenkým vazivem (na řezu zejí). Posledními cévami, podílejícími se na zásobení jater, jsou krátké spojky jdoucí přímo do jater z dolní duté žíly. Bývá jich 4-6 a nejčastěji vedou do oblasti prvního jaterního segmentu. Toto zásobení se uplatňuje zejména u nemocných s vrozenou či získanou obstrukcí (trombóza, atrezie atd.) jaterních žil, kdy tyto spojky hypertrofují stejně jako celý segment a nahrazují chybějící odtok jaterními žilami. Regulace průtoku játry probíhá na úrovni nejmenších cév.

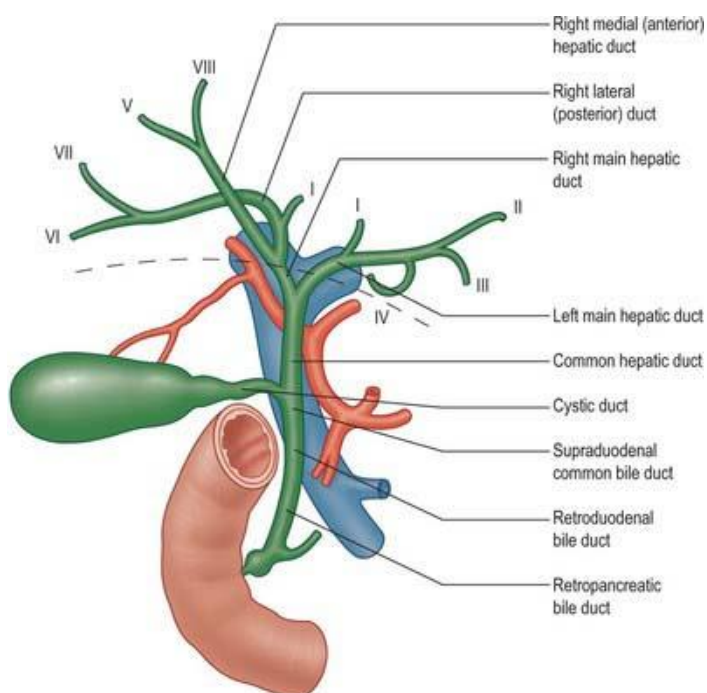


Obr.6 Schematické znázornění cévního systému jater převzato z European association for computer graphics

10.4. Žluč

Žluč je odváděna z jater žlučovými cestami (obr. 7), ty se dělí na intra a extrahepatální. Nitrojaterní žlučové cesty vznikají ze žlučových kapilár mezi buňkami. Zde ještě nemají ani vlastní stěnu, jsou ohraničeny jen stěnami okolních buněk (šířka je jen 1-2 μm). Dále pokračují jako intralobulární žlučovody, kde se žluč pohybuje od středu k periferii lobulu. Dále se pak stékají v Heringovy kanálky (ductuli biliferi), ty pak mají jako první výstelku, kterou tvoří nízký kubický epitel. Dále se vlévají do interlobulárních žlučovodů, ty už jsou uloženy v portobilárních prostorech a probíhají v jaterní triádě, tedy společně s portální žilou a hepatickou arterií. Následně se již dávají dohromady s ostatními a vytvářejí segmentální

žlučovody, které pak vtékají do žlučovodů pro pravý a levý jaterní lalok a ty se setkávají v oblasti porta hepatis, kde probíhají extrahepatálně. Extrahepatální žlučové cesty vznikají ze soutoku pravého (ramus anterior a posterior) a levého (z ramus medialis a lateralis) hepatického vývodu. Soutokem vzniká ductus hepaticus communis (délky 3-5 cm), probíhající v hepatoduodenálním ligamentu vpředu vpravo, v jeho průběhu se z pravé strany připojuje ductus cysticus a vzniká tak konečná část žlučových cest – ductus choledochus. Ten pak ústí v oblasti Vaterovy papily do duodena.



Obr.7 Žlučový strom převzato z Clinical gate

10.5. Lymfatická drenáž

Lymfatické cévy jater a žlučových cest přicházejí lymfatickými kapilárami z nitra jater, doprovázejí větve vrátnicové žíly a jaterní tepny. Vznikají v hustých sítích kolem jaterních lalůčků. Po výstupu z jater vstupují do mizních uzlin v porta hepatis (3-6 uzlin). Pokračují do dalších mizních uzlin kolem a. hepatica propria a a. hepatica communis, a dále do nodi coeliaci. Část mizního odtoku jde i podél vv.

hepaticae a dále podél v. cava interior skrz bránici do nodi lymphatici mediastinales posteriores. Menší množství lymfatických cév (z části diafragmatické plochy jater) odchází cestou ligamentum falciforme hepatis k bránici a skrze ni do uzlin frenických a parasternálních. Poslední nejméně významnou cestou jsou drobné lymfatické cévy, zajišťující lymfatický odtok ze zadní části diafragmatické plochy jater, jdoucí cestou ligamentum coronarium a area nuda do nodi phrenici.

10.6. Nervové zásobení

Nervový systém jater je tvořen sympatikem a parasympatikem. Přicházejí cestou podél arteria hepatica a vena portae a začínají v truncus coeliacus. Parasympatická vlákna přicházejí do coeliackého trunku cestou nervus vagus. Sympatikus jde cestou hrudní sympatické pleteně a jejích větví (nn. splanchnici), z těchto vláken v průběhu hepatoduodenálního ligamenta odstupuje silná nervová pleteň pro žlučník (plexus cysticus). V parenchymu jsou mezi vlákny sympatiku ještě vloženy gangliové buňky. Sympatikus podporuje odbourávání glykogenu a bílkovinných rezerv a parasympatikus jej tlumí. Naopak parasympatikus zvyšuje produkci žluči, urychluje stahy žlučníku a tlumí tonus m. sphincter ducti choledochi. Zpod serózy jater vybíhají kromě autonomního systému i vlákna senzitivní a vstupují do pravostranného n. phrenicus. To vysvětluje singultus (stahy bránice) při poranění či jiném závažném inzultu jater (velký jaterní absces, metastáza atd.) a projekci bolesti do pravého ramene (Kehrův příznak). Tento jev je jednoduše vysvětlitelný tím, že bránice i ramenní oblast mají senzitivní nervy ze stejného míšního segmentu.

10.7 – Možnosti metastazování do jater

Z anatomických poměrů vyplývají i možnosti metastazování kolorektálního nádoru do jater. Pokud budeme hovořit o hematogenním metastazování, pak u karcinomů,

kteře jsou na tlustém střevě lokalizované od céka až do oblasti horního rekta, je nejčastějším způsobem metastazování cesta v. portae (tzv. portální typ metastazování). Při lokalizaci tumoru kolon distálně se jedná o metastazování kaválního typu, kdy se nádor šířív do jaterního parenchymu, vzhledem k odtoku krve z nádoru cestou pánevních žil a dolní duté žíly, buď přímými spojkami, nebo cestou systémového oběhu. U těchto nemocných je pak logicky vyšší riziko vzniku plicních metastáz. Poslední možností metastazování je šíření do jater lymfogenně. To začíná nejdříve prostupem nádorových buněk do lymfatických cév. Pro možnost tohoto rozsevu jsou většinou již preformované lymfatické cévy, ale mohou to být i nově tvořené cévy (patologické). Nádorové buňky pak dosahují sinusů lymfatických uzlin. Z těchto sinů se mohou nádorové buňky rozšířit do dalšího lymfatického systému, který buď destruují, nebo se šířív dále centrálně. Při větším postižení pak migrují cestou velkých lymfatických kmenů, jako je např. ductus thoracicus a dostávají se tak do systémového oběhu. Po dosažení centrálního oběhu opět metastazují hematogenně (kavální typ) [24].

11. Regenerace jater

Regenerace jater je již od starověku literárně známou věcí. Na první prokazatelnou zmínku o regeneraci jater můžeme narazit již v řecké mytologii. Podle pověsti titán Prometheus, který byl nejen stvořitelem člověka, ale i jako první přinesl lidem maso a později i oheň, byl za dar ohně lidem potrestán bohem Diem. Jako trest nechal Promethea nejprve uvěznit v pohoří Kavkaz a následně přikovat ke skále čekající, kdy se Prométheus začne za svůj čin odprošovat. Prometheus se však neodprosíl, a tak za ním Zeus poslal orla či supa Ethona, který Prométheovi každý den vytrhl kus z jater. Ta mu pak do druhého dne vždy dorůstala. A tak to šlo po několik věků, než byl osvobozen. .

Přesuneme-li se zpět do přítomnosti, je důležité si uvědomit, že k jaterní regeneraci jsou zapotřebí tři základní složky. Jsou to funkční hepatocyty, stavební materiály a humorální faktory. Během regenerace hepatocyty pod vlivem

humorálních faktorů (priming nejspíše probíhá pod vlivem tumor necrosis factor alfa a interleukinu 6) přecházejí z G0 fáze do fáze G1. Nejprve je možno jejich aktivaci pozorovat v periportální zóně (do 24 hod) a během cca 48 hodin můžeme pozorovat regeneraci v celém jaterním lobulu. Naopak ukončení proliferace je spuštěno samotnými hepatocyty při dosažení dostatečné celkové funkční kapacity ve chvíli, kdy začnou produkovat TGFβ (transformující růstový faktor β) [9]. Mezi základní stavební materiály patří voda (60 %), dále velkou skupinu tvoří anorganické látky, zejména ionty Ca⁺⁺, H⁺, Na⁺, K⁺ (jen 4,3 %). Zbytek, tedy 35,7 % představují organické látky (proteiny – aminokyseliny, globuliny, albumin, fosfolipoproteiny, lipidy a glycidy, esenciální složky typu nukleotidů atd.).

Regeneraci, v moderním pojetí popsal již v roce 1920 Rous [39]. Ten si všiml dnes již jasného, ale zásadního hlavního zásobení jater pomocí portální žíly a předpokládal vliv hepatotropních substancí. Jaterní regenerace probíhá ve dvou fázích. První fáze začíná velmi rychle po jakémkoliv zásahu do jaterního parenchymu, již během několika hodin (72 hod. až do 10 dnů). Během tohoto času po jaterním inzultu (operace, resekce, trauma, atd.) proběhne většina změn na úrovni buněk (rozdělení a růst buněk, sekrece mediátorů, atd.). Druhá fáze již probíhá spíše v rámci týdnů a měsíců. Jde o komplexní přestavbu jaterního parenchymu s obnovením původní velikosti, architektiky a hmotnosti jater. Jde o remodelaci sinusoid, doplnění počtu ostatních buněk a obnovení imunitní funkce jater. Druhá fáze je dokončena během 6-12 týdnů. Vše závisí na velikosti a charakteru inzultu, tím může být nejen úraz, ale i malá operace. Nejlépe je zvládnáno malé trauma a naopak nejhůře rozsáhlé difuzní toxické postižení. Čím je horší výchozí stav jater (steatohepatitis, fibróza, cirhóza, atd.), tím regenerace trvá samozřejmě déle a někdy i může selhat.

Pro jaterní regeneraci jsou, jak bylo výše uvedeno, též zásadní humorální faktory. V současné literatuře je pojednáváno o růstových faktorech a interleukinech zejména během jaterní regenerace v souvislosti s jaterní resekcí či velkým traumatem [23,24,25]. Velkou skupinou látek spadajících do této skupiny jsou interleukiny. Jedná se o proteiny rozdělené do několika skupin. Jejich funkce není

jen prozánětlivá (IL 1, IL 2), některé naopak mají i úlohu v tlumení zánětlivé odpovědi (IL 10). Původně se předpokládalo, že tuto skupinu látek produkují jen leukocyty, ale později bylo prokázáno, že mohou být produkovány celou řadou dalších buněk (epitelové a dendritické buňky, endotelie, atd.). V jaterní regeneraci jsou přednostně uváděny zejména IL 2, IL 6, IL 8 a nejsilnější tlumivý interleukin - IL 10. Např. IL 6 je mitogenem akutní fáze, zahajuje regeneraci. Je produkován Kupfferovými buňkami a jde o přímý mitogen pro biliární buňky [45].

Další velkou skupinu představují růstové faktory. Ty je třeba zmínit podrobněji, neboť právě ony hrají zásadní roli jak ve spuštění procesu regenerace, tak v jeho ukončení. První z nich s typickým názvem – jaterní růstový faktor neboli růstový faktor pro hepatocyty (HGF) - se kromě jater vyskytuje i v jiných tkáních (plíce, slezina, mozek). Jeho hladina během regenerace jater narůstá již po třech hodinách, může se zvýšit až na 10-20ti násobek normální hladiny. Je hlavním iniciátorem jaterní regenerace a působí přímo na hepatocyty, indukuje většinu dějů během jaterní regenerace. Způsobuje aktivaci hepatocytů, zejména jejich mitotickou aktivitu a klonální expresi. Receptorem pro HGF je cMet. Je prokázáno, že při chybění tohoto receptoru je regenerace zpomalena až zastavena. Produkce HGF je stimulována IL6 a norepinefrinem.

Tumor nekrotizující faktor (TNF) je produkován jaterními makrofágy (Kupfferovými buňkami), má velkou variabilitu funkcí, které záleží na prostředí a cestě aktivace. Je prokázáno, že pokud jsou zvýšeny protilátky proti TNF, zpomalí se i jaterní regenerace. Svým působením indukuje například receptor pro epidermální růstový faktor (EGFR), není tedy přímým mitogenem. Tumor nekrotizující faktor alfa je důležitým aktivátorem mitózy i pro ostatní jaterní buňky (biliární, endoteliální, aj.). Jeho hladina stoupá za 2-3 hodiny po poranění a přetrvává cca 48 hod.

S jaterním poškozením je často spojován i epidermální růstový faktor. Samotný epidermální růstový faktor (EGF) je produkován Brunnerovými buňkami (duodenum) a je silným mitogenem pro hepatocyty. Receptor je aktivován již např. 30 minut po resekcii.

Insulin-like růstový faktor (IGF) je protein podobný insulinové molekule, váže se na proteiny krevní plazmy. Stimuluje tyrosinkinázu, čímž podporuje diferenciaci a dělení buněk. Místem jeho tvorby jsou zejména játra.

Z ostatních humorálních faktorů zesilujících regeneraci můžeme ještě zmínit heparin vázající EGF. Norepinefrin je neurotransmiterem v autonomním nervovém systému. Zesiluje působení HGF, EGF a zvyšuje efekt DNA syntetázy v hepatocytech. Serotonin je biogenní amin, který se nachází v mnoha tkáních (GIT, CNS, krevní destičky), jedná se o nepřímý mitogen, stejně jako amphiregulin a další. Například po resekci se zvyšuje i hladina žlučových kyselin, při depleci těchto látek bylo v terénu klinického experimentu pozorováno zpomalení regenerace.

Matrix-metaloproteinázy jsou skupinou zinek-dependentních endopeptidáz. Nejedná se v pravém slova smyslu o růstové faktory, ale jsou známy jako látky, které hrají zásadní roli v proliferaci, migraci, diferenciaci, angiogenezi a dalších procesech buněk. V současné době je známo 28 skupin. Většina z nich je produkována v inaktivním stavu a je třeba dalšího „spouštěče“ pro jejich funkčnost. V procesu jaterní regenerace se uplatňují spíše v pozdější fázi, kde podporují angiogenezi a mikropřestavbu parenchymu.

Je důležité si uvědomit, že jaterní regenerace je komplexním procesem, na kterém se podílí velké množství cytokinů, růstových faktorů a metabolitů. Ztráta funkce jednoho faktoru proto jen zcela výjimečně vede k úplnému zastavení regenerace, spíše jen regeneraci zpomalí.

12. Kmenové buňky

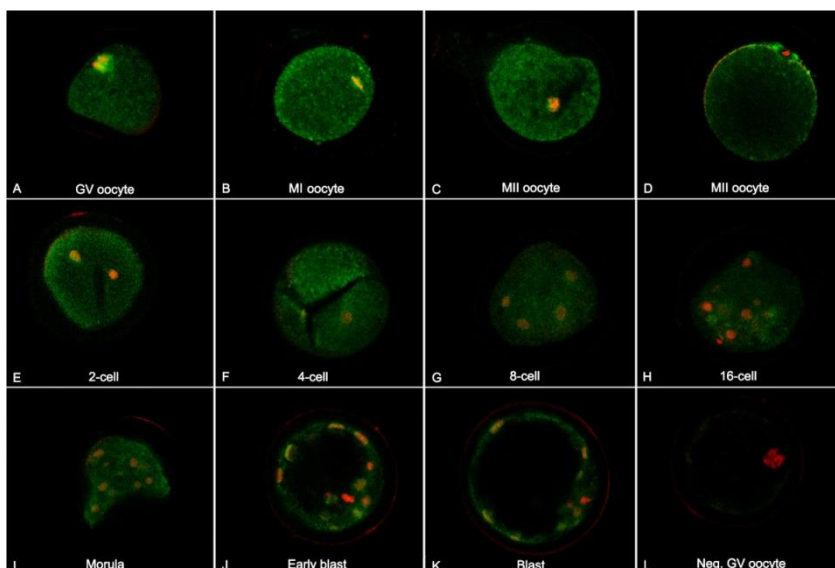
První použití termínu kmenové buňky je připisováno ruskému histologovi Alexandru Maksimovi, který tento výraz použil na Berlínské konferenci v roce 1908. V roce 1978 byly objeveny hematopoetické kmenové buňky v pupečnickové krvi. A v roce 1981 profesor Evans publikoval práci o myších embryonálních

kmenových buňkách. Trvalo však skoro ještě dalších 20 let, do roku 1998, než prof. Thomson a jeho tým úspěšně izolovali lidské kmenové buňky. V roce 2007 získal profesor Evans za svůj výzkum v oblasti kmenových buněk Nobelovu cenu za medicínu.

Co je to vlastně kmenová buňka (KB)?

KB jsou nediferencované buňky, které se mohou diferencovat ve specializované buňky, ale také se mohou dělit (pomocí mitózy) a tvořit tak další a další kmenové buňky. Rozlišujeme dva hlavní typy. Prvním jsou embryonální kmenové buňky, ty jsou odvozeny od vnitřní vrstvy buněk blastocysty. Druhou skupinou jsou pak dospělé (adultní) kmenové buňky, které se nacházejí v jednotlivých tkáních lidského organismu. Jejich hlavní funkcí je náhrada starých poškozených buněk.

Embryonální kmenové buňky jsou buňky, které můžeme získat z rané embryonální fáze (4. - 5. den), kterou nazýváme blastocysta (obr. 8). Tyto buňky jsou pluripotentní, jsou schopny se dělit do mnoha buněčných typů s výjimkou trofoblastu. K dělení potřebují velmi speciální prostředí. Pokud nemají optimální prostředí, velmi rychle diferencují v jednotlivé buněčné linie a ztrácejí schopnost pluripotence. Proto jejich podání do cizího organismu je spojeno s velkým rizikem vzniku nádorového bujení (teratomy). Z tohoto důvodu byla jejich medicínská aplikace, vzhledem k jejich nekontrolovanému dělení, ve výzkumných projektech zastavena. Malou skupinou jsou ještě fetální embryonální buňky, které již nemají vlastnost nekonečného dělení, ale zachovávají si možnost multipotence. Pro vědecké účely se z etických důvodů nepoužívají.



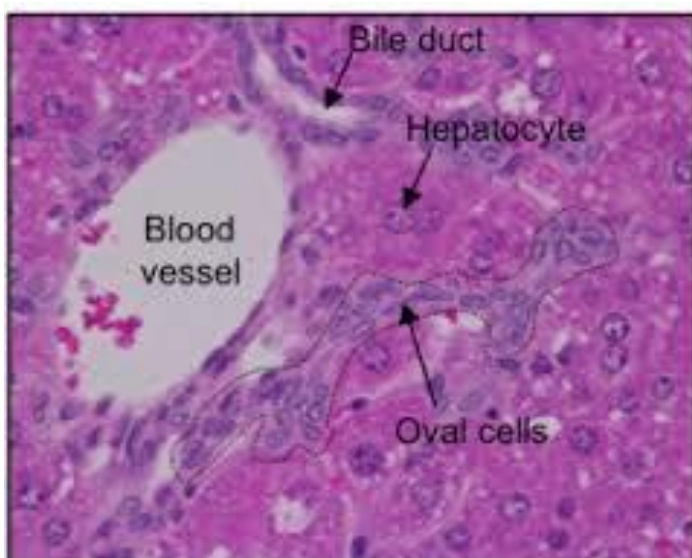
Obr.8 Vývoj od splynutí oocyty a spermie k blastocystě převzato z Biomedcentral

Adultní kmenové buňky jsou též nediferencované buňky, které ale můžeme najít v dospělých tkáních, jejich funkcí je náhrada poškozených a „starých“ buněk a regenerace při poškození tkáně. Rozeznáváme několik typů. Největší skupinou jsou hematopoetické kmenové buňky. Ty jsou odvozeny od mezodermu a vznikají z nich všechny krevní buňky. Jsou uloženy v červené kostní dřeni (pánev, sternum, femur), malé procento z nich se pak nachází i v periferní krvi. Je prokázáno, že za speciálních podmínek mohou nidovat i v ostatních tkáních a transdiferencovat v jiné než krvevorné buňky.

Mamární kmenové buňky jsou buňky, které jsou zdrojem buněk pro růst prsní žlázy během puberty a gestace, hrají též důležitou roli v kancerogenezi prsní žlázy. Bylo pozorováno, že mohou za vznik všech buněčných linií mléčné žlázy a v experimentu u myši jsou schopny zregenerovat žlázu po traumatu. Intestinální KB se během celého života člověka starají o obnovu buněk tlustého i tenkého střeva, poruchy jejich funkce jsou nejčastějším důvodem vzniku nádoru ve střevě. Mezenchymální kmenové buňky jsou multipotentní buňky, které se mohou diferencovat do různých buněčných linií (adipocyty, chondrocyty, osteoblasty, atd.), nacházejí se opět v kostní dřeni, kde jich je přibližně 10x méně než buněk hematopoetických, vyskytují se i v tukové tkáni a u novorozence v pupečnickové

krvi. Tyto buňky jsou využívány u mnoha systémových onemocnění. Kromě možnosti transdiferenciace působí zejména imunomodulačním efektem. Neurální kmenové buňky jsou též multipotentní buňky schopné vytvářet všechny buněčné typy s fenotypem nervového systému. Záleží zejména na prostředí, v jaký buněčný typ se rozdělí (astrocyty, neurony, oligodendrocyty). Jejich možné využití je zejména v léčbě degenerativních onemocnění, kde stimulují neurální regeneraci procesy neuroprotektce a imunomodulace. Ve studiích se používají pro léčbu Parkinsonovy nemoci, Huntingtonovy nemoci a roztroušené sklerózy. Jejich podání je též zkoušeno u nemocných s traumatickým poškozením mozku. Zde, pokud jsou aplikovány intracerebrálně, mohou migrovat do poraněné tkáně a diferencovat v oligodendrocyty či neurony a produkovat neuroprotektivní látky, čímž mohou zabránit další progresi postižení mozku. Mezi dospělé KB můžeme počítat i endoteliální, čichové, testikulární a další buňky.

V jaterní tkáni, která je jediná schopná sebeobnovy (pokud zůstane alespoň 25 % zdravé tkáně), se vyskytují zvláštní bipotencionální kmenové buňky. Ty nazýváme „oval cells“ (oválné buňky) dle jejich tvaru (obr. 9). Ty do infarktu „odpočívají“ v klidové formě v blízkosti Heringových kanálků. Při jaterním poškození právě ony jako první reagují. Mohou se dle potřeby diferencovat jak v hepatocyty, tak v cholangiocyty.



Obr.9 Oválné buňky.

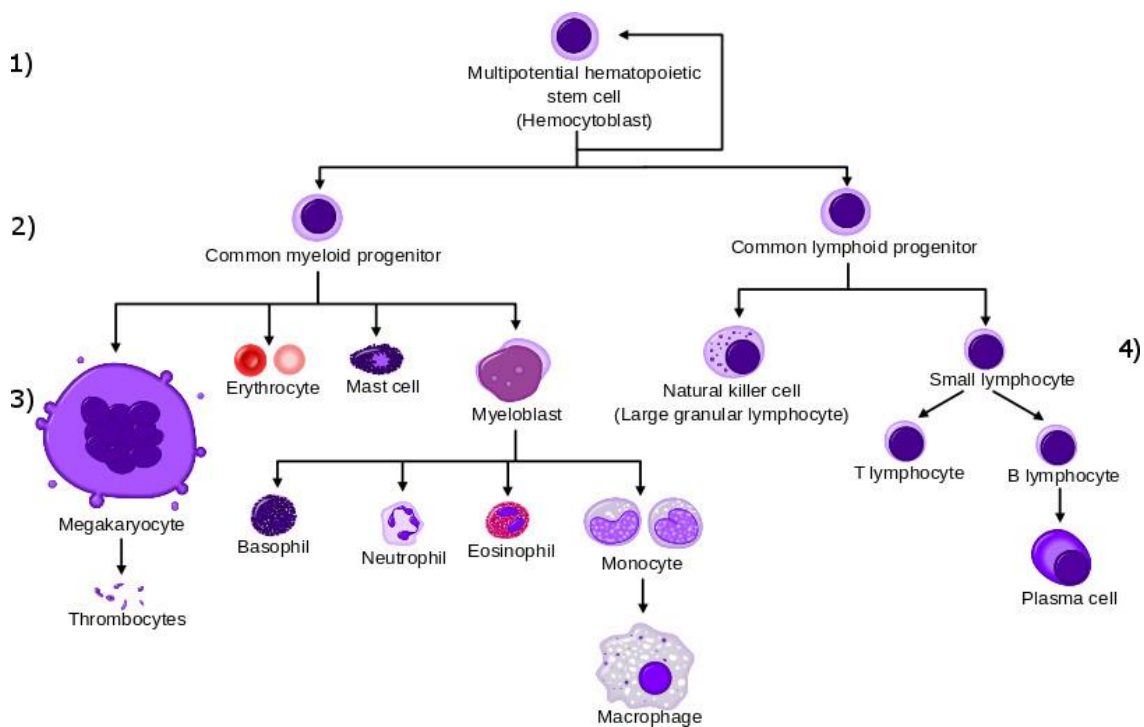
KB lze získat několika způsoby. Fetální kmenové buňky je možno odebrat přímo z pupečnickové krve (omezené množství), jedná se o další z pluripotentních buněk. Tyto buňky s velkou schopností k dělení lze získat v i dospělosti, například experimentálně odvodit ze stále regenerujících buněk kůže.

