

UNIVERZITA KARLOVA

3. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

HABILITAČNÍ PRÁCE

NÁZEV : TRANSPLANTACE INZULÍN PRODUKUJÍCÍ TKÁŇ: HLAVNÍ PRINCIPY A PROBLEMATIKA MTOR INHIBITORŮ

AUTOR: MUDr. Peter Girman, Ph.D.

Pracoviště: Klinika diabetologie IKEM

| | |
|---|----|
| Obsah..... | 2 |
| Seznam zkratek..... | 3 |
| Seznam tabulek | 4 |
| Seznam obrázků | 5 |
| Předmluva | 6 |
| Transplantace inzulín produkující tkáně v léčbě diabetu mellitu 1. typu | 7 |
| Výběr pacienta k transplantaci inzulín produkující tkáně | 8 |
| Transplantace pankreatu..... | 11 |
| Imunosupresivní léčba a mTOR inhibitory po transplantaci pankreatu..... | 16 |
| Výsledky využití sirolimu u pacientů po transplantaci pankreatu..... | 18 |
| Transplantace ostrůvků..... | 26 |
| Výsledky programu transplantace ostrůvků v IKEM | 27 |
| Diskuze | 32 |
| Reference | 36 |
| Přílohy..... | 44 |

SEZNAM ZKRATEK

ATG - antitymocyární globulin

CITR - Collaborative Islet Transplant Registry

CNI - kalcineurinový inhibitor

FKBP - FK binding protein

IPTR - International Pancreas Transplantation Registry

MMF - mykofenolát mofetil

mTORi - mammalian target of rapamycin inhibitor

oGTT - orální glukózový toleranční test

OPTN - Organ Procurement and Transplantation Network

PAK - transplantace pankreatu po transplantaci ledviny

PTA - izolovaná transplantace pankreatu

SPK - kombinovaná transplantace pankreatu a ledviny

UNOS - United Network of Organ Sharing

Tabulka č. 1. *Vybrané komplikace a porovnání mezi skupinami.*

Tabulka č. 2. *Rejekční epizody pankreatu a ledviny rozdělené podle histologické obtížnosti (gradingu)*

Tabulka č. 3. *Výskyt maligních onemocnění v jednotlivých skupinách za 5 let od transplantace.*

Tabulka č. 4. *Kritéria pro hodnocení funkce transplantovaných ostrůvků definované pracovní skupinou v Igls 2017.*

Obrázek č. 1. Schéma rozhodovacího algoritmu k transplantační léčbě u pacientů s diabetem mellitem 1. typu.

Obrázek č. 2. Hodnocení přežívání pacientů po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny podle jednotlivých období.

Obrázek č. 3. Kumulativní přežívání pacientů, štěpů slinivky a ledvin po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny, n=348, 2011-2016.

Obrázek č. 4. Přežívání po izolované transplantaci slinivky.

Obrázek č. 5. Přežívání štěpů slinivky v kategorii izolovaná tx pankreatu podle období.

Obrázek č. 6. Mechanismus účinku imunosupresivních léčiv.

Obrázek č. 7. Schéma studie.

Obrázek č. 8. Přežívání pacientů ve studii.

Obrázek č. 9. Necenzorované přežívání štěpů slinivky.

Obrázek č. 10. Necenzorované přežívání štěpů ledvin.

Obrázek č. 11. Vyhodnocení výsledků transplantací ostrůvků podle kritérií pracovní skupiny z Igls 2017.

Obrázek č. 12 Nepřímé porovnání výsledků izolované transplantace pankreatu a ostrůvků.

PŘEDMLUVA

Předkládaná habilitační práce je souhrnem publikovaných výsledků dosažených v období 2002-2018 v oblasti transplantací inzulín produkující tkáně na Klinice diabetologie IKEM. V úvodu jsou vysvětleny hlavní principy transplantační léčby a poté jsou uvedeny originální výsledky publikované v recenzovaných odborných periodikách.

Transplantace slinivky je v dnešní době standardním způsobem léčby u pacientů s diabetem mellitem 1. typu s přesně definovanými indikačními kritérii jak pro dárce, tak pro příjemce slinivky. Výsledky přežití pacientů i štěpů slinivky jsou porovnatelné s jakýmkoliv předním pracovištěm ve světě a v počtu transplantací slinivky na milion obyvatel patří Česká republika dlouhodobě mezi státy s nejvyšším počtem výkonů na počet obyvatel. Imunosupresivní protokoly se u pacientů s transplantovanou slinivkou stále vyvíjejí tak, aby byly účinné v prevenci odhojení štěpů a současně bezpečné s nízkým rizikem nežádoucích efektů. V poslední době se věnuje velká pozornost skupině léků blokujících proteázu mTOR. V této práci jsou uvedeny hlavní výsledky zatím nejrozsáhlejší randomizované studie s použitím sirolimu (mTOR inhibitoru) u pacientů po kombinované transplantaci pankreatu.

Transplantace ostrůvků byla zavedena do klinické praxe v České republice v roce 2005 a od té doby bylo provedeno víc než 100 implantací. V druhé části práce jsou prezentovány výsledky implantací ostrůvků u pacientů s poruchou vnímání hypoglykémie, jako alternativní metody k orgánové transplantaci. Tato metoda si vzhledem ke své bezpečnosti nachází místo zejména u starších příjemců nebo u jedinců s větším počtem rizikových faktorů, kteří by nebyli schopni podstoupit rozsáhlý operační zákrok.

Pacienti s diabetem mellitem 1. typu jsou standardně léčeni intenzifikovaným inzulínovým režimem. Podstatou léčby je aplikace prandiálních dávek inzulínu k jídlu s obsahem sacharidů a bazálních dávek inzulínu v době lačnění. Tento postup má za cíl co nejvíce se přiblížit k fyziologické sekreci inzulínu u zdravých lidí tak, aby glykémie byly po co nejdelší dobu ve fyziologickém rozmezí. I přesto, že se v léčbě využívá celá řada technických pomůcek, normoglykémii dosahuje pouze malé procento pacientů.

Navození normoglykémie je hlavním faktorem, který brání nebo zpomaluje vznik jak mikro tak makrovaskulárních diabetických komplikací (1) (2) (3) (4). V dnešní době jediným postupem, kterým lze normalizovat glykémie je transplantace inzulín produkující tkáně. Existují dvě metody náhrady funkce beta buněk. První je orgánová transplantace slinivky, druhou je transplantace samotných Langerhansových ostrůvků. V obou případech se jedná o přenos orgánu nebo tkáně od geneticky nepříbuzného jedince, tudíž organizmus příjemce má přirozenou tendenci odmítnouto transplantovanou tkáň či orgán. Odhojení orgánů či tkáně brání imunosupresiva, léky, které samostatně či v kombinaci blokují imunitní systém příjemce a chrání štěp před odhojením. Jejich užívání je však spojeno s celou řadou nežádoucích účinků, a proto je důležité vybírat k transplantaci pacienty tak, aby benefit z transplantace převýšil riziko nežádoucích účinků imunosupresiv.

Transplantace pankreatu je břišní operace prováděná zkušeným operátorem. V IKEM se technika orgánové transplantace postupně vyvíjela od prvních operací s drenáží na močový měchýř, přes originální extraperitonální uložení slinivky s enterální drenáží pankreatického sekretu až po dnešní modifikaci techniky zavedené v centru v Pise. Při tomto způsobu chirurg vkládá štěp pankreatu do břišní dutiny za kolon ascendens. Pankreas se transplantuje společně s duodenem, technika transplantace zjednodušeně zahrnuje provedení duodenoenteroanastomózy, žilní a arteriální anastomózy (5) (6) (7). Velký operační výkon trvá od 4-8 hodin, pacient po výkonu vyžaduje monitoraci vitálních funkcí po dobu 24 h a následnou asi jednodenní hospitalizaci. V případě úspěšné operace je příjemce od prvního dne normoglykemický a nevyžaduje exogenní inzulín.

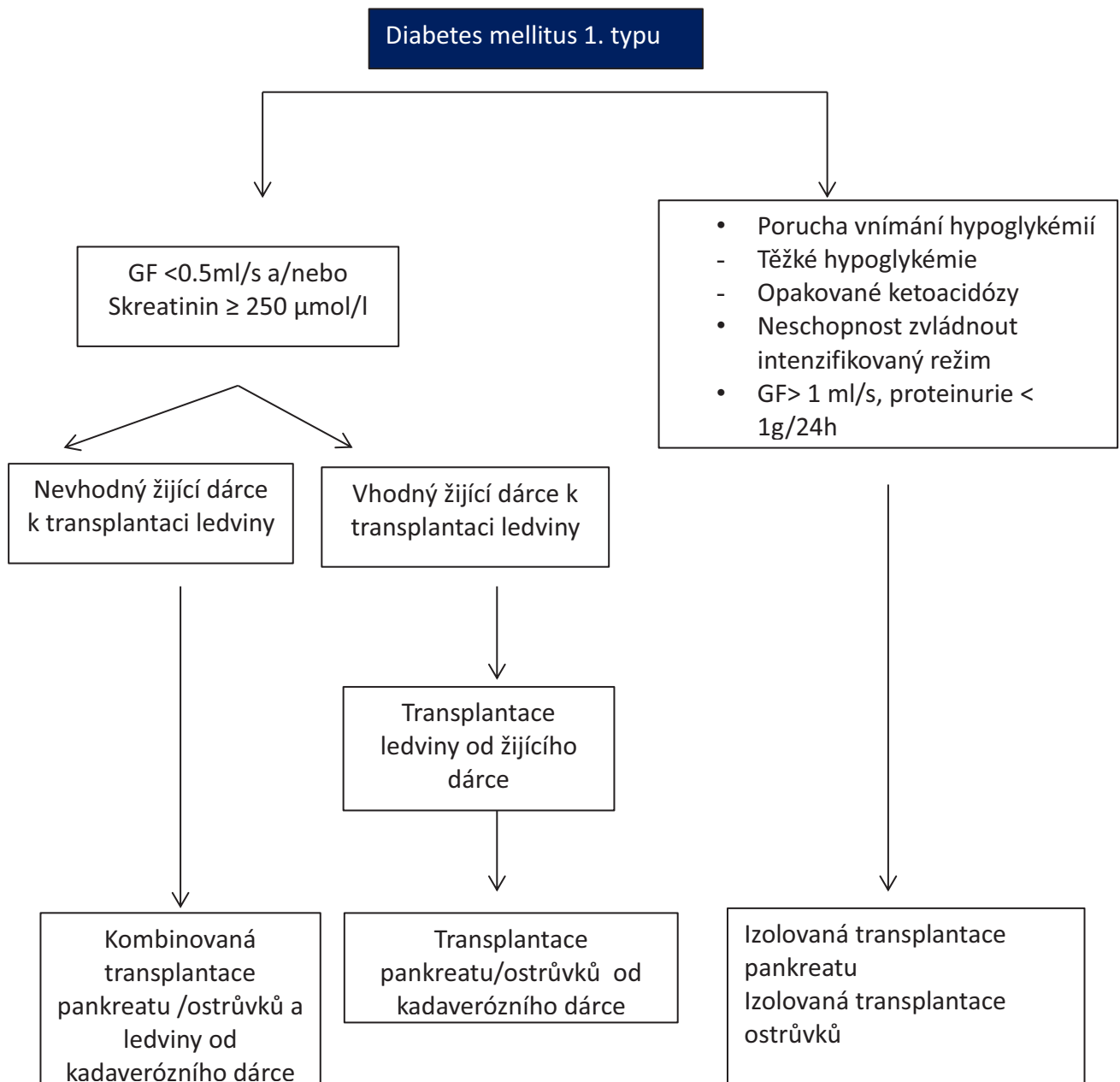
Transplantace Langerhansových ostrůvků je výkon, který začíná laboratorním postupem, při kterém se ostrůvky získají ze slinivky. Nejdřív se slinivka natráví kolagenázou tak, aby došlo k uvolnění ostrůvků z exokrinní tkáně. Ze slinivky po digesti zůstane suspenze o objemu cca 30-50 ml, která obsahuje jak uvolněné ostrůvky, tak exokrinní tkáň. V dalším kroku se ostrůvky oddělí od ostatní tkáně pomocí centrifugace v hmotnostním gradientu na základě rozdílné hustoty. Očištěné ostrůvky se spočítají a uloží do infuzního vaku. Samotná implantace probíhá na radiologickém sále a provádí ji v lokální anestezii radiolog. Ten zavede z 11. mezižebního prostoru do portální žíly katétr, který

pak diabetolog napojí na infuzní vak. Samotná implantace představuje infuzi ostrůvků, které se usazují v periferních větvích portálního řečiště. Po implantaci pacient vyžaduje monitoraci vitálních funkcí po dobu cca 9 h, poté může vstát a další rehabilitace probíhá na standardním lůžku. Průměrná hospitalizace je kratší než 7 dní. Funkce ostrůvků se obnovuje řádově do 4 týdnů od implantace. Je to doba, během které dochází k náhradě ostrůvkových kapilár poškozených izolací. Většina pacientů dosáhne významného zlepšení kompenzace diabetu, dochází ke snížení dávek inzulínu a vymizení lability diabetu. Pouze 15-40 % pacientů se stane nezávislými na exogenním inzulínu (8).

VÝBĚR PACIENTA K TRANSPLANTACI INZULÍN PRODUKUJÍCÍ TKÁŇ

Indikační algoritmus je zobrazen na obrázku č. 1. Transplantace pankreatu se provádí nejčastěji v kombinaci s transplantací ledviny. K této léčbě jsou indikováni pacienti s diabetem mellitem 1. typu, kteří dospěli do renálního selhání v důsledku diabetické nefropatie (9). Při výběru vhodného kandidáta se primárně posuzuje typ diabetu a stupeň renální insuficience (**Příloha č.11**). Pankreas se transplantuje především pacientům s diabetem mellitem 1. typu. Typ diabetu se ověřuje anamnestickými údaji a koncentrací c-peptidu za bazálních a stimulovaných podmínek. Hodnota c-peptidu se považuje za pomocné vyšetření v případě neurčeného typu diabetu. U většiny pacientů bývá nulová i po stimulaci glukózou v oGTT testu. U malé skupiny pacientů s diagnózou diabetu mellitu 1. typu léčených hemodialýzou nacházíme detekovatelné koncentrace c-peptidu v plazmě, nicméně po stimulaci se tyto hodnoty nemění a tito pacienti jsou akceptováni k transplantaci. Ve výjimečných případech můžeme indikovat k transplantaci i pacienty s jiným typem diabetu. Druhým hlavním kritériem, které určuje indikaci k transplantaci, je stupeň renální insuficience. K posouzení pokročilosti ledvinného selhání používáme sérovou koncentraci kreatininu a glomerulární filtraci. Jako kritérium ke kombinované transplantaci je určena sérová koncentrace kreatininu vyšší než 250 $\mu\text{mol/l}$ a hodnota GF (vypočtená pomocí MDRD) nižší než 0,5 ml/s. Oba parametry mají své limity a poslední dobou se spíše používá parametr glomerulární filtrace. V případě hraničních hodnot se filtrační schopnost ledviny vyšetřuje pomocí inulinové klírens nebo scintigrafickým vyšetřením. Do čekací listiny se snažíme zařadit pacienty ještě v předdialyzačním stadiu. Přibližně 25 % kombinovaných transplantací je provedeno ve stadiu, kdy příjemci nevyžadují dialyzační léčbu.

