

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

1. LÉKAŘSKÁ FAKULTA

Studijní program: Biomedicína

Studijní obor: Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Barbora Voglová Hagerf

**VÝVOJ METABOLICKÝCH UKAZATELŮ A KOMPLIKACÍ
DIABETU U PACIENTŮ S DIABETES MELLITUS 1.TYPU
LÉČENÝCH TRANSPLANTACÍ PANKREATU ČI
LANGERHANSOVÝCH OSTRŮVKŮ**

**Development of metabolic parameters and diabetes complications in
patients with type 1 diabetes mellitus treated with pancreas or pancreatic
islet transplantation**

Disertační práce

Školitel: prof. MUDr. František Saudek DrSc.

Praha, 2024

OBSAH

PODĚKOVÁNÍ.....	5
SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK	7
ABSTRAKT (CZ)	8
ABSTRACT (EN).....	9
1. ÚVOD.....	10
2. TRANSPLANTAČNÍ LÉČBA DIABETU.....	12
2.1. Metody a indikace transplantační léčby diabetu.....	12
2.2. Chirurgická technika transplantace pankreatu	13
2.3. Technika izolace a transplantace Langerhansových ostrůvků	14
2.4. Imunologické aspekty transplantační léčby	15
2.5. Imunosupresivní terapie po transplantaci	16
2.5.1. Indukční imunosuprese	16
2.5.1.1. Polyklonální protilátky.....	16
2.5.1.2. Monoklonální protilátky	17
2.5.2. Udržovací imunosuprese.....	18
2.5.3. Kalcineurinové inhibitory	18
2.5.3.1. Antimetabolity.....	19
2.5.3.2. mTOR inhibitory.....	19
2.5.3.3. Kortikosteroidy	21
2.5.3.4. Blokátory kostimulace	21
2.6. Antiinfekční profylaxe	21
3. LÉČBA PACIENTŮ PO TRANSPLANTACI.....	23
3.1. Časné pooperační období.....	23
3.2. Monitorace glykémie po transplantaci.....	23
3.2.1. Princip CGM metody a možné interference	24
3.2.2. Hodnocení přesnosti CGM	25
3.2.3. Hodnocení glykemické kompenzace na základě dat z CGM.....	29
3.2.4. Využití CGM v časné perioperační péči	29
3.2.5. Studie s využitím CGM po transplantaci pankreatu	30
3.3. Dlouhodobé sledování po transplantaci	30

4. VÝVOJ DLOUHODOBÝCH KOMPLIKACÍ DIABETES MELLITUS PO TRANSPLANTACI	32
4.1. Diabetická nefropatie	33
4.2. Diabetická neuropatie	34
4.3. Makrovaskulární komplikace.....	35
4.4. Syndrom diabetické nohy	37
4.5. Kvalita života po transplantaci.....	38
5. DIABETICKÁ RETINOPATIE A TRANSPLANTAČNÍ LÉČBA DIABETU	39
5.1. Patofyziologie diabetické retinopatie a její morfologické projevy	40
5.1.1. Molekulární patofyziologické cesty vzniku diabetické retinopatie	41
5.1.2. Cévní poškození, neurodegenerace a zánět	42
5.1.3. Klinicky detekovatelné morfologické změny v sítnici u DR.....	44
5.2. Vyšetřovací metody, klinická klasifikace a léčba diabetické retinopatie	45
5.2.1. Vyšetřovací metody.....	45
5.2.2. Klasifikace diabetické retinopatie.....	46
5.2.3. Současné terapeutické možnosti ovlivnění změn na sítnici.....	46
5.2.4. Specifika diabetické retinopatie u kandidátů transplantace	47
5.3. Vývoj diabetické retinopatie po transplantaci v klinickém sledování	48
5.3.1. Vývoj DR po transplantaci pankreatu a ledviny	48
5.3.2. Vývoj DR po izolované transplantaci pankreatu	50
5.3.3. Vývoj DR po transplantaci Langerhansových ostrůvků	51
5.4. Experimentální studie sledující vliv transplantační léčby na DR	55
5.5. Fenomén časného zhoršení diabetické retinopatie.....	55
5.5.1. Patofyziologie časného zhoršení.....	55
5.5.2. Syndrom časného zhoršení po transplantaci pankreatu	57
6. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE	58
7. METODIKA	60
7.1. Sledování vývoje diabetické retinopatie po transplantaci.....	60
7.1.1. Základní design klinické studie	60
7.1.2. Screening, zařazování pacientů a randomizace	61
7.1.3. Imunosupresivní terapie a další specifická léčba po transplantaci	62
7.1.4. Vyšetřovací metody.....	63
7.1.4.1. Klinická vyšetření	63
7.1.4.2. Laboratorní vyšetření	63

7.1.4.3. Oční vyšetření	64
7.1.5. Časné zhoršení diabetické retinopatie.....	65
7.1.6. Vliv imunosupresivní léčby na progresi změn na sítnici	66
7.1.7. Další sledované parametry u rozdílných režimů imunosuprese	65
7.1.8. Statistické zpracování dat	66
7.2. Zhodnocení použitelnosti, přesnosti a spolehlivosti senzorů pro kontinuální monitoraci glukózy v perioperačním období u pacientů po transplantaci	67
7.2.1. Pilotní studie	67
7.2.2. Sledování přesnosti CGM v randomizované studii	67
7.2.3. Statistické zpracování dat	69
8. VLASTNÍ VÝSLEDKY.....	70
8.1. Časné zhoršení diabetické retinopatie po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny – mýtus či realita?.....	70
8.2. Diabetická retinopatie u pacientů po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu: Výsledky prospektivní randomizované studie porovnávající léčbu everolimem a mykofenolátem.....	71
8.3. Alternativní místo aplikace senzoru pro kontinuální monitoraci glukózy v infraklavikulární oblasti u pacientů podstupujících velké břišní chirurgické výkony.....	73
8.4. Přesnost a spolehlivost kontinuální monitorace glukózy v reálném čase u kriticky nemocných pacientů po velkých břišních operačních výkonech a transplantaci solidních orgánů.....	74
9. DISKUSE	76
10. ZÁVĚR A SHRnutí VÝSLEDKŮ PRÁCE	84
11. LITERATURA	86
12. PŘÍLOHY	107
12.1. Prohlášení autora.....	107
12.2. Identifikační záznam.....	107
12.3. Plné texty vlastních publikací tvořících podklady disertační práce	108

PODĚKOVÁNÍ

Tato práce vznikla v rámci doktorského studijního programu v biomedicině na Klinice diabetologie Institutu klinické a experimentální medicíny a 1. lékařské fakultě Univerzity Karlovy.

Poděkování patří v první řadě mému školiteli prof. MUDr. Františku Saudkovi, DrSc. za vynikající odborné vedení v průběhu celého studia a všestrannou pomoc a podporu při tvorbě doktorské dizertační práce.

Dále bych ráda poděkovala všem klinickým a laboratorním spolupracovníkům i sestrám a koordinátorkám klinických studií z Centra diabetologie IKEM, kteří se podíleli na vzniku odborných publikací, které sloužily jako podklady pro dizertační práci.

Chtěla bych rovněž poděkovat prof. MUDr. Martinu Haluzíkovi, DrSc., a doc. MUDr. Petrovi Girmanovi, kteří mi jako přednostové Centra diabetologie a Kliniky diabetologie IKEM vytvořili optimální podmínky k postgraduálnímu studiu a podpořili mě v mých výzkumných aktivitách a nových nápadech a také všem kolegům z kliniky diabetologie, kteří mi předávali své cenné zkušenosti na poli klinické medicíny a vědeckého výzkumu a byli pro mě vzorem a inspirací.

Vzhledem k tomu, že výzkumné projekty, které jsou podkladem této disertační práce, by nebylo umožněné uskutečnit bez dlouholeté finanční podpory, děkuji všem svým nadřízeným a spolupracovníkům, kteří sprostředkovali jejich financování z několika odborných grantů: projektem CarDia Národní institut pro výzkum metabolických a kardiovaskulárních onemocnění (Program EXCELES, ID: LX22NPO5104) – Financováno Evropskou unií – Next Generation EU; MZ ČR 15-26746 A a projektem Cooperatio Univerzity Karlovy.

Mé díky také patří kolektivu lékařů, sester a laboratorních pracovníků z Kliniky anesteziologie a resuscitační medicíny a z Oddělení klinické biochemie a laboratorních metod v IKEM, kteří se v posledních letech významnou mírou podíleli na společných inovativních klinických výzkumných projektech - zejména MUDr. Marekovi Protušovi, doc. Evě Kieslichové, prof. Antonínu Jaborovi, Doc. Janke Franekové a mnoha dalším. Naučili mě, jak

důležitá a obohacující může být tvořivá mezioborová spolupráce, a to i při výzkumných projektech, ve kterých jsme se pouštěli do neprobádaných oblastí a s nejistým výsledkem. Tato zkušenost zásadně formovala směřování mého výzkumu a byla pro mně velkým povzbuzením a inspirací do dalších let.

Zvláštní poděkování patří Mgr. Lence Némětové a MUDr. Zuzaně Hladíkové za dlouholetou spolupráci na výzkumných projektech, které jsou podkladem této práce a všestrannou pomoc a povzbuzení během let společného výzkumu a MUDr. Milošovi Mrázovi PhD., za důležité kritické připomínky, redigaci textu této práce a části přiložených publikací, cenné odborné vedení a podporu.

Na závěr chci poděkovat mému manželovi, který mě s nadhledem a trpělivostí podporoval v mém výzkumu a při tvorbě této práce, a také rodině a blízkým přátelům, kteří mi byli velkou oporou.

SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

ACE – angiotenzin-konvertující enzym
AID – automated insulin delivery system
AMPA - α -amino-3-hydroxy-5-methyl-4-isoxazolepropionova kyselina
BCVA – best corrected visual acuity
CDC crossmatch – complement dependent cytotoxicity
CGM – continuous glucose monitoring
CKD – chronic kidney disease
CMV – cytomegalovirus
CV – coefficient of variation
DCCT – Diabetes Control and Complications Trial
DM – diabetes mellitus
DR – diabetická retinopatie
EDIC – Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications
eGFR – estimated glomerular filtration rate
FDA – United States Food and Drug Administration
GLP-1 – glucagon-like peptid 1
HbA1c – glykovaný hemoglobin
HIF-1 – hypoxia-inducible factor 1
HLA – human leukocyte antigen
IL-2 – interleukin 2
ISO – International Organization for Standardization
LDK – living donor kidney transplantation
MARD – mean absolute relative difference
MFI – mean fluorescence intensity
MPA – mycophenolic acid (zde použito pro označení natrium mykofenolátu)
mTOR – mammalian target of rapamycin
NADPH - nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NFkB – nuclear factor kappa B
NMDA - N-metyl-D-aspartát
OCT – optická koherenční tomografie
PAI-1 – plasminogen aktivátor inhibitor
PAK – pancreas after kidney transplantation
PRA – panel reactive antibody
PTA – pancreas transplantation alone
SD – standard deviation
SEG - Surveillance Error Grid
SPK – simultaneous pancreas and kidney transplantation
TGF-beta – transforming growth factor - beta
Tx - transplantace
VEGF – vascular endothelial growth factor

ABSTRAKT (CZ)

Současné poznatky o reverzibilitě či progresi komplikací diabetu u pacientů s DM 1. typu, léčených transplantací pankreatu (nejčastěji v kombinaci s ledvinou – SPK) přináší řadu nezodpovězených otázek. Cílem předkládané práce bylo prospektivně sledovat vývoj komplikací diabetu po transplantaci a zaměřit se na dosud neprozkoumané aspekty léčby, s možným přínosem pro klinickou praxi: 1) možnost využití kontinuální monitorace glukózy pomocí senzoru (CGM) v časném pooperačním období po transplantaci a 2) prospektivní sledování diabetické retinopatie (DR) po SPK v randomizované studii s hypotézou, že mTOR inhibitory (mTORi), využívané v imunosupresivní léčbě po SPK, mohou svými antiangiogenními účinky ovlivnit i cévní změny v sítnici a současně zhodnocení výskytu tzv. časného zhoršení DR v důsledku náhlé normalizace glykémie.

V prospektivní studii testující přesnost a spolehlivost CGM v intenzivní pooperační péči jsme analyzovali data od 61 pacientů, monitorovaných senzorem Dexcom G6, zavedeným do alternativního místa infraklavikulárně. Referenční metodou pro kalibraci i hodnocení přesnosti byla glykémie měřena analyzátozem acidobazické rovnováhy. Senzory měly MARD (průměr absolutních relativních odchylek) 9,4 %, a 98,9 % hodnot v klinicky bezpečném pásmu Surveillance Error Grid - výsledky porovnatelné s přesností Dexcom G6 v ambulantní péči. Naše práce ukazuje, že při vhodném protokolu pro validaci a kalibraci může CGM najít uplatnění i v intenzivní péči a výhledově přispět ke zlepšení glykemické kompenzace.

Do prospektivní studie zaměřené na DR, s pravidelným očním sledováním dle protokolu, jsme zařadili 64 pacientů, léčených tacrolimem v kombinaci dle randomizace s mTORi everolimem (n=32) či s natrium mykofenolátem (n=32). Primární cíl studie zahrnoval novou proliferativní DR, indikaci k laserové léčbě či pars plana vitrektomii, klinicky signifikantní makulární edém a významné zhoršení visu až slepotu. Tohoto cíle dosáhla velká část pacientů v obou skupinách, 43,5 % pacientů léčených everolimem a 63 % pacientů léčených mykofenolátem (p=0,4). Pacienti léčení mTORi však měli méně časté zhoršení visu (13,7 vs. 35,1 %, p=0,01) a indikaci k laserové terapii (11,8 % vs 26,3 % p=0,08) - naznačující možný vliv mTORi, který ale vyžaduje ověření v dalších cílených studiích. Při hodnocení časného zhoršení jsme nepozorovali rozdíly ve změně glykemické kompenzace mezi pacienty s progresí a bez progresí DR, ani případy neočekávané deteriorace. Progrese spíše odpovídala očekávanému průběhu velmi pokročilé DR.

Klíčová slova: transplantace ledviny a pankreatu - diabetická retinopatie - mTOR inhibitory - kontinuální monitorace glukózy - intenzivní pooperační péče

ABSTRACT (EN)

Current knowledge about reversibility or progression of diabetes complications in patients with type 1 diabetes treated with pancreas transplantation (most commonly simultaneous pancreas and kidney transplantation - SPK) still leaves plenty of unanswered questions.

The aim of this thesis was to prospectively follow development of DM complications posttransplant and explore novel aspects of treatment: 1) possibility of implementing continuous glucose monitoring (CGM) in early intensive postoperative after transplantation and 2) prospective study of the course of diabetic retinopathy (DR) in SPK recipients to test the hypothesis that antiangiogenic properties of mTOR inhibitors (commonly used in immunosuppression after SPK) could influence the retinal vasculature and to evaluate occurrence of early DR worsening due to rapid achievement of normoglycemia.

In a prospective study on CGM accuracy and reliability in intensive care we analyzed data from 61 patients, monitored with Dexcom G6 inserted a novel infraclavicular site, using glucose values from acid-base analyzer as reference for calibration and accuracy assessment. Sensor MARD (mean absolute relative difference) was 9.4% with 98.9 % values in clinically safe zones of Surveillance Error Grid - comparable with Dexcom G6 accuracy in the outpatient care. Our study shows clinical applicability of CGM in intensive care (based on appropriate calibration protocol), with further potential impact on glycemic compensation.

In prospective trial focusing on DR, we included 64 patients who were followed by an ophthalmologist according to protocol. They were randomized to therapy with mTOR inhibitor everolimus (n=32) or natrium mycophenolate (n=32), combined with tacrolimus. Primary endpoint comprised new proliferative DR, new indication to laser treatment or pars plana vitrectomy, clinically significant macular edema and significant visus worsening or blindness. A large proportion of patients met the endpoint in both arms (everolimus 43.5 %, mycophenolate 63%, p=0.4). However, patients treated with mTOR inhibitors had less frequent visus deterioration (13.7 vs. 35.1 %, p=0.01) and indication to laser therapy (11.8% vs 26.3 % p=0.08), suggesting possible effect of mTOR inhibition which requires evaluation in further trials. As for early worsening of DR observe no significant differences in the change of glycemic compensation in patients with progression compared with the stable ones, nor any cases of rapid unexpected deterioration. The progression rather comports with the natural course of very advanced retinopathy.

Keywords: pancreas and kidney transplantation - diabetic retinopathy - mTOR inhibitors - continuous glucose monitoring - intensive postoperative care

1. ÚVOD

Transplantační léčba představuje zatím jedinou metodu, která zajistí obnovení fyziologické endogenní regulace glykémie u pacientů s diabetem 1. typu a u vybraných osob s diabetem 2. typu, kteří jsou závislí na léčbě inzulínem.¹⁻³

I když v současné době probíhají již první klinické testy s inzulín produkujícími buněčnými liniemi připravenými v laboratoři⁴, jediným prakticky využitelným zdrojem inzulín produkující tkáně jsou pankreaty odebrané od zemřelých dárců orgánů. Vhodných kadaverosních orgánů je, a i v budoucnosti bude, nedostatek. Příjemci navíc podstupují v případě orgánové transplantace značně, a v případě ostrůvkové transplantace méně náročný invazivní výkon a všichni dlouhodobě musejí užívat imunosupresivní léčbu⁵. To jsou hlavní důvody, proč jsou transplantace pankreatu a transplantace ostrůvků stále vyhrazeny jen pro skupinu pacientů s diabetem, kteří mají značně pokročilé komplikace dlouho trvající hyperglykémie, anebo nejsou schopni při inzulínové léčbě předcházet život ohrožujícím hypoglykemickým stavům. Nejčastějšími indikacemi v praxi jsou konečné selhání ledvin u osob s diabetem 1. typu anebo tzv. syndrom porušeného vnímání hypoglykémie, který se nedaří zvládnout konzervativními postupy inzulínové léčby.⁵

S ohledem na další vývoj orgánových komplikací diabetu představují tyto postupy dobrý model pro sledování efektu obnovené regulace hladiny krevního cukru, který může být v budoucnu docílen transplantací laboratorně připravených náhradních tkání a buněk nebo i pomocí automatizovaných technických prostředků, jejichž vývoj v posledních letech rovněž velmi pokročil^{4,6}.

Kandidáti transplantace pankreatu či ostrůvků zpravidla přicházejí s již manifestními mikrovaskulárními či makrovaskulárními komplikacemi diabetu v pokročilém stádiu. Některé z těchto dlouhodobých patofyziologických procesů mohou být již nezvratné, či mohou progredovat i po nastolení normoglykémie. Na druhé straně, normalizace a snížení variability glykémie mohou další progresi některých procesů výrazně zpomalit nebo předejít někdy i fatálním následným komplikacím. Transplantace zpravidla výrazně zlepšuje kvalitu života^{5,7-9}, i když se pacienti po transplantaci mohou potýkat s řadou nežádoucích účinků, které mohou vyplývat z imunosupresivní léčby, rejekce allogenní tkáně či ze samotného operačního zákroku.

Péče o pacienty po transplantaci proto přináší mnohé výzvy a vyžaduje pečlivou dlouhodobou monitoraci, snahu o prevenci možných komplikací a volbu vhodných imunosupresivních léků. Ty na jedné straně mohou vyvolávat kromě samotného potlačení transplantační imunity řadu nežádoucích efektů, ale v souvislosti s mechanismem jejich působení by v některých případech mohly i příznivě ovlivnit vývoj diabetické angiopatie.

Technologické a transplantační postupy léčby diabetu se vzájemně nevylučují. Většina kandidátů transplantace je léčena moderními postupy podávání inzulínu s využitím zpětnovazebné regulace na základě kontinuálně měřené hladiny glukózy senzorem.

Ve své práci jsem se proto věnovala základní otázce, která bude aktuální i v době případného zavádění buněčné terapie léčby diabetu či vyspělejších technologických prostředků: Jsou některé pokročilé mikrovaskulární změny ještě reversibilní? Může transplantační obnovení normálních hladin glykémie mít i negativní účinky? Může vhodná předtransplantační příprava případně prospět příznivému vývoji orgánových komplikací diabetu po transplantaci? Je možné uplatnit kontinuální monitoraci glykémie pomocí senzorů v časně pooperační péči o tyto pacienty? Ve svém studiu jsem navázala na dlouholeté zkušenosti pracoviště IKEM ve sledování zejména diabetické retinopatie a polyneuropatie po transplantaci pankreatu a použila inovativní postupy při jejich sledování a při monitorování metabolických změn.

2. TRANSPLANTAČNÍ LÉČBA DIABETU

První transplantaci pankreatu (současně s transplantací ledviny) provedli Kelly a Lillehei v Minneapolis v roce 1966 u 28leté pacientky¹⁰. Nezávislost na inzulinu se podařilo udržet pouze 6 dní, pravděpodobně i kvůli vysokým dávkám kortikosteroidů použitých v imunosupresivní terapii. Časně po transplantaci se rozvinula pankreatitida štěpu, který musel být záhy explantován a pacientka zemřela krátce poté na plicní embolii. Tento zdánlivý neúspěch však ukázal, že transplantace pankreatu je technicky možná a otevřel cestu k hledání vhodné metody transplantace a pooperační i imunosupresivní léčby.

Postupné vylepšování chirurgické techniky a souběžný vývoj imunosupresivní terapie, zejména zavedení léčby prvním kalcineurinovým inhibitorem cyklosporinem, vedly ke stabilní dlouhodobé funkci transplantovaných orgánů i delšímu přežívání pacientů po transplantaci. Metoda transplantace pankreatu se postupně rozšířila do mnoha světových center, kombinovaná transplantace pankreatu s ledvinou se stala metodou volby pro pacienty s diabetes mellitus 1. typu a renálním selháním^{2,3}.

První transplantace pankreatu v České republice byla provedena v roce 1983 v IKEM, který je již přes 40 let velmi aktivním transplantačním centrem, v posledním desetiletí s 30-35 transplantacemi pankreatu ročně¹¹.

Posléze se vyvíjela i jiná metoda – transplantace samotných izolovaných Langerhansových ostrůvků. Představuje méně invazivní cestu transplantace, suspenze ostrůvků se aplikuje cestou vena portae. I přes dlouholeté zdokonalování metod izolace, kultivace a transplantace ostrůvků však pacienti většinou potřebují více aplikací k dosažení nezávislosti na inzulinu a tato zpravidla nepřetrvává tak dlouhodobě jako je tomu u transplantace celého pankreatu. Je proto vyhrazena zejména pro pacienty s poruchou rozpoznávání hypoglykémie, kde je hlavním benefitem alespoň částečné obnovení endogenní sekrece inzulinu a glukagonu¹².

2.1 Metody a indikace transplantační léčby diabetu

Transplantace pankreatu v kombinaci s transplantací ledviny je v současnosti standardní léčbou, jež je vhodná pro většinu pacientů s DM 1. typu s diabetickým onemocněním ledvin ve stadiu chronické renální insuficience ve stádiu CKD G4-5. Uvažovat o ni můžeme i u osob s jinými typy diabetu, jako jsou např. DM 2. typu s malým stupněm inzulinové rezistence či některé formy pankreatogenního diabetu.^{1-3,13,14}

Transplantace samotného pankreatu či Langerhansových ostrůvků je vyhrazena pro pacienty s labilním diabetem, se syndromem porušeného rozpoznávání hypoglykemií nezvládnutelným jinými léčebnými metodami (technologie, edukace) anebo pro pacienty s rychle progredujícími mikrovaskulárními komplikacemi diabetu.¹²

Poslední možností je kombinovaná transplantace Langerhansových ostrůvků s ledvinou, která zpravidla představuje alternativu transplantace pankreatu a ledviny. Tato metoda je vhodná pro pacienty s diabetes mellitus 1. typu a renálním selháním, pro které je z různých důvodů transplantace pankreatu příliš rizikovým velkým operačním zákrokem a tato méně invazivní metoda jim umožní alespoň částečné obnovení endogenní sekrece pankreatických hormonů.¹²

2.2 Chirurgická technika transplantace pankreatu

Štěp pankreatu se odebírá od kadaverózního dárce, s částí dárceovského duodena a v současnosti se nejčastěji ukládá do pravé jámy kyčelní, kde se duodenum dárce napojuje na kličku tenkého střeva příjemce, exokrinní pankreatická sekrece je tak drénována do střeva. Tepenné zásobení je zajištěno anastomózou tepen štěpu na ilické cévy a žilní drenáž je vedena do portálního či systémového oběhu.¹⁵

Starší metodou byla anastomóza pankreatu na močový měchýř, od které již většina transplantačních center upustila pro častější dlouhodobé komplikace. Techniky s obliterací ductus pancreaticus, či transplantace segmentu pankreatu se ukázali jako méně vhodné.¹⁵

Pankreas je nejčastěji transplantován simultánně s ledvinou, od kadaverózního dárce. Alternativou je provedení transplantace pankreatu po předchozí úspěšné transplantaci ledviny od živého či kadaverózního dárce.¹⁻³

Pětileté přežívání funkce štěpu pankreatu (definované nezávislostí na inzulínu) u kombinované transplantace s ledvinou se podle současných dat z mezinárodních registrů pohybuje mezi 73-83%, nižší je u transplantace samotného pankreatu (50-55%) či transplantaci pankreatu následně po ledvině (60-65%).¹⁶⁻¹⁹

2.3 Technika izolace a transplantace Langerhansových ostrůvků

Langerhansovy ostrůvky se izolují z pankreatu dárce za použití enzymů kolagenázy a neutrální proteázy a následně se oddělí od exokrinní tkáně separací pomocí centrifugace v hustotním gradientu. Ostrůvky je možné krátkou dobu kultivovat ve vhodném médiu, anebo se aplikují bezprostředně po izolaci. Suspenze ostrůvků v transplantačním médiu se pacientovi podává infuzí do větve vena portae. Při transplantaci samotných ostrůvků se většinou volí perkutánní přístup do portálního řečiště, s naváděním katetru pod skiaskopickou kontrolou a následnou aplikací hemostatické zátky. Při transplantaci současně s ledvinou se katetr do větve v. portae zavádí při otevřené laparotomii. Ostrůvky se po podání usadí v jaterních sinusoidách a po několika dnech obnoví svou původní fyziologickou funkci.^{20,21}

K dosažení nezávislosti na inzulínu je většinou potřeba 2 až 3 aplikací od různých dárců, přičemž 5letá nezávislost na inzulinoterapii se pohybuje mezi 20-50 % podle údajů jednotlivých center. Velká část pacientů tedy i po transplantaci vyžaduje menší dávky inzulínu, sekreční kapacita ostrůvků však dlouhodobě prokazatelně přetrvává a pomáhá k dosažení vyrovnanější kompenzace a zejména pacienty chrání před těžkými hypoglykémiami tím, že je obnovena i kontraregulační sekrece glukagonu.²¹⁻²³

2.4 Imunologické aspekty transplantační léčby

Podmínkou úspěšné transplantační léčby je znalost imunologických charakteristik příjemce a nastavení účinné imunosupresivní léčby. Přístupy a kritéria pro shodu v HLA antigenech či antigenech ABO systému jsou rozdílné podle jednotlivých transplantovaných orgánů a urgencye transplantace.

Součástí vyšetření příjemce je proto jednak typizace HLA antigenů pomocí molekulárně biologických metod a současně vyšetření přítomnosti anti-HLA protilátek.

Starší dlouho používanou metodou je stanovení tzv. panel-reaktivních protilátek (cytotoxických protilátek) s využitím komplement-dependentní cytotoxicity. Sérum pacienta se testuje s buněčným panelem 50 či 100 buněk se známými HLA antigeny, který svým složením odpovídá zastoupení HLA antigenů v dané populaci. Výsledek reaktivity séra příjemce je vyjádřen v procentech.²⁴

Novější a specifitější metodou, která se stále více využívá v klinické praxi je stanovení protilátek proti konkrétním HLA antigenům metodou LUMINEX. HLA molekuly jsou navázány na polystyrenové destičky či mikrokuličky. Detekce protilátek se séra příjemce, které se navážou na HLA antigeny se poté provádí pomocí fluorescenčně značených protilátek proti lidským imunoglobulinům. Toto vyšetření umožňuje semikvantitativní stanovení protilátek proti danému HLA antigenům vyjádřené pomocí tzv, MFI (mean fluorescence intensity).^{25–28}

Při alokaci orgánů se provádí HLA typizace dárce a již před transplantací tak můžeme zhodnotit přítomnost a množství protilátek proti dárcovským HLA antigenům.^{2,3,29}

Těsně před transplantací se pak provádí tzv. křížová zkouška (crossmatch). Standardní starší metodou je komplement-dependentní (CDC) crossmatch. Novější a citlivější metodou je crossmatch s použitím průtokové cytometrie, který zachytí i komplement-nevážící protilátky.²⁴

Sérum příjemce se inkubuje s buněčnou suspenzí lymfocytů dárce. Navázané protilátky se poté detekují fluorescenčně značenou protilátkou proti lidským imunoglobulinům. Přidání anti-CD3 a anti-CD19 monoklonálních protilátek k detekci T a B lymfocytů umožní zhodnotit, zdali má příjemce preformované protilátky proti dárcovským HLA antigenům I. a II. třídy (exprimovaných na T-lymfocytech) anebo II. třídy (exprimovaných na B-lymfocytech).

U transplantace pankreatu a Langerhansových ostrůvků (i v kombinaci s ledvinou) je hlavním kritériem ABO kompatibilita a negativní křížová zkouška, u transplantace ledviny samotné se při alokaci ledvin přihlíží i ke shodám v HLA systému.^{2,3}

Příjemci, u kterých došlo k předchozí senzitivizaci (nejčastěji v důsledku transfuzní léčby, těhotenství, či předchozí transplantace) je nutno individualizovat a posílit imunosupresivní léčbu. V případě detekce většího množství anti-HLA protilátek se využívá výměna plazmy (plazmaferéza) doplněné podáváním intravenózních imunoglobulinů a léčbou monoklonální protilátkou anti-CD20 (rituximab) s cílem potlačit tvorbu nových anti-HLA protilátek.^{2,3}

2.5 Imunosupresivní terapie po transplantaci

Cílem imunosupresivní léčby je zabránit rejekci transplantovaných orgánů, ale v případě transplantace pankreatu či Langerhansových ostrůvků také předcházet rekurenci autoimunitního procesu, který vedl ke vzniku diabetes mellitus 1. typu. Konkrétní imunosupresivní protokoly se mezi jednotlivými transplantáčními centry liší, nicméně základní principy a používané léky jsou shodné.

2.5.1 Indukční imunosuprese

Těsně před transplantací a časně po transplantaci se zahajuje velmi intenzivní léčba – tzv. indukční imunosuprese, s cílem zásadně utlumit buněčnou i protilátkovou odpověď vůči dárcovským antigenům v časném potransplantačním období, kdy je imunitní odpověď na allogenní antigeny nejsilnější.

K tomu se využívá pulsní léčba methylprednisolonem (zpravidla těsně před transplantací a první pooperační den) a polyklonální či monoklonální protilátky.

2.5.1.1 Polyklonální protilátky

Tato léčba spočívá v podání polyklonálního anti-T-lymfocytárního globulínu, který byl získán imunizací králíků, či buňkami lidského T-lymfomu či lidského thymu. Jeho podání vede k depleci T-lymfocytů v periferní krvi, v lymfoidní tkáni i v samotném transplantovaném štěpu. U transplantace pankreatu se podává obvykle 3-7 dní po transplantaci. Využívá se také k léčbě těžších či steroid-rezistentních rejekcí.^{14,30}

První dávka může být spojena s bouřlivou reakcí při vyplavení cytokinů, provázenou horečkou, zimnicí, třesavkou. Během léčby se často rozvíjí trombocytopenie a leukopenie (důsledek zkřížené reakce s antigeny na povrchu destiček či leukocytů). Další dávkování proto musí být upravováno s ohledem na aktuální hodnoty v krevním obraze.³⁰

Podávání těchto protilátek způsobuje až týdny trvající depleci CD3⁺ lymfocytů. Pacienti časně po této léčbě jsou proto ohroženi celým spektrem infekčních komplikací, včetně jinak vzácných oportunních infekcí a vyžadují komplexní antiinfekční profylaxi. V dlouhodobém horizontu přináší deplece T-lymfocytů i vyšší riziko malignit. Součástí sledování pacientů po transplantaci by tak měl být i pečlivý pravidelný onkologický screening.^{31,32}

2.5.1.2 Monoklonální protilátky

Další možností je specifitější léčba monoklonálními protilátkami proti lymfocytárním antigenům.

Možností, která se využívá u pacientů s nízkým imunologickým rizikem připravovaných k transplantaci ledviny či při transplantaci pankreatu po předchozí transplantaci ledviny je basiliximab, myší/lidská chimérická monoklonální protilátka (IgG1k), namířená proti α řetězci receptoru pro interleukin-2 (antigen CD25). Tento antigen je ve vysoké míře exprimován na aktivovaných T-lymfocytech a basiliximab tak selektivně potlačuje funkci těchto T-lymfocytů, které exprimují receptor IL-2R α , tím, že se naváže na tento receptor, znemožní jeho aktivaci interleukinem 2 a zabrání proliferaci dalších T-lymfocytů.^{14,32}

Na podobném principu blokády IL-2 je založený i daclizumab, používaný v minulosti v mnoha zahraničních centrech, s výbornými výsledky, který byl ale posléze v roce 2018 stažen z klinické praxe pro závažné nežádoucí účinky (zánětlivé onemocnění CNS).

V randomizovaných klinických studiích byla indukce daclizumabem porovnatelně účinná jako režimy s antithymocytárním globulinem. Novější basiliximab zatím nebyl testován v déle probíhajících prospektivních randomizovaných studiích, předpokládá se však, že pro analogický mechanismus účinku by mohlo jeho použití přinést podobně uspokojivé výsledky.^{2,3,14,30}

Alternativou, používanou v některých centrech je alemtuzumab, monoklonální protilátka proti CD52.^{33,34} Přežívání pacientů i transplantovaných štěpů bylo obdobné jako u indukce antithymocytárním globulinem či anti-IL2 protilátkami, v jedné studii s použitím vyšší dávky alemtuzumabu bylo zaznamenáno více infekcí cytomegalovirem, které ale neměli vliv na celkovou mortalitu ani přežívání štěpů, a ve studiích s nižší dávkou se již neobjevilo.^{30,34}

Poslední ze spektra monoklonálních protilátek využívaných v indukční či antirejekční léčbě je rituximab, monoklonální protilátka proti CD20. Jak již bylo zmíněno výše, našel uplatnění ve specifických indukčních protokolech pro vysoce senzitivované pacienty, kde se aplikuje současně s cykly plasmazeréz a intravenózních imunoglobulinů k potlačení proliferace plazmatických buněk a maturace v B-lymfocyty a suprese tvorby nových dárcovskými specifických protilátek. V podobných režimech se také používá v léčbě protilátkami zprostředkované rejekce.^{2,3,17,30}

2.5.2 Udržovací imunosuprese

Cílem udržovací imunosupresivní léčby je profylaxe akutní rejekce. Zpravidla se používá kombinace dvou až tří přípravků, které cílí na různé oblasti imunitní odpovědi a tato kombinační léčba zároveň umožňuje použít nižší dávky a minimalizovat tak nežádoucí účinky těchto látek. Obvykle je základním lékem kalcineurinový inhibitor kombinovaný s antimetabolitem či antiproliferačním přípravkem a kortikoidy. Všechny tyto léky mají kromě žádoucích imunosupresivních účinků také specifické nežádoucí účinky. Zařazení indukce a kombinace několika látek dovozuje používat relativně nízké hladiny těchto přípravků. Léčba se následně individuálně upravuje u každého pacienta podle tolerance, míry imunosuprese a možných nežádoucích účinků. Imunosupresivní terapii pacienti po transplantaci užívají doživotně, případně po dobu funkce transplantovaných orgánů, ale často i po jejich selhání v nižších dávkách s cílem prevence další imunizace.

2.5.2.1 Kalcineurinové inhibitory

Kalcineurinové inhibitory přinesly průlom v transplantální medicíně, snížili riziko odhojování štěpů a výrazně prodloužili funkci a přežívání transplantovaných orgánů.

Prvním lékem z této skupiny byl cyklosporin, posléze byl zaveden tacrolimus a jeho různé formy s prodlouženým uvolňováním.

Jejich účinek je založen na potlačení syntézy IL-2 T-lymfocyty: vytvořením komplexu s imunofilinem FK506 vázajícím proteinem 12 blokuje aktivitu fosfatázy kalcineurinu a následně produkci IL-2. Cyklosporin a cyklosporin se vážou na jiný imunofilin, studie in vivo a in vitro ukazují, že tacrolimus je ve svých imunosupresivních efektech 10-100x účinnější než cyklosporin. Tacrolimus mimo to inhibuje aktivitu NO syntetázy a apoptotické děje a může potencovat imunomodulační účinky kortikosteroidů.^{32,35}

Odvrácenou stránkou účinného potlačení imunity kalcineurinovými inhibitory jsou však jejich četné nežádoucí účinky.

Cyklosporin nese riziko arteriální hypertenze, hyperlipidemie, hirsutismu, gingivitidy a hyperplazie dásní, neurotoxicity a nefrotoxicity.^{30,35-37}

U léčby tacrolimem jsou nežádoucí účinky méně závažné a obvykle lépe tolerovány, ale rovněž může působit nefrotoxicky a neurotoxicky (tremor, zhoršení polyneuropatie), či způsobovat poruchy glukózového metabolismu, průjmy, pruritus či alopecii.^{30,35–37}

Jejich hladiny musí proto být pravidelně monitorovány a dávka titrována dle údolní hladiny v krvi před dalším podáním a individuální tolerance pacientem. Cílové hladiny jsou vyšší v prvních 6 měsících po transplantaci, či u pacientů s léčenou rejekcí transplantovaných orgánů.³⁰

2.5.2.2 Antimetabolity

Další častou používanou skupinou jsou léky s antimetabolickým účinkem. Jejich efekt je založen na inhibici syntézy purinů a replikace syntézy DNA u rychle se dělících buněk, mezi které patří i buňky imunitního systému.^{38,39}

Prvním používaným lékem této skupiny byl purinový analog azathioprin, který byl postupně nahrazen mykofenolát mofetilem (či enterosolventní formou mykofenolátem sodným) pro lepší výsledky u orgánových transplantací.^{40–43}

Tyto léky však také mají široké spektrum nežádoucích účinků. U léčby azathioprinem se často objevovala nauzea, únava, artralgie a myalgie, hepatotoxicita, či útlum hematopoézy v kostní dřeni.³⁸

Léčba mykofenolátem nese riziko zejména gastrointestinálních nežádoucích účinků – nauzea, průjem, zánětlivé změny střevní sliznice, či podobně hematologických abnormalit a poruchy hematopoézy vedoucích k anémii, leukopenii, neutropenii.³⁹ Tyto často vyžadují redukci dávek, či změnu terapie. Při gastrointestinálních nežádoucích projevech je vhodnou alternativou enterosolventní mykofenolát sodný, u kterého jsou nežádoucí účinky mírnější a je dlouhodobě lépe tolerován.⁴⁴

2.5.2.3 mTOR inhibitory

Léky ze skupiny mTOR inhibitorů (sirolimus a everolimus) byly původně objeveny jako antibiotika s fungicidním účinkem, brzy poté se ukázal jejich vliv na růst a dělení buněk a našli svoje místo v protinádorové léčbě i imunosupresivních protokolech po orgánové transplantaci.^{45–47} mTOR (mammalian target of rapamycin) je serin/threonin kináza, která se

podílí na množství regulačních procesů buněčného růstu, diferenciace, proliferace.

Rapamycin, první objevený mTOR inhibitor, se váže na imunofylin-FK506-binding factor 12 a inhibuje fosforylaci mTORC1.

Inhibice mTOR tak interferuje s rozmanitými cestami buněčné signalizace pro proteosyntézu, růst a dělení buněk, mají antiproliferační efekt a ovlivňují tak aktivaci T-lymfocytů jinou cestou než kalcineurinové inhibitory.^{46,47}

Nejčastěji jsou využívány v imunosupresivních protokolech po transplantaci pankreatu či Langerhansových ostrůvků v kombinaci s tacrolimem.^{45,48–52}

Mezi jejich časté nežádoucí účinky patří poruchy hojení ran, častější kýly v jizvě, či lymfokély, dále mohou způsobovat abnormality v krevním obrazu, porucha glukózové tolerance a hyperlipidémie^{45,46,50}.

Vzhledem ke zmíněnému spektru nežádoucích účinků, zejména komplikovanému procesu hojení, se postupně používají až v časovém odstupu několika měsíců po transplantaci, často jako lék druhé volby při intoleranci mykofenolátu.^{2,3,45} Dále mají své místo v imunosupresivních protokolech v situacích, kdy je léčba kalcineurinovými inhibitory nežádoucí, anebo špatně tolerovaná, či u pacientů s replikací polyomaviru.^{2,3,53}

Mimo imunosupresivní účinky mTOR inhibitorů je v kontextu diabetické retinopatie zajímavý i jejich inhibiční účinek na angiogenezi.

mTORC1 kináza totiž aktivuje translaci HIF-1alfa (hypoxic factor-1 α), který je transkripčním faktorem pro VEGF (vascular endothelial growth factor). Tento růstový faktor je klíčovým faktorem novotvorby cév v sítnici. Spouští kaskádu zvýšené vaskulární permeability, aktivace endoteliálních buněk, degradace bazálních membrán, proliferaci a migraci buněk endotelu a tvorbu nových cév. U pokročilé diabetické retinopatie je HIF-1-alfa a následně VEGF ve zvýšené míře exprimován v částech sítnice, která trpí hypoxií a ischemií.^{54,55}

Blokáda této patofyziologické cesty prostřednictvím protilátek proti VEGF patří k zavedené moderní léčbě proliferativní diabetické retinopatie a diabetického makulárního edému.⁵⁶

Podobně se v poslední době zkoumá i možnost léčby retinopatie (ale i jiných onemocnění sítnice) působením na úrovni mTOR, lokálně aplikovanými inhibitory či genovou terapií.⁵⁵

mTOR inhibitory se běžně používají po transplantaci inzulín produkující tkáně. Jejich efekt na patofyziologické procesy v sítnici nebyl dosud studován.

2.5.2.4 Kortikosteroidy

Kortikosteroidy jsou nejstarší skupinou imunosupresivních léků. Mají široké protizánětlivé a imunomodulační působení, inhibují tvorbu proinflammatorních cytokinů a prostaglandinů, snižují vaskulární permeabilitu a mají řadu dalších účinků.⁵⁷ Zpočátku byly součástí prakticky všech imunosupresivních schémat. V současnosti se jejich užívání omezuje. Pulzní léčba methylprednisolonem se využívá v indukční imunosupresi a při léčbě rejekčních epizod.^{2,3,30}

Vzhledem k tomu, že ale mají rovněž výrazné nežádoucí na glukózový metabolismus, u pacientů léčených transplantací pankreatu či ostrůvků převládá snaha jejich dávky omezovat na minimum, případně je vysazovat či nepodávat. Proto se užívají zejména v prvních týdnech po transplantaci, poté je část transplantačních center vysazuje, ale některé je ponechávají dlouhodobě.^{2,3,17,30}

2.5.2.5 Blokátory kostimulace

Alternativou běžně používaných přípravků z výše zmíněných skupin je blokátor kostimulace T-lymfocytů, belatacept (fúzní protein lidského imunoglobulinu IgG1 a CTLA4). Tato léčba je vhodná u pacientů, kteří z různých důvodů netolerují léčbu inhibitory kalcineurinu, či ve specifických případech s problematickým nastavením a udržením imunosupresivní terapie perorálními přípravky. Protože se aplikuje jednou měsíčně intravenózní cestou, umožňuje udržení dostatečné imunosuprese i při netoleranci perorálních imunosupresiv či gastrointestinální intoleranci ostatních imunosupresiv. Toto rozhodování se opírá zejména o výsledky ze studií využívajících léčbu belataceptem po transplantaci ledviny⁵⁸ a o malé kohortové studie po transplantaci pankreatu a ledviny^{59,60}. Jediná randomizovaná studie sledující tuto terapii u kombinované transplantace ledviny a pankreatu ukázala, že účinnost této imunosuprese je nižší než standardní léčba inhibitory kalcineurinu.⁶¹

2.6 Antiinfekční profylaxe

Odvracenou stránkou účinného potlačení imunitní odpovědi po transplantaci je vyšší náchylnost k infekcím. Standardní součástí léčby je proto snaha o jejich účinnou profylaxi. Před transplantací a časně po transplantaci se proto používají širokospektrá antibiotika,

antimykotika a antivirotika (s cílem prevence infekce či reaktivace CMV). Antibiotická terapie bezprostředně po transplantaci je obvykle zvolena dle místní situace a rezistence a využívá antibiotika se širokým spektrem účinku, zejména k prevenci infekcí spojených s operačním výkonem. Dále se přidává léčba antimykotiky, zpravidla flukonazolem. Antivirotická profylaxe má za cíl předcházet zejména cytomegalovirové infekci de novo či reaktivaci a herpetickým infekcím, nejčastěji se používá léčba valgancyklovirem, její délka, intenzita a následná monitorace CMV infekce se upravuje podle znalosti o předchozí imunizaci příjemce a hladinách CMV protilátek u dárce, obvykle se používá 3-6 měsíců po transplantaci. Také profylaxe pneumocystové pneumonie kotrimoxazolem se přidává do léčby prvních 6-9 měsíců po transplantaci.^{2,3}

3. LÉČBA PACIENTŮ PO TRANSPLANTACI

3.1 Časné pooperační období

V perioperačním období vyžadují pacienti po transplantaci intenzivní pooperační péči na monitorovaném lůžku. Jsou ohroženi komplikacemi, které plynou ze samotného operačního zákroku a z intenzivní indukční imunosupresivní léčby.

Mezi nejčastější chirurgické komplikace transplantace pankreatu patří trombóza transplantovaného štěpu, krvácení, pankreatický leak či pankreatitida štěpu a paralytický ileus. Zejména trombóza či závažnější krvácení jsou nejčastějšími příčinami ztráty štěpu pankreatu v tomto období.^{62,63}

Dále se mohou objevit nejrůznější přidružené infekční komplikace, prodloužené hojení operační rány či její infekce.⁶⁴

Časně po transplantaci také hrozí akutní rejekce transplantovaných orgánů a jejich dysfunkce. V případě neuspokojivého či opožděného rozvoje funkce transplantovaných štěpů je proto potřeba toto riziko biopsicky ověřit.

V časném období se mohou také z různých příčin dekompenzovat již přítomné mikrovaskulární komplikace souvisejících s diabetem. Může se jednat o neočekávané zhoršení retinopatie či polyneuropatie. Tyto komplikace připisují někteří autoři rychlé změně hladin krevního cukru u osob, které před tím žily v dlouhodobé hyperglykémii. Možný vliv této rychlé normalizace je ovšem sporný. Je předmětem značné části této disertační práce.

3.2 Monitorace glykémie po transplantaci

Důležitým bezprostředním kritériem funkce transplantovaného pankreatu či ostrůvků jsou aktuální hodnoty glykémie.

Časně po transplantaci pankreatu pacienti dostávají parenterální výživu, ke které obvykle preventivně doplňuje intravenózní inzulín, a to i při dobré funkci štěpu pankreatu.

Transplantační výkon představuje výrazný stresující výkon, kdy se potřeba inzulínu v některých případech enormně zvyšuje, a to i u nediabetických pacientů. U pacientů po transplantaci ostrůvků se kromě toho plně rozvíjí až po několika dnech. Pro příznivý průběh

po transplantaci je důležité udržovat glykémii co nejbližší fyziologickým hodnotám. Tomu může do značné míry bránit léčba kortikoidy i samotná stresová hyperglykémie v pooperačním období.^{65–67}

Nově vzniklá a včas detekovaná hyperglykémie naopak může upozornit na poruchu sekreční funkce, například při akutně vzniklé trombóze štěpu pankreatu.

Glykémii je proto nutné kontrolovat v krátkých intervalech glukometrem (po 1-2 hodinách při kontinuálním intravenózním podávání inzulínu, následně při převod na perorální příjem se vyšetřuje tzv. velký glykemický profil.

Vzhledem k velkým pokrokům v kontinuální monitoraci glukózy (CGM – continuous glucose monitoring) pomocí senzorů měřících hladiny glukózy v intersticiální tekutině v podkoží se proto stále více uvažuje o možnosti jejich využití u této skupiny pacientů. Kontinuální monitorace glykémie je v současnosti doporučenou metodou pro pacienty v ambulantní péči⁶⁸, a její zavedení do péče o hospitalizované pacienty, zejména v intenzivní péči, vyžaduje ověřit její přesnost, spolehlivost a podmínky, za kterých by mohla být bezpečně aplikována v praxi. Nicméně zdokonalení senzorů ke kontinuální monitoraci za poslední období, zejména přesnosti jejich měření, či jejich využití u pacientů v kritickém stavu během pandemie COVID-19 ukazuje na jejich velký potenciál i v standardní nemocniční, či dokonce intenzivní péči.^{69–75}

3.2.1 Princip CGM metody a možné interference

Kontinuální monitorace pomocí aktuálně dostupných senzorů umožňuje kvantifikaci hladiny glukózy v intersticiální tekutině pomocí tenkého vlákna senzoru, zavedeného transkutánně, či přímo subkutánně implantovaným senzorem. Měření je založeno na elektrochemickém principu s využitím redoxní glukózo-oxidázové reakce (podobně jako je tomu u většiny glukometrů). Elektroda senzoru je potažena enzymem glukóza-oxidázou. Glukóza reaguje s enzymem za vzniku peroxidu vodíku a současně vzniká elektrický proud (úměrný koncentraci glukózy), který je měřen elektrodou senzoru.⁷⁶

Naměřené hodnoty glukózy jsou v pravidelných intervalech (1-5 minut) bezdrátově odesílány přijímači, kterým může být mobilní telefon, inzulínová pumpa, či speciální zařízení pro tento účel.⁷⁷ Podle typu systému pro monitoraci rozlišujeme senzory pro okamžitou monitoraci, kde si pacient musí aktivně zobrazit aktuální data přiložením čtecího zařízení či mobilního

telefonu k senzoru, a kontinuální monitoraci glukózy, při které se data přenášejí do přijímače automaticky, za předpokladu dodržení minimální vzdálenosti pro dostatečný signál pro bezdrátovou komunikaci. Senzor tak poskytuje kontinuální data a umožňuje sledovat dynamiku změn glykémie v různých situacích, případně také nastavit upozornění a alarmy pro případy vzestupu či poklesu hladin glukózy mimo cílové rozmezí.^{68,77}

Protože hladiny glukózy v intersticiální tekutině se mění s mírným zpožděním oproti hladinám glukózy v krvi, je potřeba při interpretaci počítat s tímto fyziologickým zpožděním asi 10-15 minut.⁷⁸

Další faktory, které mohou ovlivnit přesnost měření, jsou například změny teploty v místě měření, tlak na místo zavedení senzoru, nebo významné změny v prokrvení periferních tkání. Rizikové jsou také látky, které mohou interferovat s glukózo-oxidázovou reakcí na které je založeno měření senzorem – například vysoké dávky paracetamolu a kyseliny askorbové.^{68,79–81} Některá doporučení varují i před možností narušení přenosu signálu při CT vyšetření, novější studie ale ukazují, že při něm nedochází k zásadnějším interferencím.^{79,82}

První generace senzorů pro kontinuální monitoraci vyžadovali ještě kalibraci s použitím hodnot glykémie naměřených přesnějším glukometrem, v současnosti již jsou senzory kalibrované automaticky výrobcem, ale některé z nich ještě umožňují následnou kalibraci v případě velkého rozdílu naměřených hodnot.^{68,77}

3.2.2 Hodnocení přesnosti CGM

Pro použití v klinické praxi je zásadní zhodnotit přesnost měření senzorem v porovnání s referenční metodou. V současnosti se používá několik způsobů hodnocení přesnosti měření, které vycházejí z dosud zavedených metod hodnocení přesnosti glukometrů, a zatím plně nehodnotí kontinuální charakter dat ze senzoru. Nový, adekvátnější způsob, jak uchopit tyto dynamické změny je zatím předmětem diskusí a hledá se vhodný matematický model, který by lépe zhodnotil i zachycení změn glykémie a trendů v čase. Mezi doporučované a nejčastěji používané parametry hodnocení patří⁸³:

1. **MARD** (mean absolute relative difference) – průměrná absolutní relativní odchylka je jednoduchou metodou, která hodnotí průměr absolutních hodnot mezi testovanou a referenční metodou. Nejčastěji se používá tzv. agregovaný MARD, hodnotící souhrnně porovnávané páry ze všech měření. Alternativou je výpočet MARD

jednotlivých testovaných senzorů. Konečné výsledky těchto dvou přístupů se liší minimálně, rozdíl je v přidružených parametrech variability – směrodatná odchylka a interkvartilové rozmezí pro tzv. agregovaný MARD je zpravidla větší. V současnosti se hodnoty nejpřesnějších glukometrů pohybují v hodnotách kolem 5% v závislosti na hodnotách glykémie.^{84,85} U CGM jsou přijatelné hodnoty do 10%.⁸⁴ MARD senzorů hodnocen v ambulantní péči za fyziologicky stabilních stavů je udáván mezi 9-10%.^{86,87}

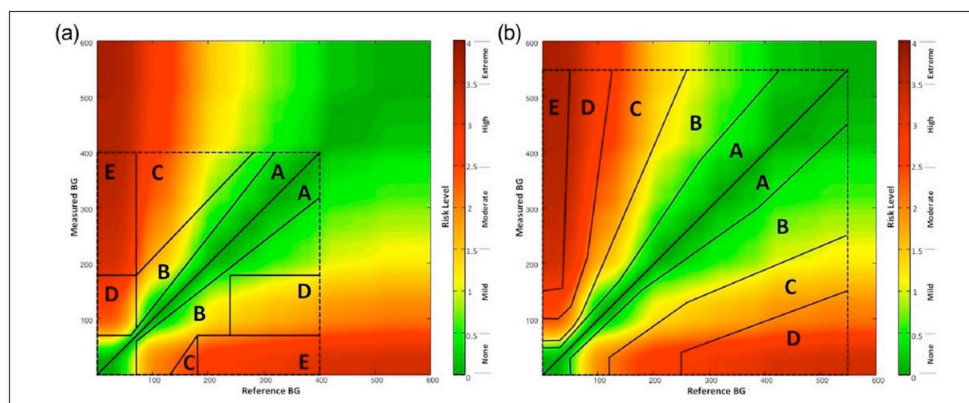
2. **Bias** – absolutní a relativní systematická chyba měření, často současně hodnocena za použití Bland-Altmanovy analýzy je doplňujícím parametrem k hodnocení za pomoci relativních odchylek.
3. **Agreement rate** – proporce porovnávaných výsledků měření, které jsou v definovaném limitu (např. 15 mg/dl či 15%) vůči referenčním hodnotám – tento parametr je součástí ISO kritérií⁸⁸ pro hodnocení přesnosti glukometrů, či FDA kritérií pro schvalování senzorů pro použití s inzulinovými pumpami typu AID (automated insulin delivery)⁸⁹
4. **Error Grid** – tento přístup zohledňuje mimo matematických odchylek i klinický význam rozdílů mezi naměřenými hodnotami testovaného senzoru oproti referenční metodě. Vychází z konsenzu odborníků, kteří v sérii dotazníků hodnotili klinickou závažnost rozdílů porovnávaných hodnot a případného dopadu nesprávného rozhodnutí na základě chybně naměřené hodnoty glykémie. Nejstarší **Clarkův Error Grid**⁹⁰ z roku 1987 tak sestával z pěti zón od bezpečné zóny A, přes mírné, přijatelné riziko v zóně B až po extrémně velké riziko v zóně E. Dalším, modernějším modelem byl **Parkesův Error Grid**⁹¹ z roku 2000, také známý jako Consensus Error Grid. Obě tyto metody byly sestaveny pro hodnocení přesnosti glukometrů – Parkesův Error grid je součástí mezinárodních ISO kritérií pro validaci glukometrů.⁸⁸ Nejnovější **Surveillance Error Grid**^{92,93} (z roku 2014) přišel s kontinuálním přechodem mezi jednotlivými zónami a více detailním hodnocením rizika s využitím počítačového modelu, je k dispozici jako volně dostupný analytický nástroj na stránkách společnosti Diabetes Technology Society⁹⁴ a v současnosti jej využívá většina klinických studií. Výsledek hodnocení touto metodou je rozvrstvení párů porovnávaných glykemických hodnot do odstupňovaných zón rizika a vyhodnocení procentuálního zastoupení měřených párů v jednotlivých zónách. Tato metoda tak poskytuje ucelenější obraz klinické významnosti nepřesnosti v měření a jeho reálný dopad v praxi. Podle konsenzu by v tomto hodnocení mělo 95 % porovnávaných párů

v zóně A, a ideálně minimum rizikových zónách C a dalších. Grafické provedení jednotlivých variant Error Grid a ilustrativní zobrazení možných výsledků na základě počítačové simulace ukazují obrázky 1 a 2. Kovatchev et al v r. 2004 publikovali první pokus k hodnocení kontinuálního měření – **Continuous Glucose (CG) Error Grid** ⁹⁵, který se ale, pravděpodobně pro svůj složitý design, v praktickém použití neujal.

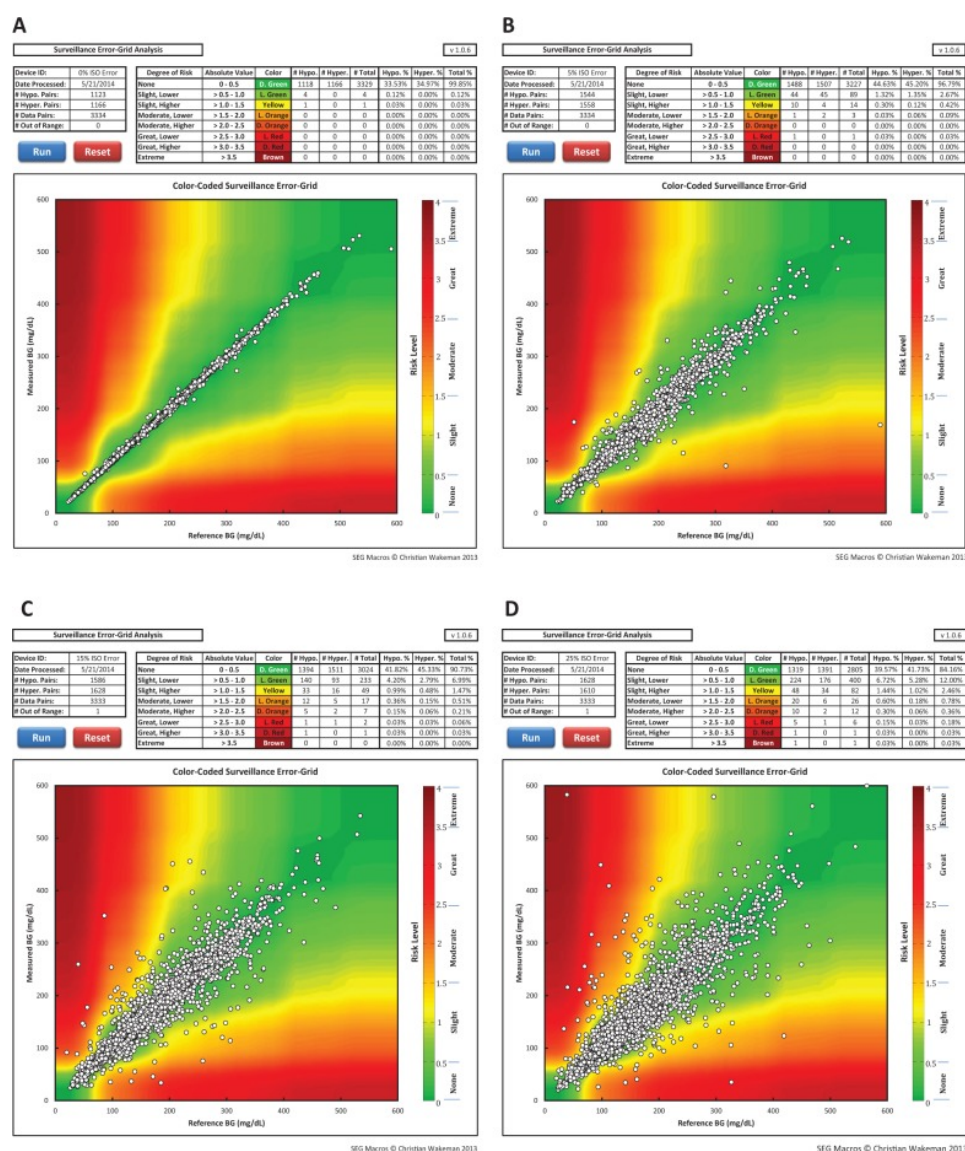
Každá z těchto metod hodnotí určitý aspekt chyby v měření, a jelikož zatím není zavedena jednotná metoda vhodná pro posouzení kontinuální monitorace, dle mezinárodního konsenzu se doporučuje v klinických studiích vyhodnotit a udávat data ze všech těchto analýz, k získání uceleného obrazu o přesnosti posuzovaného senzoru.⁸³

Důležitý je i výběr správné referenční metody a vzorku pro hodnocení hodnot glukózy. Nejpresnější analytickou metodou měření je biochemické stanovení glukózy hexakinázovou metodou v krevní plazmě žilní krve, toto je však pro běžné a časté odběry hodnot nepraktické. V běžné praxi se nejčastěji používají vzorky kapilární krve a měření validovaným glukometrem (dle ISO kritérií), alternativou (například v intenzivní péči) je použití arteriální krve a hodnocení analyzátozem pro acidobazickou rovnováhu. Mezi těmito přístroji je však velká variabilita v přesnosti měření a je nutné, aby byly pravidelně kalibrovány.⁹⁶

Metaanalýza běžně používaných metod ke stanovení glykémie v intenzivní péči ukazuje mnohá rizika nepřesnosti měření v kritických stavech, zapříčiněné hypoperfuzí, hypoxemií, změnami vnitřního prostředí, hladinou hemoglobinu a hematokritu i používanou terapií. Rozdíly mezi hladinami glukózy v arteriální, venózní a kapilární krvi mohou být mnohem významnější než u stabilních pacientů. Ze zhodnocení dosavadních studií se ukazuje, že v tomto kontextu je nejbezpečnější stanovení hladin glukózy z arteriální krve za použití point-of-care analyzátoru acidobazické rovnováhy a krevních plynů.⁹⁷



Obrázek 1: Grafické zobrazení Surveillance Error Grid se superponovanými staršími variantami Clarkovho Error Grid (a) a Parkesovho Error Grid (B), převzato z Klonoff et al., The Surveillance Error Grid, J Diabetes Sci Technol., 2014



Obrázek 2: Počítačová simulace pro různé úrovně chyby měření dle ISO kritérií: 0 % (A), 5 % (B), 15 % (C) a 25 % (D), zobrazené v Surveillance Error Grid, přičemž úroveň 5 % je dle ISO jedním z kritérií pro přijatelnou přesnost testovaných glukometrů. Pevzato z Kovatchev et al., Computing the Surveillance Error Grid Analysis, J Diabetes Sci Technol., 2014

3.2.3 Hodnocení glykemické kompenzace na základě dat z CGM

Data z kontinuální měření glykémie se podle doporučení mezinárodních odborných společností hodnotí jako procento času v jednotlivých rozmezích glykémie⁹⁸:

- Čas v cílovém rozmezí (Time in Range) – 3,9-10 mmol/l
- Čas v hyperglykémii 1.stupně (Level 1 hyperglycaemia) – 10-13,9 mmol/l
- Čas v hyperglykémii 2.stupně (Level 2 hyperglycaemia) – nad 13,9 mmol/l
- Čas v hypoglykémii 1.stupně (Level 1 hypoglycaemia) – 3-3,9 mmol/l
- Čas v hypoglykémii 2.stupně (Level 2 hypoglycaemia) – pod 3 mmol/l

Dále se vyhodnocuje:

- Průměrná glukóza (mmol/l)
- Směrodatná odchylka (SD, mmol/l)
- Variační koeficient (CV, %) (=SD/průměrná glukóza)
- GMI (glucose management indicator) – odhad dlouhodobé kompenzace z naměřených dat ze senzoru, analogický k HbA1c

Dle nejnovějších doporučení by se měla udávat i četnost a trvání epizod tzv. extended hypo/hyperglycaemia – delších epizod hypoglykémie či hyperglykémie (nad 2 hodiny). Současně je potřeba uvést informaci o proporci (%) času s aktivním senzorem za monitorované časové období.⁹⁸

3.2.4 Využití CGM v časné perioperační péči

Přestože v perioperačním období, či v intenzivní péči vede hyperglykémie k vyšší morbiditě i mortalitě pacientů a zhoršuje pooperační průběh a hojení ran, či prodlužuje dobu hospitalizace^{66,67,99–101}, jedinou doporučenou metodou pro monitoraci glykémie je klasický způsob – časté kontroly glukometrem.^{67,102} Recentní rychlý rozvoj senzorů pro kontinuální monitoraci, přinášející výrazně lepší přesnost a spolehlivost měření, však v posledních letech vedl k prvním pokusům testovat jejich použití i v intenzivní či perioperační péči. Velkým průlomem bylo zejména období pandemie COVID-19, kdy možnost kontinuální monitorace přinesla potenciál snížit četnost rizikových kontaktů personálu s infekčními pacienty, ale současně zachovat dostatečnou kontrolu glykemické kompenzace. První malé studie z tohoto období ukázaly, že CGM může být překvapivě přesná a použitelná i u pacientů v kritickém

stavu, vyžadujících oběhovou podporu vazopresory či umělou ventilaci.^{69–75} Přesnost senzorů byla sice o něco nižší než přesnost měření glukometrem, ale klinický význam těchto odchylek nebyl velký a často benefit kontinuálních dat a alarmů při kritických hodnotách převážili nad těmito odchylkami v přesnosti měření. I když šlo o malé, často retrospektivní, kohortové studie, jejich přínosem bylo, že otevřeli dveře dalším, lépe metodicky postaveným testováním a diskusi o využití CGM v intenzivní a pooperační péči.

