

Univerzita Karlova v Praze
1. lékařská fakulta

Autoreferát disertační práce



Transplantace střeva na experimentálním modelu.

Intestinal Transplantation on an Experimental Model.

MUDr. Martin OLIVERIUS

PRAHA, 2010

Doktorské studijní programy v biomedicině
Univerzita Karlova v Praze a Akademie věd České republiky

Obor:

Experimentální chirurgie

Předseda oborové rady:

prof. MUDr. Jaroslav ŽIVNÝ, DrSc.

Školící pracoviště:

Klinika transplantační chirurgie IKEM, Praha

Školitel:

prof. MUDr. Miloš ADAMEC, CSc.

Disertační práce bude nejméně pět pracovních dnů před konáním obhajoby zveřejněna k nahlížení veřejnosti v tištěné podobě na Oddělení pro vědeckou činnost a zahraniční styky Děkanátu 1. lékařské fakulty.

OBSAH

Abstrakt	4
Abstract	5
Úvod	6
Hypotézy a cíle	7
Materiál a metodika	7
Výsledky	9
Diskuse	14
Závěry	17
Použitá literatura	18
Seznam publikací	19
1. publikace in extenso, které jsou podkladem disertace	19
a) články s IF	19
b) Články bez IF ve vztahu k dizertační práci	19
2. publikace in extenso bez vztahu k tématu disertace	20
a) články s IF	20
b) články bez IF	20
Monografie CZ	22
Kapitola v monografii CZ	22
Kapitola ve sborníku CZ	22

ABSTRAKT

Transplantace tenkého střeva je život zachraňující metoda pro nemocné se selháním střeva. Před zahájením klinického programu v České republice byl proveden experiment na praseti. Cílem práce bylo zvládnutí chirurgické techniky transplantace (odběru střeva, jeho konzervace a následné transplantace). Dalším cílem bylo zvolit optimální imunosupresivní režim. Imunosuprese byla založena na podávání tacrolimu nebo jeho kombinace se sirolimem. Základem diagnostiky akutní celulární rejekce je zhodnocení histopatologických změn biopsie štěpu. Ve snaze najít vhodný neinvazivní humorální marker akutní celulární rejekce byla vyšetřována plasmatická hladina citrulinu a její vztah k akutní celulární rejekci. Jako další humorální marker byly vyšetřeny hladiny prozáněťových a protizáněťových cytokinů a zkoumán jejich vztah k rejekci.

Podářilo se nám zvládnout chirurgickou techniku transplantace. Prokázali jsme, že napojení štěpu na centrální řečiště je bezpečnější než napojení na vlastní portomezenterické cévy. Neprokázali jsme statisticky významný rozdíl mezi zvolenými imunosupresivními režimy na vznik akutní celulární rejekce. Jako zlatý standard diagnostiky nadále zůstává histologické vyšetření biopsie štěpu. Hladina plasmatického citrulinu se jeví jako potenciálně vhodný marker středně těžkého až těžkého stupně rejekce. Nepodařilo se nám prokázat význam stanovení jednotlivých cytokinů pro včasnou neinvazivní diagnostiku akutní celulární rejekce.

Klíčová slova: transplantace tenkého střeva- imunosuprese- akutní celulární rejekce- tacrolimus- sirolimus- citrulin- cytokiny

ABSTRACT

Intestinal transplantation represents a life-saving procedure for patients with an intestinal failure. An experiment on pigs was carried out during the preparation part of a clinical project in the Czech Republic. The main aim of the experiment was to successfully master the transplant surgery technique (i.e. small bowel harvesting, its preservation, followed by the transplantation). Another goal was to decide on the optimal immunosuppressive regime. Immunosuppression was based on tacrolimus monotherapy or its combination with sirolimus. A graft biopsy still remains the most reliable method for the diagnosis of an acute cellular rejection. In an attempt to find a suitable noninvasive humoral marker of the acute cellular rejection, we examined the correlation between plasma citrulin level and the acute rejection. The plasmatic level of proinflammatory and antiinflammatory cytokines was investigated as another potential marker of the rejection.

We succeeded in standardizing the technique of intestinal transplantation. Connecting the graft to aorta and inferior vena cava is simpler and safer than connecting it to the portomesenteric vessel bed due to fewer subsequent complications. Both immunosuppressive regimes seem to be equally effective in preventing the acute cellular rejection.

Histopathological examination of the graft biopsy remains indeed the most reliable examination method for the rejection diagnosis. The plasma citrulline level is a marker supporting the diagnosis of moderate and severe rejection after transplantation. The exact role of cytokine examination in detecting the acute rejection was not determined.

Key words: small bowel transplantation – Immunosuppression – acute cellular rejection – tacrolimus – sirolimus – citrullin – cytokines.

Úvod

Transplantace tenkého střeva (SBTx- small bowel transplantation) představuje ustálenou léčebnou metodu pro nemocné se selháním střeva, u kterých dojde k život ohrožujícím komplikacím při léčbě totální parenterální výživou (TPN- total parenteral nutrition)(1). Přesná definice selhání střeva (intestinal failure- IF) není stanovena. Jde o stav, kdy střevo z důvodů funkčních nebo morfologických není schopno plnit svou základní funkci, kterou je trávení a vstřebávání potravy (2). Další indikací jsou některé nezhoubné nádory, které jsou klasickými chirurgickými metodami neodstranitelné (např. desmoid).

Metoda patří k nejobtížnějším v transplantologii jak z hlediska technického, tak především imunologického. Střevo představuje největší imunitní orgán v těle. Svou plochou je i největší bariérou vůči nepříznivým vlivům zevního prostředí. Porušení této ochrany má za následek translokaci mikroorganismů a toxinů do krve s následným rozvojem sepse. Z těchto důvodů jsou úspěchy metody spojeny s rozvojem dokonalé imunosuprese (IS). Na druhou stranu snížení přirozené obranyschopnosti podáváním IS je příčinou vzniku infekcí často oportunními kmeny. V úvahu je nezbytné brát i to, že celá populace transplantovaných je dlouhodobě ohrožena vyšším výskytem zhoubných onemocnění (3).

Střevo je transplantováno buď jako samotný orgán nebo spolu s dalšími v podobě kombinovaných a multiorgánových transplantací.

Nejčastější věkovou skupinou jsou nemocní v dětském věku. Nejčastější onemocnění vedoucí k transplantaci jsou shrnuty v tabulce 1.

Dospělí	%	Děti	%
Mezenteriální trombózy a embolie	23	Gastroschisis	21
Crohnova choroba	17	Volvulus a malrotace	17
Břišní trauma; iradiační poškození; adheze	10	Nekrotizující enterokolitis	12
Intraabdominální desmoidní nádor	9	Pseudoobstrukce	9
Poruchy motility	8	Intestinální atrézie	8
Volvulus	7	Aganglioza/ Hirschsprungova choroba	7
Jiné příčiny SBS	6	Microvilus inclusion	6

Tab. 1. Etiologické příčiny krátkého střeva u dospělých a dětí.

Vlastní indikací k transplantaci jsou život ohrožující komplikace TPN (4). Jako selhání TPN rozumíme **poškození jater** v důsledku TPN, **uzávěr** více jak dvou (resp. tří u dospělých) **hlavních cévních přístupů, recidivující sepse (resp. ARDS nebo MODS)** v důsledku TPN. V neposlední řadě jsou to **excesivní ztráty tekutin**, které nelze uhradit a které vedou k poškození dalších orgánů. S výjimkou komplikací TPN jsou k transplantaci primárně indikováni nemocní s některými **novotvary dutiny břišní**, které nelze léčit konvenčními chirurgickými postupy (např. rozsáhlé desmoidy, Gardnerův syndrom apod.). Se zlepšujícími se výsledky transplantací se do popředí dostává i otázky kvality života nemocných na TPN (5). (tab. 2).

Poškození jater v důsledku TPV

Recidivující katéetrové infekce (více jak dvě do roka nebo jedna infekce mykotická nebo infekce spojená s SIRS)
Ztráta více jak dvou hlavních žilních přístupů v důsledku trombózy
Časté a závažné dehydratace a minerálové rozvraty v důsledku excesivních ztrát stomií
Nádory (např. desmoidní nádory, familiární polypóza, Gardnerův syndrom apod.)

Tab. 2. Indikace k transplantaci střeva.

HYPOTÉZY A CÍLE

Cílem dizertační práce bylo provedení experimentální transplantace tenkého střeva na praseti před zahájením klinického programu v České republice. Tento experiment nebyl dosud v Čechách realizován.