Obrázek č. 1. Schéma rozhodovacího algoritmu k transplantační léčbě u pacientů s diabetem mellitem 1. typu. Zkratky T1DM – diabetes mellitus 1. typu, ZH-závažné hypoglykémie, Tx-transplantace, eGFR – odhadovaná glomerulární filtrace



Méně častým typem transplantace je transplantace izolovaného pankreatu. Indikací k tomuto postupu je labilní diabetes mellitus 1. typu komplikovaný častými nepoznanými hypoglykémiami. Opodstatněním této léčby je stav, kdy pacient není schopen kontrolovat diabetes, jeho glykemický profil je chaotický a hladina cukru kolísá mezi hypoglykémiami a hyperglykémiami i několikrát za den. Při indikaci se setkáváme se dvěma typy pacientů. V prvním případě jsou to diabetici, kteří si nejsou schopni ani přes opakované edukace korigovat vlastní diabetes a při hodnocení glykemických profilů a dávek inzulínu dělají chyby a často nelogické kroky. Druhým typem pacientů jsou diabetici, kteří jsou schopni selfmonitoringu a správně odhadují dávky inzulínu, nicméně i přesto je variabilita jejich glykémii široká a vzestup nebo pokles hladiny cukru je těžko předvídatelný. U obou typů zjišťujeme poruchy kontraregulační odpovědi ve smyslu chybějící nebo opožděné sekrece glukagonu, adrenalinu a kortizolu na hypoglykémii (10) (11). Klinickým projevem lability jsou pak opakované těžké hypoglykémie, které vedou ke kvalitativní (ve smyslu poruchy chování) nebo kvantitativní (bezvědomí) poruše vědomí a vyžadují pomoc druhé osoby. V těchto případech benefit z transplantace pankreatu, která normalizuje glykémie, převažuje nad riziky spojenými s podáváním imunosuprese a tito pacienti z transplantační léčby profitují (12). Protože imunosupresivní léky jsou potencionálně nefrotoxické, podmínkou k transplantaci je filtrace vyšší než 1 ml/s a proteinurie menší než 1 g/24 h.

Transplantaci ostrůvků lze nabízet jak samotnou, tak v kombinaci s transplantací ledviny. Hlavní indikační kritéria jsou stejná jako u transplantace pankreatu. Protože je transplantace ostrůvků technicky jednodušší léčba s menším rizikem komplikace, lze k této léčbě indikovat i pacienty, kteří jsou starší než 60 let nebo mají závažnější postižení kardiovaskulárního systému.

Podstatou transplantace pankreatu je náhrada chybějící tkáně produkující inzulín. Z tohoto pohledu je tento postup logicky vhodný pro pacienty s diabetem mellitem 1. typu (13). Nicméně z transplantace pankreatu mohou profitovat i pacienti s jiným typem diabetu (14) (15) (16). V našem souboru máme několik pacientů s MODY diabetem, kteří dospěli do stadia renální insuficience a podstoupili kombinovanou transplantaci pankreatu a ledviny (17). Do úvahy by také připadali pacienti s pankreatogenním diabetem, chybějící sekrecí inzulínu a pokročilou renální insuficiencí. Diskutovanou otázkou je, zda se k transplantaci pankreatu mají indikovat pacienti s diabetem mellitem 2. typu (18). V registrech transplantací pankreatu najdeme příjemce tzv. c-peptid pozitivní, s mírnou nadváhou, kteří by mohli splňovat kritéria pro diabetes mellitus 2. typu (19). Mimo to některá centra vybírají k transplantaci slinivky přímo pacienty s diagnózou diabetu 2. typu. Data z registrů transplantací slinivek ukazují, že pacienti po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny přežívají stejně dlouho, nezávisle na tom, jestli mají typ 1 nebo typ 2 diabetu. Podle těchto dat pacienti s diabetem mellitem 2. typu žijí významně déle, pokud dostanou oba orgány (slinivku

s ledvinou) než ti, kteří dostanou jenom ledvinu. Zdálo by se, že transplantace slinivky představuje podstatný benefit i pro pacienty s DM 2. typu. Detailnější analýza těchto dat však prokázala, že faktory ovlivňující přežívání pacientů jsou věk příjemce, věk dárce, přítomnost preformovaných protilátek v séru příjemce a opožděná funkce štěpu ledviny. Navození normoglykémie transplantací slinivky tedy nemělo podstatný vliv na délku života. (20) Tato data byla omezena na 5leté sledování. Proto jsou kritéria pro transplantaci slinivky u pacientů s diabetem mellitem 2. typu přísná a jsou vyhrazena pro ty, kteří mají:

- léčbu inzulinem v intenzifikovaném režimu a koncentrace c-peptidu ≤ 2 ng/ml nebo
- léčbu inzulinem v intenzifikovaném režimu, koncentrace c-peptidu ≥ 2 ng/ml a BMI ≤ 28

TRANSPLANTACE PANKREATU

Do roku 2014 bylo v mezinárodním registru transplantací pankreatu evidováno více než 48 000 výkonů z celého světa, z toho 28 000 provedených v USA a přibližně 18 000 mimo Spojené státy. Každý rok podstoupí transplantaci slinivky více než 1500 příjemců z celého světa. Počty transplantací slinivky dosáhly vrcholu v roce 2014 a od té době stabilně klesají (21) (22).

Kombinovaná transplantace pankreatu a ledviny (SPK) tvoří přibližně 80 % všech transplantací slinivky (23). V 8 % se slinivka transplantuje pacientům, kteří mají již funkční štěp ledviny a jejichž diabetes není dostatečně kompenzován. Transplantace slinivky tak chrání štěp ledviny před poškozením hyperglykemií. Transplantované štěpy ledviny pocházejí v těchto případech nejčastěji od žijících (příbuzných či nepříbuzných) dárců, v 25 % se jedná o kadaverózní štěpy.

Přežívání příjemců je ve všech kategoriích excelentní. V období 2010-2014 bylo naživu v 6 měsících po transplantaci více než 98 % pacientů. V prvním a pátém roce po transplantaci je přežití pacientů 96 a 80 %. Hlavní příčinou úmrtí příjemců zůstávají kardiovaskulární komplikace, zahrnující i cerebrovaskulární příhody. Jsou odpovědné za třetinu všech úmrtí. Přibližně 25 % pacientů umírá v důsledku infekce. Malignity tvoří 4 % celkové mortality, počet krvácení je o málo vyšší, přibližně 6 %. Mortalita z kardiovaskulárních a infekčních příčin se dlouhodobě nemění a její podíl je stejný i po analýze úmrtí v časném období (do 3 měsíců po transplantaci). Stav transplantovaného orgánu má největší vliv na přežití pacientů. Ve skupině příjemců po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny zvyšuje selhání funkce štěpu ledviny relativní riziko úmrtí 18krát, selhání štěpu pankreatu 3krát. Pacienti po izolované transplantaci pankreatu mají v případě selhání štěpu relativní riziko úmrtí 5krát vyšší než pacienti s funkčním štěpem. Obecně i v tomto případě platí, že starší pacienti po transplantaci mají horší dlouhodobé přežívání než mladší příjemci, přičemž za mladé příjemce se považuje věková kategorie 20-45 let. Při porovnání se stejnou věkovou kategorií pacientů bez

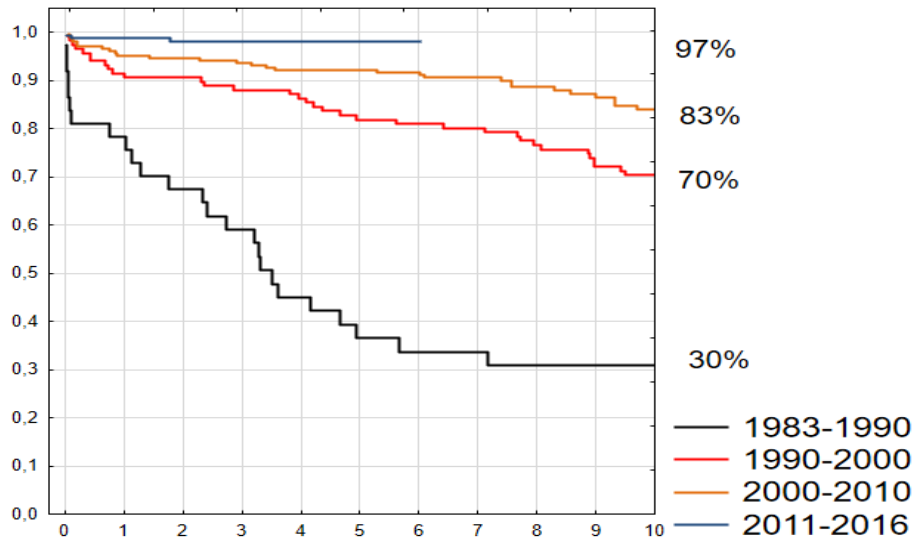
transplantace je přežívání mladších pacientů po kombinované transplantaci významně lepší než bez ní.

Za dodržení definice selhání štěpu dle UNOS/OPTN je roční a 3leté přežití štěpů pankreatu v kategorii SPK 89 a 82 % (24). Přežití štěpů ledvin ve stejné kategorii je 95 a 88 %. Ve skupině PTA přežívá v roce a po 3 letech 84 a 75 % štěpů. Nejhorší přežívání štěpů slinivky je dokumentováno ve skupině PTA. Po roce je funkčních přibližně 80 % štěpů, po 3 letech 65 %. Čtyři procenta všech štěpů jsou primárně nefunkční. Nejčastějším důvodem selhání štěpu slinivky napříč kategoriemi jsou technické komplikace. Druhou nejčastější příčinou ve skupině SPK je úmrtí s funkčním štěpem. Technické příčiny selhání pankreatu jsou častější u izolovaných transplantací než u transplantace kombinované a vyskytují se obvykle do 3 měsíců po transplantaci. Frekvence imunologických příčin ztráty štěpů se v posledním období nemění. Akutní rejekce odpovídá za 15-20 % všech ztrát štěpů, chronická rejekce zapříčiní 25-40 % všech ztrát štěpů (25). Imunologické ztráty štěpů jsou významně častější ve skupině PTA. Z technických příčin se nejčastěji vyskytuje trombóza štěpu ve všech kategoriích (4-7 % ze všech ztrát štěpů).

Od roku 1983 evidujeme více než 600 transplantovaných slinivky. Ročně je v IKEM odtransplantováno 30-38 pacientů (26).

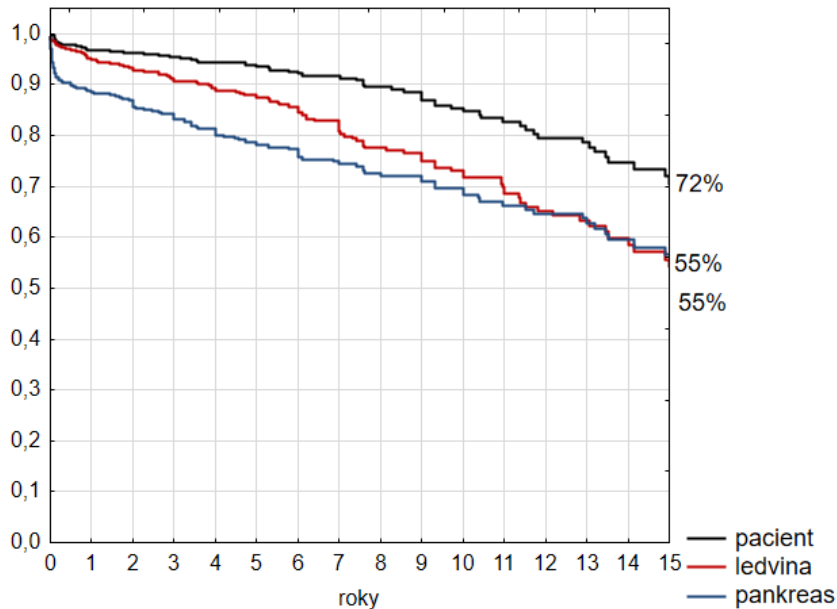
Průměrný věk našich příjemců je 44 let, před transplantací trvá jejich diabetes průměrně 28 let. Přibližně 5 % pacientů je v době transplantace nevidomých, převážná většina ostatních má pokročilou formou retinopatie. U 30-40 % příjemců se podaří transplantovat pankreas a ledvinu preemptivně, v době kdy ještě nejsou závislí na dialýze. Štěpy slinivky pocházejí z mladších dárců, přísně se dodržuje krátký časový odstup mezi odběrem a transplantací. Průměrná doba studené ischemie slinivky je 8 hodin, u ledviny je průměrná doba studené ischemie 10 hodin. Dárci a příjemci se nevybírají podle imunologické shody, proto 70 % transplantovaných pacientů má více než 4 neshody v HLA antigenech s dárce. Zkracuje se doba první hospitalizace, a to z průměrných 25 dní v roce 2011 na 17 dní v roce 2016. Po první hospitalizaci 97 % pacientů odchází domů s funkčním štěpem slinivky. Transplantace slinivky je zatížena největším počtem chirurgických komplikací v porovnání s jinými typy orgánových transplantací. 20 % pacientů potřebuje další operaci, ale toto číslo se v průběhu posledních 10 let dál zlepšuje. Přežívání pacientů se postupně se změnou operační techniky a přísnějším výběrem dárců a příjemců také výrazně zlepšilo. Při pohledu na jednotlivá časová období vidíme, že 10leté přežití příjemců v 80. letech bylo 30 % (n=37). V současné době při hodnocení období 2011-2016 je 5leté přežití pacientů přibližně 97 % (obr.č.3).

Obrázek.č. 2. Hodnocení přežívání pacientů po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny podle jednotlivých období. Odhadované přežívání pomocí Kaplan Meierové se postupně zlepšuje. V období od 2011-2016 97% pacientů žije déle než 5 let.



