

# Radiofréquence, immunologie antitumorale et cellules souches : vers l'optimisation de la prise en charge du carcinome hépatocellulaire

## Radiofrequency, antitumoral immunology and stem cells: towards the optimisation of management of the hepatocellular carcinoma

A Zarzavadjian Le Bian, MD, MPh [1], N Habib, ChM, FRCS [1]

*Hepatic pancreatic and biliary surgery Unit, Hammersmith Hospital, NHS/Imperial College, London, United Kingdom.*

### Mots clés

- ◆ Radiofréquence
- ◆ Carcinome hépatocellulaire
- ◆ Cellules souches
- ◆ Hépatectomie
- ◆ Radiologie interventionnelle.

### Résumé

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) est le cinquième cancer le plus fréquent dans le monde, une incidence liée aux hépatites virales et à la cirrhose hépatique. La vaste majorité des patients se présente à un stade avancé et, de part l'altération de leur fonction hépatique, sont rarement de bons candidats à la chirurgie. Les tumeurs peuvent compromettre les vaisseaux ou les éléments du hile hépatique, contraignant à la réalisation d'hépatectomies majeures ou les rendant impossibles. Un arsenal de nouvelles technologies a été développé afin d'optimiser la prise en charge du CHC. La thérapie à base de cellules souches améliore la fonction hépatique altérée avant la résection hépatique. L'ablation intravasculaire par radiofréquence recanalise la veine portale envahie par un thrombus tumoral et l'ablation endobiliaire par radiofréquence restaure la perméabilité du canal biliaire envahi par la néoplasie. La résection hépatique par radiofréquence sous coelioscopie minimise les pertes sanguines sans ischémie hépatique chaude, tout en optimisant l'épargne du parenchyme. Ces bénéfices combinés accroissent la sûreté des résections hépatiques.

### Keywords

- ◆ Radiofrequency
- ◆ Hepatocellular carcinoma
- ◆ Stem cells
- ◆ Hepatectomy
- ◆ Interventional Radiology

### Abstract

Hepatocellular carcinoma (HCC) is the fifth most common neoplasm in the world, closely correlated with viral hepatitis and liver cirrhosis. The vast majority of HCC patients presents at a late stage and are unsuitable for surgery due to limited liver functional reserve. Tumors can involve major vessels or hilar structures, necessitating major liver resection and rendering liver resection unfeasible respectively. A series of new technologies have been developed to optimise HCC management. Stem cell therapy improves impaired liver functional reserve prior to liver resection. Intravascular radiofrequency ablation recanalises the portal vein invaded by tumor thrombus and endobiliary radiofrequency ablation restores and extends biliary patency of the bile duct invaded by malignancy. Laparoscopic radiofrequency assisted liver resection minimises blood loss and avoids liver warm ischemia, while increasing parenchymal sparing. These benefits combined maximise the safety of liver resection.

Le carcinome hépatocellulaire (CHC) représente 85 à 90 % des cancers hépatiques primitifs (1), ce qui en fait la néoplasie primitive du foie la plus fréquente. Il est aussi le cinquième cancer en matière d'incidence et la troisième cause de mortalité liée à un cancer (2). Cette lésion est principalement rencontrée chez les patients porteurs chroniques du virus de l'hépatite B (HBV), infectés par l'hépatite C (VHC) ou chez les éthyliques anciens et chroniques. La prévalence de la cirrhose hépatique dans le CHC est de l'ordre de 80 à 90 % (3). L'histoire naturelle menant de la cirrhose au CHC explique donc le grand nombre de patients dont la fonction hépatique est altérée au moment du diagnostic.