Jednotlivé úkoly řešené v průběhu experimentu:

1/ zvládnutí a standardizace **chirurgické techniky transplantace** na praseti (technika cévní rekonstrukce, konstrukce anastomóz zaživacího traktu včetně stomie)

2/ stanovení nejvhodnějšího **imunopresivního režimu** po transplantaci (tacrolimus v monoterapii nebo kombinace tacrolimus a sirolimus)- posledně jmenovaný režim nebyl v době zahájení experimentu publikován.

3/ nalezení vhodného **humorálního markeru akutní celulární rejekce**.

- Stanovení hladiny citrulinu
- Vyšetření ukazatelů humorální imunity ve vztahu k akutní celulární rejekci.

Naší hypotézou bylo:

1/ Kombinace tacrolimus a sirolimus je vhodnější pro ovlivnění vzniku akutní rejekce po transplantaci než tacrolimus v monoterapii.

2/ Sérová hladina citrulinu je vhodným nespecifickým ukazatelem poškození střevní sliznice.

3/ Akutní celulární rejekce vyvolává změny, které lze detekovat vyšetřením humorální imunity.

MATERIÁL A METODIKA

K experimentu byla použita nepříbuzenská prasata domácí *Sus crofa domestica* váhy 30–35 kg.

Celkově jsme odoperovali 43 zvířat. Pro hodnocení technické části experimentu zabývající se chirurgickou technikou jsme hodnotili všechna operovaná zvířata. U první **skupiny n1=18** zvířat byla transplantace prováděna tak, že jedno zvíře bylo současně dárce a zároveň

příjemcem štěpu od druhého zvířete. Cévní rekonstrukce byla provedena na vlastní portomezenterické řečiště.

Ve druhé **skupině n2=25** se jedno prase stalo dárce štěpu a druhé příjemcem s tím, že cévní rekonstrukce byla provedena na centrální řečiště - aortu a dolní dutou žílu

Pro hodnocení zbylé části experimentu zaměřené na hodnocení imunosuprese a diagnostiku ACR jsme z hodnocení vyřadili zvířata, která zemřela v důsledku technické chyby.

K celkovému hodnocení bylo zařazeno celkem 24 prasat. Zvířata byla rozdělena do čtyř skupin. První **skupina A** (celkem 3 zvířata) představovala kontrolní skupinu s autotransplantací, u **skupiny B** (7 zvířat) byla provedena allotransplantace s imunosupresí v monoterapii tacrolimem, ve **skupině C** (8 zvířat) allotransplantace s kombinovanou imunosupresí tacrolimem a sirolimem. U poslední kontrolní **skupiny D** (6 zvířat) jsme provedli allotransplantaci bez imunosuprese.

Imunosuprese byla zahájena první dávkou intravenózního tacrolimu s reperfuzí štěpu v dávce 0,3mg/kg. Od prvního pooperačního dne jsme podávali dávku tacrolimu 0,6mg/kg/den rozdělenou do dvou dávek po 12 hodinách podaných do zavedené gastrické sondy. Ve skupině B jsme hladinu tacrolimu udržovali v rozmezí 15ng/ml +/-5 ng/ml dle měřené sérové hodnoty.

Ve skupině C jsme s reperfuzí štěpu podali stejnou dávku intravenózního tacrolimu (tj. 0,3mg/kg). Dále jsme od prvního pooperačního dne podávali do sondy tacrolimus v dávce 0,1mg/kg/den ve dvou dávkách s cílem udržení hladiny tacrolimu 7–10 ng/ml. Tato skupina měla navíc od prvního pooperačního dne podáván jednu dávku sirolimu 0,1mg/kg/den do sondy. Hladiny sirolimu jsme udržovali v rozmezí 5-10ng/ml (tab. 3).

Skupina (n=počet zvířat)	Imunosuprese po transplantaci	Průměrná hladina tacrolimu (ng/ml)	Průměrná hladina sirolimu (ng/ml)
A (n= 3)	žádná		
B (n= 7)	Tac	15 ±5	
C (n= 8)	Tac+ sirol	7 až 10	5 až 10
D (n= 6)	žádná		

Tab. 3. Charakteristika souboru.

Protokolární biopsie a krev pro analýzu vzorků byly odebírány v 0., 3., 5., 7., 10., 14., 20., 28. a 30. den transplantace.

Základem hodnocení akutní celulární rejeckce (ACR) bylo histopatologické vyšetření biotických vzorků střeva barvené hematoxilin- eosinem (HE) nebo metodou PASS.

Morfologické znaky ACR zahrnovaly přítomnost zánětlivé celulizace v proprii v kombinaci s různým stupněm poškození krypt.

Rozsah rejeckních změn byl kvantifikován ve stupnici: **0** (bez morfologických znaků akutní rejeckce), **1** (mírná ACR), **2**(střední stupeň ACR), **3** (těžká ACR) (tab.4).

ACR 0	Žádná ACR	Normální střevní sliznice
ACR 1	Mírná ACR	Edém, dilatované lymfatické cévy, otupělé klky, minimální infiltrace lamina propria aktivovanými lymfocyty
ACR 2	Střední ACR	Stejně jako předchozí, ale pokročilejší změny s výraznější generalizovanou leukocytární infiltrací a s epiteliálními nekrotizacemi a obnažováním
ACR 3	Těžká ACR	Stejně jako předchozí, ale mnohem závažnější poškození zahrnující transmurální leukocytární infiltraci, splývající destrukce krypt a rozšířené hemorhagické nekrotizace sliznice.

Tab. 4. Protokol histologického hodnocení akutní celulární rejekce štěpu.

Z protokolárně odebraných vzorků krve jsme stanovovali plasmatickou hladinu citrulinu; pro a protizánětlivých cytokinů a jejich vztah k diagnostikované ACR.

VÝSLEDKY

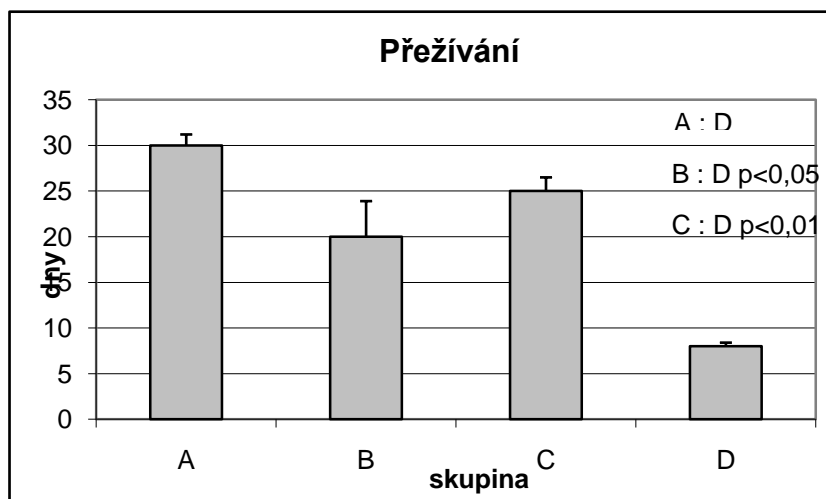
V technické části experimentu převažovaly chyby spojené s konstrukcí cévní anastomózy. Zejména v první skupině **skupině n1** (18 zvířat), kde jsme použili techniku, kdy jedno zvíře je dárce štěpu, a zároveň i příjemcem od zvířete druhého byly komplikace časté (12 z 18 tj 67%). Jedno prasce zemřelo na sepsi v důsledku bronchopneumonie první pooperační den s vitálním štěpem a funkčními anastomózami. Pět zvířat z této skupiny přežilo (3 -32 dnů; se střední délkou přežívání 12.5 dne; medián 5.5 dne).

Po změně techniky, kdy jsme jedno zvíře použili jako dárce a druhé jako příjemce- **skupina n2 (25 zvířat)**, jsme nezaznamenali ani jednu okluzi anastomózy a k technickému selhání došlo jen u tří zvířat z důvodů krvácení (3 z 25 tj. 12%). Další tři prasata zemřela během prvních 48 hodin z důvodů perforace střeva při neporušených cévních anastomózách a zachovalé vitalitě zbylého střeva. Jedno zvíře této skupiny zemřelo v důsledku cirkulačního selhání krátce po transplantaci. Zbýlých 18 prasat dlouhodobě přežívalo (2 -30 dní; střední délka přežívání 16 dní; medián 11 dní) (tab. 5). Ani u jednoho zvířete jsme nepozorovali selhání střevní anastomózy šité pokračujícím jednovrstvným seromuskulárním stehem.