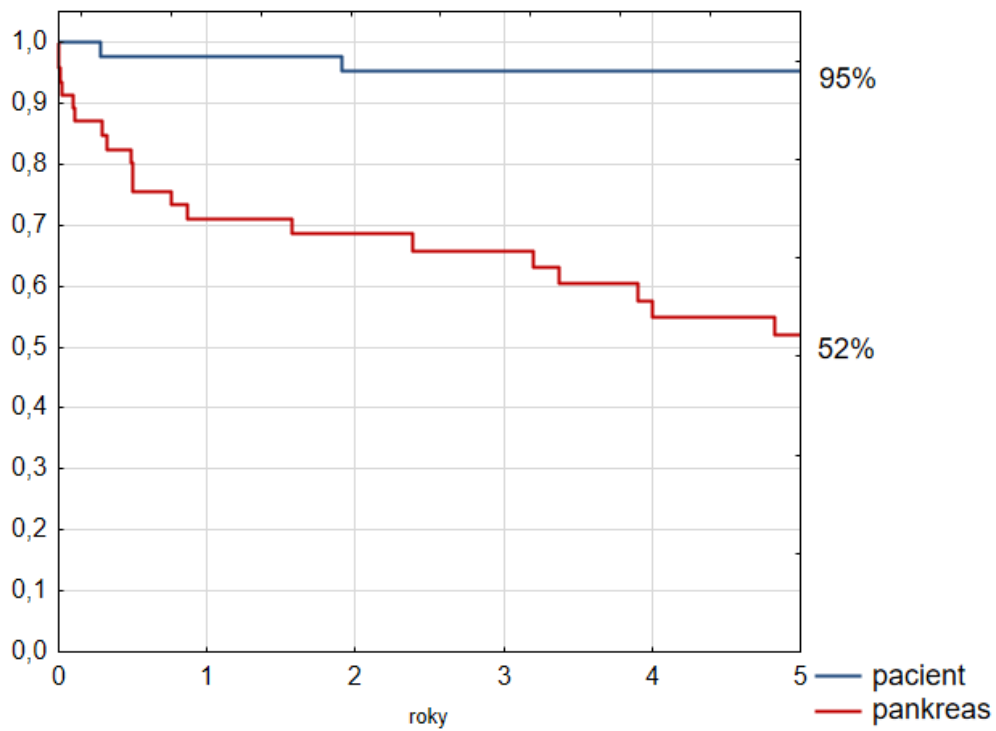
Dnes již máme k dispozici i dlouhodobá data o přežívání pacientů a štěpů. V letech 2011-2017 v souvislosti s transplantací zemřeli dva pacienti (2/228, 0,8%) na plicní embolii a na krvácení. Roční, 5-, 10- a 15leté přežívání pacientů v období 2011-2016 (n=348) je 96, 93, 85 a 73 %. Přežívání štěpů slinivky ve stejném souboru je 86, 77, 67 a 67 %. Přežívání štěpů ledvin je 92, 87, 75 a 54% (obr. č. 3).

Obrázek.č. 3. Kumulativní přežívání pacientů, štěpů slinivky a ledvin po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny, n=348, 2011-2016. Selhání štěpu ledviny je definováno jako úmrtí pacienta, návrat k dialýze, retransplantace ledviny nebo odstranění štěpu. Selhání štěpu slinivky je definováno jako úmrtí pacienta, návrat k dlouhodobé léčbě inzulinem, odstranění štěpu nebo retransplantace štěpu slinivky.

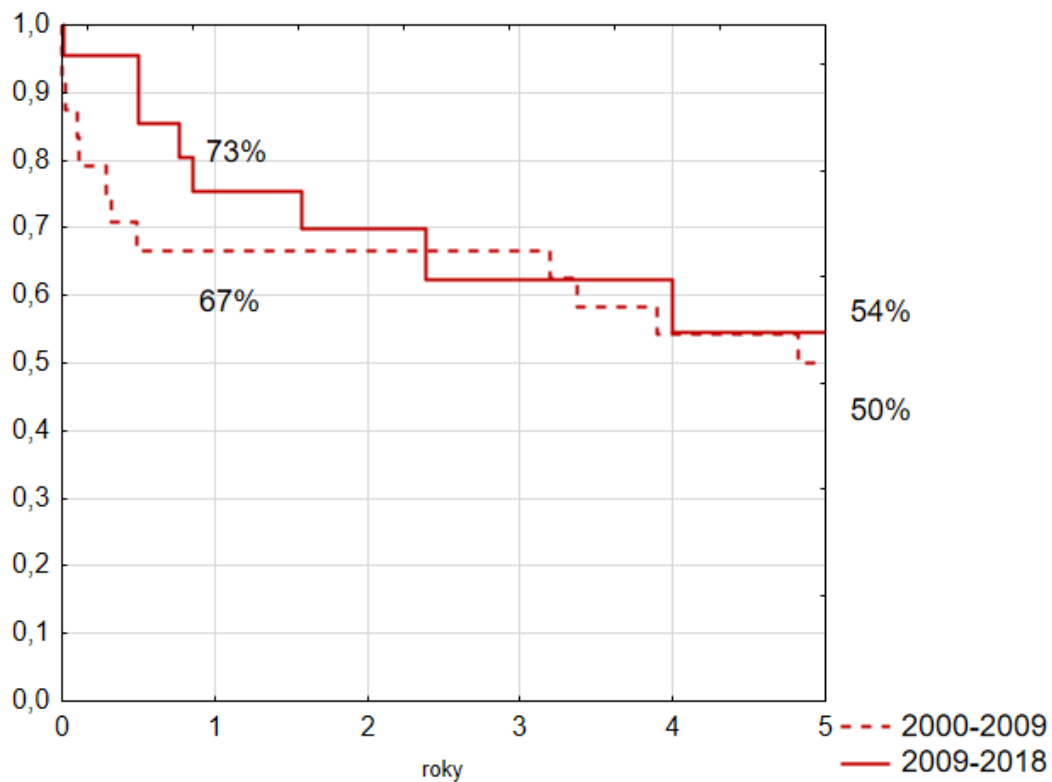


Přežívání pacientů v kategorii samotné transplantace slinivky je více než 96 % v 5 letech. V souladu s ostatními výsledky ve světě je i u nás přežívání štěpů slinivky v této kategorii výrazně horší, po 5 letech má pouze 50 % příjemců funkční štěp (8).

Obrázek č. 4. Přežívání po izolované transplantaci slinivky. Odhadované 5leté přežití pacientů po izolované transplantaci pankreatu je 95 %. Polovina pacientů má po 5 letech funkční štěp slinivky.



Obrázek č. 5. Přežívání štěpů slinivky v kategorii izolovaná tx pankreatu podle období. Statisticky není rozdíl v 5letém přežívání štěpů mezi obdobími.



Uvedené výsledky ukazují, že transplantace slinivky je v IKEM bezpečná léčba s přesnou indikací a vynikajícím krátkodobým i dlouhodobým přežíváním pacientů.

IMUNOSUPRESIVNÍ LÉČBA A MTOR INHIBITORY PO TRANSPLANTACI PANKREATU

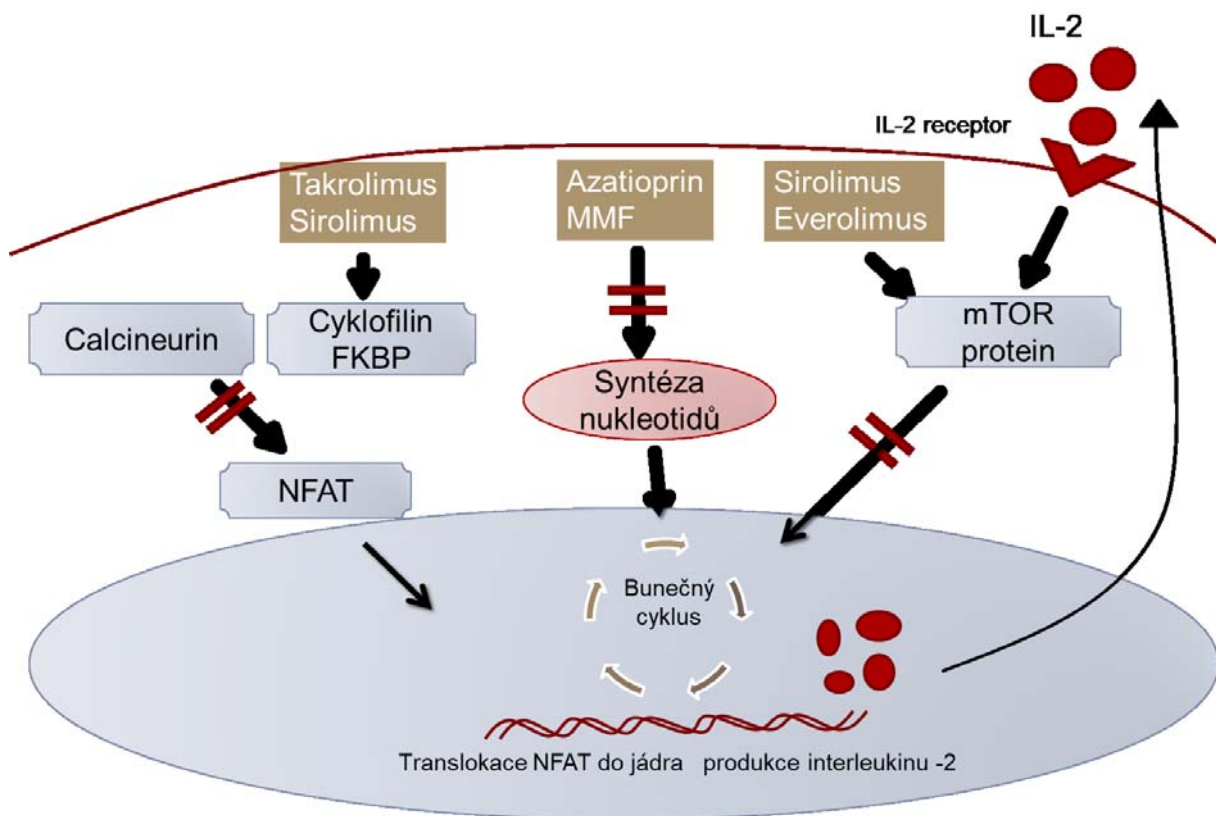
Imunosupresivní léky představují rychle se rozvíjející heterogenní skupinu látek, s různým mechanismem účinku. Jejich efekt je namířen proti T a B lymfocytům jako hlavním nositelům allogenní imunity. Můžeme je dělit podle několika kritérií, v praxi se většinou používá dělení na imunosupresi indukční, udržovací a antirejekční. Indukční imunosuprese zahrnuje podání mono- či polyklonální protilátky proti lymfocytům (27), (28) (29). Typická udržovací imunosuprese zahrnuje v naprosté většině případů kalcineurinový inhibitor, mykofenolát mofetil/mTOR inhibitor a malou dávku kortikoidů (30). Základem antirejekční léčby je pulzní podávání vysokých dávek metylprednisolonu, v případě rezistence se kortikoidy nahrazují obvykle polyklonální protilátkou proti lymfocytům. Kombinace jednotlivých léků včetně dávkování, délky terapie a udržovacích koncentrací léčiv v krvi pak definují imunosupresivní protokol. Podle dostupných dat z mezinárodních registrů přibližně 80 % pacientů po transplantaci slinivky užívá dlouhodobě kombinaci takrolimus s mykofenolát mofetilem. Sirolimus je součástí udržovací imunosuprese pouze u 5 % pacientů po kombinované transplantaci pankreatu, ale až u 15 % příjemců izolované slinivky. Kortikoidy se používají v léčbě u 70-80 % příjemců po transplantaci slinivky samotné či v kombinaci s ledvinou. V indukční léčbě převažuje terapie deplečními polyklonálními protilátkami, které se použijí až u 80 % příjemců. Pouze 8 % pacientů po kombinované transplantaci nedostane žádnou indukční léčbu (23).

mTOR inhibitory byly zavedeny do imunosupresivních protokolů počátkem tohoto tisíciletí. Původní očekávání, že nahradí kalcineurinové inhibitory, se nenaplnily, nicméně nové práce ukazují jejich zajímavé vlastnosti a možnosti uplatnění v určitých specifických indikacích. Prvním lékem, který byl v této skupině připraven, byl sirolimus, druhým everolimus.

Sirolimus (makrolidové fungicidní antibiotikum rapamycin) je přirozeným fermentačním produktem aktinomycety *Streptomyces hygroscopicus*, která byla objevena v půdních vzorcích na Velikonočním ostrově (Rapa Nui v jazyce Polynézanů). První experimenty byly zaměřeny na antimykotickou aktivitu tohoto léku a jeho imunosupresivní účinek byl objeven až v roce 1991 na zvířecích modelech. Molekula rapamycinu se po průniku přes buněčnou membránu váže na stejný imunofilin z rodiny FKBP (FK506 binding protein) jako takrolimus, a to na protein FKBP12. Od této chvíle se cesty, kterými oba léky působí, rozcházejí. Komplex takrolimus-FKBP12 se váže na kalcineurin a inhibicí této kinázy brání aktivaci transkripčních faktorů. Proto nedochází v T buňce k produkci cytokinů jako jsou např. interleukin 2, 4, 7, 12, 15, destičkový růstový faktor a interferon γ (31).

Komplex rapamycin-FKBP12 inhibicí kináz mTOR1 a mTOR2 (mammalian target of rapamycin) zabrání přechodu buňky z G1 do S fáze. Rapamycin tak účinkuje v pozdější fázi alloimunitní reakce než kalcineurinové inhibitory a blokuje až proliferaci lymfocytů, která je indukovaná interleukinem IL-2 (obr. č. 6, Příloha č.3).

Obrázek č. 6. Mechanismus účinku imunosupresivních léčiv včetně mTOR inhibitorů.



Inhibiční efekt rapamycinu na interleukinem indukovanou proliferaci buněk, odlišný od kalcineurinových inhibitorů, umožňuje navzájem kombinovat tyto léky s cílem snížit nefrotoxicí efekt kalcineurinových inhibitorů a současně nezvyšovat riziko akutních rejekcí (32).

Everolimus představuje druhý dostupný lék ze skupiny mTOR inhibitorů. Mechanismus účinku je stejný jako u sirolimu. Kratší biologický poločas v krvi vyžaduje podávání ve dvou denních dávkách. Spektrum nežádoucích účinků se však u everolimu může lišit (33) (34). Oba léky blokují jak mTORC1 tak mTORC2 proteiny. Imunosupresivní účinek je zprostředkován přes mTORC1, zatímco většina nežádoucích účinků je zprostředkována inhibicí mTORC2 proteinu (35). Některé experimentální práce na hlodavcích ukazují, že inhibice mTORC2 everolimem je větší, zejména v endoteliálních buňkách (36).

Vliv mTOR inhibitorů na přežívání transplantovaných ostrůvků či slinivek není nijak rozsáhle zkoumán (37). Většina informací pochází z klinických studií provedených u pacientů po transplantaci ledvin (38). Zdá se, že sirolimus i everolimus, pokud jsou užívány v nízkých dávkách, představují bezpečný způsob léčby (39). U pacientů po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny byly provedeny zatím dvě větší klinické studie, které shodně prokázaly bezpečnost kombinace sirolimus a takrolimus. Ciancio a kol. zjistili, že tato kombinace prodlužuje dobu do vzniku rejekce štěpu slinivky (40). Data z evropské studie EUROSPK 02 potvrdila, že kombinace sirolimu s takrolimem vede ke stejnému přežití pacientů i štěpů slinivek jako standardní kombinace mykofenolát mofetilu s takrolimem (41).

U pacientů po transplantaci Langerhansových ostrůvků se součástí imunosupresivních protokolů stal sirolimus v roce 2001, tj. v době publikování nejlepších výsledků dosažených v Edmontonu. Vzhledem k malému počtu prováděných transplantací ostrůvků, mTOR inhibitory nebyly nikdy testovány v randomizovaných studiích a zkušenosti z jejich užívání pocházejí jenom z retrospektivního hodnocení.