L'association entre le CHC et les hépatites virales n'est plus à démontrer (4). Cet état de fait entraîne deux répercussions immédiates : premièrement à l'échelle de la population, des campagnes de vaccinations généralisées contre les hépatites

virales devraient être mises en place, et secondairement pour les patients atteints d'hépatites virales, les lésions devraient être systématiquement dépistées pour être diagnostiquées à des stades précoces. En effet, lors d'un essai contrôlé randomisé évaluant une surveillance par alphafoetoprotéine (AFP) et échographie hépatique tous les 6 mois, Zhang et al., (5) ont observé une réduction de la mortalité de 37 % dans le groupe des patients surveillés. De la même façon, Kuo et al., (6) ont montré que la survie globale était augmentée dans le groupe des patients surveillés (taux de survie à 3 ans de 59,1 % contre 29,3 %,  $p < 0,001$ ). L'importance de cette surveillance menant à des diagnostics précoces se renforce lorsqu'on observe les chiffres de survie : les CHC diagnostiqués lors d'une complication (donc à un stade tardif) ont un pronostic sombre avec une survie à 5 ans de 0 à 10 % (1), alors que chez ceux dépistés à un stade précoce la survie à 5 ans est supé-

### Correspondance :

Alban Zarzavadjian Le Bian, MD, MPh, Nagy Habib, ChM, FRCS  
 Hepatic Pancreatic and Biliary Surgery Unit, Hammersmith Hospital, NHS/Imperial College, London, United Kingdom.  
 E-mail: nagy.habib@imperial.ac.uk - E-mail: Alban.Zarzavadjian@imperial.nhs.uk

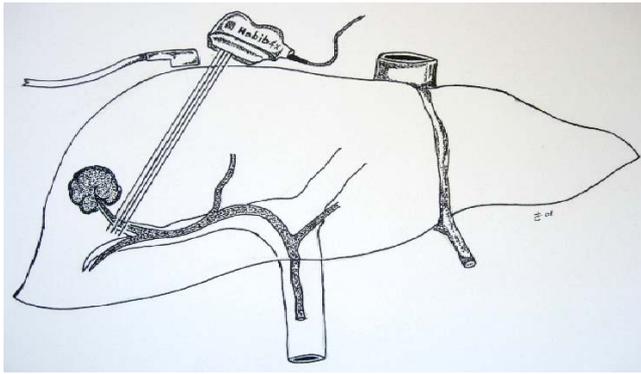


Figure 1. Radiofréquence bipolaire dans le cadre d'une hépatectomie.

rieure à 50 % après résections hépatiques ou transplantation hépatique (7-9).

Le recours à la chirurgie et à la transplantation hépatique permet donc un accroissement de la survie, qu'on ne peut malheureusement discuter que dans les limites de la résecabilité et de l'opérabilité du patient. En effet, l'altération de la fonction hépatique, l'envahissement vasculaire et l'obstruction tumorale biliaire bilatérale peuvent rendre une lésion irrésécable.

Dans la quête perpétuelle d'amélioration de la prise en charge du CHC, repousser les frontières de la chirurgie contemporaine en modifiant les données de résecabilité et d'opérabilité relève du progrès mais aussi de données techniques. Nous discutons ici de ces progrès techniques afin d'optimiser la prise en charge du CHC.

### Résection hépatique par radiofréquence : une expérience croissante

Dans le cadre de la résection hépatique, la gestion de la transection parenchymateuse par des sondes de radiofréquence est désormais une méthode admise comme efficace, introduite pour la première fois avec une sonde monopolaire par Weber et al., (10). Il s'agit de réaliser une manœuvre de « Pringle » intraparenchymateuse par la thermocoagulation des structures vasculaires entre les électrodes (fig. 1 et 2). Par rapport aux hépatectomies majeures, les craintes principales sont toujours le saignement massif en peropératoire et la défaillance hépatique postopératoire.