Ostatní, tj. adultní (dospělé) kmenové buňky, které jsou již více zralými liniemi (multipotentní), lze získat ze tkání, kde vznikají (mezenchymální, tukové, intestinální, atd.).

Právě objev lidských kmenových buněk v roce 1998 byl spojen s velkou nadějí v náhradě funkcí jednotlivých tkání a orgánů. V současné době se snaží klinická a výzkumná pracoviště po celém světě o jejich využití v oblasti regenerativní medicíny. Cílem je přenést do klinické praxe jejich využití zejména pro zlepšení funkce srdce, jater, mozku, míchy, atd. Největší potenciál by mohly mít pluripotentní buňky schopné se diferencovat do všech buněčných linií. Za buňky tohoto typu lze považovat embryonální a indukované pluripotentní kmenové buňky. Bohužel obě skupiny jsou spojeny s vysokým rizikem vzniku teratomů (viz výše) v organismu, stejně jako je jejich použití diskutováno z etického hlediska. Proto se pro klinické použití hledají jiné, více diferencované buňky. Za ty považujeme například hematopoetické progenitorové a mezenchymální buňky získané z kostní dřeně, buňky z mobilizované periferní krve či z tukové tkáně. V klinických studiích se ukazuje, že i přes to, že část těchto buněk přímo transdiferencuje (většinou 3-6 %), je tato přeměna vzácná a ne příliš významná, zdaleka nemůže přímo vysvětlit zlepšení funkce orgánu. Jako hlavní přínos kmenových buněk se proto vysvětluje jejich parakrinní efekt, který je způsoben růstovými faktory, cytokiny, chemokiny, bioaktivními lipidy a extracelulárními mikrosomami, které se po aplikaci z těchto buněk uvolňují a mají trofický, antiapoptotický, angiopoetický a další efekty [33]. Je tedy prokázáno, že v indikovaných případech aplikace kmenových buněk podporuje různými mechanismy regeneraci tkání poškozených degenerativními či civilizačními onemocněními. Možnost zlepšení regeneračních schopností jaterního

parenchymu byla již opakovaně prokázána několika nezávislými studiemi, a to zejména u vrozených onemocnění [35].

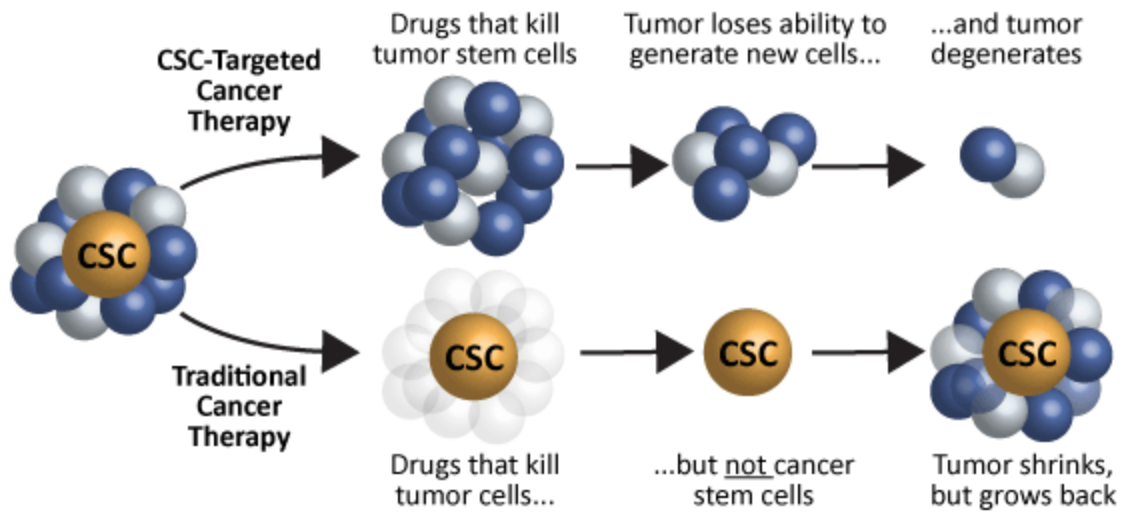
Pro naše potřeby využíváme hematopoetické progenitorové (obr. 10) a mezenchymální buňky. Jde tedy o výše uvedené adultní kmenové buňky. Po souhlasu etické komise a nemocného je získáváme přímým odběrem z kostní dřeně (z lopaty kosti kyčelní) nebo méně invazivním způsobem po stimulaci granulocyty stimulujícím faktorem (GSF) aferézou z periferní krve. Tyto kmenové buňky nesou povrchové faktory CD 133+ a CD 34+.



Obr.10 Transdiferenciace hematopoetických progenitorových buněk převzato z Weissman & Shizuru.

.Aby byl přehled ucelený, je nutné se ještě zmínit o nádorových kmenových buňkách (NKB) (obr. 11). Tyto buňky mají schopnost vytvářet všechny buněčné

typy daného nádorového onemocnění. Zachovávají si i schopnost seboobnovy a diferenciací. Jsou proto považovány za původce relapsu a metastazování daného maligního onemocnění. U NKB zatím není zjištěno, co vede k jejich přeměně z normálních kmenových buněk v buňky schopné kancerogeneze. Právě vlivem nádorových kmenových buněk může být vysvětlena heterogenita metastáz oproti původnímu nádoru, kdy po nidaci NKB v jiné tkáni, za jiných podmínek, může vzniknout heterogenní buněčná linie původního nádoru. Jako první byly objeveny nádorové kmenové buňky u leukemie (akutní myeloidní) v roce 1997, následně pak i u solidních maligních nádorů – prsu, tlustého střeva, mozku, ovarií, melanomu, prostaty, atd. Znalost linie NKB by mohla být užitečná pro léčbu zejména pokročilých, nerezekabilních maligních nádorů, neboť cílená terapie na nádorové kmenové buňky by mohla přerušit vytváření nových nádorových linií a bez jejich vzniku by ostatní nádorové buňky mohly diferencovat a odumřít. Předmětem současných výzkumů je proto identifikovat specifické povrchové markery u jednotlivých typů NKB. Příkladem může být objev Salinomycinu v roce 2009, který ve studii u myši snižuje procento nádorových buněk (karcinomu prsu) stonásobně ve srovnání s klasickou chemoterapií (paclitaxel) [13]. Proto bude jistě v budoucnosti zajímavé sledovat další výzkumy v této skupině kmenových buněk, protože právě cílená terapie by mohla být lékem na pokročilé maligní nádory [25].



Obr.11 Schopnosti nádorových kmenových buněk. převzato z Agingsciences

II. Metastázy kolorektálního karcinomu

13. Současné možnosti zobrazení metastáz kolorektálního karcinomu

Diagnostika ložiskového postižení jater je v současné době běžně dostupná ve všech onkochirurgických centrech. Zobrazovací metody nám mohou poskytnout důležité informace o charakteru a uložení ložisek. Standardem je vyšetření počítačovou tomografií (computer tomography - CT). Není vždy ale suverénní metodou. Je třeba vždy provádět vyšetření s cílem zodpovědět nějakou otázku. Ať už o uložení či velikosti ložisek nebo jejich charakteru. Ani dnes se nelze, přes dokonalost metod, plně spolehnout na jejich nález. Vždy je třeba počítat s možnou chybou nebo nedokonalostí.

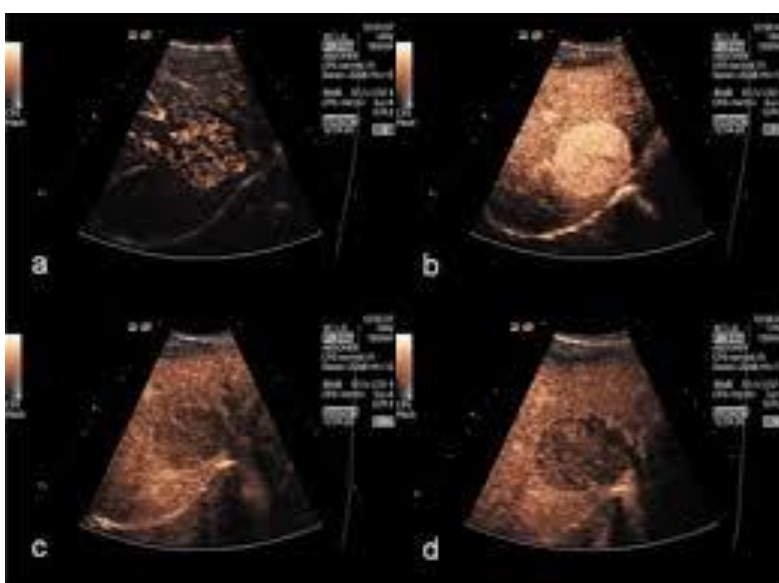
13.1 Sonografie

Nejběžnější a nejlépe dostupnou metodou je ultrasonografie (USG). Při dobré zkušenosti vyšetřujícího nám může poskytnout velmi dobrý obraz jaterního postižení. V algoritmu vyšetření je často indikována jako první vyšetřovací metoda. Zásadní je její neinvazivita, snadná dostupnost, rychlost a v neposlední řadě nízká cena. Na běžné vyšetření se používá konvexní sonda (2-4 MHz). Jaterní parenchym hodnotíme nejprve v B-modu (obr. 12). Sleduje se velikost orgánu, echogenita, textura a pátrá se po ložiskových změnách. Základní patologické nálezy jsou děleny na difúzní a ložiskové. Difúzní změny mohou být dány jen změnou velikosti a echogenity, vedle benigních lézí může jít o závažné maligní nálezy. U ložiskových lézí pak musíme rozlišit benigní nálezy (cysta, absces, hemangiom, atd.) od maligních diagnóz (hepato a cholangiocelulární karcinom, sekundární nádory). Zásadní jsou pro nás nálezy metastáz kolorektálního karcinomu, ty jsou většinou hypoechogenní, ale můžou být i hyperechogenní a

způsobovat diagnostické obtíže. Pomoci nám může kontrastní sonografie (CEUS) (obr.13). Jde o USG v kombinaci s podáním speciální echokontrastní látky. Jedná se o suspenzi mikrobublin fluoridu sírového o velikosti 2-8 μm . Tyto bubliny slouží jako odražeče ultrazvukového signálu, nevstřebávají se v organismu a jsou do několika minut vyloučeny plícemi. Díky kontrastní sonografii můžeme sledovat prokrvení ložisek a hodnotit je jak v arteriální (do 30 sekund po aplikaci), tak ve venózní fázi (40-90 sekund po aplikaci), kdy se zobrazující zejména hypovaskularizovaná ložiska charakteru metastáz, a dále i v pozdní fázi, která nastupuje po 2. minutě po aplikaci a je signifikantní právě pro metastázy kolorektální karcinomu. Peroperační sonografie je nutností na všech pracovištích jaterní chirurgie. Musíme si uvědomit, že zobrazení jaterního parenchymu během operace je kvalitnější, než zobrazení perkutánní a umožňuje upřesnit počet a uložení ložisek, dokonce minimálně ve 20 % upřesňuje nález na CT. Je tedy patrně dnes nejpřesnější metodou pro malé léze. Provádí se z otevřeného či laparoskopického přístupu. K intraoperační sonografii se používají speciální vysokofrekvenční sondy 5-10 MHz. Výhodou CEUS je nulová alergická reakce na kontrastní látku. Nevýhodou je použití pouze u nemocných starších 18ti let věku.



Obr.12 USG obraz metastáz kolorektálního karcinomu.



Obr.13 Obraz jaterní metastázy při kontrastní sonografii (a – normální USG obraz, b – arteriální fáze, c - venózní fáze, d – pozdní fáze).

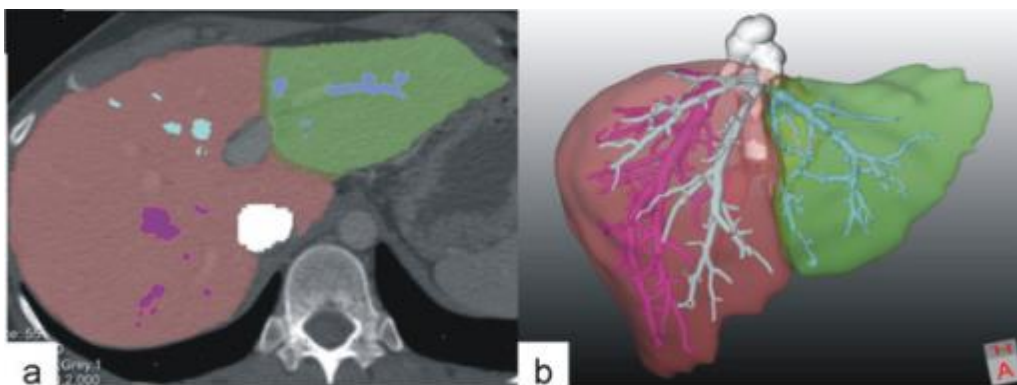
13.2 Počítačová tomografie

Počítačová tomografie (CT) je nyní druhou hlavní zobrazovací metodou k diagnostice jaterních postižení. Dnes se jedná o široce rozšířenou a dobře dostupnou metodu, která má při ložiskovém postižení jater nejen vysokou senzitivitu, ale i specifitu. Zcela zásadní je vyšetření jater po intravenózním podání jodové kontrastní látky. Rozlišujeme arteriální fázi, kdy dochází k sycení parenchymu cestou arteria hepatica. Tato fáze nastupuje 20 sekund po podání. Portální fáze (obr. 14), kdy jsou játra barveny cestou portální žíly, nastupuje kolem 40 sekund a maximálního sycení parenchymu dochází kolem 65. sekundy. Fáze ekvilibria nastává po 3 minutách a pozdní fáze charakterizovaná zřetelným poklesem denzity jaterního parenchymu nastává za cca 10 minut. Pro zobrazení ložiskového postižení jater je nejdůležitější právě fáze portální. Výhodou je možnost rekonstrukcí pomocí CT, což můžeme použít i k objemové analýze, tzv. CT-volumetrii (obr. 15). Tu lze využít při plánování jaterní resekce na základě zbytkového objemu jaterního parenchymu (FLRV) při větších a zejména hraničních resekcích. Pro CLM je typické metastazování cestou portální žíly. Tyto metastázy jsou pak v CT obraze hypovaskularizované, v arteriální i portální fázi se tedy jeví hypodenzní. V portální fázi může být přítomen jen nárůst denzity periferie metastázy. Výjimku tvoří nádory distálního rekta a anu. Ty metastazují dle známého cévního zásobení cestou velkého oběhu (viz výše). Pro diagnostiku a sledování nemocných po jaterních resekcích i jiných zákrocích na parenchymu je proto důležité vyšetření v arteriální i portální fázi. Senzitivita vyšetření je velmi dobrá při velikosti ložisek nad 5 mm. Detekovatelné mohou být i metastázy při velikosti kolem 3 mm při dobré přehlednosti parenchymu. Při posuzování ložisek po ablačních výkonech je zásadní hodnocení do 48 hod po výkonu. Následně se kolem ložiska vytvoří hyperechogenní lem, který může být zaměněn za okrsek non-ablace. CT vyšetření je tedy zásadní vyšetřovací metodou, nelze se však na něj vždy zcela spolehnout, zejména u jaterního parenchymu postiženého dalším

onemocněním (cirhóza, steatohepatitis, atd.) a u lézí < 5 mm v průměru. Limitujícím faktorem je alergie na jodovou kontrastní látku a závažné postižení ledvinných funkcí.



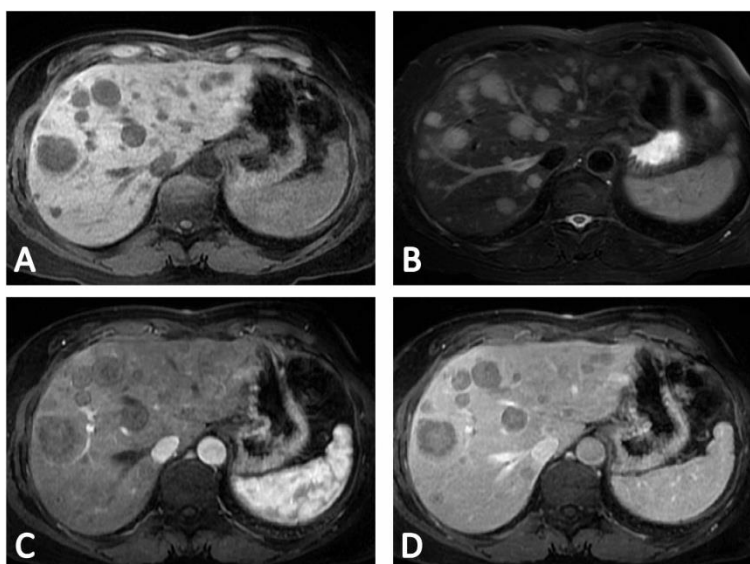
Obr.14 CT obraz jaterních metastáz kolorektálního karcinomu v portální fázi.



Obr. 15 CT volumetrie (a – obraz v axiální rovině, b – 3D zobrazení).

13.3 Magnetická rezonance

Magnetická rezonance (MR) je neinvazivní metodou, která využívá změn chování protonových jader v silném magnetickém poli. Význam MR spočívá zejména ve vyšším kontrastu měkkých tkání, je tedy citlivější v oblasti tkáňové specifikace jaterních lézí. Základními sekvencemi pro vyšetřování jsou sekvence spin-echo T1 a fast spin-echo T2. Mimořádný význam při vyšetřování jater magnetickou rezonancí má podání specifické kontrastní látky. Kromě běžných kontrastních látek obsahujících gadolinium s vazbou na extracelulární tekutinu se mohou používat i látky specifické pro dané tkáně. Hepatospecifické jsou kontrastní látky obsahující cheláty gadolinia (např. kyselina gadoxetová), kde podíl sekrece do žluče představuje až 50 %, z novějších jsou to kontrastní látky obsahující mangan. U magnetické rezonance po podání specifické kontrastní látky v T1 vážených sekvencích (obr. 16) můžeme sledovat arteriální, portální a intersticiální fázi. Magnetická rezonance je vhodná při nejasnostech typu rozlišení benigních lézí od maligních, k upřesnění počtu ložisek, a díky možnosti dobrého zobrazení žlučového stromu ke sledování vztahu metastatických ložisek ke žlučovým cestám.



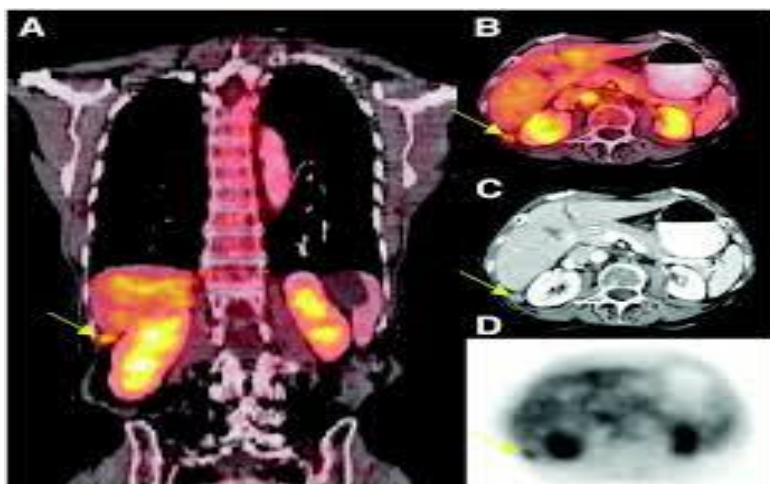
Obr.16 Možnosti MR zobrazení jaterních metastáz kolorektálního karcinomu a - T1 fáze, b - T2 fáze, c - arteriální fáze, d - venózní fáze

13.4 PET - CT

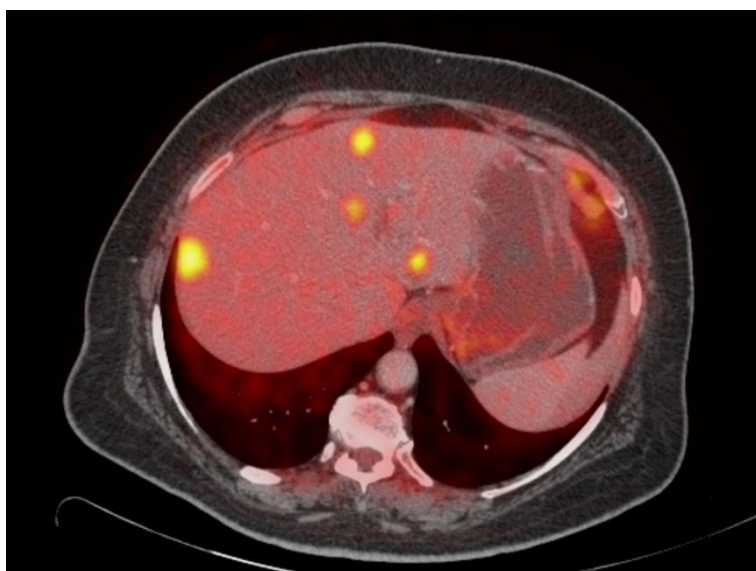
Pro odhalení možných mimojaterních metastáz je v současné době metodou volby před indikací nemocných s CLM k jaterním resekčním hybridní PET-CT. Jde o kombinaci dvou zobrazení, jednak pozitronové emisní tomografie (PET), jednak běžného CT. Lze používat různé metabolity, ale pro běžné zobrazení ložisek kolorektálního karcinomu se využívá značení 6-fluorodeoxyglukózou. Jde o látku, která vstupuje do procesu oxidativní glykolýzy, ale vzhledem k deficitu glukózo-6-fosfatázy v buňkách kolorektálního karcinomu dochází k jejímu zadržování v ložiscích nádoru. Nevýhodou PET-CT je jeho horší prostorové zobrazení díky 3 či 5 mm řezům (obr. 17), navíc je omezeno jeho použití při diabetu nemocného, protože výsledky jsou zkresleny již při glykémii nad 10 mmol/l. V naší studii všichni nemocní před úvahou o zařazení do studie vždy absolvují celotělové PET-CT, jednak k potvrzení jaterních ložisek (obr. 18.), zejména ale k vyloučení extrahepatálního šíření kolorektálního karcinomu. [47].

Problémem i přes moderní přístrojové vybavení je, že i moderní počítačová tomografie má asi jen 70-80 % senzitivitu pro CLM a k upřesnění nálezu často

definitivně vede až peroperační nález. Proto v některých západních zemích je před indikací k resekci standardem kombinace perfuzního či vícefázového CT jater a PET-CT. Zejména důležité je u nemocných po protražované léčbě chemo- či bioterapií, kdy metastázy na samotném PET-CT nemusí akumulovat fluorodeoxyglukózu a mohou být viditelné jen při porovnání výsledku dvou vyšetření /42/.



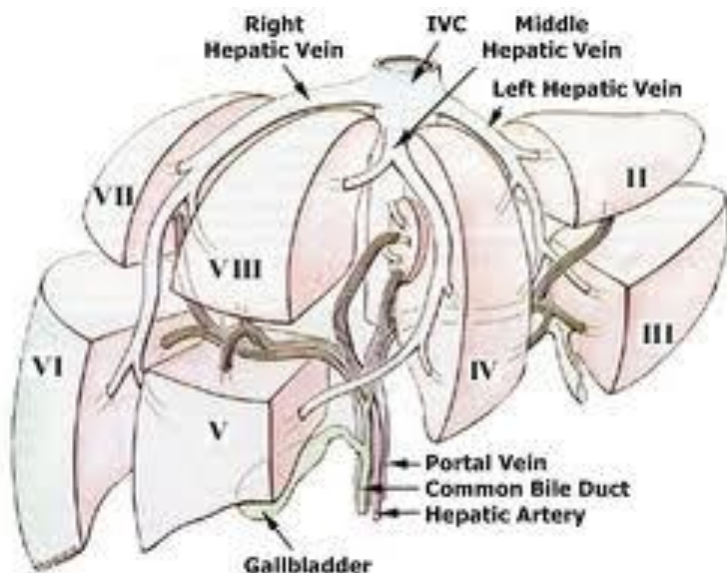
Obr. 17 Možnosti zobrazení PET-CT (a – hybridní zobrazení, koronární rovina, b - hybridní zobrazení, axiální rovina, c – CT obraz, d – obraz scintigrafický).