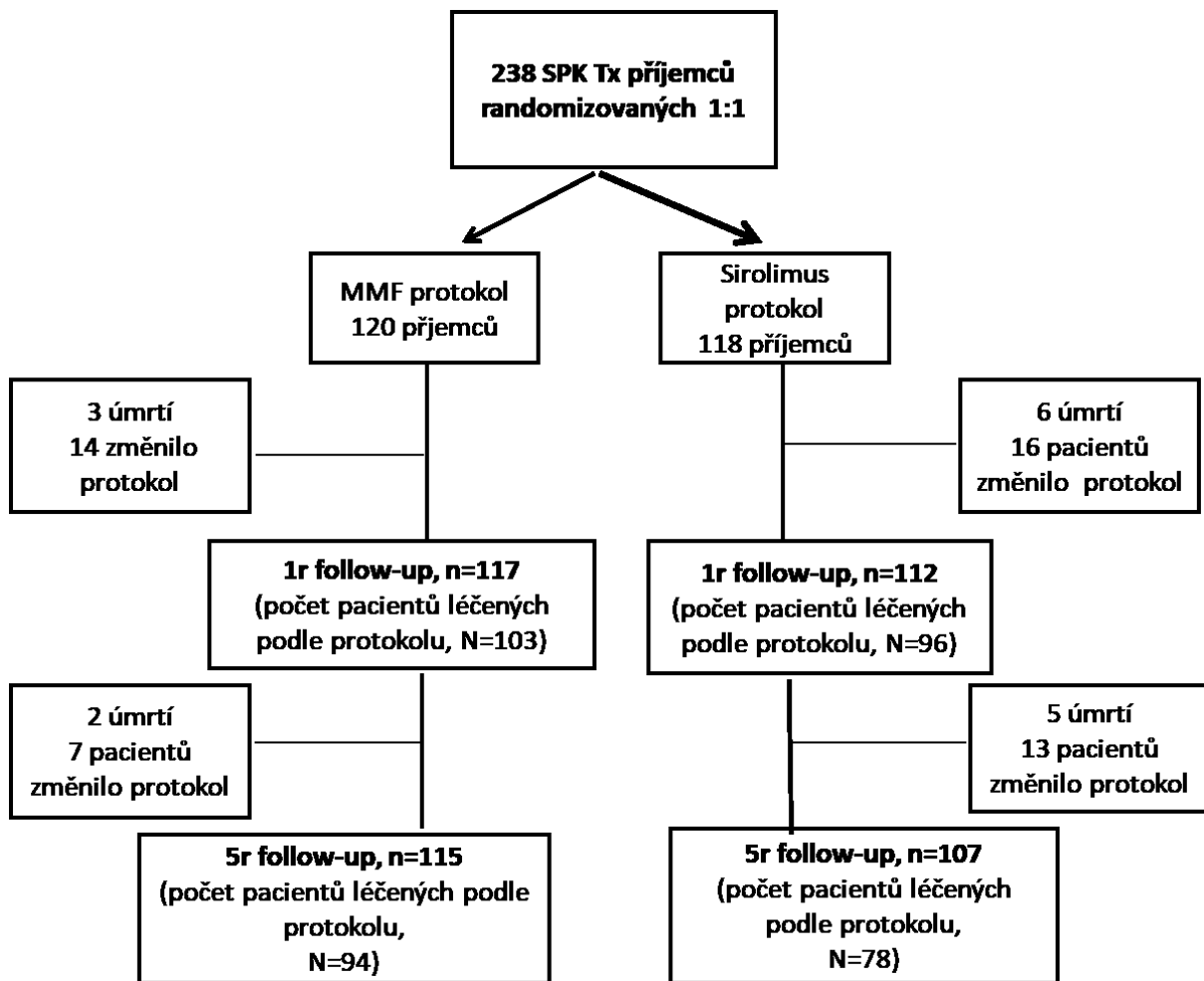
V této práci jsou prezentovány publikované i nepublikované výsledky zaměřené na využití sirolimu u pacientů jak po transplantaci pankreatu, tak po transplantaci Langerhansových ostrůvků.

VÝSLEDKY VYUŽITÍ SIROLIMU U PACIENTŮ PO TRANSPLANTACI PANKREATU

Cílem randomizované klinické studie bylo porovnat vliv dvou imunosupresivních protokolů na přežívání pacientů, štěpů slinivek a štěpů ledviny u příjemců po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny (**Příloha č. 1 a 2**). Do studie byli zařazeni pacienti s diabetem mellitem 1. typu v pokročilé fázi chronické renální insuficience definované jako sérová koncentrace kreatininu vyšší než 250 $\mu\text{mol/l}$ a/nebo glomerulární filtrace menší než 0,5ml/s. Vylučovacími kritérii byly diabetes mellitus 2. typu, přítomnost malignity, gravidita, pokročilá forma kardiálního selhání či selhání jater, neschopnost spolupráce či dekompenzované psychiatrické onemocnění. Příjemci byli randomizováni do dvou ramen. Ve skupině Siro se imunosupresivní protokol skládal z kombinace sirolimus s takrolimem, ve skupině MMF byli pacienti léčeni kombinací mykofenolát mofetilu s takrolimem. Dávky sirolimu byly upraveny tak, aby se cílové údolní hladiny v periferní krvi udržely mezi 5-10 ng/ml. Mykofenolát mofetil byl užíván v dávce 2 g. Cílové údolní hladiny takrolimu byly definované rozmezím 5-10 ng/ml. Všichni pacienti podstoupili indukční léčbu pomocí antithymocytárního globulinu (ATG – králičí polyklonální protilátka proti thymocytům). Součástí protokolů byly také kortikoidy a to se snahou ukončit jejich podávání do 6 týdnů od transplantace. Primárním cílem studie bylo porovnat přežívání pacientů, necenzorované přežívání štěpů pankreatů a štěpů slinivek.

V období 2002-2013 bylo do studie zařazeno celkem 238 příjemců, 120 ve skupině MMF a 118 ve skupině Siro. Randomizační schéma je znázorněno na obrázku č.7.

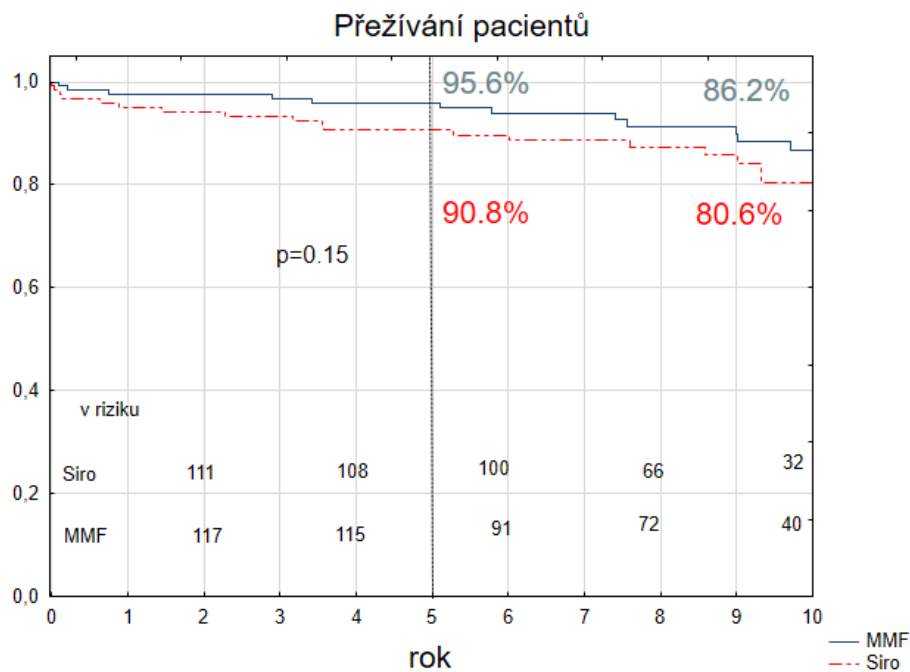
Obrázek č. 7. Schéma studie



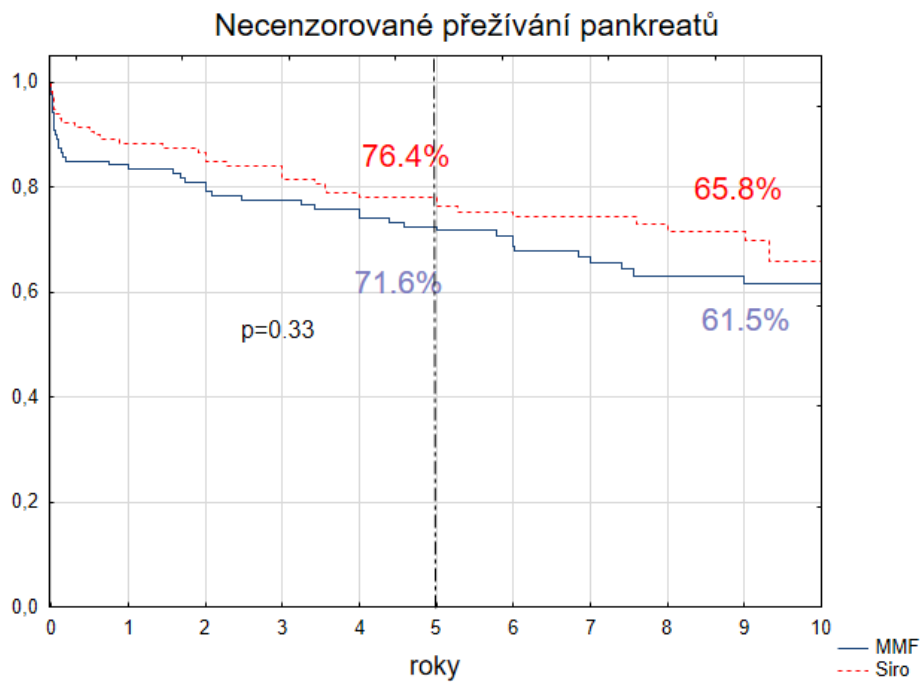
Selhání štěpu slinivky bylo definováno jako úmrtí pacienta s funkčním štěpem, explantace štěpu, návrat k dlouhodobé léčbě inzulinem v intenzifikovaném režimu nebo zařazení na čekací listinu k retransplantaci slinivky. Po 5 letech nebyl rozdíl v přežívání pacientů mezi skupinami, 96 % ve skupině MMF (95 % CI 88 – 100) % a 91 % ve skupině Siro (95 % CI 85 – 96) obr. č. 8. Ve skupině pacientů léčených sirolimem bylo zaznamenáno statisticky nesignifikantně víc úmrtí, převážně na

sepsi. Necenzorované přežívání štěpů slinivky bylo také bez rozdílu mezi skupinami 76,4 (95 % CI 69 – 84) % a 71,6 (95 % CI 4 – 80) % pro skupiny Sirolimus a MMF ($p>0,05$) (obr. č. 9). Statisticky významný rozdíl byl v cenzorovaném přežívání štěpů slinivky.

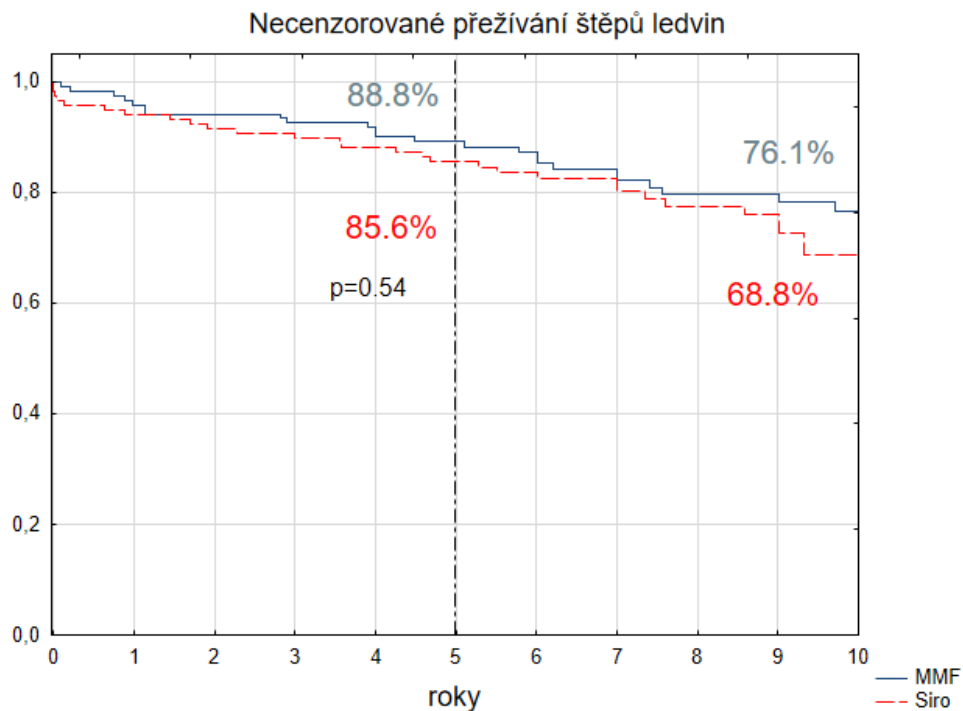
Obrázek č. 8. Přežívání pacientů ve studii. Po 5 letech nebyl nalezen statisticky významný rozdíl v odhadovaném přežívání pacientů mezi skupinami Siro a MMF



Obrázek č. 9. Necenzorované přežívání štěpů slinivky. Po 5 letech nebyl nalezen rozdíl v necenzorovaném přežívání štěpů pankreatů mezi skupinami.



Obrázek č. 10. Necenzorované přežívání štěpů ledvin. Ve studii nebyl nalezen statistický rozdíl mezi skupinami v necenzorovaném přežívání ledvin.



Pokud se úmrtí příjemce s funkčním štěpem nehodnotilo jako ztráta štěpu, přežívání štěpů pankreatů bylo lepší u pacientů léčených sirolimem (78,4 vs 67,8%, $p=0,034$). Ve skupině pacientů léčených MMF došlo v průběhu 5 let k selhání 30 štěpů slinivky. Hlavní příčinou byla rejekce nebo rejekce spojená s trombózou. Nenašli jsme statisticky významný rozdíl v přežívání štěpů ledvin mezi skupinami (obr. č. 10).

Imunosupresivní protokol byl změněn u 47 příjemců v průběhu studie (27 ve skupině Siro a 20 ve skupině MMF). Nejčastějším důvodem změny v imunosupresivní léčbě ve skupině MMF byla leukopenie, maligní onemocnění a gastrointestinální intolerance léku. Hlavní příčinou změny léčby ve skupině léčené sirolimem byla infekce. Údolní hladiny takrolimu se podařilo udržet v obou skupinách stejně a to v rozmezí 5-10 ng/ml. Průměrná koncentrace takrolimu byla statisticky významně vyšší pouze ve druhém roce ve skupině léčené MMF (9.5 ± 2.9 vs 8.3 ± 2.5 , $p=0,007$). Tento rozdíl však nepovažujeme za klinicky významný, obě hodnoty byly v cílovém rozmezí podle definovaného imunosupresivního protokolu. Průměrné hladiny sirolimu se pohybovaly v rozmezí $6,0\pm 2,2$ ng/ml do $6,9\pm 0,8$ ng/ml. Průměrné koncentrace cholesterolu byly srovnatelné mezi skupinami, nicméně příjemci ve skupině Siro byly mnohem častěji léčeni hypolipidemiky (41 vs. 27, $p=0,03$). Po 6 měsících od transplantace významně víc pacientů vyžadovalo kortikoidy ve skupině MMF než ve skupině Siro (20 vs 9, $p<0,029$).

