

# Transplantácia hepatocytov

**MUDr. Rastislav Kalanin, MUDr. Tomáš Gajdzik, MUDr. Martina Vidová, MUDr. Izabela Bosznayová, doc. MUDr. Jana Kaťuchová, PhD., prof. MUDr. Jozef Radoňak, CSc.**

I. chirurgická klinika LF UPJŠ a UNLP, Košice

Transplantácia pečene je v súčasnosti jedinou možnou terapeutickou metódou pri pokročilých štádiách akútnych, chronických a metabolických ochorení pečene. Problémom pri týchto transplantáciách je aj naďalej pretrvávajúci nedostatok vhodných darcov. Transplantácia hepatocytov predstavuje vhodnú alternatívu na orgánové transplantácie pečene. Postup je výrazne menej invazívny a môže byť vykonávaný aj opakovane.

**Kľúčové slová:** transplantácia hepatocytov, transplantácia pečene, zlyhávajúce pečene.

## Transplantation of hepatocytes

Liver transplantation is currently the only method of therapy in advanced acute, chronic and metabolic diseases of the liver. The problem with these transplants remains a persistent lack of suitable donors. Transplantation of hepatocytes is a suitable alternative to organ transplant liver. The procedure is much less invasive and can be performed repeatedly.

**Key words:** transplantation of hepatocytes, liver transplantation, liver failure.

Slov. chir., 2015; roč. 12(2): 47–50

## Úvod

Transplantácia hepatocytov predstavuje vhodnú alternatívu na orgánové transplantácie pečene. Zdrojom izolovaných hepatocytov môžu byť napríklad aj nevyužitú orgány, ktoré nie sú vhodné na samotnú transplantáciu pečene. Ďalšou možnosťou je aj využitie izolovaných hepatocytov po resekcii pečene. Hepatocyty od jedného darcu môžu byť použité pre viacerých príjemcov, nakoľko je možné ich zachovať zmrazením na neskoršie použitie, pričom pred ich použitím môžu byť aj geneticky modifikované. Transplantácia hepatocytov nie je zatiaľ štandardne používanou metódou, ktorú by bolo možné využívať v praxi. Touto témou sa však zaoberá množstvo experimentov na animálnych modeloch, pričom už boli uskutočnené aj prvé pokusy u človeka.

V budúcnosti sa transplantácia hepatocytov javí ako veľmi perspektívna alternatíva na orgánovú transplantáciu pečene. Transplantácia hepatocytov má oproti transplantácii pečene mnoho potenciálnych výhod. Jednou z najväčších výhod transplantácie hepatocytov je jej výrazne nižšia invazivita oproti transplantácii pečene, ktorá predstavuje chirurgicky veľmi náročný výkon, ktorý môže byť sprevádzaný závažnými pooperačnými komplikáciami.

## Hepatocyty

Hepatocyt alebo aj pečenevá bunka tvorí základ pečenevého tkaniva. Počet hepatocytov v pečeni je 10 – 30 miliárd (1). Hepatocyty sú zodpovedné za väčšinu metabolických pochodov, ktoré prebiehajú v pečeni, z ktorej objemu tvoria

