

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni

Studijní program: Chirurgie

Využití kmenových buněk v jaterní chirurgii

The use of stem cell in liver surgery

Disertační práce



MUDr. Adam Skalický

Školitel: Doc. MUDr. Tomáš Skalický, Ph.D.

Plzeň, 2021

Univerzita Karlova
Lékařská fakulta v Plzni

Studijní program: Chirurgie

Využití kmenových buněk v jaterní chirurgii

The use of stem cells in liver surgery

Disertační práce



MUDr. Adam Skalický

Školitel: Doc. MUDr. Tomáš Skalický, Ph.D.

Plzeň, 2021

1. Prohlášení o autorství

Dovoluji si předložit k posouzení a obhajobě disertační práci zpracovanou na závěr svého doktorandského studia na Lékařské Fakultě Univerzity Karlovy v Plzni.

Prohlašuji, že jsem se při psaní této práce čerpal pouze z dat získaných z vlastních prací a z citované použité literatury. Práci jsem vypracoval samostatně pod vedením školitele. Dále prohlašuji, že tato práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Plzni dne 19. 12. 2021

MUDr. Adam Skalický

2. Poděkování

Velice rád bych touto cestou poděkoval svému školiteli, tátovi, doc. MUDr. Tomáši Skalickému, Ph.D. za pomoc v průběhu doktorandského studia a také za formování mého přístupu k chirurgii a klinické praxi. Rád bych také poděkoval své konzultantce paní rektorce, prof. MUDr. Mileně Králíčkové, Ph.D. za cenné rady, která mi byla schopna, i při své vysoké vytíženosti, poskytnout.

Dále bych rád poděkoval panu prof. MUDr. Vladislavovi Třeškovi, DrSc., že mi umožnil pracovat na Chirurgické klinice ve Fakultní nemocnici v Plzni. Vysoká úroveň jaterní chirurgie zde mi byla inspirací pro vědeckou práci.

Velký dík patří kolegům z Fakultní nemocnice a Biomedicínského centra, Mgr. Yaroslavovi Kolinkovi, Ph.D., MUDr. Anně Malečkové, Mgr. Blance Florové, Bc. Ivetě Zímové, MUDr. Tomášovi Malkusovi, MUDr. Martinovi Soukupovi, MUDr. Miroslavu Křížovi a MUDr. Janu Zemanovi.

Největší dík patří paní Ing. Bc. Lucii Vištejnové, Ph.D., Ing. Pavlu Kleinovi, Ph.D. a kolegovi MUDr. Ondřejovi Troupovi, bez kterých by tato studie byla nerealizovatelná.

MUDr. Adam Skalický

3. Seznam použitých zkratk

ALLPS – associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy

DFI – disease free interval

ECM – extracelulární matrix

EV – extracelulární vezikuly

FLRV – future liver remnant volume

HCC – hepatocelulární karcinom

HPCs – hepatic progenitor cells

HSCs – hepatic stellate cells

CASH – s chemoterapií asociovaná steatohepatitida

CHCC – cholangiocelulární karcinom

ICG – indocyanine green

IL – interleukin

iPSCs – indukované pluripotentní kmenové buňky

MSCs – mezenchymální kmenové buňky

NET – neuroendokrinní tumory

PHLF – posthepatectomy liver failure

PH – parciální hepatektomie

PVE – portal vein embolization

PVL – portal vein ligation

PVP – portal venous pressure, tlak v portální žíle

RFA – radiofrekvenční ablace

SECs – sinusoidální endoteliální buňky

SOS – syndrom sinusoidální obstrukce

TACE – transarteriální chemoembolizace

TAE – transarteriální embolizace

TGF- β - transformující růstový faktor beta

TNF- α - tumor nekrotizující faktor alfa

VEGF – vaskulární endoteliální růstový faktor

YAP – YES asociované proteiny

4. Obsah

1. Prohlášení o autorství.....	3
2. Poděkování.....	4
3. Seznam použitých zkratk.....	5
4. Obsah.....	7
5. Strukturovaný souhrn.....	9
6. Structured abstract.....	10
7. Úvod do problematiky.....	11
7.1.Chirurgická léčba primárních a sekundárních nádorů jater.....	11
7.1.1.Chirurgická léčba primárních nádorů.....	11
7.1.2.Chirurgická léčba sekundárních jaterních nádorů.....	14
7.2.Regenerace jater.....	22
7.2.1.Modely regenerace jater.....	22
7.2.2.Mechanismy jaterní regenerace.....	23
7.2.3.Faktory ovlivňující jaterní regeneraci.....	26
7.2.4.Klinický dopad regenerace jater.....	28
7.3.Metody zvyšující resekabilitu jaterních metastáz.....	29
7.3.1.Konverzní / neoadjuvantní chemoterapie.....	30
7.3.2.Embolizace portální větve (PVE).....	32
7.3.3.Etapové jaterní resekce.....	33
7.3.4.ALLPS.....	34
7.4.Kmenové buňky.....	35
7.4.1.Embryonální kmenové buňky.....	36
7.4.2.Indukované pluripotentní buňky.....	36
7.4.3.Adultní kmenové buňky.....	37
8. Mezenchymální kmenové buňky.....	38

8.1.Fyziologické působení MSCs.....	40
8.2.Rizika použití MSCs	40
8.3.Využití extracelulárních vezikul MSCs	40
8.4.Nový se pohled na MSCs	41
9. Speciální část – Využití MSCs v chirurgii jater.....	42
9.1.Cíl dizertační práce.....	43
9.2.Metodika.....	44
9.3.Výsledky.....	46
9.4.Diskuze.....	51
9.5.Závěr.....	53
10.Použitá literatura	54
11. Publikační činnost autora	69

5. Strukturovaný souhrn

Cíl studie:

Ozřejnění bezpečnosti a účinnosti buněčné terapie mezenchymálními kmenovými buňkami po rozsáhlé jaterní resekci na prasečím modelu.

Typ studie:

Experimentální studie

Název a sídlo pracoviště:

Chirurgická klinika LF UK a FN Plzeň

Soubor a metodika:

Celkem u 18 experimentálních zvířat byla provedena jaterní resekce v rozsahu hemihepatektomie. U 10 prasat byly peroperačně podány mezenchymální kmenové buňky, zbylých 8 prasat bylo zařazeno do skupiny kontrolní. V pravidelných intervalech byly odebírány krevní vzorky k biochemickému a imunohistologickému vyšetření. V týdenních intervalech byla prováděna kontrolní sonografická vyšetření. Experimentální zvířata byla usmrcena 28. pooperační den a vzorky jaterní tkáně byly podrobeny histologickému vyšetření.

Výsledky:

V žádném ze sledovaných parametrů nebyly shledány statisticky významné změny. Sonografická vyšetření, byť prováděná jedním zkušeným examínátorem, neposkytla validní data, ze kterých by se dala hodnotit jaterní hypertrofie.

Závěr:

Buněčná terapie mezenchymálními kmenovými buňkami se zdá být bezpečnou metodou. Výsledky naší studie však neprokázaly pozitivní efekt této léčby na jaterní regeneraci po chirurgické resekci. Sonografické volumetrické vyšetření jater shledáváme nevhodným pro posuzování míry jaterní regenerace.

6. Structured abstract

Aim of the study:

Verification of safety and efficacy of mesenchymal stem cell therapy after extensive liver resection in a pig model.

Type of study:

Experimental study

Name and location of study site:

Department of Surgery, Faculty of Medicine, Charles University in Pilsen

Set and methodology:

A total of 18 experimental animals underwent liver resection in the extent of hemihepatectomy. Mesenchymal stem cells were administered perioperatively in 10 pigs, the remaining 8 pigs were included in the control group. Blood samples were taken at regular intervals for biochemical and immunohistochemical examination. Control sonographic examination was performed at weekly intervals. Experimental animals were sacrificed on the 28th postoperative day and liver tissue samples were subjected to histological examination.

Results: There were no statistically significant differences in any of the monitored parameters. Sonographic examinations, however being performed by one experienced radiologist, did not provide valid data from which liver hypertrophy could be assessed.

Conclusion: Mesenchymal stem cell therapy appears to be a safe method. However, the results of our study did not show a positive effect of this treatment on liver regeneration after surgical resection. We find sonographic volumetric examination of the liver unsuitable for assessing the extent of liver regeneration

7. Úvod do problematiky

7.1. Chirurgická léčba primárních a sekundárních nádorů jater

U obou typů nádorů, primárních i sekundárních je chirurgická léčba základem a poskytuje dlouhodobě nejlepší výsledky a u řady nádorů může být i kurativní. U většiny nádorů však chirurgickou léčbu doplňujeme léčbou onkologickou, jedná se tedy o léčbu multimodální. [1]

7.1.1. Chirurgická léčba primárních nádorů.

Mezi primární nádory jater ředíme hepatocelulární karcinom a cholangiocelulární karcinom. Vzácnější cholangiocelulární karcinom má výrazně horší prognózu. U hepatocelulárního karcinomu (HCC) je nejúčinnější léčba chirurgická a to resekce s lemem zdravé tkáně tzv. R0 resekce a v případě nefunkčního jaterního parenchymu při cirhóze je stejně účinná transplantace jater, kdy za dodržení určitých kritérií, řešíme kromě nádoru i jaterní cirhózu. U malých HCC do velikosti 2cm pak lze použít i lokálně destruktivní metody - radiofrekvenční ablací, mikrovlnnou ablací, laserovou ablací či kryoablací.

Radikální jaterní resekce s lemem zdravé tkáně, tedy R0 resekce, je základem léčby HCC. Jelikož se HCC rozvíjí většinou v terénu jaterní cirhózy, je právě jaterní cirhóza limitací pro rozsah jaterní resekce. Je nutné ponechat dostatek jaterního parenchymu, aby nedošlo pooperačně k jaternímu selhání. [2]

Orientačně lze říci, že postižení jater cirhózou stadia Child A nám dovolí resekci zhruba 3 segmentů, Child B pak jednoho segmentu a u Child C nelze resekovat vůbec. Pro přesnější odhad jaterních funkcí dnes využíváme některé z eliminačních testů, například ICG test. Principem tohoto testu je intravenózní podání indocyaninové zeleně a změření eliminační křivky. Dle této křivky pak odhadujeme jaterní funkce a riziko pooperačního jaterního selhání. [3]

Stran technického provedení jaterní resekce pak máme k dispozici celou řadu metod. Na malé resekce si vystačíme s bipolárními nástroji a podvazy. U větších resekcí pak využíváme ultrazvukový disektor v kombinaci s harmonickým skalpelem a cévním staplerem. Tyto metody přispívají k minimalizaci krevních ztrát při jaterních resekcích. Na minimalizaci krevních ztrát se podílí i spolupráce s anesteziologem, který při resekcii snižuje centrální žilní tlak.

R0 resekce by u HCC měla být s lemem zdravé tkáně větším než 1mm. Pokud se nám nepodaří dosáhnout R0 resekce a dojde k R1 či R2 resekcii, má pacient podstatně horší dlouhodobou prognózu s významným rizikem časně lokální recidivy. V případě R1 resekce dosahuje tumor do okraje při mikroskopickém vyšetření, v případě R2 resekce je ponechána makroskopicky patrná masa nádorové tkáně. Prognóza pacientů po R1 či R2 resekcii se blíží pacientům bez operace.

Vlastní resekcii lze provést otevřeně z laparotomie, kdy se nejčastěji používá oboustranný subkostální řez, Mercedes řez či J řez. Malé periferní nádory pak řešíme resekcí laparoskopickou. Vlastní resekcii vždy zahajujeme provedením peroperačního ultrazvuku, abychom si ověřili neměnnost anatomických poměrů ve srovnání s výsledky předoperačních zobrazovacích metod a abychom nepřehlédli drobná ložiska, která nemusí být na předoperačních vyšetřeních patrná. [4,5,6]

Pro určitou skupinu pacientů je vhodným chirurgickým zákrokem transplantace jater. Tito pacienti jsou vybíráni na základě tzv. Milánských kritérií.

K transplantaci jater je vhodný pacient trpící jaterní cirhózou, u kterého bylo diagnostikováno 1 ložisko HCC velikosti do 5cm nebo maximálně 3 ložiska velikosti do 3 cm. Vždy je předpokladem nepřítomnost cévní invaze tumoru. Pacienti indikovaní na základě Milánských kritérií dosahují obdobného pětiletého přežití jako pacienti transplantovaní z neonkologické indikace. [7]

Použití lokálně destruktivních metod, nejčastěji radiofrekvenční ablace (RFA), je zejména u pacientů v celkovém špatném stavu, kteří nejsou schopni podstoupit operační zákrok. Při RFA je nádor ponechán na místě a je destruován pomocí tepla, následně podléhá nekróze. RFA je limitována velikostí ložiska do pěti centimetrů. Větší ložiska pak musíme destruovat z více vpichů překrytím. RFA u malých HCC (okolo 1-2cm) se svými výsledky blíží jaterním resekcím. U ložisek větších, či při jejich uložení v blízkosti velkých cév (nad 3mm), pak výsledky nejsou tak dobré a zde častěji dochází k lokální recidivě. Pokud nedojde k úplné destrukci nádoru, hovoříme o tzv. nonablaci. Ablace využíváme tedy tam, kde nelze operovat z důvodů celkového špatného zdravotního stavu pacienta či je ložisko HCC nepříznivě uloženo a resekce by znamenala rozsáhlou ztrátu funkčního jaterního parenchymu. Zásadní výhodou je, že pro využití těchto metod není nutný chirurgický zákrok v celkové narkóze. RFA lze provést perkutánně, s CT či MR navigací, v analgosedaci. [8]

Cholangiocelulární karcinom (CHCC) častěji vzniká multicentricky, časně metastazuje a jeho prognóza stran přežití je podstatně horší nežli u HCC. I zde je nejlepší léčebnou modalitou resekce R0. Destrukce je zde využívána pouze pokud nelze resekovat a transplantace jater není u tohoto typu nádoru rutinně prováděna. Tento typ nádoru není vázán na jaterní cirhózu a tak většinou operujeme na funkčně zdravých játrech.