Obr. 18 Zobrazení metastáz kolorektálního karcinomu v játrech pomocí PET-CT.

14. Současné možnosti chirurgické léčby CLM

Současná léčba CLM využívá objevu funkční anatomie jater. Hlavními osobnostmi jaterní chirurgie byli Couinaud, který publikoval výsledky v roce 1957, Ton That Tung, ten představil svůj soubor v roce 1962, a nesmíme zapomenout na Bismutha, který popsal další techniky resekcí v roce 1982. Funkční, neboli chirurgická anatomie jater je založena na detailní znalosti dělení jednotlivých struktur jaterních. Nikdy nesmíme zapomínat na anatomické variety a funkční aspekty. Prvním chirurgem, který použil termín funkční anatomie jater, byl Cantlie v roce 1898, ale až popis, který publikoval Couinaud spolu se svými spolupracovníky (Goldsmith, Woodburne), přinesl první komplexní pohled na danou problematiku. Jako první pojmenoval osm segmentů jaterních, ty jsou číslovány po směru hodinových ručiček z přední strany jater, číslo 1 má lobus caudatus (obr. 19).



Obr. 19 - Jaterní segmenty - převzato z Segmental anatomy images.

Další důležitou osobou jaterní chirurgie byl Pringle, který jako první v roce 1908 popsal okluzi hepatoduodenálního ligamenta pro omezení krvácení při traumatu jater, což jaterní chirurgové v současnosti stále využívají, ale kromě traumatu je dnes jeho manévr spíše využíván ke snížení krvácení během jaterní resekce. U zdravých necirhotických jater se používají intervaly uzavření hepatoduodenálního ligamenta trvající 20 minut a pětiminutové obnovení průtoku. Čím jsou játra více poškozena cirhózou nebo jiným difúzním onemocněním, tím se vhodný interval zkracuje.

Jaterní resekce můžeme rozdělit do dvou skupin. První jsou typické anatomické hepatektomie, které zachovávají anatomické členění jater. Druhou skupinou jsou atypické, neboli neanatomické hepatektomie, jde o výkony nerespektující funkční dělení jater, můžeme je označit jako parenchym šetřící. Pravostranná hepatektomie znamená odstranění 5., 6., 7. a 8. segmentu, levostranná hepatektomie představuje odstranění 2., 3. a 4. segmentu. Pokud je pravostranná hepatektomie rozšířena o 4. segment, hovoříme o pravostranné rozšířené hepatektomii, obdobně pokud rozšíříme levostrannou hepatektomii o některý z dalších segmentů (1., 5.) je pak definována jako rozšířená levostranná hepatektomie. Při resekci segmentu 2. a 3. jde o levostrannou lobektomii. Jak pravostranná, tak levostranná hepatektomie i lobektomie mohou být rozšířeny o segment číslo jedna. Při menších výkonech mluvíme o segmentektomiích, pokud je odstraněn anatomicky pouze jeden segment. Mohou se provádět též bi- či trisegmentektomie. U kolorektálního karcinomu se snažíme provádět co nejmenší výkony (tzv. parenchym šetřící resekce) (obr. 20), proto jde především o resekce neanatomické, ať již metastazektomie či různé typy klínovitých resekcí [11].



Obr. 20 Parenchym šetřící resekce jater.

Možností, jak začít velkou resekci jater, je několik. Při větších hepatektomiích se využívá následujících principů. První z nich je metoda primárního zajištění cév jaterního hilu, kdy jsou nejprve vypreparovány cévy a po zajištění portální žíly se přechází na zajištění jaterní žíly jdoucí ve směru resekce, následně je pak pokračováno transekci parenchymu. Tuto metodu popsal jako první Lortat-Jakob roku 1953. Tato metoda může být pro nezkušeného operátora riziková stran poranění cévních struktur. Druhou metodou je technika popsaná Ton That Tungem v roce 1965, kde se začíná nejdříve resekci parenchymu a hilové struktury jsou podvazovány až během resekce. Mnoho autorů používá techniky kombinující výhody obou předešlých. Při resekcích velkých centrálně uložených tumorů blízko dolní duté žíly či jaterní žíly je v literatuře uváděna též možnost provedení totální vaskulární exkluze jater. Poprvé byla popsána Heaneyem a Jacobsenem v roce 1975. Při normální teplotě těla a normálních funkcích játra tolerují 60-90 minut devaskularizace. Vzácnější metodou okluze větve portální žíly pro resekovaný segment je transhepatický balónkový katetr umístěný pod USG kontrolou do větve portální žíly pro resekovaný segment se selektivní okluzí hepatické arterie, kdy

dojde k demarkaci příslušného segmentu. Tato metoda umožňuje přesné anatomické resekce, avšak je velmi složitá.

U velkých nádorů (např. s prorůstáním do bránice), kde není možné bezpečné uvolnění jater, popsal v roce 2001 Belghiti metodu tzv. předního přístupu (liver hanging manoeuvre). Jedná se o postup u kterého se začíná nejprve disekcí mezi pravou a střední jaterní žilou před vena cava inferior cca 3-4 cm, následně se kaudálně podvází krátké jaterní žíly a preparuje kraniálně. Po protažení pásky či jiného materiálu mezi dolní dutou žilou a zadní plochou jater je pak možné jaterní parenchym v místě resekce „nadvzdhnout“. To slouží ke zlepšení přehlednosti, lepší kontrole krvácení a bezpečnější disekci samotného parenchymu.

V současné době uznávaná klasifikace CLM dle Evropské společnosti pro léčbu kolorektálních metastáz je rozdělena do čtyř skupin. První označována jako M0 – kdy nejsou v jaterním parenchymu přítomny metastázy.

Druhá skupina je M1a, jedná se o pacienty, kteří jsou vhodní k jaterní resekci bez přípravy. Třetí je zásadní pro nás, protože se jedná o skupinu M1b, což jsou nálezy potenciálně resekabilní. Nemocné v této skupině je k resekčnímu řešení nutné připravit. Možnosti ještě probereme v dalším textu, jedná se např. o metody ablační (radiofrekvenční ablace), provedení PVE k potenciaci chemoterapie či předchozí konverze chemoterapií CHT, atd. Poslední skupina je označována jako M1c, kdy je možnost budoucí resekce téměř vyloučena. Jen v individuálních a vzácných případech může ještě dojít k operabilitě těchto nemocných po onkologické léčbě.

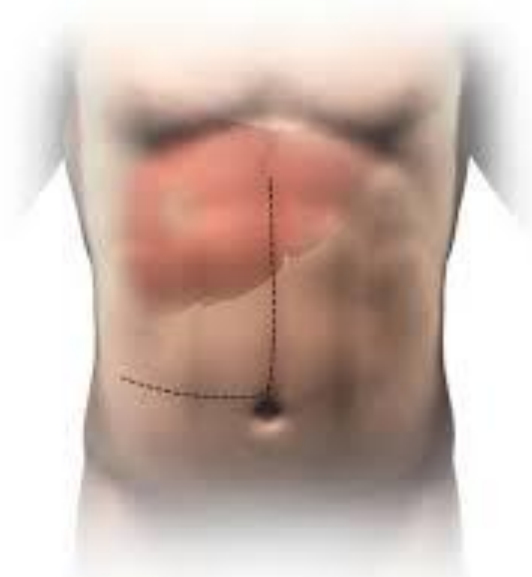
Základem chirurgického výkonu je R0 resekce (kurativní). Dříve za tuto resekci byla považována vzdálenost 10 mm nádoru od resekční plochy. V poslední době byla snížena nejprve na 5 mm a následně Towardsem na 2 mm. V současné době se za dostatečnou linii resekce považuje vzdálenost nádoru 1 mm od resekčního okraje. U pacientů s mikroskopicky pozitivními resekčními okraji je pak resekce označována jako R1. Jejich přežívání je dlouhodobě výrazně horší než ve skupině

R0. Na našem pracovišti nepřipouštíme resekci s makroskopicky pozitivními okraji, v literatuře označovanou jako R2.

15. Operační přístup a techniky resekcí

Přístupy k jaterním operacím se volí dle zvyklostí daného pracoviště a dle rozsahu výkonu a lokalizace patologického procesu. Nejčastěji používaným přístupem je pravostranný subkostální řez, dále oboustranný subkostální řez, incize ve tvaru „J“ (prováděná např. Makuuchim (obr. 22), Mercedes řez, atd. Na našem pracovišti je nejčastější pravostranný subkostální řez. Při rozsáhlejšímu postižení parenchymu je vhodné začínat laparoskopii a při příznivém nálezu konvertovat do laparotomie. Zde jsou limitujícím faktorem často předchozí otevřené operace. Samotnou exploraci jater laparoskopicky je nutné doplnit intraoperační sonografií.

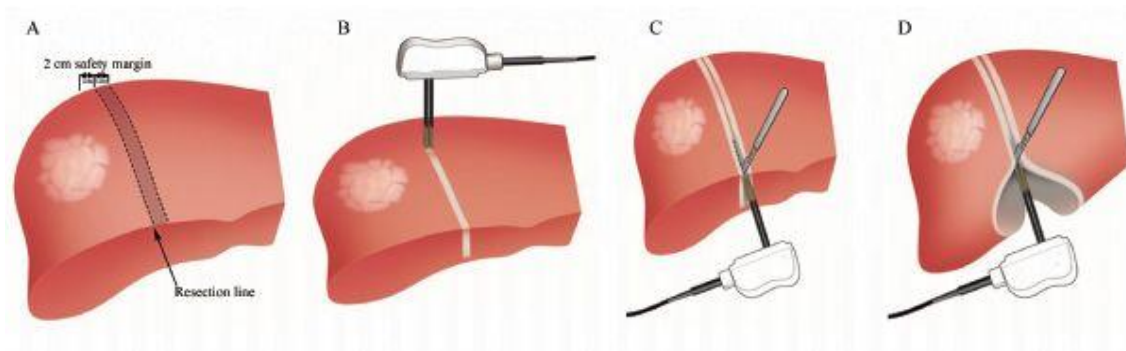
Pro samotnou resekci je zásadní moderní přístrojové vybavení, dnes resekci



Obr.22 Tzv. Makuuchi řez převzato z Nagasaki university academic output

provádíme nejčastěji pomocí Cavitron ultrasonic surgical aspirator (CUSA). Ten

kombinuje ultrazvukovou disekci s aspirací a skeletizuje díky tomu dokonale struktury (drobné cévy a žlučovody) od průměru 2 mm výše. Jeho největší výhodou je možnost dobré kontroly resekční plochy a možnost dokonalé skeletizace větších cévních struktur, tudíž jsou nižší krevní ztráty, ale bohužel nekoaguluje struktury a tak není určen ke kontrole krvácení. Další nevýhodou je dle literatury delší čas nutný k transsekci. Dalším ultrazvukovým zařízením je harmonický skalpel, ten má možnost i koagulace struktur, která je dobrá u struktur do 3 mm v průměru. Jeho použití je výhodné zejména u menších resekcí či při laparoskopickém přístupu. Použití těchto přístrojů je doplněno bipolární koagulací, na drobné cévy a žlučovody jsou používány speciální klipy či ligatury. Na větší struktury ligatury a staplery. Alternativ k použití CUSA a harmonického skalpelu je několik. Jako první ucelenou techniku pro resekci jater popsali Kousnetzoff a Pensky v roce 1896 jako „suture and fracture“ tedy po kompresi jaterního parenchymu jeho podvaz. Tato metoda v různých modifikacích je na různých pracovištích stále využívána. Další technika je „crushing“, tedy drcení jaterního parenchymu. Nejstarší technikou je drcení mezi prsty operátora s následným podvazem cévních a biliárních struktur. Modifikací této metody je „crush-clumb“ metoda, kdy je jaterní tkáň drcena pomocí chirurgických nástrojů (nejčastěji peány) namísto prsty. Další možností je resekce jater asistovaná radiofrekvenční ablací pomocí Habibovy sondy (obr. 22). Zde je do parenchymu postupně zaváděna sonda se čtyřmi jehlami. Radiofrekvenční energií je koagulován parenchym a v místě koagulační nekrózy je přerušena jaterní tkáň. Technické provedení ale způsobuje větší množství nekrózy jaterní tkáně než ostatní metody, proto může vést k většímu množství infekčních komplikací. Je též pozorováno větší množství biliárních komplikací typu žlučové píštěle či stenózy v blízkosti resekcí probíhajících žlučových cest. Na obdobném principu pracuje i Aquamantys, ta využívá transcollation technologii, která pracuje na principu RFA a aplikace solného roztoku. Využívá díky tomu ke koagulaci a transsekci parenchymu nižší teploty a tím méně poškozuje okolní tkáň.

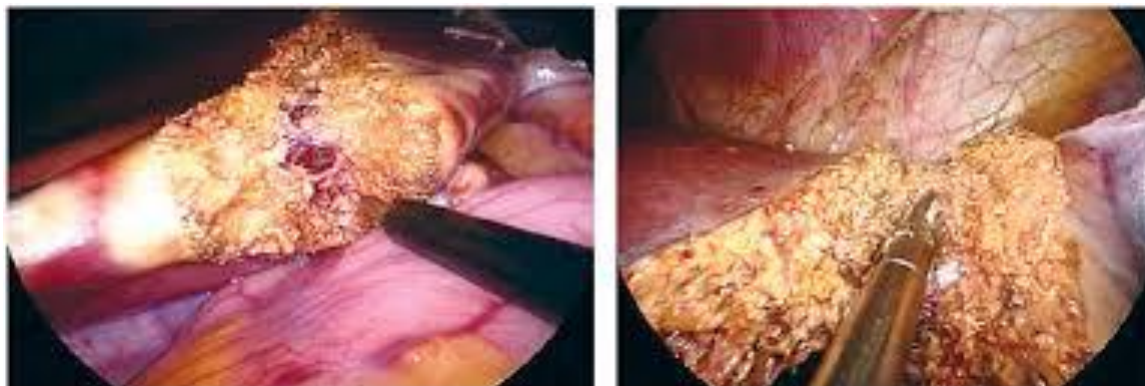


Obr.22 Habibova sonda použitá k resekci jater převzato z Journal of hepatology

Další technikou disekce jaterního parenchymu je použití proudu vody pod vysokým tlakem (Water-jet). Tato metoda používá k transekci parenchymu proud vody generovaný vysokotlakou tryskou. K přerušení větších cévních struktur je s výhodou využít cévních staplerů. Ty dokonale přeruší hlavní cévní i žlučové struktury a minimalizují možné pooperační krvácení a žlučový „leak“ [4].

Vedle otevřeného přístupu je možno i u metastatického postižení jater využít přístupu laposkopického. V současné době je trendem provádět výkony miniinvazivní technikou, na celém světě je dle literatury evidováno 3000-3500 laparoskopických jaterních resekcí, většina z nich jako rukou asistované výkony. Nejčastějším laparoskopickým výkonem jsou klínovité resekce a levostranné lobektomie (obr. 23). Jen malé procento (9 %) laparoskopických výkonů představují větší resekce. Indikacemi k miniinvazivním výkonům jsou metastázy do velikosti 5 cm, zejména lokalizované periferně v tzv. laparoskopických segmentech 2-6. Při těchto výkonech jsou k přerušení větších cévních a žlučových struktur používány endostaplery. Na samotnou disekci parenchymu pak laparoskopické nástroje CUSA či na principu Habib RFA sond. Data ukazují na nižší krevní ztrátu, zkrácení doby hospitalizace a snížení pooperační bolesti. Problémem zůstávají srůsty po předchozích operacích pro primární nádor. Proto jen minimum zákroků, nebyl-li primární výkon též proveden laparoskopicky, je vůbec vhodných k pokusu o laparoskopii. Otázkou stále zůstává onkologická

radikalita, protože ne vždy je možné dokonale, i přes možnost laparoskopického IOUS, explorovat celý parenchym. Někdy tak mohou malé metastázy uniknout pozornosti [1].



Obr. 23 Laparoskopická resekce jater.

Samotnou resekci zahajujeme vždy peroperační USG, ta upřesní nález u 30-40 % nemocných. Při kvalitním parenchymu jsme schopni detekovat metastázy už při velikosti 3 mm. Následně si zajišťujeme hepatoduodenální ligamentum na možnost provedení Pringleova manévru. K eliminaci krevních ztrát, které jsou při nekomplikovaném výkonu minimální, slouží snížení centrálního žilního tlaku anesteziologem před resekcí. Ideální hodnotou je dosažení tlaku 0-4 mm Hg. U metastáz kolorektálního karcinomu jsou si stran onkologické radikality anatomické či neanatomické resekce rovny. Pokud jsou metastázy větší velikosti (nad 4 cm), jsou dlouhodobé výsledky lepší po anatomických resekcích. Při oboustranném jaterním postižení jsme schopni využít tzv. etapových výkonů. Při etapovém výkonu nejprve připravíme jeden lalok tím, že odstraníme metastázy, následně provedeme např. embolizaci větve portální žíly na straně postižené nádorem. Po určité době (4-6 týdnů) přistoupíme k druhé etapě. Většinou se jedná o pravostrannou nebo rozšířenou pravostrannou hepatektomii. Bohužel u 30-40 % nemocných PVE selhává, důvodem je progresse nádorového postižení nebo selhání hypertrofie neembolizovaného laloku [17].

Chirurgická jaterní resekce je stále první a jasnou metodou volby u resekabilních metastáz KRCA v rámci multimodální léčby. Vždy bychom měli upřednostňovat jaterní resekci před ostatními možnostmi. Přes velký pokrok v ostatních metodách, např. termoablačních (ablace a destrukce nádorové masy), se jedná stále jen o metody paliativní, protože nedochází k odstranění nádorového ložiska. Důvodem inoperability nemusí být jen velikost ložisek, ale také jejich uložení, kvalita parenchymu, srůsty po předchozích operacích a především malý zbytkový objem jater. V dnešní době díky komplexnímu přístupu k pacientům dochází k prodlužování přežití nemocných a tím k možnosti rekurence onemocnění, proto v posledních letech narůstá provádění opakovaných jaterních resekcí, tzv. reresekcí. Nemocní po reresekčním výkonu dosahují podobného dlouhodobého přežití jako po primární resekci jater. Dalším trendem je uplatňování tzv. kombinovaných výkonů, kdy jde o kombinaci resekce s dalšími technikami (radiofrekvenční ablace - RFA, mikrovlnné ablace - MWA, atd.), především u nemocných s bilobárními ložisky nádoru, kde bez kombinace metod by odstranění ložisek vedlo k rozsáhlejší resekci. Ta by mohla jednak znamenat inoperabilitu a při provedení pak pro nemocného velké riziko selhání jater.

16. Komplikace resekční léčby CLM

Komplikace jaterních resekcí nejsou zanedbatelné. Jejich počty by však neměly být větší než u jiných velkých břišních operací. Mortalita se pohybuje mezi 2-5 %. Výjimkou jsou extenzivní výkony typu ALLPS (Associating Liver Partition and Portal vein Ligation for Staged hepatectomy), kde mortalita je mezi 12-20 %. U těchto výkonů je však stále diskutováno, zda takto vysoká mortalita je přípustná. I u rozsáhlých jaterních resekcí by díky důkladnému předoperačnímu vyšetřování neměl počet jaterních selhání přesáhnout 5-7 %. Komplikace rozdělujeme na perioperační a pooperační. Mezi perioperační patří zejména krvácení, nejobtížněji se staví krvácení z žil velkého kalibru (v. cava, v. portae, vv. hepaticae). Preparace v oblasti těchto žil musí být proto velmi opatrná a obezřetná, proto pokud je to

možné, centrální větve pahýlů podvazujeme dvěma ligaturami či prošíváme. Při poranění některé velké žíly je nutná sutura nevstřebatelným atraumatickým materiálem. Větší krvácení si někdy vyžádá i ošetření při totální vaskulární exkluzi jater. Krvácení z hepatických tepen v oblasti hilu či hepatoduodenálního ligamenta se snažíme zastavit suturou za pomoci cévní svorky. Běžné peroperační krvácení z resekční plochy minimalizujeme šetrnou operační technikou s použitím CUSA (Cavitron Ultrasonic Surgical Aspirator), bipolární koagulace, klipů, harmonického skalpelu, atd.

Pooperační komplikace, kterých by nemělo být více než 25-30 %, jsou v jaterní chirurgii časté. Zejména u velkých resekcí je téměř pravidlem pravostranný pleurální výpotek, v 60-70 % nevyžaduje léčbu. U většiny dalších je punkce výpotku dostatečným výkonem. Závažný může být výpotek pro nemocné s preexistujícím plicním onemocněním (plicní fibróza, CHOPN, atd.), kde i nevelký výpotek díky kompresi přilehlé plicní tkáně může znamenat významné snížení plicní funkcí. Další možnou komplikací je biliární leak. K jeho prevenci je zásadní po jaterní resekcii vždy zkontrolovat resekční plochu a ošetřit případnou žlučovou sekreci. Pokud je žlučový leak přehlédnut, pak se objeví žlučová příměs v drénech. Pokud tato sekrece přetrvává několik dnů, je třeba provést vyšetření endoskopickou retrográdní cholangiografií (ERCP) s nutností provedení papilosfinkterotomie (PST), která sníží tlak ve žlučových cestách, a tím usnadní odtok žluče do duodena. Možností je při tomto vyšetření zavedení stentů a dnes již ojediněle nasobilární drenáže. Při odvodu nad 500 ml žluče drénem za den se většinou jedná o poranění velkého žlučovodu a u nemocného je v řadě případů indikována operační revize. Z literatury je též používána peroperační cholangiografie přes d. cysticus, či použití např. indocyaninové zeleně k potvrzení či vyloučení významného žlučového leaku již perioperačně [26].

Další spíše pozdější komplikací je vznik bilomu. Bilom vzniká při nedokonalé drenáži místa úniku žluče. Při jejím nahromadění dojde následně k opouzdření. Tato komplikace se projeví subfebriliemi až febriliemi, a elevací zánětlivých parametrů a obstrukčních enzymů (ALP, GGT, bilirubinu). Jeho potvrzení může být

někdy vzhledem k uložení pomocí ultrasonografie obtížné, proto je počítačová tomografie suverénní metodou jak pro diagnostiku, tak i pro léčbu. CT navigovaná drenáž je metodou volby pro léčbu a jen vzácně je nutné přistoupit k revizi.

Infekční komplikace po jaterních operacích nejsou zcela vzácné, zejména při velkých resekcích a při využití termoablačních metod pro resekci jaterního parenchymu. Nejčastější je vývoj abscesu při resekční ploše či subfrenicky. Projeví se nejprve febrilními špičkami a následně leukocytózou, po které s krátkým odstupem nastává elevace C-reaktivního proteinu. Může být přítomna i přenesená bolestivost v pravém rameni způsobená frenickým drážděním, tzv. Kehrův příznak. Zásadní k diagnostice a léčbě je provedení USG, CT a náběr hemokultur při febriliích. Absolutní většinu podbráničních abscesů lze řešit drenáží pod CT navigací. Důležitý je odběr vzorku punktátu pro kultivaci. K léčbě je nezbytné podání antibiotik dle citlivosti. Vzácnější komplikací může být trombóza portální žíly, ta může vzniknout již perioperačně při Pringleově manévru. Vzniku předcházíme jeho přerušováním (viz výše). Projevuje se žloutenkou, elevací jaterních enzymů a později vznikem ascitu. Jde o velmi závažný stav. Pokud je včas rozpoznána, je možné ji vyřešit akutní trombektomií. Když vznikne trombóza až pooperačně, měla by být léčena dlouhodobou antikoagulací (nízkomolekulárním heparinem). Další možné komplikace jsou méně časté.

17. Ablační (destrukční) metody léčby

17.1 Alkoholizace

Alkoholizace je metoda prováděná pod CT či sonografickou kontrolou, kdy je do ložiska aplikován koncentrovaný (95%) alkohol. Jedná se tak o toxické působení chemické látky. Tato metoda byla v současnosti již zcela opuštěna. Jejím hlavním využitím bylo použití pro destrukci malých ložisek hepatocelulárního karcinomu,

dobře fungovala jen u primárních jaterních nádorů a pokusy o alkoholizaci sekundárních ložisek byly téměř bez efektu. Instilací alkoholu vzniká při dehydrataci cytoplazmy koagulační nekróza s následnou tkáňovou fibrózou. Důležitým negativním faktorem bylo, že velikost a rozsah koagulační nekrózy nebyly konstantní. Záviselo to nejen na prokrvení a charakteru ložiska, ale i například na septování, atd. Hlavními komplikacemi byly vznik jaterního abscesu, hemobilie, krvácení do dutiny břišní a možný vznik stenózy žlučových cest.