	Skupina n1 (18 zvířat)	Skupina n2 (25 zvířat)
Krvácení z anastomózy	1	3
Uzávěr anastomózy s ischemií štěpu	11	0
Nevaskulární komplikace	1	4
CELKEM	13	7

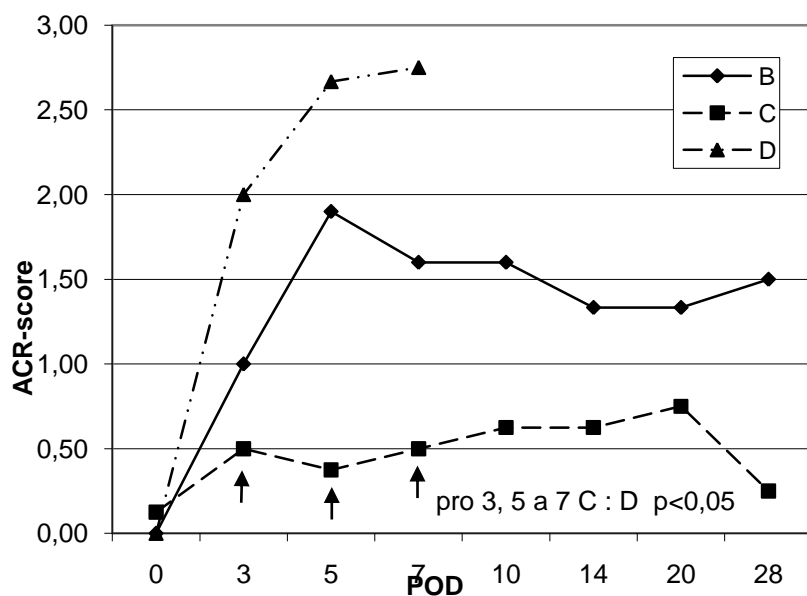
Tab. 5. příčiny úmrtí v průběhu prvních 48 hodin po transplantaci.

Z hlediska hodnocení vlivu IS byla nejdelší délka přežívání dle očekávání ve skupině A a nejmenší ve skupině D. Průměrná doba přežívání a střední chyba průměru v jednotlivých skupinách je zobrazena v grafu 1. Z hlediska celkového přežívání jsme prokázali statisticky významný rozdíl mezi přežíváním skupin A- C oproti skupině D, která neměla podávanou imunosupresi, a proto u ní rychle dochází k rozvoji ACR s následnou bakteriální translokací a vznikem sepse. Přežívání skupina A- C oproti skupině D se liší na hladině významnosti p (A, B, C: D) $< 0,01$; $0,05$; $0,01$.



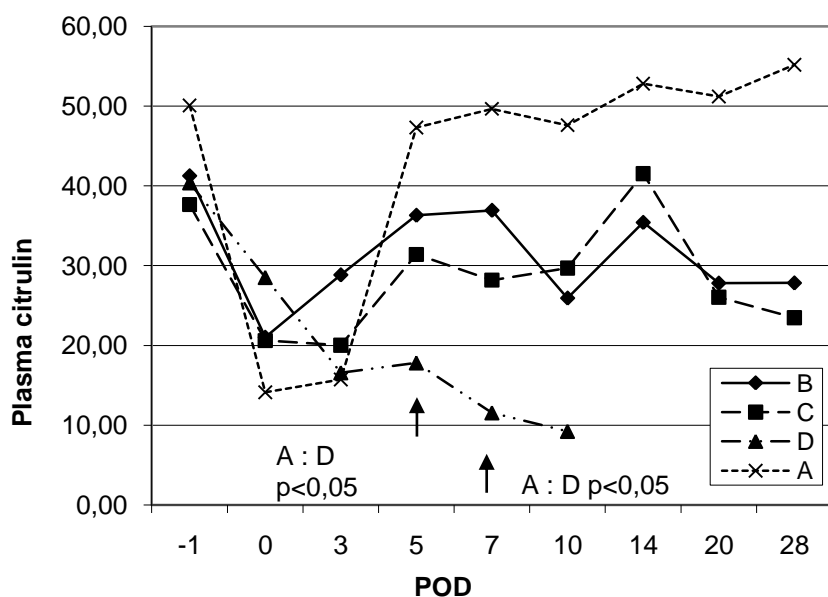
Graf 1. Průměrná doba přežívání experimentálních zvířat v jednotlivých skupinách.

Ve skupině A jsme změny ve smyslu ACR nezaznamenali. U zvířat skupiny D jsme od třetího dne pozorovaly první známky ACR, které u všech zvířat rychle progredovaly do těžkých forem s následnou sepsí. Projevy akutní celulární rejeckce u imunosuprimovaných zvířat skupiny B a C byly mírnější. Ve skupině C došlo ve dnech 3, 5 a 7 POD k statisticky významnému rozdílu ve výskytu a tíži ACR oproti skupině D bez imunosuprese $p < 0,05$. Při porovnání stupně ACR u obou imunosuprimovaných zvířat (B a C) jsme statisticky významný rozdíl nezaznamenali (graf 2).



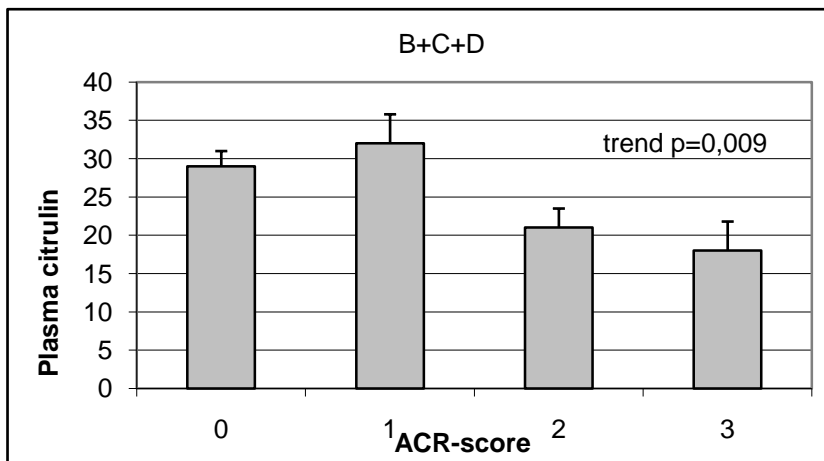
Graf 2. Stupeň akutní celulární rejekce u jednotlivých skupin experimentálních zvířat v průběhu času. (Skupina A nezobrazena pro nepřítomnost známek rejekce). (ACR-score – stupeň rejekce (0- 3); POD- pooperační dny).

Dynamiku hladiny plasmatického citrulinu (PCL plasma citrulline level) v průběhu pooperačních dnů zobrazuje graf 3.



Graf 3. Dynamika plasmatické hladiny citrulinu v závislosti na pooperačních dnech (POD).

Při hodnocení ACR skóre společně pro všechny vyšetřované skupiny s výjimkou kontrolní skupiny A, která nerejekovala, nacházíme lineární trend poklesu průměrné hladiny citrulinu ve vztahu k progresi histologických rejekčních změn na hladině významnosti $p < 0,009$. S významnou progresí ACR úměrně klesá hodnota naměřené hladiny citrulinu pro všechny skupiny společně (graf 4).



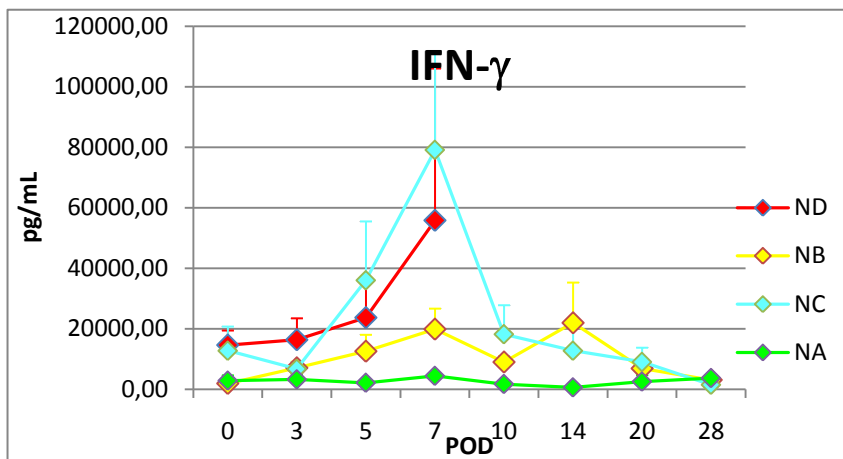
Graf 4. Závislost plasmatické hladiny citrulinu na rozsahu rejekčních změn (ACR- skóre). Průměrné plasmatické hodnoty citrulinu a střední chyba průměru na hladině významnosti $p < 0,009$.