Hojení operačních ran u pacientů léčených mTOR inhibitory je obecně považováno za delší a komplikovanější. V naší studii jsme hodnotili dobu hojení ran od transplantace do data záznamu v dokumentaci o úplném zhojení rány. Průměrná doba hojení operační rány byla delší o 5 dní u pacientů ve skupině Siro, nicméně tento rozdíl nebyl statisticky významný (45 ± 40 and 40 ± 39 , $p=0,06$). Očekávaným zjištěním byl rozdíl v hojení rány v rámci odlišných operačních technik. Retrokolické uložení slinivky s enterální drenáží pankreatického sekretu a portální drenáží žilní krve vedlo k významnému zkrácení průměrné doby hojení v porovnání s extraperitoneálním uložením štěpu. Výběr imunosupresivního protokolu tento rozdíl nijak neovlivnil (tab. č. 1).

Tabulka č. 1. Vybrané komplikace a porovnání mezi skupinami.

*Skupina Sirolimus: $p=0,0001$, rozdíl v průměrné době hojení rány mezi extraperitoneálním a retrokolickým uložením štěpu

**Skupina MMF: $p=0,0001$, rozdíl v průměrné době hojení rány mezi extraperitoneálním a retrokolickým uložením štěpu

| | Skupina Sirolimus | Skupina MMF | p |
|---|-------------------|--------------|--------------|
| Krvácení z gastrointestinálního traktu | 0 | 7 | 0.007 |
| Počet pacientů vyžadujících re-laparotomii | 51 | 38 | 0.065 |
| Doba hojení operační rány (dny±SD) | 45±40 | 40±39 | 0.06 |
| <i>Extraperitoneální uložení štěpu pankreatu (dny±SD)</i> | 54±46* | 47±47** | 0.368 |
| <i>Retrokolické uložení štěpu pankreatu (dny±SD)</i> | 28±15 | 28±19 | 0.952 |
| Hernie v operační ráně | 21 | 9 | 0.019 |

Pacienti randomizovaní k léčbě sirolimem častěji vyžadovali reoperaci (51 vs 38, $p=0.065$) a měli vyšší výskyt hernií v operačních ranách (21 vs 9, $p=0.019$). Na druhou stranu, u pacientů léčených MMF bylo významně víc epizod krvácení do gastrointestinálního traktu (7 vs 0, $p=0,007$).

Dalším zajímavým výsledkem byl rozdíl ve výskytu rejekcí v obou skupinách. Rejekce byla diagnostikována na základě histologického vyšetření vzorku odebraného biopsií (42) (43). Indikací k biopsii štěpu slinivky byla sérová aktivita lipázy nebo amylázy nebo hyperglykémie. Indikací k biopsii ledviny bylo zvýšení sérové koncentrace kreatininu, které se nedalo vysvětlit jinak než rejekcí. Sérová aktivita lipázy představuje sice nespecifický, ale dostatečně citlivý parametr pro podezření na rejekci štěpu pankreatu (44). Celkový počet rejekcí slinivky byl vyšší ve skupině léčené MMF (12,5 % vs 7,6 % $p=0,28$), stejně jako počet rejekcí štěpů ledvin (21,6 % vs 13,5 %, $p=0,125$). Součet všech rejekcí obou štěpů byl významně nižší u pacientů užívajících sirolimus (21,1 % vs 24,1 %, $p=0,029$). Přesně polovina pacientů léčených MMF užívala dávku nižší než 2 g (60/120). Akutní rejekce byla diagnostikována u 18 příjemců z této podskupiny (18/60, 30 %). Nicméně akutní rejekce byly diagnostikovány i u 22 pacientů, kteří užívali plnou dávku MMF (tj. 2 g denně). Redukce dávky MMF tak významně nezvyšovala počet rejekcí, ale byla nálezem, který ukazuje na význam měření koncentrací mykofenolátu, tak jak to bylo ukázáno ve studii APOMYGRE (45) (46).

Tabulka č. 2. Rejekční epizody pankreatu a ledviny rozdělené podle histologické obtížnosti (gradingu)

| | Sirolimus, n=118 | MMF, n=120 | p |
|---|-----------------------------|--------------------|--------------|
| Celkový počet akutních rejekcí pankreatu | 9 (7.6 %) | 15 (12.5 %) | 0.282 |
| Grade I | 2 | 8 | 0.102 |
| Grade II | 2 | 2 | 0.626 |
| Grade III | 4 | 6 | 0.748 |
| Celkový počet akutních rejekcí ledviny | 16 (13.5 %) | 26 (21.6 %) | 0.125 |
| Hraniční změny | 6 | 7 | 0.799 |
| Grade I | 6 | 6 | 0.976 |
| Grade II | 3 | 10 | 0.083 |
| Grade III | 0 | 0 | ns |
| Akutní protilátkami zprostředkovaná rejekce | 1 | 3 | 0.634 |
| Všechny epizody rejekce obou orgánů | 25 (21.1 %) | 41 (34.1 %) | 0.029 |

Sirolimus je také lékem schváleným pro léčbu některých maligních onemocnění. V naší práci jsme sledovali jako sekundární cíl i výskyt malignit v obou skupinách. Tabulka č. 3.

Nezjistili jsme rozdíl ve výskytu malignit mezi skupinami (5 vs 7, p=ns). Výskyt malignit jsme hodnotili v retrospektivní práci u 360 pacientů po kombinované transplantaci pankreatu v období od 1985-2010 (Příloha č. 4). Maligní onemocnění bylo diagnostikováno u 25 (6,2 %) příjemců. Spinocelulární karcinom byl nejčastější typ nádoru diagnostikovaný u 7 pacientů. Průměrná doba do vzniku jakéhokoliv maligního onemocnění byla 6±3 roky. Pacienti s karcinomem byli statisticky významně starší než příjemci bez malignity (48±7 vs 40±9 let, p=0,039). Přežívání pacientů s karcinomem po 7 letech bylo významně horší v porovnání se zbytkem kohorty 35 % vs 78%, p=0,01). Podíl pacientů léčených sirolimem se mezi skupinami nelišil (3/25 vs 73/335, p=0,24). Nejvýznamnější prediktor vzniku maligního onemocnění byl věk příjemce. V době diagnózy bylo 12 pacientů převedených na léčbu sirolimem. Zbýlých 11 pacientů zůstalo na původní imunosupresi. Medián přežití se mezi skupinami významně nelišil (267 vs 376 dní). Výsledky byly podkladem pro publikaci uvedenou v Příloze č. 3.

Tabulka č. 3. Výskyt maligních onemocnění v jednotlivých skupinách za 5 let od transplantace.

| | Sirolimus | MMF | p |
|---|------------------|------------|--------------|
| Bazaliom | 1 | 1 | 0.485 |
| Spinocelulární karcinom | 1 | 2 | 0.988 |
| Adenokarcinom plic | 1 | 1 | 0.485 |
| Karcinom močového měchýře | 1 | 0 | 0.851 |
| Potransplantační lymfoproliferativní nemoc | 0 | 1 | 0.132 |
| Gliom | 1 | 0 | 0.851 |
| Chordom | 0 | 1 | 0.132 |
| Myelom | 0 | 1 | 0.132 |

Transplantace Langerhansových ostrůvků má za sebou krátkou, ale bohatou historii. Z původně klinické experimentální metody se stal standardní léčebný postup, jehož výsledky jsou dnes hodnoceny v prospektivních randomizovaných studiích. Za první klinickou transplantaci se považuje práce Najariana a spol. publikovaná v roce 1977 (47). Autoři provedli transplantaci ostrůvků 10 pacientům. Postup izolace ostrůvků se skládal z distenze slinivky pomocí instilace roztoku HBSS (Hanks balanced salt solution), nakrájení slinivky na 2-3mm části, inkubace v roztoku kolagenázy a následné purifikace v diskontinuálním gradientu z Ficcolu (48). Množství získaných ostrůvků bylo malé, odhadovalo se pomocí obsahu inzulínu na 5-15% z celkového počtu ostrůvků v dospělém pankreatu. V 5 případech se ostrůvky implantovaly do peritoneální dutiny, u jednoho příjemce do svalů a 4 pacientům byly ostrůvky infundovány do portální žíly. Výsledkem transplantace bylo pouze přechodné navození vyšší endogenní sekrece inzulínu. Ostrůvky poměrně rychle selhaly, nejspíš v důsledku rejekce. Metoda se však dál rozvíjela a hlavním cílem výzkumu se stalo hledání nejvhodnějšího způsobu izolace ostrůvků. V roce 1988 Camillo Ricordi publikoval poloautomatickou techniku izolace ostrůvků, kterou postupně začaly používat všechny izolační laboratoře včetně naší (49). Ve stejném roce Lake použil centrifugu COBE 2991 k vytvoření kontinuálního gradientu (50). Tento postup umožnil purifikaci velkého množství tkáně v relativně krátké době.

Změnu přinesly výsledky z centra v Edmontonu, kde Shapiro a spol. provedli transplantaci Langerhansových ostrůvků 7 příjemcům a do 6 měsíců u všech dosáhli nezávislosti na exogenním inzulínu (51).

Výsledky Edmontonské skupiny bylo nutné ověřit na větším počtu pacientů. Za podpory NIH byla uspořádána multicentrická prospektivní studie, která sledovala efekt „Edmontonského protokolu“ v 9 centrech s různým stupněm zkušeností s transplantacemi ostrůvků (52). Každé centrum mělo zařadit 4 pacienty, primárním endpointem bylo dosažení normoglykémie a současně nezávislosti na inzulínu v 1. roce od transplantace. Jednotliví pacienti podstupovali opakované implantace v co nejkratším období. Primární cíl dosáhlo pouze 44 % (16/36) pacientů. Výsledky ukázaly střízlivější pohled na transplantaci ostrůvků, i přesto to byl úspěch a počty jak transplantací, tak transplantáčnických center dál přibývaly (53) (54). Transplantace ostrůvků jsou dnes evidovány v mezinárodním registru CITR (Collaborative Islet Transplant Registry). Nejvíce transplantací bylo provedeno v roce 2011 (n=110), v roce 2014 jich bylo evidováno 35. Určitý klesající trend je dán především odlišnou úhradou tohoto výkonu. Zatímco v Evropě je v některých státech včetně České republiky transplantace ostrůvků hrazena ze zdravotního pojištění, v USA zatím úhrada ze systému zdravotního pojištění nebyla schválena. Podle poslední zprávy CITR z prosince 2015 bylo ve světě provedeno celkem 1927

implantací ostrůvků u 1011 příjemců. Z toho 1584 infuzí bylo podáno 854 pacientům v kategorii ITA (Islet Transplant Alone) a dalších 192 pacientů s funkčním štěpem ledviny podstoupilo následně 343 transplantací ostrůvků. Z dobře dokumentovaných případů v kategorii ITA (n=752) bylo 50,8 % nezávislých na exogenním inzulínu po roce od poslední implantace. Obdobné výsledky byly dosaženy v kategorii SIK (simultaneous islet and kidney transplantation, n=157), tj. u příjemců, kteří již mají funkční transplantovanou ledvinu. Po 12 měsících je polovina z nich nezávislých na inzulínu.

Navození normoglykémie bez potřeby aplikace exogenního inzulínu je nepochybně značným přínosem pro každého pacienta s diabetem mellitem 1. typu a přibližně 50% úspěšnost v dosahování tohoto cíle se může zdát nízká. Při posuzování úspěšnosti transplantace ostrůvků je však důležité pochopit, že rozhodujícím kritériem má být vymizení těžkých hypoglykemií (55). Epizody těžkých hypoglykemií zvyšují mortalitu pacientů s diabetem mellitem 1. typu až 3,5krát v porovnání se zdravou populací a odpovídají za 4-14% všech úmrtí u této skupiny pacientů. Z tohoto pohledu benefit z transplantace ostrůvků v podobě vymizení hypoglykemií převyšuje rizika, která jsou spojena s léčbou imunosupresivními léky (56) (57) (58).

VÝSLEDKY PROGRAMU TRANSPLANTACE OSTRŮVKŮ V IKEM

Transplantacemi ostrůvků v IKEM se začal zabývat již prof. Bartoš a dál tento program postupně rozvinul prof. Saudek a tým spolupracovníků z Laboratoře Langerhansových ostrůvků. První experimenty byly zaměřeny na navození imunologické tolerance vůči transplantované tkáni, a to pomocí ko-transplantace buněk z dárcovské kostní dřeně (59) (60). V dalších letech byl připraven jednoduchý program pro hodnocení celkového počtu ostrůvků rychlejším a efektivnějším způsobem. (61) Tento program byl odzkoušen na vzorcích potkaních i lidských ostrůvků a po zavedení do klinické praxe se používal následujících 20 let u všech klinických transplantací (**Příloha 9, 10**) (62). V roce 2005 byla v Laboratoři Langerhansových ostrůvků navržena a odzkoušena metoda zobrazení transplantovaných ostrůvků v játrech (63) (64). Ostrůvky označené paramagnetickou látkou se při vyšetření magnetickou rezonancí zobrazovaly jako tmavé skvrny jasně odlišitelné od jaterní tkáně. Jednoduchost metody a použití kontrastní látky schválené pro klinické účely, umožnily poprvé ve světě úspěšné zobrazení i lidských ostrůvků u pacientů po transplantaci. (65) Další rozvoj této metody byl bohužel limitován komerční nedostupností kontrastní látky. Paralelně s experimentálním programem se vyvíjel i program klinický. Vybudování laboratoře pro izolaci lidských ostrůvků a postupný trénink celého týmu vedl v roce 2005 k první úspěšné klinické transplantaci ostrůvků provedené v České republice. Transplantace ostrůvků se nejdříve prováděly izolovaně u pacientů s labilním typem diabetu, později i v kombinaci s transplantací ledviny či jater. V indikovaných

případech byla transplantace ostrůvků prováděna autologně, tj. u pacientů z vlastní slinivky, která byla resekována z benigních důvodů (66) (67).

V současnosti patří centrum v IKEM mezi nejaktivnější, co se týká počtu transplantací ostrůvků za rok v Evropě. Tento výkon je hrazen z prostředků veřejného zdravotního pojištění.

Transplantace ostrůvků se v IKEM provádí od roku 2005 jako léčebný výkon u pacientů s poruchou vnímání hypoglykemií (68) (8) (69). K izolaci ostrůvků se používají pankreaty kadaverózních dárců, které primárně nejsou vhodné k orgánové transplantaci (70). Základem imunosupresivního protokolu u allogenních transplantací je kombinace takrolimus a sirolimus. Cílové hladiny sirolimu jsou obvykle vyšší, mezi 8-12 ng/ml, cílové hladiny takrolimu se udržují mezi 4-8 ng/ml. Výsledky prezentované zde byly podkladem pro publikaci v Příloze č.5, 6, 7, 8.