78 %, a zároveň tvoria 60 % všetkých buniek, ktoré sa v pečeni nachádzajú. Hepatocyty sú polyedrické bunky, ktorých priemer je 20 – 30 µm a sú pokryté mikrokľmami (2). Pomerne často sa v pečeni nachádzajú hepatocyty s dvoma jadrami a hepatocyty s veľkými jadrami vyznačujúcimi sa polyploidným počtom chromozómov. Počet dvojjadrových buniek a polyploidných buniek vzrastá pri veľkom funkčnom zaťažení pečene a s vekom (3). Ako každá epitelová bunka má aj hepatocyt polaritu stavby a funkcie. Bazolaterálna membrána je obrátená k intercelulárnej štrbine a susedí s extracelulárnym priestorom, kam preniká krvná plazma – krvný pól. V tomto mieste sa pomocou rôznych prenášačov vychytávajú látky z krvi (glukóza, aminokyseliny, žľčové kyseliny) a do krvi sú predávané produkty syntézy (proteíny, lipoproteíny, glukóza). Apikálny pól je obrátený k žľčovým kanálikom – žľčový pól, v ktorom sa produkuje žľč. Plazmatická membrána na žľčovom póle sa vyznačuje rôznymi transportnými mechanizmami. Hepatocyt je bohaty vybavený všetkými obvyklými bunkovými organelami. Endoplazmatické retikulum a Golgiho komplex slúžia na syntézu a sekréciu albumínu, koagulačných faktorov a iných plazmatických bielkovín. Lysozomy sa nachádzajú hlavne blízko žľčového pólu. Podielajú sa okrem iného na odbúravaní opotrebovaných alebo prebytočných zložiek buniek (4). Morfológickou jednotkou parenchýmu pečene je lalôčik centrálnaj vény. Je tvorený z trámecov pečenevéch buniek, ktoré sa zbiehajú k centru lalôčika. Pečenevý lalôčik má tvar nepravidelného šesťbokého hranola, je vysoký asi 2 mm a jeho priemer je okolo 0,7 mm. Lalôčiky sú k sebe tesne priložené. Iba na miestach, kde sa stretávajú

3 pečenevé lalôčiky, sa nachádza viac väziva. Tieto miesta označujeme ako portobiliárny priestor (5). Veľkou výhodou hepatocytov je ich proliferačná schopnosť, v prípade poškodenia orgánu nekrozou alebo po chirurgickej resekcii sú schopné nahradiť chýbajúce tkanivo.

## Patofyziológia zlyhania pečene

Hoci má pečeň značné regeneračné schopnosti, zlyhanie pečene sa môže vyvinúť z ťažkého akútne prebiehajúceho pečenevého poškodenia s masívnou nekrozou pečenevéch buniek alebo z pokročilého chronického pečenevého ochorenia.

Akútne zlyhanie pečene sa vyvíja náhle s ťažkým poškodením pečenevéch funkcií. Je definované kómou bez predchádzajúceho chronického ochorenia pečene. Príčinami sú: akútna vírusová hepatitída, hepatotoxické účinky liekov, otrava tetrachlórmetánom, akútna alkoholová hepatitída, otrava hubami a tehotenstvo komplikované eklampsiou (6).

Chronická insuficiencia pečene sa pri progresujúcich chronických hepatopatiách, hlavne pri fibróze a cirhóze, postupne prehľbuje až do stavu hraničiaceho zo zlyhaním. Najčastejším dôvodom je cirhóza, chronická aktívna hepatitída, chronická cholestáza a Wilsonova choroba (7).

## Prejavy zlyhania pečene

Akútne a chronické zlyhanie pečene, s ohľadom na rozmanité funkcie pečene, vytvára komplexné prejavy. **Ikterus** odráža závažnosť poškodenia hepatocytov. Dôvodom je strata schopnosti pečenevéch buniek metabolizovať bilirubín. Pri akútnom zlyhaní sa ikterus objavuje okamžite

a predstavuje rozsah poškodenia pečeňových buniek. Pri chronickom zlyhaní sa ikterus objaví neskoro a je miernejšieho charakteru. **Hepatálna encefalopatia** je neuropsychiatrický syndróm. Zahŕňa poruchy vedomia, zmeny osobnosti, duševné poškodenie, nezreteľnú reč a nakoniec kómu a smrť. Dôvodom sú toxické látky, ktoré nie sú metabolizované poškodenou pečeňou. Toxické látky sa dostanú do systémového obehu a poškodia mozog. **Hyperkinetická cirkulácia** je charakterizovaná periférnou vazodilatáciou, zvýšeným prietokom krvi a zvýšeným srdcovým výdajom srdca. Znižuje sa prietok obličkami, čo vedie k tachykardii, nízkemu krvnému tlaku a zníženej funkcii obličiek. **Hepatorenálny syndróm** sa môže vyvinúť u pacientov s akútnym aj chronickým zlyhaním pečene. Nastáva zlyhanie obličiek pri absencii klinických, laboratórnych alebo morfológických dôkazov iných príčin renálnej dysfunkcie. Hepatorenálny syndróm sa vyvíja asi u 10 % pacientov s akútnym alebo chronickým zlyhaním pečene. **Hepatopulmonálny syndróm** môže vzniknúť u pacientov s chronickým zlyhaním pečene s cirhózou. To má za následok ventilačno-perfúziu nerovnováhu, ktorá môže viesť k poškodeniu funkcie pľúc, paličkovitým prstom a aj cyanóze. **Koagulačné poruchy** sú následkom poruchy syntézy radu koagulačných faktorov chorej pečene. Patrí sem trombocytopenia, DIC a prítomnosť fibrín degradačných produktov v krvi. **Ascites a edémy** vznikajú následkom chronického zlyhanie pečene a cirhózy, čo môže vyústiť do portálnej hypertenzie a ascitu. Znížená syntéza albumínu vedie do proteínémie, čo sa podieľa na rozvoji ascitu a edému u týchto pacientov. **Ďalšími prejavmi** pečeňového zlyhanie môžu byť endokrinné zmeny u mužov, ako je gynekomastia a hypogonadizmus, a u žien vedú k maskulinizácii. Pri kožných zmenách môžu vzniknúť pavúčikovité névy a palmárny erytém. Pri závažných prípadoch akútneho alebo chronického zlyhanie pečene môže vzniknúť sladkastý a štiplavý zápach dychu – foetor hepaticus (7).