Výsledky hodnocení pro a protizánětlivých cytokinů v korelaci s ACR.

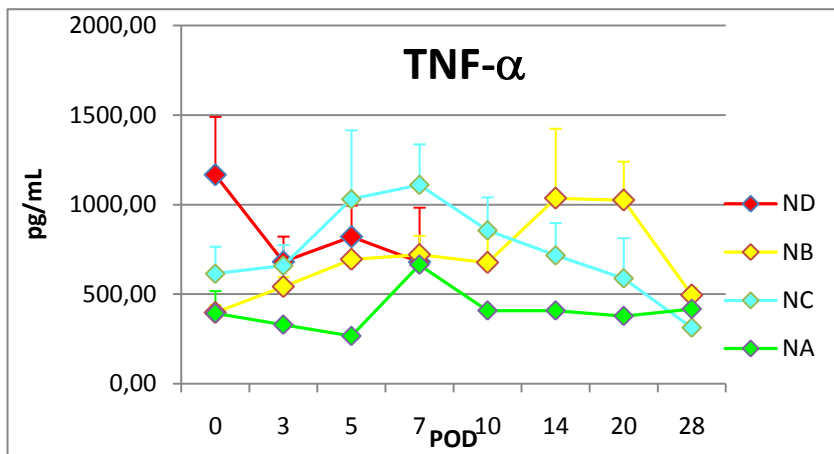
IFN- γ při autotransplantaci měl trvale nízké hodnoty, protože autotransplantace nevyvolala aktivaci lymfocytů, ale byl významně zvýšen po allotransplantaci střeva (graf 5)..

Oproti IFN- γ byla i po autotransplantaci nalezena dosti vysoká koncentrace **TNF**.

Koncentrace TNF byla tedy patrně více ovlivněna operací a případnými mikrobiálními produkty (graf 6).

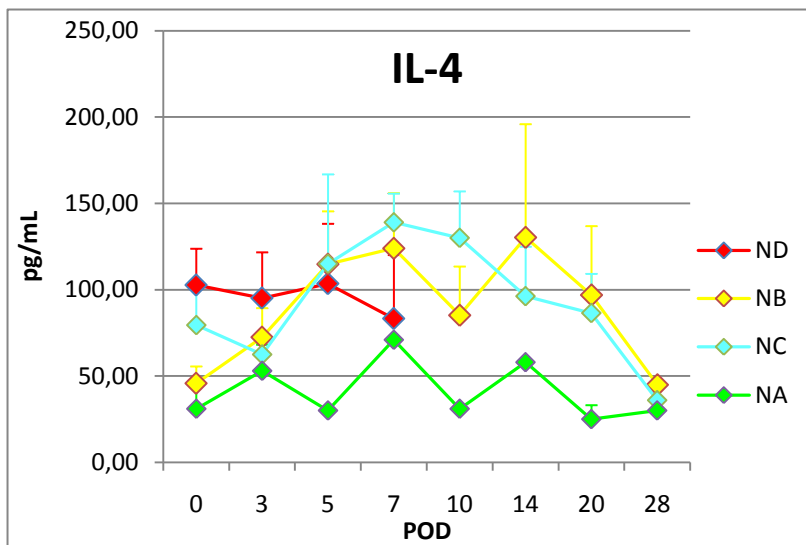


Graf 5. Plasmatické hladiny interferonu gama (IFN- γ) v průběhu pooperačních dnů (POD).

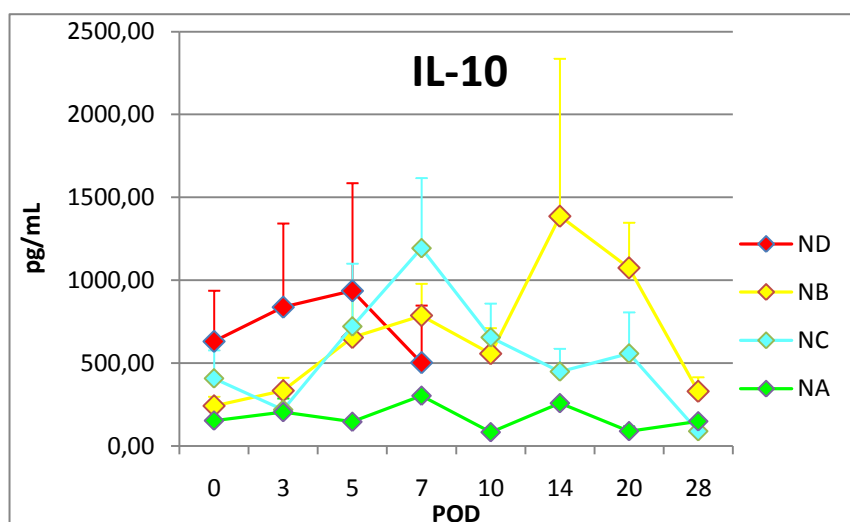


Graf 6. Plasmatická hladina tumor necrotising faktoru (TNF- α) v závislosti na pooperačních dnech (POD).

IL-4 a IL-10 jsou protizánětové, tzn. působící antagonisticky proti TNF a dalším cytokinům amplifikujícím zánět. Koncentrace se zvýšily po allotransplantaci (zejména koncentrace IL-10 po byla vysoká), ale nebyl pozorován vliv terapie (graf 7-8).

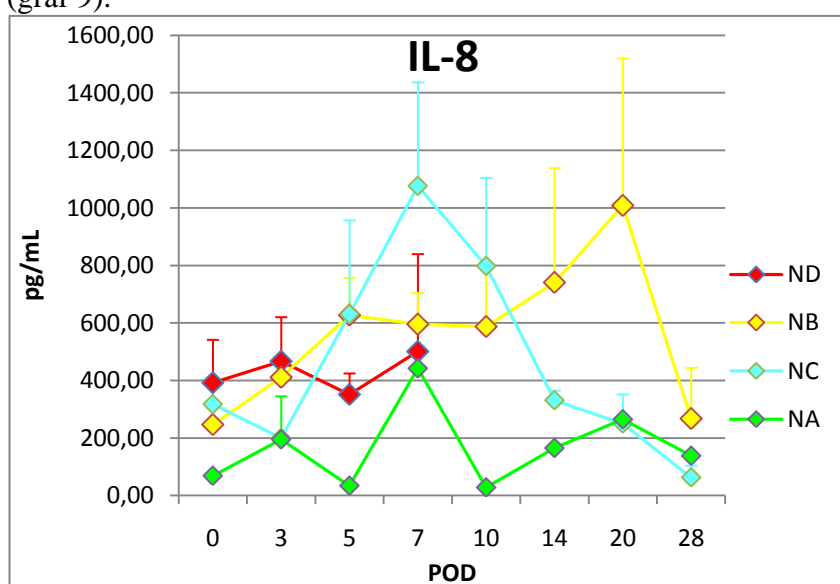


Graf 7. Plasmatická koncentrace interleukinu čtyři (IL- 4) v průběhu pooperačních dnů (POD).



Graf 8. Plasmatická koncentrace interleukinu deset (IL- 10) v průběhu pooperačních dnů (POD).

U **IL-8** byla po autotransplantaci koncentrace nulová, zatímco po allotransplantaci byly hodnoty vždy vysoké. Plasmatický IL-8 odráží dynamiku imunitních změn u allotransplantace (graf 9).



Graf 11. Plasmatická hladina interleukinu osm (IL- 8) v průběhu pooperačních dnů (POD).

DISKUSE

Odběr štěpu tenkého střeva, jeho konzervace a následná transplantace je složitý výkon, který má za následek rozvoj mnoha komplexních dějů, které spolu vzájemně souvisí a ovlivňují se. Chirurgický zákrok je spojený s celkovou odpovědí organismu, která je vyjádřením na stres a poškození tkání. Navíc přistupují vlivy imunologické, spojené s přenosem masivního množství lymfatické tkáně (GALT). Od prvního dne se začíná rozvíjet reakce mezi imunitním

systémem příjemce a přenesenou tkání dárce. Ta může vést ve svém důsledku k fatálnímu destruktivnímu vlivu příjemcovského imunitního systému s poškozením a ztrátou štěpu. Ale i opačně může dojít k poškození příjemce imunitním systémem dárce ve smyslu GVHD – graft versus host disease.