17.2 Radiofrekvenční ablace

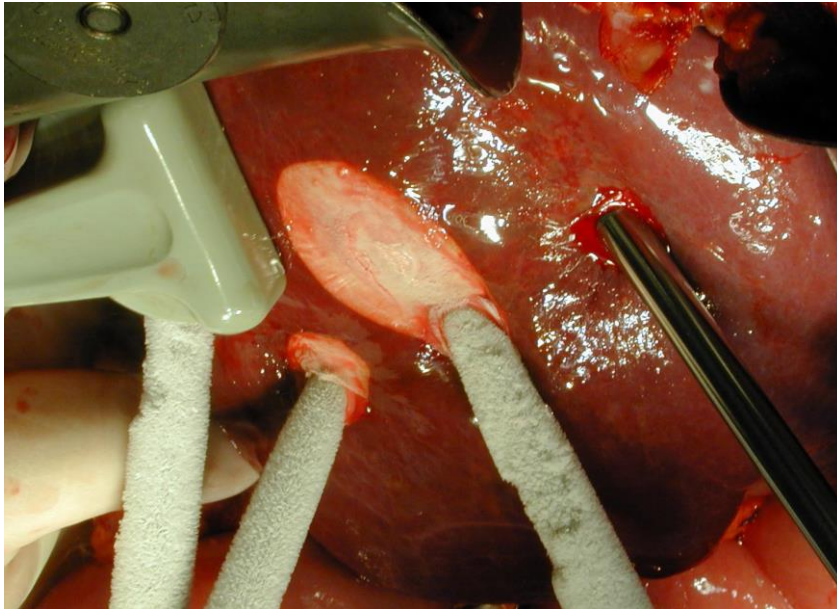
Nejběžnější ablační metodou u neresekabilních sekundárních nádorů je radiofrekvenční ablace. Tato metoda je používána již od roku 1990. Ablace probíhá aplikací střídavého proudu o vysokém kmitočtu cca 460 KHz a samoregulovatelném výkonu 50-200 W. Sondy jsou punkčně zaváděny do jater. Dnes existuje velké množství komerčně vyráběných sond, ať už s jednou jehlou či několika - tzv. clusterové. Ty jsou používány pro destrukci větších nádorů. Na našem pracovišti využíváme v současné době systém firmy Covidien, kde je možnost užití jak jednoduchých sond RFA, které využíváme k ablací ložisek velikosti do 3 cm. Při velikosti ložisek mezi 3 a 5 cm používáme tzv. clusterové sondy, které mají tři na sebe rovnoběžné jehly orientované do trojúhelníku (obr. 24). U ložisek nad 5 cm je RFA nevhodná.



Obr. 24 Cluster sonda.

17.3 Kryoablace

Kryodestrukce (obr. 25) je nejstarší termoablační metodou, dnes již rovněž není téměř vůbec používána. Spočívá ve zchlazení tkáně, které vede k vzniku nekrózy. Využívala se teplota cca minus 20°C. Většinou šlo o kryodestrukci pomocí sond s cirkulující chladicí tekutinou. Důvodem opuštění této metody byly závažné komplikace, a to hepatorenální selhání při přílišném objemu zmrazené tkáně, sepse a diseminovaná intravaskulární koagulopatie (DIC) [28,51].



Obr. 25 Kryoablace jaterního parenchymu.

17.4 Mikrovlnná a laserová ablace

Nejnovějšími ablačními metodami jsou mikrovlnná a laserová ablace. Problémem obou metod je jejich vysoká pořizovací cena. Mikrovlnná ablace je založena na silném elektromagnetickém poli, které vzniká pomocí vysokofrekvenčních vln, jejichž frekvence dosahuje až do oblasti GHz. Nevýhodou metody je vznik spíše vejcovitého tvaru nekrózy, a tak je někdy třeba u větších nádorů používat více aplikací. Oproti RFA je naopak mikrovlnná ablace rychlejší. Laserová ablace využívá laserového paprsku o malé intenzitě cca 3-15 W. Doba působení je různá dle typu a výrobce. Pohybuje se mezi 3-20 min. Během této doby dochází ke konverzi světelné energie v tepelnou s následným vznikem koagulační nekrózy. Nejběžnějším je Nd-YAG laser s vlnovou délkou 1064 nm [31].

Mikrovlnná ablace je indikovaná v obdobných případech jako RFA. Jde o metodu využívající elektromagnetické vlny v rozmezí frekvence od 915 MHz do 2,45 GHz. Následná oscilace polárních molekul vody vyvolává destrukci buněk a tím v místě ablace vznik tkáňové nekrózy. Oproti samotné radiofrekvenční ablaci má

mikrovlnná lepší vlastnosti při ablaci tužších nádorů (např. pokud jsou přítomny kalcifikace, atd.) Dle zahraničních zkušeností je výhodou mikrovlnné ablace možnost ušetření času operace použitím více sond najednou. V našich podmínkách použití několika sond současně vzhledem k ceně sond nepoužíváme. MWA je též výhodnější pro tumory uložené v blízkosti cév, kde pokles účinnosti je menší [36].

Zavádění i celý proces ablace probíhá pod kontrolou peroperační sonografie. Pokud si nejsme jisti dokonalým překrytím ložiska, můžeme si v indikovaných případech pomoci i kontrastní sonografií. Mechanismem ablace je vznik iontové agitace buněk a rázových vzestupů teploty. Teploty nad 42 °C vedou k denaturaci bílkovin a při teplotě nad 50 °C dochází ke sférické koagulační nekróze jaterní tkáně i maligního ložiska. Možností zavedení RFA sondy je několik, nejméně invazivní pro nemocného je zavedení a provedení radiofrekvenční ablace pod CT kontrolou, tedy transkutánním přístupem. Využívá se kombinace lokální anestezie a analgosedace. Tato metoda však nemůže být použita vždy, limitací je přítomnost jiného orgánu, žlučníku, bránice, srdce, atd. v blízkosti metastatického ložiska. Druhou možností je zavedení jehly pod laparoskopickou kontrolou, to je však často limitováno předchozí operací primárního nádoru. Výraznou výhodou laparoskopického přístupu oproti transkutánnímu je možnost použití peroperačního sonografického vyšetření, kdy zejména u ložisek do 1 cm může být k jejich detekci zásadní. Navíc peroperační USG může změnit původní diagnózu stran počtu ložisek až u 38 % nemocných. Pro minimalizaci poranění nitrobrášínských orgánů vzhledem k přechozím možným srůstům nepoužíváme u těchto nemocných Veressovu jehlu k založení kapnoperitonea, ale využíváme k zavedení portu přístup z minilaparotomie. Poslední možností je tzv. otevřená radiofrekvenční ablace, která má z výše uvedených postupů nejlepší výsledky. Využívá se zejména pro recidivu onemocnění na jaterním parenchymu, kde již nemáme možnost pro těžké srůsty využít laparoskopii, dále u nemocných s nepříznivě uloženými ložisky původně indikovanými k resekci. Nevýhodou této metody je to, že pokud je ložisko uloženo blízko větší cévy, dochází k ochlazení okolní tkáně a tak snížení efektu RFA vznikem tzv. nekompletní nekrózy –

nonablace. U metastatického postižení v těchto lokalitách většinou na našem pracovišti doplňujeme v krátké době, cca po 7-14 dnech, transarteriální chemoembolizaci (TACE).

17.5 NanoKnife

V posledních několika letech byla vkládána velká naděje do nové metody – NanoKnife ablation systému (obr. 26, 27), dostupný pro běžné použití od roku 2009. Jedná se o ablační metodu vhodnou pro inoperabilní měkkotkáňové tumory uložené blízko cévních či jiných důležitých struktur (žlučových cest, nervů, atd.), které jsou termosenzitivní. Systém pracuje na principu ireverzibilní elektroporace (IRE). Jedná se o nontermální destrukci buněčných membrán, kdy působením krátkých pulzů (cca 90) vysokého napětí trvajících 100 mikrosekund dochází k vytvoření nanopórů (děr), které vedou k poruše buněčné homeostázy s následnou apoptózou buněk. Pulsy jsou díky monitoraci EKG generátorem sladěny se srdeční frekvencí, aby nedošlo ke vzniku arytmií. Zavádí se dvě až pět sond dle velikosti a uložení nádorového ložiska, jejich konečné uložení je před začátkem ablace kontrolováno intraoperační sonografií. Je totiž nutné přesně zadat jejich pozici vzhledem k nádoru do generátoru napětí [54]. Z našeho pracoviště máme zkušenosti s nevelkým souborem pacientů, u kterých jsme provedli IRE. Velkou nevýhodou vidíme zejména ve vysoké ceně procedury, která není hrazena z veřejného zdravotního pojištění.



Obr.26 Nanoknife přístroj a sonda převzato z www.fudacancerhospital.org.



Obr. 27 Nanoknife procedura.

17.6 Emprint

Zcela novou, zatím v České republice poprvé použitou metodou na našem pracovišti v loňském roce, je novinka Emprint (obr. 28). Tato metoda je tzv. ablace pomocí speciálních sond, které jsou nazývány Thermosphere. Využívá možnosti kontroly tří základních věcí. První je kontrola teploty, která by měla minimalizovat

vznik nonablace. Druhou je možnost kontroly hloubky a umístění zavedených sond. A poslední je kontrola vlnové délky v místě působení ablace, což zdokonaluje průběh ablace. Díky možnosti regulace všech hodnot během doby nutné k ablaci snižujeme riziko selhání metody. Systém využívá mikrovlnnou ablací, s frekvencí 2450 MHz a možností nastavení výkonu od 5 do 100 W. Délka sondy až 30 cm je výhodná při perkutánním zavedení u obézních nemocných. Jako RFA systém je možné použít systém nejen pro jaterní parenchym, ale i pro ablací tumorů ledvin a plic. Systém zatím není běžně dostupný a ještě nejsou známy dlouhodobé výsledky. Předběžné výsledky jsou však velmi dobré [55].



Obr.28 Emprint systém převzato z www.covidien.com.

18. Možností zvýšení resekability CLM

18.1 Embolizace portální žíly

Možností zvýšení resekability metastáz kolorektálního karcinomu je několik. Již výše jsme uváděli možnost PVE, nebo ligace větve portální žíly na straně nádoru (PVL). PVL byla jako první provedena již v roce 1920 [39]. Nejprve se jednalo o experimentální studie u králíků, kde po ligaci portální žíly (PVL) byla pozorována atrofie na straně ligované větve s odpovídající hypertrofií na straně kontralaterální [5]. V roce 1961 byla publikována první ligace portální žíly u člověka v rámci dvouetapové resekce jater [49]. Od té doby bylo vyzkoušeno a publikováno mnoho otevřených způsobů okluze portální žíly. Od předoperační a pak i peroperační PVL, přes PVE (poprvé 1982) z ileokolického přístupu [32], po transhepatickou PVE (obr. 29, 30). prováděnou intervenčními radiology jako miniinvazivní postup. Tato metoda zůstala metodou volby. Komplikace ve smyslu možného krvácení či další vyplývající z punkce parenchymu jsou nízké. PVE a PVL jsou metody, které dosahují v průměru 60% úspěchu ve smyslu nárůstu FLRV. U řady nemocných však dochází k progresi CLM v důsledku poměrně dlouhého časového intervalu nutného k hypertrofii jater, u dalších pacientů i přes dobře provedenou metodu nedochází k žádné hypertrofii. Největším problémem zůstává možná komplikace metody, kdy dojde k odtoku kontrastní látky i do druhostranné větve portální žíly. Lepší výsledky stran rychlejší regenerace jaterního parenchymu dle literatury přináší embolizace pravé větve portální žíly společně s embolizací čtvrtého jaterního segmentu [22].

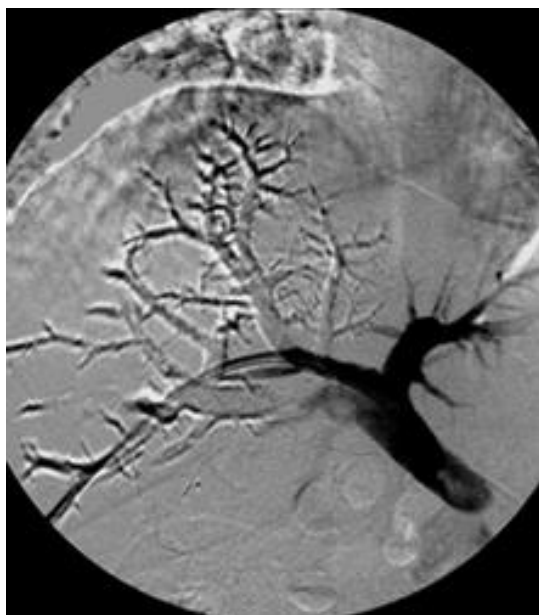
18.2. ALPPS

V současnosti se hledají metody, jak zkrátit interval nutný pro hypertrofii FLRV. Jednou z těchto metod je ALPPS (Associating Liver Partition and Portal vein Ligation for Staged hepatectomy), již jako chirurgickou novinku předvedl v roce 2011 Lang [14], následně publikoval další případy a metodiku De Santibañes v roce 2012 [8]. Tento

postup, přes výbornou hypertrofii jaterního parenchymu v intervalu do jednoho týdne po výkonu, je však zatížen vysokou mortalitou (12-20 %).



Obr. 29 Embolizace portální žíly – stav před embolizací, nástřík řečiště pravé větve porty.



Obr. 30 Embolizace portální žíly – stav po embolizaci.

Dle našeho názoru tato vysoká mortalita není přípustná pro jaterní resekce. Shodujeme se spíše s názorem japonské a americké školy, že v současnosti je trendem minimalizovat možnosti perioperační mortality. Na našem pracovišti je mortalita po jaterních resekcích menší 2 %. Proto jsme hledali, tak jako řada dalších pracovišť, jinou metodu, která by byla vysoce efektivní pro rychlý nárůst FLRV a přitom byla zatížena minimální mortalitou a morbiditou. Tato metoda je předmětem této práce a bude uvedena níže.

18.3 Onkologická léčba u nemocných s CLM

Onkologická léčba je u pacientů s metastázami kolorektálního karcinomu do jater většinou indikována po operaci primárního nádoru ve stadiu II (kdy tumor lokálně prorůstá všemi vrstvami střevní stěny) a III (při postižení spádových lymfatických uzlin). Před řešením jaterních metastáz, pokud se jedná o synchronní metastatické postižení, je po odstranění primárního nádoru většinou indikována onkologická léčba. Jen výjimečně jsou operováni nemocní bez odstranění primárního nádoru, jedná se pak o tzv. „liver-first“ operace, kdy je nález na játrech tak rozsáhlý a nepříznivý pro další přežití, že se operací na jaterním parenchymu začíná. Nejčastějším pacientem pro nás zůstává nemocný po resekci primárního nádoru s jaterními metastázami po adjuvantní chemoterapii. O způsobu léčby rozhoduje vždy multioborový tým na základě stadia onemocnění a celkového stavu nemocného.

18.3.1 Chemoterapie

Adjuvantní chemoterapie jako součást multimodální léčby, kde chirurgická resekce je základním výkonem, je důležitá pro dlouhodobé přežívání nemocných bez recidívy onemocnění (DFI - disease free interval), a tím i pro prodloužení života nemocných. Jak již bylo výše uvedeno, chemoterapie se zahajuje u nemocných u stadia II kolorektálního karcinomu, tedy tam kde je postižení lymfatických uzlin nebo šíření tumoru per continuitatem do okolí. Doporučená cytostatická léčba spočívá v klasickém podávání de Gramont, kdy se kombinuje systémové podávání leucovorinu (200 mg/m^2) v rychlé hodinové infuzi a 5-fluorouracilu jako bolus (400 mg/m^2) a následně po zbytek 24-hodinového protokolu pomalá infuze 5-fluorouracilu (600 mg/m^2). V současné době jsou podávána novější chemoterapeutika typu oxaliplatinu (Eloxatin), irinotekan (Campto), kapecitabin,

raltitrexet. Oxaliplatina a irinotekan jsou kombinovány s ostatními režimy. Docházíme pak k neúčinnějším schématům (tab. 1) typu FOLFOX 4 (oxaliplatina, leukovorin, 5-fluorouracil - podávání 24 hodin), FOLFOX 6 (schéma podání 48 hodin), FOLFIRI (irinotekan, leukovorin, 5-fluorouracil - schéma podání cca 24 hodin), TOMOX (raltitrexet, oxaliplatina) a další možná kombinovaná schémata, jako jsou kombinace XELOX (kapecitabin/oxaliplatina) či XELIRI (kapecitabin/irinotekan). Samotná účinnost 5-fluorouracilu v monoterapii je poměrně nízká, má asi jen 10-15 % léčebných odpovědí s mediánem přežití 11-16 měsíců. Naproti tomu právě v kombinovaných režimech je dosahováno až 50 % léčebných odpovědí a mediánu přežití až 20 měsíců. Samozřejmě je též nezanedbatelná toxicita, která někdy vede i k nutnosti přerušení terapie [50]. Chemoterapii považujeme za adjuvantní tehdy, pokud se jedná o léčbu nemocných, kterým byl chirurgicky odstraněn nádor a u kterých není, pomocí konvenčních diagnostických metod, prokazatelné reziduum nádorové tkáně v organismu. Důvodem k léčbě je předpoklad přítomnosti mikrometastáz, jež by měli být právě podáním léčby zničeny. Naopak o paliativní chemoterapii mluvíme tehdy, pokud chemoterapeutika podáváme ke zmenšení primárního nádoru či ovlivnění sekundárních ložisek nádoru. Cílem není tedy úplné vyléčení pacienta, ale spíše zlepšení kvality a prodloužení života. Toto podání chemoterapie je u onkologických pacientů nejčastější.

Tabulka č. 1 Nejčastější režimy podávané CHT.

| Adjuvantní CHT | Paliativní CHT (1. a 2. linie) | Paliativní CHT (3. linie) |
|-------------------------|--------------------------------|---------------------------|
| FOLFOX-4 nebo XELOX | FOLFOX-4 nebo XELOX | Irinotecan |
| FOLFOX-6 | FOLFOX-6 | Cetuximab |
| Capecitabin | FOLFIRI nebo XELIRI | Panitumumab |
| 5-FU/LV dle de Gramonta | 5-FU/LV dle de Gramonta | |

| | | |
|-------------------------|-------------------------|--|
| 5-FU/LV dle Mayo Clinic | 5-FU/LV dle Mayo Clinic | |
| | Capecitabin | |

18.3.2 Lokoregionální chemoterapie

Kromě podání systémové chemoterapie, která je dnes jasnou modalitou primární léčby, byla v minulosti využívána hojně možnost podání tzv. lokoregionální terapie. Na našem pracovišti se tato metoda již téměř nepoužívá. Využívá se spíše metoda TACE. Při lokoregionální terapii byla nutnost zavedení speciálního portu cestou arteria gastroduodenalis. Jednalo se tzv. HAI systém (hepatic arterial infusion) (obr. 31). Metodika spočívá v zavedení katetru do oblasti soutoku arteria gastroduodenalis a arteria hepatica, většinou s nutností podvazu pravé gastrické tepny a provedení cholecystektomie. Vše jako prevence toxického postižení okolních orgánů. Komůrka portu byla následně implantována do podkoží pravé poloviny hrudníku. Tato metoda využívá skutečnosti, že metastázy od velikosti 3 mm jsou přednostně živeny arteriální krví díky neovaskularizaci. Oproti tomu normální hepatocyty jsou z 80 % vyživovány portální krví. Jinou možností než zavedení arteriálního portu chirurgickou cestou je jeho zavedení radiology. Podávání chemoterapie cestou HAI je spojeno s řadou komplikací jako je trombóza hepatické arterie (vzhledem k postižení při samotném zavádění), vznik duodenálních vředů při nevhodné perfuzi ze žaludku a duodena, toxické cholecystitidy a dalších.



Obr.31 Hepatic arterial infusion systém převzato z www.codman.com Codman & Shurtleff, Inc.

Chemoterapeutikum pro lokoregionální chemoterapii musí splňovat základní podmínky. Je nutné dosažení vysoké koncentrace v jaterním parenchymu a krátký poločas rozpadu, aby nedocházelo k jeho kumulaci v systémovém oběhu. Ideálním chemoterapeutikem by byl například fluorodeoxyuridin (FUDR), který má 99% extrakci v játrech při prvním průchodu, byl by tedy ideálním i ke zničení mikrometastáz. Problémem je, že toto cytostatikum není v ČR registrováno. Byly proto využívány 5-fluorouracil a leukovorin [20].

18.3.3 Transarteriální chemoembolizace

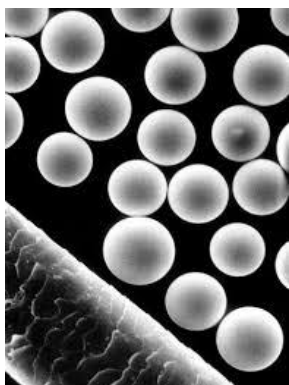
Transarteriální chemoembolizace (TACE) je metoda založená na poznatku, že maligní nádory jater jsou živeny z 95 % arteriální krví, naproti tomu zdravý jaterní parenchym jen z cca 25 %. Pokud aplikujeme selektivně chemoterapeutikum společně s provedením embolizace u maligního ložiska cestou větve arteria hepatica, způsobíme embolizaci metastázy a tím její následnou ischemii. K TACE inoperabilních jaterních metastáz kolorektálního karcinomu používáme speciální

mikroskopické sférické nosiče – DEB (drug eluting beads). Ty jsou schopné postupně uvolňovat chemoterapeutikum v místě aplikace. Jako chemoterapeutikum se používá irinotecan (Campto). K embolizaci nejčastěji lipiodol či jiná tkáňová lepidla. Přístupem je primárně pravostranná arteria femoralis. Po chemoembolizaci velmi často nastupuje tzv. postembolizační syndrom. Ten se projevuje větší bolestivostí, zejména v pravém podžebří, vysokými teplotami, nechutenstvím, elevací zánětlivých parametrů, atd [34]. V současné době je na našem pracovišti metota TACE u metastáz kolorektálního karcinomu vyhrazena primárně jen u inoperabilních nemocných, dále pak u recidivy onemocnění. Vedle této indikace provádíme transarteriální chemoembolizaci u nemocných, kdy byla provedena RFA ložiska ležícího blízko cévních struktur či při nejednoznačném nálezu ve smyslu možné non-ablace.

18.3.4 Transarteriální radioembolizace

Nejnovější metodou embolizace ložiska používanou v České republice pouze na našem pracovišti je transarteriální radioembolizace (TARE). Poprvé byla použita v roce 2013. Jde o obdobný princip metody jako u TACE, embolizace však není provedena chemoterapeutikem, ale radioaktivním yttriem 90. Tato metoda je indikována pro nemocné s neresekabilním nálezem a vyčerpanými možnostmi chemoterapie. V poslední době se díky klinickým studiím zdá, že by bylo výhodné používat TARE k potenciaci chemoterapie u metastatického kolorektálního karcinomu a použít jí u obdobných indikací jako PVE. Vyráběna jsou dvě média, která na sebe vážou yttrium 90. První mají jako nosič pryskyřici (SIR-Spheres), ty mají velikost 20-60 μm a aktivitu 3 GBq. Druhé, u nás používané, využívá jako médium sklo (Thera-Spheres) (obr. 32). Jejich velikost je menší, cca 20-30 μm , jsou schopné vázat yttrium s aktivitou 3-20 GBq. Nutností výkonu jsou příznivé anatomické poměry či příprava pomocí angiografie, aby nedošlo k radiačnímu poškození okolních tkání. Na našem pracovišti, mimo zvyklých a.

gastroduodenalis, aa. gastricae, aa. diafragmaticae, je vždy prováděna embolizace a. cystica, abychom předešli nekróze stěny žlučníku při radičním postižení. Před samotným výkonem je nutné provést perfuzní test pomocí ^{99}Tc -MAA k vhodnosti procedury. Zde předběžně vidíme „vychytání“ technecia v jaterním parenchymu, což ukazuje přesně na rozložení budoucího yttria. U TARE metastáz kolorektálního karcinomu se využívá stejné myšlenky jako u transarteriální chemoembolizace, tedy to, že většina cévního zásobení metastázy přichází cestou a. hepatica. Navíc hustota mikrovaskulární sítě u metastáz je 3-200x větší, než u normální jaterní tkáně. Výpočet dávky je dle speciálních rovnic. Vhodné je po aplikaci yttria 90 (obr. 33) izolovat nemocného po dobu cca 4-7 dnů, než dojde k poklesu aktivity. Komplikacemi kromě postembolizačního syndromu jsou jaterní dysfunkce, cholangitis, jaterní absces, atd. Efekt radioembolizace se posuzuje při kontrolách pomocí PET-CT v šestitýdenních intervalech [21,38]. Hlavní limitací této jinak slibné metody je cena procedury, která se pohybuje nyní kolem 250 tis. Kč na jednoho nemocného. Vše je zatím hrazeno jen z výzkumných záležitostí, pojišťovna proceduru nehradí.



Obr.32 Thera-spheres s yttriem (velikost porovnána s lidským vlasem) převzato z Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health.



Obr.33 Systém TARE k aplikaci.

18.3.5 Biologická terapie

Kromě chemoterapie je v dnešní době používána i biologická léčba. V posledních 10-15 letech vedlo lepší pochopení procesů transformace normální buňky na nádorovou k vývoji nových léčiv, které označujeme jako cílenou či biologickou terapii. Přežití nádorových buněk vždy závisí na patologické aktivaci signálních drah, které vedou k nekontrolovatelné proliferaci maligních buněk a navíc je chrání před apoptózou. To je možné jen díky mutaci či změněné expresi jistých proteinů. Pokud bychom chtěli vysvětlit pojem cílená léčba pak je si třeba uvědomit, že jde o látky, které jsou namířeny proti specifickým molekulárním drahám podílejícím se jak na samotné kancerogenezi, tak na progresi daného nádoru. Biologická léčba proto zvyšuje účinek běžné chemoterapie. Hlavním cílem bioterapie je zvýšení počtu léčebných odpovědí. V současné době jsou k biologické léčbě v ČR používány tři preparáty - bevacizumab (protilátka proti vaskulárnímu endoteliálnímu růstovému faktoru A; VEGF-A), cetuximab a panitumumab (obojí jsou protilátkami proti epidermálnímu růstovému faktoru; EGFR). Angiogeneze v rámci neovaskularizace je běžný proces po jakémkoliv inzultu tkáně.