En dehors de l'expérience de l'équipe de l'*Hammersmith Hospital* (11, 12), expérience hautement satisfaisante, plusieurs publications ont traité des avantages de cette technique sur d'autres :

- Delis S et al., (13) ont rapporté une comparaison entre la gestion par clampage/écrasement et la radiofréquence. Ils ont conclu qu'il s'agit d'une méthode sûre de traitement de la tranche hépatique, y compris chez les patients cirrhotiques ;
- Wagman LD et al., (14) ont évalué quant à eux un appareil à quatre sondes bipolaires dans la faisabilité de diverses résections hépatiques, dans la durée opératoire, la mortalité

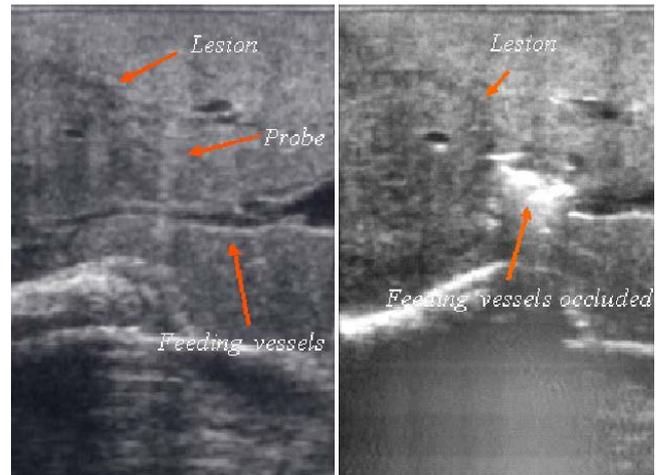


Figure 2. Echographie hépatique : occlusion vasculaire par radiofréquence.

postopératoire, les pertes sanguines et les résultats histologiques. Ils ont conclu que la radiofréquence est une méthode peu hémorragique y compris pour les hépatectomies majeures ;

- Kleinert et al., (15) se sont attachés à analyser la marge de résection dans les suites de résection hépatique utilisant la radiofréquence. Ils ont observé des collections résiduelles, majoritairement asymptomatiques, et une zone ischémique persistant trois ans, avec un taux de morbidité de 18 % et de mortalité de 3,6 %.
- Akyildiz HI et al., (16) ont conclu, devant l'absence d'hémorragie, de fuite biliaire et d'abcès, à l'efficacité du dispositif et se sont interrogés sur un potentiel effet bénéfique oncologique lié à la marge de résection fonctionnelle ;
- enfin, Gurusamy et al., (17) ont mis en évidence qu'au minimum il n'existe aucune différence entre la technique de clampage/écrasement et les méthodes de radiofréquences dans la littérature.

En dépit de ces études et de leurs résultats, la défense de ce type de dispositifs doit encore être vive puisqu'ils ne jouissent pas d'une bonne réputation auprès des chirurgiens. En effet, en interrogeant certains confrères spécialistes des pathologies hépatobiliaires, il semblerait que la crainte d'une vulgarisation de la chirurgie hépatique par ces instruments (transformant d'anciens gestes difficiles et réservés en banalités à la portée de tous) soit au cœur du problème. Deux arguments s'opposent à ce raisonnement. Le premier provient de l'importance de l'indication chirurgicale dans le cadre de l'activité hépatobiliaire : l'indication à une part prépondérante dans la réussite thérapeutique. Le deuxième argument est inhérent à la chirurgie hépatique : les structures traitées (vasculaires, biliaires, parenchymateuses) et la zone d'action (l'étage sus-mésocolique dans sa globalité) sont particulièrement sensibles et les appareils à radiofréquence, dont l'effet est la nécrose par thermocoagulation, n'accordent aucune erreur.

On retiendra donc que la thermocoagulation par radiofréquence bipolaire du parenchyme hépatique permet selon de

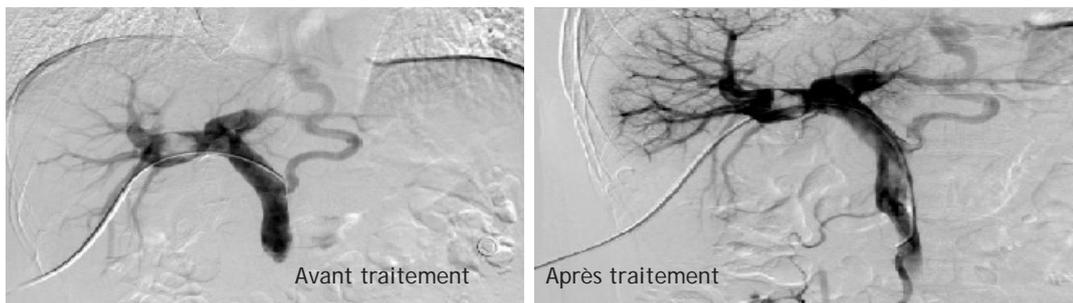


Figure 3. Portographie par voie transhépatique : revascularisation et traitement par radiofréquence d'une thrombose tumorale de la branche portale droite.