Pro zdárný průběh transplantace je nutno splnit mnoho faktorů. V první řadě dokonalé zvládnutí chirurgické techniky odběru a konzervace štěpu. Následně technické provedení vlastní transplantace zejména konstrukce cévních anastomóz štěpu. Další průběh ovlivňuje dokonalá pooperační péče zahrnující maximální možnou prevenci infekčních komplikací spojených s cévními vstupy a operační ranou. Rozhodující je ale ovlivnění imunitní reakce mezi štěpem a příjemcem. Ta je zprostředkována složitým systémem imunitních reakcí jak humorálních, tak celulárních. V jejich důsledku může dojít k poškození štěpu s různou klinickou odezvou. Její projevy počínají zpožděním nástupu funkce až po těžké poškození s destrukcí orgánu. Každé poškození integrity má za následek ztrátu funkce, projevující se poruchou trávení a absorpce a zároveň ztrátou obranyschopnosti vůči vnějším vlivům. Dochází k rychlé translokaci mikrobů a toxických nox do oběhu s rychlým rozvojem sepse a následným úmrtím. Tento proces lze ovlivnit podáním imunoprese. Jejím cílem je kontrolovat imunitní reakce a zabránit ztrátě štěpu. Negativním jevem je snížení obranyschopnosti organismu vůči infekčním vlivům a v dlouhodobém důsledku i vyšší výskyt nádorů u transplantovaných.

V rámci experimentu jsme vytvořili tři základní modelové situace. U autotransplantovaných zvířat, které představují kontrolní skupinu, nedochází k žádné reakce mezi štěpem a hostitelem. Ani u jednoho zvířete nedošlo k histologickým projevům celulární rejekce a mírné, ojediněle detekovatelné histologické změny odpovídají přechodnému ischemickoreperfuznímu poškození. Opačným pólem je skupina allotransplantovaných zvířat bez imunoprese, kde dochází k akcentaci těchto změn, projevujících se rozvojem akutní celulární rejekce, kterou jsme detekovali u některých zvířat již třetí pooperační den. Následná progresse akutní celulární rejekce štěpu s klinickými projevy sepse vedla postupně k úhynu nebo vynucené euthanasii všech zvířat skupiny D nejpozději devátý pooperační den. Mezi těmito skupinami stojí experimentální zvířata, u kterých byla podávána imunoprese s cílem ovlivnění rejekce. Ve skupině B jsme podávali tacrolimus. Hlavní mechanismus jeho účinku spočívá v blokádě proliferace lymfocytů v časně fázi, která je obvykle ukončené v prvních několika hodinách po silném mitogenickém stimulu (6). Jak bylo prokázáno v předchozích studiích tacrolimus představuje účinné imunopresivum, které je schopno i v monoterapii v experimentu zabránit vzniku a rozvoji ACR (7-10). Vysoké hladiny imunoprese mají za následek vyšší výskyt infekčních komplikací. Z tohoto důvodu jsou často používány kombinace imunopresivních léků. V naší studii jsme ve skupině C kombinovali účinek tacrolimu spolu s sirolimem. Sirolimus neinhibuje calcineurin, ale váže se a zároveň inhibuje savčí receptor pro rapamycin, klíčovou proteinkinázu regulující signální transdukcí. Touto inhibicí dochází k potlačení cytokiny řízené proliferaci T buněk (11, 12). Do doby zahájení experimentu nebyla publikována žádná experimentální práce u prasečího modelu kombinující imunopresivní efekt tacrolimu a sirolimu.

V naší studii se nám nepodařilo prokázat statisticky významný rozdíl ve výskytu akutní celulární rejekce mezi jednotlivými imunopresivními kombinacemi (skupina B a C). Pouze ve skupině C (allotransplantace s kombinovanou IS) došlo ve dnech 3., 5. a 7. POD k statisticky významnému rozdílu ve výskytu a tíži ACR oproti skupině D bez imunoprese na hladině významnosti $p < 0,05$.

Dalším sledovaným parametrem bylo stanovení hladiny plasmatického citrulinu a jeho význam pro neinvazivní diagnostiku ACR. K tvorbě citrulinu dochází hlavně v proximální části tenkého střeva a velmi pravděpodobně v enterocytech lokalizovaných ve středních a horních partiích střevních klků (13). Během rejekce je nejprve postižena dolní část sliznice,

kde nejprve narůstá mononukleární zánětlivá celulizace a poškození enterocytů je fokální a mírné. Proto se zdá logické, že mírné fokální poškození enterocytů navíc v dolní části sliznice, kde je syntéza citrulinu malá, nebude mít významnou dramatickou odezvu v sérové hladině uvolňovaného citrulinu. Navíc v období časně po SBTx, kdy tento experiment probíhal, je v diferenciální diagnostice také IRI poškození, které naopak postihuje epitel v horních částech střevní sliznice, což se odráží v přechodném poklesu hladiny citrulinu v prvních dnech po SBTx. Prokázali jsme, že během prvního dne po SBTx pokles hladiny citrulinu u všech operovaných zvířat, jako součást reakce na IRI poškození. U skupiny autotransplantovaných zvířat, kde nedochází k rozvoji ACR, sledujeme po odeznění IRI poškození sliznice její postupnou restauraci. To se dobře projevuje v hladině plasmatického citrulinu, která se vrací rychle k normálním hodnotám, na kterých se udržuje do konce experimentu. U zvířat po alotransplantaci s podávanou imunosupresí dochází od třetího dne k mírnému vzestupu hladiny citrulinu, která dosahuje kolem pátého až sedmého dne hladin blízkých normě. U skupiny D, allotransplantace bez imunosuprese, však vlivem rozvoje rejekčních změn pozorujeme plynulý pokles hladiny citrulinu, který souvisí s postupnou ztrátou enterocytů.

Přestože se zdá, že krátce po transplantaci bude interpretace mírného poklesu hladiny citrulinu v plasmě obtížně diagnosticky interpretovatelná, v pozdějším období by stanovení hladiny citrulinu mohlo představovat významný diagnostický přínos.

Ve snaze najít další neinvazivní humorální faktor, který by byl použitelný k včasné diagnostice ACR jsme měřili hladiny pro a protizáněťových cytokinů. Ty jsou produkovány místně a jsou účinné ve velmi malých koncentracích. Působí na cílové buňky nesoucí receptory pro daný cytokin. Vazba cytokinu na buněčný receptor přenáší signál do buňky a vede k aktivaci a expresi genů. Cytokiny regulují intenzitu a trvání imunitní odpovědi. Transplantované orgány exprimují jejich mRNA a na vzniku rejekce štěpu se podílí zejména IFN γ a TNF α (14)

IL-4 má převážně inhibiční účinek na zánětlivé reakce, je produkován TH2 buňkami a stimuluje B lymfocyty. Inhibuje TH1 a makrofágy. IL-10 má také převážně inhibiční účinek na zánětlivé reakce, je produkován zejména makrofágy. Inhibuje TH1 i TH2 buňky. IL-8 (CXCL8) je chemokin, který se podílí na chemotaxi a aktivaci granulocytů.

V odpovědi na antigen, ale i poškození tkáně, dochází ke kaskádě nespecifických jevů známých jako odpověď akutní fáze. Pod vlivem cytokinů dochází k adherenci zánětlivých buněk na vaskulární endotel a k jejich migraci do tkáně. Výsledkem je příliv lymfocytů, neutrofilů, monocytů, eosinofilů, basofilů a žírných buněk do místa poškození a účast těchto buněk v likvidaci antigenu a hojení poškození tkáně.

Akutní fáze zánětlivé reakce je zahájena aktivací tkáňových makrofágů a uvolněním tří cytokinů: TNF α , IL-1 a IL-6. Tyto cytokiny působí synergicky a indukují množství lokálních i systémových změn. Pod jejich vlivem dochází ke koagulaci a zvýšení propustnosti cév. TNF α a IL-1 zvyšují expresi adhezivních molekul na cévních endoteliích. Oba cytokiny také působí na makrofágy a indukují produkci IL-8, který zvyšuje adhezi neutrofilů k endotelovým buňkám a současně funguje jako jejich chemotaktický faktor. IFN γ chemotakticky přitahuje makrofágy, IFN γ a TNF α aktivují makrofágy a neutrofilů.

O charakteru imunitní reakce proti cizorodému antigenu (buněk allotransplantátu) rozhoduje poměr mezi lymfocyty TH1 a TH2.