Při poruše tohoto mechanismu dochází ke vzniku patologických stavů. Neoangiogeneze je komplexní proces, který začíná vazodilatací a přes další procesy jako je proliferace endoteliálních buněk dochází ke vzniku nových kapilár. Pokud jde o maligní tkáň, tak tam, vzhledem k její nedostatečné perfuzi a tím hypoxii, dochází k další stimulaci angiogeneze. Tento proces je regulován právě VEGF a dalšími faktory (angiopoetiny, interleukiny, interferony, atd.). Bevacizumab (Avastin) je monoklonální protilátka namířená proti VEGF- α . Deaktivace biologické aktivity tohoto receptoru vede k bloádě intracelulárních drah a důsledkem je zastavení procesu neovaskularizace a stabilizace stávající cévní sítě, což vše pak vede k inhibici růstu nádoru. Samotná monoterapie tímto lékem má jen malé procento léčebných odpovědí (tab. 2), proto je zásadní podávání v kombinaci s normálním chemoterapeutikem (oxaliplatina, fluorouracil, irinotekan) (tab. 3). Před podáním není třeba vyšetřovat K-ras (Kirsten rat sarkoma viral oncogene homolog).

Tabulka č. 2 Bevacizumab (BV) v léčbě kolorektálního karcinomu.

| Studie | Linie léčby | Režim | DFI (měsíce) | Léčebné odpovědi (%) | Celkové přežití (měsíce) |
|----------------|-------------|--------------|--------------|----------------------|--------------------------|
| Hurwitz et.al. | 1. | FOLFIRI + BV | 10,2 | 44,8 | 20,3 |
| | | FOLFIRI | 6,2 | 34,8 | 15,6 |
| TREE | 1. | FOLFOX + BV | 9,9 | 53 | 26 |
| | | FOLFOX | 8,7 | 43 | 19,2 |
| BICC-C | 1. | FOLFIRI + BV | 11,2 | 54,4 | 28 |
| | | FOLFIRI | 7,6 | 46,6 | 23,1 |
| E3200 | 2. | FOLFOX + BV | 7,3 | 12,9 | 22,7 |
| | | FOLFOX | 4,7 | 10,8 | 8,6 |
| | | BV | 2,7 | 10,2 | 3,3 |

Tabulka č. 3 Srovnání DFI samotné CHT a její kombinace s BT- Avastinem.

| | CHT s oxaliplatinou | CHT s irinotekanem | CHT s 5-FU |
|------------------------------|----------------------------|---------------------------|-------------------|
| Monoterapie | 8,0 měsíce | 6,2 měsíce | 5,6 měsíce |
| Kombinace s Avastinem | 9,4 měsíce | 10,6 měsíce | 8,8 měsíce |

Kromě léčby anti-VEGF je další možností ovlivnění receptoru pro epidermální růstový faktor, ten je členem skupiny EbB (erythroblastosis receptor B), které jsou i ve vztahu k tyrozinkinázovým receptorům. Společně se podílejí, díky přenosu transmembránových signálů, na proliferaci, invazi, migraci nádorových buněk a inhibici apoptózy. Obě monoklonální protilátky cetuximab (Erbix) i Panitumumab (Vectibix) blokují vazbu ligandu na tyto receptory a tím i intracelulární pochody. Významnou roli v signální cestě EGFR jako spouštěč hraje K-ras. Tento tzv. regulační onkogen se vyskytuje ve dvou formách. První je nemutovaný – wild type K-ras, který se vyskytuje cca u 65 % nemocných. Druhou formu je mutovaný K-ras, u této formy je tento gen stále aktivní a není aktivován cestou EGFR. Určení typu K-ras má zásadní vliv na odpověď biologické léčby metastazujícího kolorektálního karcinomu. Cetuximab je chimérická IgG1 protilátka, která má 5x vyšší afinitu k receptoru než přirozený ligand, proto je typickým kompetitivním inhibitorem. Díky zablokování signálních dějů vede nejen k omezení proliferace, ale i indukce apoptózy, atd. Cetuximab (tab. 4) je proto indikován v 1. linii léčby metastazujícího KRCa při expresi EGFR a wild type K-ras v kombinaci s FOLFOX a FOLFIRI, ve 2. linii s irinotekanem po selhání léčby a event. ve 3. linii v monoterapii, ale jen pokud nebyl použit v předchozí léčbě.

Tabulka č. 4 Cetuximab (CTX) v léčbě kolorektálního karcinomu.

| Studie | Linie léčby | Režim | DFI (měsíce) | Léčebné odpovědi | Celkové přežití |
|---------------|--------------------|--------------|---------------------|-------------------------|------------------------|
|---------------|--------------------|--------------|---------------------|-------------------------|------------------------|

| | | | | (%) | (měsíce) |
|---------|-------|------------------|-----|------|----------|
| CRYSTAL | 1. | FOLFIRI + CTX | 8,9 | 47 | 19,9 |
| | | FOLFIRI | 8,0 | 39 | 18,6 |
| OPUS | 1. | FOLFOX + CTX | 7,2 | 46 | 22,8 |
| | | FOLFOX | 7,2 | 36 | 18,5 |
| BOND | 2. | Irinotekan + CTX | 4,1 | 23 | 8,6 |
| | | Irinotekan | 1,5 | 11 | 6,9 |
| EPIC | 2. | Irinotekan + CTX | 4,0 | 16,4 | 10,7 |
| | | Irinotekan | 2,6 | 4,2 | 10,0 |
| NCIC | 2.-3. | CTX | 1,9 | 7 | 6,4 |
| | | Bez léčby CHT | 1,8 | 0 | 4,6 |

Panitumumab je též lidská monoklonální protilátka IgG2. Předpokladem účinnosti je stejně jako u cetuximabu přítomnost nemutovaného K-ras. Panitumumab je indikován v léčbě metastatického KRCa při selhání léčby chemoterapeutiky typu oxaliplatinu, irinotekanu a fluoropyridinu. Kombinace anti-EGFR a anti-VEGFR s chemoterapeutiky nevedla dle klinických studií ke zlepšení přežití. Naopak dochází ke zkrácení doby k progresi i k zvýšení úmrtnosti (dle studie CAIRO2, PACCE, atd.). Podání kombinace chemoterapie a dvou preparátů cílené terapie je tedy, vzhledem k výraznému nárůstu toxicity, zásadně kontraindikována. Všeobecně platí, že biologická léčba je ekonomicky velmi nákladná (tab. 5).

Tabulka č. 5 Orientační ceny léčby jednotlivými typy chemo- a biologické terapie.

| Látka | Úhrada za tři týdny |
|--------------|---------------------|
| 5-FU/LV | 5551 Kč |
| Capocitabin | 11569 Kč |
| Oxaliplatinu | 22169 Kč |
| Irinotekan | 31186 Kč |
| Bevacizumab | 59403 Kč |
| Cetuximab | 99570 Kč |

| | |
|-------------|----------|
| Panitumumab | 99607 Kč |
|-------------|----------|

19. Sledování nemocných

Velmi důležitá pro dlouhodobé přežití nemocných je jejich pečlivá dispenzarizace. Na našem pracovišti volíme sledování nemocných po resekci metastáz kolorektálního karcinomu v rámci jaterní poradny. Považujeme za zásadní sledování pacientů chirurgem, kdy můžeme jako první zareagovat na možnou recidivu. Nemocné dispenzarizujeme ve spolupráci s Radioterapeutickou a onkologickou klinikou FN Plzeň. Po resekci provádíme první klinickou kontrolu s pomocí USG, pokud není důvod k brzkému provedení CT po resekci, např. po rozsáhlém výkonu. USG jako první vyšetření volíme za 6-8 týdnů od jaterní resekce. Tato kontrola slouží zejména k vyloučení pooperačních komplikací, často vyloučí ale jen hrubé patologie na jaterním parenchymu. Nepředpokládáme, že během vyšetření dojde k odhalení nových drobných ložisek. K detekci brzké recidivy slouží spíše další návštěva v jaterní poradně, která je plánována 3 měsíce od operace. Při této kontrole jsou nemocní vyšetřováni pomocí CT, event. při alergii na kontrastní látku použitím magnetické rezonance. Další kontroly v prvních dvou letech po resekci či po jiném výkonu na jaterním parenchymu jsou v pak v intervalech třech měsíců. Vždy střídáme při kontrolách USG a CT (MR) vyšetření. Po dvou až třech letech (dle charakteru výkonu) prodlužujeme interval sledování na půl roku. Samozřejmostí dispenzarizace je, že kromě jaterního parenchymu jsou kontrolovány i plíce a zbytek dutiny břišní, rovněž i nádorové markery, to vše v režii onkologa. Pokud je podezření na možnost generalizace, je doplňováno PET-CT vyšetření. Nezbytné zůstává i sledování nálezu na tračniku gastroenterologem, kdy se nelze spolehnout na vyšetřování možné recidivy či

duplicitního karcinomu tračníku pomocí CT. U nemocných po resekci kolorektálního karcinomu by mělo být provedeno kontrolní koloskopické vyšetření za rok od operace. Výjimku tvoří pacienti, kde z různých důvodů (akutní operace, tumor neprostupný pro koloskop, atd.) nebylo možné provést vyšetření před operačním výkonem, u kterých by mělo být první pooperační vyšetření provedeno do 6 měsíců. Pokud je kontrola bez patologického nálezu, doplňujeme další koloskopii za 3 roky a poté v pětiletých intervalech. Zcela speciální skupinu tvoří nemocní po resekci kolorektálního karcinomu v oblasti rekta. Zde by mělo být endoskopické vyšetření na oblast anastomózy v prvních pěti letech prováděno jednou za 6 měsíců. Při podezření na recidivu, jak v oblasti tlustého střeva, tak zejména na jaterním parenchymu, dovyšetřujeme v rámci jaterní poradny nemocné nejvhodnější metodou a volíme optimální řešení. Pokud již není radikální řešení možné, předáváme nemocné do péče onkologa. I u nemocných žijících mimo plzeňský region proto preferujeme dispenzarizaci v naší poradně, opakovaně jsme se přesvědčili o vhodnosti tohoto postupu. Jde zde zejména o možnost včasné indikace recidiv k provedení dalších zákroků, ať již typu paliativních zákroků (TACE, TARE, RFA), či reoperací. Tento postup upřednostňujeme před sledováním nemocných pouze v režii spádového onkologa či praktického lékaře.

20. Etická otázka použití kmenových buněk v naší studii

Klinický výzkum v oblasti kmenových buněk je spojen s mnoha etickými otázkami. Přestože v naší práci nepoužíváme nejdiskutovanější embryonální kmenové buňky, stejně jsme si položili několik zásadních otázek. U embryonálních kmenových buněk je vždy diskutováno tzv. právo na život. U našich více diferencovaných, ať již mezenchymálních nebo hematopoetických kmenových buněk, si tuto základní otázku pokládat nemusíme. KB dospělého jedince jsou tělu vlastní, více diferencované a navíc autologní. Při studiu publikací o etice je nutno se zamyslet nad tím, zda etika v moderním slova smyslu stále existuje a zda mnoho výzkumů moderní doby nepřekračuje svým principem její hranice. Zde se

dostáváme na slova z knihy *Kmenové buňky – etické a právní aspekty výzkumu* autorů Davida Černého a Adama a Tomáše Doležalových [6], která uvádí, že experimentování s kmenovými buňkami jako součást terapie není vlastně výzkum v daném slova smyslu, ale jde o léčení pacienta, kde již selhaly všechny ověřené a osvědčené léčebné postupy. V takovém případě tedy platí, že takové „experimentování“ nemůže ani být považováno za neetické. Výchozím a základním principem pak zůstává respektování přání (autonomie) daného nemocného, nabídka dalších alternativ a nezbytné dodržování právních norem našeho státu. Jedná se zejména o schválení příslušnou etickou komisí a podepsání (po případném doplňujícím vysvětlení) informovaného souhlasu nemocným. Před podepsáním informovaného souhlasu (schváleného etickou komisí) se vstupem do naší studie dochází k důkladnému vysvětlení problematiky, kroků, které by nemocného při cestě k možné jaterní resekci čekaly, a ponechání času na rozmyšlenou (vždy minimálně do druhého dne). Nemocný je zároveň poučen, že kdykoliv může z klinické studie vystoupit a dále nepokračovat.

Pro nás samotné první zcela jasnou otázkou bylo, zda podání KB nemůže v organismu způsobit, kromě požadovaného urychlení hypertrofie, i progresi metastatického postižení. Tuto situaci nebylo možné ověřit na zvířecích modelech, kde bylo urychlení hypertrofie zkoušeno. Všichni nemocní tak byli na tuto možnost upozorněni. Jak bude následně ve výsledcích uvedeno, progresi nádoru jsme pozorovali zejména na straně provedení PVE, ale byla nezávislá na aplikaci KB. Další otázkou pak bylo, zda nebude docházet k progresi nádoru při stimulaci kostní dřeně v celém organismu. Žádnou progresi, které by se vymykala z předchozích zkušeností s nemocnými s pokročilým metastatickým postižením kolorektálním karcinomem (u kterých byla provedena PVE bez aplikace KB), jsme během celé studie nezaznamenali (viz výsledky).

Zásadním faktorem je pak otázka svědomí každého jednotlivého chirurga, ten by měl přemýšlet o svých krocích. Nelze provést zákrok a být přesvědčen, že jsme neudělali pro nemocného maximum a stejně tak nelze provádět klinické výzkumy bez rizika. Je však nutné před jejich uvedením v praxi postupovat dle zásad

„evidence based medicine“ a tím minimalizovat riziko poškození pacienta před prosazováním osobních cílů.

III. Vlastní klinický výzkum

21. Úvod

Kolorektální karcinom je celosvětově druhým nejčastějším karcinomem, Česká republika je na předních místech incidence na světě. Jaterní metastázy se během onemocnění objeví až u 80 % pacientů. 5leté přežití nemocných bez radikální operace, i přes pokrok v chemoterapii a dalších paliativních metodách, zůstává nižší 1 %. Primární operabilita se i nadále celosvětově ve velkých centrech pohybuje mezi 15-25 %. Hlavní příčinou nízké resekability jaterních metastáz je nedostatečný zbytek parenchymu po jaterní resekci (FLRV). V současné době, kdy se posouvá věk pacientů s kolorektálním karcinomem do produktivního věku, představuje metastatické postižení jater i závažný socioekonomický problém.

Hlavní možností zvýšení FLRV a tím resekability CLM zůstává embolizace větve portální žíly (PVE) na straně nádorového postižení. Avšak asi u 30-40 % nemocných nedochází po PVE k dostatečné hypertrofii jaterního parenchymu, u jiných nádorové postižení během doby potřebné k hypertrofii progreduje. Proto se stále hledají nové možnosti, jakým způsobem předcházet selhání PVE či progresi nádoru. Jako jedni z mnoha se snažíme nalézt vhodný způsob, jak podpořit růst zbylého jaterního parenchymu a urychlit hypertrofii druhostranného jaterního laloku bez ovlivnění růstu CLM. Urychlením regenerace chceme zabránit možnému růstu nádoru v jaterním parenchymu. Jako nadějná se ukazuje cesta aplikace hematopoetických progenitorových buněk (adultních kmenových buněk)-HPC po předchozí PVE do neembolizované větve portální žíly. Tyto buňky nejen urychlují jaterní regeneraci, ale i zlepšují jaterní funkce, což je důležité zejména u nemocných po neadjuvantní chemoterapii a s primárně poškozeným parenchymem (steatóza, cirhóza). Tuto metodu jsme upřednostnili pro její malá rizika a předpokládanou nízkou mortalitu před jinými (ALLPS, atd.).

22. Metodika

22.1 Soubor nemocných

Retrospektivně jsme zhodnotili skupinu 18 primárně inoperabilních nemocných, u kterých jsme použili novou kombinaci metod PVE s aplikací HPC. Tuto skupinu jsme následně ještě porovnali se skupinou nemocných (též 18 pacientů), kde ve stejném časovém intervalu byla použita k hypertrofii jaterního parenchymu jen samotná PVE. Novou metodu jsme poprvé využili u nemocných s CLM v klinické praxi v červenci 2010. Před zařazením prvního pacienta došlo ke schválení postupu Etickou komisí Fakultní nemocnice Plzeň. Do studie byli zařazeni nemocní s primárně neoperabilními CLM z důvodu nedostatečné FLRV, u kterých byla zobrazovacími metodami (PET-CT) vyloučena jiná než jaterní generalizace kolorektálního karcinomu. Za nedostatečný FLRV jsme považovali objem menší

než 25 % u předpokládaného zdravého parenchymu a 30-35 % u nemocných, kde byl jaterní parenchym poškozen primárním onemocněním (steatóza, cirhóza), či předchozí protražovanou chemoterapií. Vždy před zařazením do studie jsme proto provedli vstupní CT-volumometrii jater s určením FLRV. Funkci jaterního parenchymu jsme hodnotili podle klinických a laboratorních parametrů a dále retenčním testem indocyaninové zeleně, kde jsme používali hodnotu R15 (Limon, PulsionMedical Systems AG, Munich, Germany). Hodnotili jsme zároveň objem a počet metastáz. Všichni nemocní byli důkladně informováni o navrženém léčebném postupu s upozorněním na možná nebezpečí (především možnosti další progresse nádoru) a podepsali informovaný souhlas. Indikace k výkonu byla stanovena multioborovým týmem (chirurg, onkolog, radiolog).

22.2 Statistika

Statistická analýza byla provedena s užitím software SAS (SAS Institute Inc., Cary, NC, USA) a STATISTICA (StatSoft Inc., Tulsa, OK, USA). Pro měřené parametry v celém souboru a v jednotlivých skupinách a podskupinách byly počítány základní statistické údaje.

Pro zjištění závislostí zkoumaných znaků, vzhledem k negausovskému rozdělení těchto proměnných, byl použit Spearmanův koeficient korelace. Rozdíl zkoumaných parametrů mezi skupinami byl testován pomocí dvouvýběrového Wilcoxon testu. U vybraných proměnných jsme vztah zkoumaných markerů nebo jejich změn na proměnnou vyjádřili pomocí specifity, senzitivity a rizika (Odds Ratio). Tyto rozdíly byly analyzovány pomocí Fisherova exaktního testu. Vývoj zkoumaných parametrů v čase byl testován pomocí párového Wilcoxon testu nebo párového mediánového testu a tam, kde jsme měli více časových okamžiků, jsme vývoj testovali pomocí Friedman ANOVY. Výpočet celkového přežití (Overall Survival), Disease Specific Survival a Progression Free Survival byl proveden pomocí Kaplan–Meier testu. Rozdíl v přežití a PFS mezi zkoumanými skupinami

byl testován pomocí Wilcoxon Testu a Log-Rank Testu. U zkoumaných markerů byl cut off nastaven na hladině mediánu (rozdělení pacientů do 2 stejně velkých skupin). Vliv jednotlivých faktorů na OS, resp. PFS, byl modelován pomocí Coxova regresního modelu. Vzhledem k malému počtu pacientů a většímu počtu zkoumaných proměnných byly zpracovány pouze univariační testy. Statistická významnost byla nastavena na hranici $\alpha = 10\%$.

22.3 Zkoumané parametry

U všech nemocných (v obou porovnávaných skupinách, tj. u první PVE + aplikace HPC a i druhé, kde byla provedena jen PVE) jsme po celou dobu sledování, v týdenních intervalech, vyšetřovali sérové hladiny růstových faktorů – HGF, VEGF, IGF-1, IGF-BP3, EGF, TGF α , a TNF α , a zánětlivých cytokinů IL2, IL6, IL8 a IL 10. Následně jsme sledovali jejich hladiny před a po PVE, a během celé doby hypertrofie, tedy od PVE až k resekčnímu řešení.

Sérové koncentrace růstových faktorů IGF-1 a IGF-BP3 byly stanovovány imunoradioimunoanalytickou metodou (IRMA IGF, Beckman Coulter, USA; IRMA IGFBP3, DiaSource, Belgium). Kvantifikace plazmatických hladin HGF, EGF, TGF α , IL10, IL2, IL6, IL8, TNF α and VEGF pak byla stanovena pomocí „magnetic bead multiplex immunoassays“ (Millipore, Billerica, MA, USA) a MagPix instrument (Luminex Corporation, Austin, USA). „MILLIPLEX Human Cytokine/Chemokine Magnetic Bead Panel“ (Merck, Darmstadt, Germany) byl použit k měření hladin EGF, TGF α , IL10, IL2, IL6, IL8, TNF α , VEGF a „MILLIPLEX Human Adipokine Magnetic Bead Panel 2“ (Merck, Darmstadt, Germany) byl využit ke stanovení sérové koncentrace HGF.

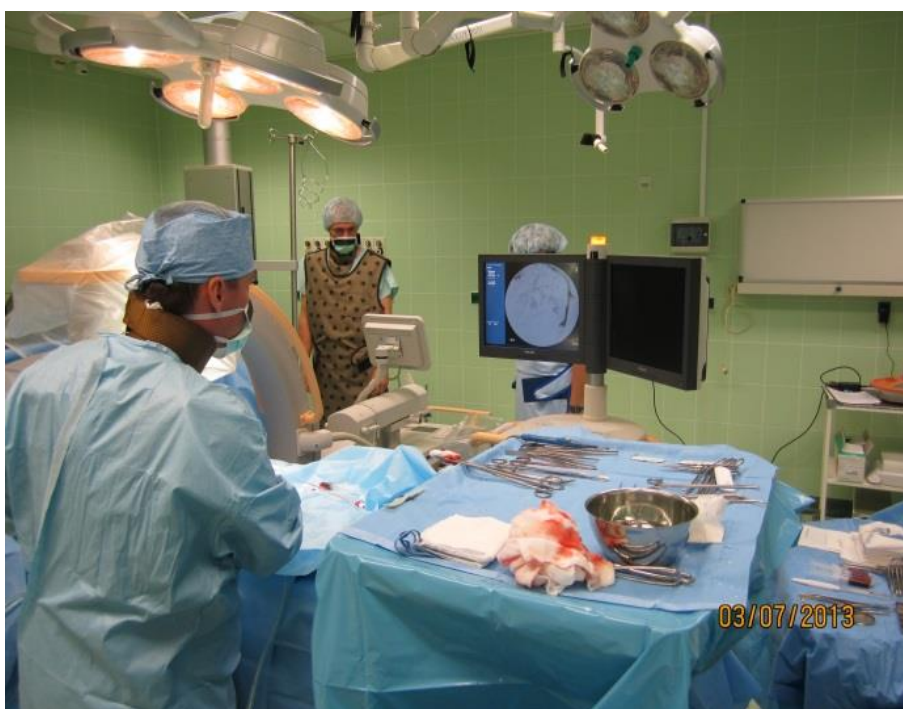
22.4 Provedení

Celý postup PVE a aplikace HPC byl v několika krocích. Jako první jsme provedli (ve spolupráci s intervenčními radiology) PVE transparietální cestou pomocí směsi Histoacryl (BBraun, Germany) a Lipiodol (Cedex, France) v poměru 1:10.

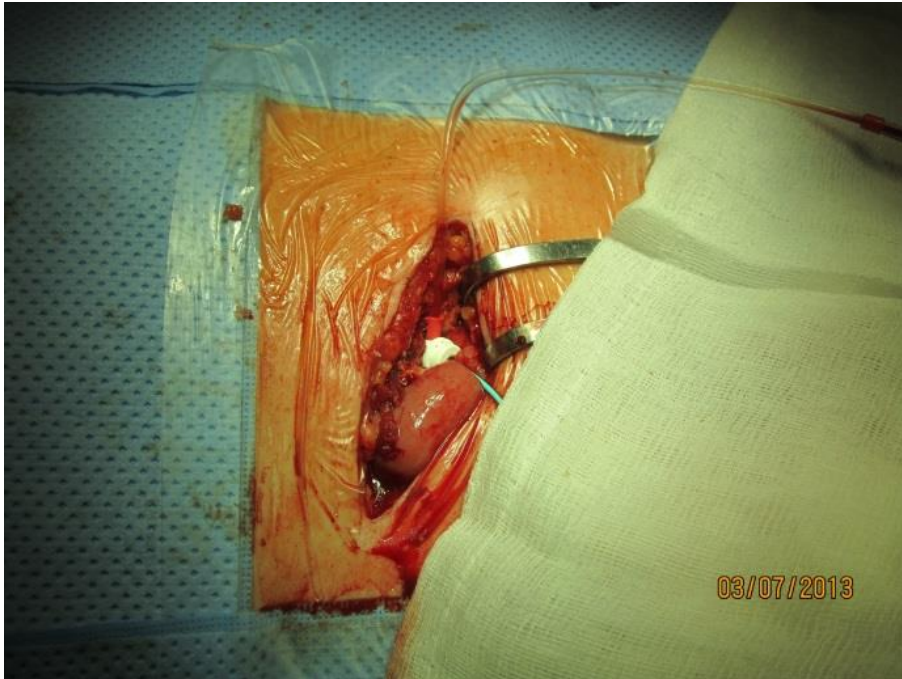
Kmenové buňky jsme odebírali dvěma metodami. První možností bylo využít spolupráce hematologů a použít ke „sběru“ kmenových buněk metodu aferézy z periferní krve. U těchto nemocných jsme museli, vzhledem k možné kontaminaci, vyloučit krví přenosná onemocnění (HIV, HBV, HCV, syfilis). Poté jsme stimulovali HPC z kostní dřeně pomocí Granulocyte-colony stimulating factor (filgrasim, G-CSF, Neupogen, AmgenEurope B.V., Breda, Holandsko) v dávce 10 µg/kg/den. Od čtvrtého dne stimulace byla monitorována hladina CD34+ a CD 133+ pozitivních buněk. Při dostatečné hladině byla provedena aferéza pomocí kontinuálních separátorů krevních buněk Cobe Spectra (Termo BCT, Lakewood, CO, USA), programem pro odběr mononuclearních leukocytů (MNC program, software verze 6.1). Zpracovány byly vždy cca 2 celé objemy krve nemocného, jako antikoagulant byl použit roztok na bázi citrátu (ACD-A, Baxter, Deerfield, IL, USA) v poměru 1:12 – 1:14 k plné krvi. Objem získaného produktu byl 196 ml (160-225 ml). Tuto složitější metodu jsme provedli u prvních deseti nemocných. Druhou možností získání HPC pak byl jejich přímý odběr z lopaty kosti kyčelní. Takto jsme postupnou aspirací vždy získali minimálně 400 ml roztoku kostní dřeně. Ta byla nejprve předána do speciálních kontejnerů (X-2000) a po jejich centrifugaci zpracována speciálním přístrojem od firmy SynGen (SynGen, Lab. X-2000 system, Sacramento, California, USA). Po zpracování vzniklo cca 40 ml produktu obsahujícího velké množství nejen progenitorových hematopoetických buněk, ale i buněk mezenchymových. Přibližné stejné množství buněk CD34+ a CD133 bylo zachováno jako u předchozí metody. Tato metoda je v současnosti požívaná přednostně na našem pracovišti. Ve studii jsme tuto metodu použili u osmi pacientů.