7.1.2. Chirurgická léčba sekundárních jaterních nádorů

Sekundární jaterní nádory, tedy metastázy do jater, se z hlediska chirurgické léčby dělí na dvě základní skupiny. Nádory vhodné k resekci, kdy z chirurgické léčby pacienti profitují a na nevhodné k resekci, kdy přes chirurgickou léčbu sekundárních nádorů jater se prognóza nezlepší. Do skupiny nádorů vhodných k chirurgické léčbě jejich jaterních metastáz patří kolorektální karcinom, neuroendokrinní nádory, nádory ledvin, maligní melanom, gynekologické nádory a karcinom prsu. Do skupiny nálezů nevhodných k chirurgickému řešení jaterních metastáz patří karcinom jícnu, žaludku, žlučníku či slinivky břišní. [9, 10]

V naší republice se vyskytují nejčastěji v játrech metastázy kolorektálního karcinomu. Nemocní s kolorektálním karcinomem se v 50% dočkají v průběhu onemocnění jaterních metastáz a výskyt kolorektálního karcinomu do nedávné doby neustále v ČR stoupal. Důležité, pro chirurgickou léčbu je, že řada nemocných se po radikálním řešení jaterních metastáz dočká vyléčení – jedná se tedy o kurativní zákrok. Základní podmínkou pro rozhodnutí o chirurgické léčbě je možnost dosažení R0 resekce, tedy zda jsme schopni metastázy odstranit s lemem zdravé tkáně a zároveň jsme schopni radikálně vyřešit i mimojaterní postižení tzn. plicní metastázy, lokální recidivu či peritoneální ložiska. Právě kurativní potenciál jaterní resekce pro metastázy kolorektálního karcinomu je důvodem, proč se snažíme co největšímu počtu pacientů tuto léčbu nabídnout. Bohužel primárně resekovatelných jaterních metastáz kolorektálního karcinomu je asi jen jedna třetina. [11] U ostatních dvou třetin pak musíme zvážit, zda jsme schopni nemocného připravit pomocí víceetapových postupů či podáním neoadjuvantní chemoterapie k možnosti resekce, či je stav nezvratný a lze aplikovat jen paliativní či symptomatickou léčbu. Při rozsáhlém, ale resekovatelném jaterním postižení, můžeme játra operovat jako první, tzv. liver first approach. Primární nádor je poté odstraněn ve druhé době, po podání

chemoterapie. Ve většině případů však je postup opačný, tedy po operaci primárního nádoru na střevě a po podání chemoterapie ve druhé době řešíme jaterní metastázy. Optimální počet chemoterapeutických cyklů před jaterní operací je 4-6, kdy při navýšení počtu cyklů dochází ke zvýšené morbiditě a mortalitě těchto operací. Protrahované podávání chemoterapie poškozuje jaterní parenchym a je následně větší riziko vzniku pooperačního selhání jater. Při podávání irrinotecanu se rozvíjí venózní sinusoidální obstrukce - tzv. blue liver a po protrahovaném podání oxaliplatiny dochází ke vzniku steatózy, tzv. yellow liver. U synchronních jaterních metastáz je pak s výhodou u vhodných pacientů provést resekci primárního nádoru a jaterních metastáz v jedné době. [12] %.

Pro velmi špatnou prognózu nemocných s neresekabilními jaterními metastázami kolorektálního karcinomu se v posledních letech opět otevírá otázka provedení jaterní transplantace. Zatím nejsou jednoznačná data pro použití jaterní transplantace v algoritmu léčby jaterních metastáz KRCa. Pro jaterní malignity se dnes transplantuje okolo 24% ze všech jaterních transplantací, ale jen asi 0,5% pro metastázy kolorektální. Nejvyšší procento u sekundárních jaterních tumorů však zaujímají transplantace pro metastázy neuroendokrinních nádorů a celkově nejvyšší procento pak zaujímají transplantace pro primární nádory jater. [94, 95]

Základem úspěšné chirurgické léčby je dobrá diagnostika. Při zobrazování jaterních metastáz rutinně používáme kombinaci ultrazvuku a CT jater, v nejasných případech pak MR jater nebo ultrazvuku s podáním kontrastní látky (CEUS). K vyloučení či potvrzení mimojaterního postižení využíváme hybridních metod, tedy PET/CT či PET/MR. Vzhledem k chybě předoperační diagnostiky někde na hranici 30% je nutné před zahájením vlastní resekce jater provést peroperační ultrazvuk (IOUS), kdy jsme schopni zachytit i metastázy o průměru 2-4mm. IOUS pak může operační indikaci změnit. Vzhledem k obtížnosti stanovení optimální léčby pro jednotlivé pacienty, je nutné

rozhodování provádět v mezioborovém týmu odborníků - chirurg, radiolog, onkolog a event. i hepatolog a patolog.

Jaterní metastázy nekolorektálních nádorů.

Na rozdíl od nádorů kolorektálních nejsou metastázy nekolorektálních nádorů do jater zaneseny pouze portální žílou, ale i systémovým oběhem. Vzhledem k tomu, že jde tedy o nádory se systémovou propagací je jejich prognóza o poznání horší, než je tomu u metastáz kolorektálního karcinomu. Dnes rozeznáváme 2 hlavní skupiny těchto metastáz. První skupina metastazujících nádorů je skupina, která při jasných indikačních kritériích bude mít z chirurgické léčby prospěch. Jde hlavně o metastázy neuroendokrinních nádorů, metastázy karcinomu prsu, prostaty, ledvin a melanomu. Na rozdíl od skupiny druhé, kdy je většinou chirurgická léčba zbytečná a nepřináší pacientům žádný benefit. Do této skupiny patří hlavně metastázy horních oddílů GIT-karcinom jícnu, žaludku, žlučníku a pankreatu. U oligometastatických nádorů, s jedním jaterním ložiskem, u pacientů v dlouhodobé onkologické péči, při vyloučení extrahepatického šíření, vždy budeme zvažovat nějakou chirurgickou intervenci. Většinou v těchto vzácných situacích volíme minimálně zatěžující zákrok, např. transkutánní RFA pod navigací tomografií, magnetickou rezonancí či ultrazvukem. U všech pacientů musíme v terapii postupovat přísně individuálně. Musíme zvážit předchozí léčbu onkologickou a její účinnost, věk a komorbidity pacienta, funkční zdatnost jater po protrahované onkologické léčbě či chronickém onemocnění, rozsah plánovaného zákroku a možnosti ovlivnění nádoru jiným typem léčby (např. biologická či imunologická terapie).

Jaterní metastázy neuroendokrinních nádorů.

Jedná se o velice heterogenní skupinu nádorů s narůstající incidencí. [13]

Metastázy neuroendokrinních nádorů jsou obecně dobře ovlivnitelné chirurgickou léčbou, včetně transplantace. Záleží vždy na jejich biologické aktivitě, která může být u nádorů ze stejného orgánu jiná u jednotlivých pacientů. Dobře diferencované NET mají lepší prognózu ve srovnání s NET špatně diferencovanými či dediferencovanými. Na prognóze se také podílí místo vzniku primárního nádoru, rozsah postižení, hormonální produkce a exprese somatostatinových receptorů. K diagnostice těchto metastáz používáme kombinaci vyšetření ultrazvukem event. ultrazvukem s podáním kontrastní látky a vyšetření CT. V případě nejasností je pak na místě doplnění vyšetření MR. Pro vylučování extrahepatického postižení je pak výhodné požit speciální PET CT či PET MR. U metastáz NET pak lze zařadit do diagnostiky Octreoscan, kde využíváme vychytání radioaktivní látky na somatostatinových receptorech. Není vzácností u některých typů NET, že objevíme dříve metastázy a potom obtížně pátráme po primárním ložisku.

K úspěšné léčbě je nutná úzká spolupráce s onkologem, patologem a intervenčním radiologem. Léčba chirurgická by měla jít ruku v ruce s léčbou onkologickou. U dobře diferencovaných forem NET bude po chirurgické léčbě jistě lepší prognóza nežli u typů dediferencovaných a dle toho rozdělíme i způsob léčby. Zatímco u typů dobře diferencovaných s nízkou mitotickou aktivitou si můžeme dovolit použít radiofrekvenční ablaci, u typů špatně diferencovaných bychom vždy měli volit R0 resekci. R0 resekce je však cílem u všech stupňů NET a je metodou volby u jaterních metastáz NET. Při výrazné hormonální aktivitě těchto metastáz je cílem chirurgické léčby ovlivnění karcinoid syndromu pomocí cytoredukce v případě, že není možnost radikální léčby. Pouhé zmenšení tumorózní metastatické masy u pomalu rostoucích NET vede ke snížení produkce hormonů a ovlivnění symptomů nemoci.

U inoperabilních nádorů je pak možné použít transarteriální embolizaci (TAE) či transarteriální chemoembolizaci (TACE). Medián přežití po embolizaci dobře diferenciovaných NET je 55 měsíců, u dediferencovaných a špatně diferenciovaných forem je medián přežití jen 13 měsíců. [14]

Jaterní metastázy karcinomu prsu.

Karcinom prsu jako systémové onemocnění musí být léčen vždy systémovou onkologickou léčbou, dříve nežli začneme uvažovat o chirurgické lokální léčbě jaterních a eventuálně i plicních metastáz.

O chirurgické léčbě uvažujeme u mladších pacientek s dobrým celkovým stavem s dlouhým disease free intervalem (DFI), po úspěšné onkologické léčbě a vždy jen u oligometastického postižení. Oligometastické postižení je definováno jako výskyt maximálně 2-5 ložisek metastáz karcinomu prsu.

Metastázy karcinomu prsu do jater lze resekovat nebo destruovat pomocí RFA, MWA či zevním stereotaktickým ozářením. U našich pacientek většinou dáváme přednost transkutánní destrukci pod CT či MR navigací. Přístup u RFA je někdy u nevhodně uložených metastáz složitější, musíme poté volit transthorakální či transpulmonární přístup. Zásadně se vyhýbáme lokalizacím, kde je nebezpečí poranění jaterního hilu či okolních orgánů (srdce, střev či žaludku). V těchto případech je výhodnější provést otevřený nebo laparoskopický výkon. U starších, polymorbidních pacientů se solitární jaterní metastázou karcinomu prsu pak můžeme zvolit stereotaktické ozáření. Po transkutánních RFA lze pacientku během 2-3dnů vrátit do péče onkologa k pokračování systémové léčby. Problémem při indikaci k chirurgickému řešení jaterních metastáz karcinomu prsu je při systémové léčbě oligometastatické postižení jater při dlouhodobě stabilním kostním postižení. Tato indikace se jeví

nadějně, avšak bude potřebovat další studie k potvrzení či vyloučení prospěšnosti chirurgické léčby. [15, 16, 17, 18, 19]

Jaterní metastázy melanomu

U 3% nemocných s melanomem se vyvinou jaterní metastázy. Kompletní resekce solitární jaterní metastázy je metodou volby. U uveálního typu melanomu jsou játra v 90% jediným místem generalizace, na rozdíl od kožního melanomu, kdy až v 40% nacházíme generalizaci i mimo játra. Problémem u jaterních metastáz kožního melanomu je přítomnost špatně identifikovatelných drobných diseminovaných metastáz, které nejsme schopni zachytit na zobrazovacích vyšetřeních. Někteří autoři po resekci jaterních metastáz melanomu, zejména uveálního původu, doporučují po operaci podání intraarteriální chemoterapie. [20]

Jaterní metastázy karcinomu ledvin.

V rozvinutých zemích jsou maligní nádory ledvin 9. nejčastější malignitou. Jaterní metastázy renálního karcinomu jsou přítomny v cca 20%. [21] Jen 10% z tohoto jsou synchronní metastázy a v 90% jde o metachronní jaterní metastázy. Postižení jater může mimo hematogenního rozsevu vznikat i přímým prorůstáním nádoru, zejména pravé ledviny, do jater. Zvláště přítomnost nádorového trombu v renálních žilách či v dolní duté žíle vede rychle k hematogennímu rozsevu včetně jater. Pokud se jaterní metastázy renálního karcinomu vyskytují s extrahepatickým rozsevem mají velice špatnou prognózu. Pokud je metastický proces lokalizovaný pouze na játra (jen ve 2-4% případů), R0 resekce těchto ložisek dává pacientům šanci na dlouhé přežití. U synchronních metastáz renálního karcinomu lze výkon na játrech provést v jedné době a s resekci tumoru ledviny. Zkušenosti se synchronními resekci ledvina-

játra jsou však zatím omezené, indikace k těmto výkonům je třeba pečlivě zvažovat.

Metachronní jaterní metastázy renálního karcinomu se objevují nejčastěji mezi 1 až 3 roky po nefrektomií. Resekce R0 má lepší výsledky nežli samotná systémová terapie. Pokud najdeme resektabilní extrahepatické postižení, nejedná se o kontraindikaci k resekcímu výkonu na játrech. Recidiva je v těchto případech však častá. V managementu pacientů s inoperabilními metastázami renálního karcinomu má taktéž místo RFA a TACE. Výsledky rozsáhlejších studií však zatím nejsou k dispozici.

Jaterní metastázy gynekologických nádorů.

Gynekologické nádory se mimo hematogenní a lymfatickou cestou často šíří i peritoneálním rozsevem. Role resekce či destrukce jaterních metastáz těchto nádorů není jasně definovaná, jelikož většina těchto nádorů se právě šíří diseminací po peritoneální dutině. Ovariální karcinom je pátým nejčastějším nádorem u žen. Nejčastěji se vyskytuje ve formě epitelálního karcinomu a to v 90%. Velká část těchto nádorů je zachycena v pozdních stádiích. 70% těchto nádorů při primární laparotomii má peritoneální šíření. Do jater se nádor může šířit hematogenně a peritoneální diseminací na pouzdro jater. Hematogenní postižení jater u pokročilého ovariálního karcinomu nacházíme asi v 48%. Jaterní resekce metastáz ovariálního karcinomu se může provést jako součást primární cytoredukce před chemoterapií, cytoredukce následující po neoadjuvantní chemoterapii, sekundární cytoredukce pro recidivující onemocnění po primární cytoredukci a adjuvantní chemoterapii, sekundární cytoredukce pro recidivu onemocnění po adjuvantní chemoterapii. Resekce metastáz je doporučena u solitárních i mnohočetných ložisek i u extrahepatického postižení pokud je možná jeho cytoredukce. Endometriální karcinom bývá diagnostikován poměrně časně a to z důvodů postmenopauzálního krvácení

jako typického symptomu. V literatuře jsou udávány soubory jednotlivých pacientek, maximálně 6 v souboru, s 0% pětiletým přežitím. Všechny proběhly po adjuvantní léčbě po primárním endometriálním karcinomu, většinou v HPB centrech. Karcinom děložního krčku spíše recidivuje lokálně bez známek generalizace. Jaterní resekce pro tento nádor jsou tudíž vzácné. V literatuře se s nimi setkáme většinou ve formě kazuistik. [22]

Jaterní metastázy karcinomu prostaty.

Jaterní metastázy karcinomu prostaty nejsou časté a většinou jsou známkou agresivního chování nádoru v pozdní fázi onemocnění se špatnou prognózou. V diagnostice těchto metastáz se kromě UZ, CT a MR využívá PETCT či PET MR. Léčba karcinomu prostaty je dnes velice pestrá a závisí individuálně na typu nádoru. U jaterních metastáz je resekce jaterních metastáz indikována. Prognóza závisí na počtu jaterních metastáz. Mnohočetná ložiska nejsou pro špatnou prognózu vodná k chirurgickému řešení. Nejčastěji jsou indikováni nemocní se solitárním ložiskem po proběhlé léčbě primárního nádoru a dlouhým intervalem mezi léčbou primárního nádoru a rozvojem jaterních metastáz. Synchronní resekce karcinomu prostaty a resekce jater nejsou prováděny. Vhodné pro léčbu jaterních metastáz karcinomu prostaty jistě budou ablační metody, avšak zatím nejsou známá data a výsledky takovéto léčby. [23]

7.2. Regenerace jater

Pro játra je typická schopnost sebeobnovy s možností regulace své velikosti. Reagují tak na akutní i chronické poškození a stejně tak na ztrátu části parenchymu vzniklou nejčastěji chirurgickou resekcí. Tímto se liší od zbytku parenchymatózních orgánů. Tato vlastnost je do značné míry dána anatomickým postavením jater, kdy se do jater dostává cestou portální žíly značné množství potencionálně toxických xenobiotik. Regenerace jater je mimořádně komplexní děj zahrnující replikaci všech typů buněk nacházejících se v játrech, remodelaci cévních struktur či žlučových cest a doplnění extracelulární matrix (ECM).