Současně byly publikovány studie z centra v Bernu, zaměřené přímo na perioperační využití CGM¹⁰³, případně i ve spojení s inzulinovou pumpou s automatickým dávkováním inzulinu,^{104,104} s velmi slibnými výsledky.

3.2.5 Studie s využitím CGM po transplantaci pankreatu

Práce s využitím CGM po transplantaci pankreatu se zaměřením na časné pooperační období zahájili monitoraci nejdříve od 7. pooperačního dne¹⁰⁵, v jiné studii až 3 týdny po transplantaci¹⁰⁶, či v ještě delším časovém intervalu od operace¹⁰⁷. Byly zaměřené především na posouzení glykemické kompenzace v potransplantačním období, zhodnocení rozvoje funkce štěpu a vliv silné indukční imunosuprese kortikoidy. Zatím žádná studie nesledovala možnost použití senzorů v období těsně po operaci, kdy se teprve rozvíjí funkce štěpu, pacienti jsou po náročné operaci v závažném stavu, s oběhovou či ventilační podporou a vyžadují kontinuální léčbu inzulinem i při dobré funkci štěpu, protože dostávají parenterální výživu.

3.3 Dlouhodobé sledování po transplantaci

Dlouhodobá péče o pacienty po transplantaci se zaměřuje na sledování funkce transplantovaných orgánů a prevenci komplikací imunosupresivní léčby, ale i samotného diabetu.

Běžnou součástí je tedy pravidelné sledování parametrů funkce ledvin a pankreatu – glomerulární filtrace, glykovaného hemoglobinu, hladin glykémie a pankreatických enzymů (které mohou být časným markerem rejekce). Zjištěná dysfunkce je potom upřesněna pomocí dalších vyšetření. Zde je již běžnou součástí využití kontinuální monitorace glykémie k posouzení funkce transplantovaných ostrůvků, přičemž přechodně se používá i po

transplantaci pankreatu. V případě zhoršení funkce štěpů (tj. zhoršení glomerulární filtrace, elevace hladiny glykémie, glykovaného hemoglobinu, či pankreatických enzymů), které budí podezření na možnou rejekci, je indikována biopsie štěpů pod ultrazvukovou kontrolou.

V některých centrech se využívá i protokolární biopsie ke časně kontrole histologického nálezu v transplantovaných štěpech (v našem centru se t.č. provádí biopsie štěpu ledviny standardně 3 měsíce po transplantaci).

Dále se v pravidelných intervalech provádí screening infekčních komplikací a jejich prevence a v dlouhodobém horizontu i screening možných nádorových komplikací.

Jelikož komplikace diabetu představují riziko i po úspěšné transplantaci, je potřeba dbát na kardiovaskulární prevenci, léčbu dyslipidémie a arteriální hypertenze, omezení ovlivnitelných rizikových faktorů a také prevenci, monitoraci a možnou léčbu mikrovaskulárních komplikací diabetu – zejména neuropatie a syndromu diabetické nohy a očních komplikací.

4. VÝVOJ DLOUHODOBÝCH KOMPLIKACÍ DIABETES MELLITUS PO TRANSPLANTACI

Léčba transplantací pankreatu (či v některých případech transplantací Langerhansových ostrůvků) je v současnosti jedinou metodou, která zajistí obnovení fyziologické endogenní regulace glykémie u pacientů s inzulin-dependentním diabetem.^{1–3} Představuje tak modelovou situaci, kde máme možnost sledovat vliv dosažení normoglykémie na další vývoj komplikací diabetu. Podobně radikální, i když mnohem méně výrazné zlepšení kompenzace, můžeme očekávat u zahájení léčby inzulinovými pumpami s hybridní, či v budoucnu plně uzavřenou smyčkou regulace glykémie.

Dlouhodobá hyperglykémie je jednoznačně hlavním rizikovým faktorem pro rozvoj komplikací diabetu.^{108,109} U makrovaskulárních komplikací se k tomu ve větší míře uplatňují i další rizikové vlivy, které ale současně ovlivňují i rozvoj mikrovaskulárních komplikací – arteriální hypertenze, dyslipidémie, genetické faktory a další.^{110–113}

Patofyziologické mechanismy vlivu vysokých hladin glykémie na tkáně zahrnují celou škálu alternativních metabolických cest zpracování glukózy a jejích důsledky – polyolovou, hexosaminovou cestu, zvýšenou tvorbu tzv. pozdních produktů glykace (AGEs-advanced glycation end products) a volných kyslíkových radikálů, aktivaci proteinkinázy C.^{114–117}

V několika studiích, z nichž nejrozsáhlejší a průlomová byla DCCT, se potvrdilo, že těsná kontrola glykémie významně snižuje progresi mikrovaskulárních komplikací diabetu¹⁰⁸. Následné několikaleté sledování pacientů z obou větví studie (ve studii DCCT/EDIC) potvrdilo, že protektivní efekt dobré metabolické kompenzace (tzv. metabolická paměť) přetrvává dlouhodobě a současně se začal ukazovat i její příznivý vliv na komplikace makrovaskulární.¹¹⁸

U kandidátů transplantace pankreatu a ledviny se kromě dlouhodobé hyperglykémie a s ní spojených komplikací diabetu ještě při postupné progresi chronické renální dysfunkce přidávají další metabolické abnormality a rizika. Pacienti mohou mít různě vyjádřené komplikace urémie, metabolickou acidózu, hyperfosfatemii, sekundární hyperparathyreózu, K tomu se při definitivním selhání funkce ledvin přidávají i rizika dialyzační léčby. Tyto vlivy ještě více akcelerují progresi již přítomných mikro- a makrovaskulárních změn.^{119,120}

Kandidáti izolované transplantace pankreatu či transplantace Langerhansových ostrůvků se v tomto ohledu od pacientů připravovaných ke kombinované transplantaci odlišují. I když často mají po letech diabetu rozvinuté komplikace, je zde naděje na případnou regresi některých orgánových komplikací větší.

Jedním z cílů této disertační práce je podrobné prospektivní sledování vývoje diabetické retinopatie po transplantaci, věnujeme této problematice samostatnou kapitolu. Zde ve stručnosti uvádíme současné poznatky o dalších komplikacích diabetu.

4.1 Diabetická nefropatie

U pacientů podstupujících samotnou transplantaci ledviny bez transplantace pankreatu se první známky rekurence diabetických změn (ztluštění bazálních membrán či expanze mesangia) objevují již 1-2 roky po transplantaci.^{121,122} Při současné transplantaci pankreatu a obnovení normoglykémie však může být transplantovaná ledvina těchto změn ušetřena až po dobu 10 a více let.^{123–125} Podmínkou však je dobrá funkce štěpu pankreatu. Selhání funkce štěpu pankreatu v prvních 90 dnech^{126,127} či prvním roce¹²⁸ po transplantaci je významným rizikovým faktorem následného časného selhání funkce štěpu ledviny.

Také transplantace pankreatu po transplantaci samotné ledviny (například od žijícího dárce) zlepšuje dlouhodobou funkci transplantované ledviny^{129–131}, avšak závisí na intervalu mezi jednotlivými transplantacemi, který by neměl být delší než jeden rok.^{132,133}

Tyto výsledky pochází ze studií provedených před zavedením inzulinových pump s automatickou úpravou dávky inzulinu (automated insulin delivery systems – AID), které významně zlepšují kompenzaci diabetu a v současné době zatím nebyly provedeny studie, které by porovnávali pacienty po transplantaci ledviny léčených AID s pacienty po transplantaci ledviny a následné transplantaci pankreatu.

Po úspěšné transplantaci samotného pankreatu dokonce může už po 5 (dle některých studií 10) letech docházet k regresi již přítomných patologických změn v nativních ledvinách.^{134–137} Rizikem v této situaci je současná nefrotoxicita imunosupresivní léčby, zejména kalcineurinových inhibitorů³⁷, proto je jedním z kritérií indikace samotné transplantace pankreatu normální glomerulární filtrace (eGFR nad 90 ml/min/1.73m²), v případě detekce proteinurie či glomerulární filtraci eGFR v rozmezí 60-89 ml/min/1.73m² se doporučuje

individuálně zvážit rizika a benefity transplantační terapie a nefrotoxického efektu dlouhodobé imunosupresivní léčby.^{2,3}

4.2 Diabetická neuropatie

Pacienti připravováni ke kombinované transplantaci pankreatu a ledviny obvykle trpí závažnými formami jak somatické, tak autonomní diabetické neuropatie, která může přispívat k jejich morbiditě a mortalitě po transplantaci.^{138,139}

Studie zkoumající další vývoj neuropatie po normalizaci glykémie transplantační léčbou přinášejí mírně rozporuplné výsledky o míře zlepšení těchto projevů či dokonce regenerace nervových vláken.

Možnosti sledování míry neuropatického poškození a případné regrese patologických změn zahrnují klinické hodnocení tíže symptomů, fyzikální neurologické vyšetření, kvalitativní senzorické testování, měření rychlosti vedení vzruchu, elektrofyzilogické metody, či různé funkční testy autonomního nervového systému – například 24hodinové monitorování variability srdeční frekvence a spektrální analýzu variability srdeční frekvence. Regeneraci nervových vláken lze posoudit z biotických vzorků z biopsie lýtkového nervu, kožních biopsií, či biopsií ze sliznice žaludku při endoskopii (autonomní vlákna). Zajímavou neinvazivní metodou umožňující sledovat regeneraci nervových vláken je korneální konfokální mikroskopie, (neinvazivní zobrazení korneálních nervových vláken), která může být citlivým a časným markerem zlepšení po transplantaci.

Při posuzování rychlosti vedení vzruchu nervovými vlákny v dlouhodobém sledování po dobu 10 let bylo po transplantaci pankreatu (SPK, PAK i PTA) pozorováno v porovnání s kontrolní skupinou zlepšení u motorických a senzorických vláken, zatímco u kontrolní skupiny se rychlost šíření progresivně zhoršovala.¹⁴⁰ U nervových vláken autonomního nervového systému tento efekt transplantace však nebyl tak výrazný.

Naproti tomu v krátkodobém sledování první rok po transplantaci se tento vliv zásadněji neprojevil.¹⁴¹

V jiné studii porovnávající pacienty po SPK se skupinou po samotné transplantaci ledviny autoři popisují zlepšení funkce autonomních nervů již během prvního roku po transplantaci.¹⁴²

Podobně jiná malá studie monitorovala změny rychlost vedení nervovými vlákny, avšak jen u 5 pacientů po transplantaci pankreatu a ledviny. Výrazné zlepšení tohoto parametru bylo podmíněné plnou funkcí štěpu pankreatu¹⁴³.

Dvě studie hodnotily neuropatické změny a jejich regresi u pacientů po transplantaci samotného pankreatu pomocí Michigan Neuropathy Instrument Score¹⁴⁴ a popisují signifikantní zlepšení v prahu pro vibrační citlivost, vedení vzruchu a autonomních funkcích.^{134,135}

U studií zaměřených na hodnocení autonomní neuropatie pomocí analýzy variability srdeční frekvence při použití 24hodinového monitorování popisují pozitivní efekt transplantace pankreatu na normalizaci neuropatických změn¹⁴⁵. Naproti tomu při použití spektrální analýzy variability srdeční frekvence¹⁴⁶ nebyly pozorovány signifikantní rozdíly ani po úspěšné transplantaci.

Podobně kontroverzní je i téma regenerace nervových vláken po transplantaci, která je u pacientů s diabetem výrazně oslabena.¹³⁸ Studie z našeho centra v IKEM sledující regeneraci vláken s využitím bioptických metod bohužel neprokázala morfologické zlepšení ani v dlouhodobém sledování po dobu 8 let po transplantaci.^{147–150} Naopak v kasuistickém sdělení byla po samotné transplantaci pankreatu při hodnocení biopsií lýtkového nervu popsána postupná regenerace nervových vláken v čase.¹⁵¹ Podobně při použití korneální konfokální mikroskopie byla pozorována obnova malých nervových vláken už 6 měsíců po transplantaci.^{141,152,153}

Z těchto na první pohled protichůdných zjištění lze usuzovat, že možnost regrese neuropatických změn pravděpodobně závisí na míře předchozího poškození,

Současně je potřeba zmínit, že neurotoxický vliv má i samotná dlouhodobě užívaná imunosuprese – kalcineurinové inhibitory.³⁶

4.3 Makrovaskulární komplikace

Kardiovaskulární komplikace jsou hlavní příčinou morbidity a mortality pacientů po transplantaci pankreatu¹⁵⁴ – v časném pooperačním¹⁵⁵ i dlouhodobém období.⁶⁸

Proto je podrobné předoperační posouzení kardiovaskulárního rizika zásadní součástí předtransplantačního vyšetření a u většiny center zahrnuje kromě EKG a

echokardiografického vyšetření i selektivní koronarografií.^{156,157} Důležité je i ultrasonografické vyšetření tepen dolních končetin a karotid ke zhodnocení případných tepenných stenóz.

Podobně jako u mikrovaskulárních komplikací i zde počáteční studie s kratší dobou sledování, porovnávající progresi kardiovaskulárních změn po transplantaci pankreatu a ledviny s transplantací samotné ledviny přinesli protichůdné a nepřesvědčivé výsledky o redukcii kardiovaskulárního rizika a progresi aterosklerotických změn v cévách.^{158–161} Studie z norského registru ukázala porovnatelný průběh s pacienty po transplantaci ledviny od žijícího dárce, avšak vstupní nálezy na koronárních tepnách byly u kandidátů transplantace ledviny a pankreatu více pokročilé již před transplantací.¹⁶²

Další práce naopak ukazují, že kombinovaná transplantace ledviny a pankreatu přináší oproti samotné transplantaci ledviny (i od žijícího dárce) pozitivní vliv na progresi makrovaskulárních změn a snížení celkové i kardiovaskulární mortality (za předpokladu dobré funkce štěpu pankreatu)¹⁶³. Popisují nižší výskyt infarktu myokardu^{164–166}, zlepšení funkce levé komory srdeční^{164,166,167} a srdečního metabolismu při hodnocení MR spektroskopii.¹⁶⁸

Pokud jde o nemoci periferních tepen, bylo rovněž prokázáno snížení výskytu cerebrovaskulárních příhod,¹⁶⁴ zlepšení aterosklerotických změn v krčních tepnách hodnocených podle tloušťky intima media,^{169–171} či zmírnění postižení dalších periferních tepen^{164,172}

Pro hodnocení vlivu na kardiovaskulární morbiditu a mortalitu je důležité dostatečné dlouhé sledování těchto změn po transplantaci. Lindahl et al. v retrospektivních datech z norského registru transplantací popisují nižší riziko kardiovaskulární mortality u pacientů po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny v porovnání s transplantací ledviny od žijícího dárce při mediánu sledování 8 let¹⁷³. Studie Biesenbacha et al.¹⁶¹ a Knighta et al.¹⁵⁸ s délkou sledování 70 a 45 měsíců po transplantaci neprokázaly rozdíl v postižení periferních tepen u pacientů po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny v porovnání s pacienty po transplantaci ledviny samotné, jiná studie dokonce ukázala po čtyřletém sledování horší výsledky u SPK v porovnání se samotnou ledvinou.¹⁵⁹ Naproti tomu v pozdější studii Biesenbacha et al.¹⁶⁴ se ukázalo, že zatímco po 5 letech byly rozdíly pro cévní postižení nevýznamné, po 10 letech byly už nálezy cévního postižení u skupiny po SPK signifikantně mírnější, než u pacientů po transplantaci samotné ledviny.

Ve shodě s tím data o dlouhodobém přežívání pacientů po transplantaci pankreatu a ledviny v porovnání s pacienty po transplantaci samotné ledviny také ukazují, že po 10 letech se zvyrazňuje benefit funkčního štěpu pankreatu a tito pacienti přežívají déle.^{128,174}

Kromě již zmiňované norské studie Lindahla et al. popisující nižší riziko kardiovaskulární mortality u pacientů po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny v porovnání s transplantací ledviny od žijícího dárce při mediánu sledování 8 let¹⁷³, podobně studie z UK Transplant registry u 15000 pacientů¹⁷⁵ a další^{128,174} potvrzují lepší přežívání u SPK v porovnání s LDK, za podmínky funkčního štěpu pankreatu.

Jelikož kardiovaskulární příhody jsou nejčastější příčinou úmrtí u této skupiny pacientů, tyto výsledky nepřímo naznačují, že dlouhodobě udržená normoglykémie má vliv na progresi makrovaskulárních změn. Vliv SPK na celkovou a kardiovaskulární mortalitu tedy závisí na funkci štěpu pankreatu a začíná se výrazněji projevovat až v horizontu 10 let po transplantaci.

Úspěšná transplantace pankreatu prokazatelně příznivě ovlivňuje i další rizikové faktory kardiovaskulárních onemocnění – arteriální hypertenzi a dyslipidemii^{169,176,177} či hemostatické abnormality¹⁷⁸ u těchto pacientů.

Méně početné studie sledující vliv samotné transplantace pankreatu přináší podobné výsledky – zlepšení srdeční funkce a morfologických změn při echokardiografickém vyšetření^{134,179–181} a redukci rizikových faktorů kardiovaskulárních onemocnění (dyslipidémie a arteriální hypertenze)^{134,179}.

4.4 Syndrom diabetické nohy po transplantaci

Vzhledem k pokročilé neuropatii a postižení periferních tepen u kandidátů transplantace mají tito pacienti i po transplantaci vysoké riziko rozvoje syndromu diabetické nohy, navíc potencionálně imunosupresivní terapií, která může zhoršovat průběh infekce či hojení rány. Ve studii z našeho centra¹⁸² se až u třetiny pacientů vyvinul defekt na dolních končetinách v průběhu prvního roku po transplantaci. Rizikovými faktory pro syndrom diabetické nohy u této skupiny byla předchozí anamnéza syndromu diabetické nohy, nemoci periferních tepen dolních končetin, nožní deformity a vyšší úroveň volnočasové fyzické aktivity v období před transplantací.¹⁸² Součástí přípravy k transplantaci a následných kontrol by proto měl být pravidelný screening rizika syndromu diabetické nohy, vyšetření neuropatie a tepen dolních končetin a cílená edukace zaměřená na prevenci komplikací (včetně vhodného přístupu k fyzické aktivitě u rizikových pacientů).

4.5 Kvalita života po transplantaci pankreatu a ledviny

Studií sledujících změny v kvalitě života po transplantaci pankreatu a ledviny není mnoho, a část z nich pochází z období před výrazným zdokonalením chirurgické techniky transplantace a prodloužením přežívání štěpů pankreatu i snížením výskytu chirurgických komplikací a nedá se proto uplatnit pro současný stav léčby⁵.

Dle cílených dotazníků v novějších studiích pacienti po kombinované transplantaci udávají zlepšení celkové kvality života spojené s celkovým zdravotním stavem i s diabetem, a lepší výsledky u kombinované transplantace v porovnání se samotnou transplantací ledviny. Plná funkce štěpu pankreatu, nezávislost na inzulinu a dobrá metabolická kompenzace jsou zásadním faktorem pro toto zlepšení.^{5,7–9,183}

5. DIABETICKÁ RETINOPATIE A TRANSPLANTAČNÍ LÉČBA DIABETU

Diabetická retinopatie je i přes velké pokroky ve screeningu a léčbě obávanou a bohužel dosud pravidelnou komplikací dlouho trvajícího diabetu a zůstává nejčastější příčinou ztráty či závažného poškození zraku v ekonomicky vyspělých zemích.^{109,184,185} Není překvapivé, že je velmi často zastoupena u kandidátů transplantační léčby diabetu, kteří mají do různé míry rozvinuté mikrovaskulární i makrovaskulární komplikace diabetu. Po úspěšné transplantaci pankreatu se u těchto pacientů obnoví endogenní regulace metabolismu glukózy, jež vede k dosažení fyziologické nebo téměř fyziologické hodnoty glykémie. Jde tak o jedinečnou situaci, kde můžeme sledovat další vývoj již přítomných komplikací diabetu po nastolení normoglykémie včetně možné reverzibility patologických změn na sítnici.

Současné možnosti léčby diabetické retinopatie, jako jsou zejména laserová terapie, chirurgická léčba a biologická léčba lokálními preparáty proti VEGF v sítnici či kortikosteroidy, cílí bohužel až na pozdní stádia retinopatie a v případě laseru také nesou riziko poškození zrakových funkcí.¹⁰⁹ Neodstraňují prvotní příčinu patologických změn, kterou zůstává zvýšená hladina krevního cukru. Léčba transplantací pankreatu (či v některých případech transplantací Langerhansových ostrůvků) je v současnosti jedinou metodou, která zajistí obnovení fyziologické endogenní regulace glykémie u pacientů s inzulín-dependentním diabetem.¹⁻³ Představuje tak modelovou situaci, kde máme možnost sledovat vliv dosažení normoglykémie na další vývoj sítnicových změn. Podobně radikální, i když mnohem méně výrazné zlepšení kompenzace, můžeme očekávat u zahájení léčby inzulínovými pumpami s hybridní, či v budoucnu plně uzavřenou smyčkou regulace glykémie.

5.1 Patofyziologie diabetické retinopatie a její morfologické projevy

V rozvoji diabetické retinopatie mají hlavní roli nejen zvýšená hladina krevního cukru^{108,186}, ale také její patologické kolísání.¹⁸⁷ Tvorba pozdních produktů glykace, dlouhodobý oxidační stres a další patofyziologické cesty vedou k postupnému narušení regulace hemodynamiky v sítnici.¹⁸⁸ Porucha glukózového metabolismu však také již v počátečních stádiích působí i neurodegenerativní změny a alteraci v mezibuněčné komunikaci

jednotlivých funkčních vrstev sítnice.¹⁸⁹ Současně se rozvíjí subklinický chronický zánět se zvýšenou tvorbou prozánětlivých cytokinů.^{188–190}

Všechny tyto patofyziologické procesy jsou v sítnici pacientů s diabetem aktivní již dlouho před tím, než se objeví první morfologické změny. V subklinickém stádiu mohou být některé změny reverzibilní, postupně však dochází k nevratnému poškození mikrovaskulatury a posléze v nejpokročilejším stádiu k proliferaci a novotvorbě cév, která pacienty ohrožuje krvácením a poškozením zraku.^{188–190}

Dalšími rizikovými faktory, které mohou přispívat k progresi cévních změn na sítnici, jsou, vedle hyperglykémie a multifaktoriálních genetických vlivů^{191,192}, arteriální hypertenze^{111,193,194} a dyslipidémie¹⁹⁵. Negativním prognostickým faktorem progresu retinopatie je také nefropatie s mikroalbuminurií.^{194,196}

5.1.1 Molekulární patofyziologické cesty vzniku diabetické retinopatie

V patofyziologii změn na sítnici má jednoznačnou zásadní roli hyperglykémie a patofyziologické kolísání hladin glykémie. Dlouhodobě zvýšená nabídka glukózy aktivuje alternativní cesty jejího metabolismu a rozehrává tak kaskádu dějů na molekulární a nitrobuněčné úrovni, které postupně vedou k poškození jednotlivých buněk sítnice, narušení jejich mezibuněčné signalizace a funkčního propojení a následně k morfologickým změnám – zejména cévního řečiště, ale i neuronálních vrstev sítnice.

Některé z těchto aberantních metabolických cest jsou společné pro všechny komplikace diabetu, jiné mechanismy jsou specifické pro retinální mikroprostředí.

a) Polyolová cesta vede k akumulaci sorbitolu a osmotickému stresu a současně k redukci hladin NADPH a depleci glutathionu, a tím ke zvýšené citlivosti k oxidačnímu stresu.^{114,197–199}

b) Zvýšená aktivace proteinkinázy C (vyššími intracelulárními hladinami diacylglycerolu) zprostředkuje řadu intracelulárních signálních drah – například aktivaci mitogen-aktivované proteinkinázy, expresi různých proteinů asociovaných se stresem (heat shock proteiny a jiné), vyšší expresi NADPH oxidázy, NFκB v cévních buňkách (endotel, hl.sval.bb) a mnoho dalších cest, a dále tak zhoršuje oxidační stres a zesiluje prozánětlivou stimulaci.^{116,197,200,201}

c) Část glukózy je metabolizována **tzv. hexosaminovou cestou** na fruktóza-6-fosfát a dále UDP-N-acetyl-glukosamin, který modifikuje transkripční faktory a dochází tak ke zvýšené expresi některých prozánětlivých a prokoagulačních faktorů (např. TGF-beta, PAI-1 a dalších).^{197,202–204}

d) Glukóza se váže neenzymatickou vazbou (glykací) na proteiny a postupně tak vznikají **tzv. konečné produkty pokročilé glykace (advanced glycation end-products – AGEs)**. Při tom se mění jejich struktura i vazebné schopnosti a funkce, ať už jde o bílkoviny bazálních membrán, buněčné receptory, či součásti cévní stěny^{205,206}. Tyto bílkoviny navíc také aktivují specifické receptory (tzv. RAGE), které vedou k expresi prozánětlivých cytokinů a zvýšenému oxidačnímu stresu²⁰⁶. Konkrétně v sítnici tato kaskáda vede k apoptóze pericytů a endoteliálních buněk, ale i k apoptóze některých neuronů a aktivaci astrocytů a Müllerových gliálních buněk.^{189,207,208}

e) **Oxidační stres a zvýšená tvorba volných kyslíkových radikálů** souvisí jednak přímo s hyperglykemií, ale také s výše zmíněnými metabolickými cestami. Při alternativních cestách metabolismu glukózy se hromadí volné kyslíkové radikály a roste množství redukováných koenzymů v mitochondriích. Zároveň však samotný oxidační stres tyto metabolické cesty dále potencuje a vytváří tak pozitivní zpětnou vazbu. S tím je spojena i postupně vznikající mitochondriální dysfunkce, při které pravděpodobně vlivem oxidačního stresu dochází k aberantní funkci elektronového transportního řetězce až poškození mitochondriální DNA.^{197,210}

f) U pacientů s diabetem je dlouhodobě **zvýšená aktivace systému renin-angiotensin-aldosteron**. Lokální akumulace glukózy a jejího metabolitu sukcinátu aktivuje GPR91 receptor v juxtaglomerulárních buňkách a stimuluje sekreci reninu. Kromě regulace krevního tlaku a hladin elektrolytů v krvi se tento systém uplatňuje i lokálním působením – také v mikrocirkulaci v sítnici. Zvýšená exprese ACE v sítnici nepříznivě ovlivňuje kapilární perfusi a cévní struktury a podílí se i na upregulaci VEGF.²¹¹ Tato zjištění byla podpořena i výsledky z experimentálních ale i klinických studií s ACE inhibitory (lisinopril, enalapril)^{212,213} či blokátory receptorů pro angiotensin 1 (losartan, candesartan)^{213–215}, které zmírňovaly progresi cévních změn na sítnici.

g) Zejména u neurodegenerativních změn v sítnici se pravděpodobně uplatňuje i **excitotoxicita glutamátu**, který je hlavním excitačním mediátorem v sítnici. V experimentálních modelech diabetické retinopatie byly pozorovány jeho zvýšené hladiny a změny exprese receptorů pro

glutamát i Ca^{2+} vazebných bílkovin. Současně i u pacientů s DR byly zjištěny vyšší hladiny glutamátu ve sklivcové tekutině a rozdíly v expresi podjednotek glutamátových receptorů.^{216,217} Dlouhodobě zvýšená stimulace glutamátem poškozuje neurony s NMDA či AMPA receptory a může vést až k jejich apoptóze.^{188–190,216–221} Jedna z hypotéz vysvětlujících tyto zvýšené hladiny vychází ze zjištění, že Müllerovy buňky mají sníženou aktivitu glutamin synthetasy a pravděpodobně tak nejsou schopny glutamát dostatečně účinně odbourávat.^{216,219–221}

Další možné mechanismy poškození zahrnují stres endoplazmatického retikula, dysregulaci neuroprotektivních faktorů ztrátou přirozené trofické stimulace inzulinu, zánětlivé změny na různých úrovních, které budou zmíněny níže, a mnoho dalších.^{188–190,197,217}

5.1.2 Cévní poškození, neurodegenerace a zánět

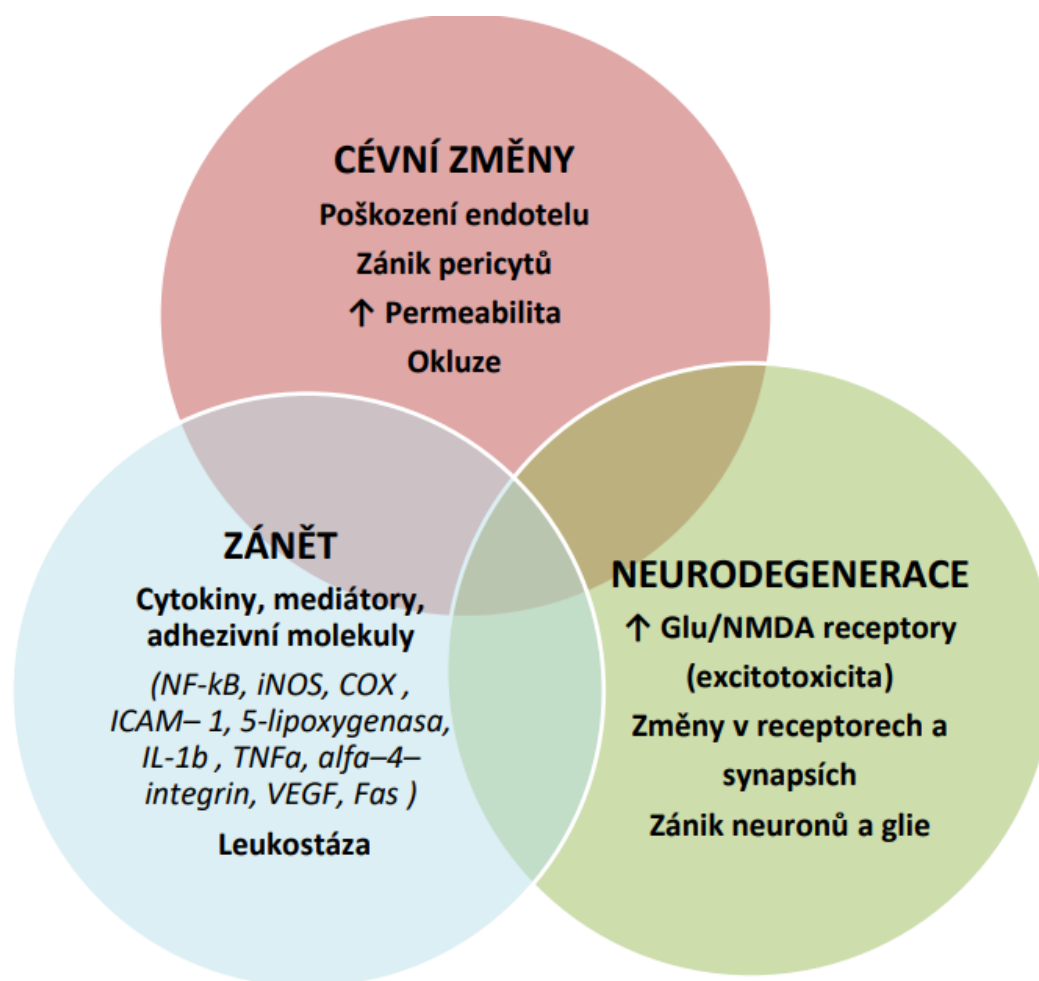
Zmíněné molekulární kaskády v různé míře narušují funkci všech druhů buněk sítnice a jejich vzájemné funkční propojení.

Jedním z nejlépe prozkoumaných patologických procesů jsou cévní změny. Dochází k poškození a postupné apoptóze pericytů, které se podílejí na autonomní regulaci průtoku krve retinální mikrocirkulací.^{189,190,207,222–225} Buňky endotelu jsou také již v počátečních stádiích nepříznivě ovlivněny hyperglykemií a rozvíjí se endoteliální dysfunkce.^{190,224,226,227} Při dlouhodobé hyperglykémii je také zvýšena krevní viskozita, zvyšuje se trombocytární agregace a erytrocyty ztrácejí svou flexibilitu. Dochází tak k další mikrotraumatizaci endotelu, čímž se uvolňuje agregračně působící von Willebrandův faktor. Poškozením a zánikem buněk cévní stěny vznikají acelulární kapiláry (tzv. ghost capillaries) s alterovanou perfusí. Zvyšuje se také riziko kapilární okluze.^{188,190,224,226–228}

Novější výzkumy přinesly zjištění, že současně (anebo ještě dřív) než se rozvine cévní poškození, jsou patrné i neurodegenerativní změny postihující nervové buňky sítnice^{188–190,197,217,227,229–232}. Tyto změny jsou pozorovatelné například při podrobném elektrofyziologickém vyšetření sítnice^{233–235}. Zároveň je možné prokazovat i postupné zhoršování některých zrakových funkcí nezávisle na cévním poškození.^{188–190,217,236–238} Uvažuje se dokonce o tom, že toto poškození je jistou formou diabetické neuropatie.¹⁹⁰ Patofyziologicky se pravděpodobně uplatňují mnohé z výše zmíněných molekulárních mechanismů, zejména pak pro neurony specifická excitotoxicita, oxidační stres, či změny

hladin neuroprotektivních faktorů a změny funkce buněk glie^{189,190,216–218,220,221,229,231,232}. Müllerovy buňky, gliální buňky specifické pro sítnici, jsou schopné modulovat průtok krve, permeabilitu cév, přežívání buněk i metabolizovat nadbytečný glutamát.^{189,218,231,239–241} U retinopatie jsou mnohé tyto funkce narušeny, je možné pozorovat jejich reaktivní gliózu a expresi tzv. gliálního acidického fibrilárního proteinu (GFAP), který za fyziologických okolností (na rozdíl od např. astrocytů) neexprimují^{240,241}. Jejich změny funkce tak ovlivňují retinální neurony, ale i cévní permeabilitu a průtok krve sítnicí.^{188–190,207,217,242} Současně se aktivuje i mikroglie (lokální imunitní buňky vnitřních částí sítnice) a makrofágy, které migrují do subretinálního prostoru a okolí cév a uvolňují prozánětlivé cytokiny.^{231,243,244} Rozvíjí se zánětlivá reakce, která tak dále poškozuje jak neuronální buňky, tak mikrocirkulaci. Vede ke změnám permeability cév, leukostáze, poruchám průtoku kapilárami i k dalšímu poškození cévní stěny.^{188,189,197,207,217,228,229}

Pro sítnici je zásadní funkční komplexní propojení jejích vrstev. Tzv. neurovaskulární jednotka tvořená neurony, glií i buňkami kapilár (gangliové buňky, bipolární buňky, horizontální buňky, astrocyty, Müllerovy buňky, mikroglie, pericyty, endotel) udržuje hematoretinální bariéru a zároveň autonomně reguluje průtok krve vnitřní vrstvou sítnice nezávisle na inervaci.^{189,207,222,225,242} Hematoretinální bariéra je tvořena zevní částí (tight junctions retinálního pigmentového epitelu) a vnitřní částí (tight junctions endotelu kapilár vnitřní vrstvy sítnice) a je selektivně propustná pro ionty, tekutiny a součásti krevní plasmy, a chrání neurony před průnikem toxinů.^{188,222,225,242} Při narušení tohoto neurovaskulárního propojení a hematoretinální bariéry je alterována normální regulace průtoku krve sítnicí dle aktuálních potřeb a roste permeabilita kapilár, která má za následek prostup plasmatických látek a tekutiny do mezibuněčného prostoru.^{189,225,242,245}



Obrázek 3: Patofyziologické procesy podílející se na vzniku diabetické retinopatie, volně převzato dle textu od Antonetti et al., NEJM, 2012, v tomto znění publikováno v článku Voglová-Hagerf et al., DMEV, 2023

5.1.3 Klinicky detekovatelné morfologické změny v sítnici u DR

Dlouho probíhající subklinické a funkční změny se postupně začínají projevovat i morfologicky. Jedním z prvních znaků je dilatace kapilár a změny průtoku sítnicí (patrné při fluorescenční angiografii).^{190,207,224,228,246} Při zvýšené propustnosti cévní stěny únikem tekutiny a dalších látek z kapilár vznikají exsudáty (tvořené např. krevními lipidy, fibrinem aj. a porucha permeability může vést až k závažnému edému makuly, který výrazně ohrožuje zrakovou ostrost.^{225,242,245} Postupně dochází k mikrotrombotizaci a uzávěrům kapilár či dokonce k vymizení kapilární sítě v některých oblastech. Na poškozených acelulární kapilárách vznikají mikroaneurysmata. Postupně cévní změny nepostihují jen kapiláry, ale projevují se i na cévách většího kalibru, např. obliterací arteriol či flebopatií (dilatace, „řetízkovatění“ či tvorba kliček a meandrů). Dochází k stále častějším hemoragiím různého rozsahu.^{188,207,224,226,228,246} Poškozením kapilární sítě a zejména větších cév se postupně

zvětšují okrsky lokální ischemie. Současně již v počátečních stádiích klesá průtok střední periferii sítnice – jde o obranný kompenzační mechanismus s cílem zachovat dostatečnou perfusi pro funkčně důležitější centrální část.^{242,246} Lokální ischemie kromě funkčního poškození také v hypoxické sítnici spouští signalizaci vedoucí k novotvorbě cév přes zvýšenou expresi proangiogenních faktorů (HIF-1, VEGF a další).^{190,226,228,247–249}

V nejpokročilejším stádiu diabetické retinopatie – tzv. proliferativní retinopatie - se tak rozvíjí neovaskularizace a vznikají nové nedostatečně formované cévy, které se snadno poškodí a krvácí.^{226,228,246–249} Mohou růst intraretinálně, prorůst do sklivce či dokonce do papily zřakového nervu. Jsou náchylnější k poškození a krvácení. Novotvorba cév je také provázena fibrotickými změnami, které mohou vést k tvorbě adhezí až k trakčnímu odchlípení sítnice. Významně tak ohrožují pacienty nevratným poškozením zřakových funkcí.^{226,228,228,246,249}

Neurodegenerativní změny jsou již v preklinických stádiích detekovatelné pomocí (zatím experimentálně využívané) elektroretinografie^{234,235} či na spektrální optické koherenční tomografii, kde se projevují ztenčením vnitřní retinální vrstvy sítnice^{250–252}.

5.2 Vyšetřovací metody, klinická klasifikace a léčba diabetické retinopatie

5.2.1 Vyšetřovací metody

Kromě standardního očního vyšetření používáme u pacientů s diabetem nepřímou oftalmoskopii v mydriáze se zobrazením všech polí sítnice. Důležitá je fotodokumentace, jež je nyní usnadněna dostupností retinálních kamer.²⁵³ V indikovaných případech se provádí fluorescenční angiografie, která umožní podrobněji posoudit morfologii a integritu cévní stěny.²⁵⁴ Velkým přínosem je tzv. optickou koherenční tomografie (OCT)²⁵⁵, která využívá odrazu nízkokoherenčního optického záření s větší vlnovou délkou (v rozsahu blízkém infračervenému záření) k detailnímu zobrazení vrstev sítnice, měření jejich tloušťky a posouzení např. edému či atrofie. Šířka spektra záření ovlivňuje hloubkové rozlišení. Spektrální OCT (spectral domain SD-OCT) využívá k vyhodnocení odrazu paprsků spektrometr a poskytuje tak ještě detailnější obraz všech vrstev a dosahuje tak rozlišení 3-7 mikrometrů.^{256,257} Postupně se více dostává do praxe i OCT angiografie, která umožňuje ještě podrobnější zobrazení včetně cévních vrstev sítnice^{257–259}.

K zobrazení anatomických poměrů a patologických změn sklivce a sítnice se využívá i ultrazvukové vyšetření, které je důležité zejména při snížené transparentci očních médií.²⁵⁷

K posouzení funkčních změn se vyšetřuje nejlepší korigovaná zraková ostrost a v indikovaných se doplňuje i podrobnější vyšetření zorného pole a mikroperimetrie.²⁵⁷

V experimentálním sledování se používají i elektroretinografie či měření průtoku krve sítnicí pomocí dopplerovské ultrasonografie, které jsou schopné sledovat i preklinické funkční změny. Tyto metody však nejsou součástí běžné klinické praxe.^{233,257}

5.2.2 Klasifikace diabetické retinopatie

Aktuální klinická klasifikace diabetické retinopatie^{260–262} vychází z morfologických změn na sítnici a zejména přítomnosti neovaskularizace:

Neproliferativní diabetická retinopatie

- **Mírná** (mikroaneurysmata, mikrohemoragie, intraretinální hemoragie, venózní abnormality)
- **Středně pokročilá** (cévní změny v oblasti makuly, tvrdé exsudáty, vatovité exsudáty)
- **Pokročilá** (intraretinální mikrovaskulární abnormality, ischemie sítnice)

Proliferativní diabetická retinopatie (neovaskularizace na sítnici, na papile, vysoce riziková forma – trakční amoce sítnice, intravitreální krvácení)

Samostatnou jednotkou je **diabetická makulopatie (diabetický makulární edém)**, která může dle morfologických změn a klinických příznaků (ovlivnění zrakové ostrosti) být oftalmologem hodnocena jako **tzv. klinicky signifikantní makulární edém**.

5.2.3 Současné terapeutické možnosti ovlivnění změn na sítnici

V současnosti není k dispozici žádná kauzální oftalmologická léčba retinopatie, kromě dosažení co nejlepší kompenzace diabetu a hladin glykémie co nejblíže fyziologickým. Současně je důležitá prevence a ovlivnění dalších rizikových faktorů, jako je vysoký krevní tlak a hladiny krevních lipidů. Vzhledem k cílení na prevenci se nyní klade velký důraz na včasný screening retinopatie a pravidelné sledování oftalmologem podle tíhy poškození sítnice.¹⁰⁹

V pokročilejších stádiích DR s hroící či probíhající proliferací se používá laserová terapie (fokální mřížková laserová koagulace či panretinální fotokoagulace) a lokální biologická léčba preparáty cílenými proti VEGF – anti-VEGF protilátky.^{56,109,190,197,227} Tyto se uplatňují i v léčbě diabetického makulárního edému.^{109,263} U pacientů s fibroproliferativními změnami zasahujícími do sklivce se přistupuje k chirurgické léčbě k odstranění adhezí a vyplnění sklivce plynem či olejem (pars plana vitrektomie).²⁶⁴

Na zánětlivou složku patofyziologických dějů cílí lokální léčba intravitreálně aplikovanými kortikosteroidy (triamcinolon).^{109,265,266}

V experimentech byly dále testovány další preparáty s cílem snížit oxidační stres, jako např. kyselina askorbová, tokoferol a další antioxidanty, ovlivnit neurodegenerativní změny (pigmentový epiteliální růstový faktor – PEDF, somatostatin a jiné) či zánětlivou složku (lokálně použitá nesteroidní antiflogistika, antibiotika či imunosupresivní léky – např. mTOR inhibitor sirolimus). Dále byly testovány preparáty ovlivňující viskozitu sklivce, metody genové terapie (cílené např. na některé růstové či neuroprotektivní faktory) a regenerativní medicíny (endotelové progenitorové buňky a další).^{188,190,197,217,224,229}

Velmi slibné výsledky přinesly studie s druhou generací anti-VEGF protilátek, které jsou kombinované s protilátkou proti angiopoetinu 2 (faricimab) a účinnější než anti-VEGF monoterapie.^{267–271}

5.2.4 Specifika diabetické retinopatie u kandidátů transplantace

Pacienti, kteří jsou připravováni k transplantační léčbě, mají většinou v době indikace k transplantaci (zejména v případě kombinované transplantace s ledvinou) již významně rozvinuté mikro – i makrovaskulární komplikace diabetu, a to včetně diabetické retinopatie. Častým nálezem bývá již proliferativní forma, pro kterou již dříve podstoupili laserovou či chirurgickou léčbu.^{272–281}

Specifickou skupinou jsou pacienti indikováni k samotné transplantaci pankreatu či Langerhansových ostrůvků, kteří nemají manifestní diabetické onemocnění ledvin. U nich se můžeme setkat s celým spektrem různých forem DR od mírných až po závažné.^{281–286}

Vliv pokročilého stádia diabetického onemocnění ledvin a přidružených komplikací na progresi DR není zatím plně objasněn. Pokročilá stádia renální dysfunkce často provází

obtížně korigovatelná arteriální hypertenze. Po zahájení hemodialýzy navíc může značně kolísat intravaskulární objem. Nevyjasněné zůstávají vlivy sekundární anémie, léčby erythropoetinem a nezbytné antikoagulační léčby při hemodialýze. Nicméně ani jeden z těchto možných rizikových faktorů nebyl zatím potvrzen dostatečnými důkazy z klinických studií.

Podobně i samotná transplantace, několikahodinový velký chirurgický výkon v celkové anestezii, může přinášet jisté riziko zhoršení. Samotná dlouhá operace, perioperační období, změny v krevním tlaku, antikoagulační terapie, postupný rozvoj funkce transplantované ledviny a pankreatu, to vše jsou faktory, které mohou narušit křehkou rovnováhu v již poškozeném retinálním cévním řečišti a vést k progresi retinopatie. Podrobnější prospektivní sledování, u transplantačních či jiných operačních výkonů, které by potvrdilo, či vyvrátilo tyto hypotézy, však dosud nebylo provedeno.

Rychlá normalizace hladin glykémie při funkčním štěpu slinivky s sebou navíc může nést riziko tzv. časného zhoršení DR, popisovaného po náhlém zlepšení kompenzace diabetu.^{287–295} Otázkou také zůstává případný vliv dlouhodobé systémové imunosupresivní terapie na další progresi DR po transplantaci.

5.3 Vývoj diabetické retinopatie po transplantaci v klinickém sledování

5.3.1 Vývoj diabetické retinopatie po transplantaci pankreatu a ledviny

Klinické studie dlouhodobě sledující pacienty po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu (dále zkratka SPK – simultaneous pancreas and kidney transplantation) se začaly objevovat v 90. letech. Jde většinou o observační prospektivní, kohortové, či případové studie z jednotlivých transplantačních center, zahrnující celkem 18-91 pacientů. Jedna nedávná retrospektivní studie²⁸¹ hodnotila 153 pacientů po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny nebo izolované transplantaci pankreatu. Část z těchto studií neměla kontrolní skupinu, některé zvolily jako kontrolní skupinu pacienty po transplantaci samotné ledviny či pacienty po kombinované transplantaci a časném selhání funkce štěpu pankreatu, v jednom případě i pacienty s DM 1. typu, kteří nepodstoupili transplantační léčbu.²⁸⁰ Délka sledování se pohybovala od 6 měsíců do 10 let po transplantaci.

V prvních publikovaných studiích^{272,275} zpočátku nebyl pozorován rozdíl ve vývoji DR mezi pacienty po transplantaci pankreatu a kontrolní skupinou, a to ani v delším sledování (3-8 let). Podle autorů byla retinopatie již v čase transplantace tak pokročilá, že ani dosažení normoglykémie její průběh nemohlo zvrátit.

Dvě observační studie bez kontrolní skupiny^{273,274} popisovaly v delším sledování (až do 6 let) tendence ke stabilizaci DR v porovnání s dynamikou vývoje u té samé skupiny před transplantací. Tito pacienti byli rovněž transplantováni s velmi závažnými očními nálezy, u některých se proliferativní změny a intravitreální krvácení objevovaly i po laserové terapii a došlo i k významnému zhoršení zrakové ostrosti. Konigsraier et al.²⁹⁶ v delším prospektivním sledování (průměr 43 měsíců) popisují stabilizaci u 73 %, zhoršení u 18% a poprvé i regresi patologických změn – u dvou pacientů s preproliferativní DR.

Podobné výsledky přináší i případová studie²⁷⁶ u 72 pacientů (52 po SPK vs. 21 po transplantaci ledviny), téměř 70% pacientů bylo zařazených s proliferativní formou DR, úspěšná transplantace pankreatu a ledviny vedla u 22% k regresi krvácivých změn, 60% bylo beze změn, 18% progredovalo (po transplantaci ledviny 0% regrese, 85% beze změn, 15% progrese), srovnatelné výsledky byly pozorovány i u vývoje diabetického makulárního edému, a rozdíly mezi skupinami nebyly hodnoceny jako statisticky signifikantní.

V desetiletém sledování 46 pacientů po SPK vs. 8 pacientů po selhání štěpu pankreatu Chow et al.²⁷⁷ pozoruje dlouhodobou stabilizaci nálezů na sítnici i u pacientů s proliferativní DR, kteří byli před transplantací adekvátně ošetřeni laserovou koagulací sítnice, kontrolní skupina je však příliš malá na posouzení jasného benefitu transplantace pankreatu. Stejně tak Pearce²⁷⁸ ve sledování 20 pacientů bez kontrolní skupiny, po dobu 5 let, pozoroval stabilizaci retinopatie, s progresí jen u jednoho pacienta.

V r. 2000 byla také publikována studie z našeho centra v IKEM²⁷⁹, s 88 pacienty (jedna z největších v této oblasti), která prospektivně porovnávala skupinu po SPK a pacienty po transplantaci ledviny či SPK a časném selhání štěpu pankreatu (průměr sledování 45 měsíců). Fundoskopický nálezn na konci sledování byl u pacientů po SPK ve 21 % zlepšen, u 61,7 % stabilizován a u 17 % zhoršen, u kontrolní skupiny byly tyto poměry 6,1 %, 48,8 % a 45,1 % pacientů. Před transplantací podstoupilo laserovou koagulaci 78 % pacientů před SPK a 81 % před transplantací ledviny, další laserová koagulace po transplantaci byla indikována u 31 % pacientů po SPK vs. U 58 % pacientů v kontrolní skupině ($p < 0,001$).

Srovnatelné výsledky přináší i studie Giannarelli²⁸⁰, kde jsou pacienti po SPK porovnáváni s pacienty s DM 1. typu, kteří nepodstoupili transplantační léčbu, nejsou však blíže charakterizováni. Délka sledování se pohybuje mezi 6-60 měsíci. Vstupně mělo proliferativní retinopatii 75 % pacientů před SPK a 72 % v kontrolní skupině. Po kombinované transplantaci se zlepšilo 10 % pacientů, beze změny bylo 79 % a progredovalo 10 % pacientů, v kontrolní skupině 5 %, 46 % a 49 % pacientů, rozdíly v progresi byly nejvíce vyjádřeny u pacientů s proliferativní formou DR.

5.3.2 Vývoj diabetické retinopatie po izolované transplantaci pankreatu

Transplantace samotného pankreatu (PTA – pancreas transplantation alone) je méně častá léčebná metoda a spektrum pacientů indikovaných k izolované transplantaci pankreatu je širší a více heterogenní v porovnání s kandidáty kombinované transplantace, a také se mění v čase – zejména v souvislosti s rychlým rozvojem technologií k léčbě diabetu.

Nejstarší studie sledující DR po transplantaci izolovaného pankreatu²⁹⁷ porovnávala 24 pacientů po PTA s 16 pacienty, u kterých transplantace skončila neúspěchem. V prvních dvou letech sledování nebyly mezi skupinami významné rozdíly, od 3. roku u pacientů s funkčním štěpem pankreatu pozorovali tendenci ke stabilizaci v porovnání s kontrolní skupinou.

Další, kohortová studie²⁸² se zaměřila na porovnání pacientů po PTA (n=33) s kontrolní skupinou pacientů s DM1 (n=35), kterým byla transplantace nabízena, ale tuto variantu odmítli. Vstupně mělo 67 % pacientů v PTA a 66 % v kontrolní skupině proliferativní formu retinopatie. Z těchto pacientů se po transplantaci stabilizovalo 86 %, progresse byla pozorována u 14 %. V kontrolní skupině bylo stabilních 43 % a zhoršilo se 57 % pacientů. Zajímavé byly výsledky u pacientů s neproliferativní formou DR, u kterých v 50 % došlo ke zlepšení nálezu na fundoskopickém vyšetření, druhá polovina měla stabilizovaný nálezu. U kontrolní skupiny bylo pozorováno zlepšení u 20 % pacientů, stabilizace u 10 % a další progresse u 70 %.

5.3.3 Vývoj diabetické retinopatie po transplantaci Langerhansových ostrůvků

Podobně jako u transplantace izolovaného pankreatu, pacienti indikováni k transplantaci Langerhansových ostrůvků často nemají tak pokročilé mikrovaskulární komplikace diabetu.

Studií, které by systematicky sledovaly vývoj DR po transplantaci ostrůvků, není mnoho.

První práce, z transplantačního centra v Edmontonu²⁸³, analyzovala výsledky 5 let transplantace ostrůvků podle tzv. Edmontonského protokolu (který se posléze stal standardem imunosupresivní terapie u transplantace ostrůvků) a jako sekundární parametr hodnotila i vývoj mikrovaskulárních komplikací diabetu. Ze 47 pacientů mělo 30 proliferativní formu DR, oční komplikace však byly sledovány jen prvních 5 měsíců po transplantaci. Zhoršení se objevilo u 4 pacientů, kteří vyžadovali další laserovou terapii či pars plana vitrektomii.

Ve stejném roce vyšla malá prospektivní observační studie²⁸⁴, zaměřující se cíleně na diabetickou retinopatii a neuropatii u 8 pacientů sledovaných 1-2 roky po transplantaci Langerhansových ostrůvků. Z 8 pacientů měli 2 proliferativní, 3 neproliferativní a 3 žádné známky DR. U jednoho pacienta došlo ke zlepšení nálezu, ostatní měli v prvních 2 letech stabilní nálezy bez progresu.

Vývoj retinopatie u pacientů po transplantaci ostrůvků v porovnání s kandidáty na čekací listině, kteří byli transplantováni později anebo léčeni standardní inzulinoterapií, sledovala další prospektivní studie s cross-over designem²⁸⁶. Transplantaci podstoupilo 27 pacientů, kteří byli sledováni 3 roky. Více než polovina z nich měla proliferativní DR, zatímco u ostatních byla zjištěna různá stadia neproliferativní DR. Ke zhoršení nálezů vyžadujících laserovou terapii docházelo pouze u pacientů na čekací listině. Naproti tomu, po transplantaci byly nálezy stabilizované.

Nadějné výsledky také přinesla italská studie²⁸⁵, která sledovala změny průtoku arteria a vena centralis retinae za pomoci Doppler USG u 10 kandidátů transplantace ostrůvků a poté 1 rok po transplantaci. Kontrolní skupinou byli pacienti s DM 1. typu (s porovnatelným věkem, kompenzací a délkou trvání diabetu). Žádný z pacientů neměl proliferativní retinopatii, většina měla mírnou či středně závažnou neproliferativní formu, 2 pacienti ve studijní a 3 v kontrolní skupině neměli žádné známky retinopatie. U pacientů po úspěšné transplantaci ostrůvků se průtok krve arteria i vena centralis retinae významně zvýšil v porovnání se stavem před transplantací i s kontrolní skupinou. Toto pozorování není zatím

patofyziologicky zcela objasněno, ale mohlo by naznačovat možnost reverzibility patologických změn na sítnici u méně pokročilých stádií DR.

Autoři studie posléze svůj výzkum rozšířili o 10 pacientů podstupujících transplantaci ledviny a 10 indikovaných k transplantaci ledviny a pankreatu¹⁹, kteří měli ale již v čase transplantace proliferativní retinopatii. 12 měsíců po transplantaci nebyly u skupiny po transplantaci ledviny pozorovány žádné změny průtoku, po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu jen mírné, statisticky nesignifikantní zvýšení průtoku. Tato zjištění dále podpořila hypotézu, že méně pokročilé vaskulární změny mohou být reverzibilní, zatímco pokročilé změny při proliferativní retinopatii a renálním selhání již nikoliv.