Za určitých okolností dochází přednostně ke stimulaci buněk TH1 a ty vyvolávají ve spolupráci s makrofágy zánět; za jiných okolností se přednostně stimulují lymfocyty TH2, které pak pomáhají B-lymfocytům tvořit protilátky. To, jestli se imunitní odpověď rozběhne směrem TH1 nebo TH2 závisí na řadě okolností, ale hlavní úlohu hraje cytokinové prostředí.

Cytokiny produkované buňkami TH1 (hlavně interferon- γ) výrazně potlačují dozrávání buněk TH2, a naopak cytokinové produkty lymfocytů TH2 (hlavně interleukin-4) brání

diferenciaci buněk TH1. Jakmile se tedy reakce rozběhne jedním směrem, má tendenci se stabilizovat a bránit překlopení do konkurenčního opačného typu. Na základě tohoto modelu by se dalo očekávat, že lymfocyty TH2 antigenně specifické proti antigenům transplantátu by měly potlačovat odhojovací reakci. Paradoxně tomu tak však není. Ačkoli buňky TH2 potlačí zánětlivou reakci založenou na TH1, vyvolají jiný typ zánětu, který transplantát také poškodí, či dokonce zlikviduje. Je tomu tak proto, že hlavní cytokinové produkty buněk TH2, interleukin-4 a interleukin-5, aktivují eozinofilní granulocyty. Eozinofily stimulované IL-4 a IL-5 uvolňují prozánětlivé látky a vyvolávají tak v transplantátu opět poněkud odlišný, ale v konečných důsledcích obdobně destruktivní zánět.

Při vyhodnocování výsledků hodnot cytokinů v našem souboru nebyla nalezena korelace mezi koncentrací cytokinů v plazmě a průběhem posttransplantační reakce u žádné skupiny vyšetřovaných zvířat. Ani použitá terapie nevykázala signifikantní změny u naměřených hodnot plazmatických cytokinů. Důvodem je pravděpodobně skutečnost, že ke zvýšení koncentrací cytokinů dochází hlavně v místě jejich produkce a účinku, a tudíž se zvýšené hodnoty nenacházejí v plazmě.

ZÁVĚRY

V rámci náročného experimentu se nám podařilo úspěšně **zrealizovat a standardizovat odběr a transplantaci štěpu tenkého střeva** na praseti. Zvládnutí chirurgické techniky je důležitým faktorem pro zavedení transplantace střeva do klinické praxe.

Histologické vyšetření biopsie štěpu je standardní metodou k hodnocení rozsahu celulární rejeckce. Zkušenosti získané hodnocením biopsií jsou neocenitelným přínosem pro rozvoj klinického programu transplantace střeva.

Vyšetření **hladiny plazmatického citrulinu** ukázalo význam této metody pro neinvazivní diagnostiku poškození střevního epitelu v souvislosti s celulární rejeckou zejména v jejích pokročilejších fázích. Z hlediska budoucího klinického využití bude citrulin využíván jako marker vhodný pro pozdní monitoraci funkce štěpu.

Problematika **hodnocení cytokinů** a jejich přínos pro neinvazivní diagnostiku rejeckce je složitá, protože do hry vstupuje mnoho dalších faktorů počínaje operačním stresem, přes infekční komplikace až po imunitní vlivy. Nejmenší hladiny prozánětlivých cytokinů jsme naměřily ve skupině zvířat autotransplantovaných, u kterých je imunologický inzult minimální. Naše výsledky, ale nepotvrdily očekávaný nárůst hladiny u skupiny allotransplantovaných zvířat bez imunosuprese. Stanovení hladiny cytokinů v našem experimentu nepřineslo větší přínos pro humorální diagnostiku rejeckce štěpu.

Celospolečenský význam provedeného experimentu spočívá ve vytvoření podmínek pro zahájení **klinického programu transplantace tenkého střeva** v České republice.

POUŽITÁ LITERATURA

1. Abu-Elmagd KM. Intestinal transplantation for short bowel syndrome and gastrointestinal failure: current consensus, rewarding outcomes, and practical guidelines. *Gastroenterology* 2006 Feb;130(2 Suppl 1):S132-7.
2. Crenn P. [Intestinal failure]. *Rev Prat* 2001 May 15;51(9):977-82.
3. Abu-Elmagd KM, Zak M, Stamos JM, Bond GJ, Jain A, Youk AO, Ezzelarab M, Costa G, Wu T, Nalesnik MA, Mazariegos GV, Sindhi RK, Marcos A, Demetris AJ, Fung JJ, Reyes JD. De novo malignancies after intestinal and multivisceral transplantation. *Transplantation* 2004 Jun 15;77(11):1719-25.
4. Grant D, Abu-Elmagd K, Reyes J, Tzakis A, Langanas A, Fishbein T, Goulet O, Farmer D. 2003 report of the intestine transplant registry: a new era has dawned. *Ann Surg* 2005 Apr;241(4):607-13.
5. Sudan D. Long-term outcomes and quality of life after intestine transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 2010 Jun;15(3):357-60.
6. Steinmann B, Superti-Furga A, Bruckner P. Mechanism of action of FK 506 and cyclosporin. *Lancet* 1991 Feb 16;337(8738):439.
7. Alessiani M, Spada M, Vischi S, Maestri M, Dionigi P, Arbustini E, Grossi P, Ippoliti GB, Regazzi M, De Ponti F, et al. Total orthotopic small bowel transplantation in swine under FK 506. *Transplant Proc* 1994 Jun;26(3):1606-8.
8. Doni M, Cobianchi L, Alessiani M, Zonta S, Abbiati F, Morbini P, Bardone M, Mazzilli M, Viganò J, De Martino M, Dominioni T, Dionigi B, Molinaro MD, Bottazzi A, Dionigi P. Early outcome of different steroid-free regimens in small bowel transplantation: a large-animal study. *Transplant Proc* 2006 Jul-Aug;38(6):1812-4.
9. Gruessner RW, Fryer JP, Fasola C, Nakhleh RE, Gruessner AC, Kim S, Dunn DL, Pirenne J, Bekersky I, Benedetti E, et al. A prospective study of FK506 versus CsA and pig ATG in a porcine model of small bowel transplantation. *Transplantation* 1995 Jan 27;59(2):164-71.
10. Chan KL, Guo WH, Tam PK. Porcine small bowel transplantation with FK506 as a single immunosuppressant. *Transplant Proc* 2001 Jun;33(4):2607-8.
11. Sehgal SN. Rapamune (RAPA, rapamycin, sirolimus): mechanism of action immunosuppressive effect results from blockade of signal transduction and inhibition of cell cycle progression. *Clin Biochem* 1998 Jul;31(5):335-40.
12. Terada N, Lucas JJ, Szepesi A, Franklin RA, Domenico J, Gelfand EW. Rapamycin blocks cell cycle progression of activated T cells prior to events characteristic of the middle to late G1 phase of the cycle. *J Cell Physiol* 1993 Jan;154(1):7-15.
13. Crenn P, Messing B, Cynober L. Citrulline as a biomarker of intestinal failure due to enterocyte mass reduction. *Clin Nutr* 2008 Jun;27(3):328-39.
14. Levay-Young B, Shearer JD, Gruessner AC, Kim SC, Nakhleh RE, Gruessner RW. Intestinal graft versus native liver cytokine expression in a rat model of intestinal transplantation: effect of donor-specific cell augmentation. *Transplant Proc* 2004 Mar;36(2):399-400.