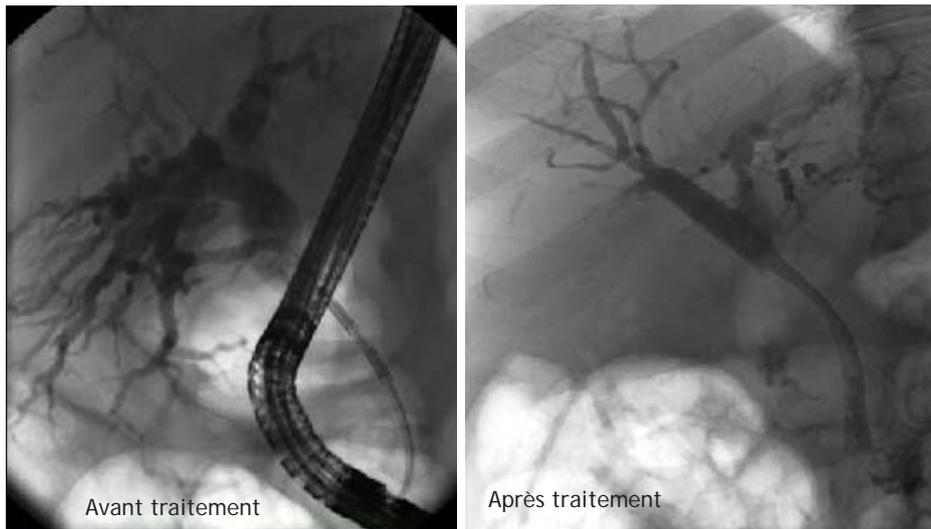


Figure 4. Cholangiographie rétrograde : reperméabilisation d'un stent biliaire métallique.

nombreuses études de facilité la résection sans augmenter le taux de complications entre les mains de chirurgiens hépatobiliaires expérimentés.

### Radiofréquence interventionnelle : peut-elle accroître la résécabilité tumorale ?

Les envahissements vasculaires peuvent contre-indiquer la réalisation de résection de lésion hépatique, ou bien élargir considérablement la quantité de parenchyme sain à réséquer. Cette même augmentation de la quantité de parenchyme à réséquer peut contre-indiquer la chirurgie en particulier chez les patients avec une fonction hépatique altérée, ce qui est fréquent dans la population ayant un CHC.

Le développement des techniques endovasculaires dans le cadre de lésions hépatiques présentent deux principaux avantages :

- d'une part, il est démontré que l'interruption de la vascularisation artérielle nourricière d'une lésion hépatique conduit à sa nécrose ou à un retard de croissance de la lésion (18). De ce principe est issue l'utilisation de la chimio-embolisation intra-artérielle par cathétérisme artériel, l'un des traitements de référence pour les patients ayant un CHC ou une lésion hépatique métastatique irrésécable (19) ;
- d'autre part, la reperméabilisation de vaisseaux subissant un envahissement tumoral ou présentant un thrombus tumoral permet de revasculariser un parenchyme hépatique alors ischémique et donc d'élargir les indications opératoires (fig. 3).

Ces deux techniques sont désormais réalisables par le biais de cathéter à radiofréquence bipolaire, utilisable dans le cadre

de la radiologie interventionnelle. Une étude récente de Khorsandi et al., (20) a démontré l'efficacité et la sûreté de tels dispositifs afin d'occlure des vaisseaux nourrissant des lésions hépatiques primitives et secondaires. De plus, ces mêmes dispositifs peuvent être utilisés afin d'administrer la chimiothérapie in situ (21). Or, la technique classique d'embolisation/chimio-embolisation présente des complications spécifiques (cholécystite aiguë, défaillance hépatique, hémorragie digestive haute) (20) dont une partie peut être évitée par cette nouvelle méthode plus précise.