O jaterní regeneraci jsou zmínky již v antické literatuře. Příkladem je známý mýtus o Prométeovi. S velmi vysokou pravděpodobností staří Řekové o této mimořádné vlastnosti jater nevěděli a zmínka o dorůstajícím orgánu je spíše náhodou. Výzkum jaterní regenerace zaznamenal rozvoj počátkem 20. století. Stěžejní prací byl popis modelu jaterní regenerace po 2/3 hepatektomii u potkana, tuto práci publikovali Anderson a Higgins v roce 1931. [24] V této publikaci autoři popsali techniku parciální hepatektomie (PH), která se stala zlatým standardem mezi modely jaterní regenerace.

7.2.1. Modely regenerace jater

Modely regenerace jater můžeme rozdělit do dvou kategorií. První skupinu tvoří modely chirurgické, kde pro navození regenerace je resekována různě velká část jaterního parenchymu. Do této kategorie řadíme i Higginsonův a Andersonův model PH. Druhou skupinu tvoří regenerace navazující na poškození chemickou látkou. [25] Nejčastěji používaný je model PH, kdy je odstraněno 60-70% jaterního parenchymu. Zbývající část jater regeneruje, přesněji podléhá hyperplazii. Odstraněná část nedorůstá, nýbrž reziduální parenchym zvětšuje

svůj objem. Regenerační čas je u potkanů zhruba dva týdny. U prasat je odhadován na týdny čtyři. Výhodou chirurgického modelu je jeho univerzálnost a sní spojená dobrá reprodukovatelnost výsledků. Modely založené na chemickém poškození jater jsou méně využívány. Je známá celá řada látek schopných způsobit nekrózu hepatocytů vyústějící v kompenzatorní hyperplazii zbylé tkáně. Nejčastěji se používá tetrachlormethan, thioacetamid, acetaminofen, galaktosamin a další. Většina těchto látek způsobují centrilobulární nekrózu. Ve většině případů se podává jedna dávka xenobiotika, která způsobí akutní poškození jater. V případě tetrachlormethanu je možné opakované podávání, kdy způsobíme chronické poškození jater a jaterní fibrózu. [26] Využití chemických modelů je ve srovnání s chirurgickými více komplikované. Je třeba zohlednit individuální metabolickou odpověď experimentálního zvířete a tedy do určité míry závislost na podané dávce. Mimo model PH a akutního chemického poškození jater jsou známy i další modely jaterní regenerace. Mezi tyto patří například model regenerace jater navozený ischemicko-reperfúzním poškozením. [27] Hlodavci jsou nejčastěji používaným experimentálním zvířetem. Studie na velkých zvířatech se přibližují scénáři humánní medicíny. Klinické studie jsou z pochopitelných etických důvodů omezené pouze na využití laboratorních hodnot a zobrazovacích metod.

7.2.2. Mechanismy jaterní regenerace

Játra jsou tvořena převážně hepatocyty, zhruba 60% z celkového počtu buněk jsou právě hepatocyty. Jedná se o objemné buňky a tak představují téměř 90% z celkové tkáňové hmoty. [28] Z ostatních typů buněk se v játrech nachází tzv. hepatic stellate buňky (HSCs). Tyto buňky vytvářejí extracelulární matrix a jsou zapojené do procesu fibrotizace. Kupfferovy buňky jsou jaterní tkáňové makrofágy. Kapilární síť je tvořena sinusoidálními endoteliálními buňkami (SECs) a zbytek buněčné hmoty je tvořen cholangiocyty, které formují žlučový

strom. Játra mají také vlastní multipotentní kmenové buňky – hepatic progenitor cells (HPC). U hlodavců jsou kvůli své morfologii také nazývány jako buňky oválné. Tyto buňky se nacházejí v oblasti Heringových kanálků a mají schopnost se diferencovat do hepatocytární i cholangiocytární linie. [29, 30] Tyto buňky se zřejmě neuplatňují v procesu jaterní regenerace navozené chirurgickým zákrokem. Uplatňují se v případě, že hepatocyty nejsou schopné buněčného dělení, jako je tomu v případě toxického poškození. V této situaci se stávají HPC významným zdrojem buněk regenerujících jater. [31]

Schematicky lze proces jaterní regenerace rozdělit do tří fází: fáze iniciace, proliferace a terminace.

Fáze iniciace

Tato fáze začíná prakticky ihned po provedení PH. Trigem se zdá být zvýšený portální tlak (PVP). Zvýšení PVP je doprovázeno zvýšenou syntézou oxidu dusnatého (NO). [32] SECs reagují na změny PVP rozšířením fenestrací kapilárního systému. Naprostá většina hepatocytů opouští klidový stav (G0) a vstupuje do G1 fáze buněčného cyklu. Dochází k odbourávání extracelulární matrix. Je secernována řada biologicky aktivních látek jako je hepatocytární růstový faktor (HGF) nebo epidermální růstový faktor (EGF, uvolňují se zejména prozánětlivé cytokiny (tumor necrosis factor alfa, nebo interleukin 6). Děj je mimořádně složitý, dochází k aktivaci celé řady signálních drah, ze kterých se nezdá být žádná dominantní. Trvání této fáze se u potkanů odhaduje na 12-18 hodin po provedení PH. [33]

Fáze proliferace

Pro tuto fázi je charakteristické množení všech typů jaterních buněk. Nejprve dochází k dělení hepatocytů, maximální syntéza DNA se objevuje zhruba 24-48 hodin po PH. Poté se většina hepatocytů vrací do klidového stavu, část hepatocytů vstupuje do buněčného cyklu a dochází k opětovnému dělení.

Proliferace SECs a cholangiocytů dosahuje maxima se zhruba 48 hodinovým zpožděním oproti hepatocytům. Hepatocyty zvýšeně exprimují a secernují vaskulární endoteliální růstový faktor (VEGF). VEGF stimuluje SECs a dochází k neovaskularizaci s maximem třetí až čtvrtý den po PH. [34] Neovaskularizace má v procesu jaterní regenerace důležité postavení, dle dostupných studií je ale velice pravděpodobné, že podávání anti-VEGF protilátky (bevacizumab) nevede k narušení jaterní regenerace. Tato monoklonální protilátka je podávána pacientům s metastatickým postižením jater při kolorektálním karcinomu a to i neoadjuvantně. Čtvrtý den po PH se zvyšuje tvorba extracelulární matrix. O proliferační fázi u potkanů hovoříme mezi 12h a čtvrtým pooperačním dnem po provedení parciální hepatektomie.

Fáze terminace

Velikost jater je přísně kontrolována, je ovlivněna zejména funkční potřebou organismu. Z jaterních transplantací od žijících dárců víme, že 3 měsíce po transplantaci je objem jater větší u příjemců ve srovnání s dárci. Tento jev je vysvětlován právě zvýšenou metabolickou potřebou organismu při dlouhodobě trvajícím jaterním onemocnění. [35] Souhrnně tento komplex zpětnovazebných reakcí nazýváme hepatostat. Dochází k remodelaci extracelulární matrix a z hepatocytárních klastrů se tvoří funkční jaterní aciny. V této fázi jsou produkovány zejména antiproliferačně působící bioaktivní látky, v čele s transformujícím růstovým faktorem beta (TGF- β). Za zmínku stojí, v poslední době značně studovaná, signální dráha Hippo a exprese tzv. YES-asociovaných

proteinů (YAP). Hippo signální dráha funguje in vivo jako regulátor velikosti a růstu jaterní tkáně. V experimentálních studiích zvýšená exprese YAP vedla k zvětšení velikosti jater a rezistenci k proapoptotickým signálům. [36]

7.2.3. Faktory ovlivňující jaterní regeneraci

Věk

Věk je důležitým faktorem, který ovlivňuje jaterní regeneraci. Starší pacienti nejsou schopni tak rychlé regenerace ve srovnání s mladšími. Přesný mechanismus, proč tomu tak je, není objasněn.

Biliární obstrukce

Při cholestáze dochází k hromadění toxických žlučových kyselin v játrech. Důsledkem je indukce apoptózy hepatocytů. Apoptóza je navozená prostřednictvím Fas ligandu a TNF- α . [37] Při cholestáze nefunguje enterohepatická cirkulace žlučových kyselin. Narušení enterohepatické cirkulace má negativní dopad na jaterní regeneraci. To je také příčinou, proč játra u pacienta s biliární obstrukcí, který má vnitřní drenáž žlučových cest, budou regenerovat lépe v porovnání s pacientem, u kterého bude drenáž žlučových cest zevní.

Diabetes mellitus

Inzulin a inzulinu podobné růstové faktory (IGF) jsou důležité hepatotropní látky. V případě jejich narušené sekrece a tkáňové citlivosti u pacientů s diabetem je schopnost jater regenerovat omezená. Bylo také prokázáno, že

diabetes mellitus je rizikovým faktorem pro redukovanou hyperplazii jater po PVE výkonu. [38]

Nutriční status pacienta

Regenerace jater je energeticky velmi náročný proces. Malnutrice je spojena s vyšším rizikem pooperačního selhání jater. Enterálně podávaná výživa má ve srovnání s parenterálním podáváním lepší výsledky při operaci stimulované jaterní regeneraci. [39]

Chronické jaterní onemocnění

Chronická jaterní onemocnění, jako je steatohepatitida, fibróza nebo cirhóza, mají dopad na jaterní regeneraci. Vlivem zvyšující se prevalence obezity je steatohepatitida častým vedlejším nálezem. Kumulace lipidů v buňkách je spojena s mitochondriálním poškozením. V experimentálních studiích játra potkanů po PH vykazovala opožděné dělení hepatocytů a vyšší mortalitu. [40] Pacienti se steatohepatitidou vykazují také zvýšené riziko pooperačních komplikací a mají vyšší mortalitu. V případě neléčení tohoto stavu, může steatohepatitida vyústit ve fibrotizaci jaterní tkáně a způsobit cirhózu jater.

Farmakoterapie

Je prokázáno, že celá řada běžně podávaných léků má negativní dopad na jaterní regeneraci. Beta blokátory snižují průtok krve portální žilou a antagonizují trofický efekt epinefrinu. Nesteroidní antiflogistika narušují jaterní regeneraci blokací cyklooxygenázy. S narůstajícím počtem pacientů, kteří podstoupili neoadjuvantní systémovou léčbu, je nutné vzít v potaz negativní dopady chemoterapie na jaterní regeneraci. Sinusoidální obstrukční syndrom (SOS)

navozený oxaliplatinou i steatohepatitida (CASH) vzniklá dlouhodobým podáváním irinotekanu mají značný negativní dopad na jaterní regeneraci, morbiditu i mortalitu po chirurgickém výkonu. V jaterní chirurgii se stále častěji setkáváme s pacienty léčenými biologickou terapií bevacizumabem. Bevacizumab je monoklonální protilátka bránící neoangiogenezi inhibicí VEGF. Pro tento efekt je využívána v řadě zdravotních indikací. Jednou z nejvýznamnějších indikací je využití bevacizumabu v případě primárně neresekabilních jaterních metastáz kolorektálního karcinomu. Bevacizumab je v tomto případě systémově podáván v monoterapii nebo častěji s konkomitanti chemoterapií. Ačkoliv je přínos bevacizumabu významný a jeho použití se rozšiřuje, dosud není důkladně prozkoumán jeho vliv na jaterní regeneraci. Výsledky studií provedených na toto téma se významně rozcházejí.

7.2.4. Klinický dopad regenerace jater

Pokrok v jaterní chirurgii byl do značné míry umožněn lepším prozkoumáním procesu jaterní regenerace. Možnost provedení rozsáhlé jaterní resekce nebo transplantace je dána schopností jater doplnit velkou část funkčního jaterního parenchymu během prvních čtrnácti dnů po chirurgickém zákroku. Přes veškerý pokrok stále zůstává největší limitací pro dosažení radikální resekce nedostatečný objem jater postresekčně, tzv. future remnant liver volume (FLRV). Díky objasnění některých mechanismů jaterní regenerace a atrofie se do klinické praxe mohly zavést metody, jako je PVE nebo ALLPS, které jsou schopné FLRV značně navýšit.

7.3. Metody zvyšující resekabilitu jaterních metastáz

Kolorektální karcinom je jedním z nejčastěji se vyskytujících maligních nádorů. V průběhu onemocnění zhruba 30-40% pacientů vyvine jaterní metastázy. [41] Jedinou potencionálně kurativní léčbou je radikální chirurgická resekce, bez léčby se pohybuje střední doba dožití mezi 6-8 měsíci. [42] Pouze asi jedna třetina nálezů metastatického postižení je primárně resekovatelná. Příčinou nemožnosti resekce je v naprosté většině případů nedostatečný future liver remnant volume (FLRV). Abychom co nejvíce redukovali morbiditu a mortalitu je nezbytné pečlivé zvážení indikace k chirurgické léčbě u každého pacienta. Obecně lze říci, že k chirurgické terapii indikujeme každého pacienta, u kterého jsem schopni dosáhnout R0 resekce při ponechání dostatečného FLRV s adekvátním cévním zásobením a dostatečnou žilní a žlučovou drenáží. Je nezbytné, abychom byli schopni správně odhadnout FLRV. Tímto způsobem minimalizujeme riziko vzniku pooperačního selhání jater (posthepatectomy liver failure, PHLF). [43] Suficientní FLRV je značně závislý na stavu jaterního parenchymu a přítomnosti dalších rizikových faktorů negativně ovlivňujících jaterní regeneraci. Lze říci, že se FLRV u zdravého jaterního parenchymu může pohybovat okolo 20-30% celkového objemu jater. V případě postižení jater následkem chemoterapie, cirhózy či jiných chronických onemocnění, nelze resekovat více než 50-60% z celkového objemu jaterního parenchymu. [44] Zlatým standardem pro stanovení FLRV je CT volumetrie. Výhodou CT volumetrie je její nízká invazivita. Ke stanovení FLRV při CT volumetrii lze využít data z běžného CT vyšetření, které je prováděno u každého pacienta v rámci stagingu. Nevýhodou CT volumetrie je to, že nám neříká nic o funkčním stavu jaterního parenchymu. Proto je pro kompletní předoperační zhodnocení stavu jater doplňována ICG testem. Po intravenózním podání je ICG z krve odstraňován výhradně játry. Následně jsou měřeny plazmatické koncentrace a je

stanovena clearance této látky. Tento test odráží schopnost jater odstranit z těla organické anionty, kam patří například bilirubin.