Cílem bylo vyhodnotit výsledky transplantací ostrůvků provedených v období 2006-2017. Do hodnocení bylo zahrnuto celkem 30 neuremických pacientů, z nich 28 podstoupilo izolovanou transplantaci ostrůvků a 2 kombinovanou transplantaci ostrůvků a ledviny. Hlavní indikací k výkonu byla porucha vnímání hypoglykemií. Medián věku pacientů byl 48 (35-57) let, všichni měli neměřitelnou koncentraci c-peptidu, medián trvání diabetu byl 24 let (16-31) a hodnota mediánu BMI byla 23,8 (21-25). Jedenácti příjemcům byly ostrůvky implantovány 3krát, 8 pacientům 2krát a 6 pacientů absolvovalo pouze jednu transplantaci. Izolace ostrůvků probíhala podle modifikovaného Edmontonského protokolu. Ostrůvky byly počítány elektronicky (62)(61) (**Příloha č.9, 10**). Nejčistší frakce ostrůvků se implantovaly ve formě infuze do katétru zavedeného perkutánně do portální žíly. Celý výkon probíhal na radiologickém sále v lokální anestezii. Průměrný věk dárců byl 49 let, nejčastější příčinou úmrtí bylo intrakraniální krvácení, doba studené ischemie nebyla u žádného výkonu delší než 7,5 hodiny. Sledované parametry zahrnovaly glykovaný hemoglobin, denní dávku inzulinu, frekvenci těžkých hypoglykemií a hodnotu c-peptidu. Vyhodnocení probíhalo 1, 3, 6, 12 a 24 měsíců od transplantace. Zajímalo nás, kolik pacientů dosáhne kompozitní cíl definovaný jako

- koncentraci c-peptidu vyšší než 0,2 nmol/l
- snížení denní dávky inzulinu o víc než 30 %
- vymizení těžkých hypoglykemií
- dosažení hodnoty HbA1c 53 mmol/mol a méně

Dále naše výsledky byly hodnoceny podle klasifikace navržené pracovní skupinou v Igls v roce 2017. tabulka č. 4

Tabulka č. 4 Kritéria pro hodnocení funkce transplantovaných ostrůvků definované pracovní skupinou v IGLS 2017. Za optimální se považuje úplná nezávislost na exogenním inzulínu s dosažením vynikající kompenzace diabetu bez těžkých hypoglykemických epizod.

| Funkce | HbA1c (%/ mmol/mol) | Epizody těžkých hypoglykemií | Denní dávka inzulínu (U/kg/den) | C-peptid |
|---------------|-----------------------|------------------------------|---------------------------------|-----------|
| Optimální (1) | ≤ 6.5 / ≤ 48 mmol/mol | Žádná | 0 | > Bazální |
| Dobrá (2) | < 7.0 / < 53 mmol/mol | Žádná | < 50% Bazální | > Bazální |
| Hraniční (3) | ≥ 7.0 / ≥ 53 mmol/mol | < bazální | ≥ 50% Bazální | > Bazální |
| Selhání (4) | Bazální | Bazální | Bazální | Bazální |

Před transplantací měli všichni příjemci neuspokojivě kompenzovaný diabetes (medián HbA1c 73, 65-87 mmol/l), neměřitelnou hodnotu c-peptidu a střední dávka inzulínu byla 0,51 IU/kg (0,44-0,59). Frekvence těžkých hypoglykemií byla 6 epizod za rok u jednoho pacienta (min 4, max 8). V porovnání se stavem před transplantací transplantace ostrůvků významně zlepšila všechny sledované parametry. Střední hodnota HbA1c klesla na 52 (49-58, $p < 0,0001$), 45 (42-49, $p < 0,0001$) a 54 (4-53, $p < 0,0001$) mmol/mol v 1, 3 a 12 měsících po transplantaci. Střední hodnota lačné koncentrace c-peptidu se zvýšila na 0,24 (0,13-0,34, $p < 0,0001$), 0,22 (0,08-0,37, $p < 0,0001$) a 0,22 (0,05-0,042, $p < 0,0001$) nmol/l v 1, 3 a 12 měsících. Denní dávka inzulínu klesla na 0,3 (0,2-0,41, $p < 0,0001$), 0,29 (0,22-0,37, $p < 0,0001$) a 0,23 (0,13-0,41, $p < 0,0001$) IU/kg v 1, 3 a 12 měsících. Frekvence těžkých hypoglykemií klesla na 1 za rok a tento trend trval i v průběhu 2. roku po transplantaci. Rozdíl byl statisticky významný při porovnání se stavem před transplantací ($p = 0,029$). Nejčastější komplikací transplantace bylo krvácení, především v počátcích zavedení tohoto výkonu do klinické praxe. Tato komplikace se vyskytla u 33 % pacientů a v 18 % všech výkonů. Z ostatních komplikací 1 pacient vyvinul parciální trombózu větve portální žíly, u jednoho pacienta byla zaznamenána vazopresorická synkopa v souvislosti s transplantací a u 2 příjemců došlo k punkci žlučovýchodů, která se projevila vzestupem aktivity cholestatických enzymů. Od roku 2013 používáme v monitoraci pacientů i senzory pro kontinuální monitoring. Data z těchto senzorů ukazují, že 6 měsíců po transplantaci ostrůvků pacienti mají více než 68 % hodnot normoglykemických a pouze 1 % doby tvoří hodnoty hypoglykemické. Tyto rozdíly jsou statisticky významně lepší v porovnání se stavem před transplantací.

Kompozitní endpoint dosáhlo 17 pacientů (60 %) po 6 měsících a 14 pacientů (50 %) po roce od transplantace. Výsledky hodnocené podle kritérií definovaných v Igls v roce 2017 jsou zobrazeny na obrázku č. 11.

Výsledky transplantací ostrůvků provedených v našem centru lze nepřímo porovnat s výsledky izolované transplantace slinivky břišní (obr. č. 12). Z pohledu hlavní indikace (porucha vnímání hypoglykemií) oba výkony spolehlivě eliminují epizody hypoglykemií s bezvědomím. Přežívání pacientů v obou případech je porovnatelné. Výhodou transplantace pankreatu je, že po tomto výkonu pacienti nemusí užívat exogenní inzulín. (5) Plná funkce štěpu slinivky po letech je dokumentována jenom u přibližně 50%. Výhodou transplantace ostrůvků je minimální invazivní výkon, který probíhá v lokální anestezii s nízkým počtem závažných komplikací (71) (72) (54).

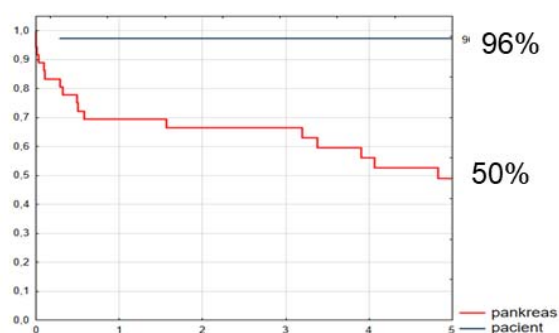
Obrázek č. 11. Vyhodnocení výsledků transplantací ostrůvků podle kritérií pracovní skupiny z IglS 2017.

| | 1-6 M | 6-12M | 12-24M | Rok 3 | Rok 4 | Rok 5 |
|----|-------|-------|--------|-------|-------|-------|
| 1 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 2 | 2 | 2 | 2 | | | |
| 3 | 3 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 4 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 5 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 6 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 7 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 8 | 2 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 |
| 9 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 10 | 4 | *** | | | | |
| 11 | 2 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 12 | 4 | *** | | | | |
| 13 | 2 | 2 | + | | | |
| 14 | 2 | 2 | 3 | 3 | 3 | 4 |
| 15 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 | 4 |
| 16 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 17 | 3 | 3 | 4 | 4 | | |
| 18 | 3 | 3 | 3 | | | |
| 19 | 2 | 2 | 2 | | | |
| 20 | 4 | 4 | 4 | 4 | | |
| 21 | 3 | 3 | | | | |
| 22 | 4 | 4 | 4 | | | |
| 23 | 2 | | | | | |
| 24 | 2 | | | | | |
| 25 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 26 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 27 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 | 2 |
| 28 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 | 3 |
| 29 | 2 | 2 | | | | |
| 30 | 2 | 2 | | | | |

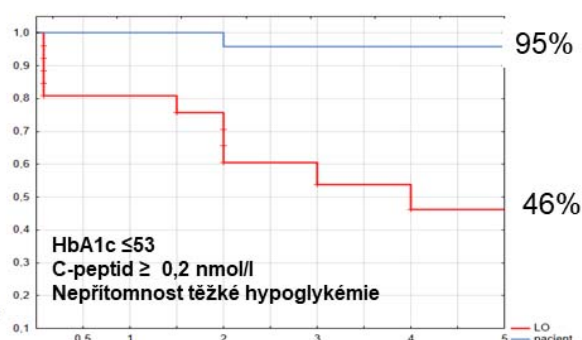
Obrázek č. 12 Nepřímé porovnání výsledků izolované transplantace pankreatu a ostrůvků. Transplantace ostrůvků je málo invazivní výkon s nízkým výskytem závažných komplikací, který spolehlivě eliminuje těžké hypoglykémie. Izolovaná transplantace pankreatu je náročný operační zákrok v celkové anestezii, který v případě úspěchu zbaví pacienta nejen hypoglykemií, ale i potřeby aplikovat si exogenní inzulin.

Transplantace pankreatu vs transplantace ostrůvků

Transplantace izolovaného pankreatu
N=37 2000-2015



Transplantace izolovaných ostrůvků
N=28 2005-2016



- Vymizení těžkých hypoglykemií
- Normoglykémie s nezávislostí na inzulinu
- 6 hodinový operační zákrok v celkové anestezii
- 14-20 denní hospitalizace

- Vymizení těžkých hypoglykemií
- Výrazné zlepšení kompenzace diabetu se snížením dávek inzulinu
- 1-hodinový výkon v lokální anestezii
- 5- denní hospitalizace

DISKUZE

Mechanismus účinku mTOR inhibitorů byl v posledních 20 letech detailně studován, a to zejména jejich vliv na intermediární metabolismus u pacientů po orgánových transplantacích. Nadšení pro jejich použití u příjemců po transplantaci inzulin produkující tkáně ovšem postupně vyprchalo ve světle nových poznatků o jejich negativním vlivu na inzulinovou rezistenci či možném diabetogenním efektu. (73) Nicméně přesvědčivých dat pocházejících z velkých randomizovaných studií je málo. Prospektivní randomizovaná studie provedená na Klinice diabetologie v IKEM zahrnovala 238 příjemců po kombinované transplantaci a je dosud nejrozsáhlejší prací publikovanou v tomto oboru. Naše výsledky prokázaly, že kombinace takrolimu se sirolimem je stejně účinná jako kombinace

takrolimu s mykofenolát mofetilem, co se týče přežívání pacientů i štěpů v 5letém sledování. Předběžná data z 10letého sledování také neprokazují významný rozdíl mezi skupinami. Pozoruhodné je, že vysokého přežití bylo dosaženo s imunosupresivním protokolem s časným vysazením kortikoidů. Cenzorované přežití štěpů pankreatů bylo významně lepší ve skupině léčené sirolimem, společně s významně nižším výskytem rejekcí. Lze říct, že z pohledu přežívání štěpů slinivky je kombinace takrolimu se sirolimem stejně efektivní jako léčba takrolimem s MMF. Přežívání pacientů bylo v obou skupinách stejné, v souladu s daty pocházejícími z Mezinárodního registru transplantací slinivky (IPTR). V porovnání s jinými autory tato práce randomizovala zatím největší počet pacientů po kombinované transplantaci slinivky a pankreatu.(40) Je nutno zmínit, že ve skupině léčené sirolimem bylo zaznamenáno víc úmrtí, specificky na sepsi. Navíc 2 pacienti zahynuli při dopravní nehodě. Renální funkce hodnocené pomocí sérové koncentrace kreatininu a MDRD byly lehce sniženy ve skupině léčené sirolimem v průběhu 5 let. Statisticky významný rozdíl byl zjištěn pouze ve 4. roce, nicméně tento trend nebyl klinicky významný. Přežití štěpu ledviny, cenzorované nebo necenzorované, zůstalo v obou skupinách stejné, bez statisticky významného rozdílu. První malou randomizovanou studii podobného charakteru s časným vysazením kortikoidů publikoval již Kaufman a spol. v roce 2002 (37). Výsledky této práce naznačily lepší přežití pacientů i štěpů slinivky s protokolem bez kortikoidů, i když tento rozdíl nedosáhl pro malý počet pacientů statistické významnosti. V našem protokolu byla léčba kortikoidy přerušena 6. týden po transplantaci, a to se zdařilo víc u pacientů léčených sirolimem. Časné vysazení kortikoidů nezpůsobilo vyšší výskyt rejekcí, tak jak publikovali jiní autoři, a možná zabránilo vzniku některých nežádoucích účinků, přičítaných původně sirolimu. Hladiny imunosuprese byly v průběhu studie stabilní, nebyl větší rozdíl mezi skupinami v údolních hladinách takrolimu.

Horší hojení ran je často prezentováno jak důsledek léčby mTOR inhibitory (74)(75). Zejména první klinické observační studie poukazovaly na vyšší výskyt reoperací, lymfokél či infekcí v operačních ranách (76) (77). Limitací těchto prací byl obvykle malý počet pacientů a vysoké dávky mTOR inhibitorů. V naší studii bylo hojení operační rány nevýznamně delší ve skupině léčené sirolimem, průměrně o 5 dní. Změna operační techniky transplantace vedla k výraznému zkrácení hojení ran, zdá se, že imunosuprese délku zhojení rány neovlivnila. V souladu s výsledky z jiných pracovišť jsme i my pozorovali významně vyšší výskyt lymfokél u pacientů užívajících sirolimus. Tato komplikace se objevila častěji po změně operační techniky s retrokolickým uložením slinivky. Lze říct, že výskyt komplikací spojených s operační ránou bude záviset od dávky mTOR inhibitorů a kombinace dalších imunosupresiv. (78)(79)(80) Podle očekávání více pacientů ve skupině Sirolimus vyžadovalo léčbu statiny.

Incidence maligních onemocnění po orgánových transplantacích je 2,4krát vyšší než ve zdravé populaci a tumory často charakterizuje agresivnější fenotyp (81) (82). Pro výskyt karcinomů v potransplantačním období je typických několik aspektů.

- Kožní karcinomy patří mezi malignity s nejvyšším výskytem (83) (84) (85).
- Z pohledu patofyziologie vzniků nádorů, tumory spojené s infekcí (nejčastěji virovou) mají také vysokou incidenci.
- Existuje určitá korelace mezi typem transplantace a typem nádoru. Například tumory jater se vyskytují nejčastěji u pacientů po transplantaci jater (86).
- Užívání azatioprinu a cyklosporinu může vést ke vzniku nádorů (87) (88).
- Kalcineurinové inhibitory jsou klasifikované jako karcinogenní podle Mezinárodní agentury pro výzkum nádorů

Práce, které prokázaly protinádorový efekt mTOR inhibitorů vzbudily zájem o použití těchto léků i v onkologii (89). Intenzivní výzkum pak vedl ke schválení mTOR inhibitorů při léčbě renálního adenokarcinomu, subependymálního astrocytomy, karcinomu prsu a neuroendokrinních tumorů slinivky (90) (91). Snížené riziko vzniku maligních onemocnění u pacientů po transplantaci ledviny užívajících mTORi bylo prokázáno v několika studiích (92) (45) (93) (80). Metaanalýza všech větších randomizovaných klinických studií se sledováním delším než 24 měsíců zahrnovala přibližně 5000 pacientů. Podle výsledků této práce mTOR inhibitory významně snížily riziko vzniku nádorů v porovnání s kalcineurinovými inhibitory a současně nezhoršily přežívání pacientů a štěpů ledviny. V naší práci se nám nepovedlo prokázat tento pozitivní vliv sirolimu, což bylo dáno nejspíš nízkým počtem pacientů s maligním onemocněním (94).