Tabulka 1: Přehled studií sledujících vývoj diabetické retinopatie po transplantaci pankreatu a ledviny (SPK), izolované transplantace pankreatu (PTA) a transplantace (Tx) Langerhansových ostrůvků

Rok	Autor	Typ studie	Počet pacientů, typ transplantace, kontrolní skupina	Délka sledování	Výsledky
1991	Bandello et al.	Kohortová	20 po SPK vs 12 po Tx ledviny	3 roky	Beze změny u 90 % po SPK a 66,7% po transplantaci ledviny, zraková ostrost beze změn Příliš pokročilá DR v čase transplantace
1991	Ulbig et al	Observační, bez kontrolní skupiny	25 po SPK	15-71 měsíců	Zraková ostrost zlepšena u 32 %, stabilní u 46 % a zhoršena u 22%. Krvácivé změny zlepšeny u 46%, beze změn 44%, zhoršení u 10%. Tendence ke stabilizaci v průběhu 3 let
1991	Zech et al.	Observační, bez kontrolní skupiny	18 po SPK	1-6 let	Stabilizace u 66 % (většinou po laserové terapii), progresse proliferace u 22%, krvácení do sklivce u 2 osob, ztráta zraku u 2 osob
1991	Scheider et al.	Prospektivní observační	30 po SPK vs 15 po SPK a ztrátě štěpu pankreatu	1-8 let	Bez významného rozdílu mezi skupinami
1994	Wang et al	Observační, případová studie	51 po SPK vs 21 po Tx ledviny	1 rok	Mírně ale nesignifikantně příznivější průběh po SPK, velmi pokročilá DR v obou skupinách
1999	Chow et al.	prospektivní	46 po SPK vs 8 po SPK se ztrátou štěpu pankreatu	10 let	Stabilizace DR a visu u pacientů po SPK a adekvátní laserové terapii, bez významného rozdílu oproti velmi malé – kontrolní skupině
2000	Pearce et al	Kohortová studie bez kontrolní skupiny	20 pacientů po SPK	5 let	Stabilizace DR, progresse jen u 1 pacienta
2001	Kožnarová et al.	Prospektivní	43 po SPK vs. 45 po Tx ledviny / SPK a ztrátě štěpu pankreatu	45 ± 35 měsíců a 60 ± 34 měsíců	Zlepšení DR u 21,3%, stabilizace u 61,7%, zhoršení u 17% po SPK vs. 6%, 48,8% a 45,1% v kontrolní skupině, potřeba laserové terapie po transplantaci signifikantně nižší po SPK (31% vs. 58%, p <0,001) – příznivý efekt transplantace pankreatu

2005	Gianarelli et al.	Kohortová	48 po SPK vs. 43 DM 1. typu	6-60 měsíců	Po SPK 10 % zlepšení, 79 % stabilní, 10 % zhoršení vs. 5 %, 46 % a 49 % v kontrolní skupině – významně častější zlepšení a stabilizace DR po SPK
2017	Kim et al.	Retrospektivní kohortová, bez kontrolní skupiny	153 pacientů, 77 SPK, 25 PAK, 51 PTA	4,2 roku průměr	7,9 % zlepšení, 71,6 % stabilizace, 20,5% zhoršení – 18,8 % v průběhu 1. roku Pro progresi bylo kritické období 1. roku po transplantaci, poté stabilizace a regrese DR
1988	Ramsay et al.	Kohortová	22 po PTA vs. 16 po selhání pankreatu po PTA	2 roky průměr	Bez signifikantního rozdílu časné po transplantaci, od 3. roku méně častá progresie ve skupině s funkčním štěpem pankreatu
2006	Gianarelli et al.	Kohortová	33 po PTA vs 35 s DM 1. typu	30 ± 11. vs. 28 ± 10 měsíců.	Po PTA: NPDR 50 % zlepšení, 50% beze změn; PDR 86% stabilizace, 14% zhoršení Bez PTA: NPDR 20 % zlepšení, 10 % beze změn, 70% zhoršení, PDR 43 % beze změn, 57% zhoršení. Signifikantně lepší výsledky u pacientů po PTA
2016	Tsai et al.	Retrospektivní kazuistiky	6 PTA	3 měsíce	5 případů časného zhoršení včetně těžkého makulárního edému v prvních měsících po PTA, po laserové terapii dlouhodobá stabilizace, edém regredoval bez terapie
2005	Ryan et al.	Observační kohortová	47 pacientů po Tx ostrůvků	5 měsíců	Zhoršení u 4, ostatní stabilní nálezy
2005	Lee et al.	Prospektivní kohortová	8 pacientů po Tx ostrůvků	2 roky	1 pacient zlepšení nálezu, ostatní stabilizace
2006	Venturini et al.	Prospektivní kohortová	10 pacientů po Tx ostrůvků vs. 10 pacientů s DM 1. typu	1 rok	Lehčí formy DR, bez proliferace, po Tx ostrůvků se významně zvýšil průtok krve a. i v. centralis retinae v porovnání se stavem před transplantací i s kontrolní skupinou
2008	Thompson et al.	Prospektivní, cross-over	27 pacientů po Tx ostrůvků	3 roky	Stabilizace po transplantaci, progresie pouze u pacientů na čekací listině

5.4 Experimentální studie sledující vliv transplantační léčby na diabetickou retinopatii

Otázkou reverzibility diabetických změn na sítnici se zabývaly i dvě experimentální studie na zvířecích modelech ^{298,299}. Autoři zkoumali patologické procesy u diabetických potkanů a efekt návratu k normoglykémii po časně či pozdní transplantaci pankreatu – v jedné studii 5 vs. 10 týdnů, v další 2 vs. 12 týdnů. Změny byly verifikovány klinicky, fluorescenční angiografií a posléze i morfologicky – histologickým a imunohistochemickým vyšetřením enukleovaných očí. V obou experimentech byly patologické změny (v sítnici i čočce) reverzibilní po časnější transplantaci, po transplantaci v 10. či 12. týdnu už nikoliv. U potkanů po časnější transplantaci v 5. týdnu byla imunohistochemicky prokázána inhibice angiogeneze v sítnici. Tyto experimentální modely, podobně jako výše zmiňovaná studie ¹⁹ naznačují, že v kaskádě patofyziologických cévních změn v sítnici je tzv. point of no return, *”bod odkud není návratu”* kdy už tyto procesy nejdou zvrátit, a to ani úspěšnou transplantační léčbou s dosažením trvalé normoglykémie.

5.5 Fenomén časného zhoršení diabetické retinopatie

Na druhou stranu se v komunitě oftalmologů i diabetologů stále objevují obavy, že náhlé zlepšení glykemické kompenzace navozené úspěšnou transplantací může naopak progresi retinopatie zhoršit a vyvolat tzv. fenomén časného zhoršení. Tato paradoxní akcelerace patologických změn na sítnici byla popisována v řadě studií po intenzifikaci léčby diabetu a následném zlepšení kompenzace. Jednalo se především o zavedení intenzifikovaného inzulínového režimu či léčby inzulínovou pumpou ^{287–290,300}, zahájení léčby analogy GLP-1 ^{291,295} nebo provedení bariatrického výkonu ^{290,292,294} u pacientů s diabetem 2. typu.

5.5.1 Patofyziologie časného zhoršení

I když se většina autorů shoduje na tom, že za touto náhlou akcelerací změn na sítnici stojí zásadní a rychlá změna glykemické kompenzace, samotný pojem časného zhoršení není přesně definován, pokud jde o časový interval, ve kterém lze zhoršení očekávat, ani o rozsah patologických změn na sítnici. Tento jev byl pozorován jako vedlejší efekt ve studiích, které

měly za primární cíl sledovat metabolické parametry a vývoj komplikací diabetu při dosažení těsnější glykemické kompenzace (intenzifikací inzulínového režimu, či inzulínovou pumpou), či po bariatrické léčbě anebo transplantaci pankreatu. Časné zhoršení někteří autoři popisují v prvních třech měsících, jiní až do tří let po změně terapie. Mezi jednotlivými studiemi jsou také velké rozdíly ve vstupních očních nálezech, stádiích diabetické retinopatie a v závažnosti změn, ale i v samotném popisu a klasifikaci, která se od 80. let postupně vyvíjela a upravovala. Ve studiích sledující intenzifikaci terapie nejsou téměř vůbec zastoupeni pacienti s proliferativní retinopatií.

Ještě méně je pak objasněn samotný patofyziologický podklad této paradoxní progresy a Předpokládá se, že retinální mikrocirkulace je dlouhodobě adaptována na patologicky vysoké hladiny glukózy a náhlý pokles glykémie k fyziologickým hodnotám tak vede k relativní hypoglykemií, při které tyto přechodné adaptační mechanismy selhávají. V literatuře se uvádí několik teorií vycházejících z poznatků o fyziologické regulaci v sítnici a z experimentů in vitro či na zvířecích modelech.

a) **Osmotická teorie** připisuje část změn osmoticky aktivnímu působení glukózy a změnám osmotického tlaku v extracelulárním prostoru.^{290,301}

b) **Synergistická hypotéza inzulínu a VEGF** vychází ze zjištění, že zvýšené množství inzulínu může mít angiogenní efekt na buňky v sítnici, inzulín v in vitro experimentech zvyšoval oxidační stres na buňky retinálního endotelu, a tím i tvorbu VEGF.^{290,301}

c) **Změny v propustnosti hemoretinální bariéry** byly pozorované v in vitro experimentech po akutní intenzifikaci terapie inzulínem u potkanů. Tato léčba vedla ke zvýšené exprese HIF-1alfa a narušení hemoretinální bariéry.³⁰²

d) **Zvýšená tvorba VEGF v hypoxickém prostředí po prudkém poklesu glykemií.** V in vitro experimentech lidské i bovinní buňky sítnice reagují jinak na současnou hypoxii a nedostatek glukózy - zvýšením exprese a tvorby VEGF, hypoxie s hyperglykemií tuto expresi spíše tlumí, zatímco dostatek kyslíku se současnou hyperglykemií neměl na tvorbu VEGF žádný vliv.³⁰³ U buněk sítnice potkanů vedla tranzientní ischemie a reperfuze k významnému zvýšení hladin VEGF a jeho exprese byla spojena s cévní permeabilitou.³⁰⁴

e) Další možné efekty – zvýšená tvorba volných kyslíkových radikálů v mitochondriích při zvýšené oxidaci mastných kyselin při relativní hypoglykemií^{305,306}, upregulace IGF-1 (insulin-like growth factor 1) s angiogenními účinky³⁰⁷, změny průtoku retinální cirkulací při

prudkém poklesu glykémie³⁰⁸, kolísání krevního tlaku, které může vést ke spasmům retinálních arteriol a jiné^{281,290}.

5.5.2 Syndrom časného zhoršení po transplantaci pankreatu

Cíleně se na sledování časného zhoršení a predikce možných rizikových faktorů zaměřila retrospektivní studie²⁸¹, která sledovala 153 pacientů po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu, transplantaci pankreatu po transplantaci ledviny, i izolované transplantaci pankreatu, průměrná doba sledování byla 4 roky. Vstupně mělo 73 % pacientů proliferativní retinopatii po laserové koagulaci či pars plana vitrektomii. V průběhu sledování byla pozorována regrese změn u 7,9 %, stabilizace u 72,6 % a zhoršení u 20,5 % pacientů – z toho většina (92 %) případů zhoršení nastala v prvním roce po transplantaci.

Mezi pacienty, kterým se v prvním roce po transplantaci oční nálezy zhoršily, byli více zastoupeni pacienti mladší, s DM 1. typu, s časnějším nástupem diabetu, s horší výchozí kompenzací (a následně výraznější změnou HbA1c po transplantaci), příjemci izolovaného pankreatu (zejména s drenáží na močový měchýř – starší operační technika) a pacienti léčení laserovou koagulací sítnice v posledním roce před transplantací.²⁸¹

V multivariantní analýze vyšly jako významné rizikové faktory typ transplantace (izolovaná transplantace pankreatu) a závažná neproliferativní či proliferativní retinopatie s recentní laserovou koagulací sítnice. Za této situace lze předpokládat, že retinopatie ještě nebyla dostatečně stabilizována a proliferace byla nadále aktivní.²⁸¹

Objevilo se také několik případů makulárního edému či jeho zhoršení, a to do 3 měsíců po operaci. Zajímavým zjištěním však bylo, že progresi následovala nejen po transplantaci, ale i po chirurgické konverzi močové drenáže štěpu pankreatu na střevní (tedy operačním výkonu, který už neovlivňuje metabolickou kompenzaci), a u většiny z nich byly zaznamenány epizody hypotenze. Lze tedy uvažovat, že i kolísání tlaku v perioperačním období může přispívat k hemodynamickým změnám v sítnici, které pak vedou ke zhoršení.²⁸¹

6. HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

Na další průběh diabetické retinopatie může kromě normalizace glykemií mít také vliv použitá imunosupresivní léčba. Tzv. mTOR inhibitory mohou mít vliv na proliferační procesy v oblasti sítnicové mikrocirkulace, které se na patofyziologii diabetické retinopatie podílejí.

Rychlý vývoj kontinuální monitorace glukózy v intersticiální tekutině pomocí senzorů otevírá nové možnosti jejich využití i v rizikovém perioperačním období. Pacienti časně po transplantaci jsou často vystaveni velké variabilitě glykemií vzhledem k jejich kritickému stavu, léčbě kortikosteroidy i parenterální výživě. Konvenční titrace inzulinoterapie bývá v tomto období obtížná. Kontinuální sledování dynamiky glykemických změn by tak mohlo umožnit individualizaci a zkvalitnění péče. Zatím však chybí dostatečná data o použitelnosti, spolehlivosti senzorů a podmínek za kterých mohou být využity u pacientů v nemocniční či dokonce intenzivní péči.

Testované hypotézy disertační práce

1. Řada prací z posledních let naznačuje, že rychlá normalizace glykemií dosažená použitím nových terapeutických postupů včetně transplantace pankreatu může vést k tzv. časnému zhoršení diabetické retinopatie po nasazení této léčby. Podle naší klinické zkušenosti jsme se domnívali, že toto případné zhoršení souvisí spíše s přirozeným vývojem tohoto onemocnění, a nikoliv přímo se změnou glykemických profilů. **V prospektivní studii jsme proto testovali hypotézu, že případné zhoršení oftalmologického nálezu po transplantaci pankreatu nesouvisí přímo s velikostí rozdílu glykemií v období před transplantací a po transplantací**
2. Léky ze skupiny mTOR inhibitorů, které jsou součástí imunosupresivních protokolů po transplantaci, mají kromě imunosupresivního efektu i antiproliferační a antiangiogenní účinek. **V prospektivní randomizované studii jsme proto testovali hypotézu, že systémové podávání mTOR inhibitoru everolimu (v porovnání s léčbou natrium mykofenolátem v kontrolní skupině) bude mít příznivý vliv na progresi vaskulárních změn sítnice.**

- 3. Podmínkou udržení co nejlepších hladin glykémie v předoperačním a časném pooperačním období je správná monitorace. Sledování glykemických profilů za podmínek intenzivní péče u kriticky nemocných osob pomocí kontinuální monitorace glukózy v podkoží (CGM) nebylo dosud testováno. Testovali jsme hypotézu, že CGM poskytuje i za těchto podmínek relevantní a dostatečně přesné údaje ve srovnání s konvenčním měřením glykémie v krevní plazmě.**

Cílem práce bylo ověřit první dvě testované hypotézy v randomizované prospektivní klinické studii. Sledování bylo prospektivní, s předem definovaným složeným ukazatelem (endpointem) zohledňujícím závažnost stadia retinopatie u těchto pacientů již na počátku sledování. Vedlejšími cíli byli současně sledování přežívání pacientů a funkce transplantovaných štěpů a dalších druhotných ukazatelů. Nasbíraná data rovněž umožnily posoudit riziko tzv. časného zhoršení diabetické retinopatie po rychlém zlepšení kompenzace, které je v literatuře často diskutováno, ale dosud nebylo předmětem prospektivního studia, a zhodnotit jeho možné rizikové faktory.

V oblasti zkoumání monitorace pomocí CGM v časné pooperační intenzivní péči bylo cílem ověřit přesnost, spolehlivost a použitelnost senzoru pro CGM u pacientů v kritickém stavu po velkých břišních operačních výkonech pomocí standardních doporučených parametrů pro hodnocení přesnosti CGM. Vedlejším cílem bylo také ověřit inovativní postupy s cílem adaptace této metody na podmínky intenzivní péče – alternativní umístění senzoru v podklíčkové oblasti, kalibrační protokol pro CGM (založený na referenčních hodnotách glykémie z arteriální krve měřenými analyzátozem pro acidobazickou rovnováhu), a rizika interferencí v prostředí intenzivní péče.

7. METODIKA

7.1 Sledování vývoje diabetické retinopatie po transplantaci

Sledování vlivu transplantační terapie a dvou rozdílných protokolů imunosupresivní terapie bylo provedeno v prospektivní randomizované klinické studii u pacientů podstupujících kombinovanou transplantaci pankreatu a ledviny v IKEM. Studie byla schválena etickou komisí (dokument č.G-14-08-06) a registrována v databázi klinických studií EudraCT (č.2013-004934-14).

Vyšetření a laboratorní testy probíhali v IKEM, oční vyšetření prováděli spolupracující oftalmologové z Oční kliniky v Thomayerově nemocnici.

7.1.1 Základní design klinické studie

Sledování jsme koncipovali jako prospektivní randomizovanou studii s předem definovaným primárním cílem (endpointem) zaměřeným na progresi diabetické retinopatie. Vzhledem k tomu, že pacienti zařazováni ke kombinované transplantaci mají již často velmi pokročilé formy diabetické retinopatie, byl pro tento účel zvolen kompozitní primární cíl, který odpovídal závažnosti očních komplikací v čase transplantace a jejich předpokládanému následnému vývoji.

Primární kompozitní cíl zahrnoval tyto parametry, které mohly nastat v období po transplantaci:

- a) Novou indikaci k laserové fotokoagulaci sítnice (či novou indikaci k pars plana vitrektomii)
- b) Nově diagnostikovanou proliferativní formu diabetické retinopatie
- c) Nově diagnostikovaný klinicky signifikantní makulární edém
- d) Zhoršení nejlepší korigované zrakové ostrosti (o 2 a více řádků Snellenových optotypů)
- e) Progresi zrakového postižení až k slepotě

Sekundární cíle studie měli sledovat další oftalmologické a klinické parametry:

Oftalmologické parametry:

- Změny v zrakové ostrosti
- Nový výskyt katarakty (zhoršení o více než 1 stupeň dle AREDS stupnice)
- Intravitreální krvácení
- Stupeň retinopatie
- Změny centrální tloušťky sítnice měřené optickou koherenční tomografií

Klinické parametry

- Přežívání pacientů a transplantovaných štěpů pankreatu a ledviny
- Výskyt rejekcí transplantovaných orgánů (potvrzených v histologickém vyšetření bioptických vzorků dle Banffských kritérií)
- Intoleranci a případné nežádoucí účinky imunosupresivní terapie
- Hojení operační rány
- Funkci transplantovaných orgánů – úroveň glomerulární filtrace dle CKD-EPI, glykovaný hemoglobin, hladiny C-peptidu a glykémie nalačno a ve stimulačním mixed-meal testu

Pacienti absolvovali studijní návštěvy dle předem stanoveného harmonogramu (viz. Příloha), před transplantací, 1, 2, 3, 6, 12, 18 a 24 měsíců po transplantaci. Oční vyšetření bylo provedeno vstupně (toto vstupní vyšetření bylo poté zopakováno po 8 měsících, pokud pacient do této doby nepodstoupil transplantaci).

7.1.2 Screening, zařazování pacientů a randomizace

Do studie byli zařazováni pacienti ve věku 18-65 let, s diabetes mellitus 1. typu a diabetickým onemocněním ledvin v terminálním stádiu (end-stage kidney), připravovaní ke kombinované transplantaci pankreatu a ledviny, kteří splnili kritéria k transplantační léčbě a souhlasili s účastí ve studii (stvrzeno podepsaným informovaným souhlasem).

Hlavní zařazovací kritéria byly:

- Hladina C-peptidu nižší než 0.02 nmol/l
- Hladina cytotoxických protilátek (PRA) pod 50%
- Zachovaný visus alespoň na jednom oku (tj. nejlepší korigovaná zraková ostrost dle Snellenových optotypů 5/60)

Hlavní vylučovací kritéria byly:

- Těhotenství či laktace
- Známá alergie, či intolerance natrium mykofenolátu, tacrolimu, everolimu
- Známé aktivní onemocnění jater s elevací AST a ALT nad trojnásobní hodnotu oproti normě
- Anamnéza protrombotických stavů, které nejsou ovlivnitelné terapií
- Anamnéza maligního tumoru (s výjimkou lokalizovaného spinocelulárního či bazocelulárního karcinomu kůže bez recidivy)
- Pacient se účastní či účastnil jiné klinické studie sledování účinku léků v intervalu 4 týdny před randomizací
- Anamnéza abusu návykových látek, psychiatrické onemocnění či jiný stav, který dle investigátorů může znemožnit adekvátní komunikaci
- Pacient je po předchozí transplantaci ledviny od kadaverózního či žijícího dárce, anebo předchozí kombinované transplantaci pankreatu a ledviny
- Dárce orgánů je starší 60 let
- Vysoké imunologické riziko – definované jako hladina PRA nad 50%

Pacienti byli randomizováni k léčbě everolimem či natrium mykofenolátem v poměru 1:1. Randomizace probíhala podle postupu předem připraveného statistikem IKEM. Po zařazení do studie bylo pacientům přiřazeno randomizační číslo se zapečetěnou obálkou obsahující alokaci k jedné z větví studie, tj. imunosupresivní terapii natrium mykofenolátem či everolimem. Tato obálka byla poté otevřena v průběhu bezprostřední přípravy k transplantaci a další imunosupresivní léčba tak probíhala podle připraveného imunosupresivního protokolu

Statistická rozvaha a metody statistického zpracování jsou uvedeny v bodě 8.1.8. Zjištěná data a výsledky očních vyšetření jsou uchována v elektronické databázi IKEM.

7.1.3 Imunosupresivní terapie a další specifická léčba po transplantaci

Všem pacientům byla před transplantací a první dny po transplantaci podána indukční imunosupresivní terapie anti-T-lymfocytárním globulinem (Grafalon, Neowii, Německo), v celkové kumulativní dávce 9 mg/kg. Současně byla zahájena udržovací imunosupresivní terapie tacrolimem (s cílovou údobní hladinou 8-15 ng/ml v prvních 6 měsících po transplantaci a následně 5-10 ng/ml), kortikosteroidy s postupným vysazováním do 6 týdnů

po transplantaci. Podle randomizace pak byla součástí udržovací imunosuprese léčba natrium mykofenolátem (Myfortic) či everolimem (s cílovou údolní hladinou 4-8 ng/ml).

Antibiotická profylaxe byla zajištěna piperacilin/tazobactamem v prvních třech dnech po transplantaci, v případě alergie na penicilinová antibiotika pak klindamycinem a ciprofloxacinem. Všichni pacienti dostávali profylaktickou dávku valgancykloviru po dobu 3 měsíců s cílem zabránit cytomegalovirovým infekcím. Součástí léčby v časném pooperačním období byla také antikoagulační terapie nízkomolekulárním heparinem s cílovými hladinami antiXa 0.2-0.4 mIU/l, dále individuálně přizpůsobena podle pooperačního průběhu. Následně po propuštění byli léčeni kyselinou acetylsalicylovou, jako prevencí trombózy cév transplantovaných orgánů.

7.1.4 Vyšetřovací metody

Studijní návštěvy probíhali před transplantací a po transplantaci podle předem stanoveného protokolu a byly součástí pravidelných transplantačních kontrol lékařem v Centru diabetologie IKEM.

7.1.4.1 Klinická vyšetření

Během návštěv podstoupili všichni pacienti kompletní fyzikální vyšetření, v 1. měsíci (a dle potřeby i ve 2 měsíci) i vyšetření chirurgem cílené na posouzení hojení operační rány a případných komplikací. Na začátku studie, v 6., 12. a 24. měsíci bylo provedeno oční vyšetření (podrobněji viz. 10.4.3).

7.1.4.2 Laboratorní vyšetření

Při každé kontrole byl proveden odběr žilní krve na základní biochemické vyšetření (iontogram, urea, kreatinin, glykovaný hemoglobin, panel jaterních testů, lipidogram, C-peptid), vyšetření krevního obrazu, údolní hladiny používaných imunosupresiv (tj. tacrolimu a everolimu), a dále odběr moči na základní semikvantitativní vyšetření (chemicky a močového sedimentu, mikroalbuminurie a proteinurie) a mikrobiologické vyšetření. Cílem těchto kontrol bylo posoudit aktuální funkci transplantované ledviny (renální testy, odhadovaná úroveň glomerulární filtrace, mikroalbuminurie, proteinurie) a pankreatu (glykovaný hemoglobin, glykémie, C-peptid). Navíc byl v 1., 12. a 24. měsíci doplněn i

stimulační test - tzv. mixed-meal test (za použití komerčně připraveného nápoje s přesně stanoveným množstvím sacharidů, tuků a bílkovin), který měl za cíl simulovat zátěž komplexním jídlem a posoudit tak schopnost transplantovaného pankreatu reagovat na stimulaci jídlem. Při tomto testu byly v pravidelných intervalech prováděny odběry žilní krve ke stanovení hladin glykémie, inzulinu a C-peptidu po stimulaci.

7.1.4.3 Oční vyšetření

Cílem očního vyšetření bylo podrobně sledovat vývoj očních změn při diabetické retinopatii, zejména nových proliferací na sítnici, ale i posoudit celkový oční nálezy a jejich změny v čase před a 6, 12 a 24 měsíců po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny.

Bylo proto provedeno standardní oční vyšetření zkušeným oftalmologem sestávající z podrobné anamnézy, zaměřené na zmapování progresu změn před transplantací (stadium retinopatie, zákroky jako fokální či panretinální laserová koagulace sítnice, pars plana vitrektomie, aplikace anti-VEGF terapie) a fyzikálního očního vyšetření. Visus byl hodnocen pomocí Snellenových optotypů po adekvátní korekci na refrakční vadu čočky – tzv. nejlepší korigovaná zraková ostrost (best corrected visual acuity – BCVA), vyjádřena v desetinných stupních, refrakce byla měřena autorefraktometrem (Accuref-K-9003D, Rexcam, Japonsko). Přední segment oka byl vyšetřen štěrbínovou lampou. Byl zhodnocen stupeň katarakty podle AREDS stupnice³⁰⁹ (rozsah 1-3, s hodnocením po půl stupních) a hodnota nitroočního tlaku (mmHg) pomocí bezkontaktního tonometru (Tomey FT-1000, Německo). Poté byla v navozené mydriáze specializovanou fundus kamerou (FF 450 Plus Fundus Camera + Visupac 500, Zeiss, Německo) provedena nepřímá oftalmoskopie sítnice k posouzení změn na očním pozadí (proliferace, krvácení) a zhotoveny snímky pod 45stupňovým uhlím z různých polí sítnice standardizovanou metodou. Nálezy a tíže retinopatie byly zhodnoceny podle EUODIAB kritérií²⁵³. Současně byla nad rámec standardního očního vyšetření doplněna optická koherenční tomografie²⁵⁵ (RTVue-100 Fourier-Domain OCT, Optovue, USA), umožňující přesné zobrazení mikro-architektoniky sítnice, měření tloušťky jednotlivých segmentů a posouzení případného klinicky signifikantního makulárního edému – zaměřili jsme se zejména na měření centrální tloušťky sítnice (um). Výsledkem očního vyšetření bylo posouzení stupně retinopatie podle EUODIAB kritérií²⁵³ (5 stupňů), výskyt nových změn (proliferace, krvácení) – zejména těch, které aktuálně, či v mezidobí vyžadovaly další indikaci k terapii laserem či pars plana vitrektomií. Dále zhodnocení nově

vzniklého edému makuly, dynamika změn centrální tloušťky sítnice, progresse katarakty či výskyt glaukomu a vývoj zrakové ostrosti v čase.

7.1.5 Časné zhoršení diabetické retinopatie

V první fázi studie jsme se soustředili na posouzení fenoménu tzv. časného zhoršení diabetické retinopatie při rychlé normalizaci glykémie u zařazených pacientů. Pro toto zhodnocení jsme použili výše zmíněný kompozitní endpoint studie (a nově vzniklé intravitreální krvácení), v časovém intervalu 12 měsíců po transplantaci, bez ohledu na randomizaci ke konkrétní imunosupresivní terapii. Současně jsme porovnávali rychlost změny glykovaného hemoglobinu u pacientů, kteří dosáhli endpoint oproti skupině se stabilními nálezy a soustředili se i na hledání dalších rizikových faktorů pro progresi.

7.1.6 Vliv imunosupresivní léčby na progresi změn na sítnici

Studie byla zaměřena na zhodnocení možného antiproliferačního vlivu mTOR inhibitoru everolimu na progresi změn na sítnici, pomocí kompozitního endpointu pro zhoršení očních změn. Porovnávali jsme zastoupení pacientů, kteří splnili tento složený primární cíl studie a také hodnotili jeho individuální komponenty k detailnějšímu posouzení změn, ke kterým po transplantaci docházelo. Pacienti byli sledováni první dva roky po transplantaci.

Současně jsme hodnotili i další oftalmologické parametry (viz. výše), které nebyly součástí primárního cíle, ale byly významné pro komplexní obraz o očních změnách (katarakta, změny tloušťky sítnice, nitrooční tlak apod.). Následně jsme také analyzovali změny zrakové ostrosti, které byly způsobeny přímo progresí retinopatie, a změny, které souvisely s jiným patologickými procesy (glaukom, katarakta).

7.1.7 Další sledované parametry u rozdílných režimů imunosuprese

Sekundární cíle studie byly sledování funkce a přežívání transplantovaných štěpů, přežívání pacientů po transplantaci, možné nežádoucí účinky imunosuprese, rejekční změny, krevní tlak, lipidogram a další metabolické parametry.

7.1.8 Statistické zpracování dat

Časné zhoršení diabetické retinopatie

Při první analýze zaměřené na časné zhoršení diabetické retinopatie po transplantaci jsme hodnotili výskyt složeného primárního endpointu a jeho individuálních částí (bez ohledu na randomizaci k imunosupresivnímu protokolu) pomocí metod deskriptivní statistiky a následně korelovali s relevantními anamnestickými daty a změnou glykemické kompenzace před a po transplantaci (rozdíl mezi HbA1c v den transplantace a 3 měsíce po transplantaci).

Rozdíly mezi jednotlivými skupinami byly hodnoceny pomocí dvouvýběrového t-testu či Mann-Whitneyho testu dle distribuce dat (kontinuální data) a Pearsonova χ -square testu anebo Fisherova testu (kategorická data). Pro porovnání vývoje sledovaných parametrů v čase u jednotlivých pacientů jsme použili párový t-test či Wilcoxon rank test (podle distribuce dat). Numerická data jsou vyjádřena jako průměr a směrodatná odchylka, či medián a interkvartilové rozpětí, kategorická data jako počet a %.

Kompletní randomizovaná studie

Power analýza a kalkulace pro počet pacientů ve studii vycházela z předpokladu, že při hladině významnosti 0.05, síle testu 80 %, odhadu výskytu primárního endpointu u 50% a hypotézy že pokles o 50%, tj. u 25% bude považován za signifikantní. Minimální počet pacientů v jednotlivých skupinách teda byl stanovena na 29. Jelikož jsme očekávali 10-15% drop-out, bylo připraveno 70 randomizačních obálek. Pro hodnocení kategorických dat a výskytu endpointu jsme využívali Fisherův test, numerická data byla hodnocena pomocí dvouvýběrového t-testu anebo Mann-Whitneyho testu (podle distribuce dat). Přežívání bylo hodnoceno Kaplan-Meierovou metodou. Hodnota $p < 0.05$ byla považována za statisticky signifikantní. Oftalmologické parametry byly hodnoceny podle pacientů a následně podle jednotlivých očí, k získání přesnějšího obrazu o závažnosti pozorovaných změn. Pro zpracování dat byl použit program R a GraphPad Prism 10.2.0.

7.2 Zhodnocení použitelnosti, přesnosti a spolehlivosti senzorů pro kontinuální monitoraci glukózy v perioperačním období u pacientů po transplantaci

7.2.1 Pilotní studie

V prvním kroku jsme provedli malou pilotní studii k ověření použitelnosti senzorů pro kontinuální monitoraci v časném pooperačním období s otázkou použití alternativního, dosud nepopsaného místa aplikace senzoru v podklíčkové oblasti.

K monitoraci byl použit senzor Dexcom G6, propojený s mobilním telefonem (iPhone), či speciálním přijímačem Dexcom. Jedna skupina pacientů měla senzor zavedený na standardním doporučovaném místě na paži, druhá skupina v oblasti pod klíčkem.

Hlavním sledovaným parametrem byla přesnost senzoru hodnocena pomocí MARD, bias a Bland-Altmanova plotu a Surveillance Error grid. Dále jsme sledovali čas s aktivním senzorem a případné technické komplikace či selhání senzoru.

Zařazovali jsme pacienty podstupující transplantační léčbu (transplantace pankreatu a ledviny, či jater) a následně vyžadující intenzivní péči.

7.2.2 Sledování přesnosti CGM v prospektivní randomizované studii

Na základě dat z pilotní studie jsme poté zahájili větší prospektivní randomizovanou studii se zaměřením na přesnost kontinuální monitorace a hledání vhodného přístupu pro kalibraci, s využitím stejného senzoru Dexcom G6 zavedeného do alternativního místa – infraklavikulárně. Tato studie i předchozí pilotní projekt byly schváleny etickou komisí (dokument č. 09558/22; G-22-13) a registrována na portálu ClinicalTrials.gov (NCT05585801).

Pro posouzení přesnosti a vlivu kalibrace jsme pacienty randomizovali do dvou skupin:

1. Skupina využívající senzor s daty dostupnými v reálném čase, které mohli být použity pro úpravu léčby a případnou kalibraci senzoru při větších odchylkách glykémie.
2. Kontrolní skupina se zaslepeným senzorem a předem stanoveným protokolem pro kalibraci.

Do studie byli zařazeni pacienti podstupující velký břišní operační výkon (transplantaci pankreatu a ledviny, transplantaci jater, resekci pankreatu či pankreatektomii a případnou autotransplantaci Langerhansových ostrůvků) a vyžadující následnou intenzivní pooperační péči.

Vzhledem k předpokladu, že kritický stav pacientů by mohl vést k odchylkám v měření, jsme se rozhodli senzory dodatečně kalibrovat i přesto, že byly kalibrovány od výrobce.

Referenční hodnotou byla glykémie naměřená pomocí přístroje k analýze acidobázické rovnováhy (Radiometer ABL800). Všechny senzory byly kalibrovány první pooperační den po 6 hodinách, poté 2. a 3. pooperační den jednou denně, a následně byly nezaslepené senzory ve studijní skupině dodatečně kalibrovány při odchylkách glykémie o 1,5 mmol/l vůči referenční hodnotě.

Hlavními sledovanými endpointy byly parametry přesnosti senzoru (MARD, bias, Surveillance Error grid) a to jak v celé kohortě pacientů, tak i v porovnání mezi studijní a kontrolní skupinou k posouzení vlivu kalibrace na přesnost.

Tyto parametry byly hodnoceny pro následující páry hodnot:

- a) Glukóza měřená CGM a referenční hodnota měřená ABL Radiometrem
- b) Glukóza měřená CGM a referenční hodnota měřená validovaným glukometrem Statstrip

Dále jsme hodnotili možný vliv interferencí – kyseliny askorbové, paracetamolu a CT vyšetření – na přesnost kontinuální monitorace. Za tímto účelem byly porovnány hodnoty MARD u jednotlivých pacientů léčených paracetamolem či kyselinou askorbovou a pacientů bez této léčby, stejně jako MARD senzorů u pacientů před a po CT vyšetření.

Následně jsme porovnávali směrodatné odchylky mezi páry hodnot glukózy z CGM a ABL radiometru mezi skupinou se zaslepeným senzorem a fixní kalibrací a skupinou využívající senzor ke kontrole glykémie s možností další rekaliibrace.

Zhodnotili jsme také celkový počet přídatných kalibrací těchto senzorů v průběhu sledování.

Současně jsme zpracovali data o glykemické kompenzaci a dávkách inzulinu u jednotlivých skupin pacientů.

7.2.3 Statistické zpracování dat

Data jsou prezentována jako medián a interkvartilové rozpětí nebo průměr a směrodatná odchylka. Pro hodnocení numerických dat byl použitý dvouvýběrový t-test a Mann-Whitney test (dle distribuce), pro kategorická data Pearsonův χ -kvadrátový test a Fisherův test.

Pro výpočet MARD, bias, Bland-Altmanovu analýzu a Surveillance Error Grid byl použitý Surveillance Error Grid software (modernější varianta volně dostupné verze, přímo sdílená od Diabetes Technology Society).⁹⁴

8.VLASTNÍ VÝSLEDKY

Výsledky jsou prezentovány v hlavních publikačních výstupech této disertační práce (kapitola 12.3) a v dalším rukopisu připraveném k publikaci. Zde uvádíme jejich shrnutí a stručné komentáře.

8.1 Časné zhoršení diabetické retinopatie po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny – mýtus či realita?

Cíl práce: Časné zhoršení diabetické retinopatie v důsledku náhlé normalizace hladin glykémie je obávanou komplikací transplantace pankreatu. Výskyt a závažnost tohoto fenoménu však dosud nebyla sledována v prospektivní studii. Cílem naší práce bylo posoudit progresi retinopatie ve vztahu ke změně glykemické kompenzace u pacientů podstupujících kombinovanou transplantaci pankreatu a ledviny.

Metodika: V prospektivní studii jsme ve skupině 43 pacientů s diabetes mellitus 1. typu léčených transplantací pankreatu a ledviny hodnotili zhoršení diabetické retinopatie na základě předem definovaného složeného cíle – nová indikace k laserové terapii (či pars plana vitrektomii), nově diagnostikovaná proliferace v sítnici, nově diagnostikovaný makulární edém, signifikantní zhoršení zrakové ostrosti či nově vzniklá slepota – v průběhu prvních 12 měsíců po transplantaci. Současně jsme sledovali dynamiku dalších očních nálezů – centrální tloušťky sítnice měřené optickou koherenční tomografií, změny zrakové ostrosti, kataraktu, či nitrooční tlak. Následně jsme porovnávali změnu glykemické kompenzace (rozdíl HbA1c v den transplantace a 3 měsíce po transplantaci a jeho další vývoj) a další klinické charakteristiky u pacientů, kteří splnili primární cíl studie a těch, u kterých byly oční nálezy v průběhu prvního roku po transplantaci stabilní. Tato analýza vycházela z prospektivní randomizované klinické studie, jejíž cílem bylo dlouhodobé sledování vývoje diabetické retinopatie u pacientů randomizovaných ke dvěma rozdílným imunosupresivním režimům – mTOR inhibitory či natrium mykofenolátem. Pro účely analýzy časného zhoršení v prvním roce po transplantaci jsme pacienty hodnotili jako jednu kohortu bez ohledu na randomizaci k jedné ze studijních větví.

Výsledky: V prvním roce po transplantaci v této skupině splnilo primární cíl studie 37 % pacientů. V průběhu prvního roku jsme také zaznamenali nárůst průměrné centrální tloušťky sítnice v 6. měsíci po transplantaci (u některých až subklinický makulární edém), se spontánní regresí do 12. měsíce. Průměrná zraková ostrost se významně nezměnila. Při porovnání rozdílů ve změně glykemické kompenzace mezi skupinou s progresí retinopatie a skupinou se stabilními očními nálezy jsme nezaznamenali signifikantní rozdíl ve změně glykovaného hemoglobinu, ani rozdíly ve věku, či době trvání diabetu. Ve skupině se zhoršením retinopatie byli více zastoupeni pacienti, kteří v posledním roce před transplantací podstoupili laserovou fotokoagulaci sítnice. Oční nálezy byly stabilní u 62,8 % pacientů. U 26 % z nich došlo ke zlepšení zrakové ostrosti. Nezaznamenali jsme žádný případ nově vzniklé ztráty zraku.

Závěr: V prospektivním sledování jsme pozorovali progresi diabetické retinopatie sledované pomocí složeného primárního cíle u více než jedné třetiny pacientů. Toto zhoršení dle naší analýzy nebylo spojené se změnou metabolické kompenzace, častěji k němu docházelo u pacientů léčených laserovou koagulací v posledním roce a tyto změny měly spíše charakter přirozené progresy velmi pokročilých diabetických změn na sítnici než náhlého neočekávaného zhoršení. Výsledky této studie ale potvrzují potřebu pečlivého a dlouhodobého oftalmologického sledování pacientů léčených transplantací i po normalizaci glykémie.

Výsledky této práce byly publikovány v časopisu American Journal of Transplantation, plný text článku v otištěné verzi je uveden v příloze.

8.2 Diabetická retinopatie u pacientů po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu: Výsledky prospektivní randomizované studie porovnávající léčbu everolimem a mykofenolátem

Cíl práce: Pacienti léčení kombinovanou transplantací pankreatu přichází zpravidla s velmi pokročilými mikrovaskulárními komplikacemi včetně diabetické retinopatie. Výsledky i metodika dosud provedených studií sledujících progresi retinopatie po úspěšné transplantaci jsou velmi rozmanité. Současně nebyl zkoumán vliv dlouhodobé systémové imunosuprese po transplantaci na vývoj změn na sítnici. Zahájili jsme proto prospektivní randomizovanou

studii s cílem posoudit vliv léčby mTOR inhibitorem everolimem, s hypotézou že jeho antiangiogenní účinky mohou mít příznivý vliv na proliferativní změny u DR.

Metodika: Do této prospektivní randomizované studie byli zařazováni pacienti připravováni ke kombinované transplantaci ledviny a pankreatu. Následně byli randomizováni k léčbě everolimem či mykofenolátem sodným, ve standardní kombinaci s tacrolimem a krátkodobou léčbou kortikoidy. Primární cíl studie byl složený endpoint zahrnující novou indikaci k laserové koagulaci či pars plana vitrektomii, nově diagnostikovanou proliferativní retinopatii, nově vzniklý klinicky signifikantní makulární edém či významné zhoršení zrakové ostrosti až slepotu. Oční vyšetření bylo prováděno před transplantací, 6, 12 a 24 měsíců po transplantaci. Sekundární cíle byly další oftalmologické charakteristiky a klinické sledování průběhu po transplantaci, funkce a přežívání štěpů ledviny a pankreatu, či případné komplikace.

Výsledky: Do studie bylo zařazeno 64 pacientů, 32 v každé skupině, 12měsíční follow-up dokončilo 55 z nich a kompletní dvouleté sledování 50 pacientů. Primární cíl studie splnilo 43,5 % pacientů léčených everolimem a 63 % pacientů léčených mykofenolátem ($p=0,4$). Při analýze jednotlivých částí primárního cíle a hodnocení jednotlivých očí zvláště jsme pozorovali významně častější zhoršení zrakové ostrosti u skupiny léčené mykofenolátem v porovnání s everolimem (35,1 % vs 13,7 %, $p=0,01$) a také trend k častější potřebě laserového ošetření po transplantaci (26,3 % vs 11,8 % $p=0,08$). Podrobnější hodnocení příčin zhoršení visu ukázalo častější zhoršení spojené s progresí retinopatie u pacientů léčených mykofenolátem (24,6 % vs 7,8 %, $p=0,02$), dalšími příčinami byla progresse katarakty či glaukom. Pacienti léčení everolimem měli na konci studie lepší průměrnou nejlepší korigovanou zrakovou ostrost (0,72 vs 0,58 $p=0,05$) a větší část z nich měla stabilizovaný visus (88,6 % vs 62,1 %, $p=0,03$).

Závěr: Tato randomizovaná prospektivní studie především podrobně zmapovala vývoj očních změn u pacientů po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu. Primární cíl splnila velká část pacientů v obou skupinách, bez statisticky signifikantního rozdílu. Podrobnější analýza naznačuje mírnější progresi v některých aspektech u pacientů léčených mTOR inhibitory, tento efekt ale vyžaduje potvrzení ve větší cílené studii.

Tato práce je v recenzním řízení, plný text je uveden v příloze.

8.3 Alternativní místo aplikace senzoru pro kontinuální monitoraci glukózy v infraklavikulární oblasti u pacientů podstupujících velké břišní chirurgické výkony

Cíl práce: Metoda kontinuální monitorace glukózy v reálném čase (rt-CGM) je v poslední době postupně testována i u hospitalizovaných pacientů v důsledku její stále větší použitelnosti, bezpečnosti a přesnosti. Zavedení rt-CGM do péče o pacienty v kritickém stavu a pooperačním období je ale stále velkou výzvou vzhledem k mnohým praktickým aspektům a také obavám z její nedostatečné přesnosti v těchto situacích. Proto jsme provedli pilotní klinickou studii zaměřenou na implementaci rt-CGM v pooperační péči. Cílem studie bylo testovat použitelnost, bezpečnost a přesnost rt-CGM v intenzivní péči a ověřit hypotézu, že zavedení senzoru do podkoží v infraklavikulární oblasti (dosud nepopsané v žádné studii), bude pro účely intenzivní péče praktičtější a méně náchylné k dislokaci při manipulaci s pacientem, či ke zkreslení měření a artefaktům vlivem komprese u sedovaných pacientů.

Metodika: Tato studie byla pilotní studií k většími připravovanému projektu, sloužící zejména k ověření alternativního místa aplikace senzoru. Zařadili jsme pacienty podstupující velké břišní operační výkony včetně transplantací solidních orgánů, vyžadující péči na pooperační jednotce intenzivní péče. Těsně po operačním výkonu jsme pacientům zavedli senzor Dexcom G6, propojený s přijímačem Dexcom či mobilním telefonem (iPhone). Senzor byl zaveden do oblasti pod klíčkem, anebo ve standardním doporučeném místě na paži. Vzhledem k předpokladu velkých výkyvů glykémie a horší přesnosti jsme senzory kalibrovali za použití hodnoty glukózy měření ABL Radiometrem. Kalibrace byla prováděna první pooperační den po 6 hodinách a poté po 24 hodinách ještě dva dny. Následně jsme hodnotili přesnost kontinuální monitorace pomocí MARD, bias a Surveillance Error Grid a porovnávali naměřené hodnoty mezi skupinami.

Výsledky: Do studie bylo zařazeno 14 pacientů po velkých břišních operačních výkonech (transplantace n=6, resekce pankreatu n=7, operace břišní aorty n=1). U sedmi pacientů jsme senzor zavedli do testované infraklavikulární oblasti, u dalších sedmi do standardního místa. V testované skupině s alternativním místem aplikace byl MARD 5,5 %, bias 1,4 %, a 99,2 % hodnot v zóně A a 0,8 % v zóně B Surveillance Error Grid. V kontrolní skupině byl MARD 13,9 %, bias 9,9 %, a 78,9 % porovnávaných hodnot v zóně A a 16,6 % v zóně B Surveillance Error Grid. Medián délky monitorace byl ve skupině s infraklavikulárně zavedeným senzorem 10 dní s průměrnou dobou aktivního senzoru 100 % času a v kontrolní skupině 7 dní s průměrnou dobou aktivního senzoru 90,4 % času.

Závěr: V této pilotní studii jsme ověřili nový koncept aplikace senzoru pro CGM do infraklavikulární oblasti u pacientů v pooperační intenzivní péči. Tato nová metoda se ukázala jako přesnější a méně náchylná k dislokacím při manipulaci či zkreslením měření způsobeným kompresí. Uplatnění tohoto přístupu pro kontinuální monitoraci však bude vyžadovat ověření ve větších cílených klinických studiích.

Výsledky této pilotní studie byly publikovány formou Letter to the Editor v časopisu Journal of Diabetes Science and Technology, plný text článku v otištěné verzi je uveden v příloze.

8.4 Přesnost a spolehlivost kontinuální monitorace glukózy v reálném čase u kriticky nemocných pacientů po velkých břišních operačních výkonech a transplantaci solidních orgánů

Cíl práce: Adekvátní kompenzace glykémie v intenzivní péči je náročná a vyžaduje časté měření glykémie a titraci inzulínoterapie. Kontinuální monitorace glukózy v intersticiu (CGM) dosahuje v posledních letech stále větší spolehlivost a přesnost u pacientů v ambulantní péči, ale i za hospitalizace. Cílem naší studie bylo zhodnotit použitelnost a přesnost CGM u pacientů po velkých břišních operačních výkonech včetně transplantací, vyžadujících pooperační léčbu na jednotce intenzivní péče.

Metodika: Do studie byli zařazeni pacienti podstupující operační výkony na pankreatu a transplantaci jater, pankreatu (či Langerhansových ostrůvků) a ledviny, léčení po operaci na jednotce intenzivní péče. Pro kontinuální monitoraci glukózy byl použitý senzor Dexcom G6, umístěný v infraklavikulární oblasti. Referenční hodnotou pro kalibraci senzoru a hodnocení přesnosti byla hodnota glukózy měřená ze vzorku arteriální krve ampérometrickou metodou pro analýzu krevních plynů (ABL 800; Radiometer, Copenhagen, Dánsko). Hodnoty glykémie byly také rutinně monitorovány pomocí validovaného glukometru StatStrip (schváleného pro použití v intenzivní péči) u lůžka pacienta. Přesnost měření pomocí CGM jsme hodnotili pomocí MARD (průměrná absolutní relativní odchylka), bias (systematická chyba měření), modifikovaného Bland-Altmanova plotu a metodou Surveillance Error Grid porovnávající klinickou významnost rozdílů párů měřených a referenčních hodnot a porovnávali jsme hodnoty z CGM vůči ABL Radiometru i vůči hodnotám měřeným glukometrem.

Výsledky: Analyzovali jsme data od 61 pacientů a získali 1546 párů hodnot z CGM a ABL. Čas s aktivním senzorem byl 95,1 %. MARD senzoru byla 9,4 %, relativní bias 1,4 % a 92,8 % porovnávaných hodnot bylo v bezpečné zóně A dle Surveillance Error Grid, 6,1 % v zóně B a 1,2 % v zóně C. Medián času v cílovém rozmezí byl 78 %, s minimem času stráveném v hypoglykémii (<1 %). Při porovnání hodnot měřených glukometrem a ABL Radiometrem byla hodnota MARD tohoto glukometru 5,8 %.

Závěr: Tato studie ověřila možnosti implementace senzoru Dexcom G6 v pooperační intenzivní péči a prokázala dostatečnou přesnost a spolehlivost CGM pro uplatnění v klinické praxi. Současně potvrdila možnost použití nového alternativního místa aplikace senzoru v infraklavikulární oblasti.

Výsledky této práce byly publikovány v časopisu Diabetes Care, plný text článku v otištěné verzi je uveden v příloze.

9. DISKUSE

Pokročilá diabetická retinopatie je obávanou komplikací diabetu pro hrozící zhoršení až ztrátu zrakové ostrosti a výrazný dopad na kvalitu života pacientů s diabetem. Transplantační léčba i přes úspěšné nastolení normoglykémie dle dosavadních výsledků nepřináší jednoznačné a rychlé zlepšení dlouho probíhajících patologických změn.^{272–281}

Pravděpodobně z tohoto důvodu nebyly dlouho provedeny prospektivní studie, které by cíleně sledovaly vývoj změn na sítnici po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny a žádná z prací se dosud nezabývala možným vlivem imunosupresivní terapie na progresi očního onemocnění.

V naší studii jsme v prvním kroku měli za cíl zhodnotit výskyt fenoménů časného zhoršení po rychlé normalizaci glykémie, popsané ve studiích mimo kontext transplantací. Progrese byla hodnocena podle předem definovaného kompozitního primárního cíle jako výskyt jedné ze závažných klinických událostí (nová indikace k laserové fotokoagulaci či pars plana vitrektomii, nově diagnostikovaná proliferace u předtím neproliferativní retinopatie, nový výskyt klinicky signifikantního makulárního edému a významné zhoršení visu, či ztráta zraku). Vzhledem k obvyklým pokročilým nálezům u kandidátů transplantační léčby jsme primární cíl záměrně definovali pomocí těchto závažných změn v klinickém stavu, které by adekvátně kvantifikovaly progresi jejich onemocnění, a ne pomocí mírnějších kritérií běžně používaných v klinických studiích sledujících celé spektrum nálezů v různých stádiích retinopatie.

V první analýze zaměřené na tzv. časné zhoršení v průběhu prvního roku po transplantaci bez ohledu na imunosupresivní terapii, jsme zaznamenali zhoršení u více než jedné třetiny pacientů. U žádného z nich však nedošlo k náhlému zhoršení ani slepotě. U dvou pacientů se objevilo intravitreální krvácení. Klinicky signifikantní makulární edém jsme pozorovali u 6 pacientů a u 3 z nich došlo ke spontánnímu zlepšení do 12. měsíce. U 62,8 % pacientů zůstaly oční nálezy stabilizované a u 26 % dokonce došlo ke zlepšení zrakové ostrosti.

V podrobnějším porovnání skupiny s progresí a skupiny se stabilními nálezy jsme nepozorovali rozdíl ve změně glykovaného hemoglobinu při porovnání hodnot před transplantací a 3 měsíce po transplantaci, ani rozdíly v jeho hodnotách v průběhu následujícího roku. Pacienti se nelišili ani ve věku, době trvání diabetu, dialyzační léčbě před transplantací, trvání operačního výkonu, léčbě rejekčních komplikací, či jiných klinických

charakteristikách. Jediný rozdíl jsme zaznamenali v častější anamnéze laserové koagulace sítnice v posledních 12 měsících před transplantací.

Toto pozorování je ve shodě s větší retrospektivní studií Kima et al.²⁸¹, ve které laserová terapie v posledním roce předcházejícím transplantaci vyšla jako rizikový faktor pro zhoršení v následujícím roce. U těchto pacientů je pravděpodobně přes snahu o stabilizaci laserovou léčbou retinopatie a proliferativní procesy v sítnici více aktivní a může tak dále progredovat i časně po transplantaci.

V porovnání s jinými studiemi hodnotícími fenomén časného zhoršení^{287–289} je populace pacientů léčených transplantací výrazně odlišná. V čase transplantace již tito pacienti přichází s pokročilými mikrovaskulárními komplikacemi – v našem souboru mělo 80 % z nich proliferativní retinopatii již v minulosti léčenou laserovou fotokoagulací či pars plana vitrektomií. Je proto velmi těžké odlišit progresi po transplantaci spojenou s rychlou normalizací glykémie a přirozený průběh aktivního onemocnění sítnice. V naší kohortě jsme nepozorovali ani jeden případ překvapivého náhlého zhoršení, které by neodpovídalo předchozím nálezům, navíc u části z nich v čase transplantace pravděpodobně nebyla retinopatie adekvátně stabilizovaná i přes pečlivé a časté sledování oftalmologem.

Časné zhoršení DR bylo v literatuře popsáno zejména u pacientů po intenzifikaci léčby diabetu.^{287–295} Tito pacienti měli obvykle mírnější stádia retinopatie, u kterých došlo k významné a neočekávané progresi. Dosud však nebyla stanovena jasná kritéria pro zhodnocení časného zhoršení. Progrese retinopatie po transplantaci pankreatu byla pozorována v několika předchozích studiích. Rozsah a míra tohoto zhoršení, a do jaké míry jej lze přičítat normalizaci glykémie však zůstává otázkou. Cíleně se této problematice věnovala studie Kima et al.²⁸¹ a jedna retrospektivní práce popisující rapidní zhoršení u 6 pacientů³¹⁰. V našem souboru jsme však nepozorovali případy analogické k dramatickým změnám uváděným ve studii Tsai et al.³¹⁰

V případě transplantační léčby jsou navíc rizikové i mnohé jiné faktory kromě samotné změny glykemické kompenzace. Transplantace pankreatu a ledviny je dlouhý operační výkon, provázený velkými výkyvy krevního tlaku, změnami vnitřního prostředí či pooperační antikoagulační terapií. Tyto faktory mohou samy o sobě představovat riziko pro akceleraci patofyziologických změn. V našem souboru jsme nezaznamenali zásadní zhoršení visu či intravitreální krvácení v časném pooperačním období a v průběhu antikoagulační léčby, k progresi docházelo v intervalu několika měsíců po transplantaci. Domníváme se tedy, že

kombinovaná transplantace ledviny a pankreatu nezhoršuje riziko progresu diabetické retinopatie, a naopak při dlouhodobě dobré funkci štěpu pankreatu dává naději na stabilizaci či případně zlepšení oftalmologického nálezu.

Dalším cílem studie bylo posoudit možnost vlivu léčby antiangiogenně působícími mTOR inhibitory v systémové imunosupresivní terapii na progresi retinopatie.

Složený primární cíl studie splnila poměrně velká část pacientů v obou randomizovaných větvích studie (43,5 % u everolimu, 63 % u mykofenolátu, $p=0,4$), rozdíl mezi nimi nebyl statisticky signifikantní. Při detailnější analýze jednotlivých částí primárního cíle (a také analýze jednotlivých očí zvlášť) jsme ale pozorovali rozdíly v některých sledovaných parametrech. Zhoršení zrakové ostrosti bylo významně častější u skupiny léčené mykofenolátem (35,1 % vs 13,7 %, $p=0,01$). Podobně jsme zaznamenali trend k častější potřebě laserové koagulace či nové indikace k pars plana vitrektomii u této skupiny (26,3 % vs. 11,8 % $p=0,08$). Při podrobnější analýze změn visu a zaměření na konkrétní příčiny jeho zhoršení jsme zjistili významně častější zhoršení zapříčiněné progresí retinopatie (či makulárním edémem) u skupiny léčené mykofenolátem (24,6 % vs 7,8 % $p=0,02$). Dalšími příčinami zhoršení u jednotlivých pacientů byla progresie katarakty či glaukom. Pacienti léčení everolimem měli na konci studie lepší průměrnou nejlepší korigovanou zrakovou ostrost (hodnoceno zlomkem dle Snellenových optotypů: 0,72 vs 0,58 $p=0,05$) a větší část z nich měla stabilizovaný visus na jednom oku (88,6 % vs 62,1 %, $p=0,03$), či obou očích (80,8 % vs 55,2 % $p=0,05$). Tato zjištění hypoteticky mohou naznačovat příznivější průběh diabetické retinopatie při dlouhodobé terapii mTOR inhibitory. Jde ale o sekundární analýzu a naše studie nebyla primárně dimenzována na hodnocení těchto jednotlivých částí primárního cíle, ověření tohoto vlivu by proto vyžadovalo další a větší cílenou studii.

U skupiny léčené everolimem jsme na druhé straně v prvním roce studie zaznamenali novou proliferaci u dvou pacientů, dle individuálního hodnocení oftalmologů šlo o pacienty s těžkou preproliferativní retinopatií před transplantací a její očekávanou přirozenou progresí, kterou neovlivnila úspěšná transplantáční léčba, ani použítá imunosuprese.

Pokud jde o fenomén časného zhoršení retinopatie hodnocené v celém souboru pacientů na konci studie a s ohledem na imunosupresivní režim, naše zjištění byly ve shodě s první provedenou analýzou. Při porovnání změny glykemické kompenzace u pacientů s progresí a stabilním nálezem v celé skupině i u jednotlivých randomizovaných větví zvlášť, tyto pacienti se nelišili ve změně glykovaného hemoglobinu ani dalších sledovaných parametrech, opět

jsme zaznamenali větší zastoupení pacientů léčených laserovou koagulací sítnice v posledním roce před transplantací (50 % vs 17,1 %, $p=0,015$).

Sekundárním cílem obou studií bylo sledování změn centrální tloušťky sítnice pomocí optické koherenční tomografie. Ve skupině léčené everolimem jsme pozorovali významné zvětšení CRT v 6.měsíci se spontánní regresí do 12. měsíce po transplantaci, naopak ve skupině léčené mykofenolátem byl tento trend odlišný, s postupným nárůstem CRT, který byl statisticky významný při porovnání hodnot před transplantací a 2 roky po transplantaci. V předchozích studiích zaměřených na efekt zlepšení glykemické kompenzace a změny tohoto parametru dle OCT bylo popisováno analogické zesílení CRT v prvním roce po léčebném zásahu, se spontánní normalizací^{311,312}. Zatím však nebylo zjištěno žádné patofyziologické vysvětlení tohoto jevu, ale je možné že jde o efekt metabolických změn, a následnou stabilizaci. Rozdílný průběh těchto změn u dvou větví naší studie by také hypoteticky mohl souviset s efektem mTOR inhibice.

Limitací naší studie je malý soubor sledovaných pacientů a chybějící kontrolní skupina, která by byla léčena jen transplantací ledviny. Vzhledem k tomu, že většina pacientů s DM 1.typu je indikována ke kombinované transplantaci ledviny a pankreatu, transplantaci samotné ledviny podstupují jen pacienti, kteří mají možnost transplantace od žijícího dárce, či pacienti, pro které by kombinovaná transplantace byla příliš riziková. Jde ale o 1-2 pacienty ročně, proto jsme s ohledem na časový průběh studie tuto variantu nezvolili. Studie také nebyla primárně dimenzována pro posouzení časného zhoršení, jde o sekundární analýzu prospektivního sledování a jsme si vědomí tohoto omezení.

Z předchozích výzkumů zaměřených na sledování retinopatie po transplantaci, které se výrazně liší metodikou hodnocení retinopatie a mnohé z nich mají retrospektivní charakter, vzešlo mnoho kontroverzních zjištění o příznivý vliv transplantace pankreatu na patologické změny v sítnici. Studie s několikaletým sledováním ale přinesly nadějná zjištění o stabilizaci retinopatie v delším časovém horizontu.^{273,277,279–281}

Přínosem naší práce je zejména podrobné a prospektivní sledování těchto změn v období prvních dvou let po transplantaci, které přináší komplexní obraz o tom, jaký vývoj lze po normalizaci glykémie u těchto pacientů očekávat. Některá ze zjištění naznačují možný benefit léčby mTOR inhibitory, ale vyžadují další ověření.

Současně jsme i přes popisované splnění primárního cíle u velké části pacientů pozorovali spíš přirozený průběh pokročilé diabetické retinopatie než neočekávané náhlé zhoršení.

V našem souboru měla velká část pacientů v čase transplantace pokročilou retinopatii, v proliferativním stádiu. Většina z nich podstoupila několik laserových ošetření sítnice či pars plana vitrektomii, které vedly k jizvení a dalším ireverzibilním změnám. Jde proto o velmi specifickou a odlišnou populaci od těch, u kterých bylo popisované časně zhoršení po intenzifikaci terapie v jiných studiích. Z našeho pohledu by proto obavy z fenoménu časně zhoršení retinopatie neměly vést k odkladu indikované transplantační léčby. U těchto pacientů je však zásadní pečlivé oftalmologické sledování a příprava před transplantací, se snahou o co nejúčinnější stabilizaci aktivních patologických procesů v sítnici a následně časté kontroly a hodnocení očních nálezů i po úspěšné transplantaci.

Naše studie je zatím jedinou, která sledovala prospektivně vývoj diabetické retinopatie u pacientů po transplantaci ledviny a pankreatu léčených rozdílnými imunosupresivními schémata. I když celkové zhodnocení v průběhu 24 měsíců neukázalo zásadní rozdíly ve vývoji retinopatie, některé ukazatele naznačuje, že systémová inhibice mTOR kaskády může mít příznivý vliv na progresi proliferativních změn, vyžadujících další intervence (laserovou fotokoagulaci či pars plana vitrektomii) i na udržení stabilní zrakové ostrosti. Toto zjištění by mohlo být rovněž podkladem pro studium mTOR inhibice na lokální úrovni u osob s diabetickou retinopatií bez potřeby systémové imunosuprese.

V další části práce jsme se zaměřili na testování využití kontinuální monitorace glukózy v pooperační péči za účelem zlepšení péče o pacienty po transplantaci s použitím této nové metody.

V prvním kroku jsme provedli pilotní studii k ověření použitelnosti CGM v intenzivní péči a také k otestování nového alternativního místa pro aplikaci senzoru v infraklavikulární oblasti, které jsme porovnávali se standardním umístěním na paži. Do studie bylo zařazeno 14 pacientů – po 7 v každé skupině. U pacientu se senzorem zavedeným pod klíčkem jsme zaznamenali více času s aktivním senzorem (100 % vs 90,4 %, $p=0,0047$) a výrazně větší přesnost (MARD 5,5 % vs 13,9 % $p<0,001$; 99,2 % vs. 78,9 % v zóně A Surveillance Error Grid). Uložení v infraklavikulární oblasti bylo méně náchylné k dislokaci, kompresi či jiným technickým příčinám ztráty senzoru a ukázalo se jako dostatečně přesné pro další použití. Tato zjištění samozřejmě vyžadují potvrzení v rozsáhlejší dedikované studii, cíleně porovnávající obě možnosti aplikace senzoru. Naším cílem bylo v pilotním projektu ověřit použitelnost této metody v klinické praxi pro připravovanou studii přesnosti a spolehlivosti CGM.