7.3.1. Konverzní / neoadjuvantní chemoterapie

Kolorektální karcinom je až na nejčasnější stadia považován za systémové onemocnění. U 15-20% pacientů jsou přítomny jaterní metastázy již v době diagnózy. U dalších 50% dojde k jejich rozvoji v průběhu onemocnění. [45] Pacienti přicházejí s různým stupněm metastatického postižení jater. Tyto pacienty můžeme rozdělit do čtyř skupin. [46]

1. Primárně resekabilní nález. Do této skupiny patří pacienti často s jednostranným nálezem, s malým množstvím nevelkých metastatických ložisek. U těchto pacientů se předpokládá nekomplikované provedení R0 resekce. Podání neoadjuvantní chemoterapie je v tomto případě sporné. Riskuje se poškození jaterního parenchymu hepatotoxickými látkami, dále hrozí riziko progresu nálezu při nulové odpovědi na podávanou systémovou léčbu. I opačný stav, kdy dojde k úplnému vymizení metastáz, je pro pacienta nevýhodný. V takovém případě vždy dojde k relapsu onemocnění s horší možností resekability, zároveň při resekci prováděné naslepo je větší šance na ponechání nádorového rezidua. [47]
2. Do této skupiny řadíme pacienty s hraničně resekabilním nálezem. Nacházíme často bilobární postižení, metastázy jsou větší či nevhodně anatomicky uložené. U této skupiny je významné riziko progresu nálezu. Systémová neoadjuvantní chemoterapie má v tomto stadiu za úkol stabilizovat onemocnění, zmenšit objem jaterních metastáz a tím usnadnit samotný chirurgický zákrok.
3. Do třetí skupiny řadíme pacienty s primárně neresekabilním nálezem, u kterých je šance při vhodné terapii na zmenšení metastáz a poté na

operační zákrok. Jedná se tedy o nálezy potenciálně resekabilní. U těchto pacientů je konverzní chemoterapie plně indikována (pokud to zdravotní stav dovolí, tak i v agresivním režimu). Je možnost kombinace systémové léčby s dalšími technikami, jako jsou etapové resekce, PVE či ALLPS. Je prokázáno, že pokud se následně podaří provést jaterní resekci, šance na dlouhodobé přežití se výrazně zvyšuje. [48]

4. Do poslední skupiny patří pacienti, u kterých je minimální šance na provedení radikálního chirurgického zákroku při rozsáhlém jaterním postižení nebo při celkovém špatném zdravotním stavu. U těchto pacientů přistupujeme k paliativní a symptomatické terapii.

Základním chemoterapeutikem je fluoropyrimidin (intravenózní 5-FU nebo perorální capecitabin), ten se využívá v kombinaci s irinotecanem nebo oxaliplatinou (FOLFOX, FOLIRI, FOLFOXIRI). Trojkombinace 5-FU, irinotekanu a oxaliplatiny (FOLFOXIRI) může prodlužovat dobu do progresse onemocnění i celkové přežití. Její využití je však spojené s vyšší toxicitou a tento režim by měl být využit u pacientů v dobré fyzické kondici. [49, 50] Monoterapie fluoropyrimidinem je indikována u pacientů neschopných tolerovat agresivnější systémovou léčbu.

Dále do kombinace s konvenční chemoterapií využíváme biologické léčbu. Své místo našly monoklonální protilátky proti VEGF (Bevacizumab) a EGFR (Cetuximab). Jejich podání zvyšuje efektivitu léčby a zároveň snižuje riziko progresse onemocnění. [51]

7.3.2. Embolizace portální větve (PVE)

Embolizace větve portální žíly je nejčastěji používanou technikou, při které se využívá modulace toku krve portálním systémem jater k navýšení FLRV. Jako první tuto metodu použil Makuuchi v roce 1982. [52] U PVE je dosaženo atrofizace embolizované části jater při současné hypertrofii části kontralaterální. Tento zákrok navyšuje FLRV a umožňuje bezpečné provedení rozsáhlé hepatektomie. U všech pacientů je předoperačně nezbytné provedení CT volumetrie a zhodnocení funkčního stavu jaterního parenchymu. CT volumetrie se také dále používá k verifikaci míry hypertrofie požadovaných segmentů po PVE. K zákroku jsou vhodní pacienti, u kterých předpokládáme FLRV menší než 25% u zdravého parenchymu a menší než 40% u jater poškozených chronickým onemocněním či postchemoterapeutickými změnami. [44] Absolutní kontraindikací tohoto zákroku je klinicky zřejmá portální hypertenze a přítomnost nádorového trombu v portálním systému. Středně významná portální hypertenze (10-15 mm Hg) nemusí vždy znamenat kontraindikaci zákroku. [53] Renální insuficience, koagulopatie a jaterní fibróza se řadí mezi relativní kontraindikace PVE a v takovém případě je zapotřebí postupovat individuálně u každého pacienta. [54] Vzhledem k funkční anatomii jater, kdy pravostranné oddíly představují 66% jaterního parenchymu, se PVE provádí nejčastěji u plánované resekce právě pravostranných segmentů (tedy u pravostranné hepatektomie a rozšířené pravostranné hepatektomie, kdy ponecháváme pouze segmenty II a III). Nejčastěji se PVE provádí z ipsilaterálního či kontralaterálního perkutálního, transhepatického přístupu. Je možný i přístup cestou vena ileocolika, nicméně tento zákrok vyžaduje laparotomii a celkovou anestézii, nese i s tím spojená rizika. Potenciální komplikace PVE jsou subkapsulární hematoma jater, hemoperitoneum, hemobilia, arteriovenózní zkrat, pseudoaneurysma, trombóza kmene portální žíly, pneumotorax nebo tranzientní jaterní insuficience. [55] Po PVE je měřena míra a rychlost jaterní hypertrofie pomocí CT volumetrie. Lze dosáhnout až 30%

nárůstu objemu požadované části jater. Alternativou PVE je ligace větve portální žíly (PVL). Tento zákrok lze provést v rámci etapových jaterních resekcí. Nevýhodou je, že ne každý pacient vyžaduje provedení etapové jaterní resekce. Dále je při PVL je riziko vytvoření kolaterální cirkulace. Ve srovnání s PVE má PVL horší výsledky stran výsledné hypertrofie. [56] Experimentálně se zkoušelo provedení PVE současně s podáním hematopoetických kmenových buněk s pozitivním efektem na navýšení FLRV. [57, 58]

7.3.3. Etapové jaterní resekce

V době diagnózy je více než 80% pacientů s jaterními metastázami v neresekabilním stadiu. Efektivní chemoterapie může konvertovat až 20% do resekačního stadia. Ostatní pacienti byli historicky zařazeni do režimu paliativní chemoterapie. U pacientů s bilobárním postižením i po neoadjuvantní chemoterapii velice často není možné provedení radikální resekce. Pro některé tyto pacienty je možnost provedení tzv. dvouetapové jaterní resekce. [59]

V první fázi tohoto výkonu jsou provedeny metastazektomie z levostranných jaterních segmentů, metastazektomie lze kombinovat s lokálně destruktivními metodami (nejčastěji RFA). RFA můžeme využít u ložisek do 2cm velikosti, pokud nejsou uloženy v blízkosti velkých cév. Bylo prokázáno, že následná hypertrofie může vyvolat i růst jaterních metastáz, proto musí být ošetřena všechna ložiska nacházející se v levostranných segmentech jater. [60] Ve velké většině je první fáze operace doplněna PVL / PVE během operace či bezprostředně po ní. S odstupem čtyř až šesti týdnů po první fázi operace se provádí kontrolní CT volumetrie. V případě, že nález umožňuje provedení R0 resekce při dostatečném FLRV, přistupujeme ke druhé etapě procedury. Během druhé fáze operace je provedena jaterní resekce (nejčastěji pravostranná hepatektomie nebo rozšířená pravostranná hepatektomie). Pokud se jedná o synchronní metastázy je možná resekce primárního ložiska společně v první fáze

etapové resekce nebo až po dokončení fáze druhé. [61] Etapové jaterní výkony jsou běžně doprovázené neoadjuvantní i adjuvantní chemoterapií. V případě, že se podaří dokončit druhou fázi etapového výkonu (ve zhruba 33% nelze přikročit ke druhé fázi z důvodu progresu onemocnění), celkové přežití těchto pacientů je stejné jako u pacientů, kteří podstoupili jednodobou jaterní resekci. [62]

7.3.4. ALLPS

ALLPS neboli associating liver partition and portal vein ligation for staged hepatectomy je modifikovaný postup dvouetapové jaterní resekce. V první fázi je podvázána přerušena pravá větev portální žíly a zároveň je proveden jaterní split mezi pravostrannými a levostrannými segmenty. Tímto je navozena mohutná a rychlá hypertrofie levostranných segmentů. Ke druhé fázi, kde je doplněna hepatektomie, se přistupuje po 1-2 týdnech. Největší výhodou tohoto postupu je promptně navozená hypertrofie, která umožňuje časné provedení druhé fáze jaterní resekce. Tímto se minimalizuje riziko progresu jaterního postižení. Zásadní nevýhodou je dosud velká mortalita a morbidita zákroku. [63]

7.4. Kmenové buňky

Za kmenovou buňku považujeme buňku, která je schopná sebeobnovy. Tedy je schopná vytvářet své kopie. Druhou nezbytnou vlastností je schopnost diferenciaci. Při dělení kmenové buňky vzniká buňka mateřská, která si ponechává vlastnosti buňky kmenové a buňka dceřiná, která se dál diferencuje. Diferenciací rozumíme přeměnu v jiný, již specializovaný typ buňky. Podle toho, jak široké je spektrum buněčných typů, do kterého je kmenová buňka schopná se přeměnit, rozdělujeme kmenové buňky dle potence. Pokud je kmenová buňka schopná se diferencovat ve všechny tkáně organismu, včetně extraembryonálních tkání (placenta), řadíme ji do skupiny tzv. totipotentních buněk. Tyto vlastnosti má fertilizované vajíčko a první stadia blastomery. Pokud kmenová buňka má schopnost se diferencovat ve všechny tkáně organismu, mimo extraembryonální orgány – hovoříme o kmenové buňce pluripotentní. Do této skupiny patří embryonální kmenové buňky. Všechny ostatní kmenové buňky ve tkáních dospělého jedince jsou multipotentní. Mohou se diferenciovat do většího množství buněčných typů, nikoliv však do všech. Jaterní kmenové buňky jsou příkladem multipotentních kmenových buněk. Jsou schopné přeměny do hepatocytární i cholangiocytární buněčné linie. Ne zřídka jsou kmenové buňky schopné přeměny pouze v jeden buněčný typ. V takovém případě se jedná o buňky unipotentní (např. spermatogonie, ze kterých vznikají pouze spermie). Tyto buňky jsou někdy také nazývány progenitorové. Za standardních in vivo podmínek je proces diferenciaci jednosměrný. Multipotentní buňka se nemůže stát pluripotentní či totipotentní a diferenciovaná buňka vytváří buňky se stejnými vlastnostmi. Objevení indukovaných pluripotentních buněk a nádorových kmenových buněk ukazuje, že toto dogma neplatí ve sto procentech případů. V průběhu vývoje se potence

kmenových buněk snižuje a proces stárnutí je do značné míry spojen se senescencí kmenových buněk organismu.

7.4.1. Embryonální kmenové buňky

Lidské tělo je tvořeno více než 220 typy buněk, které vznikají z fertilizovaného vajíčka. Jediná buňka tedy obsahuje program na vytvoření celého organismu. Embryonální kmenové buňky jsou pluripotentní a získávají se procesem zvaným imunochirurgie z embryoblastu blastocysty, což je jedno z raných stádií vývoje plodu. Jedná se o buňky snadno kultivovatelné, schopné diferenciaci do buněk všech tří zárodečných listů. Jejich uplatnění v regenerativní medicíně ale naráží na celou řadu překážek. Mimo etických kontroverzí není vyřešena otázka nekontrolovatelného růstu a s tím spojeného vzniku nádorového procesu. Dále jejich aplikace při buněčné terapii naráží na problém imunokompatibility. Díky výzkumu embryonálních kmenových buněk však zaznamenal pokrok výzkum v oblasti transgenních organismů nebo léčba poruch neplodnosti. [64]

7.4.2. Indukované pluripotentní buňky

Indukované pluripotentní buňky (iPSCs) nejsou buňkami, které bychom našli v těle dospělého jedince. Jedná se o buňky uměle vytvořené z prakticky kterékoliv plně diferencované buňky organismu. Nejčastěji se k tomuto „reprogramování“ využívají fibroblasty. Svým diferenciačním potenciálem se přibližují embryonálním kmenovým buňkám. Principem tohoto procesu reprogramování je vnesení transkripčních faktorů typických pro kmenové buňky (Klf4, c-myc, Oct3/4 a Sox2) pomocí retroviru do jádra diferencované buňky. Tento způsob generace iPSCs řeší etické a do značné míry i imunologické

problémy spojené s prací s embryonálními kmenovými buňkami. Nicméně zůstávají zde nevyjasněné problémy spojené s aplikací retrovirů a také je při tomto postupu vysoké riziko vzniku genetických aberací v indukovaných buňkách. [64, 65]

7.4.3. Adultní kmenové buňky

Určitá část buněk si ponechává během vývoje vlastnosti buněk kmenových. Tyto buňky mají multipotentní vlastnosti a v podstatě každý orgán takovýto typ buněk obsahuje. Někdy je také nazýváme tkáňově specifické nebo progenitorové kmenové buňky. Jejich hlavní úlohou je regenerace poškozené tkáně. Je prokázáno, že větší počet kmenových buněk mají tkáně s rychlou obměnou buněk (jako je střevo, kůže nebo kostní dřeň), ve srovnání se orgány jako jsou mozek či srdce. Pro adultní kmenové buňky je extrémně důležité prostředí, ve kterém se nacházejí, tzv. niche. Zde jsou v kontaktu s ostatními buňkami, které prostřednictvím mezibuněčných spojů a sekrecí bioaktivních látek ovlivňují. [64, 65] Mezi nejlépe prozkoumané adultní kmenové buňky patří hematopoetické kmenové buňky, které se už desetiletí s úspěchem využívají při transplantaci kostní dřeně u hematologických onemocnění. Hematopoetická kmenová buňka se může diferencovat do všech buněk červené i bílé krevní řady. S úspěchem byly také tyto buňky podávány v rámci víceetapových jaterních výkonů, kdy jsou podávány společně s provedením PVE. [66] Jakým mechanismem hematopoetické kmenové buňky zlepšují jaterní regeneraci, není vyjasněno. Diferenciace hematopoetických buněk do hepatocytární linie se zdá být nepravděpodobná. Zvažuje se parakrinní působení nebo imunomodulační efekt hematopoetických buněk. [67] Limitujícím faktorem širšího využití této metody je potenciální riziko progresu nádorového bujení po podání kmenových buněk, které vyplývá jak ze zhodnocení dlouhodobých výsledků některých

klinických studií, tak z preklinických testů. [66, 68] Do skupiny adultních kmenových buněk mimo jiné také řadíme jaterní kmenové buňky. U hlodavců jsou kvůli své morfologii také nazývány jako buňky oválné. Tyto buňky mají niche v oblasti Heringových kanálek a mají schopnost se diferencovat do hepatocytární i cholangiocytární linie. [29, 30] Tyto buňky se zřejmě neuplatňují v procesu jaterní regenerace navozené chirurgickým zákrokem. Uplatňují se v případě, že hepatocyty nejsou schopné buněčného dělení, jako je tomu v případě toxického poškození. V této situaci se stávají HPC významným zdrojem buněk regenerujících jater. [31] Mezi adultní kmenové buňky řadíme také mezenchymální kmenové buňky.