### História transplantácie hepatocytov

Hlavným predpokladom na transplantáciu hepatocytov je ich dostupnosť. Prvýkrát sa ich podarilo izolovať z pečene potkana v roku 1967 Howardovi (8). Získanie suspenzie hepatocytov dostatočnej kvality umožnila však až izolácia hepatocytov dvojstupňovou perfúziou pečene kolagenázou, ktorá bola opísaná v roku 1969 Berrym a Friendom (9).

Prvé vážnejšie pokusy o transplantáciu hepatocytov na zvieracom modeli boli zaznamenané v sedemdesiatych a osemdesiatych ro-

koch. Prvú transplantáciu hepatocytov u človeka vykonali japonskí vedci Mito a Kusano v roku 1993 u pacienta s chronickou hepatitídou a cirhózou pečene. Hepatocyty izolované zo segmentu pečene pacienta boli podané do sleziny. Hepatocyty boli detegované aj 11 mesiacov po operácii, ku klinickému zlepšeniu stavu pacienta však nedošlo (10).

V roku 1994 bola publikovaná štúdia Habibullaha. Pacientom s pečeňovým zlyhaním a encefalopatiou III. – IV. stupňa boli do peritoneálnej dutiny podané hepatocyty získané z ľudských plodov. Kontrolnú skupinu tvorili pacienti, ktorí s transplantáciou hepatocytov nesúhlasili. Mortalita transplantovaných pacientov bola 52 % a mortalita pacientov, ktorí s transplantáciou nesúhlasili bola 67 %. U pacientov s encefalopatiou III. stupňa prežilo po transplantácii hepatocytov 100 % pacientov a v kontrolnej skupine prežilo 50 % pacientov (11). Štúdia autorov Stroma a Fishera z roku 1997 opisuje transplantáciu hepatocytov u 11 pacientov s fulminantným pečeňovým zlyhaním a u 4 pacientov s akútnou dekompenzáciou pečeňovej cirhózy. Hepatocyty boli aplikované do a. lienalis. Z pacientov s fulminantným pečeňovým zlyhaním sa 6 dožilo transplantácie pečene, dvaja pacienti zomreli pred transplantáciou pečene a stav jednej pacientky s fulminantnou vírusovou hepatitídou B sa zlepšil natoľko, že bola prepustená 8. deň po transplantácii hepatocytov. Zo štyroch pacientov s fulminantnou cirhózou pečene prežil 1 pacient. V jednotlivých prípadoch bolo možné pozorovať zlepšenie encefalopatie, pokles vnútrolebečného tlaku, zlepšenie prekrvenia mozgu, zníženie kardiovaskulárnej nestability a pokles hladín amoniaku (12). Soriano et al., publikoval v roku 1997 prácu o transplantácii hepatocytov u troch detí s fulminantným akútnym zlyhaním pečene. Dve deti zomreli, ale u oboch detí došlo k poklesu hladiny amoniaku a u jedného ku korekcii koagulopatie. Tretí pacient prežil. Biopsia pečene po dvoch mesiacoch od transplantácie dokázala regeneráciu pečene a imunosupresívna liečba bola ukončená (13).