SEZNAM PUBLIKACÍ

1. publikace in extenso, které jsou podkladem disertace

a) články s IF

- **Oliverius M.**, Král D., Honsova E., Lodererova A., Kudla M., Balaz P., Valsamis A., Cap J. Surgical technique of small bowel transplantation in a large animal model. Acta Veterinaria Brunensis ISSN 0001-7213 (IF 0,403 z roku 2009)
- Honsová, E., Lodererová, A., Baláž, P., **Oliverius, M.** Plasma citrulline levels and acute cellular rejection early after small bowel transplantation in pigs. Veterinární medicína, 2009, roč. 54, č. 5, s. 215-222. ISSN 0375-8427. (IF 0,644 z r. 2009)
- **Oliverius, M.**, Baláž, P., Kudla, M., Valsamis, A., Čáp, J., Adamec, M. Small bowel graft revascularization in experiment. Bratislavské lekárske listy, 2009, vol. 110, no. 2, p. 65-68. ISSN 0006-9248. (Původní sdělení). (IF 0,317 z r. 2009)
- Baláž, P., Kudla, M., Lodererová, A., **Oliverius, M.**, Adamec, M. Preservation injury of the small bowel graft in clinical small bowel transplantation. Bratislavské lekárske listy, 2007, vol. 108, no. 12, p. 516-518. ISSN 0006-9248. (IF 0,317 z r. 2009)

b) Články bez IF ve vztahu k dizertační práci

- Honsová, E., Lodererova, A., Balaz, P., **Oliverius, M.** Number of serotonin positive cells and acute cellular rejection in the early period after small bowel transplantation in pigs. Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc 2010; 154(1): 25- 9
- Baláž, P., Kudla, M., Lodererová, A., **Oliverius, M.**, Adamec, M. Preservation injury to the human small bowel graft: jejunum vs. ileum. Annals of transplantation, 2007, vol. 12, no. 1, p. 15-18. ISSN 1425-9524.
- **Oliverius, M.** Hladina plasmatického citrulinu - spolehlivý neinvazivní ukazatel množství funkčních enterocytů. Časopis lékařů českých, 2010, roč. 149., č. 4, s. 160-162. ISSN 0008-7335. (Přehled).
- **Oliverius, M.**, Kudla, M., Baláž, P., Valsamis, A., Honsová, E., Lodererová, A., Čáp, J., Adamec, M. Transplantace tenkého střeva v experimentu. Rozhledy v chirurgii, 2009, roč. 88, č. 11, s. 662-668. ISSN 0035-9351. (Původní sdělení).
- **Oliverius, M.**, Dastyh, M. Selhání tenkého střeva - od parenterální výživy k transplantaci střeva. Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie, 2009, roč. 63, č. 3, s. 105-112. ISSN 1213-323X. (Přehled).
- **Oliverius, M.**, Kudla, M., Baláž, P., Valsamis, A. Transplantace tenkého střeva. Postgraduální medicína, 2008, roč. 10, č. 9, s. 1026-1031. ISSN 1212-4184. (Původní sdělení).
- **Oliverius, M.** Transplantace tenkého střeva. Medical Tribune, 2008, č. 9, s. IV-V. ISSN 1214-8911. (Přehled).
- Kudla, M., Baláž, P., **Oliverius, M.**, Adamec, M. Chirurgická technika odběru tenkého střeva pro transplantaci. Rozhledy v chirurgii, 2007, roč. 86, č. 6, s. 297-299 ISSN 0035-9351. (Původní sdělení).
- **Oliverius, M.** Transplantace tenkého střeva - současný stav ve světě a v České republice. Lékařské Listy, 2006, roč. 55, č. 2, s. 24-25. ISSN 0044-1996. Příloha Zdrav. Nov. ze dne 27. 1. 2006. - (Přehled).
- **Oliverius, M.** Transplantace tenkého střeva (1. část). Šance novým životům. Stěžeň, 2009, roč. 20, č. 3, s. 23-27. ISSN 1210-0153. (Přehled).
- **Oliverius, M.** Transplantace tenkého střeva (2. část). Stěžeň, 2009, roč. 20, č. 4, s. 34-37. ISSN 1210-0153. (Přehled).

- **Oliverius, M.**, Kudla, M., Baláž, P. IX. mezinárodní symposium transplantace tenkého střeva, Brusel, 2005. Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie, 2005, roč. 59, č. 6, s. 310-312. ISSN 1213-323X. (Článek jiný).

2. publikace in extenso bez vztahu k tématu dizertace

a) články s IF

- Hucl, T., Benes, M., Kocik, M., Krak, M., Maluskova, J., Kieslichova, E., **Oliverius, M.**, Spicak, J. A novel double-endoloop technique for natural orifice transluminal endoscopic surgery gastric access site closure. *Gastrointest Endosc.* 2010;71(4):806-11. (IF 6,713 v r. 2009)
- **Oliverius, M.**, Kala, Z., Varga, M., Gürlich, R., Lánská, V., Kubešová, H. Radical surgery for pancreatic malignancy in the elderly. *Pancreatology*, 2010; 10(4): 499- 502 ISSN 1424-3903. (IF 2,195 z r. 2009).
- Votrubova, J., Belohlavek, O., Jaruskova, M., **Oliverius, M.**, Lohynska, R., Trskova, K., Sedlackova, E., Lipska, L., Stahalova, V. The role of FDG-PET/CT in the detection of recurrent colorectal cancer. *European journal of nuclear medicine and molecular imaging*, 2006, vol. 33, no. 7, p. 779-784. ISSN 1619-7070. (Původní sdělení). (IF 4,531 z r. 2009)

b) články bez IF

- **Oliverius, M.**, Varga M., Honsová E., Chirurgická léčba gastrointestinálních stromálních nádorů. *Onkologie*, 2010, roč. 4, č. 1, s. 9-12. ISSN 1802-4475. (Přehled).
- **Oliverius, M.**, Šafanda, M., Kříž, R. Multimodální léčba metastáz kolorektálního karcinomu. *Remedia*, 2009, roč. 19, č. 5, s. 362-365. ISSN 0862-8947. (Přehled).
- Gürlich, R., **Oliverius, M.**, Lipár, K., Varga, M., Špičák, J., Štirand, P., Valsamis, A., Novotný, J., Vyhnánek, F. Výsledky jednorocního přežití u nemocných po resekci hlavy slinivky břišní s resekci žil portomezenterické oblasti (PMO).. *Rozhledy v chirurgii*, 2009, roč. 88, č. 8, s. 417-421. ISSN 0035-9351. (Přehled).
- **Oliverius, M.** Komenář [k článku: Mazzaferro, V. et al. Předpověď přežití po transplantaci jater u pacientů s hepatocelulárním karcinomem přesahujícím Milánská kritéria: Retrospektivní, předběžná analýza.]. *The lancet oncology : české vydání*, 2009, roč. 8, č. 1, s. 52-53. ISSN 1213-9432. (Přehled).
- Varga, M., **Oliverius, M.**, Valsamis, A., Kučera, M., Gürlich, R., Šafanda, M., Matia, I., Honsová, E. Resekce pankreatu pro metastázy karcinomu ledviny. *Klinická onkologie*, 2009, roč. 22, č. 6, s. 288-290. ISSN 0862-495X. (Kazuistika).
- Varga, M., Valsamis, A., Matia, I., Peregrin, J., Honsová, E., Šafanda, M., **Oliverius, M.** Transarteriální chemoembolizace u hepatocelulárního karcinomu jater. *Rozhledy v chirurgii*, 2009, roč. 88, č. 8, s. 434-438. ISSN 0035-9351. (Přehled).
- Honsová, E., Gottfriedová, H., **Oliverius, M.**, Trunečka, P. Allograft hepatitis after liver transplantation for epithelioid haemangioendothelioma. *Prague medical report*, 2009, roč. 110, č. 3, s. 214-221. ISSN 1214-6994. (Původní sdělení).
- Hucl, T., Beneš, M., Kočík, M., Krak, M., Kubecová, H., Čáp, J., Šimůnková, Z., Malušková, J., Kieslichová, E., **Oliverius, M.**, Špičák, J. NOTES cholecystektomie. *Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie*, 2009, roč. 63, č. 3, s. 95-99. ISSN 1213-323X. (Původní sdělení).
- Mendl, J., **Oliverius, M.**, Valsamis, A., Krak, M. Minimalizace krevních ztrát v jaterní chirurgii. *Rozhledy v chirurgii*, 2009, roč. 88, č. 7, s. 373-376. ISSN 0035-9351. (Přehled).