8. Mezenchymální kmenové buňky

Mezenchymální kmenové buňky byly objevené Alexanderem Friedensteinem v roce 1960 jako buňky kostní dřene. Díky své morfoloické podobnosti s fibroblasty byly pojmenovány kolonie formující fibroblasty. [69] Byly považovány za progenitory buněk kostní tkáně vyjma hematopoetických. Následně u nich byla in vitro prokázána schopnost sebeobnovy a diferenciace, tedy vlastnosti kmenových buněk. [70] V kostní dřeni sdílí niche s hematopoetickými kmenovými buňkami. [71] Základní vlastností MSCs je schopnost adherovat k platu. Dalším kritériem MSCs je exprese následujících povrchových znaků: CD105 (endogolin), CD73 (lymfocyto-vaskulární adhezivní protein 2) a CD90 (Thy-1). Zároveň nesmí exprimovat CD45 (panleukocytin), CD34 (sialomucin, znak hematopoetických kmenových buněk), CD14, CD11b, CD79A a CD19. Dalším důležitým znakem, který má dopad na potenciální terapeutické využití MSCs, je nepřítomnost MHC molekul II. třídy. Díky této vlastnosti mají MSCs velice nízkou imunogenicitu a je možné je allogenně transplantovat. Posledním ze tří kritérií MSCs je schopnost se in vitro diferencovat do adipocytární, chondroblastové a osteoblastové buněčné linie. [72] Původně se předpokládalo, že MSCs jsou jedním z typů kmenových buněk nacházejících se pouze v kostní dřeni, následně byly tyto buňky nalezeny v tukové tkáni. Nyní víme, že je lze najít prakticky v každé vaskularizované tkáni. [73, 74]

8.1. Fyziologické působení MSCs

Mimo mezenchymální diferenciaci je u MSCs předpokládána také transdiferenciace do buněk endodermálního nebo ektodermálního původu, tedy epitelových buněk, kardiomyocytů, neurocytů nebo hepatocytů. [75, 76, 77] Řada autorů předpokládá, že MSCs jsou schopné diferenciaci do buněk hepatocytárního charakteru a tím zlepšovat jaterní funkce v případě poškození. Studie prokázaly, že MSCs jsou schopné in vitro se za specifických kultivačních podmínek diferencovat v buňky, které vykazují některé metabolické funkce hepatocytů. [78] MSCs jsou schopné tzv. homingu – tedy migrace do místa poškození na podkladě chemotaxe. [79, 80] Dále bylo lépe poznáno jejich imunomodulační působení. MSCs secernují celou řadu bioaktivních molekul, jejichž výsledné působení je protizánětlivé a imunosupresní. Například inhibují sekreci prozánětlivých cytokinů (TNF-alfa, INF-gamma) a zároveň secernují cytokiny protizánětlivé (IL-10). Snižují proliferaci a diferenciaci T i B lymfocytů a naopak stimulují regulační T buňky. [81, 82, 83] MSCs dále vykazují antifibrotické působení. Při jaterní fibróze je tvořeno zvýšené množství extracelulární matrix. Stěžejní roli v tomto procesu hrají hepatic stellate cells. Proliferace HSCs je tlumena právě působením MSCs. Zároveň MSCs mohou zvýšit expresi matrixových metaloproteináz, které jsou schopné ECM odbourávat. [84, 85] Pro své vlastnosti jsou MSCs testovány v terapii celé řady onemocnění. Z jaterních onemocnění jsou nejčastěji předmětem výzkumu chronických stavů spojených s fibrotizací, tedy jaterní cirhózy.

8.2. Rizika použití MSCs

Při buněčné terapii mesenchymálními buňkami je nutné zvážit i potenciální rizika. Několik studií prokázalo, že za určitých okolností se mohou MSCs chovat jako buňky podobné myofibroblastům a tedy mohou působit profibroticky. Toto bylo prokázáno zejména při užití MSCs při akutním

poškození jater, tedy modelu, který se podobá klinickému scénáři v jaterní chirurgii. [86] Dále bylo prokázáno, že MSCs jsou schopné se inkorporovat do nádorového stromatu. Zde působí imunosupresivně, proangiogeneticky a mohou secernovat řadu tumor-stimulujících molekul. [87, 88] Také se zjistilo, že MSCs sídlící v jaterním perivaskulárním prostoru jsou schopné inkorporovat v krvi cirkulující buňky maligního melanomu a tím způsobit metastatickou diseminaci nádorového onemocnění. [89] Zejména poslední dvě potenciální rizika je zapotřebí vzít v úvahu v jaterní chirurgii, která se z velké části týká právě terapie maligních nádorových onemocnění.

8.3. Využití extracelulárních vezikul MSCs

Extracelulární vezikuly (EV) jsou buněčnou membránou ohraničené vezikuly obsahující produkty metabolismu buňky. Byly prokázány u širokého spektra buněk (lymfocyty, dendritické buňky, trombocyty, epiteliální buňky, mesenchymální kmenové buňky a další). Přítomnost EV byla prokázána prakticky ve všech tělních tekutinách (plazma, sliny, mozkomíšní mok, bronchiální hlen nebo synoviální tekutina kloubů). Stěžejní je role tzv. mikrovezikul a exozomů. Tyto EV se podílí na mezibuněčné komunikaci. [90] MSCs jsou buňky pozitivně ovlivňující regenerační procesy prostřednictvím parakrinní sekrece. Z toho důvodu jsou EV derivované z MSCs v posledních letech intenzivně zkoumány a již byly s nadějným efektem testovány. V léčbě jaterních onemocnění byly použity na modelech akutního i chronického poškození jater. Například na myším modelu poškození jater tetrachloridem měly MSCs-EV pozitivní efekt na jaterní fibrotizaci. [91] EV mají zřejmě potenciál stát se alternativou buněčné terapie.

8.4. Nový pohled na MSCs

V posledních letech se náhled na MSCs značně změnil. Bylo zjištěno, že se nejedná o buňky vyskytující se pouze v kostní dřeni, odkud byly MSCs poprvé kultivovány. Niche MSCs je v perivaskulárním prostoru a tyto buňky jsou úzce spjaté s pericyty, jejichž vlastnosti se do značné míry s vlastnostmi MSCs překrývají. [92] Najedeme je tedy v každé vaskularizované tkáni. Dalším zásadním zjištěním je, že schopnost diferenciaci do různých buněčných linií je u MSCs pouze in vitro a je dána různými vlivy v průběhu kultivace. Prakticky se tedy nejedná o kmenové buňky, protože nemají jednu ze dvou definujících vlastností kmenových buněk. Jejich progenerativní a imunosupresní působení je dáno jejich parakrinním efektem. Z tohoto důvodu jsou i tendence ke změně jejich pojmenování – z původního mesenchymal stem cells na medicinal signaling cells. [93] Tento název zřejmě lépe vystihuje jejich in vivo působení. Jedná se o buňky perivaskulárního prostoru, kde jsou v kontaktu s ostatními buňkami (včetně tkáňově specifických kmenových buněk), které ovlivňují přímo i nepřímo parakrinní sekrecí. Zároveň jsou to buňky schopné migrace do místa poškození, kde slouží jako zdroj bioaktivních molekul s výsledným progeneračním a protizánětlivým působením.

9. Speciální část – Využití MSCs v chirurgii jater, experiment na velkém zvířeti

9.1. Cíl experimentální studie

Hlavním cílem naší studie bylo ozřejmění účinnosti buněčné terapie mezenchymálními kmenovými buňkami po rozsáhlé jaterní resekci na regenerující jaterní parenchym.

Sekundárním cílem bylo prokázání bezpečnosti podání mezenchymálních kmenových buněk. Zejména vyloučení potenciálního profibrotického působení MSCs.

9.2. Metodika

Design studie:

Do studie bylo zařazeno celkem 18 pokusných zvířat. Jednalo se o samce i samice prasete domácího z Přeštického chovu, průměrná váha se pohybovala okolo 25kg. Zvířata byla rozdělena do dvou studijních skupin, u všech zvířat byla provedena hepatektomie v rozsahu cca 40% jaterního parenchymu, u 10 prasat byly podány těsně po dokončení jaterní resekce mezenchymální kmenové buňky v počtu cca 10^6 / kg hmotnosti zvířete. Před aplikací byl MSCs zkontrolován fenotyp pomocí průtokové cytometrie a diferenciační kapacita pomocí in vitro kultivace v chondro-/osteo-/adipogenním médiu. Zbylá zvířata tvořila skupinu kontrolní, kde byla provedena resekce ve stejném rozsahu. Krevní vzorky byly nabírány předoperačně, bezprostředně po operaci, 1h, 3h, 6h a 24h po výkonu, dále v týdenních intervalech. Sonografické vyšetření ke zhodnocení přibližného objemu jater bylo provedeno předoperačně, pooperačně a následně v týdenních intervalech. 28. den po operaci byla pokusná zvířata usmrcena navozením hluboké celkové anestezie, a jaterní tkáň byla odeslána na histologické vyšetření.

Operační zákrok:

Všechna prasata byla operována po týdenní aklimatizaci v prostorech zvěřince Biomedicínského centra LF UK. Po 12 hodinovém lačnění byla prasata premedikována intramuskulárním podáním Tiletamine-zolazepamu (5mg/kg), Xylazinu (1mg/kg) and Atropinu (1mg). Chirurgický zákrok probíhal pod antibiotickou profylaktickou clonou. Operace byla provedena v celkové narkóze (2% Propofol 2mg/kg and Nalbuphine 1-5mg/h) při orotracheální intubaci. V první fázi operace byl zaveden centrální žilní katetr cestou vena jugularis interna. Následně byla provedena střední laparotomie s resekcí jaterních segmentů v

rozsahu cca 40% celkového objemu jater. Ve skupině s podáním MSCs byl bezprostředně po resekci aplikován roztok obsahující kmenové buňky cestou společné portální žíly rychlostí cca 1ml / s. Bylo podáno 100ml obsahující MSCs v počtu 10^6 / kg váhy experimentálního zvířete. U kontrolní skupiny zvířat byl aplikován fyziologický roztok. Pooperačně byla pokusná zvířata pravidelně sledována, klinicky vyšetřována a byla u nich kontrolována analgézie kombinací intravenózních a perorálních preparátů.

Sonografické vyšetření:

Ultrasonografické vyšetření bylo provedeno předoperačně, pooperačně a následně v týdenních intervalech. Objem jaterního parenchymu byl měřen ve třech rovinách (coronární, sagitální a axiální), sektorovou sondou jedním zkušeným lékařem.

Izolace a určení MSCs:

MSCs byly odebrány z kostní dřeně zdravých prasat z oblasti stehenní a holenní kosti a následně izolovány pomocí gradientové centrifugace. Tyto buňky byly poté kultivovány. Jejich fenotyp byl ověřen průtokovou cytometrií. Byly detekovány znaky CD90, CD73 a CD44. Následně byla ověřena schopnost těchto buněk diferencovat se do adipogenní, chondrogenní a osteogenní buněčné linie.

Biochemie:

Vzorky krevní plazmy byly odebrány před operací, pooperačně a následně v týdenních intervalech. Laboratorně byly stanoveny hodnoty jaterních enzymů, albuminu, bilirubinu, urey a kreatininu.

Imunoanalýza:

Krevní plazma, použitá ke stanovení prozánětlivě působícího cytokinu ($\text{TNF}\alpha$), antiinflatorního cytokinu (IL-10) a VEGF, byla odebrána před operací, pooperačně, následně s odstupem 1h, 3h a 6h, 1den, 7 dní, 14 dní a 28 dní od operace.

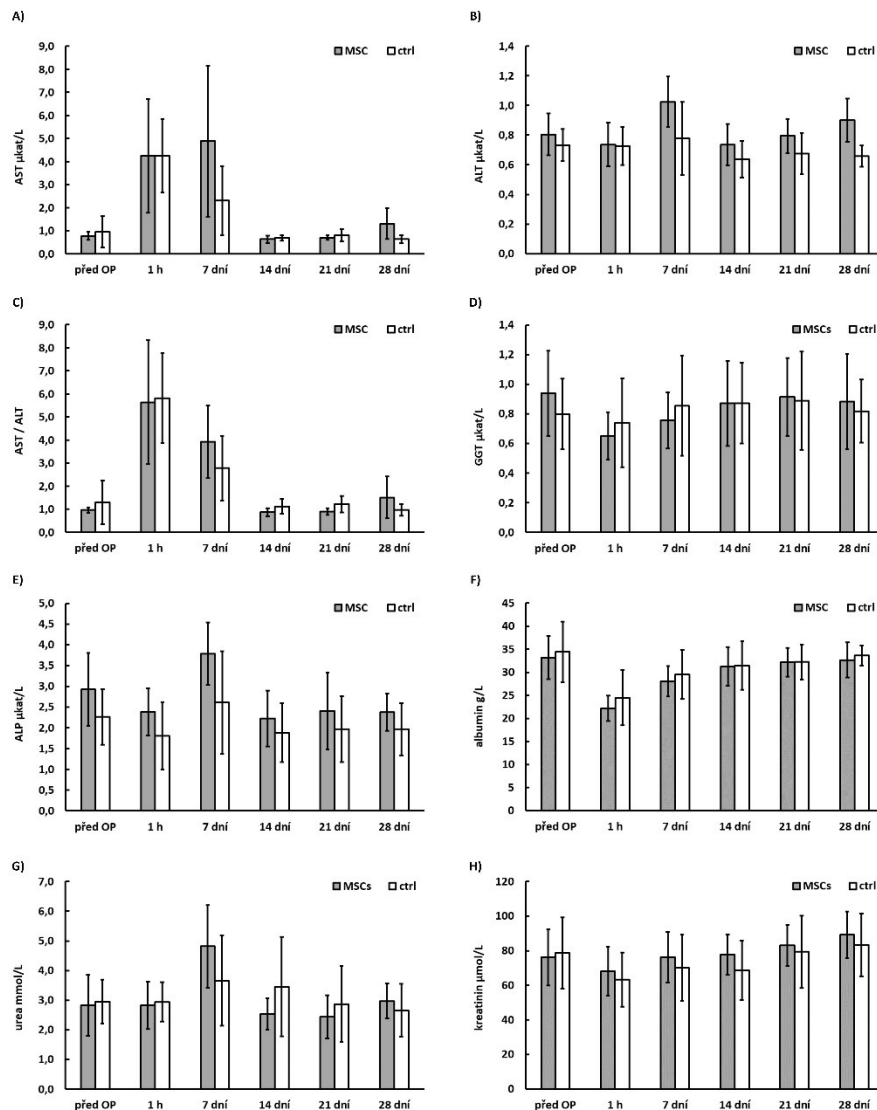
Histologie:

U každého experimentálního zvířete byly v závěru experimentu odebrány 2 vzorky regenerujících jater – z centra a periferie laloku. Tyto byly srovnány se vzorky odebranými peroperačně také z centra a periferie jaterního laloku.