Následně jsme zahájili prospektivní randomizovanou studii, jejíž první část byla zaměřena na zhodnocení přesnosti měření glukózy pomocí CGM a porovnání se standardními metodami monitorace. Do studie bylo zařazeno 61 pacientů podstupujících velké břišní operační výkony, včetně transplantací solidních orgánů. Většina z nich už předoperačně měla závažnou orgánovou dysfunkci, která s následnou pooperační systémovou zánětlivou odpovědí představovala možnou překážku pro přesné měření pomocí CGM. Také koagulopatie, výrazně pozitivní tekutinová bilance, léčba vazopresory, porucha prokrvení periferních tkání, hypoxémie, velké výkyvy glykémie a další faktory mohli ovlivňovat přesnost kontinuální monitorace, založené na měření glukózy v intersticiu.¹⁰²

I přesto se však v naší studii ukázalo, že kontinuální monitorace může být použitelná i v takto nestabilních podmínkách. Senzor Dexcom G6 měl výsledný MARD 9,4 % a celkem 98,9 % porovnávaných hodnot v klinicky bezpečných zónách A a B Surveillance Error Grid. Tyto hodnoty jsou porovnatelné s přesností, kterou jeho výrobce udává u stabilních pacientů v ambulantní péči⁸⁷, stejně jako v jiných studiích testujících Dexcom G6 v perioperačním období.^{103,104,313} V porovnání s malými studiemi provedenými na jednotkách intenzivní péče v období pandemie COVID 19^{69–72,74,75,314} jsme dosáhli ještě větší přesnosti, což může souviset s naším protokolem pro kalibraci. V prvních třech dnech jsme kalibrovali zaslepené i nezaslepené senzory na základě hodnot glukózy stanovených ABL Radiometrem. Následně byly nezaslepené senzory ještě dodatečně kalibrovány při rozdílu hodnot $\geq 1,5$ mmol/l. V oddělené analýze zaslepených a nezaslepených CGM (s možností rekalibrace) jsme pozorovali signifikantně větší přesnost (MARD 9,2 % vs 10 % $p=0,0321$) v nezaslepené skupině. Toto zjištění podporuje přínos kalibrace při použití CGM v intenzivní péči i přesto, že senzor je kalibrován od výrobce a za stabilních podmínek není obvykle další kalibrace nutná.

Čas v cílovém rozmezí (3,9-10 mmol/l) u našich pacientů dosáhl 77,5 %, s velmi nízkým výskytem hypoglykémie (<1 % hodnot pod 3,9 mmol/l). Zaznamenali jsme pouze dvě krátké epizody hypoglykémie pod 3,0 mmol/l. Počet epizod hypoglykémie ani čas strávený v hypoglykémii v zaslepené a nezaslepené skupině se nelišily. Cílové rozmezí protokolu pro dávkování inzulinu bylo stanoveno na 6-10 mmol/l a pacienti byli pečlivě monitorováni, hladiny glykémie byly proto u obou skupin udrženy v bezpečném rozmezí i přesto, že byli léčeni poměrně velkými dávkami inzulinu (většina z nich 1j./kg/den a více).

V této studii jsme dále používali alternativní místo uložení senzoru v podklíčkové oblasti, testované v předchozí pilotní studii. Toto místo se ukázalo jako velmi praktické pro ošetřující personál (manipulaci s pacientem, transport, různé diagnostické či terapeutické procedury) a odolnější vůči dislokacím či kompresi u sedovaných pacientů. Připouštíme ale, že v této studii nemáme kontrolní skupinu se standardním umístěním k přímému porovnání.

Během studie jsme se potýkali u některých pacientů s technickými obtížemi, přičemž u dvou pacientů monitorace selhala kvůli chybě vysílače a u dalších dvou při koagulopatii vznikl hematom v místě zavedení senzoru znemožňující monitoraci. Tyto senzory nebyly zahrnuté v analýze přesnosti pro nedostatečné množství validních dat. Vyloučení z analýzy mohlo ovlivnit konečný výsledek přesnosti CGM.

Další limitací studie je fakt, že jsme nepoužili CGM během operačního výkonu. V pilotní studii jsme totiž při testování peroperačně často zaznamenali ztrátu signálu senzoru na operačním sále vlivem různých interferencí – pravděpodobně z dalších zařízení využívajících Bluetooth, bipolární koagulace a zahřívání pacienta. Rozhodli jsme se proto v této fázi zaměřit na dosažení co nejpresnější monitorace v pooperačním období.

Při podrobnější analýze výsledků jsme se také zaměřili na různé diskutované interference s CGM. Sledovali jsme vliv CT vyšetření na možnou malfunkci CGM. Po CT vyšetření u osmi pacientů nedošlo ani u jednoho z nich ke ztrátě signálu či jiné poruše senzoru, a MARD jednotlivých senzorů před a po vyšetření se nelišil. Podobně ani léčba kyselinou askorbovou či paracetamolem neměla vliv na přesnost jednotlivých senzorů.

Ve studii jsme cíleně zvolili jako referenční hodnotu hladinu glukózy z arteriální krvi měřenou analyzátozem krevních plynů. Tato metoda není častou ani standardní referenční metodou u studií sledujících přesnost CGM, obvykle se pro tento účel používá validovaný glukometr (v případě intenzivní péče StatStrip) a vzorky kapilární krve. Tento postup vychází zejména z tradičních studií přesnosti CGM u stabilních pacientů. Vhodná spolehlivá referenční metoda u pacientů v kritickém stavu je v tuto chvíli stále předmětem diskusí, hypoperfúze periferních tkání, hypoxie, či alterace v krevním obraze a vnitřním prostředí (a mnohé další faktory) totiž mají nezanedbatelný vliv i na přesnost měření glukometrem. Stejně tak koncentrace glukózy v arteriální, venózní a kapilární krvi se u těchto pacientů mohou lišit výrazněji než ve stabilním stavu, kde tento rozdíl nemá zásadní klinický význam pro titraci inzulinoterapie.^{67,97} Nedávná metaanalýza metod stanovení glukózy v intenzivní péči⁹⁷ poukázala na velké rozdíly a diskrepance mezi jednotlivými metodami a vzorky. V závěru

pak doporučují použití vzorku arteriální krve a měření glukózy na point-of-care analyzátoru acidobazické rovnováhy jako metodu s nejmenším rizikem zkreslení výsledku.

Na základě předchozích klinických zkušeností jsme proto tuto metodu zvolili jako prakticky uplatnitelnou střední cestu mezi glukometrem a standardním biochemickým vyšetřením glukózy v krvi. Podle předchozích dat se přesnost jednotlivých přístrojů pro analýzu krevních plynů může výrazně lišit⁹⁶. V naší studii byl ABL Radiometr pravidelně interně validován a kalibrován na Oddělení klinické biochemie a laboratorních metod a během studie byla systematická chyba měření těmito přístroji v rozmezí 0,1-0,27 mmol/l (výrazně nižší než v citované práci). Domníváme se proto, že tato metoda byla dostatečně přesná, aby mohla sloužit jako reference v průběhu celé studie.

Pro porovnání jsme hodnotili i výkon glukometru StatStrip, který vykazoval větší přesnost, s MARD 5,8 % a lepšími výsledky Surveillance Error Grid i Bland-Altmanově analýzy.

Dle našich zjištění kontinuální monitorace glukózy u pacientů léčených na jednotce intenzivní péče po velkých břišních operačních výkonech dosahovala přesnost měření porovnatelnou s hodnotami u stabilních pacientů v ambulantní péči. Naměřené parametry sice nesplňují kritéria stanovené dle ISO norem pro glukometry validované pro intenzivní péči⁸⁸, jejich jednoznačnou předností je ale kontinuální přehled o vývoji hladiny glukózy umožňující přesnější úpravy terapie, a možnost nastavení alarmů upozorňujících na pokles či vzestup glykémie k hraničním hodnotám. Na základě naší studie se domníváme, že kontinuální monitorace glykémie je prakticky použitelná i v intenzivní péči, za předpokladu pravidelné kontroly správnosti měření glukózy pomocí standardních metod a s použitím vhodného kalibračního protokolu, zejména v prvních dnech monitorace. CGM může snížit potřebu časté kontroly glykémie glukometrem spojené s nutností krevního odběru, poskytnout podrobnější přehled o vývoji hladin glukózy, nezachytitelných při běžném měření a usnadnit dosažení cílových rozmezí glykémie v perioperačním období.

Udržení normoglykémie je důležitým faktorem pro příznivý pooperační průběh a v případě transplantace i pro dobrou funkci transplantovaných štěpů, proto lze předpokládat, že zavedení CGM do jejich pooperačního sledování může přispět ke zlepšení kvality péče o tuto komplikovanou skupinu pacientů.

10. ZÁVĚR

Transplantace pankreatu je (zejména v kombinaci s transplantací ledviny) již dlouhodobě zavedenou a standardní metodou, která prodlužuje a zlepšuje život pacientů s diabetem. Pokud jde o další vývoj již rozvinutých mikrovaskulárních komplikací diabetu, v tuto chvíli dosavadní poznatky umožňují opatrný optimismus.

Ačkoliv zejména v časném období po transplantaci doznívá vliv dřívější dlouhodobé hyperglykémie a rozběhnuté kaskády proliferativních procesů na sítnici, v delším časovém horizontu většinou dochází naopak ke stabilizaci. Nelze popřít, že existuje riziko tzv. časného zhoršení retinopatie, avšak jednotlivé případy progresu popisované po transplantaci jsou velmi heterogenní a nelze oddělit vliv samotného rozsáhlého výkonu (zejména kolísání krevního tlaku, acidobazické rovnováhy a jiných) od případných změn plynoucích z pomalé adaptace na náhlou úpravu hladiny glukózy. Stejně tak zatím nebyl zkoumán a objasněn vliv různých režimů imunosupresivní terapie po transplantaci na vývoj DR.

Ve svém výzkumu jsem se věnovala podrobnějšímu a cílenému sledování vývoje diabetické retinopatie u pacientů léčených kombinovanou transplantací ledviny a pankreatu, se speciálním důrazem na vliv imunosupresivní léčby antiangiogenně působícími mTOR inhibitory a současně na zmapování výskytu možného časného zhoršení retinopatie v důsledku normalizace glykémie po transplantaci.

Studie potvrdila progresi patologických změn v sítnici v prvních dvou letech po transplantaci, a to u obou testovaných imunosupresivních režimů. Charakter těchto změn však odpovídá spíš přirozené progresi pokročilé a rizikové retinopatie přítomné v čase transplantace než neočekávanému náhlému zhoršení, které popisují jiné práce po intenzifikaci terapie. Tento závěr podporuje také naše zjištění, že výskyt případného zhoršení nesouvisí významně s velikostí změny ukazatelů glukózového metabolismu před transplantací v době inzulínové léčby a po transplantaci, kdy sledované osoby již nepoužívaly inzulín a měly glukózový metabolismus prakticky v normě. Některá z našich zjištění naznačují možný příznivý efekt léčby mTOR inhibitory na potransplantační vývoj retinopatie a dávají tak prostor další větší prospektivní studii cílené na konkrétní aspekty oftalmologických nálezů. Pro klinickou praxi naše studie opět potvrzuje potřebu pečlivého pravidelného očního sledování kandidátů

transplantace pankreatu a ledviny, s cílem co nejlepší stabilizace očních změn v čase přípravy na čekací listině a časné léčby možné progrese po transplantaci.

V další části práce jsem se zaměřila na testování přesnosti a spolehlivosti kontinuální monitorace glykémie v časné intenzivní pooperační péči u pacientů léčených transplantací a možnost zavedení této metody do klinické praxe. Udržení glykémie v cílovém rozmezí po velkých operačních výkonech prokazatelně snižuje riziko pooperačních komplikací.

Současný přístup doporučující častou monitorací pouze validovaným glukometrem však často nepřináší uspokojivé výsledky a klade velké nároky na ošetřující personál. Možnost kontinuálního sledování hladin glukózy proto přináší naději na zlepšení péče o tyto pacienty.

V naší studii testující CGM v intenzivní pooperační péči jsme prokázali, že senzor pro kontinuální monitoraci Dexcom G6 může dosahovat přesnost porovnatelnou s hodnotami udávanými u stabilních pacientů v ambulantní péči. Z našeho pozorování se jako jeden z důležitých faktorů pro přesnost měření ukazuje vhodný kalibrační protokol, i přesto, že tento senzor je kalibrován od výrobce. Vyzkoušeli a ověřili jsme také alternativní místo pro aplikaci senzoru, dosud nepopsané v odborné literatuře – v infraklavikulární oblasti. Tato studie tak otevírá možnosti dalšího testování kontinuální monitorace v intenzivní péči i jeho uplatnění v běžné praxi. Přináší inovativní přístup k praktickému použití CGM v podmínkách intenzivní péče – kalibrační protokol, nové místo pro zavedení senzoru vhodnější pro pacienty v kritickém stavu i důležité poznatky o vlivu možných interferencí v tomto prostředí. U pacientů léčených transplantací se tak CGM může stát důležitou součástí pooperační léčby, která usnadní udržení glykémie co nejbližší fyziologickým hodnotám, sníží tak riziko možných pooperačních komplikací a současně poskytne i detailní a aktuální obraz o rozvoji funkce štěpu pankreatu.

11. LITERATURA

1. Vistoli F, Kauffmann EF, Boggi U. Pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2021;26(4):381-389.
2. Boggi U, Vistoli F, Andres A, et al. First World Consensus Conference on pancreas transplantation: Part II - recommendations. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2021;21 Suppl 3(Suppl 3):17-59.
3. Boggi U, Vistoli F, Marchetti P, Kandaswamy R, Berney T, World Consensus Group on Pancreas Transplantation. First world consensus conference on pancreas transplantation: Part I-Methods and results of literature search. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2021;21 Suppl 3(Suppl 3):1-16.
4. Hoglebe NJ, Ishahak M, Millman JR. Developments in stem cell-derived islet replacement therapy for treating type 1 diabetes. *Cell Stem Cell*. 2023;30(5):530-548.
5. Kukla A, Ventura-Aguilar P, Cooper M, et al. Transplant Options for Patients With Diabetes and Advanced Kidney Disease: A Review. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2021;78(3):418-428.
6. Renard E. Automated insulin delivery systems: from early research to routine care of type 1 diabetes. *Acta Diabetol*. 2023;60(2):151-161.
7. Nijhoff MF, Hovens JGFM, Huisman SD, et al. Psychological Symptoms and Quality of Life After Simultaneous Kidney and Pancreas Transplantation. *Transplant Direct*. 2020;6(5):e552.
8. Rajkumar T, Mazid S, Vucak-Dzumhur M, Sykes TM, Elder GJ. Health-related quality of life following kidney and simultaneous pancreas kidney transplantation. *Nephrol Carlton Vic*. 2019;24(9):975-982.
9. Sureshkumar KK, Patel BM, Markatos A, Nghiem DD, Marcus RJ. Quality of life after organ transplantation in type 1 diabetics with end-stage renal disease. *Clin Transplant*. 2006;20(1):19-25.
10. Kelly WD, Lillehei RC, Merkel FK, Idezuki Y, Goetz FC. Allotransplantation of the pancreas and duodenum along with the kidney in diabetic nephropathy. *Surgery*. 1967;61(6):827-837.
11. F. Saudek, K.Lipár, M. Kočík et al. 40 let transplantací slinivek v České republice. *DMEV*. (2, 2024).
12. Choudhary P, Rickels MR, Senior PA, et al. Evidence-informed clinical practice recommendations for treatment of type 1 diabetes complicated by problematic hypoglycemia. *Diabetes Care*. 2015;38(6):1016-1029.
13. Lombardo C, Perrone VG, Amorese G, et al. Update on Pancreatic Transplantation in the Management of Diabetes. In: Feingold KR, Anawalt B, Blackman MR, et al., eds. *Endotext*. MDText.com, Inc.; 2000. Accessed October 20, 2023. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK278979/>
14. Redfield RR, Scalea JR, Odorico JS. Simultaneous pancreas and kidney transplantation: current trends and future directions. *Curr Opin Organ Transplant*. 2015;20(1):94-102.

15. Boggi U, Amorese G, Marchetti P. Surgical techniques for pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15(1):102-111.
16. Gruessner AC, Gruessner RWG. Long-term outcome after pancreas transplantation: a registry analysis. *Curr Opin Organ Transplant*. 2016;21(4):377-385.
17. Gruessner AC, Gruessner RWG. The 2022 International Pancreas Transplant Registry Report-A Review. *Transplant Proc*. 2022;54(7):1918-1943.
18. Parajuli S, Arunachalam A, Swanson KJ, et al. Outcomes after simultaneous kidney-pancreas versus pancreas after kidney transplantation in the current era. *Clin Transplant*. 2019;33(12):e13732.
19. Venturini M, Losio C, Del Maschio A, et al. Kidney-pancreas transplantation does not improve retinal arterial flow velocities in type 1 diabetic uremic patients. *Transplantation*. 2010;89(2):261-263.
20. Ricordi C, Lacy PE, Finke EH, Olack BJ, Scharp DW. Automated method for isolation of human pancreatic islets. *Diabetes*. 1988;37(4):413-420.
21. Shapiro AMJ, Pokrywczynska M, Ricordi C. Clinical pancreatic islet transplantation. *Nat Rev Endocrinol*. 2017;13(5):268-277.
22. Rickels MR. Hypoglycemia-associated autonomic failure, counterregulatory responses, and therapeutic options in type 1 diabetes. *Ann N Y Acad Sci*. 2019;1454(1):68-79.
23. Rickels MR, Robertson RP. Pancreatic Islet Transplantation in Humans: Recent Progress and Future Directions. *Endocr Rev*. 2019;40(2):631-668.
24. Süsal C, Pelzl S, Simon T, Opelz G. Advances in pre- and posttransplant immunologic testing in kidney transplantation. *Transplant Proc*. 2004;36(1):29-34.
25. Argani H. Anti-HLA Antibody: The Role of Epitopes in Organ Transplantation. *Exp Clin Transplant Off J Middle East Soc Organ Transplant*. 2019;17(Suppl 1):38-42.
26. Caro-Oleas JL, González-Escribano MF, Gentil-Govantes MÁ, et al. Clinical relevance of anti-HLA donor-specific antibodies detected by Luminex assay in the development of rejection after renal transplantation. *Transplantation*. 2012;94(4):338-344.
27. Eng HS, Bennett G, Bardy P, Coghlan P, Russ GR, Coates PTH. Clinical significance of anti-HLA antibodies detected by Luminex: enhancing the interpretation of CDC-BXM and important post-transplantation monitoring tools. *Hum Immunol*. 2009;70(8):595-599.
28. Picascia A, Infante T, Napoli C. Luminex and antibody detection in kidney transplantation. *Clin Exp Nephrol*. 2012;16(3):373-381
29. Abramowicz D, Oberbauer R, Heemann U, et al. Recent advances in kidney transplantation: a viewpoint from the Descartes advisory board. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transplant Assoc - Eur Ren Assoc*. 2018;33(10):1699-1707
30. Amorese G, Lombardo C, Tudisco A, et al. Induction and Immunosuppressive Management of Pancreas Transplant Recipients. *Curr Pharm Des*. 2020;26(28):3425-3439.
31. Andrés A. Cancer incidence after immunosuppressive treatment following kidney transplantation. *Crit Rev Oncol Hematol*. 2005;56(1):71-85.

32. Amorese G, Lombardo C, Tudisco A, et al. Induction and Immunosuppressive Management of Pancreas Transplant Recipients. *Curr Pharm Des.* 2020;26(28):3425-3439.
33. Hao WJ, Zong HT, Cui YS, Zhang Y. The efficacy and safety of alemtuzumab and daclizumab versus antithymocyte globulin during organ transplantation: a meta-analysis. *Transplant Proc.* 2012;44(10):2955-2960.
34. Niederhaus SV, Kaufman DB, Odorico JS. Induction therapy in pancreas transplantation. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant.* 2013;26(7):704-714.
35. Scott LJ, McKeage K, Keam SJ, Plosker GL. Tacrolimus: a further update of its use in the management of organ transplantation. *Drugs.* 2003;63(12):1247-1297.
36. Arnold R, Pussell BA, Pianta TJ, Lin CSY, Kiernan MC, Krishnan AV. Association between calcineurin inhibitor treatment and peripheral nerve dysfunction in renal transplant recipients. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg.* 2013;13(9):2426-2432.
37. Fioretto P, Najafian B, Sutherland DER, Mauer M. Tacrolimus and cyclosporine nephrotoxicity in native kidneys of pancreas transplant recipients. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN.* 2011;6(1):101-106.
38. Mohammadi O, Kassim TA. Azathioprine. In: *StatPearls.* StatPearls Publishing; 2024. Accessed November 4, 2024. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK542190/>
39. Gruessner RW, Sutherland DE, Drangstveit MB, Wrenshall L, Humar A, Gruessner AC. Mycophenolate mofetil in pancreas transplantation. *Transplantation.* 1998;66(3):318-323.
40. Stegall MD, Simon M, Wachs ME, Chan L, Nolan C, Kam I. Mycophenolate mofetil decreases rejection in simultaneous pancreas-kidney transplantation when combined with tacrolimus or cyclosporine. *Transplantation.* 1997;64(12):1695-1700.
41. Oh JM, Wiland AM, Klassen DK, Weidle PJ, Bartlett ST. Comparison of azathioprine and mycophenolate mofetil for the prevention of acute rejection in recipients of pancreas transplantation. *J Clin Pharmacol.* 2001;41(8):861-869.
42. Odorico JS, Pirsch JD, Knechtle SJ, D'Alessandro AM, Sollinger HW. A study comparing mycophenolate mofetil to azathioprine in simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Transplantation.* 1998;66(12):1751-1759.
43. Merion RM, Henry ML, Melzer JS, Sollinger HW, Sutherland DE, Taylor RJ. Randomized, prospective trial of mycophenolate mofetil versus azathioprine for prevention of acute renal allograft rejection after simultaneous kidney-pancreas transplantation. *Transplantation.* 2000;70(1):105-111.
44. Rangel EB, Melaragno CS, Sá JR, et al. Mycophenolate mofetil versus enteric-coated mycophenolate sodium after simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Transplant Proc.* 2009;41(10):4265-4269.
45. Berney T, Andres A, Toso C, Majno P, Squifflet JP. mTOR Inhibition and Clinical Transplantation: Pancreas and Islet. *Transplantation.* 2018;102(2S Suppl 1):S30-S31.
46. Ventura-Aguiar P, Campistol JM, Diekmann F. Safety of mTOR inhibitors in adult solid organ transplantation. *Expert Opin Drug Saf.* 2016;15(3):303-319.

47. Waldner M, Fantus D, Solari M, Thomson AW. New perspectives on mTOR inhibitors (rapamycin, rapalogs and TORKinibs) in transplantation. *Br J Clin Pharmacol*. 2016;82(5):1158-1170.
48. Siskind EJ, Liu C, Collins DT, et al. Use of Mammalian Target of Rapamycin Inhibitors for Pancreas Transplant Immunosuppression Is Associated With Improved Allograft Survival and Improved Early Patient Survival. *Pancreas*. 2019;48(5):644-651.
49. Girman P, Lipár K, Kočík M, et al. Sirolimus vs mycophenolate mofetil (MMF) in primary combined pancreas and kidney transplantation. Results of a long-term prospective randomized study. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2020;20(3):779-787.
50. Malaise J, De Roover A, Squifflet JP, et al. Immunosuppression in pancreas transplantation: the Euro SPK trials and beyond. *Acta Chir Belg*. 2008;108(6):673-678.
51. Ciancio G, Sageshima J, Chen 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 Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2012;12(12):3363-3376.
52. Garcia VD, Keitel E, Santos AF, et al. Immunosuppression in pancreas transplantation: mycophenolate mofetil versus sirolimus. *Transplant Proc*. 2004;36(4):975-977.
53. Knight RJ, Graviss EA, Nguyen DT, et al. Conversion from tacrolimus-mycophenolate mofetil to tacrolimus-mTOR immunosuppression after kidney-pancreas transplantation reduces the incidence of both BK and CMV viremia. *Clin Transplant*. 2018;32(6):e13265.
54. Casciano F, Zauli E, Rimondi E, et al. The role of the mTOR pathway in diabetic retinopathy. *Front Med*. 2022;9:973856.
55. Yao A, van Wijngaarden P. Metabolic pathways in context: mTOR signalling in the retina and optic nerve - A review. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2020;48(8):1072-1084.
56. Arrigo A, Aragona E, Bandello F. VEGF-targeting drugs for the treatment of retinal neovascularization in diabetic retinopathy. *Ann Med*. 2022;54(1):1089-1111.
57. Coutinho AE, Chapman KE. The anti-inflammatory and immunosuppressive effects of glucocorticoids, recent developments and mechanistic insights. *Mol Cell Endocrinol*. 2011;335(1):2-13.
58. Yakubu I, Moinuddin I, Gupta G. Use of belatacept in kidney transplantation: what's new? *Curr Opin Organ Transplant*. 2023;28(1):36-45.
59. Esposito L, Cuellar E, Marion O, et al. Belatacept Rescue Therapy in the Early Period After Simultaneous Kidney-Pancreas Transplantation. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2024;37:12628.
60. Masset C, Garandeau C, Ville S, et al. Belatacept in Pancreas Transplantation: Promising Insights From a Cohort Series. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2024;37:12778.
61. Stock PG, Mannon RB, Armstrong B, et al. Challenges of calcineurin inhibitor withdrawal following combined pancreas and kidney transplantation: Results of a prospective, randomized clinical trial. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2020;20(6):1668-1678.

62. Goodman J, Becker YT. Pancreas surgical complications. *Curr Opin Organ Transplant*. 2009;14(1):85-89
63. Troppmann C. Complications after pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2010;15(1):112-118.
64. Li AH ting, Lam NN, Naylor KL, Garg AX, Knoll GA, Kim SJ. Early Hospital Readmissions After Transplantation: Burden, Causes, and Consequences. *Transplantation*. 2016;100(4):713-718.
65. Roth J, Sommerfeld O, Birkenfeld AL, Sponholz C, Müller UA, von Loeffelholz C. Blood Sugar Targets in Surgical Intensive Care. *Dtsch Ärztebl Int*. Published online September 24, 2021.
66. Vogt AP, Bally L. Perioperative glucose management: Current status and future directions. *Best Pract Res Clin Anaesthesiol*. 2020;34(2):213-224.
67. Preiser JC, Chase JG, Hovorka R, et al. Glucose Control in the ICU: A Continuing Story. *J Diabetes Sci Technol*. 2016;10(6):1372-1381.
68. American Diabetes Association Professional Practice Committee. 7. Diabetes Technology: Standards of Care in Diabetes-2024. *Diabetes Care*. 2024;47(Suppl 1):S126-S144.
69. Agarwal S, Mathew J, Davis GM, et al. Continuous Glucose Monitoring in the Intensive Care Unit During the COVID-19 Pandemic. *Diabetes Care*. 2021;44(3):847-849.
70. Chow KW, Kelly DJ, Rieff MC, et al. Outcomes and Healthcare Provider Perceptions of Real-Time Continuous Glucose Monitoring (rtCGM) in Patients With Diabetes and COVID-19 Admitted to the ICU. *J Diabetes Sci Technol*. 2021;15(3):607-614.
71. Davis GM, Faulds E, Walker T, et al. Remote Continuous Glucose Monitoring With a Computerized Insulin Infusion Protocol for Critically Ill Patients in a COVID-19 Medical ICU: Proof of Concept. *Diabetes Care*. 2021;44(4):1055-1058.
72. Faulds ER, Boutsicaris A, Sumner L, et al. Use of Continuous Glucose Monitor in Critically Ill COVID-19 Patients Requiring Insulin Infusion: An Observational Study. *J Clin Endocrinol Metab*. 2021;106(10):e4007-e4016.
73. Galindo RJ, Aleppo G, Klonoff DC, et al. Implementation of Continuous Glucose Monitoring in the Hospital: Emergent Considerations for Remote Glucose Monitoring During the COVID-19 Pandemic. *J Diabetes Sci Technol*. 2020;14(4):822-832.
74. Longo RR, Elias H, Khan M, Seley JJ. Use and Accuracy of Inpatient CGM During the COVID-19 Pandemic: An Observational Study of General Medicine and ICU Patients. *J Diabetes Sci Technol*. 2022;16(5):1136-1143.
75. Sadhu AR, Serrano IA, Xu J, et al. Continuous Glucose Monitoring in Critically Ill Patients With COVID-19: Results of an Emergent Pilot Study. *J Diabetes Sci Technol*. 2020;14(6):1065-1073
76. Chen C, Zhao XL, Li ZH, Zhu ZG, Qian SH, Flewitt A. Current and Emerging Technology for Continuous Glucose Monitoring. *Sensors*. 2017;17(1):182.
77. Galindo RJ, Aleppo G. Continuous glucose monitoring: The achievement of 100 years of innovation in diabetes technology. *Diabetes Res Clin Pract*. 2020;170:108502.

78. Schmelzeisen-Redeker G, Schoemaker M, Kirchsteiger H, Freckmann G, Heinemann L, del Re L. Time Delay of CGM Sensors: Relevance, Causes, and Countermeasures. *J Diabetes Sci Technol.* 2015;9(5):1006-1015.
79. Heinemann L. Interferences With CGM Systems: Practical Relevance? *J Diabetes Sci Technol.* 2022;16(2):271-274.
80. Basu A, Veettil S, Dyer R, Peyser T, Basu R. Direct Evidence of Acetaminophen Interference with Subcutaneous Glucose Sensing in Humans: A Pilot Study. *Diabetes Technol Ther.* 2016;18(S2):S2-43-S2-47.
81. Denham D. Effect of Repeated Doses of Acetaminophen on a Continuous Glucose Monitoring System with Permselective Membrane. *J Diabetes Sci Technol.* 2021;15(2):517-518.
82. Migdal AL, Spanakis EK, Galindo RJ, et al. Accuracy and Precision of Continuous Glucose Monitoring in Hospitalized Patients Undergoing Radiology Procedures. *J Diabetes Sci Technol.* 2020;14(6):1135-1136.
83. Freckmann G, Eichenlaub M, Waldenmaier D, et al. Clinical Performance Evaluation of Continuous Glucose Monitoring Systems: A Scoping Review and Recommendations for Reporting. *J Diabetes Sci Technol.* 2023;17(6):1506-1526.
84. Freckmann G, Mende J, Pleus S, et al. Mean Absolute Relative Difference of Blood Glucose Monitoring Systems and Relationship to ISO 15197. *J Diabetes Sci Technol.* 2022;16(5):1089-1095.
85. Ekhlaspour L, Mondesir D, Lautsch N, et al. Comparative Accuracy of 17 Point-of-Care Glucose Meters. *J Diabetes Sci Technol.* 2017;11(3):558-566.
86. Dexcom. Dexcom G6 CGM System Performance Summary, available at <https://ie.provider.dexcom.com/dexcom-cgm>.
87. Dexcom G6 Performance Summary, available at <https://ie.provider.dexcom.com/dexcom-cgm>.
88. International Organization for Standardization. ISO15197:2013 in vitro diagnostic test systems: requirements for in vitro blood glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus. <https://www.iso.org/standard/54976.html>.
89. FDA-approved insulin pumps used for insulin pump therapy. <https://lifesciencesintelligence.com/features/fda-approved-insulin-pumps-used-for-insulin-pump-therapy>. Accessed July 15, 2024.
90. Clarke WL, Cox D, Gonder-Frederick LA, Carter W, Pohl SL. Evaluating Clinical Accuracy of Systems for Self-Monitoring of Blood Glucose. *Diabetes Care.* 1987;10(5):622-628.
91. Parkes JL, Slatin SL, Pardo S, Ginsberg BH. A new consensus error grid to evaluate the clinical significance of inaccuracies in the measurement of blood glucose. *Diabetes Care.* 2000;23(8):1143-1148.
92. Klonoff DC, Lias C, Vigersky R, et al. The Surveillance Error Grid. *J Diabetes Sci Technol.* 2014;8(4):658-672.
93. Kovatchev BP, Wakeman CA, Breton MD, et al. Computing the Surveillance Error Grid Analysis: Procedure and Examples. *J Diabetes Sci Technol.* 2014;8(4):673-684.

94. SEG software available at <https://www.diabetestechology.org/seg/>.
95. Kovatchev BP, Gonder-Frederick LA, Cox DJ, Clarke WL. Evaluating the accuracy of continuous glucose-monitoring sensors: continuous glucose-error grid analysis illustrated by TheraSense Freestyle Navigator data. *Diabetes Care*. 2004;27(8):1922-1928.
96. Liang Y, Wanderer J, Nichols JH, Klonoff D, Rice MJ. Blood Gas Analyzer Accuracy of Glucose Measurements. *Mayo Clin Proc*. 2017;92(7):1030-1041.
97. Arias-Rivera S, Raurell-Torredà M, Fernández-Castillo RJ, et al. Blood glucose monitoring in critically ill adult patients: type of sample and method of analysis. Systematic review and meta-analysis. *Enferm Intensiva*. 2024;35(1):45-72.
98. Battelino T, Alexander CM, Amiel SA, et al. Continuous glucose monitoring and metrics for clinical trials: an international consensus statement. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2023;11(1):42-57.
99. de Vries FEE, Gans SL, Solomkin JS, et al. Meta-analysis of lower perioperative blood glucose target levels for reduction of surgical-site infection. *Br J Surg*. 2017;104(2):e95-e105.
100. Van den Berghe G, Wilmer A, Hermans G, et al. Intensive Insulin Therapy in the Medical ICU. *N Engl J Med*. 2006;354(5):449-461.
101. Preiser JC, Devos P, Ruiz-Santana S, et al. A prospective randomised multi-centre controlled trial on tight glucose control by intensive insulin therapy in adult intensive care units: the Glucontrol study. *Intensive Care Med*. 2009;35(10):1738-1748.
102. Krinsley JS, Chase JG, Gunst J, et al. Continuous glucose monitoring in the ICU: clinical considerations and consensus. *Crit Care*. 2017;21(1):197
103. Tripyla A, Herzig D, Joachim D, et al. Performance of a factory-calibrated, real-time continuous glucose monitoring system during elective abdominal surgery. *Diabetes Obes Metab*. 2020;22(9):1678-1682.
104. Herzig D, Suhner S, Roos J, et al. Perioperative Fully Closed-Loop Insulin Delivery in Patients Undergoing Elective Surgery: An Open-Label, Randomized Controlled Trial. *Diabetes Care*. 2022;45(9):2076-2083.
105. Mittal S, Franklin RH, Policola C, Sharples E, Friend PJ, Gough SCL. Early postoperative continuous glucose monitoring in pancreas transplant recipients. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2015;28(5):604-609.
106. Dadlani V, Kaur RJ, Stegall M, et al. Continuous glucose monitoring to assess glycemic control in the first 6 weeks after pancreas transplantation. *Clin Transplant*. 2019;33(10):e13719.
107. Dmitriev IV, Severina AS, Zhuravel NS, et al. Continuous Glucose Monitoring in Patients Following Simultaneous Pancreas-Kidney Transplantation: Time in Range and Glucose Variability. *Diagn Basel Switz*. 2023;13(9):1606.
108. The Effect of Intensive Treatment of Diabetes on the Development and Progression of Long-Term Complications in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329(14):977-986.
109. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, et al. 12. Retinopathy, Neuropathy, and Foot Care: Standards of Care in Diabetes—2023. *Diabetes Care*. 2023;46(Supplement_1):S203-S215.

110. Stratton IM, Kohner EM, Aldington SJ, et al. UKPDS 50: Risk factors for incidence and progression of retinopathy in Type II diabetes over 6 years from diagnosis. *Diabetologia*. 2001;44(2):156-163.
111. UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. UK Prospective Diabetes Study Group. *BMJ*. 1998;317(7160):703-713.
112. Dal Canto E, Ceriello A, Rydén L, et al. Diabetes as a cardiovascular risk factor: An overview of global trends of macro and micro vascular complications. *Eur J Prev Cardiol*. 2019;26(2_suppl):25-32.
113. Yu MG, Gordin D, Fu J, Park K, Li Q, King GL. Protective Factors and the Pathogenesis of Complications in Diabetes. *Endocr Rev*. 2024;45(2):227-252.
114. Barnett PA, González RG, Chylack LT, Cheng HM. The effect of oxidation on sorbitol pathway kinetics. *Diabetes*. 1986;35(4):426-432.
115. Brownlee M. Biochemistry and molecular cell biology of diabetic complications. *Nature*. 2001;414(6865):813-820.
116. Koya D, King GL. Protein kinase C activation and the development of diabetic complications. *Diabetes*. 1998;47(6):859-866.
117. Chen M, Curtis TM, Stitt AW. Advanced glycation end products and diabetic retinopathy. *Curr Med Chem*. 2013;20(26):3234-3240.
118. Lachin JM, Nathan DM, DCCT/EDIC Research Group. Understanding Metabolic Memory: The Prolonged Influence of Glycemia During the Diabetes Control and Complications Trial (DCCT) on Future Risks of Complications During the Study of the Epidemiology of Diabetes Interventions and Complications (EDIC). *Diabetes Care*. 2021;44(10):2216-2224.
119. Jenssen T, Hartmann A, Birkeland KI. Long-term diabetes complications after pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2017;22(4):382-388.
120. Boggi U, Rosati CM, Marchetti P. Follow-up of secondary diabetic complications after pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2013;18(1):102-110.
121. Mauer SM, Steffes MW, Connett J, Najarian JS, Sutherland DE, Barbosa J. The development of lesions in the glomerular basement membrane and mesangium after transplantation of normal kidneys to diabetic patients. *Diabetes*. 1983;32(10):948-952.
122. Osterby R, Nyberg G, Hedman L, Karlberg I, Persson H, Svalander C. Kidney transplantation in type 1 (insulin-dependent) diabetic patients. Early glomerulopathy. *Diabetologia*. 1991;34(9):668-674.
123. Bilous RW, Mauer SM, Sutherland DE, Najarian JS, Goetz FC, Steffes MW. The effects of pancreas transplantation on the glomerular structure of renal allografts in patients with insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med*. 1989;321(2):80-85.
124. Wilczek HE, Jaremko G, Tydén G, Groth CG. Evolution of diabetic nephropathy in kidney grafts. Evidence that a simultaneously transplanted pancreas exerts a protective effect. *Transplantation*. 1995;59(1):51-57.

125. Lindahl JP, Reinholt FP, Eide IA, et al. In patients with type 1 diabetes simultaneous pancreas and kidney transplantation preserves long-term kidney graft ultrastructure and function better than transplantation of kidney alone. *Diabetologia*. 2014;57(11):2357-2365.
126. Hill M, Garcia R, Dunn T, Kandaswamy R, Sutherland DER, Humar A. What happens to the kidney in an SPK transplant when the pancreas fails due to a technical complication? *Clin Transplant*. 2008;22(4):456-461.
127. Norman SP, Kommareddi M, Ojo AO, Luan FL. Early pancreas graft failure is associated with inferior late clinical outcomes after simultaneous kidney-pancreas transplantation. *Transplantation*. 2011;92(7):796-801.
128. Weiss AS, Smits G, Wiseman AC. Twelve-month pancreas graft function significantly influences survival following simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2009;4(5):988-995. doi:10.2215/CJN.04940908
129. Sampaio MS, Poommipanit N, Cho YW, Shah T, Bunnapradist S. Transplantation with pancreas after living donor kidney vs. living donor kidney alone in type 1 diabetes mellitus recipients. *Clin Transplant*. 2010;24(6):812-820.
130. Kleinclauss F, Fauda M, Sutherland DER, et al. Pancreas after living donor kidney transplants in diabetic patients: impact on long-term kidney graft function. *Clin Transplant*. 2009;23(4):437-446.
131. Browne S, Gill J, Dong J, et al. The impact of pancreas transplantation on kidney allograft survival. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2011;11(9):1951-1958.
132. Pavlakis M, Khwaja K, Mandelbrot D, et al. Renal allograft failure predictors after PAK transplantation: results from the New England Collaborative Association of Pancreas Programs. *Transplantation*. 2010;89(11):1347-1353.
133. Luan FL, Kommareddi M, Cibrik DM, Samaniego M, Ojo AO. The time interval between kidney and pancreas transplantation and the clinical outcomes of pancreas after kidney transplantation. *Clin Transplant*. 2012;26(3):403-410.
134. Boggi U, Vistoli F, Amorese G, et al. Results of pancreas transplantation alone with special attention to native kidney function and proteinuria in type 1 diabetes patients. *Rev Diabet Stud RDS*. 2011;8(2):259-267.
135. Boggi U, Vistoli F, Amorese G, et al. Long-term (5 years) efficacy and safety of pancreas transplantation alone in type 1 diabetic patients. *Transplantation*. 2012;93(8):842-846.
136. Fioretto P, Mauer SM, Bilous RW, Goetz FC, Sutherland DE, Steffes MW. Effects of pancreas transplantation on glomerular structure in insulin-dependent diabetic patients with their own kidneys. *Lancet Lond Engl*. 1993;342(8881):1193-1196.
137. Fioretto P, Steffes MW, Sutherland DE, Goetz FC, Mauer M. Reversal of lesions of diabetic nephropathy after pancreas transplantation. *N Engl J Med*. 1998;339(2):69-75.
138. Boucek P. Advanced Diabetic Neuropathy: A Point of no Return? *Rev Diabet Stud RDS*. 2006;3(3):143-150.
139. Shakher J, Stevens MJ. Update on the management of diabetic polyneuropathies. *Diabetes Metab Syndr Obes Targets Ther*. 2011;4:289-305.

140. Navarro X, Sutherland DE, Kennedy WR. Long-term effects of pancreatic transplantation on diabetic neuropathy. *Ann Neurol*. 1997;42(5):727-736.
141. Tavakoli M, Mitu-Pretorian M, Petropoulos IN, et al. Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration in diabetic neuropathy after simultaneous pancreas and kidney transplantation. *Diabetes*. 2013;62(1):254-260.
142. Hathaway DK, Abell T, Cardoso S, Hartwig MS, el Gebely S, Gaber AO. Improvement in autonomic and gastric function following pancreas-kidney versus kidney-alone transplantation and the correlation with quality of life. *Transplantation*. 1994;57(6):816-822
143. Martinenghi S, Comi G, Galardi G, Di Carlo V, Pozza G, Secchi A. Amelioration of nerve conduction velocity following simultaneous kidney/pancreas transplantation is due to the glycaemic control provided by the pancreas. *Diabetologia*. 1997;40(9):1110-1112.
144. Feldman EL, Stevens MJ, Thomas PK, Brown MB, Canal N, Greene DA. A practical two-step quantitative clinical and electrophysiological assessment for the diagnosis and staging of diabetic neuropathy. *Diabetes Care*. 1994;17(11):1281-1289.
145. Cashion AK, Hathaway DK, Milstead EJ, Reed L, Gaber AO. Changes in patterns of 24-hr heart rate variability after kidney and kidney-pancreas transplant. *Transplantation*. 1999;68(12):1846-1850.
146. Boucek P, Saudek F, Adamec M, et al. Spectral analysis of heart rate variation following simultaneous pancreas and kidney transplantation. *Transplant Proc*. 2003;35(4):1494-1498.
147. Boucek P, Havrdova T, Voska L, et al. Severe depletion of intraepidermal nerve fibers in skin biopsies of pancreas transplant recipients. *Transplant Proc*. 2005;37(8):3574-3575.
148. Boucek P, Havrdova T, Voska L, et al. Epidermal innervation in type 1 diabetic patients: a 2.5-year prospective study after simultaneous pancreas/kidney transplantation. *Diabetes Care*. 2008;31(8):1611-1612.
149. Havrdova T, Boucek P, Saudek F, et al. Severe Epidermal Nerve Fiber Loss in Diabetic Neuropathy Is Not Reversed by Long-Term Normoglycemia After Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantation. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2016;16(7):2196-2201.
150. Saudek F, Cahová M, Havrdová T, et al. Preserved Expression of Skin Neurotrophic Factors in Advanced Diabetic Neuropathy Does Not Lead to Neural Regeneration despite Pancreas and Kidney Transplantation. *J Diabetes Res*. 2018;2018:2309108.
151. Beggs JL, Johnson PC, Olafsen AG, et al. Signs of nerve regeneration and repair following pancreas transplantation in an insulin-dependent diabetic with neuropathy. *Clin Transplant*. 1990;4(3):133-141.
152. Mehra S, Tavakoli M, Kallinikos PA, et al. Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration after pancreas transplantation in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2007;30(10):2608-2612.
153. Azmi S, Jeziorska M, Ferdousi M, et al. Early nerve fibre regeneration in individuals with type 1 diabetes after simultaneous pancreas and kidney transplantation. *Diabetologia*. 2019;62(8):1478-1487.

154. Sollinger HW, Odorico JS, Becker YT, D'Alessandro AM, Pirsch JD. One thousand simultaneous pancreas-kidney transplants at a single center with 22-year follow-up. *Ann Surg.* 2009;250(4):618-630.
155. Medina-Polo J, Domínguez-Esteban M, Morales JM, et al. Cardiovascular events after simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Transplant Proc.* 2010;42(8):2981-2983.
156. Fossati N, Meacci L, Amorese G, et al. Cardiac evaluation for simultaneous pancreas-kidney transplantation and incidence of cardiac perioperative complications: preliminary study. *Transplant Proc.* 2004;36(3):582-585.
157. Rondinini L, Mariotti R, Cortese B, et al. Echocardiographic evaluation in type 1 diabetic patients on waiting list for isolated pancreas or kidney-pancreas transplantation. *Transplant Proc.* 2004;36(3):457-459.
158. Knight RJ, Zela S, Schoenberg L, et al. The effect of pancreas transplantation on peripheral vascular disease complications. *Transplant Proc.* 2004;36(4):1069-1071.
159. Morrissey PE, Shaffer D, Monaco AP, Conway P, Madras PN. Peripheral vascular disease after kidney-pancreas transplantation in diabetic patients with end-stage renal disease. *Arch Surg Chic Ill 1960.* 1997;132(4):358-361; discussion 361-362.
160. Nankivell BJ, Lau SG, Chapman JR, O'Connell PJ, Fletcher JP, Allen RD. Progression of macrovascular disease after transplantation. *Transplantation.* 2000;69(4):574-581.
161. Biesenbach G, Margreiter R, Königsrainer A, et al. Comparison of progression of macrovascular diseases after kidney or pancreas and kidney transplantation in diabetic patients with end-stage renal disease. *Diabetologia.* 2000;43(2):231-234.
162. Lindahl JP, Massey RJ, Hartmann A, et al. Cardiac Assessment of Patients With Type 1 Diabetes Median 10 Years After Successful Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantation Compared With Living Donor Kidney Transplantation. *Transplantation.* 2017;101(6):1261-1267.
163. Jukema JW, Smets YFC, van der Pijl JW, et al. Impact of simultaneous pancreas and kidney transplantation on progression of coronary atherosclerosis in patients with end-stage renal failure due to type 1 diabetes. *Diabetes Care.* 2002;25(5):906-911.
164. Biesenbach G, Königsrainer A, Gross C, Margreiter R. Progression of macrovascular diseases is reduced in type 1 diabetic patients after more than 5 years successful combined pancreas-kidney transplantation in comparison to kidney transplantation alone. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant.* 2005;18(9):1054-1060.
165. La Rocca E, Fiorina P, Astorri E, et al. Patient survival and cardiovascular events after kidney-pancreas transplantation: comparison with kidney transplantation alone in uremic IDDM patients. *Cell Transplant.* 2000;9(6):929-932.
166. La Rocca E, Fiorina P, di Carlo V, et al. Cardiovascular outcomes after kidney-pancreas and kidney-alone transplantation. *Kidney Int.* 2001;60(5):1964-1971.
167. Fiorina P, La Rocca E, Astorri E, et al. Reversal of left ventricular diastolic dysfunction after kidney-pancreas transplantation in type 1 diabetic uremic patients. *Diabetes Care.* 2000;23(12):1804-1810.

168. Perseghin G, Fiorina P, De Cobelli F, et al. Cross-sectional assessment of the effect of kidney and kidney-pancreas transplantation on resting left ventricular energy metabolism in type 1 diabetic-uremic patients: a phosphorous-31 magnetic resonance spectroscopy study. *J Am Coll Cardiol*. 2005;46(6):1085-1092.
169. Fiorina P, La Rocca E, Venturini M, et al. Effects of kidney-pancreas transplantation on atherosclerotic risk factors and endothelial function in patients with uremia and type 1 diabetes. *Diabetes*. 2001;50(3):496-501.
170. Larsen JL, Ratanasuwan T, Burkman T, et al. Carotid intima media thickness decreases after pancreas transplantation. *Transplantation*. 2002;73(6):936-940.
171. Larsen JL, Colling CW, Ratanasuwan T, et al. Pancreas transplantation improves vascular disease in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care*. 2004;27(7):1706-1711.
172. Sucher R, Rademacher S, Jahn N, et al. Effects of simultaneous pancreas-kidney transplantation and kidney transplantation alone on the outcome of peripheral vascular diseases. *BMC Nephrol*. 2019;20(1):453.
173. Lindahl JP, Hartmann A, Aakhus S, et al. Long-term cardiovascular outcomes in type 1 diabetic patients after simultaneous pancreas and kidney transplantation compared with living donor kidney transplantation. *Diabetologia*. 2016;59(4):844-852.
174. Morath C, Zeier M, Döhler B, et al. Transplantation of the type 1 diabetic patient: the long-term benefit of a functioning pancreas allograft. *Clin J Am Soc Nephrol CJASN*. 2010;5(3):549-552.
175. Barlow AD, Saeb-Parsy K, Watson CJE. An analysis of the survival outcomes of simultaneous pancreas and kidney transplantation compared to live donor kidney transplantation in patients with type 1 diabetes: a UK Transplant Registry study. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2017;30(9):884-892.
176. Luan FL, Miles CD, Cibrik DM, Ojo AO. Impact of simultaneous pancreas and kidney transplantation on cardiovascular risk factors in patients with type 1 diabetes mellitus. *Transplantation*. 2007;84(4):541-544.
177. Lauria MW, Figueiró JM, Machado LJC, Sanches MD, Lana AMQ, Ribeiro-Oliveira A. The impact of functioning pancreas-kidney transplantation and pancreas alone transplantation on the lipid metabolism of statin-naïve diabetic patients. *Clin Transplant*. 2009;23(2):199-205.
178. Fiorina P, Folli F, D'Angelo A, et al. Normalization of multiple hemostatic abnormalities in uremic type 1 diabetic patients after kidney-pancreas transplantation. *Diabetes*. 2004;53(9):2291-2300.
179. Boggi U, Vistoli F, Amorese G, et al. Long-term (5 years) efficacy and safety of pancreas transplantation alone in type 1 diabetic patients. *Transplantation*. 2012;93(8):842-846.
180. Coppelli A, Giannarelli R, Mariotti R, et al. Pancreas transplant alone determines early improvement of cardiovascular risk factors and cardiac function in type 1 diabetic patients. *Transplantation*. 2003;76(6):974-976.
181. Occhipinti M, Rondinini L, Mariotti R, et al. Amelioration of cardiac morphology and function in type 1 diabetic patients with sustained success of pancreas transplant alone. *Diabetes Care*. 2014;37(8):e171-172.

182. Vrátná E, Husáková J, Králová K, et al. Incidence and Risk Factors of Diabetic Foot Syndrome in Patients Early After Pancreas or Kidney/Pancreas Transplantation and its Association with Preventive Measures. *Int J Low Extrem Wounds*. 2024;23(2):283-290.
183. Gibbons A, Cinnirella M, Bayfield J, et al. Changes in quality of life, health status and other patient-reported outcomes following simultaneous pancreas and kidney transplantation (SPKT): a quantitative and qualitative analysis within a UK-wide programme. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2020;33(10):1230-1243.
184. Leasher JL, Bourne RRA, Flaxman SR, et al. Global Estimates on the Number of People Blind or Visually Impaired by Diabetic Retinopathy: A Meta-analysis From 1990 to 2010. *Diabetes Care*. 2016;39(9):1643-1649.
185. Yau JWY, Rogers SL, Kawasaki R, et al. Global Prevalence and Major Risk Factors of Diabetic Retinopathy. *Diabetes Care*. 2012;35(3):556-564.
186. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. *Lancet Lond Engl*. 1998;352(9131):837-853.
187. Chatziralli IP. The Role of Glycemic Control and Variability in Diabetic Retinopathy. *Diabetes Ther Res Treat Educ Diabetes Relat Disord*. 2018;9(1):431-434.
188. Antonetti DA, Silva PS, Stitt AW. Current understanding of the molecular and cellular pathology of diabetic retinopathy. *Nat Rev Endocrinol*. 2021;17(4):195-206.
189. Simó R, Stitt AW, Gardner TW. Neurodegeneration in diabetic retinopathy: does it really matter? *Diabetologia*. 2018;61(9):1902-1912.
190. Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med*. 2012;366(13):1227-1239.
191. Han J, Lando L, Skowronska-Krawczyk D, Chao DL. Genetics of Diabetic Retinopathy. *Curr Diab Rep*. 2019;19(9):67.
192. Cole JB, Florez JC. Genetics of diabetes mellitus and diabetes complications. *Nat Rev Nephrol*. 2020;16(7):377-390.
193. Leske M, Wu S, Hennis A, et al. Hyperglycemia, Blood Pressure, and the 9-Year Incidence of Diabetic Retinopathy The Barbados Eye Studies. *Ophthalmology*. 2005;112(5):799-805.
194. Hainsworth DP, Bebu I, Aiello LP, et al. Risk Factors for Retinopathy in Type 1 Diabetes: The DCCT/EDIC Study. *Diabetes Care*. 2019;42(5):875-882.
195. Chew EY, Davis MD, Danis RP, et al. The Effects of Medical Management on the Progression of Diabetic Retinopathy in Persons with Type 2 Diabetes. *Ophthalmology*. 2014;121(12):2443-2451.
196. Estacio RO, McFarling E, Biggerstaff S, Jeffers BW, Johnson D, Schrier RW. Overt albuminuria predicts diabetic retinopathy in Hispanics with NIDDM. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 1998;31(6):947-953.
197. Whitehead M, Wickremasinghe S, Osborne A, Van Wijngaarden P, Martin KR. Diabetic retinopathy: a complex pathophysiology requiring novel therapeutic strategies. *Expert Opin Biol Ther*. 2018;18(12):1257-1270.

198. Gabbay KH. Hyperglycemia, polyol metabolism, and complications of diabetes mellitus. *Annu Rev Med.* 1975;26:521-536.
199. Lassègue B, Clempus RE. Vascular NAD(P)H oxidases: specific features, expression, and regulation. *Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol.* 2003;285(2):R277-297.
200. Wang QJ. PKD at the crossroads of DAG and PKC signaling. *Trends Pharmacol Sci.* 2006;27(6):317-323.
201. Rosse C, Linch M, Kermorgant S, Cameron AJM, Boeckeler K, Parker PJ. PKC and the control of localized signal dynamics. *Nat Rev Mol Cell Biol.* 2010;11(2):103-112.
202. Nerlich AG, Sauer U, Kolm-Litty V, Wagner E, Koch M, Schleicher ED. Expression of glutamine:fructose-6-phosphate amidotransferase in human tissues: evidence for high variability and distinct regulation in diabetes. *Diabetes.* 1998;47(2):170-178.
203. Wells L, Vosseller K, Hart GW. Glycosylation of nucleocytoplasmic proteins: signal transduction and O-GlcNAc. *Science.* 2001;291(5512):2376-2378.
204. Goldberg HJ, Scholey J, Fantus IG. Glucosamine activates the plasminogen activator inhibitor 1 gene promoter through Sp1 DNA binding sites in glomerular mesangial cells. *Diabetes.* 2000;49(5):863-871.
205. Peppas M, Vlassara H. Advanced glycation end products and diabetic complications: a general overview. *Horm Athens Greece.* 2005;4(1):28-37.
206. Zong H, Ward M, Stitt AW. AGEs, RAGE, and diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep.* 2011;11(4):244-252.
207. Gardner TW, Davila JR. The neurovascular unit and the pathophysiologic basis of diabetic retinopathy. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* 2017;255(1):1-6.
208. Duh EJ, Sun JK, Stitt AW. Diabetic retinopathy: current understanding, mechanisms, and treatment strategies. *JCI Insight.* 2017;2(14):e93751, 93751.
209. Nishikawa T, Edelstein D, Du XL, et al. Normalizing mitochondrial superoxide production blocks three pathways of hyperglycaemic damage. *Nature.* 2000;404(6779):787-790.
210. Roy S, Trudeau K, Roy S, Tien T, Barrette KF. Mitochondrial dysfunction and endoplasmic reticulum stress in diabetic retinopathy: mechanistic insights into high glucose-induced retinal cell death. *Curr Clin Pharmacol.* 2013;8(4):278-284.
211. Peti-Peterdi J, Kang JJ, Toma I. Activation of the renal renin-angiotensin system in diabetes--new concepts. *Nephrol Dial Transplant Off Publ Eur Dial Transpl Assoc - Eur Ren Assoc.* 2008;23(10):3047-3049.
212. Chaturvedi N, Sjolie AK, Stephenson JM, et al. Effect of lisinopril on progression of retinopathy in normotensive people with type 1 diabetes. The EUCLID Study Group. EURODIAB Controlled Trial of Lisinopril in Insulin-Dependent Diabetes Mellitus. *Lancet Lond Engl.* 1998;351(9095):28-31.
213. Mauer M, Zinman B, Gardiner R, et al. Renal and retinal effects of enalapril and losartan in type 1 diabetes. *N Engl J Med.* 2009;361(1):40-51.

214. Chaturvedi N, Porta M, Klein R, et al. Effect of candesartan on prevention (DIRECT-Prevent 1) and progression (DIRECT-Protect 1) of retinopathy in type 1 diabetes: randomised, placebo-controlled trials. *Lancet Lond Engl*. 2008;372(9647):1394-1402.
215. Sjølie AK, Klein R, Porta M, et al. Effect of candesartan on progression and regression of retinopathy in type 2 diabetes (DIRECT-Protect 2): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet Lond Engl*. 2008;372(9647):1385-1393.
216. Ambati J, Chalam KV, Chawla DK, et al. Elevated gamma-aminobutyric acid, glutamate, and vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of patients with proliferative diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 1997;115(9):1161-1166.
217. Simó R, Hernández C, European Consortium for the Early Treatment of Diabetic Retinopathy (EUROCONDOR). Neurodegeneration in the diabetic eye: new insights and therapeutic perspectives. *Trends Endocrinol Metab TEM*. 2014;25(1):23-33.
218. Lieth E, Gardner TW, Barber AJ, Antonetti DA, Penn State Retina Research Group. Retinal neurodegeneration: early pathology in diabetes. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2000;28(1):3-8.
219. Lieth E, LaNoue KF, Antonetti DA, Ratz M. Diabetes reduces glutamate oxidation and glutamine synthesis in the retina. The Penn State Retina Research Group. *Exp Eye Res*. 2000;70(6):723-730.
220. Kowluru RA, Engerman RL, Case GL, Kern TS. Retinal glutamate in diabetes and effect of antioxidants. *Neurochem Int*. 2001;38(5):385-390.
221. Pulido JE, Pulido JS, Erie JC, et al. A role for excitatory amino acids in diabetic eye disease. *Exp Diabetes Res*. 2007;2007:36150.
222. Trost A, Lange S, Schroedl F, et al. Brain and Retinal Pericytes: Origin, Function and Role. *Front Cell Neurosci*. 2016;10:20.
223. Pfister F, Feng Y, vom Hagen F, et al. Pericyte migration: a novel mechanism of pericyte loss in experimental diabetic retinopathy. *Diabetes*. 2008;57(9):2495-2502.
224. Hammes HP, Feng Y, Pfister F, Brownlee M. Diabetic retinopathy: targeting vasoregression. *Diabetes*. 2011;60(1):9-16.
225. Hawkins BT, Davis TP. The blood-brain barrier/neurovascular unit in health and disease. *Pharmacol Rev*. 2005;57(2):173-185.
226. Korn C, Augustin HG. Mechanisms of Vessel Pruning and Regression. *Dev Cell*. 2015;34(1):5-17.
227. Stitt AW, Curtis TM, Chen M, et al. The progress in understanding and treatment of diabetic retinopathy. *Prog Retin Eye Res*. 2016;51:156-186.
228. Aiello LP. Angiogenic pathways in diabetic retinopathy. *N Engl J Med*. 2005;353(8):839-841.
229. Hernández C, Dal Monte M, Simó R, Casini G. Neuroprotection as a Therapeutic Target for Diabetic Retinopathy. *J Diabetes Res*. 2016;2016:9508541.
230. Barber AJ, Lieth E, Khin SA, Antonetti DA, Buchanan AG, Gardner TW. Neural apoptosis in the retina during experimental and human diabetes. Early onset and effect of insulin. *J Clin Invest*. 1998;102(4):783-791.

231. Rungger-Brändle E, Dosso AA, Leuenberger PM. Glial reactivity, an early feature of diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2000;41(7):1971-1980.
232. Sohn EH, van Dijk HW, Jiao C, et al. Retinal neurodegeneration may precede microvascular changes characteristic of diabetic retinopathy in diabetes mellitus. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2016;113(19):E2655-2664.
233. Simão S, Costa MÂ, Sun JK, Cunha-Vaz J, Simó R, European Consortium for the Early Treatment of Diabetic Retinopathy (EUROCONDOR). Development of a Normative Database for Multifocal Electroretinography in the Context of a Multicenter Clinical Trial. *Ophthalmic Res.* 2017;57(2):107-117.
234. Santos AR, Ribeiro L, Bandello F, et al. Functional and Structural Findings of Neurodegeneration in Early Stages of Diabetic Retinopathy: Cross-sectional Analyses of Baseline Data of the EUROCONDOR Project. *Diabetes.* 2017;66(9):2503-2510.
235. Harrison WW, Bearse MA, Ng JS, et al. Multifocal electroretinograms predict onset of diabetic retinopathy in adult patients with diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2011;52(2):772-777.
236. Jackson GR, Barber AJ. Visual dysfunction associated with diabetic retinopathy. *Curr Diab Rep.* 2010;10(5):380-384.
237. Wolff BE, Bearse MA, Schneck ME, et al. Color vision and neuroretinal function in diabetes. *Doc Ophthalmol Adv Ophthalmol.* 2015;130(2):131-139.
238. Trento M, Durando O, Lavecchia S, et al. Vision related quality of life in patients with type 2 diabetes in the EUROCONDOR trial. *Endocrine.* 2017;57(1):83-88.
239. Fletcher EL, Phipps JA, Ward MM, Puthussery T, Wilkinson-Berka JL. Neuronal and glial cell abnormality as predictors of progression of diabetic retinopathy. *Curr Pharm Des.* 2007;13(26):2699-2712.
240. Mizutani M, Gerhardinger C, Lorenzi M. Müller cell changes in human diabetic retinopathy. *Diabetes.* 1998;47(3):445-449.
241. Bringmann A, Wiedemann P. Müller glial cells in retinal disease. *Ophthalmol J Int Ophthalmol Int J Ophthalmol Z Augenheilkd.* 2012;227(1):1-19.
242. Pournaras CJ, Rungger-Brändle E, Riva CE, Hardarson SH, Stefansson E. Regulation of retinal blood flow in health and disease. *Prog Retin Eye Res.* 2008;27(3):284-330.
243. Altmann C, Schmidt MHH. The Role of Microglia in Diabetic Retinopathy: Inflammation, Microvasculature Defects and Neurodegeneration. *Int J Mol Sci.* 2018;19(1):110.
244. Zeng H yang, Green WR, Tso MOM. Microglial activation in human diabetic retinopathy. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960.* 2008;126(2):227-232.
245. Klaassen I, Van Noorden CJF, Schlingemann RO. Molecular basis of the inner blood-retinal barrier and its breakdown in diabetic macular edema and other pathological conditions. *Prog Retin Eye Res.* 2013;34:19-48.
246. Curtis TM, Gardiner TA, Stitt AW. Microvascular lesions of diabetic retinopathy: clues towards understanding pathogenesis? *Eye Lond Engl.* 2009;23(7):1496-1508.