Transplantace ostrůvků je nutno vnímat z pohledu pracoviště, které současně provádí i transplantace pankreatu. K léčbě labilního typu diabetu se tak používají dvě metody, které si konkurují v kritériích pro dárce pankreatu. V klinické praxi se nejdříve uplatní kritéria pro orgánovou transplantaci a pak kritéria pro transplantaci ostrůvků. I přes to jsou výsledky transplantací ostrůvků slibné, zejména poté, co byla do praxe zavedena přísnější pravidla pro akceptaci orgánů (70) **(Příloha č.12)**. Kritéria pro hodnocení účinnosti transplantace ostrůvků se dosud vyvíjejí a téměř jistě nebudou stejná jako kritéria pro hodnocení přežívání celých slinivek. Do popředí se dostane komplexní zhodnocení stavu pacienta měřené podle několika parametrů, jako je počet těžkých hypoglykemií, denní dávka inzulínu či úroveň kompenzace diabetu. Tato kritéria se již pokusila navrhnout pracovní skupina EPITA v Igls 2017 a v příštích letech budeme očekávat, zda se začnou používat ve všech centrech. Výsledky transplantací ostrůvků se v IKEM v posledních dvou letech dál zlepšují. Nejčastější komplikací tohoto výkonu je krvácení z místa

vpichu do jater. Tuto komplikaci jsme prakticky eliminovali použitím mikrofibrilárního kolagenu k uzavření otvoru po vytažení transplantačního katétru. V posledních 4 letech jsme krvácení nezaznamenali ani u jednoho pacienta

Práce z Edmontonu určila hlavní trend v imunosupresivních protokolech pro transplantaci ostrůvků. Zahrnovala monoklonální protilátku proti receptoru pro interleukin 2 (daklizumab), kalcineurinový inhibitor (takrolimus) a mTOR inhibitor (sirolimus). Za klíčové se považovalo vynechání kortikoidů. Se zvyšováním počtu transplantací a získáváním širších zkušeností se vyvíjela postupně imunosupresivní léčba. Analýza dat z registru CTR prokazuje, že použití deplečních polyklonálních protilátek vede nejen k lepší dlouhodobé funkci, ale i k lepším výsledkům po jedné implantaci. K udržovací imunosupresi se postupně přidává i mykofenolát mofetil. Bellin a spol. sledovali vliv indukční imunosuprese u pacientů po transplantaci ostrůvků (95). Výsledky byly porovnány s přežíváním štěpů pankreatů z registru SRTR (Scientific Registry of Transplant Recipients, n=677). Sledovaný cíl, dosažení nezávislosti na exogenním inzulínu po 5 letech od transplantace splnilo 50 % příjemců ve skupině léčené ATG společně s anti TNA- α protilátkou 1 a 2, což bylo porovnatelné s výsledky izolovaných transplantací slinivky (52%). Všichni pacienti léčení ATG bez TNF- α inhibitoru a 80 % pacientů léčených anti IL-2R potřebovali na konci 5letého období inzulín. Indukční imunosuprese významně určovala nezávislost na inzulínu po 5 letech od transplantace. Jako vysoce účinná se jevila monoklonální humanizovaná protilátka proti CD11b – efalizumab. CD11 nebo LFA-1(Leukocyte Function Antigen-1) je molekula, která vazbou na ICAM-1 zprostředkuje diapedézu a adhezi lymfocytů. Léčba efalizumabem vedla ve studii Turgeona a spol. k nezávislosti na exogenním inzulínu u všech 4 příjemců po transplantaci a to už po první infuzi.(96) Ve druhé studii Posselta a spol. 90% příjemců léčených efaulimabem nepotřebovalo aplikaci inzulínu rok od transplantace (97). Efalizumab byl bohužel stažen z trhu pro vyšší výskyt progresivní multifokální leukoencefalopatie při dlouhodobé léčbě pacientů z jiné indikace než transplantace. Obdobné výsledky dosáhla stejná skupina u 5 pacientů léčených ATG a následně belataceptem. Dávkování belataceptu bylo tzv. „low dose“ podle studií u pacientů po transplantaci ledvin (98). Z uvedených prací je zjevné, že výběr indukční imunosuprese významně predikuje dlouhodobou úspěšnost transplantace ostrůvků.

U pacientů po transplantaci ostrůvků je v IKEM nadále používán sirolimus v základní kombinaci s takrolimem. Zatím nemáme důvod se domnívat, že tento lék má negativní vliv na funkci transplantovaných ostrůvků. Nejvhodnějším prostředkem k ověření tohoto faktu by jistě byla randomizovaná studie, která je ale vzhledem k malému počtu transplantací těžce realizovatelná v jednom centru.

Transplantace slinivky i ostrůvků jsou dnes již zavedenými metodami léčby indikovaných pacientů s diabetem mellitem 1. typu. Na základě našich zkušeností je vnímáme jako vzájemně se doplňující. Konečné rozhodnutí, kterou metodu nakonec u pacienta použijeme, závisí na posouzení celkového zdravotního stavu pacienta, přítomných komorbidit a vyvážení přínosu a rizika plynoucího z jednotlivých technik. Dostupnost obou metod zvyšuje počet pacientů, kteří mohou profitovat z transplantace inzulín produkující tkáně.

REFERENCE

1. Fioretto P, Mauer M. Reversal of diabetic nephropathy: Lessons from pancreas transplantation. *J Nephrol.* 2012;25(1):13–8.
2. Kožnarová R, Saudek F, Sosna T, Adamec M, Jedináková T, Bouček P, et al. Beneficial effect of pancreas and kidney transplantation on advanced diabetic retinopathy. *Cell Transplant.* 2000;9:903–8.
3. Giannarelli R, Coppelli A, Sartini MS, Del Chiaro M, Vistoli F, Rizzo G, et al. Pancreas transplant alone has beneficial effects on retinopathy in type 1 diabetic patients. *Diabetologia.* 2006;49(12):2977–82.
4. Rickels MR, Fuller C, Dalton-bakes C, Markmann E, Cullison K, Tiao J, et al. Restoration of Glucose Counterregulation by Islet Transplantation in Long- Standing Type 1 Diabetes. *Diabetes.* 2014;64(215):1–20.
5. Boggi U, Vistoli F, Amorese G, Giannarelli R, Coppelli A, Mariotti R, et al. Long-term (5 years) efficacy and safety of pancreas transplantation alone in type 1 diabetic patients. *Transplantation.* 2012;93(8):842–6.
6. Adamec M, Saudek F, Tošenovský P, Janoušek L. Combined kidney and pancreas transplantation: One institution's experience. *Transplant Proc.* 1998;30(2):427.
7. Adamec M, Janoušek L, Lipár K, Tošenovský P, Hampl F, Saudek F, et al. A prospective comparison of bladder versus enteric drainage in vascularized pancreas transplantation. *Transplant Proc.* 2004;36(5):1524–5.
8. Voglová B, Zahradnická M, Girman P, Kríž J, Berková Z, Koblas T, et al. Benefits of islet transplantation as an alternative to pancreas transplantation: Retrospective study of more than 10 ten years of experience in a single center. *Rev Diabet Stud.* 2017;14(1):10–21.
9. Girman P. Transplantace inzulín produkující tkáně. *Farmakoter Rev.* 2019;1:55–9.
10. Cryer PE. Mechanisms of Hypoglycemia-Associated Autonomic Failure in Diabetes. *N Engl J Med.* 2013;369(4):362–72.
11. Mudr P, Saudek F. Syndrom porušeného vnímání hypoglykemií a možnosti jeho léčby. *Remedia.*

- 2013;7–12.
12. Barton FB, Rickels MR, Alejandro R, Hering BJ, Wease S, Naziruddin B, et al. Improvement in outcomes of clinical islet transplantation: 1999-2010. *Diabetes Care*. 2012;35(7):1436–45.
 13. Morath C, Zeier M, Döhler B, Schmidt J, Nawroth PP, Schwenger V, et al. Transplantation of the type 1 diabetic patient: The long-term benefit of a functioning pancreas allograft. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5(3):549–52.
 14. Poitou C, Francois H, Bellanne-Chantelot C, Noel C, Jacquet A, Clauin S, et al. Maturity onset diabetes of the young: Clinical characteristics and outcome after kidney and pancreas transplantation in MODY3 and RCAD patients: A single center experience. *Transpl Int*. 2012;25(5):564–72.
 15. Gruessner RWG, Sutherland DER, Dunn DL, Najarian JS, Jie T, Hering BJ, et al. Transplant options for patients undergoing total pancreatectomy for chronic pancreatitis. *J Am Coll Surg*. 2004;198(4):559–67.
 16. Gruessner RWG, Sutherland DER, Drangstveit MB, Kandaswamy R, Gruessner AC. Pancreas Allotransplants in Patients with a Previous Total Pancreatectomy for Chronic Pancreatitis. *J Am Coll Surg*. 2008;206(3):458–65.
 17. Saudek F, Průhová Š, Bouček P, Lebl J, Adamec M, Ek J, et al. MATURITY-ONSET DIABETES OF THE YOUNG WITH END-STAGE NEPHROPATHY: A NEW INDICATION FOR SIMULTANEOUS PANCREAS AND KIDNEY TRANSPLANTATION? *Transplantation*. 2004;77(8):1298–301.
 18. Wiseman AC, Gralla J. Simultaneous Pancreas Kidney Transplant versus Other Kidney Transplant Options in Patients with Type 2 Diabetes. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(4):656–64.
 19. Gruessner AC, Laftavi MR, Pankewycz O, Gruessner RWG. Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantation—Is It a Treatment Option for Patients With Type 2 Diabetes Mellitus? An Analysis of the International Pancreas Transplant Registry. *Curr Diab Rep*. 2017;17(6):44.
 20. Sampaio MS, Kuo H-T, Bunnapradist S. Outcomes of simultaneous pancreas-kidney transplantation in type 2 diabetic recipients. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2011;6:1198–206.
 21. Dean PG, Kukla A, Stegall MD, Kudva YC. Pancreas transplantation. *Bmj*. 2017;357:1321.
 22. Gruessner AC. 2011 Update on pancreas transplantation: Comprehensive trend analysis of 25,000 cases followed up over the course of twenty-four years at the international pancreas Transplant Registry (IPTR). Vol. 8, Review of Diabetic Studies. 2011. p. 6–16.
 23. Gruessner AC, Gruessner RWG. Pancreas transplantation of US and Non-US cases from 2005 to 2014 as reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR). *Rev Diabet Stud*. 2016;13(1):35–58.
 24. OPTNR UNOS. No Title. <https://optn.transplant.hrsa.gov/members/committees/pancreas-committee/>. 2014;
 25. Redfield RR, Kaufman DB, Odorico JS. Diagnosis and Treatment of Pancreas Rejection. *Curr Transplant Reports*. 2015;2(2):169–75.
 26. Saudek F, Girman P, Lipár K, Bouček P, Kožnarová R, Kočík M. Pancreas transplantation: State of the art and future prospects. *Vnitr Lek*. 2015;61(7–8).
 27. Magliocca JF, Odorico JS, Pirsch JD, Becker YT, Knechtle SJ, Levenson GE, et al. A comparison of

- alemtuzumab with basiliximab induction in simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Am J Transplant*. 2008;8(8):1702–10.
28. Farney AC, Doares W, Rogers J, Singh R, Hartmann E, Hart L, et al. A randomized trial of alemtuzumab versus antithymocyte globulin induction in renal and pancreas transplantation. *Transplantation*. 2009;88(6):810–9.
 29. Kaufman DB, Leventhal JR, Gallon LG, Parker MA. Alemtuzumab induction and prednisone-free maintenance immunotherapy in simultaneous pancreas-kidney transplantation comparison with rabbit antithymocyte globulin induction - Long-term results. *Am J Transplant*. 2006;6(2):331–9.
 30. Saudek F, Malaise J, Bouček P, Adamec M. Efficacy and safety of tacrolimus compared with cyclosporin microemulsion in primary SPK transplantation: 3-year results of the Euro-SPK 001 trial. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;5(20 Suppl2):3–10.
 31. Girman P, Saudek F. Sirolimusum(rapamycin). *Remedia*. 2002;12:290–9.
 32. Viklický O. Současné možnosti léčby sirolimem. *Remedia*. 2009;19:102–5.
 33. Shing CM, Fassett RG, Brown L, Coombes JS. The effects of immunosuppressants on vascular function, systemic oxidative stress and inflammation in rats. *Transpl Int*. 2012;25(3):337–46.
 34. Vitiello D, Neagoe PE, Sirois MG, White M. Effect of everolimus on the immunomodulation of the human neutrophil inflammatory response and activation. *Cell Mol Immunol*. 2015;12(1):40–52.
 35. Klawitter J, Nashan B, Christians U. Everolimus and sirolimus in transplantation-related but different. *Expert Opin Drug Saf*. 2015;Jul 14(7):1055–70.
 36. Jin YP, Valenzuela NM, Ziegler ME, Rozengurt E, Reed EF. Everolimus inhibits anti-HLA i antibody-mediated endothelial cell signaling, migration and proliferation more potently than sirolimus. *Am J Transplant*. 2014;14(4):806–19.
 37. Kaufman DB, Leventhal JR, Koffron AJ, Gallon LG, Parker MA, Fryer JP, et al. A PROSPECTIVE STUDY OF RAPID CORTICOSTEROID ELIMINATION IN SIMULTANEOUS PANCREAS-KIDNEY TRANSPLANTATION. *Transplantation*. 2002;Jan 27;73(2):169–77.
 38. Ekberg H, Bernasconi C, Tedesco-Silva H, Vítko S, Hugo C, Demirbas A, et al. Calcineurin inhibitor minimization in the symphony study: Observational results 3 years after transplantation. *Am J Transplant*. 2009;9(8):1876–85.
 39. Schena FP, Pascoe MD, Alberu J, Del Carmen Rial M, Oberbauer R, Brennan DC, et al. Conversion from calcineurin inhibitors to sirolimus maintenance therapy in renal allograft recipients: 24-month efficacy and safety results from the CONVERT trial. *Transplantation*. 2009;87(2):233–42.
 40. Ciancio G, Sageshima J, Chen L, Gaynor JJ, Hanson L, Tueros L, et al. Advantage of rapamycin over mycophenolate mofetil when used with tacrolimus for simultaneous pancreas kidney transplants: Randomized, single-center trial at 10 years. *Am J Transplant*. 2012;12(12):3363–76.
 41. J.P.Squifflet for EuroSPK study group. Sirolimus versus Mycophenolate Mofetil in Tacrolimus based primary simultaneous pancreas and kidney (SPK) transplantation: results of the EuroSPK 002 randomized trial. *Rev Diabet Stud*. 2011;IPITA COng:73.