Jako metodu aplikace jsme zvolili cestu otevřenou. V celkové anestézii jsme provedli střídavý řez v pravém podbřišku. V minulosti musel nemocný postoupit nejprve aferézu a následně ještě operaci. V dnešní době tedy odebíráme HPC z lopaty kosti kyčelní a následně u nemocného měníme polohu na operačním stole, kdy pacienta přetáčíme z břicha na záda a pokračujeme střídavým řezem. Následně do rány luxujeme terminální kličku ilea a v mezenteriu hledáme příhodnou větev ileokolické žíly. Tu následně preparujeme pro intervenčního

radiologa, který touto cestou selektivně zavádí, pod skiagrafickou kontrolou, katétr do neembolizované větve portální žíly (nejčastěji levé)(obr.34). Po zajištění katetru produkt aplikujeme pomalou infúzí selektivně na začátek portálního oběhu pro „zdravý“ jaterní lalok (obr.35). Pro aplikaci využíváme infuzních pump, aby nedošlo k příliš rychlé aplikaci. Vzhledem k hustotě produktů v obou případech využíváme infúze, která trvá vždy minimálně 30 minut. Po operaci, pokud nedojde ke komplikacím, je nemocný propouštěn druhý pooperační den do domácího ošetřování.



Obr.34 Uložení správné pozice katetru pod skiaskopickou kontrolou



Obr.35 Aplikace HPC cestou střídavého řezu

22.5 Sledování

Růst kontralaterálního jaterního laloku následně sledujeme pomocí low-dose CT s volumetrií jater v týdenních intervalech po aplikaci HPC. Kontrolujeme hypertrofii i možnost zřejmé progresy jaterního postižení. Jakmile dojde k dostatečnému nárůstu objemu kontralaterálního laloku jater (u zdravých jater min. 30 %), nemocného indikujeme k radikální resekci jaterního parenchymu postiženého CLM. Nejčastějším plánovaným výkonem byla rozšířená pravostranná hepatektomie. Pokud jsme při operaci našli systémovou či nitrojaterní progresi nádoru znemožňující resekci, byla u nemocných provedena jen explorativní laparotomie a po propuštění byli nemocní dále léčeni onkologem.

U druhé skupiny nemocných (N=18) jsme provedli jen PVE. Tato skupina nemocných se vyznačovala spíše jen hraničním FLRV a ne alterací dalších vyšetřovaných hodnot (JT, ICG), u většiny těchto pacientů neproběhla vůbec žádná onkologická léčba po odstranění karcinomu tlustého střeva, rekta. Nemocní byli sledováni ve stejných intervalech jako předešlá skupina. I v této skupině byli

nemocní sledování, včetně náběrů běžných i speciálních (růstové faktory, IL, atd.) a CT.

Od začátku celé studie jsme si byli vědomi malého počtu nemocných, ale vzhledem k tomu, že jde o vysoce specializovanou metodu, nelze předpokládat v rámci jednoho pracoviště a v daném časovém intervalu větší počty nemocných.

22.6 Demografie

Od roku 2010 do konce roku 2014 jsme do obou větví studie zařadili celkem 18 nemocných. První skupinou byli pacienti, kde byla provedena kombinace PVE a aplikace kmenových buněk. Do druhé skupiny (srovnávací) jsme zařadili stejný počet pacientů, u kterých byla provedena embolizace portální žíly bez aplikace HPC či jiné simulace kostní dřeně.

Průměrný věk nemocných v době provedení PVE ve skupině, kde byla následně ještě provedena aplikace HPC, byl 64 let. V zastoupení pohlaví převládali muži (13, tj. 72 %), ku ženám (5, tj. 28 %). Průměrný věk nemocných mužů byl vyšší než celkový průměr a to 65,3 let, u žen pak nižší a to 60 let.

Ve druhé skupině, kde byla provedena jen PVE, byl průměrný věk 62,3 roku, zde bylo zastoupení pohlaví zcela stejné. Ženy byly starší s věkovým průměrem 66,7 roku, muži mladší celkového průměru 60,9 roku. Přes malé počty nemocných se jednalo tedy o věkově homogenní skupiny (tab. 6), kdy v obou skupinách byli nemocní stejně staří, obdobných komorbidit.

Tabulka č. 6 Věk nemocných v době PVE.

| Průměrný věk | PVE + aplikace HPC (v letech) | PVE (v letech) |
|---------------------|--|---------------------------|
| Žen | 60 (53,7-67) | 66,7 (53,4-78,6) |

| | | |
|---------------|------------------|------------------|
| Mužů | 65,3 (50,4-75,2) | 60,9 (46,3-71,6) |
| Celkem | 64 (50,4-75,2) | 62,3 (46,3-78,6) |

Pacienti byli vždy již po resekci primárního nádoru na tračníku a primární jaterní resekce nebyla možná z důvodu nedostatečného FLRV. Všichni nemocní byli indikováni k etapovému postupu v rámci multioborového týmu, bylo provedeno PET-CT k vyloučení mimojaterní generalizace. V případě příznivého nálezu na PET-C jsme nemocnému navrhli postup a následně po podepsání informovaného souhlasu byl nemocný zařazen k etapovému výkonu PVE s aplikací HPC.

23. Výsledky

Úspěšná embolizace proběhla ve všech 36 případech, jen jednou došlo k aplikaci nevelkého množství embolizačního materiálu do levé větve portální žíly ve skupině nemocných s aplikací HPC. Přes tento stav byl nemocný indikovaný k operaci.

K operaci jsme indikovali všech 18 pacientů ve skupině s PVE a aplikací HPC. Během doby nutné k hypertrofii jsme nezaznamenali žádnou komplikaci, jež by vedla k nutnosti ustoupit od resekcčního výkonu.

Ve druhé skupině, kde byla provedena jen samotná PVE, bylo indikováno operační řešení u 15 nemocných. U dvou nemocných z této skupiny i přes dobře provedenou PVE nedošlo k žádnému nárůstu FLRV a u třetího nemocného došlo k výrazné progresi nádorového postižení jater.

Průměrný počet metastáz ve skupině, kde byla provedena jen embolizace portální žíly, byl 6 (1-12), metastázy před embolizací měly objem 166 ml (7-650). U nemocných, kde byla provedena i aplikace HPC byl průměrný počet metastáz 5 (1-14), s průměrným objemem 70 ml (4-465) (tab. 7). Rozdílný objem metastáz ve

skupinách byl dán zejména velikostí metastáz, kdy u třech nemocných ve skupině, kde byla provedena jen samotná PVE, byl objem ložisek nad 400 ml. Naopak ve skupině nemocných s aplikací HPC bylo častější bilobární postižení.

Tabulka č. 7 Počet a objem metastáz.

| Skupina | Počet metastáz | Objem metastáz |
|--------------------|----------------|----------------|
| PVE | 6 (1-12) | 166 (7-650) ml |
| PVE a aplikace HPC | 5 (1-14) | 70 (4-465) ml |

Chemoterapii před jaterní operací podstoupilo ve skupině bez aplikace KB 11 nemocných (61 %), nejčastějším typem bylo schéma FOLFOX 4 (což představuje 130 mg/m² oxaliplatinu a 400 mg/m² leucovorinu na den následovaných 46hodinovou infuzí 5-FU v dávce 2 400 mg/m² každé 2 týdny) celkem u pěti nemocných. Ve druhé skupině (PVE s aplikací HPC) pak podstoupilo chemoterapii před zařazením do studie 14 pacientů (77 %). Stejně jako v první skupině byl nejčastějším schématem FOLFOX 4 u 8 nemocných. Biologická léčba k potenciaci chemoterapie byla v první skupině použita jen u pěti pacientů (45 %), naopak ve skupině, kde jsme aplikovali KB, byla léčba většinou kombinována s biologickými preparáty a to v 11 případech (78 %). Nejčastějším používaným preparátem biologické léčby byl Bevacizumab (Avastin) (tab. 8). Průměrná doba od ukončení onkologické léčby byla 4,3 měsíce.

Tabulka č. 8 Chemo a bioterapie.

| Skupina | Bez CHT | CHT | Bez BT | BT |
|-----------------------------------|----------|-----------|----------|-----------|
| PVE | 7 (39 %) | 11 (61 %) | 6 (55 %) | 5 (45 %) |
| PVE + aplikace HPC | 4 (23 %) | 14 (77 %) | 3 (22 %) | 11 (78 %) |

Právě protrahovaná adjuvantní chemoterapie byla hlavním důvodem nutnosti podpory zlepšení jaterních funkcí ve skupině nemocných, kde byla provedena aplikace kmenových buněk. 11 nemocných (61 %) podstoupilo více než 12 cyklů chemoterapie. U všech nemocných jsme před zařazením do studie provedli ICG test (test indocyaninové zeleně) s výpočtem jeho hodnoty v 15. minutě po aplikaci barviva (R15). Normální hodnoty R15 jsou 0-10 %, hodnoty kolem 15 % se již berou za závažnější postižení jaterních funkcí. Při alteraci ICG testu by měla být běžná resekce relativně kontraindikována z důvodu vyššího rizika pooperačního jaterního selhání. Alterace ICG testu byla zjištěna u 10 nemocných (55 %) (tab. 9). Jak již bylo výše uvedeno, nezaznamenali jsme u žádného pacienta po radikální resekci těžké jaterní selhání.

Tabulka č. 9 ICG test.

| Alterace ICG- testu | Počet nemocných | Průměrný R15 (%) |
|----------------------------|------------------------|-------------------------|
| ANO | 10 | 14,8±3,8 |
| NE | 8 | 3,4±4,2 |

Primární lokalizací nádoru bylo v první skupině nejčastě colon sigmoideum 50 % pacientů, stejně jako ve druhé skupině, kde byl karcinom sigmoidu resekován ve 44 %. Zajímavým faktem je to, že v obou skupinách se jednalo spíše o karcinomy distální části tračníku (sigma + rektum v 77 %, resp. 72 %).

Zásadním ukazatelem pro nás byly hodnoty hypertrofie jaterního parenchymu před PVE. Ve skupině, kde byla provedena jen PVE, byl celkový objem jaterního parenchymu průměrně 1921 ml (984-2679 ml), průměrná hodnota FLRV 544 ml (268-872 ml), což představovalo průměrně 28,5 % (15-36,3 %). Ve skupině, kde byly aplikovány HPC, pak celkový objem jater byl 1719 ml (866-2121 ml). Průměrnou hodnotou FLRV bylo 539 ml (179-880 ml) (tab. 10). To představovalo 31 % (19-45 %). U jednoho nemocného s vysokou hodnotou FLRV (45 %) bylo před zařazením podáno 20 cyklů chemoterapie a navíc byl dlouhodobě sledován pro alkoholovou hepatopatii, proto přes vysoký FLRV nebyl primárně resekován.

Tabulka č. 10 Objemy jater před PVE a PVE s aplikací HPC.

| Skupina nemocných | TLV (total liver volume) | FLRV (v cm ³) | FLRV (v procentech) |
|-------------------|-----------------------------|---------------------------|------------------------|
| PVE | 1921 | 544 | 28,5 |
| PVE + KB | 1719 | 539 | 31 |

Hodnoty celkového objemu (TLV) v první skupině před jaterní resekcí byly celkem 1809 ml, to představuje celkové zmenšení objemu jater o 6 %, hodnoty FLRV narostly na průměrných 647 ml (18 %), a tím se celkový FLRV zvýšil na 36 %. Ve druhé skupině se celkový objem jater příliš nezměnil, byl 1721 ml. Naopak výrazně se změnila hodnota FLRV, byla před resekcí 698 ml (30 %) tj. 41 % TLV (tab. 11).

Tabulka č. 11 Objemy jater před resekcí.

| Skupina nemocných | TLV (total liver volume) | FLRV (v cm ³) | FLRV (v procentech) |
|-------------------|--------------------------|---------------------------|---------------------|
| PVE | 1809 | 647 | 36 |
| PVE + HPC | 1721 | 698 | 41 |

Zásadní informací byla možnost provedení radikálního výkonu. Zde jsme ve skupině, kde byla provedena jen PVE, provedli celkem 16 operací. Sedm z těchto výkonů představovala pouze explorativní laparotomie, kdy nebylo možné provést radikální výkon (nejčastěji z důvodu progresu jaterního postižení). Radikální resekci bylo možné provést jen v 9 případech (50 %), nejčastějším výkonem pak byla rozšířená pravostranná hepatektomie (ERH) 6x, rozšířena byla ve všech případech o S4, ve dvou případech se jednalo o pravostrannou hepatektomii (RH)

doplněnou radiofrekvenční ablací a v posledních dvou o pravostrannou hepatektomii. Ve druhé skupině, kde byly kromě provedení PVE aplikovány ještě HPC, dospěli k operačnímu řešení všichni nemocní. U čtyř pacientů nebylo možné provést radikální výkon. Ve třech případech z důvodu progresu nádoru, u čtvrtého pak radikální výkon znemožnily těžké nitrobrišní srůsty po předchozích operacích a výkon skončil jen explorací i přes dostatečný nárůst FLRV. U zbylých 14 nemocných (77 %) jsme byli schopni CLM radikálně odstranit. Nejčastějšími výkony byly opět rozšířené ERH a PH obě zastoupené v sedmi případech (tab. 12).

Tabulka č. 12 Operační výkony.

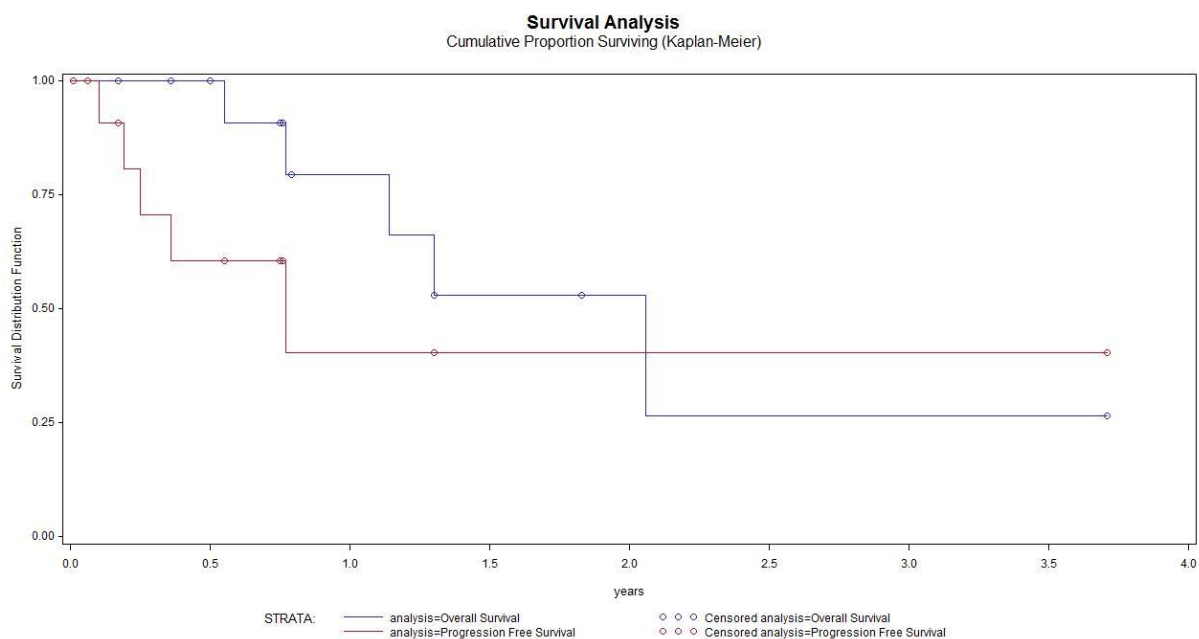
| Skupina nemocných | Nebyl operován | Explorace | ERH | RH | RH + RFA |
|-------------------|----------------|-----------|----------|----------|----------|
| PVE | 2 (11 %) | 7 (39 %) | 6 (33 %) | 2 (11 %) | 2 (11 %) |
| PVE + HPC | 0 | 4 (22 %) | 7 (39 %) | 7 (39 %) | 0 |

Recidiva onemocnění v první skupině, tedy u nemocných kde nebyli aplikovány kmenové buňky, se vyskytla u všech 18 nemocných (100 %), DFI do recidivy onemocnění byl u nemocných radikálně operovaných průměrně 1,15 roku (0,13-2,85). Průměrná doba sledování byla 1,71 (0,33-5) roku. Problémem sledování první skupiny bylo, že někteří nemocní se dostavili jen na jednu kontrolu, kde byla prokázána recidiva a dále se již nemocní přes objednání na kontroly nedostavili. Zemřelo 5 nemocných (27 %) průměrně 2,11 (1,6-3,7) roku od operace, všichni na generalizaci onemocnění. Ve druhé skupině (u nemocných s aplikací HPC) byla průměrná doba sledování 1,12 (0,08-4,2) roku, zemřelo 5 nemocných (27 %) průměrně 1,6 (0,5-2,6) roku od operace. Tři zemřeli na progresi onemocnění, dva z jiných důvodů (akutní cholangitída, infarkt myokardu). U dalších tří nemocných byla recidiva řešena RFA pod CT kontrolou. Zásadním zjištěným faktem je, že 9

(70 %) nemocných z 13 přeživších zatím žije bez známek recidivy onemocnění. DFI v této skupině byl 0,88 (0,1-4,2) roku (obr. 36). Problémem druhé skupiny zůstává fakt, že šest pacientů (33 %) bylo zařazeno do studie v posledních 10 měsících (tab. 13). Jako zásadní jsme brali zejména vyšší operabilitu ve druhé skupině, kdy jsme byli schopni radikální výkon provést u 77 % nemocných, což je oproti první skupině více než čtvrtinový rozdíl. Druhým jasně pozitivním faktorem je množství nemocných bez recidivy základního onemocnění, kde tato informace zcela jistě ukazuje na vhodnost provádění PVE + aplikace HPC, vylučuje naopak předem zvažovanou progresi metastáz primárního nádoru v organismu po aplikaci kmenových buněk.

Tabulka č. 13 Střednědobé sledování nemocných.

| Skupina nemocných | Průměr DFI (v letech) | Mortalita (v %) | Počet recidiv (v %) |
|--------------------------|------------------------------|------------------------|----------------------------|
| PVE | 1,15 | 27 | 100 |
| PVE + HPC | 0,88 | 27 | 50 |



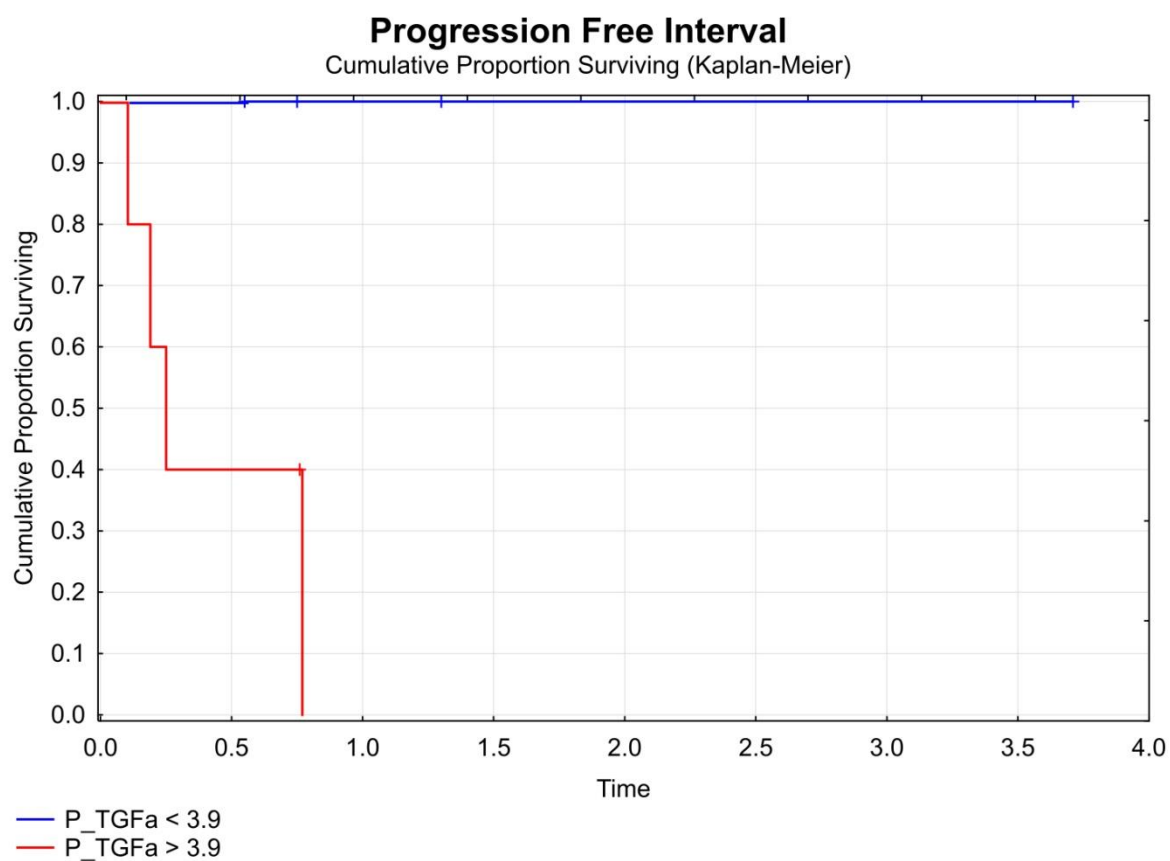
Obr. 36 OS a DFI skupiny nemocných s PVE a aplikací HSC.

Pokud se budeme více věnovat skupině nemocných, kde byla provedena aplikace kmenových buněk, musíme zmínit následující výsledky. Odběr a aplikace HPC proběhla u všech 18 pacientů bez komplikací. Po leukaferéze se objevila u některých nemocných mírná citrátová toxicita, která ale byla vždy zvládnuta jen infúzní terapií. Zpracováno bylo průměrně u každého pacienta celkem 10000 ml krve (6000-12000) při době trvání odběru 138 minut (129-154). Aferézní produkt obsahoval $10,97 (2,96-23,30) \times 10^7$ CD34+ buněk, resp. $5,83 (1,19-19,10) \times 10^7$ CD133+ buněk. Minimální předpokládaný počet buněk CD34+ byl nad 2×10^7 , resp. 1×10^7 u CD133+. Požadovaná dávka HPC byla splněna tedy u 100 % odběrů.