Najznámejší je prípad 10-ročného dievčatka s Crigler-Najjar syndrómom typu I. Pacientke boli podané hepatocyty do v. portae, po transplantácii jej klesla hodnota bilirubínu na 60 % pôvodnej hodnoty. Pri následne vykonanej biopsii pečene vzrástla aktivita bilirubín-UDP-glukuronosyltransferázy 14-krát a výrazne sa znížila pravdepodobnosť vzniku jadrového ikteru. Počas podávania imunosupresie bola aktivita hepatocytov stabilná 9 mesiacov (14).

### Indikácie na transplantáciu hepatocytov

Dá sa predpokladať, že v budúcnosti bude transplantáciou hepatocytov alebo génovou manipuláciou možná liečba nasledujúcich ochorení pečene:

**Získané choroby:** stav po veľkých resekciiach pečene pre karcinóm pečene; fulminantné zlyhanie pečene (bridging na transplantáciu pečene); chronické vírusové hepatitídy; cirhóza pečene a chronické pečeňové zlyhanie; rejekcia pečeňového štetu.

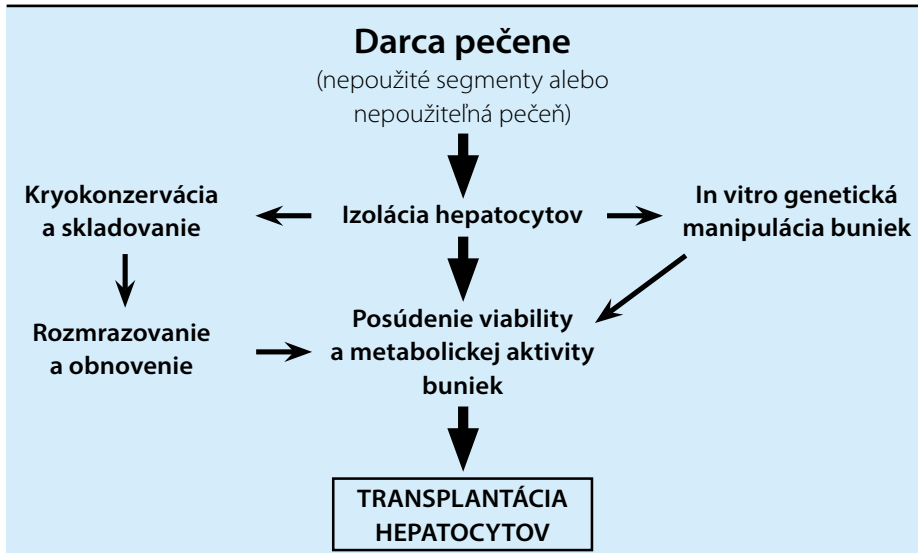
**Dedičné ochorenia pečene:** deficit  $\alpha$ 1-antitrypsínu; poruchy metabolizmu aminokyselín: hereditárne tyrosinémie, histidinémie, homocystinúrie, fenylyketonúrie, hyperfenylalaninémie, vrodené poruchy ureogenézy, oxalóza; poruchy metabolizmu bilirubínu: Crigler-Najjar syndróm; poruchy syntézy a transportu žlčových kyselín; poruchy metabolizmu uhľovodíkov: galaktosémia, glykogenózy, hereditárna intolerancia fruktózy; erythropoetická protoporfýria; familiárna hypercholesterolémia; Gaucherova choroba; Niemann-Pickova choroba; hemofília; poruchy metabolizmu peroxizómov; Wilsonova choroba (15).