247. Adamis AP, Miller JW, Bernal MT, et al. Increased vascular endothelial growth factor levels in the vitreous of eyes with proliferative diabetic retinopathy. *Am J Ophthalmol*. 1994;118(4):445-450.
248. Aiello LP, Avery RL, Arrigg PG, et al. Vascular endothelial growth factor in ocular fluid of patients with diabetic retinopathy and other retinal disorders. *N Engl J Med*. 1994;331(22):1480-1487.
249. Kuiper EJ, Van Nieuwenhoven FA, de Smet MD, et al. The angio-fibrotic switch of VEGF and CTGF in proliferative diabetic retinopathy. *PloS One*. 2008;3(7):e2675.
250. van Dijk HW, Kok PHB, Garvin M, et al. Selective loss of inner retinal layer thickness in type 1 diabetic patients with minimal diabetic retinopathy. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2009;50(7):3404-3409.
251. van Dijk HW, Verbraak FD, Kok PHB, et al. Decreased retinal ganglion cell layer thickness in patients with type 1 diabetes. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2010;51(7):3660-3665.
252. Lopes de Faria JM, Russ H, Costa VP. Retinal nerve fibre layer loss in patients with type 1 diabetes mellitus without retinopathy. *Br J Ophthalmol*. 2002;86(7):725-728.
253. Aldington SJ, Kohner EM, Meuer S, Klein R, Sjølie AK. Methodology for retinal photography and assessment of diabetic retinopathy: the EURODIAB IDDM complications study. *Diabetologia*. 1995;38(4):437-444.
254. Labrador-Velandia SC, Sanabria MR. Fluorescein Angiography Indications: Changes after Optical Coherence Tomography and Antiangiogenics. *Optom Vis Sci Off Publ Am Acad Optom*. 2018;95(5):435-442.
255. Virgili G, Menchini F, Dimastrogiovanni AF, et al. Optical coherence tomography versus stereoscopic fundus photography or biomicroscopy for diagnosing diabetic macular edema: a systematic review. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(11):4963-4973.
256. Adhi M, Duker JS. Optical coherence tomography--current and future applications. *Curr Opin Ophthalmol*. 2013;24(3):213-221.
257. Nanegrungsunk O, Patikulsila D, Sadda SR. Ophthalmic imaging in diabetic retinopathy: A review. *Clin Experiment Ophthalmol*. 2022;50(9):1082-1096.
258. Chen Y, Qi Z, Hou X, Chen L. Optical coherence tomography angiography for assessment of changes of the retina and choroid in different stages of diabetic retinopathy and their relationship with diabetic nephropathy. *Endokrynol Pol*. 2023;74(2):135-139.
259. Kashani AH, Chen CL, Gahm JK, et al. Optical coherence tomography angiography: A comprehensive review of current methods and clinical applications. *Prog Retin Eye Res*. 2017;60:66-100.
260. Wilkinson CP, Ferris FL, Klein RE, et al. Proposed international clinical diabetic retinopathy and diabetic macular edema disease severity scales. *Ophthalmology*. 2003;110(9):1677-1682.
261. Grading diabetic retinopathy from stereoscopic color fundus photographs--an extension of the modified Airlie House classification. ETDRS report number 10. Early Treatment Diabetic Retinopathy Study Research Group. *Ophthalmology*. 1991;98(5 Suppl):786-806.

262. Solomon SD, Goldberg MF. ETDRS Grading of Diabetic Retinopathy: Still the Gold Standard? *Ophthalmic Res.* 2019;62(4):190-195.
263. Kim EJ, Lin WV, Rodriguez SM, Chen A, Loya A, Weng CY. Treatment of Diabetic Macular Edema. *Curr Diab Rep.* 2019;19(9):68.
264. Smiddy WE, Flynn HW. Vitrectomy in the management of diabetic retinopathy. *Surv Ophthalmol.* 1999;43(6):491-507.
265. Thagaard MS, Vergmann AS, Grauslund J. Topical treatment of diabetic retinopathy: a systematic review. *Acta Ophthalmol (Copenh).* 2022;100(2):136-147.
266. Rittiphairoj T, Mir TA, Li T, Virgili G. Intravitreal steroids for macular edema in diabetes. *Cochrane Database Syst Rev.* 2020;11(11):CD005656.
267. Liberski S, Wichrowska M, Kocięcki J. Aflibercept versus Faricimab in the Treatment of Neovascular Age-Related Macular Degeneration and Diabetic Macular Edema: A Review. *Int J Mol Sci.* 2022;23(16):9424.
268. Nicolò M, Ferro Desideri L, Vagge A, Traverso CE. Faricimab: an investigational agent targeting the Tie-2/angiopoietin pathway and VEGF-A for the treatment of retinal diseases. *Expert Opin Investig Drugs.* 2021;30(3):193-200.
269. Sahni J, Patel SS, Dugel PU, et al. Simultaneous Inhibition of Angiopoietin-2 and Vascular Endothelial Growth Factor-A with Faricimab in Diabetic Macular Edema: BOULEVARD Phase 2 Randomized Trial. *Ophthalmology.* 2019;126(8):1155-1170.
270. Uludag G, Hassan M, Matsumiya W, et al. Efficacy and safety of intravitreal anti-VEGF therapy in diabetic retinopathy: what we have learned and what should we learn further? *Expert Opin Biol Ther.* 2022;22(10):1275-1291.
271. Wykoff CC, Abreu F, Adamis AP, et al. Efficacy, durability, and safety of intravitreal faricimab with extended dosing up to every 16 weeks in patients with diabetic macular oedema (YOSEMITE and RHINE): two randomised, double-masked, phase 3 trials. *Lancet Lond Engl.* 2022;399(10326):741-755.
272. Bandello F, Vigano C, Secchi A, et al. Effect of pancreas transplantation on diabetic retinopathy: a 20-case report. *Diabetologia.* 1991;34 Suppl 1:S92-94.
273. Ulbig M, Kampik A, Thureau S, Landgraf R, Land W. Long-term follow-up of diabetic retinopathy for up to 71 months after combined renal and pancreatic transplantation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol.* 1991;229(3):242-245.
274. Zech JC, Trepsat D, Gain-Gueugnon M, Lefrancois N, Martin X, Dubernard JM. Ophthalmological follow-up of type 1 (insulin-dependent) diabetic patients after kidney and pancreas transplantation. *Diabetologia.* 1991;34 Suppl 1:S89-91.
275. Scheider A, Meyer-Schwickerath E, Nusser J, Land W, Landgraf R. Diabetic retinopathy and pancreas transplantation: a 3-year follow-up. *Diabetologia.* 1991;34 Suppl 1:S95-99.
276. Wang Q, Klein R, Moss SE, et al. The influence of combined kidney-pancreas transplantation on the progression of diabetic retinopathy. A case series. *Ophthalmology.* 1994;101(6):1071-1076.

277. Chow VC, Pai RP, Chapman JR, et al. Diabetic retinopathy after combined kidney-pancreas transplantation. *Clin Transplant*. 1999;13(4):356-362.
278. Pearce IA, Ilango B, Sells RA, Wong D. Stabilisation of diabetic retinopathy following simultaneous pancreas and kidney transplant. *Br J Ophthalmol*. 2000;84(7):736-740.
279. Koznarová R, Saudek F, Sosna T, et al. Beneficial effect of pancreas and kidney transplantation on advanced diabetic retinopathy. *Cell Transplant*. 2000;9(6):903-908.
280. Giannarelli R, Coppelli A, Sartini M, et al. Effects of pancreas-kidney transplantation on diabetic retinopathy. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2005;18(5):619-622.
281. Kim YJ, Shin S, Han DJ, et al. Long-term Effects of Pancreas Transplantation on Diabetic Retinopathy and Incidence and Predictive Risk Factors for Early Worsening. *Transplantation*. 2018;102(1):e30-e38.
282. Giannarelli R, Coppelli A, Sartini MS, et al. Pancreas transplant alone has beneficial effects on retinopathy in type 1 diabetic patients. *Diabetologia*. 2006;49(12):2977-2982.
283. Ryan EA, Paty BW, Senior PA, et al. Five-year follow-up after clinical islet transplantation. *Diabetes*. 2005;54(7):2060-2069.
284. Lee TC, Barshes NR, O'Mahony CA, et al. The effect of pancreatic islet transplantation on progression of diabetic retinopathy and neuropathy. *Transplant Proc*. 2005;37(5):2263-2265.
285. Venturini M, Fiorina P, Maffi P, et al. Early increase of retinal arterial and venous blood flow velocities at color Doppler imaging in brittle type 1 diabetes after islet transplant alone. *Transplantation*. 2006;81(9):1274-1277.
286. Thompson DM, Begg IS, Harris C, et al. Reduced progression of diabetic retinopathy after islet cell transplantation compared with intensive medical therapy. *Transplantation*. 2008;85(10):1400-1405.
287. DCCT Research Group. Early worsening of diabetic retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 1998;116(7):874-886.
288. Dahl-Jørgensen K, Brinchmann-Hansen O, Hanssen KF, Sandvik L, Aagenaes O. Rapid tightening of blood glucose control leads to transient deterioration of retinopathy in insulin dependent diabetes mellitus: the Oslo study. *Br Med J Clin Res Ed*. 1985;290(6471):811-815.
289. Kroc Collaborative Study Group. Blood glucose control and the evolution of diabetic retinopathy and albuminuria. A preliminary multicenter trial. *N Engl J Med*. 1984;311(6):365-372.
290. Bain SC, Klufas MA, Ho A, Matthews DR. Worsening of diabetic retinopathy with rapid improvement in systemic glucose control: A review. *Diabetes Obes Metab*. 2019;21(3):454-466.
291. Varadhan L, Humphreys T, Walker AB, Varughese GI. The impact of improved glycaemic control with GLP-1 receptor agonist therapy on diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;103(3):e37-39. d
292. Cheung D, Switzer NJ, Ehmann D, Rudnisky C, Shi X, Karmali S. The Impact of Bariatric Surgery on Diabetic Retinopathy: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Obes Surg*. 2015;25(9):1604-1609.

293. Murphy R, Jiang Y, Booth M, et al. Progression of diabetic retinopathy after bariatric surgery. *Diabet Med J Br Diabet Assoc.* 2015;32(9):1212-1220.
294. Brynskov T, Laugesen CS, Svenningsen AL, Floyd AK, Sørensen TL. Monitoring of Diabetic Retinopathy in relation to Bariatric Surgery: a Prospective Observational Study. *Obes Surg.* 2016;26(6):1279-1286.
295. Marso SP, Bain SC, Consoli A, et al. Semaglutide and Cardiovascular Outcomes in Patients with Type 2 Diabetes. *N Engl J Med.* 2016;375(19):1834-1844.
296. Königsrainer A, Miller K, Steurer W, et al. Does pancreas transplantation influence the course of diabetic retinopathy? *Diabetologia.* 1991;34 Suppl 1:S86-88.
297. Ramsay RC, Goetz FC, Sutherland DE, et al. Progression of diabetic retinopathy after pancreas transplantation for insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med.* 1988;318(4):208-214.
298. Miao G, Ito T, Uchikoshi F, et al. Stage-dependent effect of pancreatic transplantation on diabetic ocular complications in the Spontaneously Diabetic Torii rat. *Transplantation.* 2004;77(5):658-663.
299. Spadella CT, Machado JLM, Lerco MM, Ortolan EVP, Schellini SA, Gregório EA. Temporal relationship between successful pancreas transplantation and control of ocular complications in alloxan-induced diabetic rats. *Transplant Proc.* 2008;40(2):518-523.
300. Akil H, Burgess J, Nevitt S, Harding SP, Alam U, Burgess P. Early Worsening of Retinopathy in Type 1 and Type 2 Diabetes After Rapid Improvement in Glycaemic Control: A Systematic Review. *Diabetes Ther Res Treat Educ Diabetes Relat Disord.* 2022;13(1):1-23.
301. Jingi AM, Tankeu AT, Ateba NA, Noubiap JJ. Mechanism of worsening diabetic retinopathy with rapid lowering of blood glucose: the synergistic hypothesis. *BMC Endocr Disord.* 2017;17(1):63.
302. Poulaki V, Qin W, Joussen AM, et al. Acute intensive insulin therapy exacerbates diabetic blood-retinal barrier breakdown via hypoxia-inducible factor-1 α and VEGF. *J Clin Invest.* 2002;109(6):805-815.
303. Kennedy A, Frank RN. The influence of glucose concentration and hypoxia on VEGF secretion by cultured retinal cells. *Curr Eye Res.* 2011;36(2):168-177.
304. Abcouwer SF, Lin C mao, Wolpert EB, et al. Effects of ischemic preconditioning and bevacizumab on apoptosis and vascular permeability following retinal ischemia-reperfusion injury. *Invest Ophthalmol Vis Sci.* 2010;51(11):5920-5933.
305. Kajihara N, Kukidome D, Sada K, et al. Low glucose induces mitochondrial reactive oxygen species via fatty acid oxidation in bovine aortic endothelial cells. *J Diabetes Investig.* 2017;8(6):750-761.
306. Yoshinaga A, Kajihara N, Kukidome D, et al. Hypoglycemia Induces Mitochondrial Reactive Oxygen Species Production Through Increased Fatty Acid Oxidation and Promotes Retinal Vascular Permeability in Diabetic Mice. *Antioxid Redox Signal.* 2021;34(16):1245-1259.
307. Chantelau E. Evidence that upregulation of serum IGF-1 concentration can trigger acceleration of diabetic retinopathy. *Br J Ophthalmol.* 1998;82(7):725-730.

308. Grunwald JE, Riva CE, Martin DB, Quint AR, Epstein PA. Effect of an insulin-induced decrease in blood glucose on the human diabetic retinal circulation. *Ophthalmology*. 1987;94(12):1614-1620.
309. Age-Related Eye Disease Study Research Group. The age-related eye disease study (AREDS) system for classifying cataracts from photographs: AREDS report no. 4. *Am J Ophthalmol*. 2001;131(2):167-175.
310. Tsai FY, Lau LI, Li AF, et al. Acute macular edema and peripapillary soft exudate after pancreas transplantation with accelerated progression of diabetic retinopathy. *J Chin Med Assoc J CMA*. 2017;80(5):319-325.
311. Klefter ON, Hommel E, Munch IC, Nørgaard K, Madsbad S, Larsen M. Retinal characteristics during 1 year of insulin pump therapy in type 1 diabetes: a prospective, controlled, observational study. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2016;94(6):540-547.
312. Brynskov T, Laugesen CS, Floyd AK, Sørensen TL. Thickening of inner retinal layers in the parafovea after bariatric surgery in patients with type 2 diabetes. *Acta Ophthalmol (Copenh)*. 2016;94(7):668-674.
313. Oprea AD, Kalra SK, Duggan EW, et al. Perioperative Management of Adult Patients with Diabetes Wearing Devices: A Society for Perioperative Assessment and Quality Improvement (SPAQI) Expert Consensus Statement. *J Clin Anesth*. 2024;99:111627.
314. Sweeney AT, Pena S, Sandeep J, et al. Use of a Continuous Glucose Monitoring System in High-Risk Hospitalized Noncritically Ill Patients With Diabetes After Cardiac Surgery and During Their Transition of Care From the Intensive Care Unit During COVID-19: A Pilot Study. *Endocr Pract*. 2022;28(6):615-621.

12. PŘÍLOHY

12.1 Prohlášení autora

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem řádně uvedla a citovala všechny použité prameny a literaturu. Současně prohlašuji, že práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu

Souhlasím s trvalým uložením elektronické verze mé práce v databázi systému meziuniverzitního projektu Theses.cz za účelem soustavné kontroly podobnosti kvalifikačních prací.

V Praze, 1.12.2024

MUDr. Barbora Hagerf

12.2 Identifikační záznam

VOGLOVÁ HAGERF, Barbora. *Vývoj metabolických ukazatelů a komplikací diabetu u pacientů s diabetes mellitus 1. typu léčených transplantací pankreatu či Langerhansových ostrůvků. [Development of metabolic parameters and diabetes complications in patients with type 1 diabetes mellitus treated with pancreas or pancreatic islet transplantation]*. Praha, 2024, 108 stran, 4 přílohy. Disertační práce, Univerzita Karlova, 1. lékařská fakulta, Klinika diabetologie, Institut Klinické a experimentální medicíny, 2024, Školitel: Saudek, František

Klíčová slova: transplantace ledviny a pankreatu - diabetická retinopatie - mTOR inhibitory - kontinuální monitorace glukózy - intenzivní pooperační péče

Keywords: pancreas and kidney transplantation - diabetic retinopathy - mTOR inhibitors - continuous glucose monitoring - intensive postoperative care

12.3. Plné texty vlastních publikací tvořících podklady dizertační práce

- Voglová B, Hladíková Z, Nemětová L, Zahradnická M, Kesslerová K, Sosna T, Lipár K, Kožnarová R, Girman P, Saudek F. Early worsening of diabetic retinopathy after simultaneous pancreas and kidney transplantation-Myth or reality? Am J Transplant. 2020 Oct;20(10):2832-2841.
- Voglová B, Hladíková Z, Nemětová L, Zahradnická M, Kesslerová K, Sosna T, Lipár K, Kožnarová R, Girman P, Saudek F. Diabetic Retinopathy in Simultaneous Pancreas and Kidney Transplant Recipients: Prospective Randomized Trial Comparing Everolimus and Mycophenolate - článek, který je v plném znění uveden v příloze, je v čase odevzdání disertační práce v recenzním řízení
- Voglová Hagerf B, Protuš M, Nemetová L, et al., Alternative Site of RT-CGM Sensor Application for Abdominal Surgery in the Infraclavicular Region. J Diabetes Sci Technol. 2023 Aug 29:19322968231194643. doi: 10.1177/19322968231194643. – Letter to the Editor
- Voglová Hagerf B, Protus M, Nemetova L, Mraz M, Kieslichova E, Uchytlova E, Indrova V, Lelito J, Girman P, Haluzík M, Franekova J, Svirlochova V, Klonoff DC, Kohn MA, Jabor A. Accuracy and Feasibility of Real-time Continuous Glucose Monitoring in Critically Ill Patients After Abdominal Surgery and Solid Organ Transplantation. Diabetes Care. 2024 Jun 1;47(6):956-963.

ORIGINAL ARTICLE

Early worsening of diabetic retinopathy after simultaneous pancreas and kidney transplantation—Myth or reality?

Barbora Voglová^{1,4}  | Zuzana Hladíková^{1,4} | Lenka Nemětová¹ |
Martina Zahradnická¹ | Kateřina Kesslerová² | Tomáš Sosna² | Květoslav Lipár³ |
Radomíra Kožnarová¹ | Peter Girman¹  | František Saudek¹

¹Diabetes Center, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

²Ophthalmology Clinic, Thomayer Hospital, Prague, Czech Republic

³Transplantation Surgery Department, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

⁴First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Correspondence

František Saudek

Email: frsa@medicon.cz

Funding information

Ministerstvo Zdravotnictví České Republiky, Grant/Award Number: 15-26746 A

Early worsening of diabetic retinopathy due to sudden glucose normalization is a feared complication of pancreas transplantation; however, its rate or severity has not been studied prospectively. We followed up 43 pancreas and kidney recipients for a composite endpoint comprising new need for laser therapy, newly diagnosed proliferation, macular edema, visual acuity worsening, and blindness over 12 months. Although 37% of patients met this primary endpoint, its severity was rather low. Mean central retinal thickness and proportion of patients with subclinical macular edema increased significantly, with spontaneous resolution in half of them. Visual acuity did not change. There was no significant difference in the absolute glycated hemoglobin (HbA1c) drop, age, and diabetes duration between the patients who met and those who did not meet the primary endpoint, but a higher proportion of patients with worsening had a recent history of laser treatment. Retinopathy remained stable in 62.8% of patients. In 26%, the visual acuity significantly improved. Although retinopathy worsening was documented in more than one-third of patients, its evolution was not related to the magnitude of metabolic change; rather, it corresponded to the expected natural course of retinopathy. Nonetheless, comprehensive ophthalmologic care should be a substantial component of the recipient management.

KEYWORDS

clinical research/practice, diabetes: secondary complications, diabetes: type 1, endocrinology/diabetology, immunosuppressant, pancreas/simultaneous pancreas-kidney transplantation

1 | INTRODUCTION

Diabetic retinopathy (DR), a common long-term neurovascular complication of diabetes mellitus (DM) with a major impact on quality of life, is one of the leading causes of visual impairment worldwide.^{1–3} Although the vascular component of its pathogenesis is undisputable, the importance of neurodegenerative and inflammatory

processes in the retina has emerged only recently.⁴ The functionality of the neurovascular unit and the integrity of the blood-retina barrier depend on the function and communication of neural, glial, and vascular cells. Alterations of the neurovascular unit seem to precede the subclinical functional and morphological abnormalities.^{5–7}

Although much remains to be explored about the primary pathogenesis of DR, hyperglycemia is undoubtedly the initial in the

Abbreviations: BCVA, best corrected visual acuity; CRT, central retinal thickness; CSME, clinically significant macular edema; DM, diabetes mellitus; DR, diabetic retinopathy; EWDR, early worsening of diabetic retinopathy; HbA1c, glycated hemoglobin; MPA, mycophenolic acid; OCT, optical coherence tomography; PDR, proliferative diabetic retinopathy; PRP, panretinal laser photocoagulation; SPK, simultaneous pancreas and kidney transplantation; VEGF, vascular endothelial growth factor.

downstream of pathological events. The course and severity of DR are related to the long-term glycemic levels and metabolic control^{8,9} in both type 1 (T1DM) and type 2 DM (T2DM). Albeit other modifying risk factors of DR progression should be borne in mind, such as dyslipidemia,¹⁰ hypertension,¹¹⁻¹³ and nephropathy,^{13,14} the best possible glycemic control is apparently the most important factor for both primary and secondary prevention. The effects of good or poor metabolic control are important mainly from a long-term perspective—a phenomenon called “metabolic memory.”¹⁵

The current DM therapeutic modalities, involving the use of the latest devices for glucose monitoring and insulin administration, provide a chance to achieve near-normal metabolic control when initiated timely, hand in hand with good compliance and appropriately tailored education.¹⁶ Nevertheless, according to the T1DM Exchange Registry, only as little as 21% of adults with T1DM can achieve the currently recommended goal of a glycated hemoglobin (HbA1c) level of 53 mmol/mol.¹⁷ Thus far, beta cell replacement (pancreas and islet transplantation) is the only method leading to near-physiological and robust glucose control in the majority of patients. Despite the considerable specific risks, transplantation represents a life-saving and life-enhancing option for selected patient groups.¹⁸ This is most evident in the case of simultaneous pancreas and kidney transplantation (SPKT).¹⁹

Due to the excellent long-term patient and graft survival rates, we can now observe the posttransplant course of specific DM complications. Patients indicated for SPKT commonly have advanced DR with ongoing retinal vessel proliferation.²⁰⁻³³ In the early beginnings of transplantation treatment for DM, continuing progression or, at best, stabilization of DR was seen in the long-term follow-up of transplant recipients.^{20-24,26,28} In later studies, the majority of patients achieved stabilization and even improvement of DR.^{25,29-33} These contradicting results might be attributed to the differences in the patients' characteristics, small sample size, retrospective design of the studies, and different DR classification. However, most studies with a long-term follow-up reported slowing of the DR progression.^{25,27,29-31,33}

In patients with a history of poor metabolic control, pancreas transplantation represents a substantial breakpoint because it almost instantly restores normal blood glucose levels. In this context, several studies have reported an unexpected deterioration of DR early after pancreas transplantation.^{20,21,33,34} This phenomenon, frequently referred to as “early worsening of DR” (EWDR), was described previously in groups of patients with T1DM after intensification of insulin treatment,³⁵⁻³⁷ as well as in patients with T2DM on intensified insulin regimen,^{38,39} glucagon-like peptide-1 receptor agonist therapy,^{40,41} or after successful bariatric surgery.^{39,42-44} The rapid blood glucose control improvement was considered to be the main cause and risk factor explaining this phenomenon.

One of the aims of SPK is to improve the quality of life, which can be difficult if DR unexpectedly progresses or leads to visual impairment early after the procedure. However, in all previous studies, the DR course was evaluated retrospectively, as a part of a complex posttransplant follow-up. There has been no prospective evaluation

with EWDR criteria set as the endpoint. Hence, the real risk of EWDR remains unknown.

In 2014, we initiated a prospective randomized study comparing the effects of either everolimus or mycophenolic acid (MPA) added to a tacrolimus-based immunosuppressive regimen on the evolution of DR in SPK recipients. The primary and secondary ophthalmologic endpoints were clearly defined prospectively and the first ophthalmologic assessment was performed after inclusion into the study, before transplantation. The aim of the present study was to assess the development of EWDR after SPKT based on objective criteria.

2 | PATIENTS AND METHODS

This study is a subanalysis of the ongoing randomized clinical study entitled EMA-SPK (Everolimus versus MPA in SPK to evaluate the differences in retinal neovascularization in patients with DR), which was registered with EudraCT under no. 2013-004934-14. The study is being conducted according to the principles of the Declaration of Helsinki and was approved by the ethics committees of the Institute for Clinical and Experimental Medicine (IKEM) and the Thomayer Teaching Hospital, Prague, Czech Republic (approval no. G-14-08-06).

2.1 | Selection of patients

We included all patients with T1DM between 18 and 65 years of age with end-stage kidney disease who were put on the waiting list for SPK at the IKEM, fulfilled the inclusion criteria, and agreed to participate. The main inclusion criteria were as follows: negative C-peptide (defined as C-peptide levels < 0.02 nmol/L), panel reactive antibodies <50%, and preserved sight in at least one eye (visual acuity of not less than 5/60). All patients had undergone a regular pretransplant examination and met the general eligibility criteria for SPK.

In the present analysis, we included all patients who were successfully treated with SPK and completed the 12-month follow-up by June 2019.

2.2 | Study design and immunosuppressive protocol

Patients were randomized to receive treatment with either MPA (1440 mg/day) or everolimus (target trough concentration 4-8 ng/mL) added to the standard tacrolimus-based protocol. They received induction therapy with anti-T-lymphocyte globulin (Grafalon, Neowii, Germany) at a total cumulative dose of 9 mg/kg, short-term corticosteroid treatment with gradual tapering and complete withdrawal by 4-6 weeks, and tacrolimus (target trough levels of 8-15 ng/mL in the first 6 months posttransplant and 5-10 ng/mL thereafter). Antibiotic prophylaxis was secured by piperacillin-tazobactam in the first 3 days. Anti-cytomegalovirus prophylaxis with valganciclovir was given up to 3 months posttransplant. All patients

received anticoagulation therapy with low-molecular-weight heparin at a prophylactic dose for the first 14 days after transplantation, with minor adjustments related to the postoperative course. Subsequently, long-term antiplatelet therapy with acetylsalicylic acid (100 mg/day) was initiated.

2.3 | Ophthalmologic examination

Ophthalmologic examination was performed by experienced ophthalmologists (KK and TS) at baseline and at 6 and 12 months posttransplant. It included medical history review, visual acuity assessment, slit lamp examination, intraocular pressure measurement, cataract grade assessment, fundus examination, retinophotography, and optical coherence tomography (OCT). The examination was repeated if the waiting time for transplantation exceeded 6 months.

Best corrected visual acuity (BCVA) was measured using Snellen optotypes with decimal grading. A change of more than 2 rows was considered significant. Refraction was measured by an autorefractometer (Accuref-K-9003D, Rexam, Japan) and corrected accordingly. Intraocular pressure was measured using a noncontact tonometer (Tomey FT-1000, Germany). Slit lamp examination of the anterior eye segment was performed according to clinical standards. Cataract was assessed according to the AREDS classification with half-grade assessment⁴⁵ (grade 1-3). Changes of one or more steps on the grading scale were considered significant. Ophthalmoscopy was performed in induced mydriasis and stereoscopic fundus photographs with an angle of 45° were taken (FF 450 Plus Fundus camera with Visupac 500, Zeiss, Germany). The degree of DR was assessed based on the ophthalmoscopic findings and fundus photographs according to the EURODIAB criteria.⁴⁶ OCT was performed (RTVue-100 Fourier-Domain OCT, Optovue, USA) to quantify the macular thickness (central retinal thickness; CRT) and its changes over time.⁴⁷ In select cases, fluorescein angiography was additionally indicated. The results of the ophthalmologic examinations were recorded and forwarded to the study coordinators (BV and FS) for statistical evaluation.

2.4 | Study endpoints

The primary endpoint of this study was the occurrence of EWDR by 12 months posttransplant. For the purpose of this study, EWDR was defined as a composite endpoint comprising one or more of the following events: (1) new need for laser therapy (except procedures scheduled preoperatively and performed not later than 4 months posttransplant), (2) newly diagnosed proliferative DR (PDR), (3) newly diagnosed clinically significant macular edema (CSME), (4) BCVA worsening of more than 2 rows on Snellen's optotypes, and (5) occurrence of blindness.

Secondary ophthalmologic endpoints included: change in visual acuity, new vessel formation, new occurrence or change in

the cataract grade of more than 1 step, changes in CRT, intravitreal bleeding, and change in the DR degree.

2.5 | Statistical methods

The occurrence of the composite endpoint as well as its individual components was assessed using descriptive statistics, regardless of the patients' group assignment. The results were correlated with the clinical history data, changes in pre- and posttransplant glucose metabolism, and other parameters. Each eye was evaluated separately in the descriptive statistics. In the endpoint criteria fulfillment assessment, both eyes were evaluated together as one event to avoid duplication.

Data are presented as mean (standard deviation) or number (percentage), as appropriate. Differences between the groups were evaluated using Mann-Whitney *U* test and Pearson chi-square test for continuous and categorical variables, respectively. Depending on the distribution, the paired *t*-test or Wilcoxon rank test (non-Gaussian distribution) was used for comparison of variables in the same subjects between different time points. All statistical tests were two-tailed and $P \leq .05$ was considered statistically significant. GraphPad Prism 8 (GraphPad Software, San Diego, CA) and Bio-Medical Data Package software (Statistical Solutions) were used for analysis.

3 | RESULTS

A total of 49 patients underwent SPKT and were followed up for at least 1 year. Six patients were excluded from the analysis: 2 underwent pancreas graft explantation due to bleeding and pancreatitis, 1 had pancreas graft failure due to rejection, 1 had kidney graft failure with subsequent retransplantation, 1 patient died of pulmonary embolism, and 1 patient withdrew the consent to participate. Thus, 43 patients (23 in the MPA group and 20 in the everolimus group) completed the 12-month follow-up with both functioning grafts and were included in the analysis.

All pancreatic grafts had enteric exocrine drainage and were placed in a retrocolic position using portal venous drainage in 39 patients and systemic venous drainage in 4 patients. Kidney grafts were put in the left iliac fossa. Anticoagulation therapy was administered in prophylactic doses according to the protocol in the peritransplantation period, except in 4 patients, in whom it was continued for 2, 3, 6, and 12 months due to repeated surgical procedures shortly after transplantation (1 patient), partial pancreas graft vein thrombosis (2 patients), and longer immobilization (1 patient), respectively.

3.1 | Patients' characteristics

Demographic characteristics are shown in Table 1. We evaluated a total of 84 eyes; two eyes were not evaluated due to blindness and high-grade intumescent cataract. Before transplantation, PDR was

TABLE 1 Baseline characteristics

	Mean, SD	Percentage/ range
Number of participants, male/ female	43, 31/12	72%/28%
Age at transplantation (y)	41.7 ± 9.9	27-65
Duration of diabetes (y)	26.2 ± 7.4	14-47
Mean HbA1c (mmol/mol)	71.1 ± 18.5	38-116
Dialysis treatment	26 patients	60.5%
Duration of dialysis (months)	13.8	9-38
Blood pressure: systolic/diastolic (mm Hg)	149.6 ± 15.4/ 85.9 ± 8.9	120-180/68-111
BMI (kg/m ²)	24.9 ± 3.8	17-32.3
Cholesterol—total (mmol/L)	4.8 ± 1.2	2.9-8.3
Cholesterol HDL (mmol/L)	1.3 ± 0.3	0.7-2.3
Cholesterol LDL (mmol/L)	2.8 ± 1.6	1.0-6.2
Triglycerides (mmol/L)	1.6 ± 0.7	0.74-3.46

TABLE 2 Baseline characteristics—ophthalmological (mean ± SD, percentage)

Number of eyes evaluated	84
BCVA (decimal grades)	0.6 ± 0.31
Intraocular pressure (mm Hg)	16.7 ± 4.9
Retinopathy grade	
Nonproliferative DR	
Mild	8.3% eyes
Moderate	2.4% eyes
Severe	7.1% eyes
Proliferative DR	82.1% eyes
Clinically significant macular edema	9.3% patients/ 4.8% eyes
Panretinal laser photocoagulation	All patients with PDR
<12 mo pretransplant	34.9% patients/ 35.7% eyes
Pars plana vitrectomy	39.5% patients /34.5% eyes
Anti-VEGF therapy	11.6% /9.5% eyes
Cataract	72.1% patients/ 72.6% eyes
Lens operation	37.2% patients/ 27.3% eyes
Central retinal thickness (μm)	245.4 ± 63

Abbreviations: BCVA, best corrected visual acuity; DR, diabetic retinopathy; PDR, proliferative diabetic retinopathy; VEGF, vascular endothelial growth factor.

present in 82.1% of the eyes. Four eyes (4.8%) of four patients (9.3%) had signs of CSME. All patients with PDR had undergone panretinal laser photocoagulation (PRP), with 15 of them (34.9%) having done so in the year before transplantation. Seventeen patients had undergone pars plana vitrectomy, five had received intraocular anti-vascular endothelial growth factor (VEGF) injections, and two had received intraocular corticosteroids. The detailed ophthalmologic baseline parameters are presented in Table 2.

3.2 | Primary endpoint

In the first 12 months, 16 patients (37.2%) met the primary endpoint. DR progression was documented in 12 patients. There were 7 cases of new proliferation in preexisting PDR, 2 cases of intraretinal bleeding, and 1 case of newly diagnosed PDR. PRP was indicated in 7 patients. CSME developed anew in 6 patients by 6 months posttransplant. However, in 3 of them, it resolved spontaneously by 12 months posttransplant. Anti-vascular endothelial growth factor therapy was not indicated in any of the patients, based on the local guidelines and the assessment of 2 independent ophthalmologists. In 5 patients, DR progression led to significant vision worsening (Figure 1 and Table 3).

3.3 | Secondary endpoints

There were 5 patients with newly developed cataract of mild severity and 5 patients with significant worsening of the preexisting cataract, leading to bilateral cataract surgery in 1 of them (Table 3). BCVA significantly worsened in 9 patients, due to DR progression in 5, significant cataract progression in 3, and due to a severe form of glaucoma in 1 patient. There were no cases of new occurrence of blindness. On the other hand, in 11 patients, the BCVA improved significantly throughout the follow-up period. The mean BCVA did not change significantly (Table 4). All patients had functioning pancreas and kidney grafts. The mean HbA1c level was within the normal range (38.3 ± 6.4 mmol/mol at 6 months and 37.3 ± 6.5 mmol/mol at 12 months posttransplant). The basal C-peptide level was 1.07 ± 0.34 nmol/L at 6 months and 1.02 ± 0.42 nmol/L at 12 months posttransplant. The mean estimated glomerular filtration rate (using the CKD-EPI formula) was 0.97 ± 0.3 mL/s/1.73 m² and 0.99 ± 0.4 mL/s/1.73 m² at 6 and 12 months posttransplant, respectively. Detailed summary of the patients' clinical outcomes is presented in Table S2.

3.4 | OCT results

Data regarding the CRT and its changes are shown in Figure 2 and Table 4. The mean CRT increased significantly during the follow-up period, as assessed by the Wilcoxon test. The number of patients with subclinical edema and CRT ≥ 300 μm increased at 6 months, with a subsequent regression by 12 months posttransplant. However, the edema was assessed as

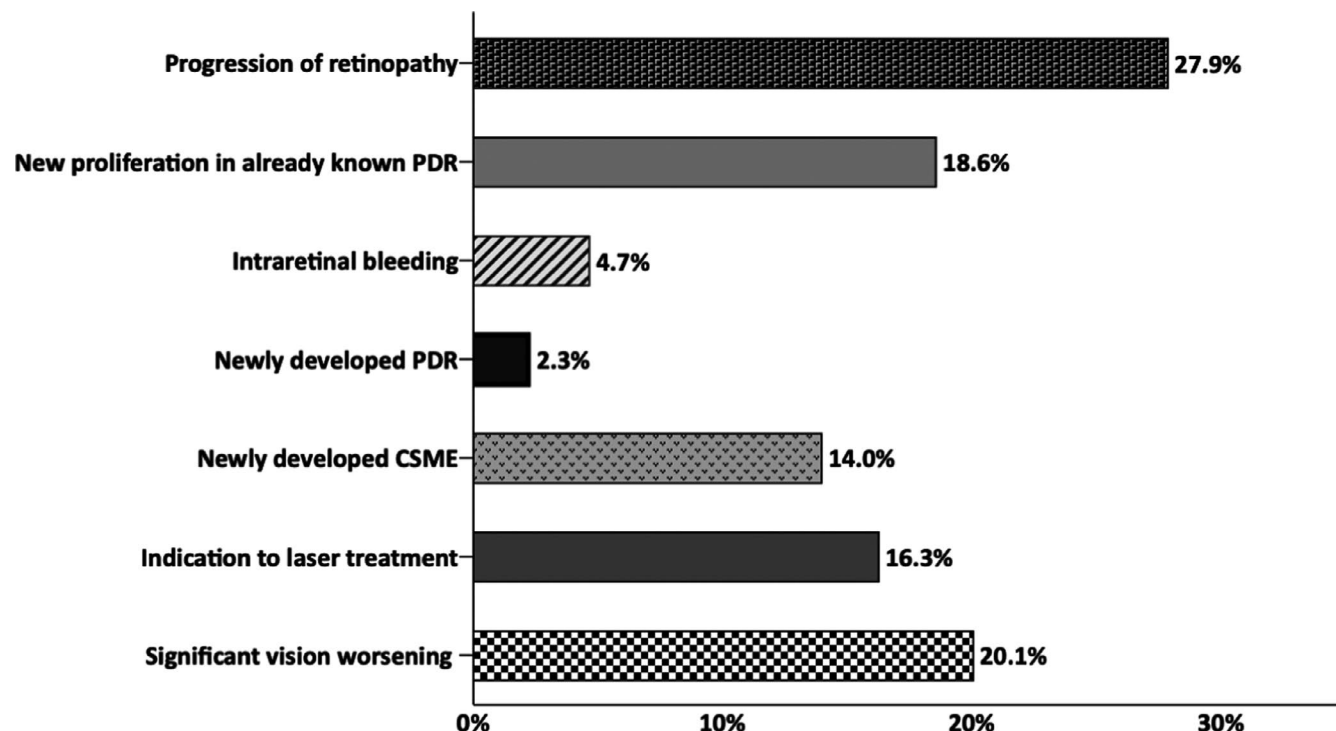


FIGURE 1 Percentage of patients achieving the primary composite endpoint

clinically significant by the ophthalmologist only in 6 patients. Among them, significant visual impairment was documented in two patients.

3.5 | Patients' clinical characteristics according to primary endpoint fulfillment

We compared the baseline clinical characteristics between patients who met ($n = 16$) and those who did not meet ($n = 27$) the primary endpoint. There was no statistical difference in any of the evaluated

clinical characteristics (age, DM duration, baseline HbA1c level, HbA1c drop at 3 and 6 months, rejection, glomerular filtration rate, and other factors; Figure 3 and Table S3). In 4 patients, the BCVA worsened due to causes obviously not directly related to DR (cataract in 3 and glaucoma in 1 patient). Even after excluding these patients from the analysis, no statistical differences were found.

3.6 | Patients' ophthalmologic characteristics according to endpoint fulfillment

There was a higher proportion of patients who had undergone PRP in the last 12 months before transplantation among those with DR progression ($P = .045$; Table S5). All but one patients with DR progression had advanced PDR at baseline. New proliferative lesions (a component of the composite endpoint) occurred in only 1 patient, who had a high-risk severe form of nonproliferative retinopathy at baseline, not affecting his overall visual acuity.

The CRT tended to increase more apparently in patients with DR progression, and the difference was significant at 12 months posttransplant ($P = .0072$, Mann-Whitney U test; Table S4 and S5).

3.7 | Endpoint analysis according to the treatment allocation

The proportion of patients who met the primary composite ophthalmologic endpoint was higher in the MPA-treated

TABLE 3 Patients with cataract progression and significant visual acuity changes (number and percentage of subjects and eyes)

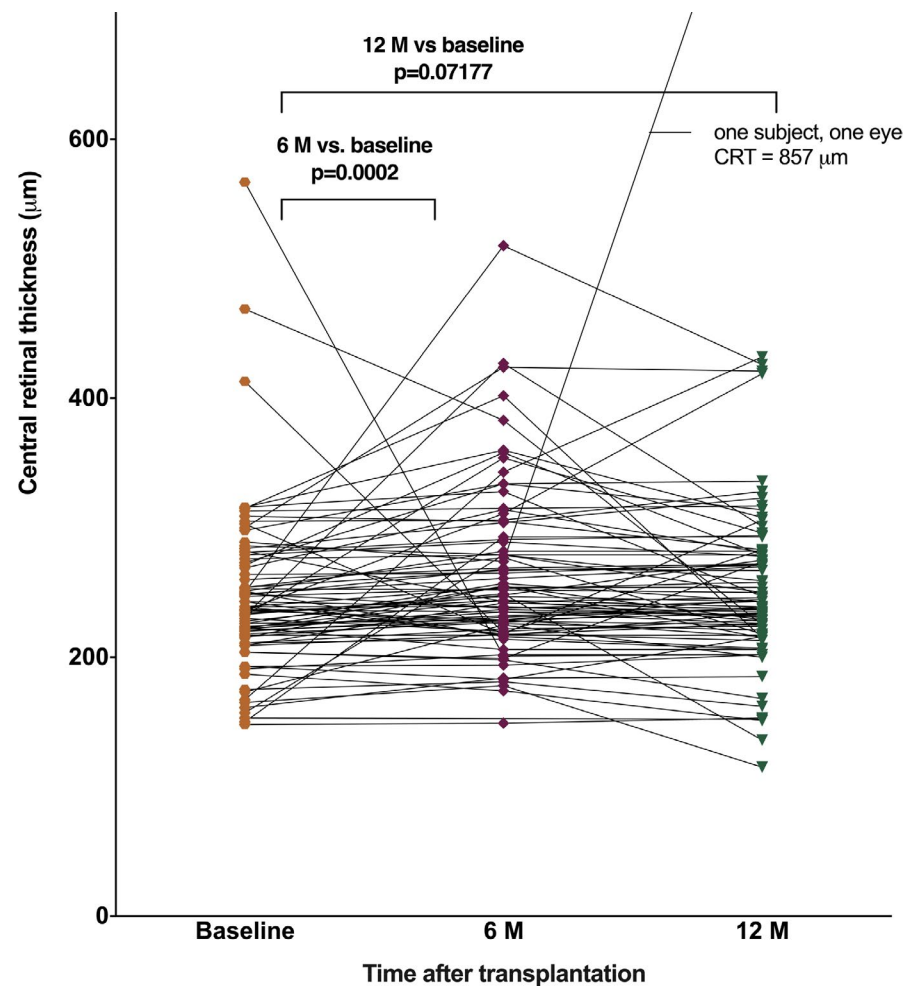
Overall cataract progression	10 patients (23.2%)/16 eyes (19%)
Newly diagnosed mild stages	5 patients (11.6%)/9 eyes (10.7%)
Significant cataract progression	5 patients (11.6%)/7 eyes (8.3%)
New indication for cataract surgery	1 patient (2.3%)/2 eyes (2.4%)
Significant vision worsening	9 patients (18.4%)/10 eyes (11.9%)
Progression of DR	5 patients (11.6%)/5 eyes (5.6%)
Cataract progression	3 patients (7%)/4 eyes (4.8%)
Glaucoma progression	1 patient (2.3%)/1 eye (1.2%)
Significant vision improvement	11 patients (25.6%)/11 eyes (13.1%)

TABLE 4 CRT, intraocular pressure, BCVA at baseline, 6 and 12 mo after transplantation (mean $\pm$ SD, Wilcoxon test)

	Baseline	6 mo	6 mo vs baseline	12 mo	12 mo vs baseline
CRT μm	245.4 $\pm$ 63	262 $\pm$ 64	$P = .0002$	257.3 $\pm$ 89	$P = .0718$
CSME	9.3%	14%		9.3%	
CRT $\geq 300 \mu\text{m}$	18.5%	28.5%		23%	
CRT between 250-300 μm	35%	31%		30.5%	
CRT $< 250 \mu\text{m}$	46.5%	40.5%		46.5%	
Intraocular pressure (mmHg)	16.7 $\pm$ 4.9	16.3 $\pm$ 3.2	$P = .9669$	15.9 $\pm$ 3.4	$P = .2081$
BCVA (decimal grades)	0.6 $\pm$ 0.31	0.59 $\pm$ 0.32	$P = .24$	0.61 $\pm$ 0.33	$P = .5905$

Abbreviations: BCVA, best corrected visual acuity; CRT, central retinal thickness; CSME, clinically significant macular edema.

FIGURE 2 Changes in central retinal thickness measured by optical coherence tomography at baseline and 6 and 12 mo posttransplant [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]



group than in the everolimus-treated group (47.8% vs 25%; $P = .1225$) due to more frequent DR progression, postoperative need for PRP, and overall BCVA worsening (Table 5). There was a statistically significant difference in the BCVA worsening ($P = .016$).

Evaluation of the CRT measured by OCT suggested a slightly increasing trend at 6 and 12 months in both groups. However, the

changes were statistically significant only in the everolimus-treated group ($P < .0001$ at 6 months and $P = .02$ at 12 months, Table 6). Nevertheless, newly diagnosed CSME occurred in only 3 patients in both groups.

There were no significant differences in the remaining ophthalmologic characteristics (cataract, mean BCVA, intraocular pressure) between the groups (Tables S6 and S7).

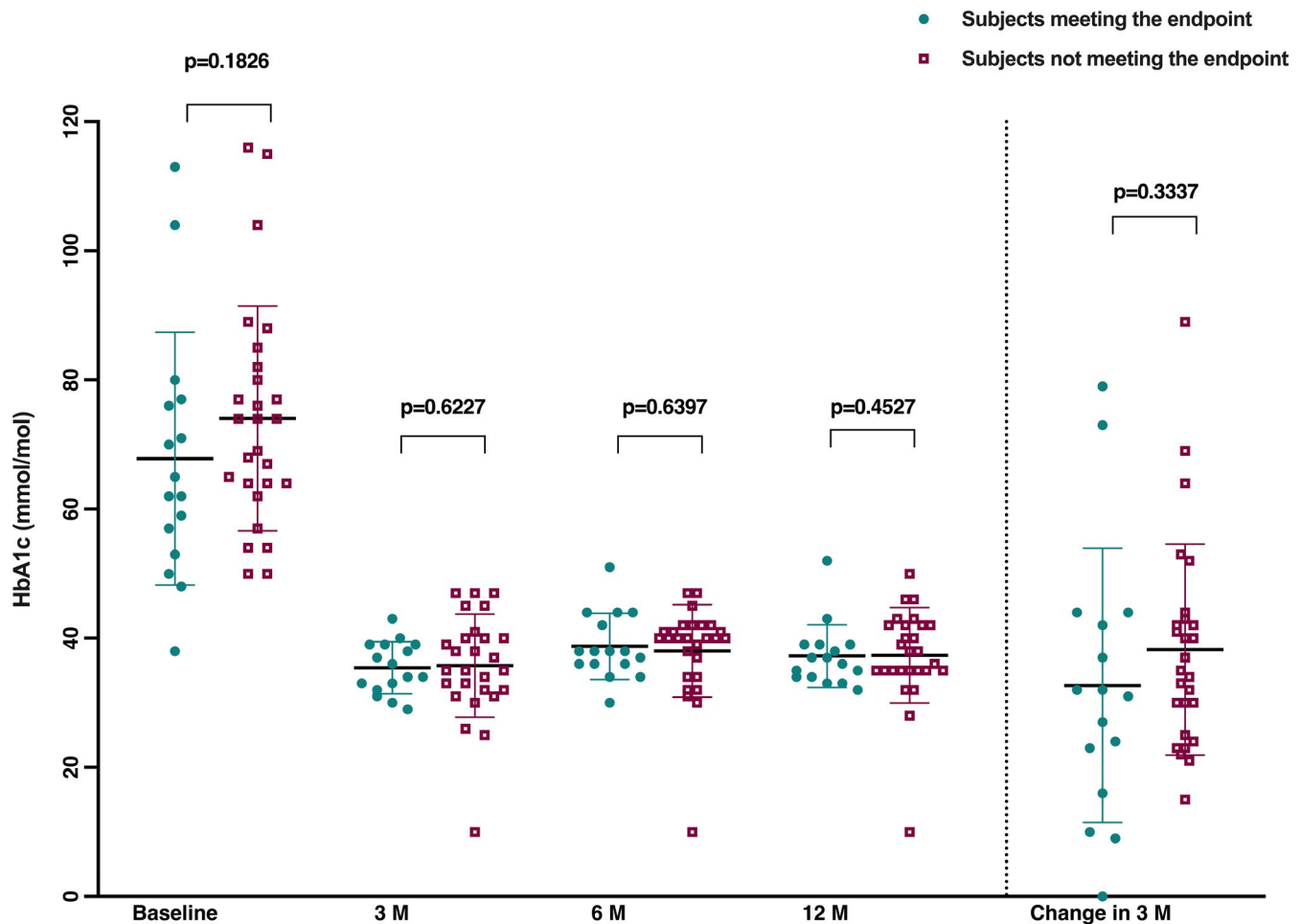


FIGURE 3 Comparison of glycated hemoglobin (HbA1c) values and changes between the subjects meeting and nonmeeting the primary endpoint (Mann-Whitney test) at baseline, and 3, 6, and 12 mo posttransplant, and the change between baseline and 3 mo posttransplant [Color figure can be viewed at wileyonlinelibrary.com]

4 | DISCUSSION

We prospectively followed SPK recipients with T1DM aiming to assess the rate of EWDR during a period of 1 year. The possibility of ophthalmologic worsening may raise concerns, particularly in transplantation candidates with advanced eye disease, because it is thought to be related to the rapid blood glucose normalization. Therefore, the criteria for EWDR in this study were correlated with the pre-transplant metabolic control and other risk factors for DR progression, and included clinically relevant events, such as a new need for PRP therapy, transition to proliferative stage, emergence of CSME, significant BCVA worsening, and occurrence of blindness. It was not the primary aim of this analysis to evaluate the stabilization or improvement of individual DR components or the overall ophthalmologic status.

Our analysis documented EWDR in more than one-third of our patients, which is a high proportion. The largest component of this composite endpoint was DR deterioration (12 patients). On the other hand, there was no case of newly developed blindness and there were only 2 cases of intraocular bleeding. We observed CSME formation in 6 patients (9 eyes), but in 3 of them (5 eyes), it resolved spontaneously

by 12 months posttransplant. In 62.8% of the patients, DR remained stable, whereas in 26% of them, the BCVA actually improved.

In a more detailed comparison of the EWDR and non-EWDR groups, we did not find significant differences in the DM duration, HbA1c baseline level and its change over time, use of dialysis before transplantation, duration of the transplantation procedure, rejection treatment, or other clinical characteristics. Regarding the ophthalmologic findings, not surprisingly, the OCT-measured CRT was greater in the EWDR group. This finding, together with a more frequent history of PRP therapy in the last 12 months before the transplantation might be indicative of an overall greater risk for EWDR.

The population of patients treated with SPKT significantly differs from those enlisted in previous studies describing the phenomenon of EWDR, having far more pronounced microvascular complications, including retinal proliferation as well as scarring after laser treatment. Therefore, the posttransplant DR progression can be explained only partially by the rapid glycemia improvement. In fact, in this study, we did not observe an unexpected severe DR deterioration that could not be attributed to the course of preexisting DR. Furthermore, there might have been a group of patients with insufficiently stabilized

TABLE 5 Proportion of patients meeting the ophthalmological endpoints evaluated with regard to randomization to mycophenolic acid or everolimus (number and percentage of subjects and eyes, chi-square test)

	MPA	Everolimus	P value
Worsening overall (primary endpoint)	11 patients (47.8%)	5 patients (25%)	.1225
Progression of retinopathy	8 patients (34.8%) 14 eyes	4 patients (20%) 7 eyes	.281
New proliferation in already known PDR	6 patients (28.6%) 9 eyes	2 patients (10%) 3 eyes	.1336
Intraretinal bleeding	2 patients (8.7%) 2 eyes	0	.1768
Newly diagnosed PDR	0	1 patient (5%) 2 eyes	.2779
Newly developed CSME	3 patients (13%) 4 eyes	3 patients (15%) 5 eyes	.8535
Progression from mild to moderate NPDR	0	1 patient (5%) 1 eye	.2779
Significant vision worsening	8 patients (34.8%) 9 eyes	1 patient (5%) 1 eye	.0166
New indication to laser treatment	6 patients (26.1%) 10 eyes	1 patient (5%) 2 eyes	.0617

Bold value indicates the statistically significant results.

Abbreviations: CSME, clinically significant macular edema; MPA, mycophenolic acid; NPDR, nonproliferative diabetic retinopathy; PDR, proliferative diabetic retinopathy.

retinal proliferation, as reflected by the higher proportion of patients with recent PRP therapy in the EWDR group.

EWDR as a result of sudden improvement of glycemic control has been reported mainly in patients initiated on intensive insulin therapy. In general, these patients tended to have milder forms of retinal disease that progressed unexpectedly.³⁵⁻³⁹ Analogously, the term was adopted for patients undergoing pancreas transplantation.^{21,33,34,39} In this regard, pancreas transplantation represents an extreme change in the metabolic control, which cannot be achieved by other means thus far. Worsening of retinopathy has also been described in these patients, although most of them already had a high risk for DR progression. Criteria for unexpected EWDR in patients

scheduled for metabolic intervention have not been set prospectively in any previous study. The possibility of DR progression after pancreas transplantation was clearly demonstrated in all previous studies,²⁰⁻³³ even though the extent differed and it remains questionable whether this progression could be classified as EWDR. In a retrospective study by Kim et al (2017),³³ in a large number of patients, DR deteriorated within the first year posttransplant. There are also case studies reporting an abrupt worsening leading to macular edema and new-onset PDR (Tsai et al, 2017).³⁴ In our study, we observed worsening in more than one-third of the patients; however, only a few patients—those with CSME—experienced clinically significant changes.

The posttransplant incidence of CSME was 14% at 6 months and 9.3% at 12 months posttransplant, which is comparable to that reported by Kim et al (2017).³³ It is reasonable to consider that there could be a connection with the rapid metabolic changes; however, other factors should also be taken into account in these high-risk patients, such as the major surgery itself and the blood pressure changes. The use of OCT in our study has brought into light some new interesting findings about posttransplant subclinical CRT changes. In the overall assessment, we observed a statistically significant retinal thickening at 6 months posttransplant and a change in the proportion of patients with subclinical macular edema. Similar findings were reported in recent studies using OCT after initiation of insulin pump therapy⁴⁸ or after bariatric surgery.⁴⁹ In the current study, CRT was an additional measure, not a primary endpoint; therefore, a more complex analysis of the OCT parameters is required to draw specific conclusions.

Anticoagulation and antiplatelet therapy is a regular component of the posttransplant treatment regimen in pancreas transplantation and may represent a risk factor for intraocular bleeding. We documented only two cases, both more than 3 months after the low-molecular-weight heparin prophylaxis was stopped. None of the patients who were on long-term anticoagulation or dual antiplatelet therapy developed intraocular bleeding.

We acknowledge there are certain limitations to our study. The small sample size did not allow us to assess the possible risk factors for EWDR and there was not a nontreated control group. Therefore, we performed only an observational analysis and a comparison of the EWDR and non-EWDR groups. As for the possible control group, we were limited by the fact that the majority of patients with T1DM and end-stage kidney disease in whom SPK is indicated undergo the treatment within 1 year from entering the waiting list.

Although we did not evaluate the outcomes of the different ophthalmologic interventions before and after transplantation, our study clearly emphasizes that this group of high-risk patients requires comprehensive care by experienced ophthalmologists.

TABLE 6 CRT dynamics within the randomized groups treated with MPA and everolimus (mean $\pm$ SD, Wilcoxon test)

CRT	Baseline	6 mo	6 mo vs baseline	12 mo	12 mo vs baseline
MPA	238.9 $\pm$ 58	249.1 $\pm$ 53	$P = .1529$	257.8 $\pm$ 108	$P = .5265$
Everolimus	245.3 $\pm$ 44	278.2 $\pm$ 73	$P < .0001$	256.6 $\pm$ 61	$P = .0201$

Bold value indicates the statistically significant results.

Abbreviations: CRT, central retinal thickness; MPA, mycophenolic acid.

Frequent ophthalmologic care should be a substantial component of the pre- and posttransplant management.

It was not the primary aim of this study to compare the effects of MPA and everolimus on the course of DR after SPKT. However, our preliminary data suggest that everolimus may have some ophthalmologic advantages over MPA; specifically, lower rates of pathological neovascularization and need for PRP therapy. Conversely, retinal thickening as measured by OCT was more pronounced in the everolimus-treated group. We expect that the impact of the antiproliferative mammalian target of rapamycin (mTOR) inhibitors on the course of DR will be clarified in a longer prospective follow-up.

5 | CONCLUSION

The results of our study show that EWDR occurs in a considerable proportion of patients with T1DM treated by SPKT. Nevertheless, this worsening seems to be related mainly to the preoperative DR evolution rather than to the sudden normalization of the glucose metabolism. In a group of 43 prospectively followed-up transplant recipients with both functioning grafts, all of whom achieved normoglycemia in the first week posttransplant, we did not observe a single case of sudden DR deterioration that did not correspond with the pretransplant risks. Although we do not question the importance of careful metabolic control in established pancreas transplantation candidates, we did not find a significant negative relationship between the sudden changes in DM control (before and after transplantation) and the posttransplant DR course. We assume that the further course of DR depends on its previous long-term evolution, with the newly achieved normoglycemia being a positive factor for later stabilization or improvement. Our study further highlights the importance of thorough ophthalmologic care in this group of high-risk patients.

ACKNOWLEDGMENTS

The study was supported by a research grant from the Ministry of Health of the Czech Republic (grant no. 15-26746 A).

DISCLOSURE

The authors of this manuscript have no conflicts of interest to disclose as described by the *American Journal of Transplantation*.

DATA AVAILABILITY STATEMENT

Anonymized data supporting the results will be available for 5 years at a website <https://owncloud.ikem.cz>. Specific ophthalmologic data including retinophotography and optical coherence tomography results are stored and backed up in a separate file by the corresponding author and institutional server and may be available upon request for 5 years.