PVE byla provedena bez větších komplikací. U jednoho nemocného došlo k úniku embolizačního materiálu i do levých segmentů (5,5 %). Průběh hospitalizace byl komplikován u dvou nemocných (morbidita výkonu 12,5 %). U jednoho pacienta se objevila po zákroku pneumonie a u druhého několik dnů trvající zmatenost s nutností psychiatrické intervence. Aplikace HPC cestou střídavého řezu proběhla

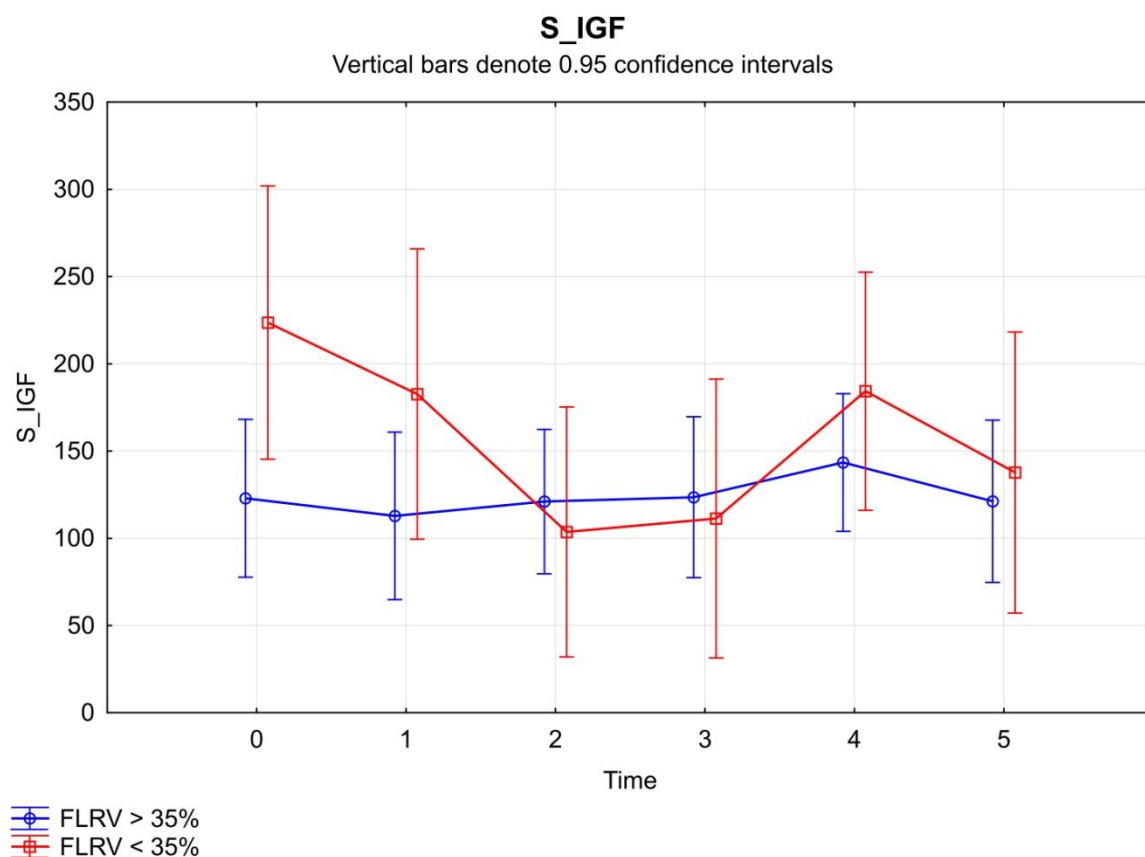
ve všech případech bez komplikací. Rány se zhojily per primam, nezaznamenali jsme žádné infekční či jiné komplikace. Objem metastáz byl před výkonem 76,6 (6-465) ml. Během intervalu mezi embolizací portální žíly a aplikací HPC a resekcí se změnil průměrný objem metastáz kolorektálního karcinomu na 129,8 (5-832) ml. Jednalo se o významný nárůst o 77,6 %. Průměrná doba potřebná k dostatečné hypertrofii byla 20 dnů (14-25). Celková doba od PVE s aplikací kmenových buněk do jaterní resekce byla maximálně čtyři týdny. Oproti tomu doba mezi PVE a resekcí byla průměrně 7 týdnů.

Z hlediska nárůstu velikosti CLM se jako důležitý sérový prognostický marker projevil IL 8 ($p < 0.0083$), kdy hodnota nad 6,3 pg/ml byla protektivní a pod 6,3 pg/ml vždy znamenala větší progresi objemu metastázy. Dalším důležitým prognostickým ukazatelem byl TGF α , jehož sérová hladina před PVE s aplikací HPC $< 3,9$ pg/ml charakterizovala následný dlouhý DFI, naopak hladina $> 3,9$ pg/ml svědčila pro brzkou recidivu nádorového onemocnění do šesti měsíců po resekci jater (obr. 37). Obdobný cut off jsme našli u IL8 a IL 2, kde brzká recidiva nádoru po radikální resekci jater byla u sérových hladin > 25 pg/ml, resp. $> 3,21$ pg/ml.



Obr. 37 DFI interval u nemocných s TGFα pod a nad hodnotou 3,9 pg/ml.

Ze všech markerů byl statisticky významný pro nárůst FLRV nad 35 % IGF (inzulinu podobný růstový faktor). Sérová hladina IGF během doby od PVE s aplikací HPC k resekci u nemocných s kvalitním nárůstem FLRV je víceméně stabilní, naopak tam kde nedocházelo k dobré hypertrofii, jsme zaznamenali v průběhu prvních dvou týdnů významný pokles v hladině IGF ($p < 0.0364$) (obr. 38).

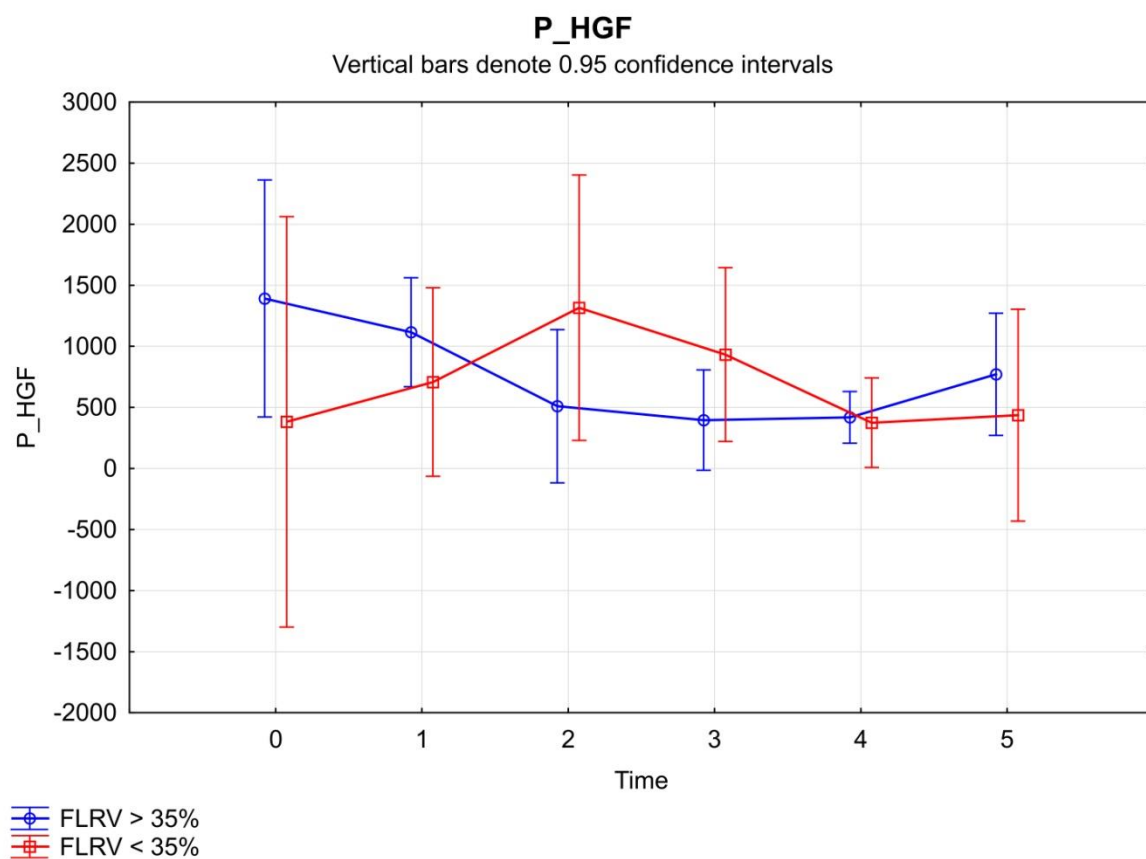


Obr. 38 Sérová hladina IGF v čase.

Dále jsme hodnotili význam cut-off sérových hladin faktorů před jaterní resekcí pro úspěšnost této resekce. Zjistili jsme, že pozitivními hodnotami pro úspěšnou resekci jater u EGF je sérová hodnota pod 80 pg/ml, u HGF nad 310 pg/ml (vše s $p < 0.0455$), u VEGF pod 200 pg/ml, IGF nad 90 ng/ml, IL6 pod 35 pg/ml, IL8 pod 50 pg/ml (vše $p < 0.0909$), IL2 a TGF α pod 3,21 pg/ml ($p < 0.0545$).

Zajímavá byla časová dynamika některých faktorů po PVE s aplikací HPC. Pozorovali jsme elevaci sérových hladin zejména u IGF, IGFBP3 (insulin like growth factor binding protein 3 – vázací protein 3 pro insulinu podobný růstový faktor), HGF, IL8 v prvním týdnu po výkonu s následným poklesem v následujících týdnech před jaterní resekcí (obr. 39). Ukázalo se také, že následně po operačním

zákroku již jaterní parenchym nereaguje většími změnami v hladinách růstových faktorů či interleukinů, ale že nejspíše již jen pokračují procesy v jaterním parenchymu v nastaveném procesu regenerace po PVE.



Obr.37 Vývoj sérové hladiny HGF v čase.

24. Diskuze

První podvaz portální žíly (PVL), který byl použit k dvouetapové resekci jater, byl publikován v roce 1961. O té doby se vyzkoušelo a publikovalo mnoho otevřených způsobů okluze portální žíly. Od předoperační a pak i peroperační PVL, přes PVE (poprvé 1982) z ileokolického přístupu, po transhepatickou PVE prováděnou intervenčními radiology jako miniinvazivní postup. Obě metody mají maximální účinnost v průměru 60 % ve smyslu nárůstu FLRV (v našem kontrolním souboru 50 %). Ve vysokém procentu je důvodem inoperability dlouhá časová prodleva mezi provedením embolizace portální žíly a jaterní resekcí. Během potřebné doby u řady nemocných dochází k progresi metastatického postižení. Někdy dochází k příznivé hypertrofii až za několik měsíců.

Jistou možností vylepšení metody by mohla být PVE pravé větve portální žíly v kombinaci s embolizací větve portální žíly pro čtvrtý jaterní segment. IV. jaterní segment je zásoben krví jak z pravé, tak z levé větve portální žíly a tím, pokud jsou metastázy uloženy právě v tomto segmentu, může dojít během doby potřebné k hypertrofii k progresi jejich velikosti. Tento postup se dle některých studií /8, 9/ jeví bezpečným a navíc hypertrofie FLRV probíhá rychleji než při klasické embolizaci. Na našem pracovišti zatím není tento postup všeobecně prováděn. Jde spíše o jednotlivé případy, kde je proveden jen po domluvě s indikujícím chirurgem. Limitacemi dané metody jsou zkušenost provádějícího intervenčního radiologa a nebezpečí nechtěné aplikace materiálu i do portální žíly pro zdravý lalok.

Z výše uvedených důvodů jsou v současné době hledány jiné metody, které by dokázaly zkrátit interval nutný pro nárůst FLRV na minimum. Jednou z úvah je podpořit hypertrofii a rychlost regenerace podáním specifické látky (kmenové buňky, růstové faktory, atd.). Další, novou metodou je operační technika nazvaná „Associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy“ (ALPPS-tzv. volně přeloženo jako společné jaterní rozdělení a podvaz portální žíly pro etapovou resekci jater). Tu jako chirurgickou novinku předvedl v roce 2011 Lang,

následně publikoval další případy a metodiku De Santibañes v roce 2012 [8]. Tento postup, přes výbornou a rychlou hypertrofii jaterního parenchymu v intervalu do jednoho týdne po výkonu, je však zatížen vysokou mortalitou (12-22 %). Důvodem vysoké mortality jsou časté infekční komplikace po rozdělení, kdy je následně nutné provádět akutní hepatektomie v zánětlivé fázi, někdy je po výkonu FLRV nedostatečný a dochází k jaternímu selhání. V podmínkách našeho pracoviště tato mortalita není přípustná. Shodujeme se spíše s názory zejména japonské a americké školy, především jde o současný trend minimalizovat možnost perioperační mortality [43]. Proto jsme pro naši studii hledali, tak jako řada jiných pracovišť [2,10], jinou metodu, která by byla vysoce efektivní pro rychlý nárůst FLRV a přitom byla zatížena minimální mortalitou a morbiditou.

Inspirovali jsme se proto novou slibnou eventualitou pro náhradu poškozených funkcí jednotlivých orgánů, a to kmenovými buňkami. V současné době je jejich využití v oblasti regenerativní medicíny směřováno zejména pro zlepšení funkce srdce, jater, mozku, míchy, atd. Využívají se zatím spíše u vrozených onemocnění či u progresivních degenerativních chorob (hemochromatóza, Alzheimerova demence, aj.). Největší potenciál, dle proběhlých studií, by mohly mít pluripotentní kmenové buňky schopné se diferencovat do všech buněčných linií. Za buňky tohoto typu lze považovat embryonální a indukované pluripotentní kmenové buňky. Bohužel obě skupiny jsou spojeny s vysokým rizikem vzniku teratomů. S tímto rizikem nejsou zatím vhodné pro podání v klinických studiích. Pro klinické použití se proto hledají jiné, více diferencované buňky. Zatím již bylo vyzkoušeno podání hematopoetických progenitorových a mezenchymálních buněk získaných z kostní dřeně, mobilizovaných do periferní krve či získaných z tukové tkáně [37]. Tyto buňky, díky jejich schopnosti se diferencovat v jiné buněčné typy při ztrátě schopnosti nekontrolovaného dělení, nazýváme též dospělými kmenovými buňkami. Ukazuje se, že jen část těchto buněk přímo transdiferencuje, tato přeměna je ale spíše vedlejším faktorem působení kmenových buněk a není příliš významná. Zdaleka nemůžeme transdiferenciací přímo vysvětlit zlepšení funkce orgánu. Jako hlavní přínos podání těchto buněk se vysvětluje jejich parakrinní efekt. Jde o působení růstových faktorů, cytokinů, chemokinů, bioaktivních lipidů,

extracelulárních mikrovesikul, atd. Tyto substance jsou uvolňovány z HPC a mají trofický, antiapoptotický a angiopoetický efekt v cílové tkáni [52]. Tento parakrinní efekt je dle našeho názoru zodpovědný za zlepšení jaterních funkcí před transdiferenciací buněk.

Další rolí účinku HPC se zdá být jejich ovlivnění spících kmenových buněk, tzv. oval cells, a jejich aktivace. Po aktivaci se mohou diferencovat jak v hepatocyty, tak v cholangiocyty. Hlavním efektem jejich působení je dle našeho názoru právě silný parakrinní efekt [23] s výraznou indukcí růstových faktorů a některých interleukinů [47].

Aplikace buněk odvozených z kostní dřeně pro pokročilá difuzní onemocnění jaterního parenchymu, včetně cirhózy, je opakovaně publikována v literatuře [40]. Proto i naše skupina cílila na nemocné po předchozí protražované chemoterapii (více jak 6 cyklů), na nemocné s elevací jaterních testů a na ty, jejichž funkční stav jaterního parenchymu nebyl dobrý (dle ICG testu). Zde vidíme hlavní výhody oproti zavedeným metodám, protože dochází prokazatelně ke zlepšení jaterních funkcí a u většiny nemocných i k normalizaci ICG testu během 14-21 dnů.

U řady nemocných jsme pozorovali progresi růstu objemu metastáz po PVE a aplikaci HPC, stejný fenomén jsme pozorovali u nemocných, u kterých jsme ke zlepšení procenta FLRV použili jen PVE bez aplikace kmenových buněk. Zdá se proto, že nárůst objemu CLM bude nezávislý na aplikaci HPC. Rovněž jsme nenalezli souvislost mezi neoadjuvantní onkologickou léčbou a růstem metastáz po PVE s aplikací HPC. Progrese onemocnění byla v našem souboru bohužel hlavním důvodem neprovedení radikální operace (u 3 nemocných), stejně jako ve studii, jež publikovala Simoneau [44]. Anatomicky je prokázáno, že metastázy od velikosti 1 cm jsou přednostně vyživovány arteriální krví [27]. Dle našeho názoru může progrese velikosti metastatického postižení souviset s tzv. jaterní arteriální odpovědí po provedení PVE (hepatic arterial buffer response). Dle studií je po PVE velikost objemu průtoku krve embolizovaným lalokem obnovena během přibližně 14 dnů. Dochází totiž ke zvýšení průtoku hepatickou tepnou a mikropřestavbě na úrovni arteriální sinusoidální sítě, kdy mikroskopicky je možné

pozorovat sinusoidální dilataci. Obnovení průtoku na úroveň před PVE tak vede k arterIALIZACI celého embolizovaného laloku. Tato známá fakta mohou vysvětlovat progresi nádoru, otázkou zůstává, zda je možno je ovlivnit. V literatuře je publikováno několik článků o možnosti provedení arteriální embolizace po uzavření portální žíly. Po PVE je ale možná bezpečná doba od provedení embolizace portální žíly minimálně 4-6 týdnů. Pokud tato doba není dodržena, je zásobení daného laloku natolik alterováno, že dochází k poruše vitality, rozpadu jaterních buněk a vzniku rozsáhlé jaterní nekrózy a tím abscesu jater. Ostatní studie naopak ukazují na bezpečnost TACE CLM po PVE již za 1-2 týdny, vše v závislosti na velikosti a uložení nádoru. Samozřejmě i při dodržení doby mezi zákroky je stále nutné mít na paměti možnost rizika nekrózy jater. Další možností je provedení TACE před embolizací portální žíly a „vyčkání“ efektu TACE. Pokud dojde k regresi CLM, tak následně provedení PVE může být nejbezpečnější cestou stabilizace nádoru. Zde narážíme však na problém možné progresse velikosti metastázy i přes provedení chemoembolizace i možnost objevení se nových ložisek ve zbytkovém parenchymu.

Jak bylo výše uvedeno, existuje řada faktorů, které v rámci parakrinního efektu podaných HPC ovlivňují regeneraci jater. Z těchto faktorů jde zejména o působení HGF, jehož sérová hladina během regenerace jater narůstá a zvýšení hladiny je sledovatelné již po několika hodinách po PVE. Právě HGF je hlavním iniciátorem jaterní regenerace a působí přímo na hepatocyty.

Dalším důležitým faktorem v procesu regenerace jater je Tumor necrosis faktor (TNF), patřící do skupiny tzv. cytokinů. Je produkován jaterními makrofágy (Kupfferovými buňkami) a má velkou variabilitu funkcí. Nejčastěji je produkován jako reakce na bakteriální či jinou infekci, nádorové bujení, atd. Tvorba TNF bývá podporována [interleukiny](#). TNF dále indukuje produkci například receptoru pro Epidermální růstový faktor (EGF) a je známé, že při poklesu hladiny tohoto receptoru se jaterní regenerace zřetelně zpomalí. EGF je produkován Brunnerovými buňkami (duodenum) a je silným mitogenem pro jaterní buňky. Insulin-like growth faktor (IGF) je protein, který se váže na proteiny krevní plazmy.

Stimuluje tyrosinkinázu, čímž stimuluje diferenciaci a dělení buněk. Místem jeho tvorby jsou zejména játra. Vascular endothelial growth factor (VEGF) stimuluje angiogenezi, jeho zvýšená hladina je spojena s nedostatečným zásobením tkání kyslíkem. Jeho hladina se pak zvyšuje i po PVE či TACE. Přispívá také k proliferaci endoteliálních buněk cév a ke zvýšení celkové permeability cév. Jedná se o skupinu proteinů (VEGF A-F).

V literatuře pojednávající o růstových faktorech a interleukinech během jaterní regenerace jsou prezentovány většinou články v souvislosti s jaterní resekci či velkým traumatem [15,18,48]. My jsme sledovali jejich význam pro rychlost růstu FLRV a zároveň, zda mohou mít vliv i na nárůst objemu CLM. Z tohoto pohledu je naše práce ojedinělá v dostupné odborné literatuře. Samozřejmě jsme si vědomi, že vzhledem k malému počtu nemocných nelze dělat jasné závěry, přesto výsledky napovídají o zcela zřejmém vlivu růstových a dalších faktorů na hypertrofii jaterního parenchymu po PVE.

Prokázali jsme, že po PVE a aplikaci kmenových buněk dochází ke změnám, a to zejména v hladinách IGF, IGFBP3, HGF, IL8, jež korespondují se změnami po jaterní resekci nebo po jaterním traumatu. Pro nárůst FLRV měl význam zejména IGF, kdy se jako perspektivní jeví stacionární hladina tohoto markeru během doby hypertrofie, naopak při změnách jeho hladiny nedošlo k hypertrofii FLRV nad 35 %. To ukazuje, že tento faktor musí působit po celou dobu hypertrofie v nezměněné hladině, aby nedošlo k jejímu zastavení. Pro růst objemu metastáz kolorektálního karcinomu měl statistický význam IL 8 v době před PVE a aplikací HPC, kdy vyšší hladina se jeví protektivně. Sérové hodnoty těchto markerů by mohly být proto využity nejen k predikci vývoje FLRV a nebezpečí nárůstu CLM, ale i k určení prognózy nemocného. To by mělo do budoucna význam z hlediska jeho dispenzární péče a samozřejmě i z hlediska následné adjuvantní onkologické léčby.

25. Závěr

Pokud se pokusím shrnout poznatky získané naší studií, pak za zásadní považujeme velmi dobrý efekt hypertrofie jaterního parenchymu po PVE a aplikaci HPC, který kromě zkrácení doby potřebné k hypertrofii vede i ke zlepšení jaterních funkcí. U všech nemocných zařazených do studie byla hypertrofie dostatečná k pokusu o provedení radikální operace. Nepřímo můžeme usuzovat i na zlepšení jaterních funkcí, protože jsme u celé skupiny nezaznamenali žádné jaterní selhání, přestože minimálním výkonem byla pravostranná hepatektomie. V celé skupině jsme nezaznamenali ani jedinou komplikaci přímo související s odběrem či aplikací HPC.

Z růstových faktorů a interleukinů jsme zjistili jednoznačný přínos zejména u IL 8, který byl statisticky významným pro růst metastáz (hodnota pod 6,3 pg/ml) a pro brzkou recidivu nádoru v jaterním parenchymu po resekci (hodnota větší než 25 pg/ml). TGF α ukazoval při hodnotě pod 3,9 pg/ml na dlouhý DFI. Stabilní hladina IGF během doby po PVE a aplikaci HPC byla spojena s dobrou hypertrofií parenchymu. Prognosticky pozitivními faktory pro úspěšnou resekci jater se ukázaly EGF (při hodnotě pod 80 pg/ml), HGF (nad 310 ng/ml), VEGF (pod 200 pg/ml), IGF (nad 90 pg/ml) a hodnoty IL 2,6 a 8.

Jasnou a zcela samozřejmou slabou stránkou studie, vyplývající už z výběru nemocných a indikačních kritérií, je malý počet nemocných. Zatím dle našeho názoru chybí širší povědomí o této metodě. Pro mnohé lékaře, přes snahu o jejich osvětu, stále zůstává pacient s CLM neperspektivním a nevhodným k chirurgické intervenci. Dalším nedostatkem studie je, že není randomizovaná. Již při vytváření indikačních kritérií před začátkem studie jsme o randomizaci uvažovali, ale tím, že jsme zařazovali pouze primárně inoperabilní nemocné, bychom je přidělením do jiné skupiny mohli poškodit, proto jsme od tohoto kroku upustili. Zároveň randomizace mezi oběma sledovanými skupinami nebyla možná, protože soubor nemocných s PVE byl proveden dříve před zavedením nové metody PVE s aplikací HPC. Vzhledem k tomu, že se jedná o malé skupiny nemocných,

rozhodli jsme, že další randomizace souboru by nebyla přínosem a dali jsme přednost získání většího počtu nemocných u souboru PVE s aplikací HPC, abychom mohli hodnotit význam této metody. Další slabou stránkou je krátké sledování nemocných s mediánem 1,12 roku, to je dáno zejména výše uvedeným větším počtem nemocných v posledních letech oproti malému počtu v prvních dvou letech, kdy se metodika zaváděla. Metoda také zatím není aplikovatelná v prostředí menší nemocnice. Zastáváme názor, že u takto komplikovaných nemocných je nutná centralizace v high-volume centrech.

Naším cílem je v započaté studii dále pokračovat v následujících letech, a to nejen v zařazování, ale i sledování nemocných. Vše zejména s výhledem na rozšíření souboru a tím získání dostatečně velké skupiny nemocných pro jisté a bezpečné potvrzení závěrů studie.

Přes velký rozvoj v diagnostice a operačních technikách má léčba metastáz kolorektálního karcinomu stále určitá omezení. Operabilita metastatického postižení jater zůstává maximálně na 25 % i v největších světových centrech. V posledních několika letech přibývá nemocných se synchronními metastázami kolorektálního karcinomu. Tento údaj značně zhoršuje budoucí prognózu nemocných. Cílem této práce bylo shrnout současné možnosti jaterní chirurgie a představit novou nadějnou metodu zvýšení resekability CLM. Přes malý počet a tím dané jasné limitace souboru jsme ukázali na lepší výsledky nové metody – PVE s aplikací HPC - před samotnou PVE. Zatím nelze zcela jasně říci, zda nová metoda PVE a aplikace HPC bude mít i významně delší celkové přežití pacientů oproti konvenčním metodám. Tutu otázku je ještě třeba ověřit delším sledováním a rozšířením našeho souboru. Přesto i předběžné výsledky přinášejí první povzbudivé informace o nově zaváděné metodě a důležité informace o procesech jaterní regenerace a růstu metastáz kolorektálního karcinomu po PVE s aplikací HPC.