De la même façon, les envahissements biliaires tumoraux sont des obstacles à la chirurgie. Lau et al., (22) ont observé que 3 % des patients avec un CHC avaient un ictère sur obstacle biliaire tumoral. La plupart de ces patients sont alors traités par la mise en place de stents biliaires métalliques expansibles dont le principal problème est la durée de vie, évaluée à 120 jours (23).

Les cathéters de radiofréquences bipolaires peuvent alors être utilisés afin de coaguler la zone de sténose biliaire, réalisant une destruction partielle de la lésion. De plus, si un stent métallique a déjà été placé, son histoire naturelle veut qu'il soit progressivement obstrué par la lésion. Le cathéter peut le « nettoyer », et ainsi éviter la superposition des stents.

Enfin, dans le cadre des envahissements biliaires gagnant les canaux hépatiques droit et gauche, situation considérée il y a encore peu de temps comme inopérable, il est envisageable que le chirurgien réalise une résection hépatique unilatérale de la tumeur, tandis que le canal biliaire du foie résiduel bénéficie d'un traitement par radiofréquence. Steel et al., (24) dans un essai clinique de phase I rapportent dans ces cas une patence biliaire à 30 jours et une mortalité postopératoire inférieure à 5 % (fig. 4).

En dépit de l'absence d'essai contrôlé randomisé, les techniques de radiofréquence bipolaire appliquée aux obstructions biliaires et vasculaires semblent donc offrir des perspectives thérapeutiques chez des patients qui auparavant sortaient des standards curatifs.

### Cellules souches : peuvent-elles accroître l'opérabilité des patients ?

Avant d'entamer la question des cellules souches, il convient d'emblée d'exclure le débat éthique qui animait il y a peu encore la question. Les cellules souches utilisées ici sont issues de la culture de cellules sanguines du patient, elles ne proviennent pas de cellules fœtales. Par conséquent, l'interrogation éthique de ce procédé revient à celle de l'autogreffe hématologique : elle est acceptable et recommandée sous couvert de l'accord éclairé du patient.

En raison de la pandémie d'hépatites virales, le nombre de patient dont la pathologie engage le pronostic vital à court terme est en rapide augmentation. Selon l'Organisation mondiale de la santé (OMS), plus de 500 millions d'individus souffrent d'une hépatite B ou C dans le monde, et on dénombre 1,5 million décès par an pour ces pathologies. Pour les patients avec une atteinte hépatique au stade terminal, la détérioration progressive de la fonction hépatique jusqu'à l'insuffisance hépatique semble être l'unique issue lorsque la trans-

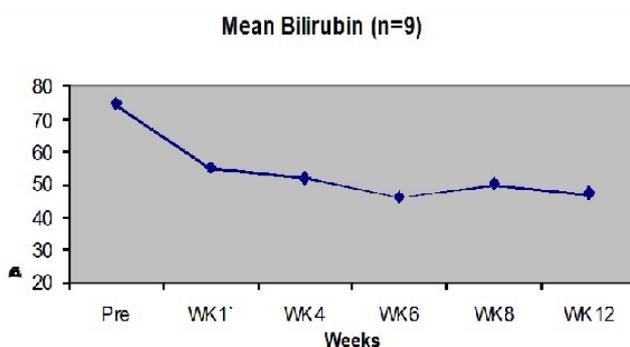


Figure 5. Évolution du taux de bilirubine totale en fonction du temps chez les patients ayant été traités par cellules souches.

plantation hépatique n'est pas réalisable. De plus, la réduction relative du nombre de donneurs par rapport aux listes d'attentes et l'augmentation du temps d'attente rendent la transplantation hépatique impossible pour de nombreux patients. Enfin, les complications chirurgicales, le rejet et le prix élevé de cette intervention sont aussi des difficultés majeures.