ORCID

Barbora Voglová  <https://orcid.org/0000-0001-7132-5134>

Peter Girman  <https://orcid.org/0000-0003-0944-8189>

REFERENCES

1. Solomon SD, Chew E, Duh EJ, et al. Diabetic retinopathy: A position statement by the American Diabetes Association. *Diabetes Care*. 2017;40(3):412-418.
2. Yau JW, Rogers SL, Kawasaki R, et al. Global prevalence and major risk factors of diabetic retinopathy. *Diabetes Care*. 2012;35(3):556-564.
3. Leasher JL, Bourne RR, Flaxman SR, et al. Global estimates on the number of people blind or visually impaired by diabetic retinopathy: a meta-analysis from 1990 to 2010. *Diabetes Care*. 2016;39(9):1643-1649.
4. Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med*. 2012;366(13):1227-1239.
5. Simo R, Hernandez C. European Consortium for the Early Treatment of Diabetic Retinopathy (EUROCONDOR). Neurodegeneration in the diabetic eye: new insights and therapeutic perspectives. *Trends Endocrinol Metab*. 2014;25(1):23-33.
6. Stitt AW, Curtis TM, Chen M, et al. The progress in understanding and treatment of diabetic retinopathy. *Progr Retin Eye Res*. 2016;51:156-186.
7. Abcouwer SF, Gardner TW. Diabetic retinopathy: loss of neuroretinal adaptation to the diabetic metabolic environment. *Ann N Y Acad Sci*. 2014;1311:174-190.
8. Nathan DM, Genuth S, Lachin J, et al. The effect of intensive treatment of diabetes on the development and progression of long-term complications in insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1993;329(14):977-986.
9. UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group. Intensive blood-glucose control with sulphonylureas or insulin compared with conventional treatment and risk of complications in patients with type 2 diabetes (UKPDS 33). *Lancet*. 1998;352(9131):837-853.
10. Chew EY, Davis MD, Danis RP, et al. The effects of medical management on the progression of diabetic retinopathy in persons with type 2 diabetes: the Action to Control Cardiovascular Risk in Diabetes (ACCORD) Eye Study. *Ophthalmology*. 2014;121(12):2443-2451.
11. Leske MC, Wu SY, Hennis A, et al. Hyperglycemia, blood pressure, and the 9-year incidence of diabetic retinopathy: the Barbados Eye Studies. *Ophthalmology*. 2005;112(5):799-805.
12. UK Prospective Diabetes Study Group. Tight blood pressure control and risk of macrovascular and microvascular complications in type 2 diabetes: UKPDS 38. *BMJ (Clinical research ed)*. 1998;317(7160):703-713.
13. Hainsworth DP, Bebu I, Aiello LP, et al. Risk factors for retinopathy in type 1 diabetes: The DCCT/EDIC Study. *Diabetes Care*. 2019;42(5):875-882.
14. Estacio RO, McFarling E, Biggerstaff S, et al. Overt albuminuria predicts diabetic retinopathy in Hispanics with NIDDM. *Am J Kidney Dis*. 1998;31(6):947-953.
15. Lachin JM, White NH, Hainsworth DP, et al. Effect of intensive diabetes therapy on the progression of diabetic retinopathy in patients with type 1 diabetes: 18 years of follow-up in the DCCT/EDIC. *Diabetes*. 2015;64(2):631-642.
16. Beck RW, Bergenstal RM, Laffel LM, et al. Advances in technology for management of type 1 diabetes. *Lancet*. 2019;394(10205):1265-1273.
17. Foster NC, Beck RW, Miller KM, et al. State of type 1 diabetes management and outcomes from the T1D Exchange in 2016-2018. *Diabetes Technol Ther*. 2019;21(2):66-72.
18. Choudhary P, Rickels MR, Senior PA, et al. Evidence-informed clinical practice recommendations for treatment of type 1 diabetes complicated by problematic hypoglycemia. *Diabetes Care*. 2015;38(6):1016-1029.
19. Gruessner AC, Gruessner RW. Long-term outcome after pancreas transplantation: a registry analysis. *Curr Opin Organ Transplant*. 2016;21(4):377-385.

20. Ramsay RC, Goetz FC, Sutherland DER, et al. Progression of diabetic retinopathy after pancreas transplantation for insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1988;318(4):208-214.
21. Petersen MR, Vine AK. Progression of diabetic retinopathy after pancreas transplantation. The University of Michigan Pancreas Transplant Evaluation Committee. *Ophthalmology*. 1990;97(4):496-500; discussion 501-502.
22. Zech JC, Trepsat D, Gain-Gueugnon M, et al. Ophthalmological follow-up of type 1 (insulin-dependent) diabetic patients after kidney and pancreas transplantation. *Diabetologia*. 1991;34(Suppl 1):S89-91.
23. Bandello F, Vigano C, Secchi A, et al. Diabetic retinopathy after successful kidney-pancreas allotransplantation: a survey of 18 patients. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1991;229(4):315-318.
24. Bandello F, Vigano C, Secchi A, et al. Effect of pancreas transplantation on diabetic retinopathy: a 20-case report. *Diabetologia*. 1991;34(Suppl 1):S92-94.
25. Konigsrainer A, Miller K, Steurer W, et al. Does pancreas transplantation influence the course of diabetic retinopathy? *Diabetologia*. 1991;34(Suppl 1):S86-88.
26. Scheider A, Meyer-Schwickerath E, et al. Diabetic retinopathy and pancreas transplantation: a 3-year follow-up. *Diabetologia*. 1991;34(Suppl 1):S95-99.
27. Ulbig M, Kampik A, Thurau S, et al. Long-term follow-up of diabetic retinopathy for up to 71 months after combined renal and pancreatic transplantation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol*. 1991;229(3):242-245.
28. Wang Q, Klein R, Moss SE, et al. The influence of combined kidney-pancreas transplantation on the progression of diabetic retinopathy. A case series. *Ophthalmology*. 1994;101(6):1071-1076.
29. Chow VC, Pai RP, Chapman JR, et al. Diabetic retinopathy after combined kidney-pancreas transplantation. *Clin Transplant*. 1999;13(4):356-362.
30. Pearce IA, Ilango B, Sells RA, et al. Stabilisation of diabetic retinopathy following simultaneous pancreas and kidney transplant. *Br J Ophthalmol*. 2000;84(7):736-740.
31. Koznarova R, Saudek F, Sosna T, et al. Beneficial effect of pancreas and kidney transplantation on advanced diabetic retinopathy. *Cell Transplant*. 2000;9(6):903-908.
32. Giannarelli R, Coppelli A, Sartini M, et al. Effects of pancreas-kidney transplantation on diabetic retinopathy. *Transpl Int*. 2005;18(5):619-622.
33. Kim YJ, Shin S, Han DJ, et al. Long-term effects of pancreas transplantation on diabetic retinopathy and incidence and predictive risk factors for early worsening. *Transplantation*. 2018;102(1):e30-e38.
34. Tsai FY, Lau LI, Li AF, et al. Acute macular edema and peripapillary soft exudate after pancreas transplantation with accelerated progression of diabetic retinopathy. *J Chin Med Assoc*. 2017;80(5):319-325.
35. The Diabetes Control and Complications Trial Research Group. Early worsening of diabetic retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Arch Ophthalmol*. 1998;116(7):874-886.
36. Dahl-Jorgensen K, Brinchmann-Hansen O, Hanssen KF, et al. Rapid tightening of blood glucose control leads to transient deterioration of retinopathy in insulin dependent diabetes mellitus: the Oslo study. *Br Med J (Clin Res Ed)*. 1985;290(6471):811-815.
37. The Kroc Collaborative Study Group. Blood glucose control and the evolution of diabetic retinopathy and albuminuria. A preliminary multicenter trial. *N Engl J Med*. 1984;311(6):365-372.
38. The Kroc Collaborative Study Group. Diabetic retinopathy after two years of intensified insulin treatment. Follow-up of the Kroc Collaborative Study. *JAMA*. 1988;260(1):37-41.
39. Bain SC, Klufas MA, Ho A, et al. Worsening of diabetic retinopathy with rapid improvement in systemic glucose control: a review. *Diabetes Obes Metab*. 2019;21(3):454-466.
40. Varadhan L, Humphreys T, Walker AB, et al. The impact of improved glycaemic control with GLP-1 receptor agonist therapy on diabetic retinopathy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2014;103(3):e37-39.
41. Marso SP, Bain SC, Consoli A, et al. Semaglutide and cardiovascular outcomes in patients with type 2 diabetes. *N Engl J Med*. 2016;375(19):1834-1844.
42. Cheung D, Switzer NJ, Ehmann D, et al. The impact of bariatric surgery on diabetic retinopathy: a systematic review and meta-analysis. *Obes Surg*. 2015;25(9):1604-1609.
43. Murphy R, Jiang Y, Booth M, et al. Progression of diabetic retinopathy after bariatric surgery. *Diabet Med*. 2015;32(9):1212-1220.
44. Brynskov T, Laugesen CS, Svenningsen AL, et al. Monitoring of diabetic retinopathy in relation to bariatric surgery: a prospective observational study. *Obes Surg*. 2016;26(6):1279-1286.
45. Eye A-R. Disease Study Research Group. The age-related eye disease study (AREDS) system for classifying cataracts from photographs: AREDS report no. 4. *Am J Ophthalmol*. 2001;131(2):167-175.
46. Aldington SJ, Kohner EM, Meuer S, et al. Methodology for retinal photography and assessment of diabetic retinopathy: the EURODIAB IDDM complications study. *Diabetologia*. 1995;38(4):437-444.
47. Virgili G, Menchini F, Dimastrogiovanni AF, et al. Optical coherence tomography versus stereoscopic fundus photography or biomicroscopy for diagnosing diabetic macular edema: a systematic review. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(11):4963-4973.
48. Klefter ON, Hommel E, Munch IC, et al. Retinal characteristics during 1 year of insulin pump therapy in type 1 diabetes: a prospective, controlled, observational study. *Acta Ophthalmol*. 2016;94(6):540-547.
49. Brynskov T, Laugesen CS, Floyd AK, et al. Thickening of inner retinal layers in the parafovea after bariatric surgery in patients with type 2 diabetes. *Acta Ophthalmol*. 2016;94(7):668-674.

SUPPORTING INFORMATION

Additional supporting information may be found online in the Supporting Information section.

How to cite this article: Voglová B, Hladíková Z, Nemětová L, et al. Early worsening of diabetic retinopathy after simultaneous pancreas and kidney transplantation—Myth or reality?. *Am J Transplant*. 2020;20:2832-2841. <https://doi.org/10.1111/ajt.15924>

Supplementary material

Tab.1 : Proportion of patients meeting the ophthalmological endpoints (percentage of patients and eyes) PDR – proliferative diabetic retinopathy, NPDR – non-proliferative diabetic retinopathy, CSME – clinically significant macular edema

Worsening overall (primary endpoint)	16 patients (37.2 %) /27 eyes (32.1 %)
Progression of retinopathy	12 patients (27.9 %) /21 eyes (25 %)
New proliferation in already known PDR	8 patients (18.6 %) / 12 eyes (14.3 %)
Intraretinal bleeding	2 patients (4.7 %) / 2 eyes (2.4 %)
Newly diagnosed PDR	1 patient (2.3 %) / 2 eyes (2.4 %)
Newly developed CSME	6 patients (14 %) 9 eyes (10.7 %) 3 patients / 5 eyes resolved within 12 m
Progression from mild to moderate NPDR	1 patient (2.3 %) 1 eye (1.2 %)
Significant vision worsening	9 patients (20.1 %) / 10 eyes (11.9 %)
New indication to laser treatment	7 patients (16.3 %) / 12 eyes (14.3 %)

Tab.2 Other metabolic outcomes 6 and 12 m after transplantation (mean $\pm$ SD, Wilcoxon test)

BP – blood pressure, CHOL – cholesterol, TG – triglycerides

	6 m	6 m vs baseline	12 m	12 m vs baseline
BMI (kg/m²)	23.6 $\pm$ 3.4	p=0.0011	24.1 $\pm$ 3.5	p=0.0310
BP systolic (mmHg)	131 $\pm$ 17.6	p < 0.0001	130 $\pm$ 15.6	p < 0.0001
BP diastolic (mmHg)	77.2 $\pm$ 9.3	p < 0.0001	78 $\pm$ 9.8	p=0.0001
CHOL total (mmol/L)	4.44 $\pm$ 0.99	p=0.1510	4.54 $\pm$ 1.13	p=0.1467
CHOL HDL (mmol/L)	1.14 $\pm$ 0.31	p=0.0038	1.12 $\pm$ 0.29	p=0.0013
CHOL LDL (mmol/L)	2.45 $\pm$ 0.74	p=0.3045	2.59 $\pm$ 0.88	p=0.1529
TG (mmol/L)	1.7 $\pm$ 0.96	p=0.8882	1.84 $\pm$ 1.43	p=0.7028

Tab. 3: Clinical characteristics of the group meeting and non-meeting the primary endpoint (mean $\pm$ SD, percentage, Mann Whitney test, Pearson Chi-square test) BP – blood pressure, CHOL – cholesterol, TG – triglycerides, HbA1c – glycated haemoglobin, GFR CKD-EPI – estimated glomerular filtration rate

	Progression n=16	No progression n=27	
Age (years)	40.4 $\pm$ 11.4	42.3 $\pm$ 9.2	p=0.5535
Duration of DM (years)	26.6 $\pm$ 7.6	25.8 $\pm$ 7.5	p=0.7530
BMI – baseline (kg/m ²)	24.2 $\pm$ 4	25.3 $\pm$ 3.8	p=0.3421
BMI – 12M (kg/m ²)	24 $\pm$ 3.3	24.1 $\pm$ 3.6	p=0.9525
BP systolic baseline (mmHg)	149.4 $\pm$ 13.9	149.7 $\pm$ 16.5	p=0.8766
BP systolic 12 M (mmHg)	130.5 $\pm$ 15.9	129.7 $\pm$ 16.8	p=0.6676
BP diastolic baseline (mmHg)	86.1 $\pm$ 11	85.8 $\pm$ 7.5	p=0.6581
BP diastolic 12 M (mmHg)	78.6 $\pm$ 8.9	77.7 $\pm$ 10.5	p=0.9651
CHOL baseline (mmol/L)	4.98 $\pm$ 1.18	4.72 $\pm$ 1.16	p=0.3592
CHOL 12M (mmol/L)	4.69 $\pm$ 1.18	4.46 $\pm$ 1.12	p=0.4662
HDL baseline (mmol/L)	1.31 $\pm$ 0.32	1.32 $\pm$ 0.37	p=0.8182
HDL 12 M (mmol/L)	1.14 $\pm$ 0.22	1.11 $\pm$ 0.32	p=0.5819
LDL baseline (mmol/L)	2.95 $\pm$ 1.12	2.67 $\pm$ 1.04	p=0.2372
LDL 12 M (mmol/L)	2.76 $\pm$ 0.76	2.51 $\pm$ 0.95	p=0.2246
TG baseline (mmol/L)	1.68 $\pm$ 0.78	1.62 $\pm$ 0.65	p=0.9752
TG 12 M (mmol/L)	1.87 $\pm$ 2.19	1.83 $\pm$ 0.86	p=0.1607
HbA1c baseline (mmol/mol)	67.8 $\pm$ 19.6	74 $\pm$ 17.4	p=0.1826
HbA1c 3 M (mmol/mol)	35.4 $\pm$ 4	35.8 $\pm$ 8	p=0.6227
HbA1c 6 M (mmol/mol)	38.8 $\pm$ 5.1	38 $\pm$ 7.2	p=0.6397
HbA1c 12 M (mmol/mol)	37.3 $\pm$ 4.9	37.4 $\pm$ 7.4	p=0.4257
HbA1c change 3 M (mmol/mol)	32.4 $\pm$ 21.8	38.3 $\pm$ 16.3	p=0.3337
HbA1c change 6 M (mmol/mol)	29.1 $\pm$ 22.4	36 $\pm$ 16.4	p=0.1913
HbA1c change 12 M (mmol/mol)	30.1 $\pm$ 20.1	36.7 $\pm$ 15.6	p=0.2802
Dialysis before Tx	62.5%	59.3%	p=0.8336
GFR CKD-EPI 12 M (mL/s/1.73m ²)	1.03 $\pm$ 0.42	0.97 $\pm$ 0.32	p=0.5967
Duration of operation (min)	278 $\pm$ 56	283 $\pm$ 51	p=0.8085
Rejection treatment	37.5 %	37 %	p=0.9758

Tab. 4: Ophtalmological characteristics of the group meeting and non-meeting the primary endpoint (mean $\pm$ SD, percentage, Mann Whitney test, Pearson Chi-square test)

BCVA – best corrected visual acuity, CRT – central retinal thickness, PDR – proliferative diabetic retinopathy, NPDR – non-proliferative diabetic retinopathy, CSME – clinically significant macular edema, PRP – panretinal laser photocoagulation, PPV – pars plana vitrectomy

	Progression	No progression	
	n=16	n=27	
BCVA baseline (decimal grades)	0.65 $\pm$ 0.25	0.63 $\pm$ 0.29	p=0.8511
BCVA 6 M (decimal grades)	0.6 $\pm$ 0.29	0.64 $\pm$ 0.3	p=0.522
BCVA 12 M (decimal grades)	0.57 $\pm$ 0.28	0.68 $\pm$ 0.31	p=0.0847
CRT baseline (μm)	225.48 $\pm$ 41.6	257.2 $\pm$ 70.6	p=0.0591
CRT 6 M (μm)	266.6 $\pm$ 72.9	259.5 $\pm$ 58.3	p=0.6898
CRT 12 M (μm)	275.1 $\pm$ 129.1	246.6 $\pm$ 51	p=0.5318
CRT change 6 M (μm)	22.9 $\pm$ 88.3	2.24 $\pm$ 68.6	p=0.595
CRT change 12 M (μm)	47.8 $\pm$ 119.2	-10.15 $\pm$ 71.1	p=0.684
PDR baseline	78.1%	85.1%	
PDR 12 M	28.1%	no change	
NPDR baseline	21.9%	14.8%	
NPDR 12 M	71.9%	no change	
PRP before Tx	81.3%	92.6%	
PPV before Tx	28.1%	37%	p=0.3981
Anti-VEGF treatment	12.5%	11.1%	p=0.8908
PRP 12 m before TX	50%	25.9%	p=0.1094

Tab. 5: Ophtalmological characteristics of the group with retinopathy progression (excluding other causes of vision worsening) and the group without progression (mean $\pm$ SD, percentage, Mann Whitney test, Pearson Chi-square test)

BCVA – best corrected visual acuity, CRT – central retinal thickness, PDR – proliferative diabetic retinopathy, NPDR – non-proliferative diabetic retinopathy, CSME – clinically significant macular edema, PRP – panretinal laser photocoagulation, PPV – pars plana vitrectomy

	Progression n=12	No progression n=31	
BCVA baseline (decimal grades)	0.69 $\pm$ 0.24	0.62 $\pm$ 0.29	p=0.4262
BCVA 6 M (decimal grades)	0.64 $\pm$ 0.28	0.62 $\pm$ 0.30	p=0.7632
BCVA 12 M (decimal grades)	0.61 $\pm$ 0.27	0.66 $\pm$ 0.31	p=0.5134
CRT baseline (μ m)	225 $\pm$ 41.6	253.3 $\pm$ 68.2	p=0.1055
CRT 6 M (μ m)	281 $\pm$ 77.1	255.4 $\pm$ 57.3	p=0.1784
CRT 12 M (μ m)	295.2 $\pm$ 141.7	242.8 $\pm$ 52.24	p=0.1575
CRT change 6 M (μ m)	30.38 $\pm$ 100.6	2 $\pm$ 64.4	p=0.26
CRT change 12 M (μ m)	67.2 $\pm$ 131.3	-10.2 $\pm$ 67.1	p=0.0072
PDR baseline	79.1%	83.9%	
PDR 12 M	87.5%	unchanged	
NPDR baseline	20.8%	16.1%	
NPDR 12 M	12.5%	unchanged	
PRP before Tx	83.3%	90.3%	p=0.6413
PPV before Tx	25%	45.2%	p=0.2252
Anti-VEGF treatment	16.7%	9.7%	p=0.5213
PRP 12 m before TX	58.3%	25.8%	p=0.0447

Tab. 6 : Patients with cataract progression and significant visual acuity changes evaluated with regard to randomization to mycophenolate or everolimus (number and percentage of subjects and eyes, Chi-square test) MPA – mycophenolic acid, Evero – everolimus, DR diabetic retinopathy

	MPA	Everolimus	p value
Overall cataract progression			
Newly diagnosed mild stages	3 patients 13% (5 eyes)	2 patients 10% (4 eyes)	0.7562
Significant cataract progression	3 patients 13% (4 eyes)	2 patients 10% (3 eyes)	0.7562
New indication for cataract surgery	1 patients 4.4% (2 eyes)	0	0.3454
Significant vision worsening			
Progression of DR	5 patients 21.7% (5 eyes)	0	0.0265
Cataract progression	3 patients 13% (4 eyes)	0	0.0940
Glaucoma progression	0	1 patient 5% (1 eye)	0.2779
Significant vision improvement	4 pat 17.4% (4 eyes)	7 pat 35% (7 eyes)	0.1868

Tab.7 : CRT, CSME evaluation with regard to immunosuppressive therapy, evaluated per patient, worse eye was counted (percentage of total number of patients within each group), Intraocular pressure, BCVA at baseline, 6 and 12 months after transplantation (mean $\pm$ SD, Mann-Whitney U test)

CRT – central retinal thickness, CSME – clinically significant macular edema, BCVA – best corrected visual acuity, MPA – mycophenolic acid, Evero – everolimus

	Baseline			6 m			12 m		
	MPA	Evero	p	MPA	Evero	p	MPA	Evero	p
CRT μm	238.9 $\pm$ 58	245.3 $\pm$ 44	0.2425	249.1 $\pm$ 53	278.2 $\pm$ 73	0.0437	257.8 $\pm$ 108	256.6 $\pm$ 61	0.193
CSME	8.7 %	10 %		4.3%	25%		8.7 %	10 %	
CRT $\geq 300 \mu\text{m}$	13 %	25 %		13 %	45 %		17.3 %	30 %	
CRT between 250 – 300 μm	34.8 %	35%		39 %	20 %		30.4 %	30 %	
CRT <250 μm	52.2 %	40%		47.8 %	35 %		52.2 %	40 %	
Intraocular pressure (mmHg)	16.4 $\pm$ 3.2	17.1 $\pm$ 3.6	0.8506	16.3 $\pm$ 3.2	16.2 $\pm$ 3.2	0.9674	15.6 $\pm$ 2.9	16.1 $\pm$ 3.9	0.8433
BCVA (decimal grades)	0.59 $\pm$ 0.31	0.6 $\pm$ 0.33	0.9293	0.59 $\pm$ 0.32	0.59 $\pm$ 0.3	0.9543	0.6 $\pm$ 0.33	0.63 $\pm$ 0.32	0.7754

Diabetic Retinopathy in Simultaneous Pancreas and Kidney Transplant Recipients: Prospective Randomized Trial Comparing Everolimus and Mycophenolate

Barbora Voglová Hagerf^{1,4}, Zuzana Hladíková¹, Lenka Nemětová¹, Martina Zahradnická¹, Kateřina Kesslerová², Tomáš Sosna², Květoslav Lipár³, Radomíra Kožnarová¹, Peter Girman¹, František Saudek¹

¹Diabetes Center, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

²Ophthalmology Clinic, Thomayer Hospital, Prague, Czech Republic

³Transplantation Surgery Department, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

⁴First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Corresponding author

Barbora Voglová Hagerf

email: vogb@ikem.cz

ABSTRACT

Background: Patients with type 1 diabetes treated with simultaneous pancreas and kidney transplantation (SPK) most often present with advanced microvascular diabetes complications including diabetic retinopathy (DR). Studies following development of DR after successful SPK bring rather contradicting results and no study focused on the effect of systemic immunosuppression on DR evolution posttransplant. Therefore we initiated a prospective randomized trial to assess the impact of immunosuppressive therapy with mTOR inhibitor everolimus, with a hypothesis that its antiangiogenic properties might beneficially affect the proliferative changes in DR

Methods: Patients with type 1 diabetes on waiting list for SPK were included and randomized to treatment with either natrium mycophenolate (MPA) or everolimus added to standard tacrolimus-based protocol, with anti-thymocyte globulin induction and short-term corticosteroid therapy. Primary composite endpoint comprised: new indication of laser therapy or pars plana vitrectomy, newly diagnosed proliferative DR, new onset of clinically significant macular edema, new substantial worsening of visual acuity or blindness. Ophthalmological examination was performed pre-transplant and 6, 12 and 24 months posttransplant. Secondary endpoints were other ophthalmological parameters as well as clinical outcomes as graft function and survival or complications.

Results: We included 64 patients, 32 in each arm, 55 completed the 12-month and 50 completed the 24-months follow-up. In the MPA-treated group 63% met the primary endpoint, compared to 43.5% patients in the everolimus-treated arm ($p=0.4$). In a detailed analysis of individual components of the primary endpoint we observed more frequent visual acuity worsening in the MPA-treated group compared to the everolimus-treated group (35.1% vs 13.7% $p=0.01$) along with a trend towards more frequent need for additional laser therapy posttransplant in the MPA-treated group. (26.3% vs 11.8% $p=0.08$). Detailed analysis of causes for visual acuity worsening revealed that DR-related worsening was more common in the MPA-treated group (24.6% vs 7.8% $p=0.02$), other causes being cataract progression or glaucoma. The best corrected visual acuity at the end of the study was better in the everolimus treated group (0.72 vs 0.58 $p=0.05$) and a larger proportion of patients with stabilized visual acuity, compared to the MPA-treated group (88.6% vs 62.1%, $p=0.03$).

Conclusion: This randomized prospective trial provides a detailed description of DR development in SPK recipients. Primary endpoint was met by a large proportion of participants in both study arms with no statistically significant difference. More detailed analysis suggest a slightly more favourable course in patients treated with everolimus. However, this hypothetical effect of systemic mTOR inhibition requires verification in a larger dedicated trial.

Abbreviations:

CRT – central retinal thickness

DM – diabetes mellitus

DR – diabetic retinopathy

HbA1c – glycated hemoglobin

MPA – mycophenolate sodium

mTOR – mammalian target of rapamycin

NPDR – nonproliferative diabetic retinopathy

PDR – proliferative diabetic retinopathy

OCT – optical coherence tomography

SPK – simultaneous pancreas and kidney transplantation

PRA – plasma reactive antibodies

BMI - body mass index

CSME – clinically significant macular edema

BCVA – best corrected visual acuity

VEGF – vascular endothelial growth factor

DM – diabetes mellitus

CKD – chronic kidney disease

Introduction

Diabetic retinopathy is a feared microvascular complication as it remains the major cause of blindness or severe vision impairment in developed countries.¹ Its pathophysiology involves vascular changes along with inflammatory processes and altered neural functioning of the neurovascular retinal unit.² Initial functional impairment of complex retinal structures precedes the detectable morphological alterations and clinical manifestation.³

Simultaneous pancreas and kidney transplantation (SPK) is the treatment of choice for patients with type 1 DM with end-stage kidney disease^{4,5} and can lead to complete and long-term insulin independence and physiological or near-physiological blood glucose regulation⁶. The candidates of SPK however commonly have a long history of diabetes and have developed a whole spectrum of microvascular complications. As for retinopathy, majority of the SPK recipients presents with the most advanced grade of DR with proliferative changes.^{7,8}

Previous studies have shown DR progression in the short-term post-transplant period^{9–20}, commonly with stabilization in the longer follow up or cases of improvement in the recent reports^{12,16–20}. However, these studies differed in their general design and methods used for retinopathy assessment. None of the research conducted so far analyzed the impact of different modalities of systemic immunosuppressive therapy on DR.

In experimental studies with pancreas transplantation, the development of DR depended on the severity and duration of the pre-transplant retinal changes, suggesting a hypothetical “point of no return”. Once pronounced severe proliferative process occurred, even achieving normoglycemia did not alter the ongoing course of retinopathy.^{21,22}

Even though patients with type 1 DM requiring SPK represent a minority among the population with type 1 DM, the future course of their microvascular complications remains an important and still open question. While current rapid development in technology used for diabetes management is expected to minimize the future risk of microvascular complications in patients with type 1 DM, diabetic retinopathy still frequently manifests due to the lifelong disease course and exposure to abnormal glucose levels.

Successful pancreas transplantation almost immediately restores physiological endogenous blood glucose regulation²³. Concerns still rise about possibility of early worsening of DR after these rapid metabolic changes.^{24,25} Therefore, thorough prospective ophthalmological follow-up, especially in the first year post-transplant is necessary to further reveal the possible risk factors and dynamics of retinal changes in this risky period. We believe that some of these findings could be valuable even beyond the field of transplant therapy. They could serve as an analogous model to patients presenting with very poor DM compensation and microvascular complications, being considered for automated insulin delivery system therapy, where often the doubts about the impact of rapid normoglycemia might hinder the clinicians' decision.

Additionally, while the possible effect of antiproliferative and antiangiogenic mTOR inhibitor effects on DR had been previously tested in experimental models^{26,27}, there is no data on their systemic use in patients with DR. mTOR inhibitors have their role in the portfolio of immunosuppressive drugs either as a second immunosuppressive agent in tacrolimus-based regimens or more rarely as a first-line treatment in calcineurin inhibitor free protocols^{28,29}. Their long-term use provides also an opportunity to observe other aspects of systemic mTOR inhibition.

We present results of a prospective randomized clinical trial aiming to assess the impact of mTOR therapy on progression of diabetic retinopathy in patients with type 1 diabetes treated with simultaneous pancreas and kidney transplantation.

Methods

Study was designed as prospective open-label randomized trial. It was approved by the local Ethics committee (Thomayer Hospital Ethics Committee, Prague, Czech Republic, approval number no.G-14-08-06) and registered at European Union Drug Regulating Authorities Clinical Trials (EudraCT) Database (registration number 2013-004934-14).

Patient selection

We included patients with type 1 diabetes, between 18 and 65 years, with end-stage kidney disease (either on dialysis therapy or in pre-dialysis stage of chronic kidney disease), on waiting list for simultaneous pancreas and kidney transplantation that agreed to participate and met the inclusion criteria. Main inclusion criteria were C-peptide levels <0.02 nmol/l, panel reactive antibodies $< 50\%$ and preserved sight in at least one eye (visual acuity not less than 5/60 on Snellen optotypes). All patients met the general eligibility criteria for SPK. For more detailed inclusion and exclusion criteria see Supplementary material.

Primary and secondary endpoints

To assess DR progression, we designed a composite primary endpoint comprising: a) new indication for laser therapy (or pars plana vitrectomy); b) newly diagnosed proliferative

retinopathy; c) newly diagnosed clinically significant macular edema (CSME), d) worsening of visual acuity (2 or more rows in Snellen optotypes), e) occurrence of blindness.

The primary endpoint was purposely set as a complex indicator of rather worsening than improvement which was hardly to be expected in a statistically evaluable rate in this patient population with long ongoing DR mostly in proliferative stage.

Further ophthalmological parameters and events were followed as secondary endpoints: changes in visual acuity, new vessel formation, new occurrence or change in cataract grading scale of more than 1 step, changes in retinal thickness compared to baseline examination assessed by optical coherence tomography (OCT), new occurrence of intravitreal bleeding and retinopathy level.

In addition, general secondary endpoints included patient and graft survival rates, graft function and graft rejection rate, treatment intolerance, wound healing and others (see Supplementary Material Table 1).

Study design and immunosuppressive protocol

Patients were randomized to receive therapy with either natrium mycophenolate (MPA, total daily dose of 1440 mg) or everolimus (target trough concentrations 4-8 ng/ml) added to standard tacrolimus-based protocol. All patients received induction therapy with anti-T-lymphocyte globulin (Grafalon, Neovii, Germany, total cumulative dose of 9 mg/kg), short-term corticosteroid treatment (4-6 weeks) and tacrolimus (target trough levels of 8-15 ng/ml in the first 6 months posttransplant and 5-10 ng/ml thereafter). Antimicrobial prophylaxis consisted of piperacillin-tazobactam (3 days), fluconazole (7 days), valganciclovir (6 months) and cotrimoxazole (9 months). Anticoagulation with low-molecular-weight heparin at a

prophylactic dose was administered in the first two weeks post-transplant (with minor individual adjustments according to the postoperative course), followed by anti-platelet therapy with acetylsalicylic acid (100 mg/day).

Ophthalmological examination and retinopathy assessment

Complex ophthalmological examination was performed by an experienced ophthalmologist in collaborating Thomayer Hospital Ophthalmology Clinic, before transplantation (and repeated after 8 months if the patients were not transplanted by that time), then 6, 12- and 24-months post-transplant. This included complete medical history, physical examination, visual acuity evaluation, slit-lamp exam to assess the anterior eye segment, intraocular pressure measurement, cataract grade assessment, and fundus examination by indirect ophthalmoscopy with retinophotography. In addition, optical coherence tomography was performed to quantify the changes of retinal segments thickness in time. Visus (Best Corrected Visual Acuity) was assessed using standardized Snellen optotypes (with decimal grading). Refraction was measured by an autorefractometer (Accuref-K-9003D, Rexxam, Japan) and corrected accordingly. Worsening (or improvement) in discerning 2 or more Snellen optotype rows was considered significant. Intraocular pressure was measured with a noncontact tonometer (Tomey FT-1000, Germany). Slit lamp examination was performed according to current clinical standards. Cataract was graded according to AREDS criteria (grade 1-3, using also half-point grades)³⁰, deterioration in 1 or more grades would be seen as significant. Posterior eye segment imaging by indirect ophthalmoscopy was performed in induced mydriasis. Stereoscopic fundus photographs with an angle of 45 degrees were taken by fundus camera (FF 450 Plus Fundus Camera with Visupac 500, Zeiss, Germany). Retinopathy degree was determined according to EURODIAB criteria³¹ (resulting in no DR, mild, moderate, advanced non-proliferative DR and proliferative DR). Detailed imaging of retinal layers,

central retinal thickness (CRT) and occurrence of macular edema were recorded and evaluated using OCT (RTVue-100 Fourier-Domain OCT, Optovue, USA).³² Clinically significant macular edema (CSME) was diagnosed based on clinical findings and retinal thickness measurement by OCT.

The ophthalmologists specifically focused on evaluating the retinopathy progression taking previous history into consideration and assessing new progression post-transplant: more advanced retinopathy grade, new proliferation that would require new laser therapy or surgical treatment, new bleeding and clinically significant macular edema. Based on these results they decided about reaching the ophthalmological endpoints.

Throughout the study course all patients were also attending their regular and previously scheduled ophthalmologic follow up and received standard ophthalmological care as needed. Any changes in clinical status or therapy were recorded and assessed by the assigned study ophthalmology specialist between or during the scheduled study visits.

Statistical considerations and methods

Using a significance level of 0.05 and a test power of 80%, the sample size estimation assumed that the primary endpoint is likely to occur in 50% of cases and that a 50% decrease (it is to 25% of case) would be considered significant. Thus, the minimal sample size required per group was determined as 29. As a 10-15% „drop-out“ was expected 70 envelopes with group assignment had been prepared by the study statistician. The two-sample t-test, resp. Mann-Whitney test was applied for numerical data comparison between the groups.

Qualitative or categorical data were analyzed using Fisher's exact test. Kaplan-Meier method was used for the estimation of survival distribution curves (at 1 and 2 years). All tests were two-sided ones with a $p < 0.05$ considered statistically significant. The ophthalmological endpoints were analyzed per patient and additionally per eye, to get a more precise picture of

severity of any changes. Statistical assessment was performed using R and GraphPad Prism version 10.2.0 for graphs.

Randomization procedure

Randomization was ensured using random number generation from discrete uniform distribution. Seventy sealed numbered envelopes containing the allocation number were prepared in advance by the study statistician. After reaching the multidisciplinary consent decision that the simultaneous pancreas and kidney transplant would be performed in the enrolled candidate, sealed envelope with the lowest available number would be opened by the clinician and recorded on the first page of the standardized transplant protocol. Patient's initials, time and date were recorded on the patient's allocation label, collected and documented by the study coordinator.

Clinical and Laboratory Evaluation

All study participants attended regular scheduled clinical visits at the transplant center (for detailed schedule see the study timeline in the Supplementary material). These focused on evaluating the patients' clinical state and graft function, as well as early or late post-transplant course and complications (wound healing, infections, treatment intolerance and adverse effects). In the early post-transplant period (up to 2 months) the visits included wound healing assessment by a transplant surgeon.

Pancreas function was assessed by fasting plasma glucose level, HbA1c and C-peptide levels (baseline and stimulated assessed in mixed-meal test 1-, 12- and 24-months post-transplant). The criterion for pancreas graft function was achievement of normal blood glucose levels without dependence on insulin therapy (except of episodes < 2 weeks). Kidney function was

assessed by serum creatinine levels and creatinine clearance rate estimated by the CKD-EPI formula. The kidney graft would be considered functioning if no regular dialysis therapy (or retransplantation) was needed (except for early post-transplant period in case of delayed onset of the kidney graft function and transient periods of dialysis not exceeding 4 weeks). In addition, laboratory tests (standard biochemical evaluation, blood cell counts, trough levels of tacrolimus and everolimus and urine tests including microbiology) were performed regularly. For more details on the study protocol see Supplementary material.

Results

Altogether, 176 patients were screened and offered participation. Sixty-two patients did not agree to participate, mainly due to logistic reasons, as they were on regular dialysis therapy and therefore saw undergoing additional medical procedures as unnecessary burden. Fifty candidates did not meet the inclusion criteria, mostly due to their higher immunization status, previous transplantation, or substantial vision impairment pre-transplant (see exclusion criteria in Supplementary Material). We included 64 consecutive who fulfilled the inclusion criteria and underwent simultaneous pancreas and kidney transplantation at our center, 32 were randomly allocated to each arm. Consort diagram with study participant allocation and flow is shown in Supplementary Fig.1. We excluded patients who lost their pancreas graft by 6 weeks post-transplant ($n=2$, one in each study arm), as well as patients with substantial long-term modification of initial immunosuppressive therapy ($n=2$ in MPA-treated group, $n=6$ in everolimus-treated group). For baseline characteristics including the ophthalmological status see Table 1. All patients had developed diabetic retinopathy, the proportions of different stages being comparable between the two study arms, and almost 80% in both

groups had already proliferative DR and had been previously treated with laser therapy, some also underwent pars plana vitrectomy.

In total 10 patients (43.5 %) met the primary endpoint in the everolimus-treated group and 17 (63 %) in the MPA-treated group ($p=0.54$). Complete description and comparison of individual components of the composite primary endpoint are shown in Figure 1 and Table 2, more detailed description in Supplementary Figure 3. Progression was observed both in the first year and second year post-transplant.

As for the individual components of primary endpoint, worsening of best-corrected visual acuity was significantly more expressed in the MPA group when analyzed per eye ($p=0.01$). There was a trend for more frequent need for new laser therapy in total the MPA group ($p=0.08$). In the first year, new proliferative changes in previously diagnosed high-risk non-proliferative DR were detected in 2 patients (4 eyes) in the everolimus group vs. 0 in the MPA group ($p=0.05$), this trend did not continue in the second year, no difference was found in the overall assessment. (See Fig. 1, Table 2, Suppl. Fig. 3)

In the secondary outcomes there was no significant difference in bleeding and cataract progression between the groups (see Table 2). We also focused on the causes of visual acuity worsening in each individual case, considering also other possible reasons such as cataract progression or glaucoma (diagnosed in individual cases in both groups). Clearly manifested retinopathy-related visual acuity worsening was more prominent in the MPA-treated group (26.7 % vs 7.8 % eyes, $p=0.02$). The proportion of eyes with stable visual acuity was thus significantly higher in the everolimus treated group compared to the MPA-treated group (stable visual acuity in one eye 88.6% vs. 62.1% $p=0.03$, stable visual acuity preserved on

both eyes in 80.8% vs. 55.2% $p=0.05$), this trend was also reflected in overall BCVA values in the study course (0.72 ± 0.3 in everolimus-treated group vs. 0.58 ± 0.33 in the MPA-treated group, $p=0.05$, see Table 2).

Patient and graft survival in the first two years was comparable. Death-censored pancreas graft survival at 24 months was 96.6% in MPA-treated group, and 88.5% in everolimus group ($p=0.22$). Death-censored kidney graft survival at 24 months was 96.6% in the MPA vs 96% in the everolimus-treated group ($p=0.94$). Kidney graft function did not differ, patients in the everolimus-treated group had higher levels of HbA1c, with no difference in C-peptide levels (for detailed data and metabolic outcomes see Supplementary Tables 2-4 and Supplementary Fig.2).

OCT revealed different trends in CRT changes between the two groups (as depicted in Figure 2, detailed data in Supplementary Table 1). In the everolimus-treated group there was a tendency to CRT increase in the first 6 months, with subsequent regression to previous values, while in the MPA-treated group there was gradual increase, which became more apparent when comparing baseline values to those 2 years post-transplant.

We also analyzed possible early retinopathy worsening phenomenon in the whole patient population, disregarding the immunosuppressive therapy. When we assessed the possible effect of the rapid change of glycemic compensation and compared the group meeting the primary endpoint ($n=20$) with the group without DR progression ($n=35$) in the first 12 months, irrespective of the immunosuppressive therapy, the rate of change of Hb1Ac did not differ between the groups. The rate of HbA1c change (median Δ HbA1c, 95% CI) between values at transplantation and 3 months after was 31.5 (22.3-43.5) mmol/l in the group meeting

the endpoint vs 33 (23-43) mmol/l in those without progression ($p=0.61$, see graph in Fig.2). In a separate analysis performed for each study arm the rate of HbA1c change did not differ either. In MPA-treated group median Δ HbA1c was 37 (29.2-60) mmol/l in those with DR progression vs. 32.5 (28.1-46) mmol/l in those without progression, $p=0.56$, in everolimus-treated group median Δ HbA1c was 22 (-13-44) mmol/l in the group with progression vs. 33 (23-42) mmol/l in those with stable DR, $p=0.06$).

Altogether 17 study participants underwent laser photocoagulation in the last 12 month before the transplant (%) suggesting especially high-risk retinopathy in this group. The proportion of patients with laser therapy less than a year pre-transplant was significantly higher among the group of patients with post-transplant progression (meeting the endpoint) than in the non-progressing group (50% vs 17.1 %, $p= 0.015$). In total, 62.5% of patients treated with laser photocoagulation less than a year pre-transplant showed subsequent progression post-transplant, vs. only 25.6% of those not requiring additional laser have experienced deterioration.

Patients in both groups met the endpoint criteria in similar rates both in the first year and second year post-transplant. Deterioration was therefore not limited only to the early post-transplant period.

Discussion

The effect of SPK on advanced diabetic retinopathy remains controversial.^{33,34} While several previous studies reported rather limited beneficial impact of SPK or even deterioration following rapid normalization of glucose profiles,^{9-11,13,15} more recent papers which included longer follow-up suggested gradual stabilization or mild improvement^{12,16-20} despite the

severe baseline retinopathy status. However, the progression of diabetic retinopathy following SPK has not been the primary subject of any prospective study with clearly defined endpoints so far and the available evidence relies mostly on retrospective or observational analyses. Neither the suspicion of early posttransplant deterioration has been sufficiently prospectively studied as the criteria for the potential negative effect of newly established normoglycemia had not been set in advance.

In our study with prospective randomized design, we compared the course of diabetic retinopathy in SPK recipients who were randomly assigned to two different immunosuppressive regimens: mycophenolic acid or everolimus as a part of tacrolimus-base prophylactic maintenance immunosuppression. As any significant regression of advanced retinal lesions was hardly to be expected in this population, we evaluated the occurrence of a composite endpoint comprising one or more of specific indices of eye disease progression: new indication for laser therapy, new indication for pars plana vitrectomy; newly diagnosed proliferative retinopathy; newly diagnosed clinically significant macular edema, visual acuity worsening and occurrence of blindness. Compared to previously published studies we also added regular OCT examination in the follow-up, thus bringing new and detailed insight into retinal thickness dynamics after rapid post-transplant blood glucose normalization.

As expected, the primary endpoint was met by a large proportion of patients in both study arms. Although we did not see statistically significant difference between the two groups in this complex parameter, we obtained noteworthy findings in some of the individual outcomes. Namely, visual acuity worsening analyzed per eye was significantly more common in the MPA group. There was also a tendency towards more frequent need for additional laser therapy or pars plana vitrectomy in this group.

In a more detailed analysis of the causes of visual acuity deterioration, retinopathy-related visual acuity impairment was significantly more common in the MPA-treated group, while in the everolimus-treated group we observed individual cases of cataract progression or glaucoma causing the reported visus worsening. Visual acuity remained stable in at least one eye in 88.6% in the everolimus-treated group vs. in 62.1% in MPA-treated group ($p=0.03$). The lower rate of visual acuity deterioration overall due to directly retinopathy related reasons may suggest potential favorable effect of systemic mTOR inhibition.

On the other hand, in the everolimus-treated group we noted two new cases of proliferative changes in both eyes in the first year (reaching borderline statistical significance).

Nevertheless, those two patients already presented with progressive severe non-proliferative DR pre-transplant and according to ophthalmologist these changes were regarded as natural progression not related either to transplantation or to the immunosuppressive therapy.

Admittedly, the study was not powered to assess these individual outcomes, but we consider these findings important. The study provides detailed depiction of a rather complex retinopathy progression post-transplant in these two treatment modalities.

As for early worsening of DR after substantial changes in blood glucose metabolism, this study was not primarily designed to assess this phenomenon and does not have a control group with more gradual blood glucose normalization. Therefore, we would not like to draw strong conclusions on early worsening. We previously published a sub analysis of 43 patients included in this trial, focusing specifically on the course of DR first year post-transplant and assessing rapid DR progression and possible risk factors³⁵. This analysis suggested that the occurrence of deterioration did not correlate with the magnitude of glyceimic changes.

In the current study, we observed retinopathy progression (meeting the primary endpoint) in the first as well in the second year of follow-up in a comparable rate. We did not document any case of vision loss. Even though a large proportion of participants experienced DR progression, based on the expert ophthalmologist assessment in each individual case, this was rather a natural course of very advanced retinopathy present already pre-transplant, than an unexpected rapid deterioration. Furthermore, when comparing the dynamics of HbA1c change within the first 3 months post-transplant, we found no significant difference between the patients meeting the endpoint and those with stable findings, confirming our previous results.³⁵ There was a higher proportion of patients who had been treated by laser coagulation in the last 12 months preceding the transplantation in the group meeting the study endpoint. These findings are in accordance with a previously published retrospective study by Kim et al²⁰ and could suggest that the proliferative processes might have been more active at the time of transplantation, despite showing morphological signs of stabilization at the pre-transplant ophthalmological examination.

OCT examination showed a transient central retinal thickness increase in the 6th month, regressing back in the 12th month. This was more apparent in the everolimus-treated group. The actual reasons for this remain unclear, but similar findings were reported in some studies when insulin treatment was intensified or after bariatric surgery. Clinically significant edema was diagnosed only in few individual cases in both groups. The MPA-treated group however showed a slow progressive increase and some more severe edema findings in 2 cases. The CRT in everolimus-treated group remained stable from 12th month on. It can only be hypothesized whether this trends were influenced by mTOR inhibitor therapy.

We admit that our study population was rather small. On the other hand, recruitment of a larger group of pancreas and kidney recipients is limited even in most active center such as ours. A larger study by Kim et al²⁰ included 153 participants but it had a retrospective observational design. This is, in contrast to our study, a major obstacle of most clinical trials in the pancreas transplantation field. It is also of importance that the course of advanced retinopathy is heterogenous and the risk of progression is high even in non-transplant population.³⁶

We would also like to acknowledge that the study lacks a control group not treated by pancreas transplantation – this would mean patients undergoing kidney transplantation alone. However, currently SPK is offered to all patients with type 1 DM and end-stage kidney disease, and only a small number of them undergo kidney transplantation alone (either patients with a suitable living donor, or those considered too frail or high-risk for such a major surgical procedure).³⁷ Therefore, we did not expect to fill a sufficiently large control group from these individual cases in the expected study course.

Finally, we need to emphasize that patients involved in this study had very advanced stages of diabetic retinopathy, often with severe visual impairment and history of previous treatments with laser coagulation and surgical therapy leading to formation of retinal scarring and irreversible changes. This advanced initial state undoubtedly affects the dynamics of retinal changes and complicates any assessment of retinopathy progression post-transplant. This was also why our primary endpoint was a complex indicator of rather worsening and not improvement which was hardly to expect in a statistically evaluable rate.

Conclusion

In this prospective randomized study, we assessed the course of diabetic retinopathy in rather unique post-transplant setting. We prospectively followed patients with type 1 diabetes with pronounced microvascular complications who achieved normoglycemia and improvement in kidney function (or independence from dialysis) within a few postoperative days. We did not find significant differences in DR progression assessed by the composite endpoint criteria between the two study arms treated with MPA or everolimus. Nevertheless, some of the individual outcomes might suggest beneficial effect of mTOR inhibition, which however needs to be verified in larger and more longitudinal trials. Furthermore, the study provides a detailed insight into the course of retinopathy in this high-risk patient population. Even though we did not find relationship between the magnitude of glycemic compensation with DR progression, our findings of progression of retinal changes even two years post-transplant further emphasize the need for regular thorough ophthalmological follow-up post-transplant.

Citations

1. American Diabetes Association Professional Practice Committee, ElSayed NA, Aleppo G, et al. 12. Retinopathy, Neuropathy, and Foot Care: *Standards of Care in Diabetes—2024*. *Diabetes Care*. 2024;47(Supplement_1):S231-S243. doi:10.2337/dc24-S012
2. Antonetti DA, Klein R, Gardner TW. Diabetic retinopathy. *N Engl J Med*. 2012;366(13):1227-1239. doi:10.1056/NEJMr1005073
3. Simó R, Hernández C, European Consortium for the Early Treatment of Diabetic Retinopathy (EUROCONDOR). Neurodegeneration in the diabetic eye: new insights and therapeutic perspectives. *Trends Endocrinol Metab TEM*. 2014;25(1):23-33. doi:10.1016/j.tem.2013.09.005
4. Fridell JA, Stratta RJ. Modern indications for referral for kidney and pancreas transplantation. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2023;32(1):4-12. doi:10.1097/MNH.0000000000000846
5. Choudhary P, Rickels MR, Senior PA, et al. Evidence-informed clinical practice recommendations for treatment of type 1 diabetes complicated by problematic hypoglycemia. *Diabetes Care*. 2015;38(6):1016-1029. doi:10.2337/dc15-0090
6. Robertson RP, Davis C, Larsen J, Stratta R, Sutherland DE. Pancreas and islet transplantation for patients with diabetes. *Diabetes Care*. 2000;23(1):112-116. doi:10.2337/diacare.23.1.112
7. Boggi U, Rosati CM, Marchetti P. Follow-up of secondary diabetic complications after pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2013;18(1):102-110. doi:10.1097/MOT.0b013e32835c28c5
8. Jenssen T, Hartmann A, Birkeland KI. Long-term diabetes complications after pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant*. 2017;22(4):382-388. doi:10.1097/MOT.0000000000000436
9. Ramsay RC, Goetz FC, Sutherland DE, et al. Progression of diabetic retinopathy after pancreas transplantation for insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med*. 1988;318(4):208-214. doi:10.1056/NEJM198801283180403
10. Zech JC, Trepsat D, Gain-Gueugnon M, Lefrançois N, Martin X, Dubernard JM. Ophthalmological follow-up of type 1 (insulin-dependent) diabetic patients after kidney and pancreas transplantation. *Diabetologia*. 1991;34 Suppl 1:S89-91. doi:10.1007/BF00587628
11. Bandello F, Vigano C, Secchi A, et al. Effect of pancreas transplantation on diabetic retinopathy: a 20-case report. *Diabetologia*. 1991;34 Suppl 1:S92-94. doi:10.1007/BF00587629
12. Königsrainer A, Miller K, Steurer W, et al. Does pancreas transplantation influence the course of diabetic retinopathy? *Diabetologia*. 1991;34 Suppl 1:S86-88. doi:10.1007/BF00587627
13. Scheider A, Meyer-Schwickerath E, Nusser J, Land W, Landgraf R. Diabetic retinopathy and pancreas transplantation: a 3-year follow-up. *Diabetologia*. 1991;34 Suppl 1:S95-99. doi:10.1007/BF00587630
14. Ulbig M, Kampik A, Thureau S, Landgraf R, Land W. Long-term follow-up of diabetic retinopathy for up to 71 months after combined renal and pancreatic transplantation. *Graefes Arch Clin Exp Ophthalmol Albrecht Von Graefes Arch Klin Exp Ophthalmol*. 1991;229(3):242-245. doi:10.1007/BF00167876
15. Wang Q, Klein R, Moss SE, et al. The influence of combined kidney-pancreas transplantation on the progression of diabetic retinopathy. A case series. *Ophthalmology*. 1994;101(6):1071-1076. doi:10.1016/s0161-6420(94)31216-4
16. Chow VC, Pai RP, Chapman JR, et al. Diabetic retinopathy after combined kidney-pancreas transplantation. *Clin Transplant*. 1999;13(4):356-362. doi:10.1034/j.1399-0012.1999.130413.x
17. Pearce IA, Ilango B, Sells RA, Wong D. Stabilisation of diabetic retinopathy following simultaneous pancreas and kidney transplant. *Br J Ophthalmol*. 2000;84(7):736-740. doi:10.1136/bjo.84.7.736
18. Koznarová R, Saudek F, Sosna T, et al. Beneficial effect of pancreas and kidney transplantation on advanced diabetic retinopathy. *Cell Transplant*. 2000;9(6):903-908. doi:10.1177/096368970000900617
19. Giannarelli R, Coppelli A, Sartini M, et al. Effects of pancreas-kidney transplantation on diabetic retinopathy. *Transpl Int Off J Eur Soc Organ Transplant*. 2005;18(5):619-622. doi:10.1111/j.1432-2277.2005.00108.

20. Kim YJ, Shin S, Han DJ, et al. Long-term Effects of Pancreas Transplantation on Diabetic Retinopathy and Incidence and Predictive Risk Factors for Early Worsening. *Transplantation*. 2018;102(1):e30-e38. doi:10.1097/TP.0000000000001958
21. Spadella CT, Machado JLM, Lerco MM, Ortolan EVP, Schellini SA, Gregório EA. Temporal relationship between successful pancreas transplantation and control of ocular complications in alloxan-induced diabetic rats. *Transplant Proc*. 2008;40(2):518-523. doi:10.1016/j.transproceed.2008.01.049
22. Miao G, Ito T, Uchikoshi F, et al. Stage-dependent effect of pancreatic transplantation on diabetic ocular complications in the Spontaneously Diabetic Torii rat. *Transplantation*. 2004;77(5):658-663. doi:10.1097/01.tp.0000113790.88730.41
23. Robertson RP, Sutherland DE, Lanz KJ. Normoglycemia and preserved insulin secretory reserve in diabetic patients 10-18 years after pancreas transplantation. *Diabetes*. 1999;48(9):1737-1740. doi:10.2337/diabetes.48.9.1737
24. DCCT Research Group. Early worsening of diabetic retinopathy in the Diabetes Control and Complications Trial. *Arch Ophthalmol Chic Ill 1960*. 1998;116(7):874-886. doi:10.1001/archoph.116.7.874
25. Bain SC, Klufas MA, Ho A, Matthews DR. Worsening of diabetic retinopathy with rapid improvement in systemic glucose control: A review. *Diabetes Obes Metab*. 2019;21(3):454-466. doi:10.1111/dom.13538
26. Nakahara T, Morita A, Yagasaki R, Mori A, Sakamoto K. Mammalian Target of Rapamycin (mTOR) as a Potential Therapeutic Target in Pathological Ocular Angiogenesis. *Biol Pharm Bull*. 2017;40(12):2045-2049. doi:10.1248/bpb.b17-00475
27. Liegl R, Koenig S, Siedlecki J, Haritoglou C, Kampik A, Kernt M. Temsirolimus inhibits proliferation and migration in retinal pigment epithelial and endothelial cells via mTOR inhibition and decreases VEGF and PDGF expression. *PLoS One*. 2014;9(2):e88203. doi:10.1371/journal.pone.0088203
28. Berney T, Andres A, Toso C, Majno P, Squifflet JP. mTOR Inhibition and Clinical Transplantation: Pancreas and Islet. *Transplantation*. 2018;102(2S Suppl 1):S30-S31. doi:10.1097/TP.0000000000001700
29. Girman P, Lipár K, Kočík M, et al. Sirolimus vs mycophenolate mofetil (MMF) in primary combined pancreas and kidney transplantation. Results of a long-term prospective randomized study. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2020;20(3):779-787. doi:10.1111/ajt.15622
30. Age-Related Eye Disease Study Research Group. The age-related eye disease study (AREDS) system for classifying cataracts from photographs: AREDS report no. 4. *Am J Ophthalmol*. 2001;131(2):167-175. doi:10.1016/s0002-9394(00)00732-7
31. Aldington SJ, Kohner EM, Meuer S, Klein R, Sjølie AK. Methodology for retinal photography and assessment of diabetic retinopathy: the EURODIAB IDDM complications study. *Diabetologia*. 1995;38(4):437-444. doi:10.1007/BF00410281
32. Virgili G, Menchini F, Dimastrogiovanni AF, et al. Optical coherence tomography versus stereoscopic fundus photography or biomicroscopy for diagnosing diabetic macular edema: a systematic review. *Invest Ophthalmol Vis Sci*. 2007;48(11):4963-4973. doi:10.1167/iovs.06-1472
33. Boggi U, Vistoli F, Andres A, et al. First World Consensus Conference on pancreas transplantation: Part II - recommendations. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2021;21 Suppl 3:17-59. doi:10.1111/ajt.16750
34. Boggi U, Vistoli F, Marchetti P, Kandaswamy R, Berney T, World Consensus Group on Pancreas Transplantation. First world consensus conference on pancreas transplantation: Part I-Methods and results of literature search. *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2021;21 Suppl 3(Suppl 3):1-16. doi:10.1111/ajt.16738
35. Voglová B, Hladíková Z, Nemětová L, et al. Early worsening of diabetic retinopathy after simultaneous pancreas and kidney transplantation-Myth or reality? *Am J Transplant Off J Am Soc Transplant Am Soc Transpl Surg*. 2020;20(10):2832-2841. doi:10.1111/ajt.15924
36. Moshfeghi A, Garmo V, Sheinson D, Ghanekar A, Abbass I. Five-Year Patterns of Diabetic Retinopathy Progression in US Clinical Practice. *Clin Ophthalmol Auckl NZ*. 2020;14:3651-3659. doi:10.2147/OPTH.S275968
37. Kukla A, Ventura-Aguiar P, Cooper M, et al. Transplant Options for Patients With Diabetes and Advanced Kidney Disease: A Review. *Am J Kidney Dis Off J Natl Kidney Found*. 2021;78(3):418-428. doi:10.1053/j.ajkd.2021.02.339

Table 1. Baseline Characteristics (MPA – natrium mycophenolate, Evero – everolimus, PRA – plasma reacting antibodies, BMI – body mass index, PDR - proliferative diabetic retinopathy, NPDR – nonproliferative diabetic retinopathy, BCVA best corrected visual acuity, VEGF – vascular endothelial growth factor, OCT – optical coherence tomography, CRT – central retinal thickness, categorical data are presented as N/%, numerical data as mean $\pm$ SD /median (IQR)

	MPA	Evero	P value
Number of participants	29	26	
Male/female	21/8	19/7	
Age at transplantation	41.6 $\pm$ 10.3 / 40 (32.5-48)	43.7 $\pm$ 8.2 / 45.5 (39.3-48.3)	0.28
Duration of diabetes	25.5 $\pm$ 7 / 25 (19.5-30.5)	29.2 $\pm$ 8.2 / 28 (23.8-36.3)	0.08
Mean HbA1c (mmol/L)	73.1 $\pm$ 15.4 / 71 (64-76.5)	67.9 $\pm$ 18.7 / 62 (53.5-81.3)	0.16
BMI (kg/m²)	24.7 $\pm$ 3.4 / 24.1 (22.6-27.1)	25.4 $\pm$ 3.9 / 25.4 (22.7-29)	0.54
Dialysis treatment (N/%)	19 / 65.5 %	15 / 57.7 %	0.59
Hemodialysis (N/%)	15 / 51.7 %	14 / 53.9 %	0.99
Peritoneal dialysis (N/%)	4 / 13.8 %	1 / 3.9 %	0.36
Duration of dialysis (months)	14.3 $\pm$ 17.4 / 11 (0-21)	22.13 $\pm$ 22.9 14 (10-26)	0.15
PRA at the time of transplantation (%)	2.4 $\pm$ 6.3 / 0 (0-2)	1.1 $\pm$ 2.4 / (0-0.5)	0.65
Maximal PRA (%)	12.1 $\pm$ 14 / 6 (0.5-25)	3.6 $\pm$ 4.5 / 3 (0-4.5)	0.06
HLA antigens mismatch (N)	4.1 $\pm$ 1.1 / 4 (3-5)	4.4 $\pm$ 1.2 / 5 (3.8-5)	0.24
Blood Pressure Systolic	149 $\pm$ 16 / 148 (135-162)	154 $\pm$ 17 / 148 (142-167)	0.31
Blood Pressure Diastolic	87 $\pm$ 9 / 85 (80-93)	86 $\pm$ 10 / 87 (80-90)	0.77
Cholesterol total (mmol/L)	4.75 $\pm$ 1.28 / 4.6 (3.9-5.4)	4.87 $\pm$ 1.28 / 4.7 (3.98-5.35)	0.74
Cholesterol HDL (mmol/L)	1.25 $\pm$ 0.3 / 1.2 (0.99-1.48)	1.27 $\pm$ 0.38 / 1.23 (0.98-1.52)	0.96
Cholesterol LDL (mmol/L)	2.86 $\pm$ 1.08 / 2.8 (2.2-3.3)	2.78 $\pm$ 1.2 / 2.55 (2.08-3.05)	0.57
Triglycerides (mmol/L)	1.46 $\pm$ 0.63 / 1.3 (1.03-1.7)	1.81 $\pm$ 0.78 / 1.63 (1.17-2.32)	0.07
Ophthalmological characteristics			
Number of eyes evaluated	57	51	
BCVA (decimal grades)	0.63 $\pm$ 0.3 / 0.6 (0.5-0.9)	0.64 $\pm$ 0.32 / 0.75 (0.4-0.9)	0.85
Intraocular pressure (mmHg)	16 $\pm$ 3.4 / 16 (14-18)	17.1 $\pm$ 5.8 / 16 (13.3-18.8)	0.43
Retinopathy grade patients/eyes (N//%)			
Mild NPDR	3/6 // 10.3 % / 10.5 %	3/5 // 11.5 % / 9.8 %	0.99 / 0.99
Moderate NPDR	2/4 // 6.9 % / 7 %	0 / 0 %	0.49 / 0.12
Severe NPDR	1/2 // 3.5 % / 3.5 %	3/6 // 11.5 % / 11.8 %	0.33 / 0.15
Proliferative DR	23/45 // 79.3 % / 79 %	21/40 // 80.8 % / 78.4 %	0.99 / 0.99
Clinically significant macular edema patients/eyes (N//%)	2/2 // 6.9 % / 3.5 %	2/2 // 7.7 % / 3.9 %	0.99 / 0.99
Panretinal laser coagulation therapy patients/eyes (N//%)	26/51 // 89.7 % / 89.5 %	21/43 // 84 % / 84.3 %	0.69 / 0.57
Panretinal laser coagulation < 12m pre-transplant (N//%)	11 / 36.7 %	6 / 23.1 %	0.38
Pars Plana Vitrectomy patients/eyes (N//%)	11/17 // 37.9 % / 29.8 %	10/16 // 38.5 % / 31.4 %	0.99 / 0.99
Anti-VEGF therapy patients/eyes (N//%)	4/5 // 13.8 % / 8.8 %	3/3 // 11.5 % / 5.9 %	0.99 / 0.72
Cataract patients/eyes (N//%)	20/39 // 69 % / 68.4 %	18/36 // 69.2 % / 70.6 %	0.99 / 0.84
Lens operation patients/eyes (N//%)	7/11 // 24.1 % / 19.3 %	11/14 // 42.3 % / 27.5 %	0.25 / 0.37
CRT measured by OCT (μm)	234 $\pm$ 70 / 232 (211-254)	244 $\pm$ 44 / 234 (218-283)	0.29

Table 2: Primary Endpoint and Secondary Ophthalmological endpoints analyzed per patient and per eye, MPA –mycophenolate sodium, Evero – everolimus, DR – diabetic retinopathy, PDR proliferative diabetic retinopathy, CSME – clinically significant macular edema, data are presented as N/%, categorical data are presented as N/%, numerical data as mean $\pm$ SD. Fisher test and Mann-Whitney test was used for statistical analysis.