### Dostupnosť hepatocytov na transplantáciu

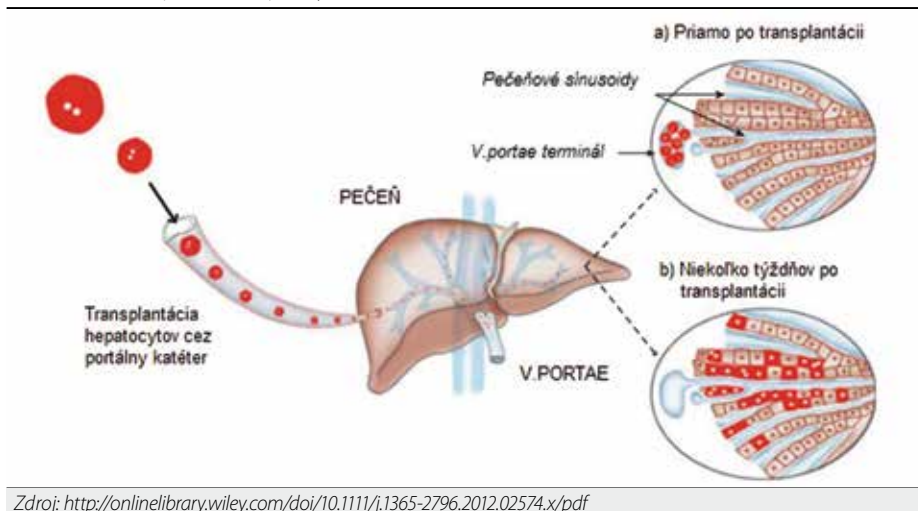
Príprava hepatocytov na transplantáciu sa izoluje z pečeni nepoužitých na transplantáciu, od darcov s nebujúcim srdcom (16), z časti pečene, keď nebol transplantovaný celý orgán vrátane segmentu IV získaného pri rozdelení pečene na transplantáciu pre dvoch príjemcov (17). V súčasnosti je liečba obmedzená hlavne dostupnosťou hepatocytov z nevyužitých orgánov na transplantáciu. Výrazné zvýšenie množstva hepatocytov na transplantáciu by bolo možné izolovať zo steatotických darcovských pečeni, ktoré sú čoraz častejšie s rastúcim výskytom obezity v populácii (18). Pridaním N-acetylcysteínu pri izolovaní hepatocytov zo steatotickej pečene sa získa významné zlepšenie životaschopnosti a metabolickej funkcie buniek (19). Hepatocyty s dobrou funkciou prežívania je možné získať z chorej pečene príjemcu, ktorá je explantovaná pri transplantácii pečene. Ak tieto hepatocyty budú považované za bezpečné, mohli by byť ďalším zdrojom na transplantáciu (20).

### Izolácia hepatocytov na transplantáciu

Existujú zavedené protokoly na izoláciu hepatocytov z pečene (21). Dvojstupňovou kolagenázovou perfúziou je možné získať vysoký počet

**Obrázok 1.** Schéma prípravy izolovaných hepatocytov na transplantáciu buniek

Zdroj: <http://www.cells4research.com/files/Progress%20in%20human%20hepatocytes%20isolation,%20culture%20cryopreservation.pdf>

**Obrázok 2.** Transplantácia hepatocytov

Zdroj: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1365-2796.2012.02574.x/pdf>

viabilných hepatocytov (22). Pečeň sa perfunduje roztokom kolagenázy pri teplote 37 °C. Hneď ako je pečenejšie tkanivo rozštiepené a bunky sú uvoľnené, hepatocyty sa oddeľujú centrifugáciou pri nízkych otáčkach. Získané bunky sa premyjú ľadovo chladným roztokom pufru a vznikajú očistené hepatocyty (23). Izolačným stresom dochádza k proteolýze membránových bielkovín, k poškodeniu štruktúry plazmatickej membrány a k strate diferenciácie hepatocytov na krvný a žlčový pól. Pre obmedzenie izolačného stresu je potrebné dodržiavať presný protokol izolácie (24). Pri izolácii hepatocytov sa toleruje dlhší čas studenej ischémie ako pri transplantácii orgánov. Tolerancia je až 36 hodín studenej ischémie, ale po 18 hodinách už funkcia buniek klesá. Spôsob uchovávanía hepatocytov určených na transplantáciu je ich schladenie. Schladené hepatocyty dokážu prežiť až po období dvoch týždňov (23). Ďalšou možnosťou je

kryokonzervácia hepatocytov na akútnu liečbu a na opakované použitie buniek od rovnakého darcu. Kryokonzervácia má však škodlivé účinky na životaschopnosť a metabolické funkcie hepatocytov (25).