Dle našeho názoru bude nadále nutno správně a uvážlivě indikovat nemocné a najít metodiku, jak bychom mohli předpovídat možné selhání PVE či PVE s aplikací HPC. Nadále zůstává nezodpovězenou otázkou detekce mikrorozsevu

metastáz v organismu. Pak bychom mohli před zařazením vyloučit nevhodné pacienty, u kterých dojde k brzké recidivě. Ale vzhledem k výsledkům se zdá, že metoda PVE a aplikace HPC ve srovnání s PVE nepovede k významné progresi metastáz v jaterním parenchymu ani v ostatních orgánech (plíce, kosti, lymfatické uzliny).

Přes malé počty nemocných můžeme tedy na úplný závěr říci, že embolizace portální žíly a aplikace hematopoetických kmenových buněk je novou, relativně bezpečnou a nadějnou metodou pro úzké spektrum nemocných s generalizací kolorektálního karcinomu do jater.

26. Použitá literatura

1. Akgül Ö, Çetinkaya E, Ersöz Ş, Tez M. Role of surgery in colorectal cancer liver metastases. *World J Gastroenterol.* 2014 May 28;20(20):6113-22
2. Am Esch J.S. 2nd, Knoefel W.T., et.al.: Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration. *Stem Cells.* 2005 Apr;23(4):463-70.
3. Angelsen J.H., Horn A.: Surgery for colorectal liver metastases: the impact of resection margins on recurrence and overalls survival. *World J.Surg.Oncology* 2014 Apr. 27(12); 1186/1477
4. Aragon RJ, Solomon NL. Techniques of hepatic resection. *J Gastrointest Oncol.* 2012 Mar;3(1):28-40.
5. Clark M.E., Smith R.R., et.al.: Liver- directed therapies in metastatic colorectal cancer. *Journal of gastrointestinal oncology* 2014 Oct.;5(5):374-87

6. Černý D, Doležal A, Doležal T, Kmenové buňky – etické a právní aspekty výzkumu, Praha ,Ústav státu a práva AV ČR, 2013
7. Čihák, Radomír. Anatomie II.2., upr. a dopl vydání. Praha: Grada Publishing, spol. s. r. o., 2004., str 122-160
8. De Santibañes E., Clavien P.A. : Playing Play-Doh to prevent postoperative liver failure: the "ALPPS" approach. Ann Surg. 2012 Mar ;255(3):415-7.
9. Erhmann J, Hůlek P, at.al. , Hepatologie, Praha, Grada Publishing spol s.r.o 2010
10. Franchi E, Canepa MC,et.al.: Two-stage hepatectomy after autologous CD133+ stem cells administration: a case report. World J Surg Oncol. 2013 Aug 13;11(1):192
11. Garden James O, Hepatobiliary and pancreatic surgery , Fourth edition, Edinburg, Saunders 2009
12. Garg A, Newsome P.N.:Bone marrow mesenchymal stem cells and liver regeneration believe the hypoxia! Stem Cell Res Ther. 2013 Sep 4;4(5):108.
13. Gupta, PB; Onder, TT; Jiang, G; Tao, K; Kuperwasser, C; Weinberg, RA; Lander, ES (Aug 21, 2009). "Identification of selective inhibitors of cancer stem cells by high-throughput screening". Cell **138** (4): 645–59
14. Honjo I., Kosaka S. (1965) : Extensive resection of liver in two-steges. Rev.Int.Hepatology 15, 309-319.
15. Imaeda M, Ishikawa H, Yoshida Y, et.al.: Long-term pathological and immunohistochemical features in the liver after intraoperative whole-liver irradiation in rats. J Radiat Res.2014 Jul;55(4):665-73.
16. Itoh T, Miyajima A. Liver regeneration by stem/progenitor cells. Hepatology. 2014 Apr;59(4):1617-26.

17. Itoh S, Shirabe K, Taketomi A.: Zero mortality in more than 300 hepatic resections: validity of preoperative volumetric analysis. *Surg Today*. 2012 May;42(5):435-40
18. Justinger C, Schlüter C, Oliviera-Frick V,et.al: Increased growth factor expression after hepatic and pancreatic resection. *Oncol Rep*. 2008 Dec;20(6):1527-31.
19. Kadota Y, Yagi H, Inomata K, et.al.: Mesenchymal stem cells support hepatocyte function in engineered liver grafts. *Organogenesis*. 2014 Apr-Jun;10(2):268-77
20. Kanat O, Gewirtz A, Kemeny N. What is the potential role of hepatic arterial infusion chemo-therapy in the current armamentarium against colorectal cancer.*Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2012;3(2):130-138.
21. Kennedy AS, Ball D, Cohen SJ, et al. Multicenter evaluation of the safety and efficacy of radioembolization in patients with unresectable colorectal liver metastases selected as candidates for ⁹⁰Y resin microspheres. *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2015;6(2):134-142.
22. Kishi Y, Madoff DC, et.al : Is embolization of segment 4 portal veins before extended right hepatectomy justified? *Surgery*. 2008 Nov;144(5):744-51.
23. Kim N, Cho SG.: Clinical applications of mesenchymal stem cells. *Korean J Intern Med*. 2013 Jul;28(4):387-402
24. Klener P, *Základy klinické onkologie, Praha, Galén, 2014*
25. Kobayashi NC, Noronha SM. Cancer stem cells: a new approach to tumor development. *Rev Assoc Med Bras*. 2015 Jan-Feb;61(1):86-93.
26. Kockerling F, Schwartz S.I.,*Liver surgery – Operative techniques and Avoidance of complication ,J.A.Barth, Heidelberg 2001*
27. Kollmar O, Corsten M, Scheuer C, et.al.: Portal branch ligation induces a hepatic arterial buffer response, microvascular remodeling, normoxygenation,

and cell proliferation in portal blood-deprived liver tissue. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol.* 2007 Jun;292(6):G1534-42

28. Korpan NN. Hepatic cryosurgery for liver metastases. Long-term follow-up. *Annals of Surgery.* 1997;225(2):193-201.

29. Lauth WW. *Hepatic Circulation: Physiology and Pathophysiology.* San Rafael (CA): Morgan & Claypool Life Sciences; 2009

30. Lin Q, Ye Q, Zhu D, et al.: Determinants of long-term outcome in patients undergoing simultaneous resection of synchronous colorectal liver metastases. 2014 Aug 27;9(8)

31. Lubner MG, Brace CL, Ziemlewicz TJ, Hinshaw JL, Lee FT. Microwave Ablation of Hepatic Malignancy. *Seminars in Interventional Radiology.* 2013;30(1):56-66.

32. Madoff DC, Abdalla EK, et al.: Transhepatic ipsilateral right portal vein embolization extended to segment IV: improving hypertrophy and resection outcomes with spherical particles and coils. *J Vasc Interv Radiol.* 2005 Feb;16(2 Pt 1):215-25

33. Margini C, Vukotic R, Brodosi L, et al.: Bone marrow derived stem cells for the treatment of end-stage liver disease. *World J Gastroenterol.* 2014 Jul 21;20(27):9098-105.

34. Martin RC, Robbins K, Tomalty D, et al. Transarterial chemoembolisation (TACE) using irinotecan-loaded beads for the treatment of unresectable metastases to the liver in patients with colorectal cancer: an interim report. *World Journal of Surgical Oncology.* 2009;7:80. doi:10.1186/1477-7819-7-80.

35. Matsumoto K, Miyake Y, Umeda Y, et al.: Serial changes of serum growth factor levels and liver regeneration after partial hepatectomy in healthy humans. *Int J Mol Sci.* 2013 Oct 17;14(10):20877-89

36. Munireddy S, Katz S, Somasundar P, Espat NJ. Thermal tumor ablation therapy for colorectal cancer hepatic metastasis. *Journal of Gastrointestinal Oncology*. 2012;3(1):69-77.
37. Ratajczak MZ, Jadczyk T, et.al. „ New advances in stem cell research: practical implications for regenerative medicine. *Pol Arch Med Wewn*. 2014 Aug 7;124(7-8):417-26.
38. Raval M, Bande D, Pillai AK, et al. Yttrium-90 Radioembolization of Hepatic Metastases from Colorectal Cancer. *Frontiers in Oncology*. 2014;4:120. doi:10.3389/fonc.2014.00120.
39. Rous P, Larimore L.D. (1920) : Relation of portal vein blood to liver maintenance : a demonstration on liver atrophy condition on compensation, *Journal of Expert medicine* 31, 609-632.
40. Saito T, Tomita K, et.al.: Bone marrow cell-based regenerative therapy for liver cirrhosis. *World J Methodol*. 2013 Dec, 26;3(4):65-9.
41. Saiura A., Yamamoto J., Koga R.et.al.: Favorable outcome after repeat resection for colorectal liver metastases. *Ann.of surgical onkology* Jun25
42. Schoellhammer HF, Goldner B a.al,. Colorectal liver metastases: making the unresectable resectable using irreversible electroporation for microscopic positive margins – a case report.*BMC Cancer*. 2015;15:271.
43. Shindoh J, Truty MJ, et.al. Kinetic growth rate after portal vein embolization predicts posthepatectomy outcomes: toward zero liver-related mortality in patients with colorectal liver metastases and small future liver remnant. *J Am Coll Surg*. 2013 Feb;216(2):201-9.
44. Simoneau E, Aljiffry M, et.al.: Portal vein embolization stimulates tumour growth in patients with colorectal cancer liver metastases. *HPB (Oxford)*. 2012 Jul;14(7):461-8.

45. Skalický T, Třeška V, et.al. , Hepato-pankreato-biliární chirurgie, Praha, Maxdorf Jessenius 2011
46. Skalický T, Třeška V, et.al., Radiofrekvenční ablace jaterních nádorů, Praha, Maxdorf Jessenius 2006
47. Treska V, Skalický T, Sutnar A, Vaclav L, Fichtl J., et.al : Prognostic importance of some clinical and therapeutic factors for the effect of portal vein embolization in patients with primarily inoperable colorectal liver metastases. Arch Med Sci. 2013 Feb 21;9(1):47-54.
48. Treska V, Topolcan O, et.al.: Predictive value of serum biomarkers in patients after portal vein embolization (PVE): a pilot study. Anticancer Res. 2011 Jan;31(1):339-44
49. Vyas S., Markar S., Partelli S., et.al.: Portal vein embolization and ligation for extended hepatectomy. Indian J. Surg. Oncol. 2014 Mar;5(1):30-42.
50. Wang DS, Louie JD, Sze DY. Intra-Arterial Therapies for Metastatic Colorectal Cancer. Seminars in Interventional Radiology. 2013;30(1):12-20. doi:10.1055/s-0033-1333649.
51. Xu K-C, Niu L-Z, He W-B, Hu Y-Z, Zuo J-S. Percutaneous cryosurgery for the treatment of hepatic colorectal metastases. World Journal of Gastroenterology : WJG. 2008;14(9):1430-1436.
52. Yuan S, Jiang T, et.al.: The role of bone marrow mesenchymal stem cells in the treatment of acute liver failure. Biomed Res Int. 2013;2013:251846

27. Seznam publikační činnosti autora

1. Současné léčba pyogenního abscesu jater – zkušenosti Chirurgické kliniky FN Plzeň : Fichtl J., Třeška V., Vodička J., Skalický T., Sutnar A., Šmíd D. – Praktický lékař 2015
2. Duplikatura žlučníku – vzácný nález: Fichtl J, Treska V, Vodicka J, Tupý R. : Rozhledy v chirurgii Chir. 2013 Apr;92(4):209-11
3. Predictive Value of Growth Factors and Interleukins for Future Liver Remnant Volume and Colorectal Liver Metastasis Volume Growth Following Portal Vein Embolization and Autologous Stem Cell Application. : Fichtl J, Treska V, Lysak D, Mirka H, Duras P, Karlikova M, Skalicky T, Anticancer Res. 2016 Apr;36(4):1901-7.
4. Castlemanova choroba – neobvyklý nález při operaci tumoru retroperitonea u mladého nemocného - Fichtl J, Třeška V, Vodička J, Šulc R, Hes O, Tupý R. Rozhledy v Chirurgii 2016 Feb;95(2):91-4.

Spoluautor :

1. Smid D, Skalicky T, Dolezal J, Kubackova D, Fichtl J. Surgical treatment of gastric cancer. Bratisl Lek Listy. 2015;116(11):666-70.
2. Vodička J, Vejvodová Š, Šmíd D, Fichtl J, Špidlen V, Kormunda S, Hostýnek J, Moláček J. Do Weather Phenomena Have Any Influence on the Occurrence of Spontaneous Pneumothorax? Arch Bronconeumol. 2015 Nov 12
3. Pesta M, Kulda V, Narsanska A, Fichtl J, Topolcan O. May CTC technologies promote better cancer management? EPMA J. 2015 Jan 22
4. Treska V, Liska V, Fichtl J, Lysak D, Mirka H, Bruha J, Duras P, Treskova I, Nahlik J, Simanek V, Topolcan O. Portal vein embolisation with application of haematopoietic stem cells in patients with primarily or non-resectable colorectal liver metastases. Anticancer Res. 2014 Dec;34(12):7279-85
5. Smíd D, Novák P, Fichtl J, Opatrný V, Bludovský D. [Cerebral salt wasting syndrome (CSWS) - rare case from a surgical department]. Rozhl Chir. 2014 Nov;93(11):549-53
6. Vodicka J, Spidlen V, Treska V, Fichtl J, Simanek V, Safránek J, Vejvodova S, Mukensnabl P, Topolcan O. Surgical treatment of colorectal cancer pulmonary metastases: 12-year results. Anticancer Res. 2014 Aug;34(8):4239-45
7. Vodička J, Spidlen V, Šimánek V, Safránek J, Fichtl J, Mukenšnabl P, Roušarová M. [Pulmonary metastases - 12-year experience with surgical therapy]. Rozhl Chir. 2014 Apr;93(4):194-201.
8. Třeška V, Vodička J, Špidlen V, Skalický T, Fichtl J, Šimánek V, Šafránek J, Sutnar A, Brůha J. [Liver and pulmonary metastases of the colorectal carcinoma - the experience of the Department of Surgery, University Hospital in Pilsen]. Rozhl Chir. 2013 Sep;92(9):488-93
9. Treska V, Koza V, Lysak D, Slauf F, Mirka H, Sutnar A, Skalicky T, Fichtl J, Ferda J. Portal vein embolization and application of autologous stem cells in patients with primary unresectable liver tumours. Bratisl Lek Listy. 2013;114(7):389-93
10. Pesta M, Fichtl J, Kulda V, Topolcan O, Treska V. Monitoring of circulating tumor cells in patients undergoing surgery for hepatic metastases from colorectal cancer. Anticancer Res. 2013 May;33(5):2239-43

11. Treska V, Skalický T, Sutnar A, Vaclav L, Fichtl J, Kinkorova J, Vachtova M, Narsanska A. Prognostic importance of some clinical and therapeutic factors for the effect of portal vein embolization in patients with primarily inoperable colorectal liver metastases. *Arch Med Sci.* 2013 Feb 21;9(1):47-54.
12. Vodicka J, Spidlen V, Simanek V, Safránek J, Skalický T, Fichtl J, Mukensnabl P, Rousarova M. Surgical therapy of pulmonary metastases - 10-year results. *Bratisl Lek Listy.* 2013;114(4):218-24
13. Třeška V, Certík B, Moláček J, Houdek K, Cechura M, Sulc R, Fichtl J, Doležal J, Polák M. [Vascular reconstructions infections in the aortofemoral region]. *Rozhl Chir.* 2012 Nov;91(11):597-600.
14. Vodička J, Špidlen V, Klečka J, Šafránek J, Šimánek V, Fichtl J. [Catamenial pneumothorax - case studies from our department in a ten-year period]. *Rozhl Chir.* 2012 Oct;91(10):554-7
15. Vávra P, Třeška V, Ostruszka P, Sutnar A, Fichtl J, Hozáková L, Mitták M, Horáček J. [Surgical treatment of complicated hepatic echinococcosis in two Bulgarian citizens at two surgical departments in the Czech Republic]. *Rozhl Chir.* 2012 Jul;91(7):381-7.
16. Vodicka J, Spidlen V, Šimánek V, Safránek J, Treska V, Skalický T, Sutnar A, Fichtl J, Mukensnabl P. [Surgical therapy of pulmonary metastases of colorectal cancer--ten-year results]. *Rozhl Chir.* 2012 Feb;91(2):81-6.
17. Treska V, Skalický T, Liska V, Sutnar A, Ferda J, Mirka H, Slauf F, Kreuzberg B, Fichtl J. Prognostic value of the number and volume of liver tumours on portal vein embolization outcomes. *Hepatogastroenterology.* 2012 Mar-Apr;59(114):448-52
18. Treska V, Mirka H, Fichtl J, Liska V, Skalický T, Sutnar A. Effects of liver tumor and post-ablation necrosis volume on the result of radiofrequency ablation. *Hepatogastroenterology.* 2012 Jul-Aug;59(117):1537-40
19. Vodicka J, Spidlen V, Šimánek V, Safránek J, Fichtl J, Mukensnabl P, Fínek J, Rousarová M. [Pulmonary metastases of the clear cell (conventional) renal cell carcinoma--options and results of surgical treatment]. *Klin Onkol.* 2011;24(4):293-7.
20. Treska V, Topolcan O, Vrzalová J, Slauf F, Liska V, Skalický T, Sutnar A, Fichtl J, Narsanská A, Vachtová M. [Can tumor markers predict outcomes of portal vein branch embolization in patients with primary inoperable liver tumors?]. *Rozhl Chir.* 2011 May;90(5):285-9. *Czech.*
21. Treska V, Topolcan O, Vrzalova J, Skalický T, Sutnar A, Liska V, Fichtl J, Narsanska A, Ferda J, Treskova I, Mirka H, Kreuzberg B. Predictive value of serum biomarkers in patients after portal vein embolization (PVE): a pilot study. *Anticancer Res.* 2011 Jan;31(1):339-44
22. Skalický T, Treska V, Spidlen V, Vodicka V, Sutnar A, Liska V, Klečka J, Šimánek V, Safránek J, Fichtl J, Polák M. [Surgical treatment of liver and pulmonary metastases of colorectal carcinoma]. *Rozhl Chir.* 2010 Apr;89(4):253-5.
23. Šmíd D, Skalický T, Doležal J, Kubačková D, Fichtl J, Pešta M, Windrichová J, Svoboda T, Kulda V, Daum O. Karcinom žaludku – komplexní pohled na nemocného. *Practicus.* 2014;13(2):14-17
24. Vodička J, Špidlen V, Fichtl J, Mukensnabl P, Šefrhansová L, Roušarová M, Hora M. Role plicní metastazektomie v léčbě diseminovaného světlobuněčného renálního karcinomu. *Ces Urol.* 2014;18(2):112-118
25. Třeška V, Fichtl J, Lysák D, Šlauf F, Liška V, Sutnar A, Skalický T, Ferda J, Duras P, Brůha J, Fínek J. Nové možnosti jaterní chirurgie u primárně neoperabilních nádorů jater. *Onkologie* 2013;7(5):231-235
26. Vodička J, Špidlen V, Šimánek V, Šafránek J, Fichtl J, Mukensnabl P, Fínek J, Roušarová M. Možnosti a výsledky chirurgické léčby plicních metastáz světlobuněčného (konvenčního) renálního karcinomu. *Klin Onkol.* 2011;24(4):293-297

27. Šmíd D, Kubačková D, Doležal J, Fichtl J, Pešta M, Kulda V, Daum O, Třeška V, Skalický T. Prediktivní a prognostické faktory karcinomu žaludku *Rozhledy v Chir.* 2016;95(4):15661
28. Brůha J, Liška V, Pálek R, Mírka H, Hošek P, Korčáková E, Bajcurová K, Fichtl J, Skalický T., Třeška V. Porovnání perkutánní a otevřené radiofrekvenční ablace metastáz kolorektálního karcinomu ve FN Plzeň v letech 2001-2015. *Rozhledy v Chirurgii* 2016 Mar;95(3):107-11
29. Brůha J, Liška V, Třeška V, Skalický T, Fichtl J, Hes O.: Granulomatózní záněty v diagnostice malignit hepatobiliárního traktu – kazuistiky : *Rozhledy v chirurgii* 2016 Jan;95(1):40-4.

28. Seznam obrázků

| | |
|--|--------|
| Obr.1 Vzestup počtu synchronních CLM převzato z Cancer network..... | str.14 |
| Obr.2 Prevalence KRCa v ČR převzato z Ústavu zdravotnických informací a statistiky ČR.... | str.15 |
| Obr.3 „ALLPS procedura“ převzato z Annals of Surgery..... | str.17 |
| Obr.4 Játra – uložení převzato z National Institute of General Medical Sciences..... | str.21 |
| Obr.5 Hepatocyt – zvětšeno elektromovým mikroskopem převzato z National Intitute of General Medical Sciences..... | str.22 |
| Obr.6 Schematické znázornění cévního systému jater převzato z European association for computer graphics..... | str.24 |
| Obr.7 Žlučový strom převzato z Clinical gate..... | str.25 |
| Obr.8 Vývoj od splnutí oocyty a spermie k blastocystě převzato z Biomedcentral..... | str.32 |
| Obr.9 Oválné buňky..... | str.33 |
| Obr.10 Transdiferenciace hematopoetických progenitorových buněk převzato z Weissman & Shizuru..... | str.35 |
| Obr.11 Schopnosti nádorových kmenových buněk převzato z Agingsciences..... | str.37 |
| Obr.12 USG obraz metastáz kolorektálního karcinomu..... | str.40 |
| Obr.13 Obraz jaterní metastázy při kontrastní sonografii (a – normální USG obraz, b – arteriální fáze, c - venózní fáze, d – pozdní fáze)..... | str.40 |
| Obr.14 CT obraz jaterních metastáz kolorektálního karcinomu v portální fázi..... | str.42 |

| | |
|--|--------|
| Obr.15 CT volumetrie (a – obraz v axiální rovině, b – 3D zobrazení)..... | str.42 |
| Obr.16 Možnosti MR zobrazení jaterních metastáz kolorektálního karcinomu..... | str.44 |
| Obr.17 Možnosti zobrazení PET-CT (a – hybridní zobrazení, koronární rovina, b - hybridní zobrazení, axiální rovina, c – CT obraz, d – obraz scintigrafický..... | str.45 |
| Obr.18 Zobrazení metastáz kolorektálního karcinomu v játrech pomocí PET-CT..... | str.45 |
| Obr.19 Jaterní segmenty převzato z Segmental anatomy images..... | str.46 |
| Obr.20 Parenchym šetřící resekce jater..... | str.48 |
| Obr.21 Tzv.Makuuchi řez převzato z Nagasaki university academic output..... | str.50 |
| Obr.22 Habibova sonda použitá k resekcí jater převzato z Journal of hepatology..... | str.52 |
| Obr.23 Laparoskopická resekce jater..... | str.53 |
| Obr.24 Cluster sonda..... | str.58 |
| Obr.25 Kryoablace jaterního parenchymu..... | str.69 |
| Obr.26 Nanoknife přístroj a sonda převzato z www.fudacancerhospital.org | str.62 |
| Obr.27 Nanoknife metoda..... | str.62 |
| Obr.28 Emprint systém převzato z www.covidien.com | str.63 |
| Obr.29 Embolizace portální žíly – stav před embolizací, nástřik řečiště pravé větve portální žíly..... | str.65 |
| Obr.30 Embolizace portální žíly – stav po embolizaci..... | str.65 |
| Obr.31 Hepatic arterial infusion systém převzato z Codman & Shurtleff, Inc..... | str.70 |
| Obr.32 Thera-spheres s yttriem (velikost porovnána s lidským vlasem) převzato z Canadian Agency for Drugs and Technologies in Health..... | str.72 |
| Obr.33 Systém TARE k aplikaci..... | str.73 |
| Obr.34 Uložení katetru do správné pozice pod skiaskopickou kontrolou..... | str.86 |

| | |
|--|---------|
| Obr.35 Aplikace HPC cestou střídavého řezu | str.86 |
| Obr.36 OS a DFI skupiny nemocných s PVE a aplikací KB..... | str.96 |
| Obr.37 DFI interval u nemocných s TGF α pod a nad hodnotou 3,9 pg/ml..... | str.98 |
| Obr.38 Sérová hladina IGF v čase | str.99 |
| Obr.39 Vývoj sérové hladiny HGF v čase | str.100 |

29. Seznam tabulek

| | |
|---|--------|
| Tabulka č. 1 Nejčastější režimy podávané CHT..... | str.68 |
| Tabulka č. 2 Bevacizumab (BV) v léčbě kolorektálního karcinomu..... | str.74 |
| Tabulka č. 3 Srovnání DFI samotné CHT a její kombinace s BT- Avastinem..... | str.75 |
| Tabulka č. 4 Cetuximab (CTX) v léčbě kolorektálního karcinomu..... | str.76 |
| Tabulka č. 5 Orientační ceny léčby jednotlivými typy chemo- a biologické terapie..... | str.77 |
| Tabulka č. 6 Věk nemocných v době PVE..... | str.88 |
| Tabulka č. 7 Počet a objem metastáz..... | str.90 |
| Tabulka č. 8 Chemo a bioterapie..... | str.91 |
| Tabulka č. 9 ICG test..... | str.92 |
| Tabulka č. 10 Objemy jater před PVE..... | str.93 |
| Tabulka č. 11 Objemy jater před resekcí..... | str.93 |
| Tabulka č. 12 Operační výkony..... | str.94 |
| Tabulka č. 13 Střednědobé sledování nemocných..... | str.95 |