	Analysed per patient		p	Analysed per eye		p
	MPA	Evero		MPA	Evero	
Patients (N) or eyes total at 24m	29 / 28	26 / 22		57 / 55	51 / 43	
Primary composite endpoint	17 / 63%	10 / 43.5%	0.4	26 / 47.3%	17 / 39.5%	0.54
Laser therapy	10 / 34.5%	4 / 15.4%	0.13	15 / 26.3%	6 / 11.8%	0.08
Newly diagnosed PDR	1 / 3.4%	3 / 11.5%	0.33	2 / 3.5%	5 / 9.8%	0.25
Newly diagnosed CSME	3 / 10.4 %	2 / 7.7 %	0.99	4 / 7%	3 / 5.9%	0.99
Visual acuity worsening	13 / 44.8%	5 / 20%	0.08	20 / 35.1%	7 / 13.7%	0.01
New blindness	0 / 0%	0 / 0%	N/A	0 / 0%	0 / 0%	N/A
Secondary endpoints						
Cataract progression	4 / 13.8%	3 / 11.5 %	0.99	5 / 8.8%	4 / 7.8%	0.99
New cataract	4 / 13.8%	2 / 7.7%	0.67	6 / 10.5	4 / 7.8%	0.75
New need for cataract surgery	1 / 3.5%	0 / 0%	0.99	2 / 3.5	0	0.5
Intravitreal bleeding	5 / 17.2%	2 / 7.7%	0.43	7 / 12.3%	2 / 3.9%	0.17
Visual acuity changes						
DR-related visual acuity worsening	8 / 27.6%	2 / 7.7%	0.08	14 / 24.6%	4 / 7.8%	0.02
Other causes						
Cataract	1 / 3.5%	1 / 3.9%	0.99	1 / 1.8%	2 / 3.9%	0.6
Glaucoma	0	2 / 7.7%	0.22	0	2 / 3.9%	0.22
Improved visual acuity in at least one eye	8 / 27.6%	10 / 38.5%	0.57	9 / 15.8%	13 / 25.5%	0.24
Stabilized visual acuity in at least one eye	18 / 62.1%	23 / 88.6%	0.03	28 / 49.1%	31 / 60.8	0.25
Stable or improved vision on both eyes	16 / 55.2%	21 / 80.8%	0.05	N/A	N/A	
Best Corrected Visual Acuity (decimal grades)						
6 months post-transplant	N/A	N/A		0.64 $\pm$ 0.33	0.62 $\pm$ 0.29	0.45
12 months post-transplant	N/A	N/A		0.63 $\pm$ 0.33	0.65 $\pm$ 0.31	0.96
24 months post-transplant	N/A	N/A		0.58 $\pm$ 0.33	0.72 $\pm$ 0.3	0.05
Central retinal thickness (um)						
6 months post-transplant	N/A	N/A		247 $\pm$ 50	272 $\pm$ 67	0.03
12 months post-transplant	N/A	N/A		255 $\pm$ 98	254 $\pm$ 56	0.15
24 months post-transplant	N/A	N/A		261 $\pm$ 93	251 $\pm$ 47	0.76

Figure 1: Primary composite endpoint and its individual component analyzed per patient and per eye (MPA – mycophenolate sodium, Evero – everolimus, PPV – Pars Plana Vitrectomy, CSME – Clinically Significant Macular Edema, Visus – Best Corrected Visual Acuity worsening in 2 or more rows in Snellen optotypes)

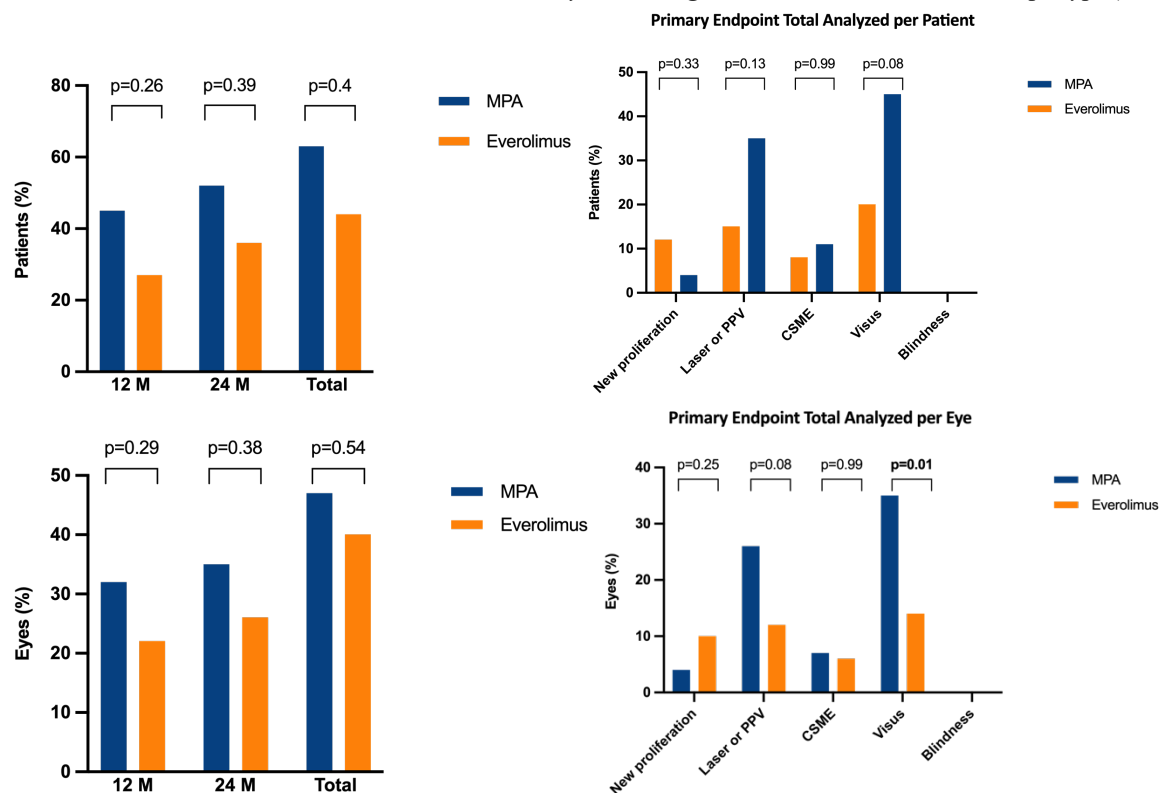
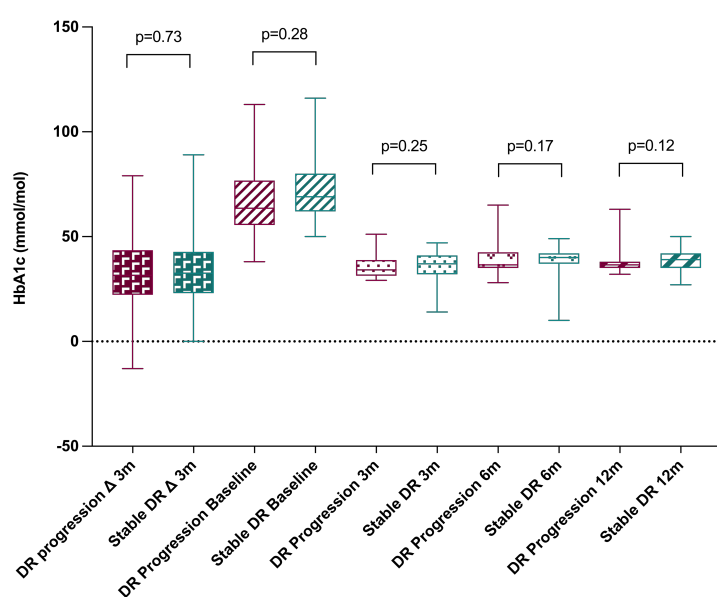
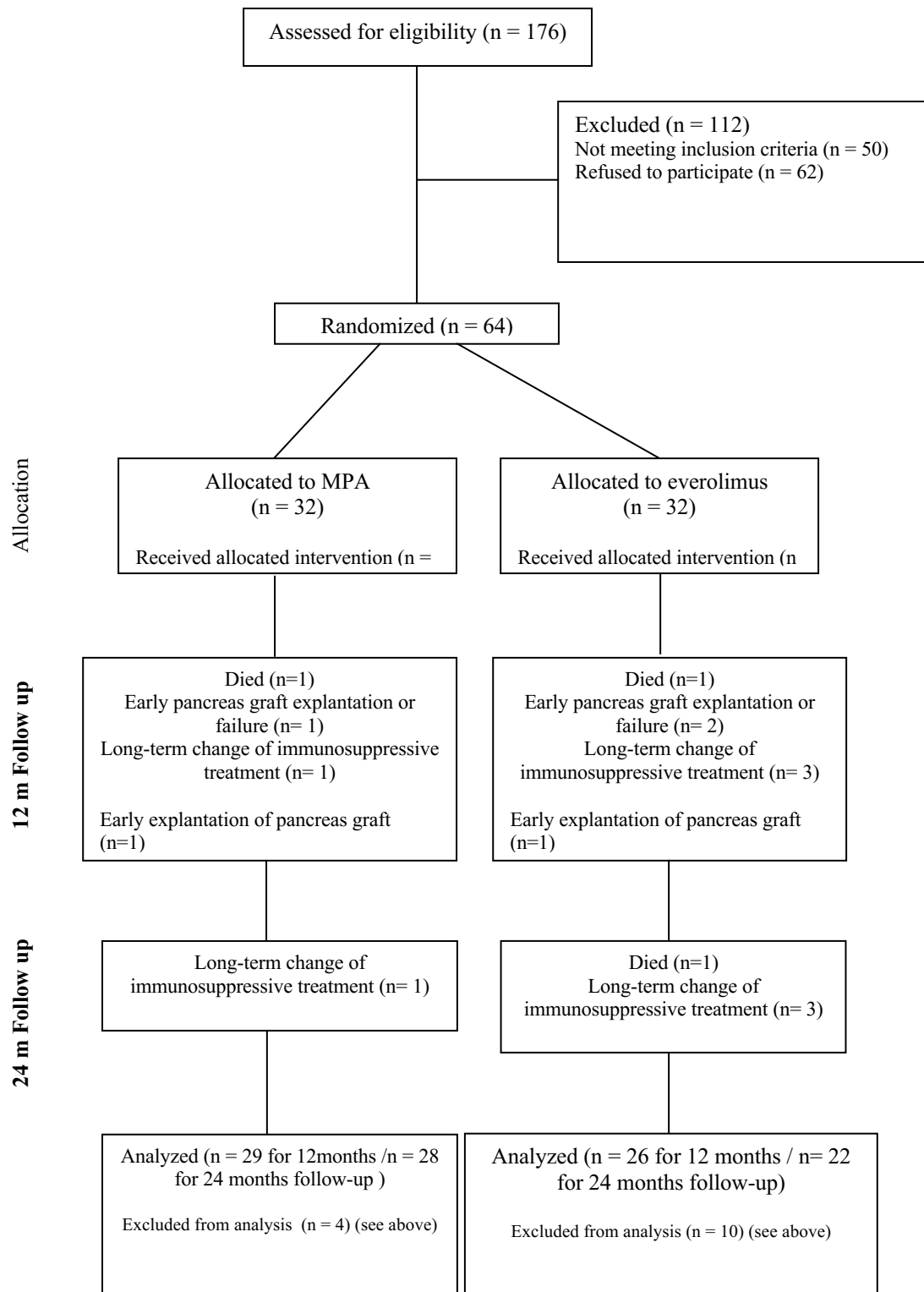


Figure 2: Differences in HbA1c in patients meeting the primary composite endpoint (DR progression, violet colour) and those with stable findings (Stable DR, blue colour): comparison of HbA1c $\Delta 3m$ (change between baseline and 3rd month post-transplant) and at baseline, 3, 6 and 12 months post-transplant



Supplementary Material

Supplementary Figure 1: CONSORT diagram showing the flow of participants through each stage of the trial.



Supplementary Table 1: Secondary ophtalmological parameters CRT – central retinal thickness measured by optical coherence tomography, BCVA – best corrected visual acuity (in decimal grades), MPA –mycophenolate sodium, Evero – everolimus. Data are presented as mean ± SD, analysed by Mann-Whitney test

	Baseline			6 m			12 m			24 m		
	MPA	Evero	p	MPA	Evero	p	MPA	Evero	p	MPA	Evero	p
CRT (µm)	234 ±70	244±44	0.29	247±50	272±67	0.03	255±98	254±56	0.15	261±93	251±47	0.76
BCVA (decimal grades)	0.63±0.3	0.64±0.32	0.85	0.64±0.33	0.62±0.29	0.45	0.63±0.33	0.65±0.31	0.96	0.58±0.33	0.72±0.3	0.05
Intraocular pressure (mmHg)	16±3.4	17.1±5.8	0.43	16±3.1	16.7±3.6	0.37	15.5±2.8	16.4±3.8	0.27	16.1±2.9	16.3±5.3	0.47

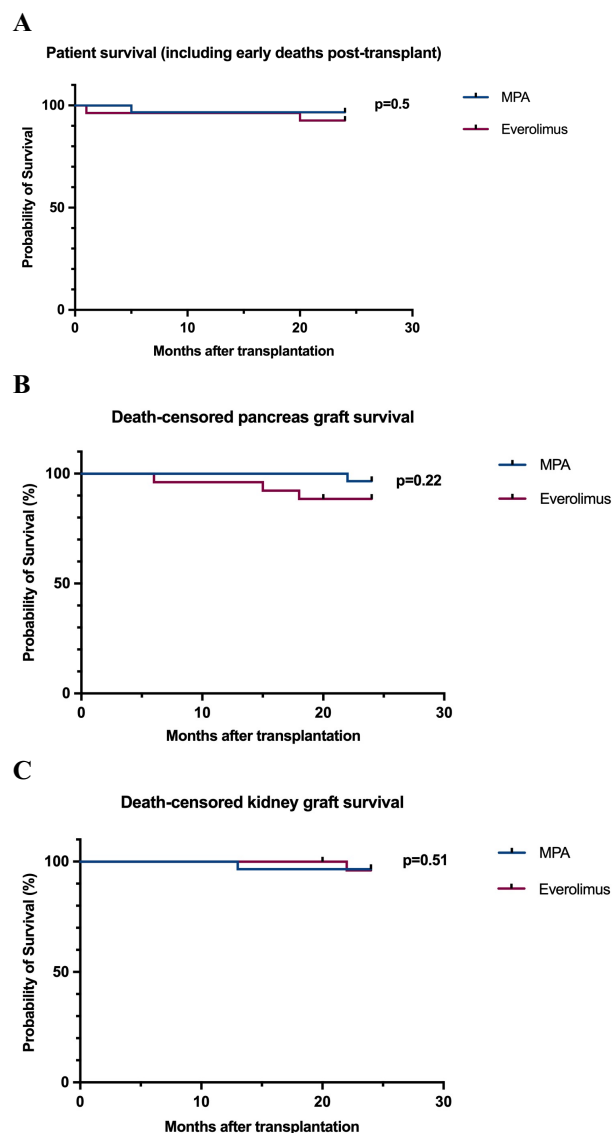
Supplementary Table 2: Pancreas and Kidney Graft Function (eGFR- estimated glomerular filtration rate using CKD-EPI formula, MPA –mycophenolate sodium, Evero – everolimus)
Data are presented as mean ± SD and median and interquartile range, analysed by Mann-Whitney test

	MPA	Evero	P value
HbA1c			
Baseline	73.1 ± 15.4 / 71 (64-76.5)	67.9 ± 18.7 / 62 (53.5-81.3)	0.16
3m	34.7 ± 5.2 / 34 (31.5-38)	37.9 ± 7.1 / 38 (34.8-41.5)	0.01
6m	37.5 ± 4.2 / 37 (37-40.5)	40.2 ± 9.2 / 40 (38-44)	0.02
12m	36.9 ± 3.9 / 35 (35-38.5)	40.6 ± 7 / 40 (36.8-42.3)	0.006
18m	36.9 ± 4.2 / 37 (35-38)	41.1 ± 5.1 / 41 (38-45)	0.001
24m	36.9 ± 3.7 / 36.5 (34-39.8)	40.1 ± 4.6 / 40 (36.8-43)	0.005
C-peptid (baseline)			
3m	1.12 ± 0.37 / 1.06 (0.82-1.43)	1.04 ± 0.39 / 1 (0.73-1.17)	0.44
6m	1.01 ± 0.37 / 0.94 (0.74-1.28)	1.07 ± 0.43 / 1.01 (0.72-1.3)	0.33
12m	1.02 ± 0.6 / 0.94 (0.68-1.05)	1.26 ± 0.75 / 0.92 (0.68-1.43)	0.64
18m	1.04 ± 0.49 / 0.92 (0.7-1.25)	1.08 ± 0.41 / 1.04 (0.83-1.25)	0.65
24m	1.11 ± 0.49 / 1.08 (0.82-1.24)	1.08 ± 0.58 / 1 (0.75-1.2)	0.55
eGFR – CKD-EPI			
1m	0.96 ± 0.32 / 0.94 (0.78-1.2)	0.96 ± 0.35 / 1.03 (0.77-1.2)	0.92
2m	0.94 ± 0.31 / 0.9 (0.71-1.18)	0.96 ± 0.31 / 0.89 (0.73-1.15)	0.8
3m	0.94 ± 0.34 / 0.87 (0.69-1.13)	0.98 ± 0.29 / 0.96 (0.79-1.15)	0.52
6m	0.93 ± 0.34 / 0.91 (0.61-1.17)	0.95 ± 0.27 / 0.96 (0.73-1.07)	0.7
12m	1.05 ± 0.41 / 0.99 (0.74-1.37)	0.93 ± 0.31 / 0.85 (0.72-1-19)	0.22
18m	1.02 ± 0.37 / 1.06 (0.78-1.2)	0.88 ± 0.25 / 0.81 (0.72-1.07)	0.14
24m	0.99 ± 0.39 / 1.01 (0.67-1.24)	0.89 ± 0.34 / 0.8 (0.69-1.2)	0.44

Supplementary Table 3: Blood pressure, BMI, Lipids and Immunosuppression Through Levels
(BP – blood pressure, BMI – body mass index, MPA –mycophenolate sodium, Evero – everolimus)
Data are presented as mean $\pm$ SD and median and interquartile range, analysed by Mann-Whitney test

	MPA	Evero	P value
BP systolic			
Baseline	149 $\pm$ 16 / 148 (135-162)	154 $\pm$ 17 / 148 (142-167)	0.31
6m	125 $\pm$ 18 / 125 (116-140)	137 $\pm$ 15 / 136 (126-146)	0.015
12m	129 $\pm$ 17 / 128 (121-137)	131 $\pm$ 18 / 130 (112-141)	0.69
18m	132 $\pm$ 16 / 130 (120-145)	140 $\pm$ 18 / 138 (129-152)	0.07
24m	128 $\pm$ 15 / 127 (116-142)	133 $\pm$ 17 / 129 (125-146)	0.31
BP diastolic			
Baseline	87 $\pm$ 9 / 85 (80-93)	86 $\pm$ 10 / 87 (80-90)	0.77
6m	74 $\pm$ 12 / 78 (67-82)	80 $\pm$ 7 (80 (76-85)	0.025
12m	78 $\pm$ 10 / 80 (74-85)	77 $\pm$ 10 / 75 (71-80)	0.22
18m	79 $\pm$ 9 / 80 (73-86)	82 $\pm$ 9 / 82 (76-88)	0.22
24m	78 $\pm$ 8 / 76 (71-83)	79 $\pm$ 8 / 80 (72-85)	0.52
BMI			
Baseline	24.7 $\pm$ 3.4 / 24.1 (22.6-27.1)	25.4 $\pm$ 3.9 / 25.4 (22.7-29)	0.54
6m	23.3 $\pm$ 2.7 / 23.5 (21.4-25)	24.2 $\pm$ 3.6 / 24.4 (21.3-25.9)	0.4
12m	23.7 $\pm$ 2.9 / 23.4 (21.7-26.5)	24.3 $\pm$ 3.7 / 24.2 (21.9-26.6)	0.6
18m	23.9 $\pm$ 2.9 / 23.5 (21.5-26.4)	24.6 $\pm$ 4.3 / 24.8 (21-27.7)	0.69
24m	24.2 $\pm$ 3.2 / 24 (21.4-27)	24.9 $\pm$ 4.4 / 25.3 (21-28.8)	0.69
Cholesterol total (mmol/L)			
Baseline	4.75 $\pm$ 1.28 / 4.6 (3.9-5.4)	4.87 $\pm$ 1.28 / 4.7 (3.98-5.35)	0.74
3m	4.08 $\pm$ 1.05 / 4.04 (3.4-4.83)	5.32 $\pm$ 1.22 / 5.6 (4.4-6.3)	0.0006
6m	4.22 $\pm$ 1.7 / 4 (3.43-4.53)	4.77 $\pm$ 1.52 / 4.55 (4.05-5.8)	0.0287
12m	4.0 $\pm$ 0.91 / 4.3 (3.4-4.7)	5.16 $\pm$ 1.24 / 5.05 (4.13-6.03)	0.004
18m	4.17 $\pm$ 0.87 / 4.2 (3.8-4.8)	4.69 $\pm$ 0.86 / 4.9 (4-5.2)	0.06
24m	4.2 $\pm$ 0.76 / 4.35 (3.73-4.7)	4.9 $\pm$ 0.78 / 4.85 (4.18-5.53)	0.0073
Cholesterol HDL (mmol/L)			
Baseline	1.25 $\pm$ 0.3 / 1.2 (0.99-1.48)	1.27 $\pm$ 0.38 / 1.23 (0.98-1.52)	0.96
3m	1.06 $\pm$ 0.25 / 1.05 (0.87-1.32)	1.18 $\pm$ 0.39 / 1.12 (0.9-1.43)	0.47
6m	1.18 $\pm$ 0.31 / 1.18 (0.98-1.36)	1.08 $\pm$ 0.36 / 1.02 (0.88-1.26)	0.2
12m	1.13 $\pm$ 0.31 / 1.12 (0.97-1.33)	1.1 $\pm$ 0.18 / 1.09 (0.97-1.22)	0.53
18m	1.23 $\pm$ 0.3 / 1.16 (1.01-1.52)	1.09 $\pm$ 0.34 / 1.02 (0.79-1.35)	0.19
24m	1.21 $\pm$ 0.25 / 1.18 (1.02-1.3)	1.13 $\pm$ 0.39 / 1.16 (0.79-1.3)	0.4
Cholesterol LDL (mmol/L)			
Baseline	2.86 $\pm$ 1.08 / 2.8 (2.2-3.3)	2.78 $\pm$ 1.2 / 2.55 (2.08-3.05)	0.57
3m	2.38 $\pm$ 0.88 / 2.25 (1.63-2.9)	2.96 $\pm$ 1.04 / 2.9 (2-4)	0.057
6m	2.51 $\pm$ 1.38 / 2.25 (1.75-2.78)	2.73 $\pm$ 0.9 / 2.6 (2.05-3.3)	0.17
12m	2.29 $\pm$ 0.65 / 2.4 (1.8-2.7)	2.9 $\pm$ 1.09 / 2.8 (2-4.2)	0.039
18m	2.43 $\pm$ 0.69 / 2.5 (2.2-2.9)	2.77 $\pm$ 1 / 2.75 (2.2-3.3)	0.35
24m	2.49 $\pm$ 0.59 / 2.55 (2.13-2.88)	2.86 $\pm$ 0.87 / 2.7 (2.3-3.55)	0.22
Triglycerides (mmol/L)			
Baseline	1.46 $\pm$ 0.63 / 1.3 (1.03-1.7)	1.81 $\pm$ 0.78 / 1.63 (1.17-2.32)	0.07
3m	1.37 $\pm$ 0.54 / 1.25 (0.93-1.78)	2.29 $\pm$ 1.05 / 1.97 (1.61-2.61)	0.0002
6m	1.17 $\pm$ 0.54 / 1.01 (0.83-1.47)	2.22 $\pm$ 1.12 / 1.95 (1.35-2.69)	<0.0001
12m	1.18 $\pm$ 0.57 / 1.06 (0.68-1.62)	2.34 $\pm$ 1.7 / 1.89 (1.39-2.86)	<0.0001
18m	1.15 $\pm$ 0.44 / 0.99 (0.95-1.3)	2.21 $\pm$ 1.14 / 2.16 (1.28-2.84)	<0.0001
24m	1.1 $\pm$ 0.44 / 1.08 (0.72-1.32)	2.05 $\pm$ 1.06 / 1.79 (1.32-2.68)	<0.0001
Immunosuppression through levels (ng/mL)			
Tacrolimus			
1m	12 $\pm$ 6 / 11 (8.9-13)	10 $\pm$ 4 / 9 (6.2-14)	0.27
2m	11 $\pm$ 2.9 / 11 (8.9-13)	12 $\pm$ 5.8 / 12 (8.7-14)	0.63
3m	12 $\pm$ 4.4 / 10 (9.4-14)	11 $\pm$ 3 / 11 (7.8-13)	0.45
6m	10 $\pm$ 3.1 / 9.6 (7.8-12)	9.5 $\pm$ 3.1 / 9.1 (7.2-12)	0.46
12m	8.8 $\pm$ 2.3 / 8.6 (7.3-10)	8.8 $\pm$ 2.4 / 8.6 (7.7-9.8)	0.88
18m	8.5 $\pm$ 2 / 8.5 (6.8-9.5)	8.1 $\pm$ 2.3 / 8 (7-8.8)	0.38
24m	8.1 $\pm$ 2.5 / 7.9 (6.2-9.6)	7.3 $\pm$ 1.6 / 7.6 (6-8.2)	0.27
Everolimus			
1m	N/A	6.1 $\pm$ 2.4 / 6.1 (4.8-7.5)	
2m	N/A	6.1 $\pm$ 2.7 / 5.9 (3.6-7.3)	
3m	N/A	5.8 $\pm$ 2.3 / 5.5 (4.1-6.7)	
6m	N/A	5.3 $\pm$ 1.9 / 5.1 (4.1-6.3)	
12m	N/A	5.7 $\pm$ 2.2 / 5 (4-6.6)	
18m	N/A	5.2 $\pm$ 1.9 / 5.1 (3.7-6.3)	
24m	N/A	5 $\pm$ 1.3 / 4.8 (4.4-5.6)	

Supplementary Figure 2: Kaplan-Meier Graphs of Patient and graft survival graphs at 24 months
(A) Overall patient survival, (B) Death-censored pancreas graft survival, (C) Death-censored kidney graph survival (MPA – mycophenolate sodium)



Supplementary Table 4: Patient and graft survival proportions at 12 and 24 month (MPA –mycophenolate sodium, Evero – everolimus). Survival was assessed using log-rank test and Kaplan-Meier graphs above

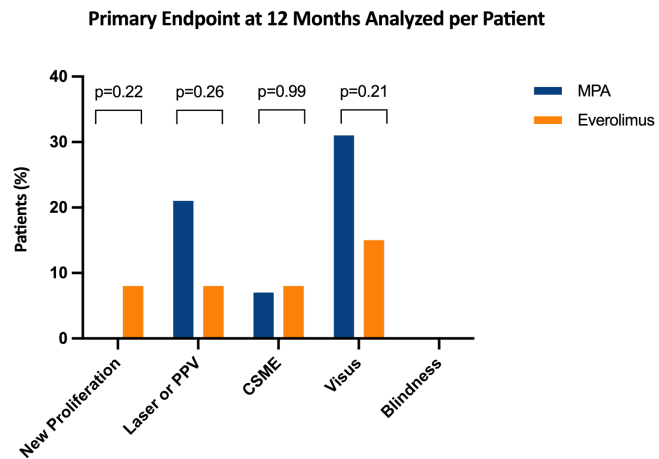
Survival proportions	MPA 12m	Evero 12m	MPA 24m	Evero 24m	p
Overall patient survival (%)	96.7%	96.3%	96.7%	92.6%	0.5
Death-censored pancreas graft survival (%)	100%	96.2%	96.6%	88.5%	0.22
Death-censored kidney graft survival (%)	100%	100%	96.6%	96%	0.94

Supplementary Table 5: Primary Endpoint and Secondary Ophthalmological endpoints analyzed per patient and per eye, MPA –mycophenolate sodium, Evero – everolimus, DR – diabetic retinopathy, PDR proliferative diabetic retinopathy, CSME – clinically significant macular edema, data are presented as N/%, Fisher test was used for statistical analysis.

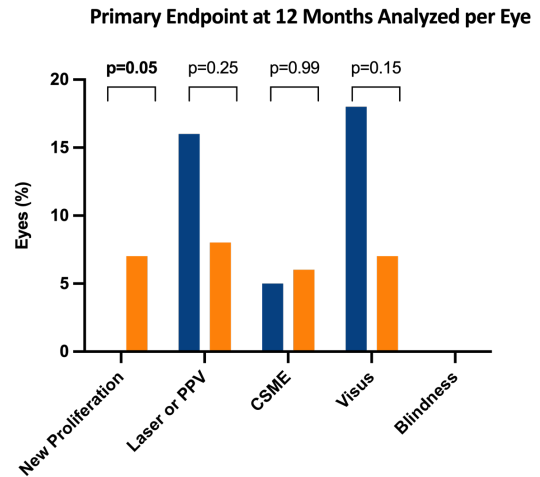
	Analysed per patient		p	Analysed per eye		p
	MPA	Evero		MPA	Evero	
Patients (N) or eyes at 12 m / 24m	29 / 28	26 / 22		57 / 55	51 / 43	
Primary endpoint						
12 m	13 / 44.8%	7 / 26.9%	0.26	18 / 31.6%	12 / 21.8%	0.29
12-24 m	15 / 51.7%	8 / 36.4%	0.39	19 / 34.5%	11 / 25.6%	0.38
Total 24 m	17 / 63%	10 / 43.5%	0.4	26 / 47.3%	17 / 39.5%	0.54
Laser therapy						
12 m	6 / 20.7%	2 / 7.7%	0.26	9 / 15.8 %	4 / 7.8%	0.25
12-24 m	5 / 17.9%	3 / 13.6%	0.99	8 / 14.6%	4 / 9.3%	0.54
Total 24 m	10 / 34.5%	4 / 15.4%	0.13	15 / 26.3%	6 / 11.8%	0.08
Newly diagnosed PDR						
12 m	0 / 0%	2 / 7.7%	0.22	0 / 0%	4 / 7.3%	0.05
12-24 m	1 / 3.6%	1 / 4.6%	0.99	2 / 3.6%	1 / 2.3%	0.99
Total 24 m	1 / 3.4%	3 / 11.5%	0.33	2 / 3.5%	5 / 9.8%	0.25
Newly diagnosed CSME						
12 m	2 / 6.9 %	2 / 7.7%	0.99	3 / 5.3%	3 / 5.9%	0.99
12-24 m	3 / 10.7%	0 / 0%	0.25	4 / 7.3%	0	0.13
Total 24 m	3 / 10.4 %	2 / 7.7 %	0.99	4 / 7%	3 / 5.9%	0.99
Visual acuity worsening						
12 m	9 / 31%	4 / 15.4%	0.21	10 / 17.5%	4 / 7.3%	0.15
12-24 m	9 / 32.1%	4 / 18.2%	0.34	13 / 23.6 %	6 / 14%	0.31
Total 24 m	13 / 44.8%	5 / 20%	0.08	20 / 35.1%	7 / 13.7%	0.01
New blindness	0 / 0%	0 / 0%	N/A	0 / 0%	0 / 0%	N/A
Secondary endpoints						
Cataract progression						
12 m	3 / 10.3%	1 / 3.9%	0.61	4 / 7%	1 / 2%	0.37
12-24 m	1 / 3.6%	3 / 13.6%	0.31	1 / 1.8%	3 / 7%	0.32
Total 24 m	4 / 13.8%	3 / 11.5 %	0.99	5 / 8.8%	4 / 7.8%	0.99
New cataract						
12 m	3 / 10.3%	2 / 7.7%	0.99	5 / 8.8%	4 / 7.8%	0.99
12-24 m	1 / 3.6%	0 / 0%	0.99	1 / 1.8%	0	0.99
Total 24 m	4 / 13.8%	2 / 7.7%	0.67	6 / 10.5	4 / 7.8%	0.75
New need for cataract surgery						
12 m	1 / 3.5%	0 / 0%	0.99	2 / 3.5	0	0.5
12-24 m	0	0	N/A	0	0	N/A
Total 24 m	1 / 3.5%	0 / 0%	0.99	2 / 3.5	0	0.5
Intravitreal bleeding						
12 m	2 / 6.9%	0 / 0%	0.49	3 / 5.3%	0 / 0%	0.24
12-24 m	5 / 17.9%	2 / 9.1%	0.44	7 / 12.7%	2 / 4.7%	0.29
Total 24 m	5 / 17.2%	2 / 7.7%	0.43	7 / 12.3%	2 / 3.9%	0.17

Supplementary Figure 3: Individual components of primary endpoint 12 months posttransplant analyzed per patient (A) and per eye (B), and 12-24 months posttransplant analyzed per patient (C) and per eye (D)
(MPA –mycophenolate sodium, Evero – everolimus, PPV – Pars Plana Vitrectomy, CSME – Clinically Significant Macular Edema, Visus – Best Corrected Visual Acuity worsening in 2 or more rows in Snellen optotypes)

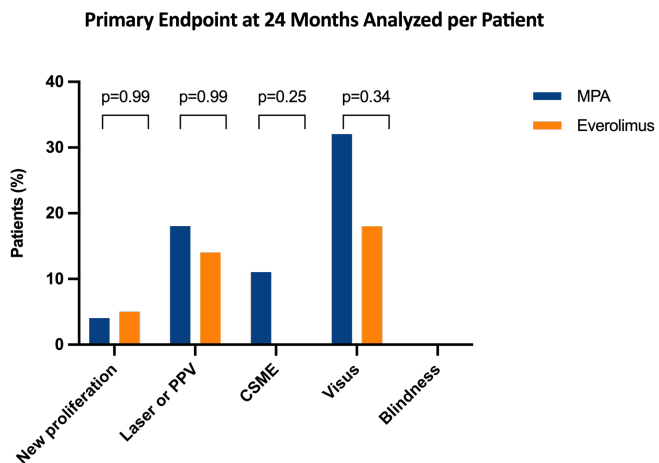
A



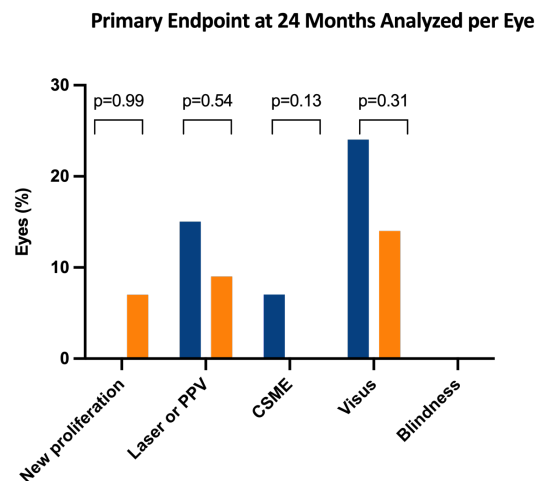
B



C

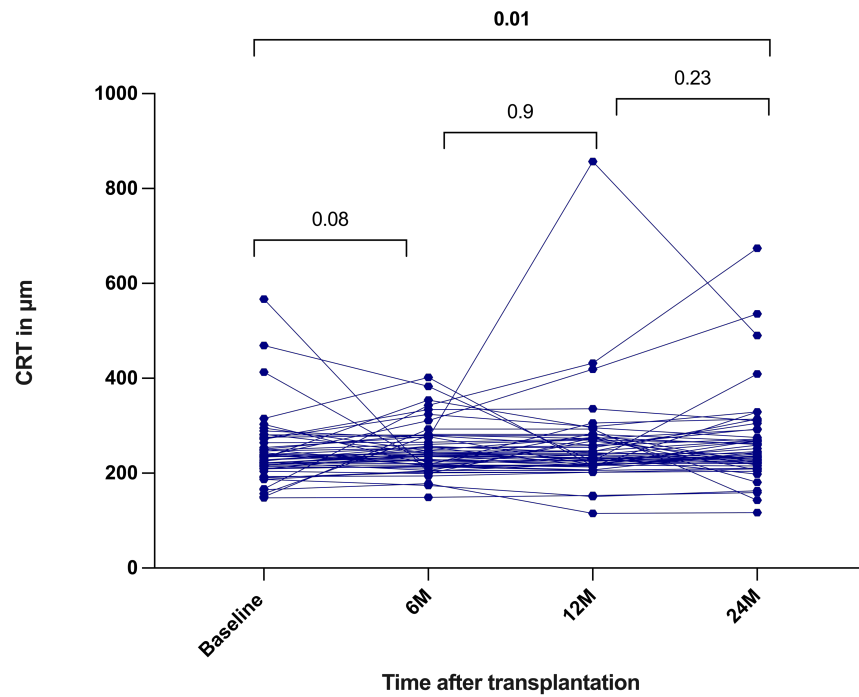


D

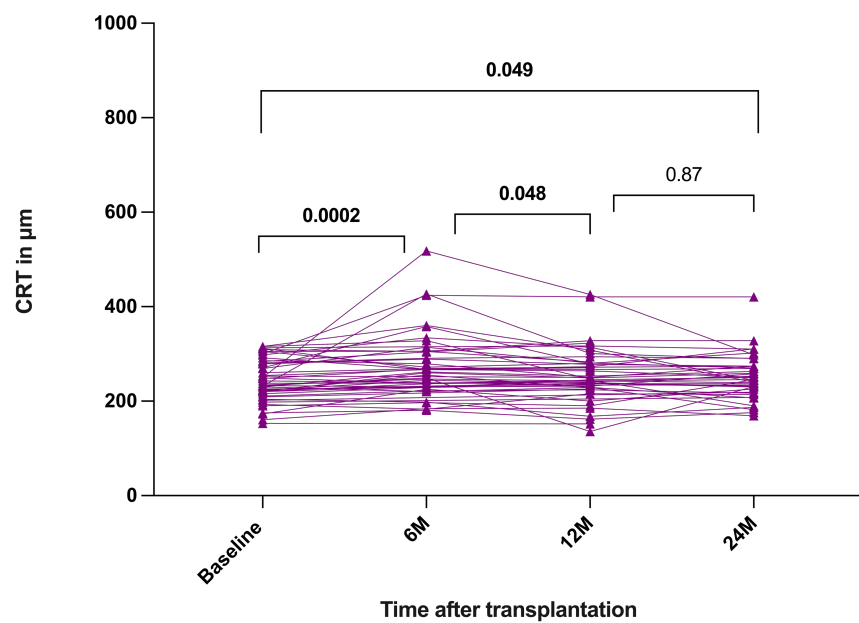


Supplementary Figure 4: Central retinal thickness (CRT, μm) measured by optical coherence tomography development over time at baseline, 6, 12 and 24 months post-transplant in each study group separately:
(A) mycophenolate sodium treated group, (B) everolimus-treated group

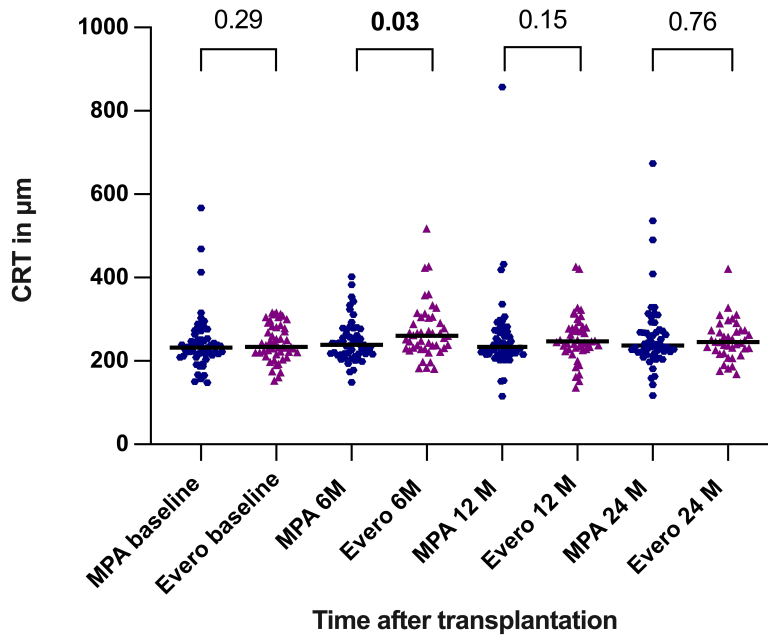
A



B



Supplementary Figure 5: Central retinal thickness measured by optical coherence tomography compared between the study groups over time. MPA – mycophenolate sodium, EVERO – everolimus, CRT – central retinal thickness (μm). Compared at baseline, 6, 12 and 24 months post-transplant. *p*-values from Mann-Whitney test above each pair



Brief Study Protocol

A. Study Inclusion and Exclusion Criteria

INCLUSION CRITERIA

1. Male or female patients, of 18 to 65 years of age, with type 1 diabetes, with a pre- or an end-stage renal failure due to diabetic kidney disease, negative C-peptide (defined as C-peptide upper limit 0.2 nmol/l . If C-peptide is > 0.1 nmol/l, mixed-meal test will be performed with C-peptide upper limit > 0.2 nmol/l).
2. Female patients of childbearing age must have a negative pregnancy test and must agree to maintain effective birth control practice throughout the study period (2 years).
3. Patient must have signed the Patient Informed Consent Form.
4. Patient must receive a primary simultaneous pancreas/kidney (SPK) transplantation from a cadaverous donor, with either intestinal or bladder and either portal or systemic venous drainages.
5. Patients must have preserved sight at least on one eye with best corrected visual acuity of at least 5/60 on Snellen optotypes.

EXCLUSION CRITERIA

1. Patient is pregnant or breastfeeding.
2. Patient is allergic or intolerant to any drug comprising both immunosuppressive protocols
3. Patient has a positive T-cell cross-match on the most recent serum specimen.
4. Patient is known for active liver disease or has significant liver disease; defined by ASAT and ALAT serum levels greater than 3 times the upper limit of normal.
5. Patient has history of prothrombotic disorders.
6. Patient has malignancy or history of malignancy, with the exception of adequately treated localized squamous cell or basal cell carcinoma, without recurrence.
7. Patient has been included in another clinical trial protocol for any investigational drug within 4 weeks prior to randomization.
8. Patient has any form of substance abuse, psychiatric disorder or condition, which, in the opinion of the investigator, may invalidate communication.
9. Patient receives a kidney transplant from a living donor, or receives segmental pancreatic transplant, or a previous kidney transplant alone.
10. Pancreatic duct occlusion technique.
11. Donor is older than 65 years of age.
12. The use of any other commercial or investigational immunosuppressive drugs is prohibited if it is not clinically indicated.
13. Patient has a high immunological risk, defined as a PRA grade > 50%

B. Treatment details

Study subjects will be treated according to the valid transplant protocol currently used at the Institute for Clinical and Experimental Medicine (IKEM) in simultaneous pancreas and kidney transplantation (see Attachments 1 and 2) and no treatment modifications will be performed for the purpose of this study. The immunosuppressive regimen will include the following immunosuppressive drugs:

Anti-T-cell globulin (Graphalon, Neowii as the first choice, Thymoglobuline as an alternative): 6 mg/kg during the surgical procedure before unclamping the vessels of the first graft and 3 mg/kg on the 2nd postoperative day. For patients with diuresis < 1000 ml/day by day 5 will receive an additional dose of 3 mg/kg.

Corticosteroids : The preoperative dose is 500 mg methylprednisolone followed by 125 on days 0 and 1. Since day 20 the oral dose of Prednisone 20 mg will be gradually tapered from day 2 to 15 mg (approx.. days 8-14), 10 mg (days 15 – 21), 5 mg (days 22 – 28) and if clinically possibly completely withdrawn thereafter

Tacrolimus (preferably modified release formulation Advagraf in a single daily dose): Preoperatively 0.1 mg/kg orally, then once daily dose aiming to achieve trough blood levels of 8 – 15 ng/ml and since month 7 approx. 5 – 10 ng/ml (with regard to adverse events).

Mycophenolate sodium (Myfortic); only in Group 1: Preoperative loading dose 1 440 mg orally and postoperatively twice daily 720 mg. The drug is used in combination with Advagraf; the morning dose may be administered in the same time.

Everolimus (Certican); only in Group 2: Before transplantation a dose 2.25 mg orally (3 tablets of 0.75 mg), then 0.75 mg twice daily. The morning dose may be administered with Advagraf. If oral intake would not be possible, the drug may be temporarily replaced with rapamycin (Rapamune) administered via a nasogastric tube (2 mg). Trough everolimus concentrations will be 4 – 8 ng/ml, the dose will be adjusted according to blood levels and tolerance.

C. Study endpoints

PRIMARY ENDPOINT

- a) new need for laser therapy or pars plana vitrectomy
- b) newly diagnosed proliferative retinopathy:
- c) newly diagnosed CSME
- d) worsening of visual acuity
- e) occurrence of blindness: 0

SECONDARY ENDPOINTS

- a) **Ophthalmic parameters:**
 - i. **Change in visual acuity**
 - ii. need for laser therapy except procedures that had been scheduled already pre-transplant and were performed not later than 4 months post-transplant
 - iii. **new vessels formation** within the field assessed by the color fundus stereoscopic photographs (performed according to the EURODIAB IDDM Complications Study [1] ETDRS report number 10 [2])
 - iv. **new occurrence or change in cataract grading scale of more than 1 step**
 - v. **changes in retinal thickness** compared to baseline examination assessed by OCT. Changes will be compared in the whole group and separately in subjects with pre-transplant OCT signs of macular (central macular thickness of > 250 µm or more)
 - vi. **new occurrence of intravitreal bleeding** registered by the patient and confirmed by the ophthalmologist
 - vii. retinopathy level assessed using the methodology of the EURODIAB IDDM Complications Study [1]
- b) **General parameters:**
 - i. **patient and graft survival rates**
 - ii. **rejection rate (kidney, pancreas or both).** A kidney or pancreas biopsy will be taken as clinically indicated in case of suspected rejection of either kidney or pancreas. Biopsy analysis will be done according to latest BANFF 97 criteria
 - iii. **treatment intolerance** (permanent mycophenolic acid or everolimus withdrawal for more than 40 days)
 - iv. **the time to complete wound healing** as assessed by the surgeon as well as the transplant specialist and documented by photography
 - v. **blood glucose and C-peptide levels (AUC) following a mixed meal test, CKD, HbA1c**

D. Timeline of Study Visits, Tests and Procedures

	Baseline ¹	Pre-transplant	1 m	2 m	3 m	6 m	12 m	18 m	24 m
Informed consent	x								
Medical history	x	x							
Donor/recipient data		x							
Surgical details			x	x					
Vital signs	x	x	x	x	x	x	x	x	x
C-peptide	x				x	x	x	x	x
HbA1c	x	x			x	x	x	x	x
Renal function (eGFR) ²	x	x			x	x	x	x	x
Serum lipids ³	x				x	x	x	x	x
Hematology	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Biochemistry	x	x	x	x	x	x	x	x	x
Proteinuria	x		x	x	x	x	x	x	x
Urine culture	x		x	x	x	x	x	x	x
Mixed meal test			x				x		x
OCT ⁵	x					x	x		x
Visus	x					x	x		x
Retinopathy grading	x					x	x		x
Need for laser therapy	x	x			x	x	x		x
Cataract staging	x					x	x		x
Tacrolimus and or everolimus levels			x		x	x	x	x	x
Wound assessment			x	x	x				
Wound photography			x	x	x				
Adverse events	x	x	x		x	x	x	x	x
Rejection			x		x	x	x	x	x
Hospitalization			x		x	x	x	x	x
Immunosuppression			x		x	x	x	x	x
Concomitant medic.	x	x	x		x	x	x	x	x

¹ If patient is not transplanted by 8 months after inclusion, baseline assessment will be repeated;

² Calculated eGFR creatinine clearance rate

³ Total cholesterol, triacylglycerols, HDL cholesterol, VLDL cholesterol

⁴ Mixed meal test with C-peptide and glucose determination

⁵ Optical coherent tomography

Alternative Site of Real-Time Continuous Glucose Monitoring Sensor Application for Abdominal Surgery in the Infraclavicular Region

Journal of Diabetes Science and Technology
2023, Vol. 17(6) 1728–1730
© 2023 Diabetes Technology Society
Article reuse guidelines:
sagepub.com/journals-permissions
DOI: 10.1177/19322968231194643
journals.sagepub.com/home/dst



**Barbora Voglová Hagerf, MD^{1,2} , Marek Protuš, MD^{2,3} ,
Lenka Némětová, MSN¹, Eva Kieslichová, MD, PhD^{2,3} ,
Eva Uchytlová, MD, PhD^{2,3} , Miloš Mráz, MD, PhD¹ ,
Peter Girman, MD, PhD¹ , Veronika Švirlochová, MSc⁴,
Janka Franeková, MD, PhD^{4,5}, and Antonín Jabor, MD, CSc^{4,5}**

Continuous glucose monitoring (CGM) has undoubtedly changed the way of treating diabetes in the outpatient setting, and more evidence has emerged in support of its inpatient use, even in the intensive care setting.^{1,2}

We would like to report first results of a pilot study testing the possibilities of CGM use and suitable application site in patients treated in intensive care unit (ICU) after major abdominal surgery—feasibility, safety, and accuracy of standard placement on the arm compared to an alternative site in the infraclavicular region.

Continuous glucose monitoring in critical and perioperative care brings a lot of challenges—both regarding the practical aspects and risk of impaired accuracy of the measurements. Vasopressors and mechanical support, interfering medication, rapid changes in electrolytes and acid-base balance, coagulation disorders, even patient sedation and possible sensor compression may affect the interstitial glucose measurement.^{3–5}

We tested 14 patients undergoing major abdominal surgery (86% male, liver transplantation $n = 6$, pancreas resection $n = 7$ and abdominal aortic repair $n = 1$). Dexcom G6 sensor (Dexcom, Inc., San Diego, CA, USA) paired with an iPhone or Dexcom receiver was applied perioperatively, and calibration was performed every 6 hours on day 1, then once daily. Owing to the site of the surgical procedure, we could not place the sensor in abdominal region, so in seven patients,

we used the standard upper arm placement, while in another group of seven patients, we placed the sensor in the infraclavicular region. Blood gas analyzer (Radiometer ABL 800, Copenhagen, Denmark) values of glucose were used for calibration and as reference values.

Results are shown in Table 1. We obtained significantly better accuracy, with less technical problems when using the alternative placement.

We hypothesize that this site was less affected by peripheral vasoconstriction, perioperative warming of the patient and sensor compression due to muscle relaxation and sedation. This pilot study is of course limited by a small sample size, and a prospective head-to-head comparison study of the two placement locations is needed to provide more accurate results. Nevertheless, in these first seven patients, the infraclavicular site was proved applicable, feasible, and surprisingly accurate. It was also perceived as more practical and easily accessible for the nursing staff.

In summary, we would like to present a new CGM placement site in the infraclavicular region, which had not yet been reported and tested, as it could possibly be more suitable for patients undergoing major abdominal surgery requiring ICU admission. Its implementation requires more evidence and validation, as this was a pilot proof-of-concept study to find a suitable place for a larger prospective CGM accuracy trial.

¹Department of Diabetes, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

²First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

³Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

⁴Department of Laboratory Methods, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

⁵Third Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Corresponding Author:

Barbora Voglová Hagerf, MD, Department of Diabetes, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Vídeňská 1958/9, Prague 140 21, Czech Republic.

Email: barbora.voglova@gmail.com

Table 1. Demographics, CGM Data, Error Grid Analysis, and Analytical Accuracy Measures of Paired RT-CGM and Reference ABL Glucose Values in Both Study Groups.

Patients (N)	7 / 7
Age (Y)	68 (51-73) / 68 (54-73)
Male sex (N/%)	6 (86) / 6 (86)
BMI (kg/m²)	26.6 (19.4-27.8) / 22.4 (21.2-28.7)
HbA_{1c} (%/mmol/mol)	6.1 (5-7.8) / 43 (31-62) / 7.1 (6.5-8.5) / 54 (48-69)
APACHE	10 (10-13) / 6 (4-7)
Diabetes mellitus type I/II N (%)	0/4 (57.2) / 0/3 (42.9)
CGM data	
Length of CGM monitoring in the ICU (days)	10 (7-10) / 7 (5-10)
Sensor usage—average (%)	100 / 90.4
Average Glucose (mg/dl/mmol/l)	171 (171-181.8) / 9.5 (9.5-10.1) / 136.8 (126-160.2) / 7.6 (7-8.9)
Standard deviation (mg/dl/mmol/l)	59.4 (46.8-66.6) / 3.3 (2.6-3.7) / 30.6 (23.4-54) / 1.7 (1.3-3)
Time in range (3.9-10 mmol/l) (%)	61 (58-66) / 91.8 (72-98)
Time in high range (10-13.9 mmol/ml) (%)	24 (16-28) / 8 (0.6-27.3)
Time in very high range (>13.9 mmol/l) (%)	16 (11.8-18.3) / 0.1 (0-7)
Time in low range (3-3.9 mmol/l) (%)	0 (0-1) / 0.2 (0-0.6)
Time in very low range (<3.0 mmol/l) (%)	0 (0) / 0 (0-0.1)

Error grid analysis

Risk zone	SEG count	Clarke count	Parkes count	SEG frequency	Clarke frequency	Parkes frequency
A	124/86	123/80	124/78	99.2%/78.9%	98.4%/73.4%	99.2%/71.6%
B	1/18	2/29	1/31	0.8%/16.5%	1.6%/26.6%	0.8%/28.4%
C	0/5	0/0	0/0	0%/4.6%	0%/0%	0%/0%
D	0/0	0/0	0/0	0%/0%	0%/0%	0%/0%
E	0/0	0/0	0/0	0%/0%	0%/0%	0%/0%
Not included	0/0	0/0	0/0	0%/0%	0%/0%	0%/0%

Analytical accuracy measures

Bias	MARD	SDRD	Lower 95% limit of agreement	Upper 95% limit of agreement
1.4%/-9.9%	5.5%/13.9%	7.4%/14.0%	-13.2%/-37.6%	16.1%/17.7%

Bold indicates the group with infraclavicular sensor placement. Values are presented as median and interquartile range.

Abbreviations: ABL, blood gas analyzer Radiometer ABL 800; APACHE, acute physiology and chronic health evaluation; BMI, body mass index; CGM, continuous glucose monitoring; ICU, intensive care unit; MARD, mean absolute relative difference; RT-CGM, Real-Time Continuous Glucose Monitoring; SDRD, standard deviation of relative difference; SEG, Surveillance Error Grid.

Abbreviations

ABL, blood gas analyzer Radiometer ABL 800; APACHE II, acute physiology and chronic health evaluation II; BMI, body mass index; CGM, continuous glucose monitoring; HbA_{1c}, glycated hemoglobin; ICU, intensive care unit; MARD mean absolute relative difference; RT-CGM, Real-Time Continuous Glucose Monitoring; SDRD, standard deviation of relative difference; SEG, Surveillance Error Grid.

Declaration of Conflicting Interests

The author(s) declared no potential conflicts of interest with respect to the research, authorship, and/or publication of this article.

Funding

The author(s) disclosed receipt of the following financial support for the research, authorship, and/or publication of this article, This work was supported by the Cooperatio Program, section Medical Diagnostics and Basic Medical Sciences, Charles

University, Prague, Czech Republic and by National Institute for Research of Metabolic and Cardiovascular Diseases (Program EXCELES, ID Project No. LX22NPO5104), funded by the European Union, Next Generation EU) MH CZ, DRO (Institute for Clinical and Experimental Medicine, IKEM, IN 00023001)

ORCID iDs

Barbora Voglová Hagerf  <https://orcid.org/0000-0001-7132-5134>
 Marek Protuš  <https://orcid.org/0000-0002-6595-6877>
 Eva Kieslichová  <https://orcid.org/0000-0002-3930-623X>
 Eva Uchytílová  <https://orcid.org/0000-0002-0412-4137>
 Miloš Mráz  <https://orcid.org/0000-0001-5322-4612>
 Peter Girman  <https://orcid.org/0000-0003-0944-8189>

References

1. ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, et al. 16. Diabetes care in the hospital: standards of care in diabetes—2023.

- Diabetes Care*. 2022;46(suppl 1):S267-S278. doi:10.2337/dc23-S016.
2. Agarwal S, Mathew J, Davis GM, et al. Continuous glucose monitoring in the intensive care unit during the COVID-19 pandemic. *Diabetes Care*. 2021;44(3):847-849. doi:10.2337/dc20-2219.
 3. Preiser JC, Chase JG, Hovorka R, et al. Glucose control in the ICU: a continuing story. *J Diabetes Sci Technol*. 2016;10(6):1372-1381. doi:10.1177/1932296816648713.
 4. Heinemann L. Interferences with CGM systems: practical relevance?. *J Diabetes Sci Technol*. 2022;16(2):271-274. doi:10.1177/19322968211065065.
 5. Helton KL, Ratner BD, Wisniewski NA. Biomechanics of the sensor-tissue interface-effects of motion, pressure, and design on sensor performance and foreign body response-part II: examples and application. *J Diabetes Sci Technol*. 2011;5(3):647-656. doi:10.1177/193229681100500318.

Accuracy and Feasibility of Real-time Continuous Glucose Monitoring in Critically Ill Patients After Abdominal Surgery and Solid Organ Transplantation

Barbora Voglová Hagerf, Marek Protus, Lenka Nemetova, Milos Mraz, Eva Kieslichova, Eva Uchytlova, Veronika Indrova, Jan Lelito, Peter Girman, Martin Haluzik, Janka Franekova, Veronika Svirlochova, David C. Klonoff, Michael A. Kohn, and Antonin Jabor

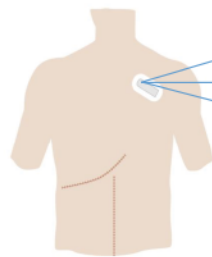
Diabetes Care 2024;47(6):956–963 | <https://doi.org/10.2337/dc23-1663>

Accuracy and Feasibility of Real-time Continuous Glucose Monitoring in Critically Ill Patients after Abdominal Surgery and Solid Organ Transplantation

61 patients requiring ICU stay after major abdominal surgery
Median APACHE II score 13, on ventilatory and vasopressor support

Real-time continuous glucose monitoring sensor is initiated after surgery on admission to ICU

Sensor accuracy assessment of 1,546 paired glucose values, using blood gas analyzer as reference

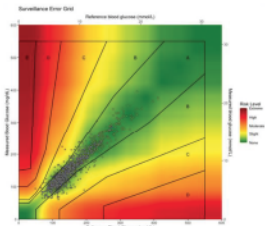


Patients after solid organ transplantation (liver, kidney, pancreas/islet) and total or partial pancreas resection

Alternative placement in the infraclavicular region, not interfering with postoperative care after abdominal surgery

Mean absolute relative difference 9.4%

98.9% paired values in clinically safe zones A and B in the Surveillance error grid



CGM monitoring with rtCGM sensor in the ICU setting was shown to be feasible and clinically accurate.

ARTICLE HIGHLIGHTS

• Why did we undertake this study?

The possibility of implementing real-time continuous glucose monitoring (CGM) in critical care arises with the increasing sensor accuracy, but the clinical evidence in this setting is scarce.

• What is the specific question(s) we wanted to answer?

Our aim was to assess the accuracy and feasibility of real-time CGM in patients requiring intensive care after major abdominal surgery.

• What did we find?

We tested CGM in 65 patients, using alternative CGM placement in the infraclavicular region. Sensor mean absolute relative difference was 9.4%, relative bias was 1.4%, and 98.9% of paired values were within clinically safe zones A and B of the surveillance error grid.

• What are the implications of our findings?

CGM is a promising monitoring tool in the critical care setting. However, it requires careful staff training, optimized calibration, and accuracy-testing protocols.



Accuracy and Feasibility of Real-time Continuous Glucose Monitoring in Critically Ill Patients After Abdominal Surgery and Solid Organ Transplantation

Diabetes Care 2024;47:956–963 | <https://doi.org/10.2337/dc23-1663>

Barbora Voglová Hagerf,^{1,2}
Marek Protus,^{2,3} Lenka Nemetova,¹
Milos Mraz,^{1,2} Eva Kieslichova,^{2,3}
Eva Uchytlova,^{2,3} Veronika Indrova,³
Jan Lelito,³ Peter Girman,¹
Martin Haluzik,^{1,2} Janka Franekova,^{4,7}
Veronika Svirlochova,⁴ David C. Klonoff,⁵
Michael A. Kohn,⁶ and Antonin Jabor^{4,7}

OBJECTIVE

Glycemia management in critical care is posing a challenge in frequent measuring and adequate insulin dose adjustment. In recent years, continuous glucose measurement has gained accuracy and reliability in outpatient and inpatient settings. The aim of this study was to assess the feasibility and accuracy of real-time continuous glucose monitoring (CGM) in ICU patients after major abdominal surgery.

RESEARCH DESIGN AND METHODS

We included patients undergoing pancreatic surgery and solid organ transplantation (liver, pancreas, islets of Langerhans, kidney) requiring an ICU stay after surgery. We used a Dexcom G6 sensor, placed in the infraclavicular region, for real-time CGM. Arterial blood glucose measured by the amperometric principle (ABL 800; Radiometer, Copenhagen, Denmark) served as a reference value and for calibration. Blood glucose was also routinely monitored by a StatStrip bedside glucose meter. Sensor accuracy was assessed by mean absolute relative difference (MARD), bias, modified Bland-Altman plot, and surveillance error grid for paired samples of glucose values from CGM and acid-base analyzer (ABL).