42. Drachenberg CB, Odorico J, Demetris AJ, Arend L, Bajema IM, Bruijn JA, et al. Banff schema for grading pancreas allograft rejection: Working proposal by a Multi-Disciplinary International Consensus Panel. *Am J Transplant*. 2008;8(6):1237–49.
43. Drachenberg CB, Torrealba JR, Nankivell BJ, Rangel EB, Bajema IM, Kim DU, et al. Guidelines for the diagnosis of antibody-mediated rejection in pancreas allografts—updated Banff grading schema. *Am J Transplant*. 2011;11(9):1792–802.
44. Papadimitriou JC, Drachenberg CB, Wiland A, Klassen DK, Fink J, Weir MR, et al. Histologic grading of acute allograft rejection in pancreas needle biopsy: Correlation to serum enzymes, glycemia, and response to immunosuppressive treatment. *Transplantation*. 1998;66(12):1741–5.
45. Le Meur Y, Büchler M, Thierry A, Caillard S, Villemain F, Lavaud S, et al. Individualized mycophenolate mofetil dosing based on drug exposure significantly improves patient outcomes after renal transplantation. *Am J Transplant*. 2007;7(11):2496–503.
46. Premaud A, Rousseau A, Le Meur Y, Venisse N, Loichot C., Turcant A., et al. Feasibility of, and critical paths for mycophenolate mofetil Bayesian dose adjustment: Pharmacological re-appraisal of a concentration-controlled versus fixed-dose trial in renal transplant recipients. *Pharmacol Res*. 2010;61(2):167–74.
47. Najarian JS, Sutherland DER, Matas AJ, Steffes MW, Simmons RL, Goetz FC. Human Islet Transplantation: A Preliminary Report. *Transpl Proc*. 1977;IX(1):233–6.
48. Sutherland DER, Steffes MW, Bauer EG, McManus D, Noe BD, Najarian JS. Isolation of Human and Porcine Islets of Langerhans and Islet Transplantation in Pigs. *J Surg Res*. 1974;16:102–11.
49. Ricordi C, Lacy PE, Finke EH, Olack BJ, Scharp DW. Automated method for isolation of human pancreatic islets. *Diabetes*. 1988;37(4):413–20.
50. Lake SP, Bassett PD, Larkins A, Revell J, Walczak K, Chamberlain J, et al. Large-scale purification of human islets utilizing discontinuous albumin gradient on IBM 2991 cell separator. *Diabetes*. 1989;38(SUPPL. 1):143–5.
51. Shapiro AM, Lakey JR, Ryan EA, Korbitt GS, Toth E, Warnock GL, et al. Islet transplantation in seven patients with type 1 diabetes mellitus using a glucocorticoid-free immunosuppressive regimen. *N Engl J Med*. 2000;343(4):230–8.
52. Shapiro AMJ, Ricordi C, Hering BJ, Auchincloss H, Lindblad R, Robertson RP, et al. International Trial of the Edmonton Protocol for Islet Transplantation. *N Engl J Med*. 2006;355(13):1318–30.
53. O’Connell PJ, Holmes-Walker DJ, Goodman D, Hawthorne WJ, Loudovaris T, Gunton JE, et al. Multicenter Australian trial of islet transplantation: Improving accessibility and outcomes. *Am J Transplant*. 2013;13(7):1850–8.
54. Lablanche S, Borot S, Wojtuszczyńska A, Bayle F, Tetaz R, Badet L, et al. Five-year metabolic, functional, and safety results of patients with type 1 diabetes transplanted with allogenic islets within the Swiss-French GRAGIL network. *Diabetes Care*. 2015;38(9):1714–22.
55. Choudhary P, Rickels MR, Senior PA, Vantyghem M-C, Maffi P, Kay TW, et al. Evidence-informed clinical practice recommendations for treatment of type 1 diabetes complicated by problematic hypoglycemia. *Diabetes Care*. 2015;38(6):1016–29.
56. Skrivarhaug T, Bangstad HJ, Stene LC, Sandvik L, Hanssen KF, Joner G. Long-term mortality in a

- nationwide cohort of childhood-onset type 1 diabetic patients in Norway. *Diabetologia*. 2006;49(2):298–305.
57. Feltbower RG, Bodansky HJ, Patterson CC, Parslow RC, Stephenson CR, Reynolds C, et al. Acute complications and drug misuse are important causes of death for children and young adults with type 1 diabetes: Results from the yorkshire register of diabetes in children and young adults. *Diabetes Care*. 2008;31(5):922–6.
 58. McCoy RG, Van Houten HK, Ziegenfuss JY, Shah ND, Wermers RA, Smith SA. Increased mortality of patients with diabetes reporting severe hypoglycemia. *Diabetes Care*. 2012;35(9):1897–901.
 59. Kriz J, Saudek F, Girman P, Novota P. Enhancement of rat islet tolerance with bone marrow transplantation using a non-myeloablative procedure II: Failure despite the presence of lymphocyte microchimerism in the fully allogeneic Lewis/Brown-Norway model. *Int J Tissue React*. 2004;26(3–4).
 60. Girman P, Kriz J, Dovolilová E, Cíhalová E, Saudek F. The effect of bone marrow transplantation on survival of allogeneic pancreatic islets with short-term tacrolimus conditioning in rats. *Ann Transplant*. 2001;6(2):43–5.
 61. Girman P, Kriz J, Friedmansky J, Saudek F. Digital imaging as a possible approach in evaluation of islet yield. *Cell Transplant*. 2003;12(2):129–33.
 62. Girman P, Berkova Z, Dobililova E, Saudek F. How to use image analysis for islet counting. *Rev Diabet Stud*. 2008;5(1):38–46.
 63. Kriz J, Jirak D, Girman P, Berkova Z, Zacharovova K, Honsova E, et al. Magnetic resonance imaging of pancreatic islets in tolerance and rejection. *Transplantation*. 2005;80(11):1596–603.
 64. Koblas T, Girman P, Berkova Z, Jirak D, Kriz J, Dovolilova E, et al. Magnetic resonance imaging of intrahepatically transplanted islets using paramagnetic beads. *Transplant Proc*. 2005;37(8):3493–5.
 65. Saudek F, Jiráček D, Girman P, Herynek V, Dezortová M, Kříž J, et al. Magnetic Resonance Imaging of Pancreatic Islets Transplanted Into the Liver in Humans. *Transplantation*. 2010;90(12):1602–6.
 66. Marada T, Lipár K, Adamec M, Girman P, Kriz J, Saudek F. [Simultaneous transplantation of the kidney and the islets of Langerhans]. *Rozhl Chir*. 2011;90(2):111–3.
 67. Kocik M, Lipar K, Saudek F, Girman P, Boucek P, Kucera M, et al. Pancreatic islet autotransplantation after completion pancreatectomy for pancreatic fistula after hemipancreatoduodenectomy for carcinoma. In: *Transplantation Proceedings*. 2014. p. 1996–8.
 68. Saudek F, Girman P, Kříž J, Berková Z, Zacharovová K, Koblas T, et al. Islet transplantation for treatment of type-1 diabetes mellitus. *Cas Lek Cesk*. 2011;150(1):49–55.
 69. Girman P, Saudek F. The IKEM pancreas and islet transplant program as part of healthcare for type 1 diabetes patients: Retrospective analysis of outcome from 1983 to 2010. *Rev Diabet Stud*. 2011;8(1):35–43.
 70. Berkova Z, Saudek F, Girman P, Zacharovova K, Kriz J, Fabryova E, et al. Combining Donor

Characteristics with Immunohistological Data Improves the Prediction of Islet Isolation Success. *J Diabetes Res.* 2016;2016(10):1–10.

71. Lehmann R, Graziano J, Brockmann J, Pfammatter T, Kron P, De Rougemont O, et al. Glycemic control in simultaneous islet-kidney versus pancreas-kidney transplantation in type 1 diabetes: A prospective 13-year follow-up. *Diabetes Care.* 2015;38(5):752–9.
72. Kessler L, Bucher P, Milliat-Guittard L, Benhamou PY, Berney T, Penfornis A, et al. Influence of islet transportation on pancreatic islet allotransplantation in type 1 diabetic patients within the Swiss-French GRAGIL network. *Transplantation.* 2004;77(8):1301–4.
73. Barlow AD, Nicholson ML, Herbert TP. Evidence for rapamycin toxicity in pancreatic β -Cells and a review of the underlying molecular mechanisms. *Diabetes.* 2013;62(8):2674–82.
74. Troppmann C, Pierce JL, Gandhi MM, Gallay BJ, McVicar JP, Perez R V. Higher surgical wound complication rates with sirolimus immunosuppression after kidney transplantation: a matched-pair pilot study. *Transplantation.* 2003;76(2):426–9.
75. Dean PG, Lund WJ, Larson TS, Prieto M, Nyberg SL, Ishitani MB, et al. Wound-healing complications after kidney transplantation: a prospective, randomized comparison of sirolimus and tacrolimus. *Transplantation.* 2004;77(10):1555–61.
76. Valente JF, Hricik D, Weigel K, Seaman D, Knauss T, Siegel CT, et al. Comparison of sirolimus vs. mycophenolate mofetil on surgical complications and wound healing in adult kidney transplantation. *Am J Transplant.* 2003;3(9):1128–34.
77. Tiong HY, Flechner SM, Zhou L, Wee A, Mastroianni B, Savas K, et al. A systematic approach to minimizing wound problems for de novo sirolimus-treated kidney transplant recipients. *Transplantation.* 2009;87(2):296–302.
78. Hulbert AL, Delahunty AJ, Rajab A, Forbes RC, Winters HA. The utilization of sirolimus and the impact on wound-healing complications in obese kidney transplant recipients. *Clin Transplant.* 2013;27(4):521–7.
79. Nashan B, Citterio F. Wound healing complications and the use of mammalian target of rapamycin inhibitors in kidney transplantation: A critical review of the literature. *Transplantation.* 2012;94(6):547–61.
80. Flechner SM, Glyda M, Cockfield S, Grinyö J, Legendre C, Russ G, et al. The ORION study: Comparison of two sirolimus-based regimens versus tacrolimus and mycophenolate mofetil in renal allograft recipients. *Am J Transplant.* 2011;11(8):1633–44.
81. Wimmer CD, Rentsch M, Crispin A, Illner WD, Arbogast H, Graeb C, et al. The janus face of immunosuppression - De novo malignancy after renal transplantation: The experience of the Transplantation Center Munich. *Kidney Int.* 2007;71(12):1271–8.
82. Domhan S, Zeier M, Abdollahi A. Immunosuppressive therapy and post-transplant malignancy. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;4:1097–103.
83. Krynitz B, Edgren G, Lindelöf B, Baecklund E, Brattström C, Wilczek H, et al. Risk of skin cancer and other malignancies in kidney, liver, heart and lung transplant recipients 1970 to 2008 - A Swedish population-based study. *Int J Cancer.* 2013;132(16):1429–38.
84. Na R, Grulich AE, Meagher NS, McCaughan GW, Keogh AM, Vajdic CM. De novo cancer-related death in Australian liver and cardiothoracic transplant recipients. *Am J Transplant.*

- 2013;13(5):1296–304.
85. Na R, Grulich AE, Meagher NS, McCaughan GW, Keogh AM, Vajdic CM. Comparison of de novo cancer incidence in Australian liver, heart and lung transplant recipients. *Am J Transplant*. 2013;13(1):174–83.
 86. Engels EA, Pfeiffer RM, Fraumeni JF, Kasiske BL, Israni AK, Snyder JJ, et al. Spectrum of cancer risk among US solid organ transplant recipients. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2011;306(17):1891–901.
 87. Hojo M, Morimoto T, Maluccio M, Asano T, Morimoto K, Lagman M, et al. Cyclosporine induces cancer progression by a cell-autonomous mechanism. *Nature*. 1999;397(6719):530–4.
 88. O’Donovan P, Perrett CM, Zhang X, Montaner B, Xu YZ, Harwood CA, et al. Medicine: Azathioprine and UVA light generate mutagenic oxidative DNA damage. *Science* (80-). 2005;309(5742):1871–4.
 89. Alberú J, Pascoe MD, Campistol JM, Schena FP, Rial MDC, Polinsky M, et al. Lower malignancy rates in renal allograft recipients converted to sirolimus-based, calcineurin inhibitor-free immunotherapy: 24-month results from the CONVERT trial. *Transplantation*. 2011;92(3):303–10.
 90. Stallone G, Schena A, Infante B, Di Paolo S, Loverre A, Maggio G, et al. Sirolimus for Kaposi’s sarcoma in renal-transplant recipients. *N Engl J Med*. 2005;352(13):1217–23.
 91. Motzer RJ, Escudier B, Oudard S, Hutson TE, Porta C, Bracarda S, et al. Efficacy of everolimus in advanced renal cell carcinoma: a double-blind, randomised, placebo-controlled phase III trial. *Lancet*. 2008;372(9637):449–56.
 92. Silva HT, Felipe CR, Garcia VD, Neto ED, Filho MA, Contieri FLC, et al. Planned randomized conversion from tacrolimus to sirolimus-based immunosuppressive regimen in de novo kidney transplant recipients. *Am J Transplant*. 2013;13(12):3155–63.
 93. Büchler M, Caillard S, Barbier S, Thervet E, Toupance O, Mazouz H, et al. Sirolimus versus cyclosporine in kidney recipients receiving thymoglobulin®, mycophenolate mofetil and a 6-month course of steroids. *Am J Transplant*. 2007;7(11):2522–31.
 94. Wolf S, Hoffmann VS, Habicht A, Kauke T, Bucher J, Schoenberg M, et al. Effects of mtor-is on malignancy and survival following renal transplantation: A systematic review and meta-analysis of randomized trials with a minimum follow-up of 24 months. *PLoS One*. 2018;13(4):doi: 10.1371/journal.pone.0194975. eCollection 201.
 95. Bellin MD, Barton FB, Heitman A, Harmon J V., Kandaswamy R, Balamurugan AN, et al. Potent induction immunotherapy promotes long-term insulin independence after islet transplantation in type 1 diabetes. *Am J Transplant*. 2012;12(6):1576–83.
 96. Turgeon NA, Avila J, Cano J, Hutchinson J, Badell I, Page A, et al. Experience with a novel efalizumab-based immunosuppressive regimen to facilitate single donor islet cell transplantation. *Am J Transplant*. 2010;10(9):2082–91.
 97. Posselt AM, Szot GL, Frassetto LA, Masharani U, Tavakol M, Amin R, et al. Islet transplantation in type 1 diabetic patients using calcineurin inhibitor-free immunosuppressive protocols based on T-cell adhesion or costimulation blockade. *Transplantation*. 2010;90(12):1595–601.
 98. Vincenti F, Rostaing L, Grinyo J, Rice K, Steinberg S, Gaitte L, et al. Belatacept and Long-Term

Outcomes in Kidney Transplantation. N Engl J Med. 2016;374(4):333–43.