9.3. Výsledky

Biochemie:

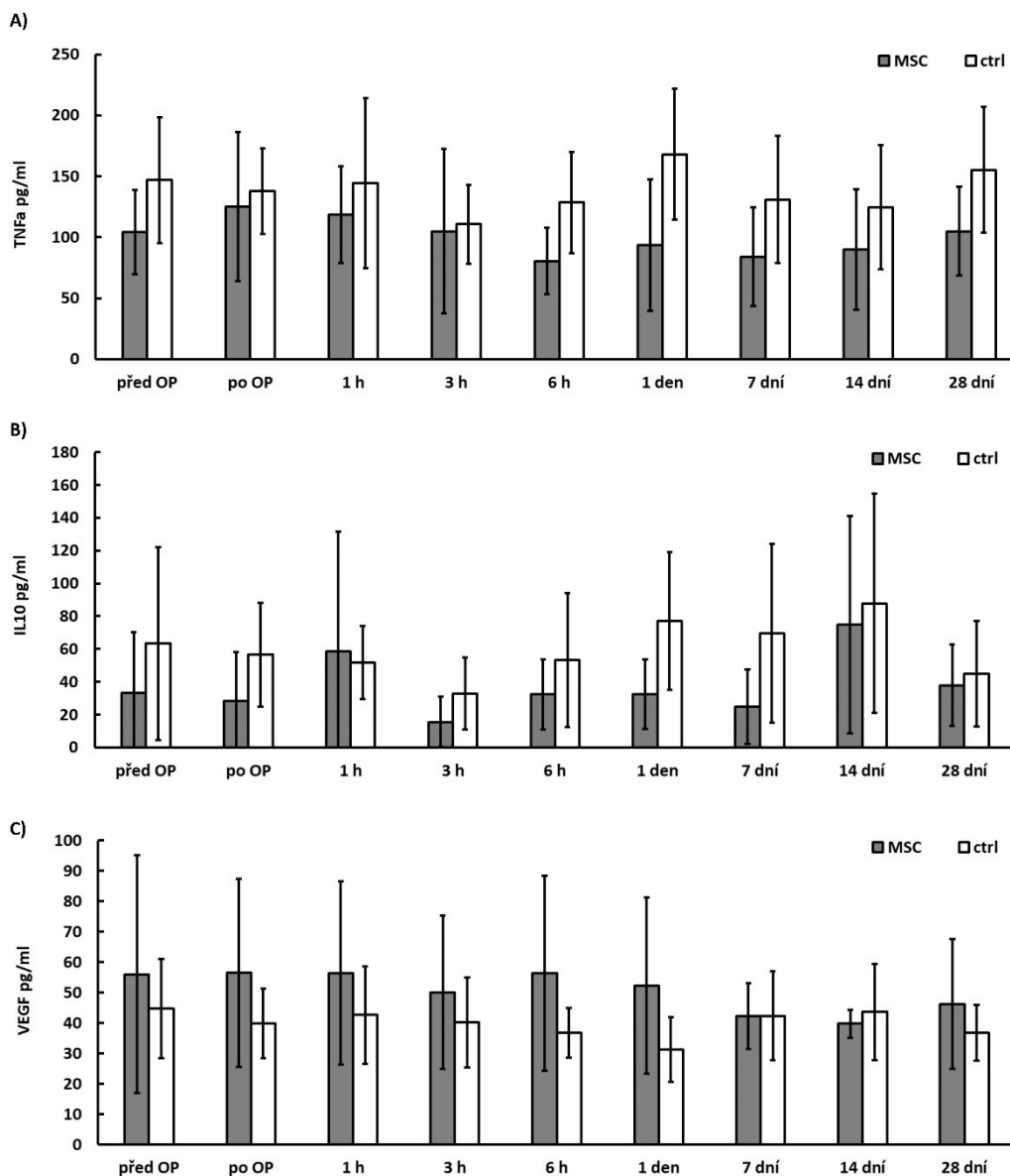
Krevní sérum experimentálních zvířat bylo biochemicky vyšetřeno za účelem zjištění efektu aplikace MSC na jaterní funkce po částečné jaterní resekcii (Obr. 1). Byly stanoveny hladiny jaterních enzymů aspartátaminotransferáza (AST), alaninaminotransferáza (ALT), γ -glutamyltransferáza (GGT), alkalické fosfatáza (ALP), a dále jaterních metabolitů albumin, urea a kreatinin. Hladiny AST byly jediné hladiny pozorovaných molekul, které zaznamenaly změnu v čase, a to zvýšení po dobu 1 h a 7 dní po operaci. Poté došlo k jejich návratu na bazální hladiny (obr. 1A). Žádné další molekuly nezaznamenaly změnu v čase. Aplikace MSC neměla vliv na pozorované hladiny jaterních enzymů a ostatních metabolitů.



Obr. 1: Biochemické vyšetření krevního séra experimentálních zvířat po částečné jaterní resekci a po aplikaci MSC. Experimentální skupině (MSC) (N = 10) bylo aplikováno 10^6 MSC/kg zvířete během operace; kontrolní skupině (ctrl) (N = 8) byl aplikován fyziologický roztok. MSC vs. ctrl pro každý časový bod, Wilcoxon test ($p > 0,05$).

Imunoanalýza:

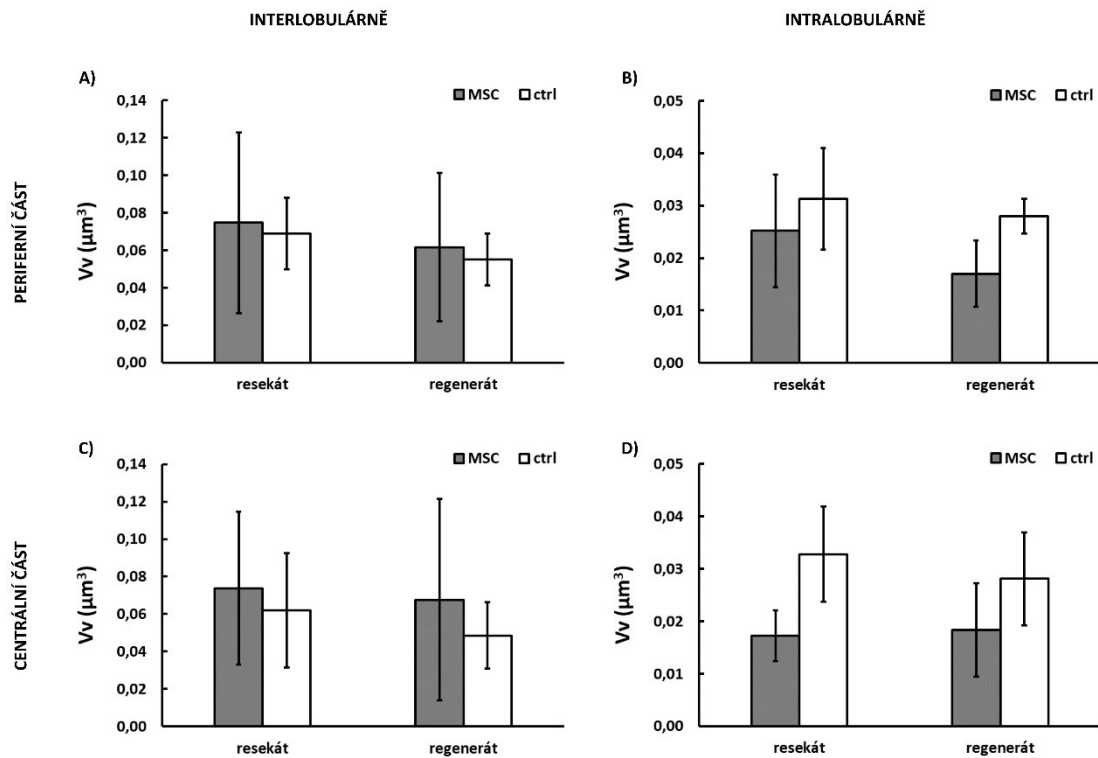
Krevní plasma experimentálních zvířat byla vyšetřena za účelem zjištění efektu aplikace MSC hladiny vybraných cytokinů regulujících hojivé procesy (Obr. 2). Byly stanoveny hladiny tumor-nekrotizujícího faktoru alfa (TNF α), interleukinu 10 (IL10) a vaskulárního endotelového růstového faktoru (VEGF). Jak u experimentální skupiny (MSC), tak u kontrolní skupiny (ctrl) nebyla pozorována výrazná změna ani jedné sledované molekuly v čase. Nebyl pozorován ani významný vliv aplikace MSC na hladiny všech analyzovaných molekul.



Obr. 2: Cytokinové vyšetření krevní plasmy experimentálních zvířat po částečné jaterní resekci a po aplikaci MSC. Experimentální skupině (MSC) (N = 10) bylo aplikováno 10^6 MSC/kg zvířete během operace; kontrolní skupině (ctrl) (N = 8) byl aplikován fyziologický roztok. MSC vs. ctrl pro každý časový bod, Wilcoxon test ($p > 0,05$).

Histologie:

Vzorky jater po regeneraci (regenerát) byly analyzovány histologicky pro objemový podíl pojivové tkáně v interlobulárním a intralobulárním prostoru, a dále v periferní a centrální části jaterních lalůček (Obr. 3). Dále byla vyšetřena resekovaná tkáň pro všechna experimentální zvířata (resekát) pro účely srovnání s počátečním stavem před regenerací. V periferních částech jater jsme nepozorovali významný rozdíl mezi experimentální (MSC) a kontrolní (ctrl) skupinou ani před regenerací (resekát), ani po regeneraci (regenerát) v objemovém podílu pojivové tkáně hodnocené jak interlobulárně (Obr. 3A), tak intralobulárně (Obr. 3B). Stejný průběh byl pozorován i v centrálních částech jater (Obr. 3C a 3D).



Obr. 3: Histologické stanovení objemového podílu pojivové tkáně (V_v) v játrech po částečné resekcii a po aplikaci MSC. Experimentální skupině (MSC) ($N = 10$) bylo aplikováno 10^6 MSC/kg zvířete během operace; kontrolní skupině (ctrl) ($N = 8$) byl aplikován fyziologický roztok. MSC vs. ctrl pro každou variantu, Wilcoxon test ($p > 0,05$).

9.4. Diskuze

Velké jaterní resekce jsou metodou volby u řady maligních i benigních onemocnění jater. V případě malignit je chirurgický výkon jedinou potenciaálně kurabilní metodou. Možnou komplikací a zároveň limitací těchto výkonů může být pooperační selhání jaterních funkcí. Příčinou bývá nedostatečný reziduální objem jater. Úspěch jaterní chirurgie je závislý na unikátní schopnosti jater obnovit chybějící objem tkáně. Mezenchymální kmenové buňky jsou potenciálním kandidátem pro buněčnou terapii díky své nízké imunogenicitě, snadné kultivovatelnosti a svým proregenerativním a antiinflatorním působením.

K dnešnímu datu probíhá nebo proběhlo (dle databáze clinicaltrials.gov) 61 klinických studií týkajících se terapie jaterních onemocnění pomocí MSCs. V naprosté většině případů se jedná o léčbu chronických stavů (zejm. jaterní cirhózy). Akutnímu selhání jater ve spojitosti s jaterní resekci se věnuje minimum studií, dále přítomnost jaterní neoplasie, která je nejčastějším důvodem rozsáhlých chirurgických výkonů, je v těchto studiích častým exkluzním kritériem pro podání MSCs.

Cílem našeho projektu bylo ověřit bezpečnost a efektivitu podání MSCs v souvislosti s velkou jaterní resekci na velkém zvířecím modelu.

Experimentálním zvířetem jsme zvolili prase domácí, jehož anatomické a metabolické vlastnosti jaterního parenchymu se nejvíce přibližují klinickému scénáři v humánní medicíně. Chtěli jsme prověřit, zda podání MSCs bude mít pozitivní efekt po středně velké jaterní resekci, která je nejběžnějším výkonem v jaterní chirurgii a tím zjistit, zda by z podání MSCs mohlo profitovat větší množství pacientů podstupujících jaterní výkon.

Jakým způsobem se vysvětlujeme, že aplikace MSCs neměla předpokládaný efekt:

1. Hepatocyty jsou buňky s enormním proliferačním potenciálem. Někteří autoři je také řadí do skupiny unipotentních kmenových buněk. Proto je možné, že zdravý jaterní parenchym je schopný plně korigovat stav, jakým je jaterní resekce.
2. MSCs se in vivo mohou chovat podobně jako jaterní tkáňově specifické kmenové buňky, ty se aktivují až v případě, že schopnost dělení se hepatocytů je vyčerpána nebo omezena. Tedy, že 40% hepatektomie je pro aktivaci MSCs podprahový signál.
3. Dle současného stavu poznání jsou MSCs buňky osídlující prostor v okolí kapilár. Vzhledem k extrémně rozsáhlé kapilární síti jater je tedy možné předpokládat i značné množství MSCs v jaterním parenchymu a tedy není nutné je externě dodávat.
4. V některých klinických studiích, ve kterých byl prokázán pozitivní efekt kmenových buněk, nebyly použity samotné MSCs. Jednalo se o směs vícero typů buněk. Je tedy možné, že dominantním buněčným typem ovlivňující jaterní regeneraci nejsou MSCs, ale například hematopoetické kmenové buňky či jiné buněčné elementy nebo bioaktivní molekuly.

9.5. Závěr

Terapie mezenchymálními kmenovými buňkami se zdá být bezpečnou metodou. U skupiny zvířat, kde byly MSCs aplikovány, nedošlo k žádným nežádoucím reakcím. Zároveň nebyl prokázán profibrotický efekt MCSs. Výsledky naší studie však neprokázaly pozitivní efekt této léčby na jaterní regeneraci po chirurgické resekci. Dle výsledků naší studie nelze metodu doporučit k širšímu využití v klinické praxi. Buněčná terapie patří mezi nové léčebné modality, mezibuněčná interakce je mimořádně komplexní proces, kde většině patofyziologických procesů zatím nerozumíme. Velice pravděpodobně bude zapotřebí provedení velkého množství studií, než se dočkáme aplikace těchto metod do klinické praxe v širším měřítku.