- **Oliverius, M.** Soudobý pohled na léčbu jaterních metastáz kolorektálního karcinomu. *Tempus Medicorum*, 2009, roč. 18, č. 6, s. 20-21. (Přehled).
- Honsová, E., Gottfriedová, H., **Oliverius, M.**, Trunečka, P. Allograft hepatitis after liver transplantation for epithelioid haemangioendothelioma. *Prague medical report*, 2009, vol. 110, no.3, p.214-221. ISSN 1214-6994.
- Trna, J., Husová, L., **Oliverius, M.**, Dastych jr., M., Šenkyřík, M., Příbramská, V. Případ familiární adenomatózní polypózy a návrh systému dispenzarizace. *Vnitřní lékařství*, 2009, roč. 55, č. 6, s. 587-592. ISSN 0042-773X. (Kazuistika).
- Valsamis, A., **Oliverius, M.**, Varga, M., Mareš, K. Primární retroperitoneální tumor – extraadrenální paragangliom – kazuistika. *Rozhledy v chirurgii*, 2008, roč. 87, č. 5, s. 263-267. ISSN 0035-9351. (Kazuistika).
- Hejlová, I., **Oliverius, M.**, Honsová, E., Kautznerová, D., Filipová, H., Šperl, J., Špičák, J., Trunečka, P. Abces jater při asymptomatické perforující divertikulitidě imitující maligní nádor jater. *Praktický lékař*, 2008, roč. 88, č. 8, s. 474-477. ISSN 0032-6739. (Kazuistika).
- Šafanda, M., **Oliverius, M.** Léčba karcinomu pankreatu ve 21. století. *Onkologie*, 2008, roč. 2, č. 2, s. 103-104, 106. ISSN 1802-4475. (Přehled).
- Špičák, J., Adamec, M., Štirand, P., Drastich, P., Filipová, H., Peregrin, J., **Oliverius, M.**, Janoušek, L., Šperl, J., Fraňková, S., Ryska, M., Bělina, F., Vítko, Š., Trunečka, P. Biliární komplikace u 500 následných transplantací jater. *Folia gastroenterologica et hepatologica*, 2008, roč. 6, č. 2, s. 47-53. ISSN 1214-4088. (Původní sdělení).
- Gürlich, R., **Oliverius, M.**, Ryska, M., Sixta, B., Pirk, J., Skalský, I., Hošková, L., Špičák, J. Chirurgické výkony na gastrointestinálním traktu po transplantaci srdce. *Časopis lékařů českých*, 2007, roč. 146, č. 12, s. 934-937. ISSN 0008-7335. (Původní sdělení).
- **Oliverius, M.**, Bělina, F., Novotný, J., Studeník, P., Pudil, J., Ryska, M. Léčba hepatocelulárního karcinomu a současný stav v České republice. *Rozhledy v chirurgii*, 2007, roč. 86, č. 12, s. 635-641. ISSN 0035-9351. (Přehled).
- **Oliverius, M.**, Kočík, M., Kieslichová, E., Poullová, P. Použití lokálního hemostatika Tachosil v resekční chirurgii jater. *Medical Tribune*, 2007, roč. 3, č. 25, s. III-IV. ISSN 1214-8911. Tematická příloha - Moderní technologie a trendy v medicíně. (Přehled).
- Gürlich, R., Sixta, B., Drastich, P., Beneš, M., Čermák, J., **Oliverius, M.**, Šváb, J. Laparoskopická rektopexie. *Rozhledy v chirurgii*, 2006, roč. 85, č. 5, s. 233-235. ISSN 0035-9351. (Původní sdělení).
- Gürlich, R., Sixta, B., **Oliverius, M.** Plánované laparoskopické výkony v klinické praxi. *Časopis lékařů českých*, 2006, roč. 145, č. 3, s. 195-200. ISSN 0008-7335. (Přehled).
- Kudla, M., Baláž, P., Sixta, B., **Oliverius, M.** Endoskopická transgastriká drenáž pseudocysty pankreatu jako příčina pozdní perforace střeva. *Rozhledy v chirurgii*, 2006, roč. 85, č. 6, s. 290-292. ISSN 0035-9351. (Kazuistika).
- **Oliverius, M.** Ke článku Diagnostický přístup k hepatocelulárnímu karcinomu. *Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie*, 2006, roč. 60, č. 6, s. 246-247. ISSN 1213-323X. Komentář ke článku na s. 239-245. - (Přehled).
- Gürlich, R., Cibulka, D., Babjuk, M., **Oliverius, M.**, Pešková, M., Svárovský, J., Novotný, J., Mareš, P. Exenterační výkony v pánvi. *Rozhledy v chirurgii*, 2005, roč. 48, č. 8, s. 403-409. ISSN 0035-9351. (Původní sdělení).
- Gürlich, R., Novotný, J., Stríž, I., Honsová, E., **Oliverius, M.**, Janoušek, L., Pokorná, E., Maruna, P. Riziko vzniku malignity po orgánové transplantaci. *Časopis lékařů českých*, 2005, roč. 144, č. 9, s. 597-600. ISSN 0008-7335. (Přehled).

- Gürlich, R., Sixta, B., **Oliverius, M.**, Kment, M., Rusina, R., Špičák, J., Šváb, J. Laparoskopická distální resekce pankreatu. *Rozhledy v chirurgii*, 2005, roč. 84, č. 9, s. 463-465. ISSN 0035-9351. (Kazuistika).
- **Oliverius, M.**, Studeník, P. Transplantace jater pro hepatocelulární karcinom v České republice. *Folia gastroenterologica et hepatologica*, 2005, roč. 3, č. suppl. 1, s. S69-S77. ISSN 1214-4088. (Přehled).
- **Oliverius, M.**, Taimr, P., Špičák, J. Empirická antibiotická léčba infekcí žlučových cest Cefoperazonem. *Bulletin HPB Chirurgie*, 2005, roč. 13, č. 2, s. 35-38. ISSN 1210-6755. (Přehled).
- Malíková, H., Weichet, J., Vymazal, J., Balák, J., Drugová, B., Mareš, K., **Oliverius, M.** Naše první zkušenosti s magneticko-rezonanční cholangiopankreatikografií. *Časopis lékařů českých*, 2003, roč. 142, č. 11, s. 656-660. ISSN 0008-7335.
- **Oliverius, M.**, Wohl, R. Adenokarcinom tenkého střeva. *Rozhledy v chirurgii*, 2003, roč. 82, č. 10, s. 529-532. ISSN 0035-9351.
- Visokai, V., Lipská, L., **Oliverius, M.**, Dutka, J. Komplikace chirurgické léčby chronické pankreatitidy. *Bulletin HPB Chirurgie*, 2001, roč. 9, č. 4, s. 120-123. ISSN 1210-6755. Předneseno na: Chronická Pankreatitida. Pankreatický klub, Brno 20.4.2001. (Přehled).
- Visokai, V., Bergmann, P., Lipská, L., **Oliverius, M.**, Dutka, J. Centrální trisegmentektomie jater pro metastázu kolorektálního karcinomu. *Rozhl.Chir.*, 1998, roč. 77, č.6, s.279-283. ISSN 0035-9351.
- Visokai, V., Lipská, L., Dutka, J., Sixta, B., **Oliverius, M.**, Pavlíčková, V. Limitované jaterní resekce při metastatickém postižení u kolorektálního karcinomu. *Rozhl.Chir.*, 1996, roč. 75, č.3, s.139-142. ISSN 0035-9951
- **Oliverius, M.**, Gürlich, R. Zpráva z VI. světového kongresu IHPBA. *Bulletin HPB Chirurgie*, 2005, roč. 13, č. 1, s. 28. ISSN 1210-6755.

Monografie CZ

- Trunečka, P., Adamec, M., Lake, JR., Filip, K., Šafka, V., Lata, J., Fraňková, S., Šperl, J., **Oliverius, M.**, Kieslichová, E., Ročeň, M., Trotter, JF., Kerkar, N., Emre, S., Janoušek, L., Špičák, J., Drastich, P., Gottfriedová, H., Honsová, E., Filipová, H., Kautznerová, D., Novotný, J., Fendrych, P., Peregrin, J., Cindr, J., Červinková, Z. Transplantace jater. 1. vyd. Praha : Karolinum. 2009. 290 s. ISBN 978-80-246-1671-1. (Monografie).

Kapitola v monografii CZ

- **Oliverius, M.**, Novotný, J. Hepatocelulární karcinom a cholangiokarcinom jater (HCC). In: Novotný, J., Vítek, P., Petruželka, L. *Klinická a radiační onkologie pro praxi*. Praha : Triton, 2005, s. 90-99. ISBN 80-7254-736-4. (Kapitola v monografii).
- **Oliverius, M.**, Novotný, J. Karcinom žlučníku a extrahepatálních žlučových cest. In: Novotný, J., Vítek, P., Petruželka, L. *Klinická a radiační onkologie pro praxi*. Praha : Triton, 2005, s. 100-108. ISBN 80-7254-736-4. (Kapitola v monografii).

Kapitola ve sborníku CZ

- **Oliverius, M.** Nádory jater a možnosti transplantační léčby. In: Česká a slovenská gastroenterologie a hepatologie. 2005, roč. 59, č. 5, s. 246-248. ISSN 1213-323X. Přednášky, volná sdělení, postery. - (Přehled).
- Visokai, V., Lipská, L., Bergmann, P., **Oliverius M.** Postavení lymfadenektomie a její rozsah v léčbě kolorektálního karcinomu. 21. Evropský kongres International College of

Surgeons a 4. kongres ČLS J.E. Purkyně. Praha, CZ, 2.-4.6.1999. In: XXI. evropský kongres International College of Surgeons. 1. vyd. Praha : Galén, 1999, s. 177. ISBN 80-86257-06-1.