Depuis quelques années, on sait que des hépatocytes peuvent être obtenus à partir d'une population de cellules de la moelle osseuse (25-27). En combinant les avancées réalisées dans la compréhension de la malléabilité des cellules souches hémopoïétiques, les bases théoriques de la transplantation de cellules souches à des patients souffrant de maladie hépatique étaient posées et mises en œuvre par l'équipe de l'*Imperial College London*. Pour la première fois, une étude clinique de phase I était conduite *via* l'utilisation de cellules souches dérivées de la moelle osseuse pour traiter des patients atteints d'insuffisance hépatique. L'étude a démontré une amélioration des taux sériques d'albumine et de bilirubine totale sans complications ou effets secondaires (28). De plus, les effets à long terme montrent des bénéfices durant au moins 12 mois (29). Dans l'étude de suivi, les bénéfices furent aussi constatés pour les patients ayant une cirrhose éthylique (30). Ces données cliniques suggèrent que les cellules souches de la moelle osseuse adulte peuvent améliorer la fonction hépatique (fig. 5).

Cette approche permet d'imaginer différents scénarios. L'utilisation de cellules souches pourrait diminuer le score MELD de patients inopérables en pré-opératoire, et finalement les rendre opérables. En pré-opératoire, on peut imaginer l'administration de cellules souches dans le lobe hépatique controlatéral à la lésion, ainsi que la réalisation d'une embolisation portale ipsilatérale à la lésion, afin d'induire une hypertrophie en vue d'une résection hépatique programmée (31). Enfin, les cellules souches, produisant des interleukines 2 ainsi que d'autres cytokines, pourraient être injectées dans la région tumorale, et être combinées à une occlusion vasculaire par radiofréquence avec adjonction de chimiothérapie locale (comme une chimio-embolisation).

## Conclusions

Dans le cadre du CHC, la chirurgie laparoscopique étant le dernier grand essor technique, l'augmentation du pronostic réside désormais dans l'évolution des pratiques par rapport aux patients inopérables ou non résécables. De nouvelles technologies incluant les dispositifs de radiofréquence et les cellules souches permettent de repousser ces limites sans engager la sécurité du patient. Au sein de la médecine, la chirurgie a toujours joué un rôle particulier, celui d'une discipline artisanale où la main du maître façonne la main de l'élève pour la reproduction de gestes séculaires. L'opposition d'une minorité, y compris celle d'une élite comme la confrérie des chirurgiens, reste opposition minoritaire. Alors, l'évolution et la révolution technologique ne pouvant freinées, il convient d'accepter ces changements afin d'en tirer le meilleur parti pour le bien des patients.

## Questions

### Question du Professeur François Dubois

N'y a-t-il pas de risque de chute d'escarre ou d'infection sur la tranche coagulée de 1 cm d'épaisseur ?

#### Réponse

Les trois principaux risques de cette chute d'escarre sont l'abcès, la fistule biliaire et le saignement. Toutes les études tendent à prouver que la radiofréquence ne majore pas ce risque.

### Question du Professeur Bernard Launois

L'une des causes du Child B est l'ascite due à un bloc intrahépatique par fibrose périportale. Pour l'injection de cellules souches, êtes-vous capables de faire régresser la fibrose ?

#### Réponse

Il semblerait que oui. Parmi nos patients, nous avons eu des réponses objectives à l'imagerie en matière d'ascite, au-delà des résultats biologiques.

### Question du Professeur Michael Lesurtel (Zurich)

Comment avez-vous ré-ouvert une veine porte thrombosée par radiofréquence : voie endovasculaire ou voie transhépatique ?

#### Réponse

L'abord de la veine porte s'est fait par voie transhépatique.

### Question du Professeur Daniel Jaeck

Félicitations, esprit très imaginaire !

Les cellules souches pourront-elles être utilisées dans la prise en charge des métastases hépatiques des cancers colorectaux pour favoriser l'hypertrophie du foie restant ?

