

MUDr. Filip Jonáš

Téma Mikrochirurgická léčba lymfedému

Školitel doc.MUDr.Ondřej Měšťák, Ph.D.

Anotace

Úvod

Mikrochirurgie lymfedému představuje nově vznikající subspecializaci plastické chirurgie. Celosvětově si řada plastických chirurgů osvojila mikrochirurgické techniky rekonstrukce lymfatického systému a čím dál více pacientů tyto metody vyhledává.

Zlatým standardem léčby lymfedému v České Republice je komplexní dekongestivní terapie. Pacienti, nejčastěji ženy po komplexní onkologické léčbě karcinomu prsu postižené lymfedémem horní končetiny, tak musí doživotně nosit kompresní návleky a bandáže. Pokročilé případy jsou řešeny zejména redukčními výkony, jako jsou liposukce a prostá excize. Cílem mikrochirurgických rekonstrukčních výkonů je naopak obnova drenážní funkce lymfatického systému. Rekonstrukce vychází ze samotné patofyziologie lymfedému. Vhodné řešení je zvoleno na základě stupně postižení lymfatického systému. V časných stádiích by měla být snaha o rekonstrukci lymfatického systému. Lymfo-venózní anastomózy (LVA) umožňují obnovení komunikace lymfatického systému s žilním. Tento přístup vyžaduje supermikrochirurgickou techniku. U pokročilých stádiích, kdy není možné LVA zhotovit, je indikován vaskularizovaný transfer lymfatických uzlin (VLNT). Uzliny v perinodálním tuku jsou přeneseny z donorského místa volně na cévní stopce na lymfedémem postiženou končetinu. Lalok může být odebrán s kožním ostrovem. Někteří autoři věří, že zachování kožního ostrovu zlepšuje celkovou funkci laloku díky přítomnosti lymfo-venózních spojek mezi dermálními plexy a lymfatickými cestami v podkoží. Výsledkem mikrochirurgické rekonstrukce je úleva od pocitu tíhy a napětí v prvních pooperačních dnech. Dochází k redukci obvodu končetiny a některé z pacientek definitivně odloží kompresní návleky. Dochází tak k výraznému zlepšení kvality života.

Vědecká otázka

Bude zkoumán vliv aplikace růstového faktoru cévního endotelu C (VEGF-C) a od tuku odvozených kmenových buněk (ADSCs) na reintegraci lymfatik ve VLNT na malém animálním modelu.

Hypotéza

Předpokládáme zkrácení doby hojení a obnovení lymfatické drenáže po VLNT. Dále se domníváme, že časná aplikace růstového faktoru či kmenových buněk povede ke zvýšené neolymfangiogenezi, zvýšení množství nově vzniklých aferentních lymfatik a tím i celkovému zvýšení drenážní kapacity laloku. 4. Plánovaná metodika Výzkum bude realizován na potkanech rodu Lewis. Jako plánovaný model VLNT bude využito axilárních uzlin zásobených a. et v. thoracica lateralis. Odběr bude proveden se snahou o maximálně šetrnou preparaci pro dosažení minimální donor-site morbidity. Po předchozí lymfadektomii třísla budou uzliny volně přeneseny a za užití operačního mikroskopu včetně mikrochirurgických technik cévy znovu napojeny na vlastní cévy třísla. Jako recipientní cévy volíme a. et v. epigastica superficialis s end-to-end anastomózami, ev. její kmenové cévy a. et. v. femoralis s end-to-side anastomózami. Vzhledem k nutnosti dlouhodobého sledování po dobu minimálně 13ti týdnů, což je doba nutná k plnému zhojení lymfatického systému u potkana, je nezbytné zachování intaktního cévního zásobení končetin. Pro realizaci našeho experimentu budou uzliny odebrány od geneticky modifikovaného jedince potkana Lewis s luciferázovou aktivitou a tyto uzliny budou transplantovány běžnému potkanovi téhož rodu. Aplikace D-luciferinu tomuto jedinci

poskytne informaci o viabilitě přeneseného laloku a zároveň míra luminiscence poskytne semikvantitativní informaci o funkci laloku v čase. Celkem 40 plánovaných transferů bude rozděleno do 4 skupin. První skupina bude představovat VLNT s intradermální aplikací 6,66 µg VEGF-C mediálně a distálně od laloku první, druhý a třetí pooperační den. Druhá skupina bude tvořena VLNT s perioperační aplikací ADSCs kolem laloku. Třetí skupina bude kombinací aplikace faktoru i buněk v identickém schématu. Čtvrtá a poslední skupina bude prostý VLNT a bude sloužit jako kontrola. Pooperační monitoring laloku bude realizován vyšetřením cévní stopky Dopplerovským ultrazvukem s možností 3D rekonstrukce. Funkce laloku bude dále analyzována za užití ICG se zobrazením fotoakusticky na ultrazvukovém obraze taktéž s možností 3D rekonstrukce. Poslední zvažovanou zobrazovací metodou analýzy laloku bude užití magnetické rezonance, jejíž největším přínosem je přesná volumetrie lymfatických uzlin. Experiment bude ukončen usmrcením zvířat a odběrem tkáňového bloku k výsledné histologické analýze.

Plánovaný způsob organizace sběru a získávání experimentálních dat

Po nácviu mikrochirurgických technik, volných tkáňových přenosů a vytvoření zobrazovacího protokolu bude zahájen vlastní experiment. Začátek mikrochirurgických výkonů se bude odvíjet od dostupnosti transgenních potkanů, jejichž chov nyní zakládáme. Vlastní sběr dat bude rozdělen do minimálně 3 funkčně-zobrazovacích vyšetření rozdělených rovnoměrně v horizontu 13-14 týdnů, kdy bude experiment ukončen a bude odebrán tkáňový blok k definitivnímu histologickému vyšetření. Aplikace VEGF-C je stanovena v dávce 6,66 µg 1. ,2. a 3. pooperační den, aplikace ADSCs bude probíhat perioperačně viz výše. Sběr dat bude probíhat ve spolupráci s pracovníky Centra pokročilého preklinického zobrazování (CAPI), kde také bude celý experiment realizován. Výčet plánovaných zobrazovacích modalit představuje Dopplerovský ultrazvuk s možností 3D rekonstrukce obrazu včetně funkčního fotoakustického vyšetření po aplikaci ICG, magnetická rezonance a zobrazovač Bruker In-Vivo Xtreme umožňující zobrazení bioluminiscence – zachycení fotonů uvolněných při enzymatické reakci 2 minuty od aplikace do v. jugularis. 6. Předpokládané využití a přínos výsledků
Předpokládaným výstupem naší experimentální práce bude objasnění vlivu VEGF-C a ADSCs na reintegraci VLNT do vlastních lymfatických uzlin nové lokality. Je možné se domnívat, že augmentace neolymfangiogeneze v časně fázi hojení povede ke zlepšení funkčního výsledku. Transplantace kmenových buněk i růstových faktorů u sekundárního lymfedému, který je v rozvinutých zemích nejčastěji důsledkem multimodální onkologické léčby, je jistě kontroverzní, věříme však, že naše zjištění povede k dalšímu rozšíření poznání VLNT, který se i přes trvajících nálepkou experimentální léčby stává čím dál častěji metodou volby, obzvláště pak u pokročilých stádií lymfedému již nevhodných k LVA.

Publikace

The CD34+ Cell Number Alone Predicts Retention of the Human Fat-Graft Volume in a Nude Mouse Model. - Hromádková V, Francová P, Bájecný M, **Jonas F**, Molitor M, Šefc L, Měšťák O. Folia Biol (Praha). 2019;65(2):64-69.