10. Použitá literatura

1. KOHLI, Anita, Allison A MURPHY, Chirdeep AGARWAL, et al. HCC surveillance results in earlier HCC detection: results from an Indian cohort. SpringerPlus. 2014, **3**(1). ISSN 2193-1801.
2. ZIMMERMANN, Wolfgang. Leberresektion beim HCC: Niedrige Viruslast begünstigt Prognose. Im Focus Onkologie. 2013, **16**(11). ISSN 1435-7402.
3. KOBAYASHI, Akihiko a Carlo PULITANÒ. Treatment of Huge HCC: Extending the Indications for Liver Resection. Annals of Surgical Oncology. 2008, **15**(5), 1549-1549. ISSN 1068-9265.
4. HONG, Kelvin, Christos S GEORGIADES a Jean-Francois H GESCHWIND. Technology Insight: image-guided therapies for hepatocellular carcinoma—intra-arterial and ablative techniques. Nature Clinical Practice Oncology. 2006, **3**(6), 315-324. ISSN 1743-4254.
5. NG, Kelvin K., Jean-Nicolas VAUTHEY, Timothy M. PAWLIK, et al. Is Hepatic Resection for Large or Multinodular Hepatocellular Carcinoma Justified? Results From a Multi-Institutional Database. Annals of Surgical Oncology. 2005, **12**(5), 364-373. ISSN 1068-9265.
6. PANDEY, Durgatosh, Kang-Hoe LEE, Chun-Tao WAI, Gajanan WAGHOLIKAR a Kai-Chah TAN. Long Term Outcome and Prognostic Factors for Large Hepatocellular Carcinoma (10 cm or more) after Surgical Resection. Annals of Surgical Oncology. 2007, **14**(10), 2817-2823. ISSN 1068-9265.
7. MAZZAFERRO, Vincenzo, Enrico REGALIA, Roberto DOCI, et al. Liver Transplantation for the Treatment of Small Hepatocellular Carcinomas in Patients with Cirrhosis. New England Journal of Medicine. 1996, **334**(11), 693-700. ISSN 0028-4793.

8. SANTORIELLO, A, R BENEVENTO, S LAMBERTI, G PERNA a S CANONICO. Treatment with radiofrequency thermoablation of elderly patients suffering from hepatocarcinoma (HCC). *BMC Geriatrics*. 2009, **9**(S1). ISSN 1471-2318.
9. SIM, Dayna P. Y., Brian K. P. GOH, Ser-Yee LEE, et al. Preoperative Prognostic Factors After Liver Resection for Non-Colorectal, Non-Neuroendocrine Liver Metastases and Validation of the Adam Score in an Asian Population. *World Journal of Surgery*. 2018, **42**(4), 1073-1084. ISSN 0364-2313.
10. FITZGERALD, Timothy L., Jason BRINKLEY, Shannon BANKS, Nasreen VOHRA, Zachary P. ENGLERT a Emmanuel E. ZERVOS. The benefits of liver resection for non-colorectal, non-neuroendocrine liver metastases: a systematic review. *Langenbeck's Archives of Surgery*. 2014, **399**(8), 989-1000. ISSN 1435-2443.
11. SKALICKÝ, Tomáš, Vladislav TŘEŠKA a Jiří ŠNAJDAUF. *Chirurgie jater*. Praha: Maxdorf, c2004. ISBN 8073450119.
12. HO, Wing M., B. MA, Tony MOK, et al. Liver Resection after Irinotecan, 5-Fluorouracil, and Folinic Acid for Patients with Unresectable Colorectal Liver Metastases: A Multicenter Phase II Study by the Cancer Therapeutic Research Group. *Medical Oncology*. 2005, **22**(3), 303-312. ISSN 1357-0560.
13. YUAN, Chun-hui, Jing WANG, Dian-rong XIU, et al. Meta-analysis of Liver Resection Versus Nonsurgical Treatments for Pancreatic Neuroendocrine Tumors with Liver Metastases. *Annals of Surgical Oncology*. 2016, **23**(1), 244-249. ISSN 1068-9265.
14. ZENER, Rebecca, Hyukjun YOON, Etay ZIV, Anne COVEY, Karen T. BROWN, Constantinos T. SOFOCLEOUS, Raymond H. THORNTON a F.

- Edward BOAS. Outcomes After Transarterial Embolization of Neuroendocrine Tumor Liver Metastases Using Spherical Particles of Different Sizes. *CardioVascular and Interventional Radiolog.* 2019, **42**(4), 569-576. ISSN 0174-1551.
15. KWAPISZ, Dorota. Oligometastatic breast cancer. *Breast Cancer.* 2019, **26**(2), 138-146. ISSN 1340-6868.
 16. RUIZ, Aldrick, Mylène SEBAGH, Raphaël SAFFROY, et al. Chronological occurrence of PI3KCA mutations in breast cancer liver metastases after repeat partial liver resection. *BMC Cancer.* 2019, **19**(1). ISSN 1471-2407.
 17. NICKKHOLGH, Arash a Arianeb MEHRABI. Liver Metastases from Breast Cancer. DI CARLO, Isidoro, ed. *Noncolorectal, Nonneuroendocrine Liver Metastases.* Cham: Springer International Publishing, 2015, 2015-10-29, s. 15-31. ISBN 978-3-319-09292-8.
 18. ZHANG, Jiao, HaiTao WANG a YanHong YAO. Liver Metastases from Prostate Cancer. DI CARLO, Isidoro, ed. *Noncolorectal, Nonneuroendocrine Liver Metastases.* Cham: Springer International Publishing, 2015, 2015-10-29, s. 183-206. ISBN 978-3-319-09292-8.
 19. TŘEŠKA V, SKALICKÝ T, FÍNEK J, KORMUNDA S, TOPOLČAN O, SUTNAR A, NEPRAŠOVÁ P, SŮVOVÁ B. Je indikována resekce jater nebo radiofrekvenční ablace u metastáz karcinomu prsu?. *Rozhl Chir.* 2004 Apr;83(4):173-7.
 20. SANDROUSSI, Charbel. Liver Metastases from Melanoma Cancer. DI CARLO, Isidoro, ed. *Noncolorectal, Nonneuroendocrine Liver Metastases.* Cham: Springer International Publishing, 2015, 2015-10-29, s. 69-77. ISBN 978-3-319-09292-8.

21. PINOTTI, Enrico, Francesca RATTI, Federica CIPRIANI a Luca ALDRIGHETTI. Liver Metastases from Kidney Cancer. DI CARLO, Isidoro, ed. Noncolorectal, Nonneuroendocrine Liver Metastases. Cham: Springer International Publishing, 2015, 2015-10-29, s. 33-48. ISBN 978-3-319-09292-8.
22. ADAIR, Anya a Stephen J. WIGMORE. Liver Metastases from Ovarian and Uterus Cancer. DI CARLO, Isidoro, ed. Noncolorectal, Nonneuroendocrine Liver Metastases. Cham: Springer International Publishing, 2015, 2015-10-29, s. 79-93. ISBN 978-3-319-09292-8.
23. VACHTOVÁ M, TŘEŠKA V, SŮVOVÁ B, HES O, EBELENDEROVÁ D. Karcinom prsu u nemocné po transplantaci ledviny--kazuistika. Rozhl Chir. 2009 Nov;88(11):687-90.
24. HIGGINS GM, ANDERSON RM. Experimental pathology of liver: restoration of liver of the white rat following partial surgical removal. Arch Pathol 1931;12:186-202.
25. MEHENDALE, Harihara M. Tissue Repair: An Important Determinant of Final Outcome of Toxicant-Induced Injury. Toxicologic Pathology. 2005, **33**(1), 41-51. ISSN 0192-6233.
26. BISSELL, D. Montgomery. Therapy for hepatic fibrosis: Revisiting the preclinical models. Clinics and Research in Hepatology and Gastroenterology. 2011, **35**(8-9), 521-525. ISSN 22107401.
27. LENTSCH AB, YOSHIDOME H, CHEDLE WG, MILLER FN, EDWARDS MJ. Chemokine involvement in hepatic ischemia/reperfusion injury in mice: roles for macrophage inflammatory protein-2 and KC. Hepatology [online]. 1998, **27**(4), 1172-1172. ISSN 0270-9139.

28. DAOUST R, CANTERO A. The numerical proportions of cell types in rat liver during carcinogenesis by 4-dimethylaminoazobenzene (DAB). *Cancer Res.* 1959 Aug;19:757-62.
29. FAUSTO, Nelson a Jean S. CAMPBELL. The role of hepatocytes and oval cells in liver regeneration and repopulation. *Mechanisms of Development.* 2003, **120**(1), 117-130. ISSN 09254773.
30. VAN HAELE, Matthias a Tania ROSKAMS. Hepatic Progenitor Cells. *Gastroenterology Clinics of North America.* 2017, **46**(2), 409-42. ISSN 08898553.
31. KOFMAN, Alexander V., Glyn MORGAN, Adam KIRSCHENBAUM, Jon OSBECK, Mehboob HUSSAIN, Scott SWENSON a Neil D. THEISE. Dose- and time-dependent oval cell reaction in acetaminophen-induced murine liver injury. *Hepatology.* 2005, **41**(6), 1252-1261. ISSN 0270-9139.
32. SCHOEN, Jodi M., H.Helen WANG, Gerald Y. MINUK a W.Wayne LAUTT. Shear Stress-Induced Nitric Oxide Release Triggers the Liver Regeneration Cascade. *Nitric Oxide.* 2001, **5**(5), 453-464. ISSN 10898603.
33. MICHALOPOULOS, George K. Liver Regeneration after Partial Hepatectomy. *The American Journal of Pathology.* 2010, **176**(1), 2-13. ISSN 00029440.
34. SHIMIZU, Hiroaki, Masaru MIYAZAKI, Yasuo WAKABAYASHI, et al. Vascular endothelial growth factor secreted by replicating hepatocytes induces sinusoidal endothelial cell proliferation during regeneration after partial hepatectomy in rats. *Journal of Hepatology.* 2001, **34**(5), 683-689. ISSN 01688278.
35. OLTHOFF, Kim M., Jean C. EMOND, Tempie H. SHEARON, et al. Liver regeneration after living donor transplantation: Adult-to-adult living donor

- liver transplantation cohort study. *Liver Transplantation*. 2015, **21**(1), 79-88. ISSN 15276465.
36. ROGOWSKI, Petr. Deregulace mezibuněčné komunikace prostřednictvím interakcí mezi organickými polutanty a fyziologickými regulátory signální dráhy. Brno, 2015. Diplomová práce. Masarykova univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce prof. RNDr. Jan Vondráček, Ph.D.
 37. CANBAY, Ali, Hajime HIGUCHI, Steven F. BRONK, Makiko TANIAI, Tom J. SEBO a Gregory J. GORES. Fas enhances fibrogenesis in the bile duct ligated mouse: A link between apoptosis and fibrosis. *Gastroenterology*. 2002, **123**(4), 1323-1330. ISSN 00165085.
 38. YOKOYAMA, Y., M. NAGINO a Y. NIMURA. Mechanisms of Hepatic Regeneration Following Portal Vein Embolization and Partial Hepatectomy: A Review. *World Journal of Surgery*. 2007, **31**(2), 367-374. ISSN 0364-2313.
 39. DELANY, Harry M., Joseph JOHN, Eutiquio L. TEH, Chang-Sheng LI, Marvin L. GLIEDMAN, J.J. STEINBERG a Stanley M. LEVENSON. Contrasting effects of identical nutrients given parenterally or enterally after 70% hepatectomy. *The American Journal of Surgery*. 1994, **167**(1), 135-144 [cit. 2021-12-31]. ISSN 00029610.
 40. SELZNER, Markus, Hannes A. RÜDIGER, David SINDRAM, John MADDEN a Pierre-Alain CLAVIEN. Mechanisms of ischemic injury are different in the steatotic and normal rat liver. *Hepatology*. 2000, **32**(6), 1280-1288. ISSN 02709139.
 41. BIPAT, Shandra, Maarten S. VAN LEEUWEN, Emile F. I. COMANS, Milan E. J. PIJL, Patrick M. M. BOSSUYT, Aeilko H. ZWINDERMAN a Jaap STOKER. Colorectal Liver Metastases: CT, MR Imaging, and PET for

- Diagnosis—Meta-analysis. *Radiology*. 2005, **237**(1), 123-131. ISSN 0033-8419.
42. NESBITT, C., R.J. GLENDINNING, C. BYRNE a G.J. POSTON. Factors that influence treatment strategies in advanced colorectal cancer. *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*. 2007, **33**, S88-S94. ISSN 07487983.
43. MULLEN, John T., Dario RIBERO, Srinevas K. REDDY, et al. Hepatic Insufficiency and Mortality in 1,059 Noncirrhotic Patients Undergoing Major Hepatectomy. *Journal of the American College of Surgeons*. 2007, **204**(5), 854-862. ISSN 10727515.
44. SHOUP, M. Volumetric Analysis Predicts Hepatic Dysfunction in Patients Undergoing Major Liver Resection. *Journal of Gastrointestinal Surgery*. 2003, **7**(3), 325-330. ISSN 1091255X.
45. BENSON, Al. Epidemiology, disease Progression, and Economic Burden of Colorectal Cancer. *Journal of Managed Care Pharmacy*. 2007, **13**(6 Supp C), 5-18. ISSN 1083-4087.
46. VAN CUTSEM, E., A. CERVANTES, B. NORDLINGER a D. ARNOLD. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2014, **25**, iii1-iii9. ISSN 09237534.
47. BENOIST, Stéphane, Antoine BROUQUET, Christophe PENNA, et al. Complete Response of Colorectal Liver Metastases After Chemotherapy: Does It Mean Cure? *Journal of Clinical Oncology*. 2006, **24**(24), 3939-3945. ISSN 0732-183X.
48. NORDLINGER, B., E. VAN CUTSEM, T. GRUENBERGER, B. GLIMELIUS, G. POSTON, P. ROUGIER, A. SOBRERO a M. YCHOU. Combination of surgery and chemotherapy and the role of targeted agents in the treatment of patients with colorectal liver metastases:

- recommendations from an expert panel. *Annals of Oncology*. 2009, **20**(6), 985-992. ISSN 09237534.
49. FALCONE, Alfredo, Sergio RICCI, Isa BRUNETTI, et al. Phase III Trial of Infusional Fluorouracil, Leucovorin, Oxaliplatin, and Irinotecan (FOLFOXIRI) Compared With Infusional Fluorouracil, Leucovorin, and Irinotecan (FOLFIRI) As First-Line Treatment for Metastatic Colorectal Cancer: The Gruppo Oncologico Nord Ovest. *Journal of Clinical Oncology*. 2007, **25**(13), 1670-1676. ISSN 0732-183X.
50. VAN CUTSEM, E., A. CERVANTES, B. NORDLINGER a D. ARNOLD. Metastatic colorectal cancer: ESMO Clinical Practice Guidelines for diagnosis, treatment and follow-up. *Annals of Oncology*. 2014, **25**, iii1-iii9. ISSN 09237534.
51. HURWITZ, Herbert, Louis FEHRENBACHER, William NOVOTNY, et al. Bevacizumab plus Irinotecan, Fluorouracil, and Leucovorin for Metastatic Colorectal Cancer. *New England Journal of Medicine*. 2004, **350**(23), 2335-2342. ISSN 0028-4793.
52. MAKUUCHI M, THAI BL, TAKAYUSU K, TAKAYAMA T, KOSUGE T, GUNVÉN P, YAMAZAKI S, HASEGAWA H, OZAKI H. Preoperative portal embolization to increase safety of major hepatectomy for hilar bile duct carcinoma: a preliminary report. *Surgery*. 1990 May;107(5):521-7.
53. MADOFF, David C., Eddie K. ABDALLA a Jean-Nicolas VAUTHEY. Portal Vein Embolization in Preparation for Major Hepatic Resection: Evolution of a New Standard of Care. *Journal of Vascular and Interventional Radiology*. 2005, **16**(6), 779-790. ISSN 10510443.
54. RIBERO, D, E K ABDALLA, D C MADOFF, M DONADON, E M LOYER a J-N VAUTHEY. Portal vein embolization before major