### Miesta podania hepatocytov

Existuje viacero možností na výber miesta na podanie hepatocytov. Najčastejšie je podanie hepatocytov do pečene alebo do sleziny. Ďalším potenciálnymi miestami na transplantáciu hepatocytov je peritoneum, pankreas, kostrové svalstvo, slinné žľazy, štítna žľaza, podkožie, obličky a tukové tkanivo v okolí skapuly (26). Hepatocyty transplantované do týchto miest majú rôznu mieru prežívania a funkčnosti a vyvolávajú imunitnú reakciu hostiteľského organizmu. Tej je potrebné zabrániť imunosupresívnou liečbou.

Najlepším miestom z pohľadu prežívania transplantovaných hepatocytov je pečeň.

Základným prístupom podania hepatocytov do cirhoticky nezmenenej pečene je v. portae. V prípade cirhózy pečene veľká časť hepatocytov prechádza cez pečeň alebo portokávnymi spojkami do iných tkanív, hlavne pľúc. V pľúcach sú hepatocyty zničené s možným následkom vzniku pľúcnej embólie. Preto je nutné pred transplantáciou hepatocytov cez v. portae vyľúčiť vyššie stupne cirhózy pečene. Pri podaní hepatocytov do v. portae dochádza na niekoľko hodín k portálnej hypertenzii, ktorá sa časom upraví. Na zjednodušenie procedúry sa skúša podanie hepatocytov do a. hepatica alebo retrográdne cez vv. hepaticae (27). Jednorazovo je možné podať množstvo hepatocytov, ktoré predstavuje 10 % tkaniva pečene, a transplantáciu je možné realizovať opakovane (26).

Podobné mikroprostredie ako pečeň poskytuje hepatocytom slezina. Pri transplantácii hepatocytov do sleziny sa bunky podávajú do a. lienalis alebo priamo do parenchýmu sleziny. Hepatocyty v slezine prežívajú, proliferujú a vytvárajú štruktúry podobné pečenejšiemu tkanivu (26). Časť hepatocytov vycestuje do v. portae. Podľa viacerých štúdií, až 50 % buniek sa dostane do pečene (27).

Pri transplantácii hepatocytov do peritoneálnej dutiny dochádza veľmi rýchlo k nekróze týchto buniek (11). Prežívanie hepatocytov je možné zvýšiť ich ochranou biokompatibilnou membránou, tzv. enkapsuláciou. Výhodou enkapsulácie je, že podanie týchto hepatocytov nespôsobuje imunitnú reakciu a nevyžaduje si podávanie imunosupresív (28).

### Záver

Po množstve experimentálnych a predklinických štúdií v posledných desaťročiach je pred nami ešte dlhá cesta, aby sa z metódy transplantácie hepatocytov stala bežná klinická prax. Aj napriek dosiahnutým pokrokom v tejto oblasti je potrebné hľadať nové zdroje, zlepšovať viabilitu a funkčnosť hepatocytov, nachádzať nové možnosti ich dlhodobého uchovania a génovej modifikácie, a hlavne zvyšovať prežívanie a kvalitu života pacientov s ochorením pečene v pokročilom štádiu.

S podporou grantu VEGA 1/0592/13.

### Literatúra

1. Mitry RR, Hughes RD, Dhawan A. Progress in human hepatocytes: isolation, culture & cryopreservation. *Semin. Cell Dev. Biol.* 2002;13:463–467.
2. Čihák R. *Anatomie 2*. Praha, Česká Republika: Grada; 2013.
3. Klika E, Vacek Z. *Histologie*. Praha, Česká Republika: Avicenum; 1974.