#### Réponse

Oui. Par exemple, pour une hépatectomie droite, on réaliserait une injection de cellules souches dans le foie gauche et une embolisation portale droite classique afin d'induire l'hypertrophie hépatique. On peut toutefois s'interroger sur une injection de cellules souches en foie total : l'immunité induite par les cellules souches peut avoir un rôle anti-tumoral... à démontrer.

### Question du Professeur Dominique Franco

Existe-t-il une preuve que les cellules souches entraînent une amélioration clinique : régénération hépatique ? Amélioration du pronostic des accidents vasculaires cérébraux ?

#### Réponse

Oui, dans le cadre de la régénération hépatique, il existe des preuves, en particulier lorsque l'on compare l'activité de la déshydrogénase mitochondriale d'hépatocytes en présence de thio-acétamine, avec et sans cellules souches. Les résultats démontrent une régénération hépatique.

Dans le cadre des AVC, plusieurs protocoles sont actuellement en route, mais les résultats semblent tout aussi encourageants, en particulier à la phase aiguë.

## Références

- Llovet JM, Burroughs A, Bruix J. Hepatocellular carcinoma. *Lancet* 2003 ; 362 : 1907-17.
- Parkin DM, Bray F, Ferlay J, Pisani P. Estimating the world cancer burden: Globocan 2000. *Int J Cancer* 2001 ; 94 : 153-6.
- Simonetti RG, Camma C, Fiorello F, Politi F, D'Amico G, Pagliaro L. Hepatocellular carcinoma. A worldwide problem and the major risk factors. *Dig Dis Sci* 1991 ; 36 : 962-72.
- Walter SR, Thein HH, Gidding HF, Amin J, Law MG, George J, Dore GJ. Risk factors for hepatocellular carcinoma in a cohort infected with hepatitis B or hepatitis C. *J Gastroenterol Hepatol*. 2011 May 26.
- Zhang BH, Yang BH, Tang ZY. Randomized controlled trial of screening for hepatocellular carcinoma. *J Cancer Res Clin Oncol* 2004 ; 130 : 417-22.
- Kuo YH, Lu SN, Chen CL, Cheng YF, Lin CY, et al. Hepatocellular carcinoma surveillance and appropriate treatment options improve survival for patients with liver cirrhosis. *Eur J Cancer* 2010 ; 46 : 744-51.
- Llovet JM, Bruix J, Gores GJ. Surgical resection versus transplantation for early hepatocellular carcinoma: clues for the best strategy. *Hepatology* 2000 ; 31 : 1019-21.
- Yao FY, Ferrell L, Bass NM, Watson JJ, Bacchetti P, et al. Liver transplantation for hepatocellular carcinoma: expansion of the tumor size limits does not adversely impact survival. *Hepatology* 2001 ; 33 : 1394-403.
- Poon RT, Fan ST, Lo CM, Liu CL, Wong J. Long-term survival and pattern of recurrence after resection of small hepatocellular carcinoma in patients with preserved liver function: implications for a strategy of salvage transplantation. *Ann Surg* 2002 ; 235 : 373-82.