- hepatectomy and its effects on regeneration, resectability and outcome. British Journal of Surgery. 2007, **94**(11), 1386-1394. ISSN 0007-1323.
55. DI STEFANO, Donatella R., Thierry DE BAERE, Alban DENYS, et al. Preoperative Percutaneous Portal Vein Embolization: Evaluation of Adverse Events in 188 Patients. Radiology. 2005, **234**(2), 625-630. ISSN 0033-8419.
56. BROERING, D. Portal Vein Embolization vs. Portal Vein Ligation for Induction of Hypertrophy of the Future Liver Remnant. Journal of Gastrointestinal Surgery. 2002, **6**(6), 905-913. ISSN 1091255X.
57. AM ESCH, Jan Schulte, Wolfram Trudo KNOEFEL, Michael KLEIN, et al. Portal Application of Autologous CD133 + Bone Marrow Cells to the Liver: A Novel Concept to Support Hepatic Regeneration. STEM CELLS. 2005, **23**(4), 463-470. ISSN 1066-5099.
58. TŘEŠKA V, LIŠKA V, FICHTL J, LYSÁK D, MÍRKA H, BRŮHA J, DURAS P, TŘEŠKOVÁ I, NÁHLÍK J, ŠIMÁNEK V, TOPOLČAN 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.
59. ADAM, René, Alexis LAURENT, Daniel AZOULAY, Denis CASTAING a Henri BISMUTH. Two-Stage Hepatectomy: A Planned Strategy to Treat Irresectable Liver Tumors. Annals of Surgery. 2000, **232**(6), 777-785. ISSN 0003-4932.
60. PAMECHA, V, A LEVENE, F GRILLO, N WOODWARD, A DHILLON a B R DAVIDSON. Effect of portal vein embolisation on the growth rate of colorectal liver metastases. British Journal of Cancer. 2009, **100**(4), 617-622. ISSN 0007-0920.

61. KAROUI, M, L VIGANO, P GOYER, et al. Combined first-stage hepatectomy and colorectal resection in a two-stage hepatectomy strategy for bilobar synchronous liver metastases. *British Journal of Surgery*. 2010, **97**(9), 1354-1362. ISSN 0007-1323.
62. TURRINI, O., J. EWALD, F. VIRET, A. SARRAN, A. GONCALVES a J.-R. DELPERO. Two-stage hepatectomy: Who will not jump over the second hurdle? *European Journal of Surgical Oncology (EJSO)*. 2012, **38**(3), 266-273. ISSN 07487983.
63. OLDHAFER, Karl J., Gregor A. STAVROU a Thomas M. VAN GULIK. ALPPS—Where Do We Stand, Where Do We Go? *Annals of Surgery*. 2016, **263**(5), 839-841. ISSN 0003-4932.
64. MUMMERY, C. L. *Stem cells: scientific facts and fiction*. Burlington, MA: Academic Press, 2011. ISBN 9780123815354.
65. ČEDÍKOVÁ, Miroslava et al. On-line atlas různých typů kmenových buněk a vybraných diferenciačních postupů [online]. Lékařská fakulta v Plzni, Univerzita Karlova v Praze, 2012.
66. ESCH, Jan Schulte am, Moritz SCHMELZLE, Günther FÜRST, et al. Infusion of CD133+ Bone Marrow–Derived Stem Cells After Selective Portal Vein Embolization Enhances Functional Hepatic Reserves After Extended Right Hepatectomy. *Annals of Surgery*. 2012, **255**(1), 79-85. ISSN 0003-4932.
67. GROMPE M, The Role of Bone Marrow Stem Cells in Liver Regeneration. *Seminars in Liver Disease*. 2003, **23**(4), 363-37. ISSN 0272-8087.
68. WU XZ, CHEN D, XIE GR. Bone marrow-derived cells: roles in solid tumor. *Minireview. Neoplasma*. 2007;54(1):1-6.

69. FRIEDENSTEIN, A. J., R. K. CHAILAKHJAN a K. S. LALYKINA. THE DEVELOPMENT OF FIBROBLAST COLONIES IN MONOLAYER CULTURES OF GUINEA-PIG BONE MARROW AND SPLEEN CELLS. *Cell Proliferation*. 1970, **3**(4), 393-403. ISSN 0960-7722.
70. SACCHETTI, Benedetto, Alessia FUNARI, Stefano MICHIENZI, et al. Self-Renewing Osteoprogenitors in Bone Marrow Sinusoids Can Organize a Hematopoietic Microenvironment. *Cell*. 2007, **131**(2), 324-336. ISSN 00928674.
71. MÉNDEZ-FERRER, Simón, Tatyana V. MICHURINA, Francesca FERRARO, et al. Mesenchymal and haematopoietic stem cells form a unique bone marrow niche. *Nature*. 2010, **466**(7308), 829-834. ISSN 0028-0836.
72. DOMINICI, M., K. LE BLANC, I. MUELLER, et al. Minimal criteria for defining multipotent mesenchymal stromal cells. The International Society for Cellular Therapy position statement. *Cytotherapy*. 2006, **8**(4), 315-317. ISSN 14653249.
73. BOURIN, Philippe, Bruce A. BUNNELL, Louis CASTEILLA, et al. Stromal cells from the adipose tissue-derived stromal vascular fraction and culture expanded adipose tissue-derived stromal/stem cells: a joint statement of the International Federation for Adipose Therapeutics and Science (IFATS) and the International Society for Cellular Therapy (ISCT). *Cytotherapy*. 2013, **15**(6), 641-648. ISSN 14653249.
74. NAJIMI, Mustapha, Dung Ngoc KHUU, Philippe Antoine LYSY, Nawal JAZOULI, Jorge ABARCA, Christine SEMPOUX a Etienne Marc SOKAL. Adult-Derived Human Liver Mesenchymal-Like Cells as a Potential Progenitor Reservoir of Hepatocytes? *Cell Transplantation*. 2007, **16**(7), 717-728. ISSN 0963-6897.

75. HONG, Seung Hyun, Eun Ji GANG, Ju Ah JEONG, et al. In vitro differentiation of human umbilical cord blood-derived mesenchymal stem cells into hepatocyte-like cells. *Biochemical and Biophysical Research Communications*. 2005, **330**(4), 1153-1161. ISSN 0006291X.
76. SNYKERS, Sarah, Joery DE KOCK, Vera ROGIERS a Tamara VANHAECKE. In Vitro Differentiation of Embryonic and Adult Stem Cells into Hepatocytes: State of the Art. *STEM CELLS*. 2009, **27**(3), 577-605. ISSN 1066-5099.
77. MAKINO, Shinji, Keiichi FUKUDA, Shunichirou MIYOSHI, et al. Cardiomyocytes can be generated from marrow stromal cells in vitro. *Journal of Clinical Investigation* [online]. 1999, **103**(5), 697-705. ISSN 0021-9738.
78. PIRYAEI, Abbas, Mojtaba Rezazadeh VALOJERDI, Mansoureh SHAHSAVANI a Hossein BAHARVAND. Differentiation of Bone Marrow-derived Mesenchymal Stem Cells into Hepatocyte-like Cells on Nanofibers and Their Transplantation into a Carbon Tetrachloride-Induced Liver Fibrosis Model. *Stem Cell Reviews and Reports*. 2011, **7**(1), 103-118. ISSN 1550-8943.
79. CHAPEL, Alain, Jean Marc BERTHO, Morad BENSIDHOUM, et al. Mesenchymal stem cells home to injured tissues when co-infused with hematopoietic cells to treat a radiation-induced multi-organ failure syndrome. *The Journal of Gene Medicine*. 2003, **5**(12), 1028-1038. ISSN 1099-498X.
80. SORDI, Valeria, Maria Luisa MALOSIO, Federica MARCHESI, et al. Bone marrow mesenchymal stem cells express a restricted set of functionally active chemokine receptors capable of promoting migration to pancreatic islets. *Blood*. 2005, **106**(2), 419-427. ISSN 0006-4971.

81. P. DE MIGUEL, M., S. FUENTES-JULIAN, A. BLAZQUEZ-MARTINEZ, C. Y. PASCUAL, M. A. ALLER, J. ARIAS a F. ARNALICH-MONTIEL. Immunosuppressive Properties of Mesenchymal Stem Cells: Advances and Applications. *Current Molecular Medicine*. 2012, **12**(5), 574-591. ISSN 15665240.
82. SATO, Kazuya, Katsutoshi OZAKI, Iekuni OH, Akiko MEGURO, Keiko HATANAKA, Tadashi NAGAI, Kazuo MUROI a Keiya OZAWA. Nitric oxide plays a critical role in suppression of T-cell proliferation by mesenchymal stem cells. *Blood*. 2006, **109**(1), 228-23. ISSN 0006-4971.
83. SPAGGIARI, Grazia Maria, Heba ABDELRAZIK, Flavio BECCHETTI a Lorenzo MORETTA. MSCs inhibit monocyte-derived DC maturation and function by selectively interfering with the generation of immature DCs: central role of MSC-derived prostaglandin E2. *Blood*. 2009, **113**(26), 6576-6583. ISSN 0006-4971.
84. WANG, Jing, Chunjing BIAN, Lianming LIAO, Yashu ZHU, Jing LI, Lifan ZENG a Robert Chunhua ZHAO. Inhibition of hepatic stellate cells proliferation by mesenchymal stem cells and the possible mechanisms. *Hepatology Research*. 2009, **39**(12), 1219-1228. ISSN 13866346.
85. RABANI, Vahideh, Mansoureh SHAHSAVANI, Marzieh GHARAVI, Abbas PIRYAEI, Zahra AZHDARI a Hossein BAHARVAND. Mesenchymal stem cell infusion therapy in a carbon tetrachloride-induced liver fibrosis model affects matrix metalloproteinase expression. *Cell Biology International*. 2010, **34**(6), 601-605. ISSN 1065-6995.
86. DI BONZO, L V., I FERRERO, C CRAVANZOLA, et al. Human mesenchymal stem cells as a two-edged sword in hepatic regenerative medicine: engraftment and hepatocyte differentiation versus profibrogenic

- potential. Gut [online]. 2008, **57**(2), 223-231 [cit. 2022-01-02]. ISSN 0017-5749. Dostupné z: doi:10.1136/gut.2006.111617
87. KARNOUB, Antoine E., Ajeeta B. DASH, Annie P. VO, et al. Mesenchymal stem cells within tumour stroma promote breast cancer metastasis. Nature. 2007, **449**(7162), 557-563. ISSN 0028-0836.
 88. ORIMO, Akira, Piyush B. GUPTA, Dennis C. SGROI, et al. Stromal Fibroblasts Present in Invasive Human Breast Carcinomas Promote Tumor Growth and Angiogenesis through Elevated SDF-1/CXCL12 Secretion. Cell. 2005, **121**(3), 335-348. ISSN 00928674.
 89. CORREA, Diego, Rodrigo A. SOMOZA, Paul LIN, William P. SCHIEMANN a Arnold I. CAPLAN. Mesenchymal stem cells regulate melanoma cancer cells extravasation to bone and liver at their perivascular niche. International Journal of Cancer. 2016, **138**(2), 417-427. ISSN 00207136.
 90. KESHTKAR, Somayeh, Negar AZARPIRA a Mohammad Hossein GHAREMANI. Mesenchymal stem cell-derived extracellular vesicles: novel frontiers in regenerative medicine. Stem Cell Research & Therapy. 2018, **9**(1). ISSN 1757-6512.
 91. LI, Tingfen, Yongmin YAN, Bingying WANG, et al. Exosomes Derived from Human Umbilical Cord Mesenchymal Stem Cells Alleviate Liver Fibrosis. Stem Cells and Development. 2013, **22**(6), 845-854. ISSN 1547-3287.
 92. DA SILVA MEIRELLES, Lindolfo. Mesenchymal stem cells and their relationship to pericytes. Frontiers in Bioscience. 2016, **21**(1), 130-156. ISSN 10939946.

93. CAPLAN, Arnold I. Mesenchymal Stem Cells: Time to Change the Name! *Stem Cells Translational Medicine*. 2017, **6**(6), 1445-1451. ISSN 2157-6564.
94. ADAM, René, Vincent KARAM, Valérie DELVART, et al. Evolution of indications and results of liver transplantation in Europe. A report from the European Liver Transplant Registry (ELTR). *Journal of Hepatology* [online]. 2012, **57**(3), 675-688 [cit. 2022-01-02]. ISSN 01688278.
95. ADAM, René, Vincent KARAM, Valérie CAILLIEZ, et al. 2018 Annual Report of the European Liver Transplant Registry (ELTR) - 50-year evolution of liver transplantation. *Transplant International* [online]. 2018, **31**(12), 1293-1317 [cit. 2022-01-02]. ISSN 09340874.

11. Publikační činnost autora

Publikace, kde je student autorem hlavním nebo korespondenčním:

Skalický A, Vištejnová L, Dubová M, Malkus T, Skalický T, Troup O. Mixed neuroendocrine-non-neuroendocrine carcinoma of gallbladder: case report. *World J Surg Oncol.* 2019 Mar 22;17(1):55. doi: 10.1186/s12957-019-1598-4. PMID: 30902091; PMCID: PMC6429764. **(IF 2,48)**

Troup O, Skalický A, Vištejnová L, Klein P, Malečková A, Florová B, Malkus T, Moláček J, Třeška V, Kříž M, Zeman J, Skalický T, Bevacizumab Does Not Inhibit the Formation of Liver Vessels and Liver Regeneration Following Major Hepatectomy: A Large Animal Model Study. *In vivo* 2022 **(2.155)**

Publikace, kde je student spoluautorem:

Skalický T, Skalický A. Ruptura jater po kolapsu při akutním infarktu myokardu, resuscitaci a akutní revaskularizaci myokardu [Liver Injury after a Collapse Caused by Acute Myocardial Infarction, Resuscitation and Acute Myocardial Revascularisation]. *Acta Chir Orthop Traumatol Cech.* 2019;86(6):444-446. Czech. PMID: 31941573. **(IF 0,561)**