4. Lüllmann R. *Histologie*. Praha, Česká republika: Grada; 2012.
5. Konrádová V, Uhlík J, Vajner L. *Funkční histologie*. Praha, Česká Republika: H&H; 2000.
6. Povýšil C, Šteiner I, et al. *Speciální patologie*. Praha, Česká Republika: Galen; 2007.
7. Mohan H. *Textbook of Pathology*. New Delhi: Jaypee Brothers med. Publ.; 2010.
8. Gao Y, Xu J, Sun B, Jiang H. Microencapsulated hepatocytes and islets as in vivo bioartificial liver support system. *World J Gastroenterol*. 2004;10(14):2067–2071.
9. Berry MN, Friend DS. High-yield preparation of isolated rat liver parenchymal cells. A biochemical and fine structural study. *J Cell Biol*. 1969;43:506–520.
10. Mito M, Kusano M. Hepatocyte transplantation in man. *Cell Transplantation*. 1993;2:65–74.
11. Habibullah CM, Syed IH, Qamar A, et al. Human fetal hepatocyte transplantation in patients with fulminant hepatic failure. *Transplantation*. 1994;58:951–977.
12. Strom SC, Chowdhury JR, Fox IJ. Transplantation of human hepatocytes. *Transplant Proc*. 1997;29:2103–2106.
13. Soriano HE, Wood RP, Kang DC, et al. Hepatocellular transplantation (HCT) in children with fulminant liver failure (FLF). *Hepatology*. 1997;26:239A.
14. Fox IJ, Roy Chowdhury J, Kaufman SS, et al. Treatment of the Crigler-Nijjar syndrome type 1 with hepatocyte transplantation. *N Engl J Med*. 1998;338:1422–1426.
15. Gupta S, Johnstone R, Darby H, et al. Transplanted isolated hepatocytes: effect of partial hepatectomy on proliferation of long-term syngeneic implants in rat spleen. *Pathology*. 1987;19:28–30.
16. Hughes RD, Mitry RR, Dhawanet A, et al. Isolation of hepatocytes from livers from non-heart-beating donors for cell transplantation. *Liver Transplantation*. 2006;12:713–7.
17. Mitry RR, Dhawan A, Hughes RD, et al. One liver, three recipients – Segment IV from split liver procedures as a source of hepatocytes for cell transplantation. *Transplantation*. 2004;77:1614–6.
18. Fabbrini E, Sullivan S, Klein S. Obesity and nonalcoholic fatty liver disease: Biochemical, metabolic, and clinical implications. *Hepatology*. 2010;51:679–689.
19. Sagias FG, Mitry RR, Hughes RD, et al. N-acetylcysteine improves the viability of human hepatocytes isolated from severely steatotic donor liver tissue. *Cell Transplant*. 2010;19:1487–92.
20. Bhogal RH, Hodson J, Bartlett DC, et al. Isolation of primary human hepatocytes from normal and diseased liver tissue: A one hundred liver experience. *PLoS ONE*. 2011;6:ISSN 1932-6203, 2011, vol. 6(3): e18222.
21. Terry C, Hughes RD, Mitry RR, et al. Cryopreservation-induced nonattachment of human hepatocytes: Role of adhesion molecules. *Cell Transplant*. 2007;16:639–47.
22. Berry MN, Edwards AM, Barritt GJ. Chapter 2. *Isolated Hepatocytes: Preparation, Properties and Applications*. Burdon RH, Van Knippenberg PH, eds. Amsterdam, New York, Oxford: Elsevier; 1991.
23. Pless G, Sauer IM, Rauen U. Improvement of the cold storage of isolated human hepatocytes. *Cell Transplant*. 2012;21:23–37.
24. Kosina P, Dvořák Z, Walterová D. The human hepatocyte: I. A model for studying metabolism and toxicity of xenobiotics. *Ceska Slov Farm*. 1999;48:65–71.
25. Terry C, Mitry RR, Lehec SC, et al. The effects of cryopreservation on human hepatocytes obtained from different sources of liver tissue. *Cell Transplant*. 2005;14:585–94.
26. Koblihová E. Transplantace hepatocytů – současný stav. *Bulletin HPB*. 2005;13:96–99.
27. Smržová J, Ulrichová J, Dítě P, et al. Transplantace hepatocytů – současný stav a výhledy do budoucna. *Vnitřní lékařství*. 2001;47:790–796.
28. Pietros G, Vizzini GB, Grutadauria S. Clinical applications of hepatocyte transplantation. *World J Gastroenterol*. 2009;15:2074–2077.

---

**MUDr. Rastislav Kalanin**

I. chirurgická klinika LF UPJŠ a UN LP  
Tr. SNP 1, 040 11 Košice  
rkalanin78@gmail.com

---