10. Weber JC, Navarra G, Jiao LR, Nicholls JP, Jensen SL, Habib NA. New technique for liver resection using heat coagulative necrosis. *Arch Surg* 2002 ; 236 : 560-3.
11. Ayav A, Jiao L, Dickinson R, Nicholls J, Milicevic M, et al. Liver resection with a new multiprobe bipolar radiofrequency device. *Arch Surg* 2008 ; 143 : 396-401 ; discussion 401.
12. Ayav A, Jiao L, Habib N: Bloodless liver resection using radiofrequency energy. *Dig Surg* 2007 ; 24 : 314-7.
13. Delis S, Bakoyiannis A, Tassopoulos N, Athanassiou K, Papailiou J, et al. Clamp-crush technique vs. radiofrequency-assisted liver resection for primary and metastatic liver neoplasms. *HPB (Oxford)* 2009 ; 11 : 339-44.
14. Wagman LD, Lee B, Castillo E, El-Bayar H, Lai L. Liver resection using a four-prong radiofrequency transection device. *Am Surg* 2009 ; 75 : 991-4.
15. Kleinert R, Wahba R, Bangard C, Prenzel K, Hölscher AH, Stippel D. Radiomorphology of the Habib sealer-induced resection plane during long-time followup: a longitudinal single center experience after 64 radiofrequency-assisted liver resections. *HPB Surg* 2010 ; 2010 : 403097.
16. Akyildiz HY, Morris-Stiff G, Aucejo F, Fung J, Berber E. Techniques of radiofrequency-assisted pre-coagulation in laparoscopic liver resection. *Surg Endosc* 2011 ; 25 : 1143-7.
17. Gurusamy KS, Pamecha V, Sharma D, Davidson BR. Techniques for liver parenchymal transection in liver resection. *Cochrane Database Syst Rev* 2009 ; (1) : CD006880.
18. Breedis C, Young G. The blood supply of neoplasms in the liver. *Am J Pathol* 1954 ; 30 : 969-77.
19. Camma C, Schepis F, Orlando A, Albanese M, Shahied L, et al. Transarterial chemoembolization for unresectable hepatocellular carcinoma: meta-analysis of randomized controlled trials. *Radiology* 2002 ; 224 : 47-54.
20. Khorsandi S, Kysela P, Valek V, Olufemi O, Lázár I, et al. Initial data on a novel endovascular radiofrequency catheter when used for arterial occlusion in liver cancer. *European Surgery* 2009 ; 41 : 104-8.
21. Khorsandi S, Zacharoulis D, Vavra P, Navarra G, Kysela P, Habib N. The modern use of radiofrequency energy in surgery, endoscopy and interventional radiology. *European Surgery* 2008 ; 40 : 204-10.
22. Lau W, Leung JWC, Li AKC. Management of hepatocellular carcinoma presenting as obstructive jaundice. *Am J Surg* 1990 ; 160 : 280-2.
23. Loew BJ, Howell DA, Sanders MK, Desilets DJ, Kortan PP, et al. Comparative performance of uncoated, self-expanding metal biliary stents of different designs in 2 diameters: final results of an international multicenter, randomized, controlled trial. *Gastrointest Endosc* 2009 ; 70 : 445-53.
24. Steel AW, Postgate AJ, Khorsandi S, Nicholls J, Jiao L, et al. Endoscopically applied radiofrequency ablation appears to be safe in the treatment of malignant biliary obstruction. *Gastrointest Endosc* 2011 ; 73 : 149-53.
25. Alison MR, Poulosom R, Jeffery R, Dhillon AP, Quaglia A, et al. Hepatocytes from non-hepatic adult stem cells. *Nature* 2000 ; 406 : 257.
26. Preston SL, Alison MR, Forbes SJ, Direkze NC, Poulosom R, Wright NA. The new stem cell biology: something for everyone. *Mol Pathol* 2003 ; 56 : 86-96.
27. Theise ND, Nimmakayalu M, Gardner R, Illei PB, Morgan G, et al. Liver from bone marrow in humans. *Hepatology* 2000 ; 32 : 11-6.
28. Gordon MY, Levi ar N, Pai M, Bachellier P, Dimarakis I, et al. Characterization and Clinical Application of Human CD34+ Stem/Progenitor Cell Populations Mobilized into the Blood by Granulocyte Colony-Stimulating Factor. *Stem Cells* 2006 ; 24 : 1822-30.
29. Levicar N, Pai M, Habib NA, Tait P, Jiao LR, et al. Long-term clinical results of autologous infusion of mobilized adult bone marrow derived CD34+ cells in patients with chronic liver disease. *Cell Prolif* 2008 ; 41 Suppl 1 : 115-25.
30. Pai M, Zacharoulis D, Milicevic MN, Helmy S, Jiao LR, et al. Autologous infusion of expanded mobilized adult bone marrow-derived CD34+ cells into patients with alcoholic liver cirrhosis. *Am J Gastroenterol* 2008 ; 103 : 1952-8.
31. am Esch I. Portal application of autologous CD133+ bone marrow cells to the liver: a novel concept to support hepatic regeneration. *Stem Cells* 2005 ; 23 : 463-70.