RESULTS

We analyzed data from 61 patients and obtained 1,546 paired glucose values from CGM and ABL. Active sensor use was 95.1%. MARD was 9.4%, relative bias was 1.4%, and 92.8% of values fell in zone A, 6.1% fell in zone B, and 1.2% fell in zone C of the surveillance error grid. Median time in range was 78%, with minimum (<1%) time spent in hypoglycemia. StatStrip glucose meter MARD compared with ABL was 5.8%.

CONCLUSIONS

Our study shows clinically applicable accuracy and reliability of Dexcom G6 CGM in postoperative ICU patients and a feasible alternative sensor placement site.

Over the past decade, real-time continuous glucose monitoring (rtCGM) with subcutaneous sensors has transformed our understanding of glucose metabolism and diabetes treatment in outpatient care (1), and is now being considered in the hospital setting (2–5).

¹Department of Diabetes, Diabetes Centre, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

²First Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

³Department of Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

⁴Department of Laboratory Methods, Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic

⁵Diabetes Research Institute, Mills-Peninsula Medical Center, San Mateo, CA

⁶University of California San Francisco, San Francisco, CA

⁷Third Faculty of Medicine, Charles University, Prague, Czech Republic

Corresponding author: Barbora Voglová Hagerf, barbora.voglova@gmail.com

Received 4 September 2023 and accepted 25 January 2024

Clinical trial reg. no. NCT05585801, clinicaltrials.gov

This article contains supplementary material online at <https://doi.org/10.2337/figshare.25152638>.

© 2024 by the American Diabetes Association. Readers may use this article as long as the work is properly cited, the use is educational and not for profit, and the work is not altered. More information is available at <https://www.diabetesjournals.org/journals/pages/license>.

See accompanying article, p. 924.

Prior to the coronavirus disease 2019 (COVID-19) pandemic, measuring glucose in the interstitial compartment was deemed insufficiently accurate for the needs of critical care (6). However, this question was revisited during the COVID-19 pandemic (7). Seeing the necessity to optimize patient care and nurse workload in the demanding conditions, a Food and Drug Administration (FDA) statement (8) allowed rtCGM to be used as an adjunctive method of glucose monitoring even in critically ill patients with hyperglycemia and COVID-19. Reports from these studies (9–14) have contained encouraging results about safety, feasibility, and accuracy of rtCGM—even in patients requiring intensive care including assisted ventilation or vasopressor treatment—and have thus rekindled the interest in CGM in ICU settings (9–14).

In the field of perioperative ICU management, trials testing the newer generations of sensors have reported clinically acceptable accuracy and feasibility in patients undergoing cardiac or abdominal surgery (15–17). The Dexcom G6 sensor (Dexcom, Inc., San Diego, CA) (18) was also recently integrated into a fully closed-loop insulin delivery system in surgical patients, with promising results (19–21).

Hyperglycemia of the critically ill is an established driver of increased ICU morbidity and mortality, while its reduction via intensive insulin therapy is associated with reduced complications and improved prognosis (albeit the target glycemic ranges are still a matter of ongoing debate) (22–25). However, considering the fluctuations in insulin sensitivity, and the need for intravenous fluids, vasopressors, parenteral nutrition, frequent corticosteroid therapy, and other rapidly changing factors in patients in the ICU (6), achieving the desired target range in the ICU setting is often an arduous task. Thus, there is a need for a device that can reliably monitor the trends and excursions of blood glucose as closely as possible, with minimal risk and invasiveness, and can be easily implemented in routine care. Furthermore, alterations in the perfusion and oxygenation of peripheral tissues, frequent blood coagulation disorders, and possible use of interfering medications (i.e., acetaminophen, ascorbic acid) and others factors (26) in critical care pose even higher demands on the performance of the sensors. Nevertheless, patients with such characteristics are commonly excluded from clinical trials. Therefore, the aim of this prospective

study was to assess the feasibility and accuracy of rtCGM in the postoperative ICU management of patients after major abdominal surgery (pancreas resection and solid organ transplantation). These procedures are often associated with a strong inflammatory response (27) and substantial glycemic excursions (28). Patients after transplantation receive potent induction immunosuppression (including corticosteroids), fluid and vasopressor support, and blood transfusions. Many of them have severe preoperative metabolic disorders (due to impaired kidney or liver function) and, in the case of liver transplantation, also pronounced coagulopathy (29). We decided to test the feasibility of rtCGM in these challenging situations in order to obtain data as close as possible to a real-world setting.

RESEARCH DESIGN AND METHODS

This study is part of an ongoing prospective trial registered on ClinicalTrials.gov (NCT05585801), approved by the local ethics committee of IKEM and TN, Thomayer Hospital, Videnska, Czech Republic (no. 09558/22; G-22-13).

Patient Recruitment

We prospectively enrolled patients who underwent major abdominal surgery at the Institute for Clinical and Experimental Medicine, Prague, Czech Republic, and required postoperative care in the ICU and intermediate care unit. Inclusion criteria were major abdominal surgery or transplantation, written informed consent prior to surgery, and age ≥ 18 years.

We purposely included critically ill patients with severe organ dysfunction, who are often excluded from inpatient studies, to determine the utility of rtCGM at the ICU bedside.

The following clinical and laboratory markers were collected: demographics, comorbid conditions, type of immunosuppression, vital signs (mental status, hemodynamic and respiratory parameters, fluid balance), and laboratory markers: glycated hemoglobin (HbA_{1c}), blood glucose values measured by a blood gas analyzer and a glucose meter, and sepsis biomarkers.

Selected clinical parameters and laboratory markers were recorded to estimate organ dysfunction and its severity, using the Acute Physiology and Chronic Health Evaluation II (APACHE II) and Child-Pugh scores to assess the severity of chronic liver disease. The APACHE II score was

calculated from the worst parameters within 24 h after ICU admission, and the Child-Pugh score was calculated from the most recent parameters before transplantation.

CGM System and Reference Glucose Measurement

As this study is the pilot feasibility and accuracy part of a larger trial aimed at assessing the effect of rtCGM added to standard glucose monitoring on glycemic control, patients were randomized into either open or blinded rtCGM monitoring. In the open rtCGM group, the sensor readings were used in addition to standard protocol to manage insulin therapy, while, in the control group, the data from blinded rtCGM served as ex post controls, and insulin therapy was guided by a standard in-house protocol. For rtCGM, we used Dexcom G6 Continuous Glucose Monitoring System (Dexcom, Inc., San Diego, CA) (18). As a receiver, we used either the Dexcom receiver (in a blinded mode for the control group) or the Dexcom G6 app running on an iPhone SE (Apple Inc., Cupertino, CA). To compare rtCGM values with blood glucose values, we used a Radiometer ABL 800 blood gas analyzer (Radiometer, Copenhagen, Denmark). This system was intentionally used for the optional calibration of the rtCGM system. A StatStrip glucose meter (Nova Biomedical Corporation, Waltham, MA), FDA cleared for use in critical care (30), was used as a bedside tool for routine blood glucose monitoring.

Blood samples from the arterial line were taken for immediate bedside glucose measurement with the StatStrip and simultaneously sent to the laboratory for analysis on the acid-base analyzer (ABL)—glucose and acid-base parameters. The testing frequency was every 6 h during the first 3 days of ICU stay and at least once daily thereafter. Other blood glucose measurements by StatStrip or ABL were performed according to each patient's needs based on the clinician's considerations (e.g., monitoring of acid-base disturbances, hemoglobin levels, setup of mechanical ventilation, and renal replacement therapy).

CGM Placement and Calibration

Immediately after surgery, a trained nurse placed a G6 sensor and transmitter in the patient's infraclavicular region and paired it with a CGM receiver (iPhone or Dexcom receiver). The sensor was worn for up to

10 days, but we only used data from the intensive and intermediate care units for statistical analysis.

All calibrations of the rtCGM sensors were done using glucose values measured with the ABL analyzer from arterial blood. In the first 24 h after surgery, we calibrated the rtCGM system every 6 h or if the difference between the rtCGM values and the ABL-measured values was greater than 27 mg/dL (1.5 mmol/L) in the nonblinded group. For the next two postoperative days, we calibrated the CGM once a day. On subsequent days, rtCGM in the nonblinded group was recalibrated only if the difference between the rtCGM and the ABL-measured values was greater than 27 mg/dL (1.5 mmol/L). CGM alarm triggers were set at 70 and 288 mg/dL (3.9–16 mmol/L).

Intensive Insulin Therapy Management

A standard sliding scale intensive insulin therapy protocol aimed at the target glucose range of 108–180 mg/dL (6–10 mmol/L) was used to guide insulin therapy. Human rapid-acting insulin was administered intravenously in a continuous fashion via a syringe pump. After the warm-up period, rtCGM was used as a supportive tool to standard treatment in the nonblinded group. In this pilot phase, the nurses were encouraged to use the values and trends from rtCGM in accordance with their expertise and clinical judgement. Specific instructions were given to stop insulin infusion if blood glucose dropped below 180 mg/dL (10 mmol/L) and the prediction arrow was stable. When the arrow indicated a rising prediction and blood glucose was above 108 mg/dL (6 mmol/L), the infusion was started again. The alarms were used to notify the nurse of impending hypoglycemia or severe hyperglycemia. The alarm notifications were performed by the bedside rtCGM device, as the nurses were almost continuously at the patients' bedsides. In the case of a confirmed hypoglycemia, insulin infusion was stopped, and intravenous glucose was administered according to protocol.

Statistical Analysis

Descriptive data are presented as median and interquartile range or mean and SD for continuous variables (age, HbA_{1c}, length of stay, critical care score metrics, medications, clinical parameters) and counts (%) for categorical variables (sex, diabetes

type, comorbidities, type of surgery, CGM data).

To assess the clinical accuracy of CGM, we compared 1) paired glucose values from rtCGM and blood gas analyzer and 2) paired glucose values measured with StatStrip glucose meter and blood gas analyzer. For the purpose of this pilot accuracy testing, we included both blinded and nonblinded sensor measurements, but, with regard to the possible additional calibrations of the nonblinded sensors, we also present the results separately.

To assess the rtCGM analytical accuracy, we calculated mean absolute relative difference (MARD), bias, SD of the relative difference (SDRD), and lower and upper 95% limits of agreement. We constructed the Bland-Altman plots, and clinical accuracy was assessed by surveillance error grid (SEG) analysis (31) using the SEG with Parkes (32) and Clarke (33) error grid overlay (SEG-PCO) software (34) and according to International Organization for Standardization (ISO) standards (35). We also report the mean glucose values, SD, coefficient of variation, time spent in levels 1 and 2 hypoglycemia and hyperglycemia, and time spent in the 70 to 180 mg/dL (3.9–10.0 mmol/L) range.

GraphPad Prism version 9.0 for Mac (GraphPad Software, San Diego, CA) was used for basic statistics, and SEG-PCO software (34) was used for specific clinical accuracy parameters.

RESULTS

Baseline and Perioperative Data

We included 65 patients admitted to ICU after major abdominal surgery, including solid organ transplantation; 29 received a blinded Dexcom receiver, and 36 were monitored with an iPhone using the sensor data for glucose management. Demographic data, preoperative organ dysfunction, and perioperative data are shown in Table 1. The median age was 60 years. Twenty-three patients had preexisting type 2 diabetes, and 10 patients (undergoing pancreas or islet and kidney transplantation) had type 1 diabetes. Median HbA_{1c} was 5.6 (4.8–7.6)%/38 (29.5–60) mmol/mol. Median HbA_{1c} of patients with diabetes was 7.5 (5.9–8.3)%/59 (40.5–67) mmol/mol. Detailed HbA_{1c} values in each patient group are presented in Supplementary Table 5.

The spectrum of surgical procedures and data related to the perioperative

period, ICU, and immunosuppression are summarized in Table 1.

Postoperative Course and ICU Stay

The median length of stay in the ICU was 7 (5.5–10) days. Induction immunosuppressive therapy administered to the organ transplant recipients included corticosteroids in all patients, combined with antithymocyte globulin in eight cases and basiliximab in four cases. All patients required vasopressor support with norepinephrine, with a median duration of support of 28 (12–64) h and a median maximum dose of 0.2 (0.12–0.5) μ g/kg/min. Four patients required additional treatment with argipressin. The median duration of assisted ventilation was 10 (7–34) h. Nine patients required continuous renal replacement therapy, with a median duration of 72 (27–90) h (Table 1). All patients required continuous intravenous insulin treatment during the first two postoperative days, with gradual decrease of the doses, transition to subcutaneous insulin, or complete cessation of insulin therapy in the following days (for exact insulin dosage in each patient group, see Supplementary Table 5). Administration of acetaminophen and ascorbic acid that might interfere with the rtCGM accuracy was also recorded (Table 1).

rtCGM Feasibility and Accuracy Assessment

Sixty-five patients participated in the study, and CGM data from 61 patients were included in the analysis of rtCGM accuracy. Two patients were excluded from data analysis because of transmitter failure during the first hours of monitoring, and another two were excluded because of a subcutaneous hematoma at the sensor insertion site disabling correct sensor function (one in the blinded group and three from the nonblinded group). Because of very scarce or no data obtained from these sensors, these were not included in the analysis. The median length of rtCGM in the remaining 61 subjects was 7 days, with 95.1% time of active sensor use.

For accuracy assessment, we obtained a total of 1,546 paired values from rtCGM and ABL and 1,123 paired values from StatStrip and ABL measurement. We used the glucose values from ABL as reference values.

When comparing the glucose values from rtCGM and the ABL analyzer, the

Table 1—Demographics, comorbidities and type of surgery, perioperative and intensive care course, immunosuppression, and CGM data (presented as proportion [percent] or median and interquartile range)

Characteristic	Value
Patients (N)	65
Age (years)	60 (47.5–69.5)
Male sex, N (%)	40 (61.5)
BMI (kg/m ²)	26.9 (24.15–30.1)
HbA _{1c} (%) (mmol/mol)	5.6 (4.8–7.6)/38 (29.5–60)
Hemoglobin (g/L)	119 (108–134)
APACHE II	13 (10–15)
SOFA score	8 (7–10)
Child-Pugh score O/A/B/C, N (%)	24 (37)/14 (21.5)/18 (27.7)/9 (13.8)
Diabetes mellitus type 1/2, N (%)	10 (15.4)/23 (35.4)
Chronic pulmonary disease, N (%)	10 (15.4)
Cancer, N (%)	29 (44.6)
Ischemic heart disease, N (%)	16 (24.6)
Arterial hypertension, N (%)	51 (78.5)
Heart failure, N (%)	2 (3.1)
Stroke or transient ischemic attack, N (%)	3 (4.6)
No. receiving surgery	65
Liver transplantation, N (%)	38 (58.5)
Liver and kidney transplantation, N (%)	3 (4.6)
Kidney and pancreas transplantation, N (%)	9 (13.8)
Kidney and pancreatic islets transplantation, N (%)	1 (1.6)
Partial pancreatectomy, N (%)	9 (13.8)
Total pancreatectomy, N (%)	3 (4.6)
Total pancreatectomy and autologous pancreatic islets transplantation, N (%)	2 (3.1)
Length of stay in ICU/total (days)	7 (5.5–10)/17 (13.5–26)
Length of surgery (min)	345 (248.5–397.5)
Blood loss (mL)	1,000 (500–4,250)
Norepinephrine, N (%) /duration (h)	65 (100)/28 (12–64)
Norepinephrine, maximal dose (μg/kg/min)	0.2 (0.12–0.5)
Norepinephrine, average dose (μg/kg/min)	0.05 (0.05–0.1)
Argipressin, N (%) /duration (h)	4 (7.8)/56 (30–68.5)
Mechanical ventilation, N (%) /duration (h)	65 (100)/10 (7–34)
Continuous renal replacement therapy N (%) /duration (h)	9 (13.9)/72 (27–90)
Fluid balance (mL)	+4,630 (3,150–7,820)
Acidum ascorbicum, N (%) /average dose (g/day)	33 (51)/2.7
Acetaminophen, N (%) /average dose (g/day)	46 (71)/1.6
Induction immunosuppression therapy, N (%)	51 (78.5)
Methylprednisolone, N (%) /dose (mg)	51 (100)/500
Antithymocyte globulin, N (%)	8 (15.7)
Basiliximab, N (%)	4 (7.8)

SOFA, Sequential Organ Failure Assessment.

calculated MARD was 9.4%, 95% CI [9.0%, 10.0%], and SDRD was 12.8%, with lower and upper 95% limits of agreement of –23.7% and 26.5%, respectively. The relative bias was 1.4% (Table 3).

We computed the SEG (using SEG-PCO software); 92.8% of the values fell in zone A, 6.1% fell in zone B, and 1.2% fell in zone C (Table 2). SEG and the Bland-Altman plot are shown in Fig. 1A and B, respectively.

For comparison, we also assessed the accuracy of the StatStrip glucose meter, where we measured a MARD of 5.8%, 95% CI [5.4%, 6.4%], an SDRD of 8.9%, and bias of –2.4%. The lower and upper 95% limits of agreement were –19.9% and 15.1%, respectively (Supplementary Table 2). SEG analysis and a Bland-Altman plot for glucose values measured with a StatStrip glucose meter and an ABL analyzer are shown in Supplementary Figs. 1 and 2, respectively. We found that 96.6% of the values fell in zone A, 2.2% fell in zone B, 1.1% fell in zone C, and 0.1% fell in zone D (Supplementary Table 1).

In a separate accuracy analysis of the blinded versus nonblinded sensors, we obtained a MARD of 9.2% (95% CI [8.4%, 9.9%]) in the nonblinded group and a MARD of 10% (95% CI [9.3%, 10.6%]) in the blinded group ($P = 0.0321$). The average number of additional calibrations per sensor in the nonblinded group was 0.8 ± 1 during the first 24 h, 0.50 ± 1 on days 2 and 3, and 0.5 ± 1 thereafter, resulting in 1.8 ± 1 additional calibrations in total for the whole study period (Supplementary Table 8). The percentage of sensors requiring from zero to six additional calibrations (no sensor required more than six) is shown in Supplementary Table 9.

We also performed a detailed MARD analysis according to each surgery type and the presence of diabetes (Supplementary Table 5). We found no significant effect of acetaminophen on MARD, while the use of ascorbic acid was, surprisingly, associated with significantly lower MARD (Supplementary Table 10).

CGM Metrics

Although not the primary aim of this study, we also analyzed basic CGM metrics of these patients (Table 3). The median mean glucose was 153 (135–174.6) mg/dL (8.5 [7.5–9.7] mmol/L) with a median standard deviation of 43.2 (25.2–55.8) mg/dL (2.4 [1.4–3.1] mmol/L) and coefficient of

Table 2—Surveillance, Clarke and Parkes error grid analysis, and ISO criteria assessment of paired rtCGM and reference ABL glucose values

Risk zone	Count			Frequency, %			ISO range	Count	Frequency, %	Cumulative frequency, %
	SEG	Clarke	Parkes	SEG	Clarke	Parkes				
A	1,434	1,384	1,409	92.8	89.5	91.1	≤5% or mg/dL	580	37.5	37.5
B	94	156	136	6.1	10.1	8.8	>5–10% or mg/dL	453	29.3	66.8
C	18	0	1	1.2	0	0.1	>10–15% or mg/dL	236	15.3	82.1
D	0	5	0	0	0.3	0	>15–20% or mg/dL	132	8.5	90.6
E	0	0	0	0	0	0	>20% or mg/dL	145	9.4	100.0
Not included	0	1	0	0	0.1	0				

variation of 27% (19.7–33.3%). The median time in range was 77.5% (63.3–91.8%), and the mean time in range was $76.7 \pm 16.8\%$. Median time in the high and very high ranges was 17.5% (5.5–24%) and 3% (0–9.8%), respectively. Our patients spent minimal time in the low and very low ranges (Table 3). Two short hypoglycemic episodes were recorded, one each in two patients.

A comparison between nonblinded versus blinded sensors showed a slightly higher average glycemia in the blinded group and no clinically significant difference in times in designated time ranges (Supplementary Table 6).

As for the alarms for hypoglycemia (<70 mg/dL [3.9 mmol/L]), the nurses were notified 13 times in 11 patients (twice in 2 patients, once in the remaining 9), and 3 were confirmed as low by the

StatStrip and ABL. Similarly, in the blinded group, 15 episodes of hypoglycemia were recorded by rtCGM, out of which 5 were ex post confirmed by reference measurements (Supplementary Table 7).

CONCLUSIONS

We present 61 patients after major abdominal surgery, including solid organ transplantation. All patients required admission to the ICU because of the severity of their surgical procedures.

Most of the enrolled patients suffered from severe organ dysfunction preoperatively, which, combined with a systemic inflammatory response after the surgery, led to various potential obstacles for the use of rtCGM as a reliable glucose measuring tool. Positive cumulative fluid balance, coagulopathy, impaired blood supply to peripheral tissues, hypoxemia, and rapid

dynamics of glycemic changes might affect the accuracy of glucose measurement in the interstitial compartment.

Nevertheless, our data show that rtCGM with the Dexcom G6 system might be useful even in these rather unstable conditions. With a MARD of 9.4% and 98.9% of values in the A and B zones of the SEG, we reached accuracy levels comparable with those reported by the manufacturer (overall MARD 9.0%) (18) in more stable physiological conditions in the outpatient setting and in studies performed perioperatively (16,17) and slightly more favorable than some of the reports of the use of CGM during the COVID-19 pandemic (9,10,13,14). We hypothesize that this degree of accuracy might be attributed to our approach to sensor calibration. Even though Dexcom G6 is factory calibrated, we decided to perform a protocol calibration on the first

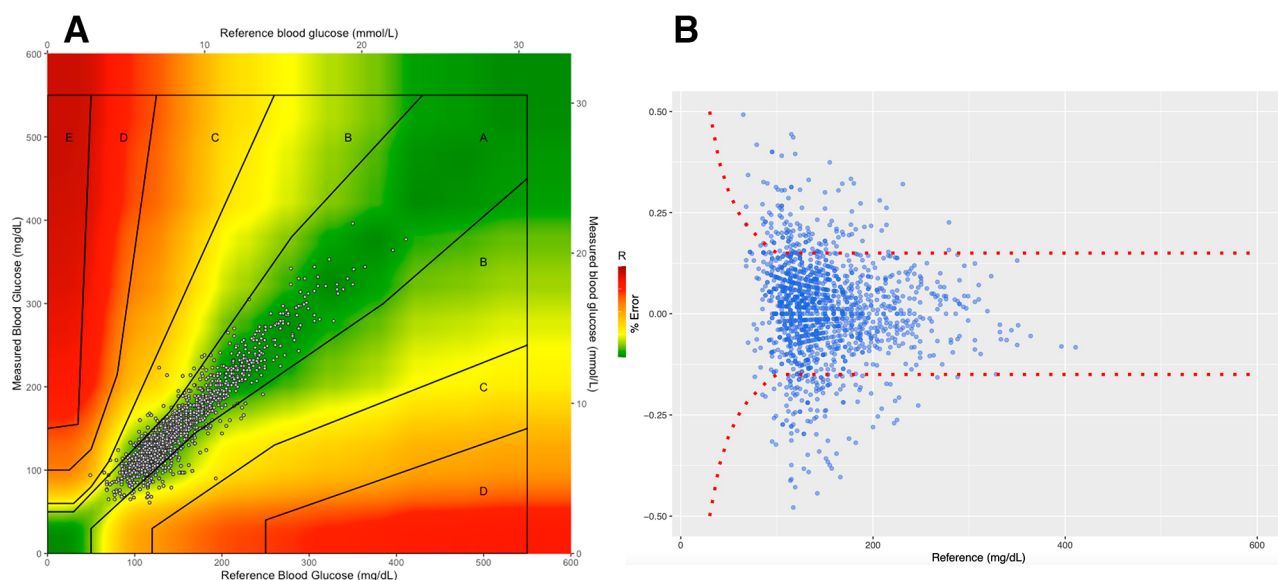


Figure 1—A: SEG with Parkes error grid overlay of paired rtCGM and reference ABL glucose values. **B:** Modified Bland-Altman plot of paired glucose values from rtCGM and reference ABL measurement. The different intensity of blue color reflects repeated values of the same bias. The red dotted lines represent the range of CGM measurements within 15% of reference for reference values >100 mg/dL and within 15 mg/dL of reference for reference value <100 mg/dL.

Table 3—rtCGM accuracy and monitoring data

Characteristic	Value
Length of CGM monitoring in the ICU (days)	7 (5.5–10)
Sensor usage (% of time)	95.1
MARD (%)	9.4
SDRD (%)	12.8
Bias (%)	1.4
Lower 95% limit of agreement (%)	−23.7
Upper 95% limit of agreement (%)	26.5
Average glucose (mg·dL ^{−1} /mmol·L ^{−1})	153 (135–174.6)/8.5 (7.5–9.7)
SD (mg·dL ^{−1} /mmol·L ^{−1})	43.2 (25.2–55.8)/2.4 (1.4–3.1)
Time in range (%) / average ± SD	77.5 (63.3–91.8)/76.7 ± 16.8
Time in high range (%) / average ± SD	17.5 (5.5–24)/16.5 ± 11.5
Time in very high range (%) / average ± SD	3 (0–9.8)/6.2 ± 8
Time in low range (%) / average ± SD (number of episodes)	0 (0–1)/0.6 ± 1 (six episodes)
Time in very low range (%) / average ± SD (number of episodes)	0 (0)/0.1 ± 0.2 (two episodes)

Glycemia monitoring data are expressed as median (interquartile range) and average ± SD, time in range (3.9–10.0 mmol/L [70–180 mg/dL]), time in high range (10.1–13.9 mmol/L [181–250 mg/dL]), time in very high range (>13.9 mmol/L [>250 mg/dL]), time in low range (3.0–3.8 mmol/L [54–69 mg/dL]), time in very low range (<3.0 mmol/L [<54 mg/dL]).

3 days, using glucose values obtained from a regularly validated ABL analyzer. In a separate analysis of blinded versus non-blinded sensors, which were additionally calibrated, we obtained significantly better MARD (9.2% vs. 10%, $P = 0.0321$) in the nonblinded group. This might further support the benefit of additional recalibrations in increasing the accuracy of CGM in ICU patients.

Even though glycemic control itself was not the main goal of this analysis, the time in range reached 77.5%, and, more importantly, the time spent in hypoglycemia in this cohort was very low, with only two episodes of very low glycemia (<54 mg/dL [3.0 mmol/L]). The incidence of low-glucose events was not different between the blinded and non-blinded groups. However, both groups of patients were closely monitored, and the target glucose range was set between 6 and 10 mmol/L, which most probably ensured that the glucose fluctuations were kept within safe levels most of the time despite all patients receiving intensive insulin therapy, often with insulin doses close to or above 1 IU/kg/day (Supplementary Table 5). Interestingly, the presence of diabetes did not seem to significantly affect CGM metrics, except for a slightly higher average glycemia and time spent in hyperglycemia in patients with type 2

diabetes mellitus undergoing liver transplantation (Supplementary Table 6).

We decided to use an alternative sensor placement—in the infraclavicular region—that had not been reported so far. This was based on previous experience from our small pilot study (36). The abdominal region would have been very inconvenient because of the type of surgery performed and the possible need for subsequent revisions. When using the upper-arm placement, we experienced frequent dislodging (during transport or positioning) or sensor disturbances due to compression in sedated patients. The infraclavicular placement proved to be convenient and easily accessible for the nursing staff and yet did not interfere with patient positioning, transport, or any diagnostic or therapeutic procedures. We acknowledge that we do not have any control group to compare the effect of this placement with the standard ones. More data from a direct comparison with standard sites is needed to assess the performance of CGMs in the infraclavicular region in hospitalized patients.

However, we still experienced technical difficulties. Two patients had measurement failures due to a technical fault in the transmitter, and two patients with severe coagulopathy had minor bleeding and hematoma at the insertion site, leading to sensor malfunction. These sensors

were not included in the analysis because of very little or no data present. This might have introduced some bias into the final accuracy results.

Another limitation of this study is that we did not perform the monitoring before and during surgery. In our pilot project, we faced very frequent loss of signal due to several factors in the operating room—most notably, interference with other Bluetooth devices, bipolar coagulation technique, and the patient warming system. We therefore decided to focus on reaching maximal accuracy in the postoperative period. As for computed tomography scans, we decided to leave the sensor in place and evaluate its functioning and accuracy after the procedure, during which we used no lead shielding. We did not observe any discrepancies in blood glucose values or signal loss. We did not see any significant differences in MARD 48 h before and after computed tomography scan (Supplementary Table 11). No MRI studies were performed. We also compared the accuracy in patients treated with paracetamol and ascorbic acid, and these did not seem to negatively affect sensor accuracy in our patients (Supplementary Table 10).

We acknowledge that our choice of the blood gas analyzer as the reference method might have affected our measured analytical accuracy. The analytical

accuracy and variability might have been even better if we had used a laboratory glucose analyzer, or a benchtop glucose analyzer with documented accuracy in a range considered adequately accurate by the United States FDA for reference testing (37). Blood gas analyzers are not typically used as reference methods in pivotal studies of CGM accuracy. However, in our study, the Radiometer ABL accuracy was frequently internally validated by the Laboratory Methods division. To compare it with previous reports, Liang et al. (38) evaluated the accuracy of blood gas analyzers, in comparison with central laboratory analyzers (Beckman DxC and Abbott Architect). They found a bias of -2.9 mg/dL for Abbott Architect analyzers with a 95% limit of agreement (LOA) of -34.1 to 28.3 mg/dL, that is, a width of LOA of 62.4 mg/dL. During our experiment, the bias (Radiometer ABL versus Abbott Architect) was between 1.8 and 4.9 mg/dL (0.1 to 0.27 mmol/L) for five ABL analyzers. However, we found better precision of blood glucose measurements—widths of LOAs of 29.0 , 35.9 , 39.6 , 45.0 , and 48.6 mg/dL, respectively, for five ABL analyzers. Therefore, we believe that the accuracy and precision of blood gas analyzers was under sufficient control during the whole study period. This reference method was also perceived by the nursing staff as feasible and practical on a long-term basis.

As the StatStrip glucose meter is the current ICU standard of care, widely used in critical care settings, we also analyzed its performance and compared it with the rtCGM. Unsurprisingly, StatStrip showed a significantly better accuracy, with a MARD of 5.8% and a superior performance in the SEG as well as Bland-Altman analysis compared to rtCGM (Supplementary Tables 1–4 and Supplementary Figs. 1–4).

Despite favorable MARD and SEG results, the sensor accuracy parameters would still not meet the ISO criteria (35) for blood glucose meters for inpatient use. These require that 1) at least 95% of compared glucose value pairs are within ± 15 mg/dL at glucose concentrations of <100 mg/dL and within $\pm 15\%$ at >100 mg/dL and 2) at least 99% of results are within zones A and B of the consensus (Parkes) error grid. In our analysis, 82.1% of pairs were compliant with the first requirement, therefore not meeting the 95% threshold. But, in the Parkes consensus error grid, 99.9% of values were within zones A and B and showed high

clinical accuracy of rtCGM measurements. Furthermore, the strength of rtCGM lies in showing the trends of glucose excursions and the possibility of remote monitoring and alarms.

Therefore, we believe that, when used along with standard blood glucose measurement and an optimized adequate calibration method, rtCGM might reduce the need for frequent blood glucose testing and provide reliable insight into the glycemic trends in these specific groups of patients.

Summary

Our data from a single-center prospective study suggest that rtCGM is, in conjunction with an additional calibration protocol, a feasible and reliable method of blood glucose surveillance in postoperative intensive care after major abdominal surgery, including solid organ transplantation.

Safe and reliable CGM use in the ICU setting requires careful staff training, optimized calibration, and accuracy-testing protocols.

Further evidence is needed to support rtCGM use as a full-fledged monitoring modality and allow CGM-based insulin dosage and adjustments. Nevertheless, rtCGM shows promising potential to contribute to and improve the still challenging glycemic management in the intensive care units.

Acknowledgments. The authors give special thanks for all support from the Transplantation Surgery Department of Institute for Clinical and Experimental Medicine, and the nursing teams of the Anesthesiology, Resuscitation and Intensive Care Department and Intensive Care Ward of the Transplantation Surgery Department.

Funding. This work was supported by the Co-operation Programme, section Medical Diagnostics and Basic Medical Sciences, Charles University, Prague, Czech Republic, and by National Institute for Research of Metabolic and Cardiovascular Diseases (Programme EXCELES, ID Project No. LX22NPO5104) - Funded by the European Union - Next Generation EU) MH CZ - DRO (Institute for Clinical and Experimental Medicine - IKEM, IN 00023001).

Duality of Interest. D.C.K. is a consultant to Better Therapeutics, Eoflow, GlucoTrack, Life-care, Nevro, Novo Nordisk, Sanofi, and Third-wayv. No other potential conflicts of interest relevant to this article were reported.

Author Contributions. B.V.H. and M.P. researched data, contributed to discussion, and wrote the first draft of the manuscript. They were responsible for the study design, patient recruitment, data acquisition and analysis, final manuscript preparation, and critical revision.

M.M., E.K., P.G., M.H., J.F., D.C.K., M.A.K., and A.J. were involved in the data analysis and interpretation, discussion, and critical revision and editing of the manuscript. D.C.K. and M.A.K. provided newly developed software support for data analysis, and reviewed and edited the manuscript. L.N., V.I., J.L., and V.S. were involved in the patient recruitment, data collection, and analysis. All the authors reviewed the manuscript and approved the final version. B.V.H. is the guarantor of this work and, as such, had full access to all the data in the study and takes responsibility for the integrity of the data and the accuracy of the data analysis.

Prior Presentation. These data were presented at the 83rd Scientific Sessions of the American Diabetes Association, San Diego, CA, 23–26 June 2023.

Handling Editors. The journal editors responsible for overseeing the review of the manuscript were Cheryl A.M. Anderson and Rodica Pop-Busui.

References

- Galindo RJ, Aleppo G. Continuous glucose monitoring: the achievement of 100 years of innovation in diabetes technology. *Diabetes Res Clin Pract* 2020;170:108502
- ElSayed NA, Aleppo G, Aroda VR, et al.; American Diabetes Association. 16. Diabetes care in the hospital: *Standards of Care in Diabetes—2023*. *Diabetes Care* 2023;46(Suppl. 1):S267–S278
- Blonde L, Umpierrez GE, Reddy SS, et al. American Association of Clinical Endocrinology Clinical Practice Guideline: Developing a Diabetes Mellitus Comprehensive Care Plan—2022 Update. *Endocr Pract* 2022;28:923–1049
- Korytkowski MT, Muniyappa R, Antinori-Lent K, et al. Management of hyperglycemia in hospitalized adult patients in non-critical care settings: an Endocrine Society clinical practice guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 2022;107:2101–2128
- Galindo RJ, Umpierrez GE, Rushakoff RJ, et al. Continuous glucose monitors and automated insulin dosing systems in the hospital consensus guideline. *J Diabetes Sci Technol* 2020;14:1035–1064
- Krinsley JS, Chase JG, Gunst J, et al. Continuous glucose monitoring in the ICU: clinical considerations and consensus. *Crit Care* 2017;21:197
- Galindo RJ, Aleppo G, Klonoff DC, et al. Implementation of continuous glucose monitoring in the hospital: emergent considerations for remote glucose monitoring during the COVID-19 pandemic. *J Diabetes Sci Technol* 2020;14:822–832
- U.S. Food and Drug Administration. Enforcement policy for non-invasive remote monitoring devices used to support patient monitoring during the coronavirus disease 2019 (COVID-19) public health emergency (revised), 2020. Accessed 17 October 2022. Available from <https://www.fda.gov/media/136290/download>
- Sadhu AR, Serrano IA, Xu J, et al. Continuous glucose monitoring in critically ill patients with COVID-19: results of an emergent pilot study. *J Diabetes Sci Technol* 2020;14:1065–1073
- Agarwal S, Mathew J, Davis GM, et al. Continuous glucose monitoring in the intensive

care unit during the COVID-19 pandemic. *Diabetes Care* 2021;44:847–849

11. Chow KW, Kelly DJ, Rieff MC, et al. Outcomes and healthcare provider perceptions of real-time continuous glucose monitoring (rtCGM) in patients with diabetes and COVID-19 admitted to the ICU. *J Diabetes Sci Technol* 2021;15:607–614

12. Davis GM, Faulds E, Walker T, et al. Remote continuous glucose monitoring with a computerized insulin infusion protocol for critically ill patients in a COVID-19 medical ICU: proof of concept. *Diabetes Care* 2021;44:1055–1058

13. Faulds ER, Boutsicaris A, Sumner L, et al. Use of continuous glucose monitor in critically ill COVID-19 patients requiring insulin infusion: an observational study. *J Clin Endocrinol Metab* 2021;106:e4007–e4016

14. Longo RR, Elias H, Khan M, Seley JJ. Use and accuracy of inpatient CGM during the COVID-19 pandemic: an observational study of general medicine and ICU patients. *J Diabetes Sci Technol* 2022;16:1136–1143

15. Nair BG, Dellinger EP, Flum DR, Rooke GA, Hirsch IB. A pilot study of the feasibility and accuracy of inpatient continuous glucose monitoring. *Diabetes Care* 2020;43:e168–e169

16. Tripyla A, Herzig D, Joachim D, et al. Performance of a factory-calibrated, real-time continuous glucose monitoring system during elective abdominal surgery. *Diabetes Obes Metab* 2020;22:1678–1682

17. Perez-Guzman MC, Duggan E, Gibanica S, et al. Continuous glucose monitoring in the operating room and cardiac intensive care unit. *Diabetes Care* 2021;44:e50–e52

18. Dexcom. Dexcom G6 CGM system performance summary. Accessed 15 August 2023. Available from <https://ie.provider.dexcom.com/dexcom-cgm>

19. Herzig D, Suhner S, Roos J, et al. Perioperative fully closed-loop insulin delivery in patients undergoing elective surgery: an open-label, randomized controlled trial. *Diabetes Care* 2022;45:2076–2083

20. Krutkyte G, Roos J, Schuerch D, et al. Fully closed-loop insulin delivery in patients undergoing pancreatic surgery. *Diabetes Technol Ther* 2023;25:206–211

21. Roos J, Schürch D, Frei A, et al. Time requirements for perioperative glucose management using fully closed-loop versus standard insulin therapy: a proof-of-concept time-motion study. *Diabet Med* 2023;40:e15116

22. van den Berghe G, Wouters P, Weekers F, et al. Intensive insulin therapy in critically ill patients. *N Engl J Med* 2001;345:1359–1367

23. Finfer S, Chittock DR, Su SY, et al.; NICE-SUGAR Study Investigators. Intensive versus conventional glucose control in critically ill patients. *N Engl J Med* 2009;360:1283–1297

24. de Vries FEE, Gans SL, Solomkin JS, et al. Meta-analysis of lower perioperative blood glucose target levels for reduction of surgical-site infection. *Br J Surg* 2017;104:e95–e105

25. Preiser J-C, Devos P, Ruiz-Santana S, et al. A prospective randomised multi-centre controlled trial on tight glucose control by intensive insulin therapy in adult intensive care units: the Glucontrol study. *Intensive Care Med* 2009;35:1738–1748

26. Heinemann L. Interferences with CGM systems: practical relevance? *J Diabetes Sci Technol* 2022;16:271–274

27. Franecková J, Protuš M, Kieslichová E, et al. Changes in sepsis biomarkers after immunosuppressant administration in transplant patients. *Mediators Inflamm* 2021;2021:8831659

28. Werner KT, Mackey PA, Castro JC, Carey EJ, Chakkeri HA, Cook CB. Hyperglycemia during the immediate period following liver transplantation. *Future Sci OA* 2016;2:fsoa-2015-0010.

29. Saracoglu A, Saracoglu KT. Coagulopathy during liver transplantation. *J Anaesthesiol Clin Pharmacol* 2018;34:289–295

30. Klonoff DC, Umpierrez GE, Rice MJ. A milestone in point of care capillary blood glucose

monitoring of critically ill hospitalized patients. *J Diabetes Sci Technol* 2018;12:1095–1100

31. Klonoff DC, Lias C, Vigersky R, et al.; Error Grid Panel. The surveillance error grid. *J Diabetes Sci Technol* 2014;8:658–672

32. Parkes JL, Slatin SL, Pardo S, Ginsberg BH. A new consensus error grid to evaluate the clinical significance of inaccuracies in the measurement of blood glucose. *Diabetes Care* 2000;23:1143–1148

33. Clarke WL, Cox D, Gonder-Frederick LA, Carter W, Pohl SL. Evaluating clinical accuracy of systems for self-monitoring of blood glucose. *Diabetes Care* 1987;10:622–628

34. Kovatchev BP, Wakeman CA, Breton MD, et al. Computing the surveillance error grid analysis: procedure and examples. *J Diabetes Sci Technol* 2014;8:673–684

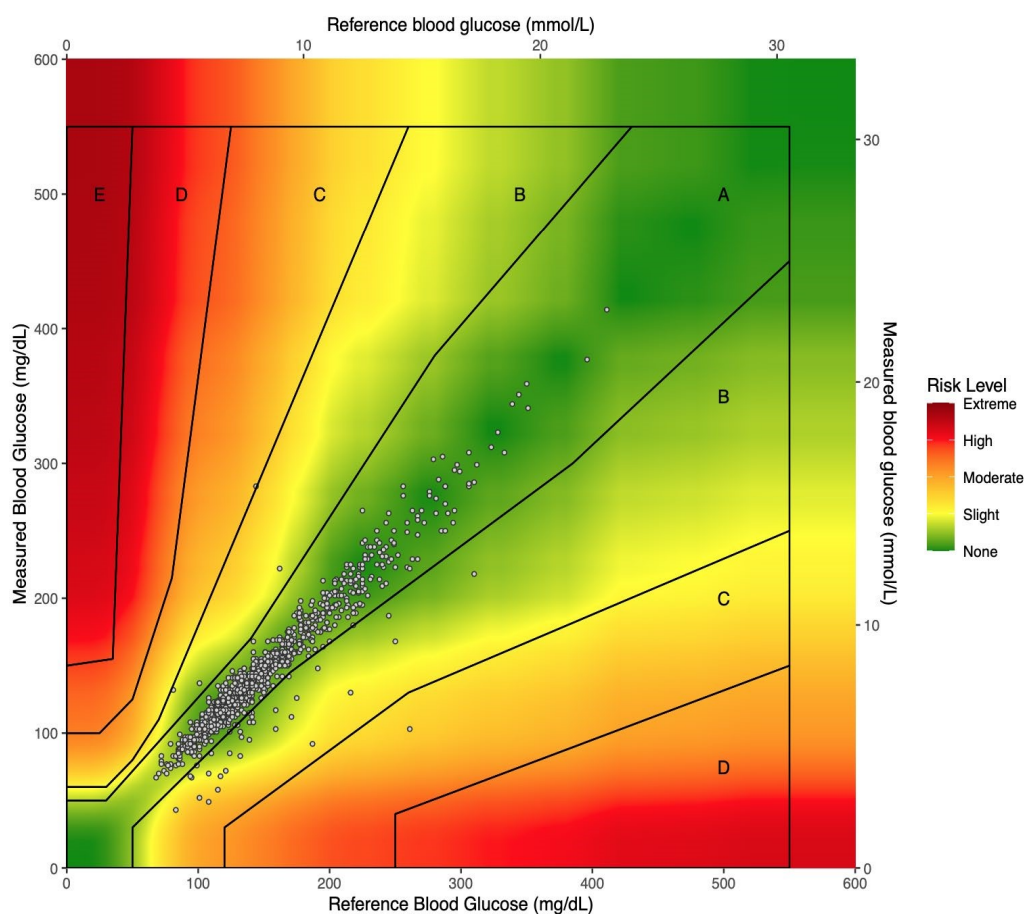
35. International Organization for Standardization. ISO 15197:2013 In vitro diagnostic test systems—requirements for blood-glucose monitoring systems for self-testing in managing diabetes mellitus. Geneva, Switzerland, International Organization for Standardization, 2013

36. Voglová Hagerf B, Protuš M, Némětová L, et al. Alternative site of RT-CGM sensor application for abdominal surgery in the infraclavicular region. *J Diabetes Sci Technol* 2023;17:1728–1730

37. U.S. Food and Drug Administration. Blood glucose monitoring test systems for prescription point-of-care use guidance for industry and Food and Drug Administration staff. U.S. Department of Health and Human Services Food and Drug Administration Center for Devices and Radiological Health. Accessed 15 August 2023. Available from <https://www.fda.gov/regulatory-information/search-fda-guidance-documents/blood-glucose-monitoring-test-systems-prescription-point-care-use>

38. Liang Y, Wanderer J, Nichols JH, Klonoff D, Rice MJ. Blood gas analyzer accuracy of glucose measurements. *Mayo Clin Proc* 2017;92:1030–1041

Supplementary Material



Supplementary Figure 1.: Surveillance Error Grid with Parkes Error Grid overlay of StatStrip glucose meter values and reference ABL glucose values.

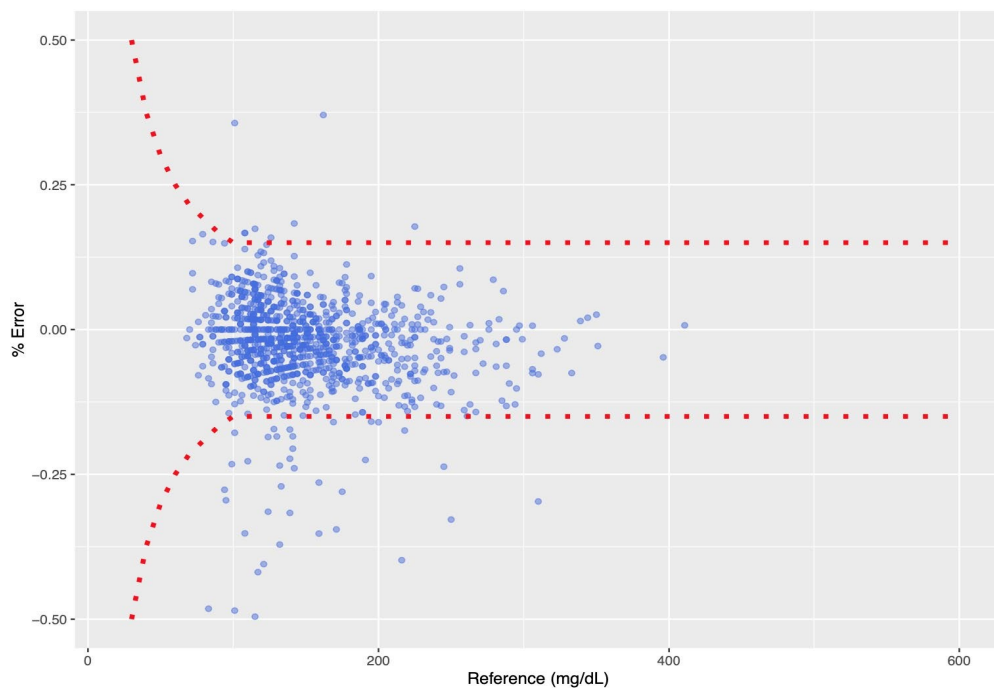
Supplementary Table 1.: Surveillance, Clarke and Parkes Error grid analysis of paired StatStrip glucose meter and reference ABL glucose values

Risk Zone	SEG Count	Clarke Count	Parkes Count	SEG Frequency	Clarke Frequency	Parkes Frequency
A	1085	1088	1085	96.6%	96.9%	96.6%
B	25	31	36	2.2%	2.8%	3.2%
C	12	1	2	1.1%	0.1%	0.2%
D	1	2	0	0.1%	0.2%	0%
E	0	0	0	0%	0%	0%
Not included	0	1	0	0%	0.1%	0%

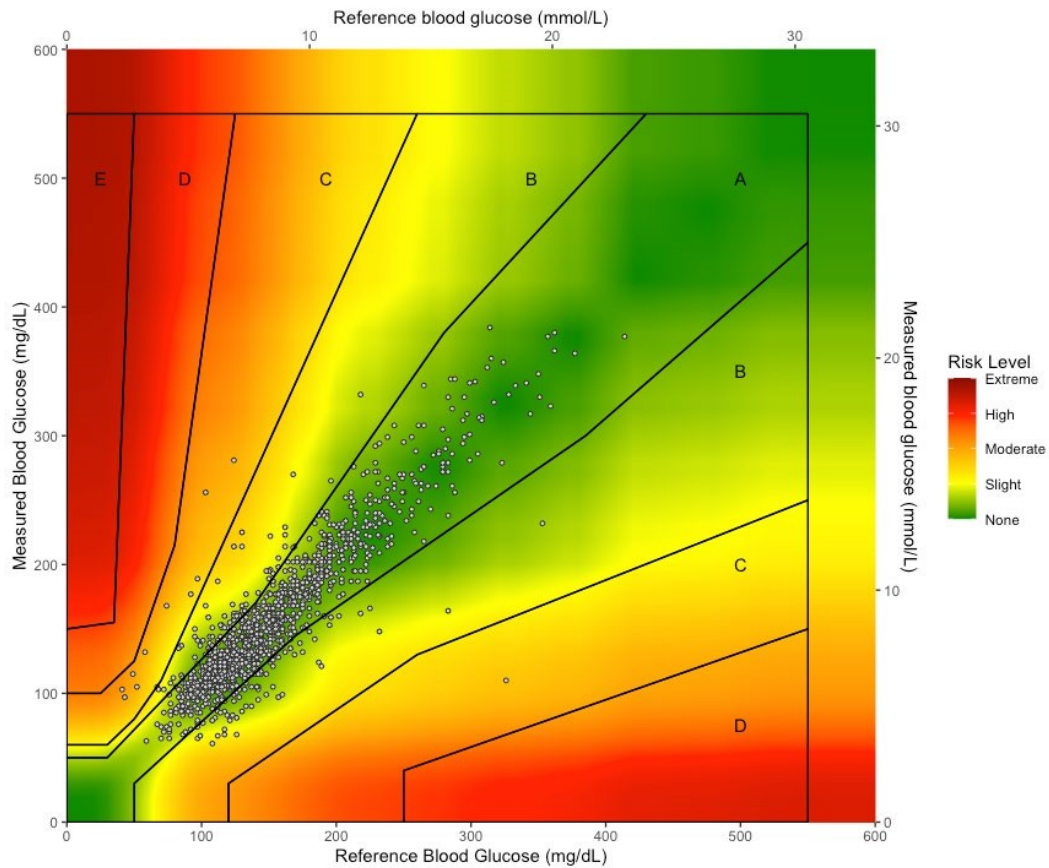
Supplementary Table 2.: Accuracy measures and ISO assessment of paired StatStrip glucose meter and reference ABL glucose values (MARD – mean absolute relative difference, SDRD – standard deviation of relative difference)

Bias	MARD	SDRD	Lower 95% Limit of Agreement	Upper 95% Limit of Agreement
-2.4%	5.8%	8.9%	- 19.9%	15.1%

ISO Range	Count	Frequency	Cumulative
<= 5% or mg/dL	652	58.1%	58.1%
> 5 - 10% or mg/dL	331	29.5%	87.6%
> 10 - 15% or mg/dL	90	8.0%	95.6%
> 15 - 20% or mg/dL	16	1.4%	97%
> 20% or mg/dL	34	3.0%	100.0%



Supplementary Figure 2.: Modified Bland-Altman plot of paired glucose valued from StatStrip and reference ABL measurements.



Supplementary Figure 3.: Surveillance Error Grid with Clarke and Parkes Error Grid analysis and overlay of rtCGM glucose values and reference StatStrip glucose meter glucose values

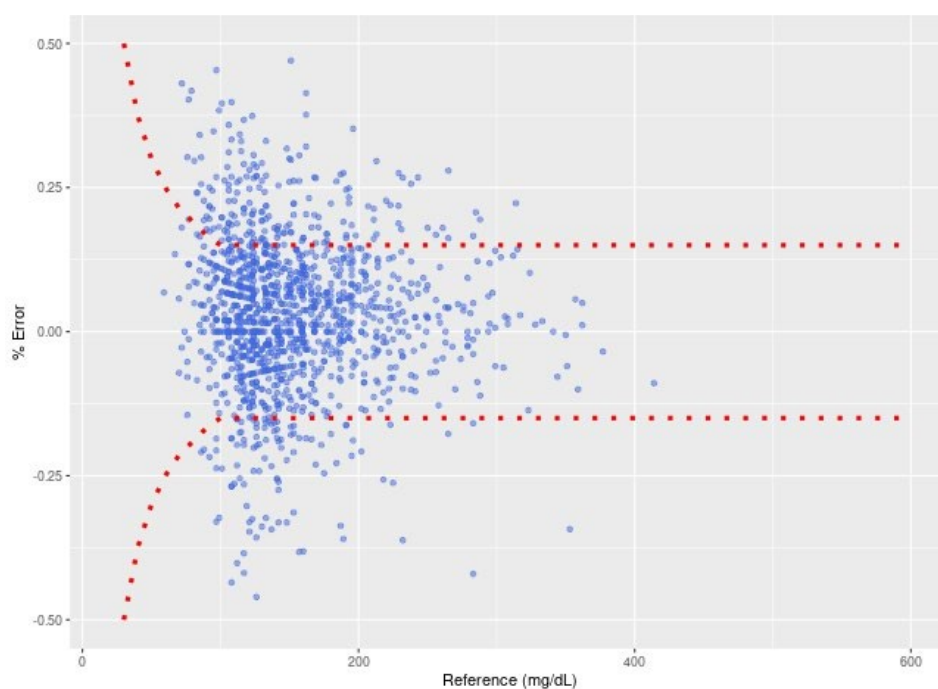
Supplementary Table 3.: Surveillance, Clarke and Parkes Error grid analysis of paired rtCGM and reference StatStrip glucose meter glucose values

Risk Zone	SEG Count	Clarke Count	Parkes Count	SEG	Clarke	Parkes
				Frequency	Frequency	Frequency
A	1220	1173	1215	89.2%	85.7%	88.8%
B	121	182	142	8.8%	11.3%	10.4%
C	26	3	11	1.9%	0.2%	0.8%
D	1	9	0	0.1%	0.7%	0%
E	0	0	0	0%	0%	0%
Not included	0	1	0	0%	0.1%	0%

Supplementary Table 4.: Accuracy measures and ISO assessment of paired rtCGM and reference StatStrip glucose meter glucose values (MARD – mean absolute relative difference, SDRD – standard deviation of relative difference)

Bias	MARD	SDRD	Lower 95% Limit of Agreement	Upper 95% Limit of Agreement
4.4%	11.5%	17.6%	- 30.1%	38.9%

ISO Range	Count	Frequency	Cumulative
<= 5% or mg/dL	466	34.1%	34.1%
> 5 - 10% or mg/dL	340	24.9%	59.0%
> 10 - 15% or mg/dL	241	17.6%	76.6%
> 15 - 20% or mg/dL	140	10.2%	86.8%
> 20% or mg/dL	181	13.2%	100%



Supplementary Figure 4: Modified Bland-Altman plot of paired glucose valued form rtCGM and reference StatStrip glucose meter measurement

Supplementary Table 5: Insulin doses (IU/kg/day), HbA_{1c} (median, IQR) and MARD (mean, 95% confidence interval) according to surgical procedure (Tx – transplantation, SPK – Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantation, IAT – Islet Autotransplantation, TPIAT – Total Pancreatectomy and Islet Autotransplantation, SIK – Simultaneous Islet and Kidney Transplantation, HbA_{1c} – glycated haemoglobin, MARD – mean absolute relative difference)

	Total (N:61)	Liver Tx (N:34) and Liver + Kidney Tx (N:3)			SPK (N:9)	Partial pancreatectomy (N:9)			Total pancreatectomy (N:5)		SIK (N:1)
		<i>Total</i> (N:37)	<i>DM</i> (N:15)	<i>No DM</i> (N:22)		<i>Total</i> (N:9)	<i>DM</i> (N:3)	<i>No DM</i> (N:6)	<i>no IAT</i> (N:3)	<i>TPIAT</i> (N:2)	
Day 1	0.69 (0.34-0.92)	0.78 (0.53-1.05)	0.82 (0.68-1.09)	0.76 (0.44-0.99)	0.17 (0.11-0.59)	0.36 (0.15-0.63)	0.53 (0.36-0.73)	0.25 (0.07-0.57)	0.54 (0.33-0.7)	0.77	0.32
Day 2	0.98 (0.57-1.57)	1.39 (0.93-1.73)	1.39 (1.08-1.63)	1.36 (0.86-1.85)	0.35 (0.09–0.73)	0.49 (0.13-0.89)	0.91 (0.23-1.01)	0.42 (0.03-0.73)	0.95 (0.56-1.05)	0.31	0.36
Day 3	N:60 0.85 (0.35-1.21)	1.07 (0.75-1.37)	1.12 (0.97-1.58)	0.88 (0.56-1.24)	0.32 (0.17-0.5)	N:8 0.47 (0.06-0.92)	0.95 (0.26–1.1)	N:5 0.34 (0-0.72)	1.22 (0.5-1.48)	0.59	0.29
Day 4	N:60 0.73 (0.31-1.17)	0.9 (0.54-1.31)	1.21 (1.06-1.64)	0.62 (0.38-1.01)	0.22 (0.11-0.39)	N:8 0.47 (0.07-0.89)	0.95 (0.29-1.05)	N:5 0.4 (0-0.63)	1.19 (0.58-1.36)	0.52	0.29
Day 5	N:59 0.6 (0.2-0.94)	0.69 (0.35-1.28)	1.21 (0.75-1.7)	0.49 (0.05-0.77)	0.17 (0.07–0.36)	N:7 0.43 (0-0.61)	N:2 0.69	N:5 0.38 (0-0.52)	0.92 (0.62-1.11)	0.64	0.2
Day 6	N:47 0.72 (0.33-1.11)	N:30 0.77 (0.32-1.27)	N: 13 1 (0.65-1.45)	N:17 0.57 (0-0.85)	N:6 0.16 (0.04-0.33)	N:6 0.36 (0-0.7)	N:1 0.75	N:5 0.27 (0-0.56)	0.89 (0.7-0.95)	1.02	
Day 7	N:35 0.87 (0.42-1.24)	N:27 0.85 (0.25-1.22)	N:12 0.95 (0.75-1.24)	N:15 0.42 (0.08-0.94)	N:4 0.03 (0-0.45)	N:2 0.15		N:2 0.15	N:2 0.92	0.46	
Day 8	N: 29 0.64 (0.38-1.14)	N: 23 0.82 (0.35-1.43)	N:9 0.82 (0.44-1.32)	N:14 0.75 (0.18-1.46)	N: 2 0.23	N:1 0.22		N:1 0.2	N:2 0.66	N:1 0.55	
Day 9	N:24 0.55 (0.34-1.10)	N:20 0.55 (0.34-1.22)	N:8 0.76 (0.53-1.4)	N:12 0.35 (0.06-1.08)	N:2 0.52	N:1 0.3		N:1 0.3	N:1 0.66		
Day 10	N: 20 0.48 (0.2-0.9)	N:16 0.51 (0.05-1.01)	N:7 0.92 (0.52-1.06)	N:9 0.18 (0-0.76)	N: 2 0.36	N:1 0.62		N: 1 0.62	N:1 0.6		
HbA_{1c} (mmol/mol)	38.5 (31-61.8)	37 (29,5- 49)	54 (38- 65)	31 (26.3- 37)	66 (57.568)	36 (15.5-39.5)	35 (31- 69)	36.5 (35.8-39.3)	66 (62-79)	45.5	58
HbA_{1c} (%)	5.7 (5-7.8)	5.5 (4.8-6.6)	7.1 (5.6-8.1)	5 (4.6- 5.5)	8.2 (7.4-8.4)	5.4 (3.6-5.8)	5.4 (5-8.5)	5.5 (5.4-5.7)	8.2 (7.8-9.4)	6.3	7.5
MARD (%)	9.4 (9.0-10.0)	9.0 (8.3-9.6)	7.7 (7.0-8.4)	10 (9-10.9)	9.8 (8.6-10.9)	14.4 (12.2-16.5)	9.2 (6.3-12.3)	15.9 (13.3 -18.5)	14.1 (12.0-16.3)	10.7 (8.1-13.4)	7.2

Supplementary Table 6: Glycemic control according to surgical procedure – Average glucose (median, IQR/mean±SD), Standard deviation of average glucose (median, IQR/mean±SD), Times in glycemic ranges (median, IQR/mean ±SD): Time in Range (3.9-10.0 mmol/L / 70_180 mg/dL), Time in High Range (10.1- 13.9 mmol/L / 181-250 mg/dL), Time in Very High Range (> 13.9 mmol/L / >250 mg/dL), Time in Low Range (3.0- 3.8 mmol/L / 54-69 mg/dL), Time in Very Low Range (< 3.0 mmol/L / < 54 mg/dL)
Tx – transplantation, SPK – Simultaneous Pancreas and Kidney Transplantation, IAT – Islet Autotransplantation, TPIAT – Total Pancreatectomy and Islet Autotransplantation, SIK – Simultaneous Islet and Kidney Transplantation

Non blinded (N:33)	Blinded (N:28)	Corticoids (N:47)	Liver Tx (N: 34)and Liver + Kidney Tx (N:3)			SPK (N:9)	Partial pancreatectomy (N:9)			Total pancreatectomy (N:5)		SIK (N:1)
			<i>All</i> <i>(N:37)</i>	<i>DM</i> <i>(N:15)</i>	<i>No DM</i> <i>(N:22)</i>		<i>All (N:9)</i>	<i>DM (N:3)</i>	<i>No DM</i> <i>(N:6)</i>	<i>no IAT</i> <i>(N:3)</i>	<i>TPIAT</i> <i>(N:2)</i>	
Average 69.2	151.2 160.2	160.2	154.8	160.2	174.6	151.2	133.2	138.6	144	135	162	
Glucose (129.6–	(135–	(136.8–	(136.8–	(144–	(163.8–	(138.6–	(120.6–	(131.4–	(138.6–	(122.4–		
(mg/dL)	169.2)	180)	174.6)	174.6)	176.4)	158.4)	147.6)	151.2)	207)	149.4)	181.8)	
Average 9.4	8.4 (7.5– 8.9	8.9 (7.6–	8.6 (7.6–	8.9 (8–	9.7 (9.1–	8.4 (7.7–	7.4 (6.7–	7.7 (7.3–	8 (7.7–	7.5 (6.8–	9 (7.2–	
Glucose (mmol/L)	9.4)	10)	9.7)	9.7)	9.8)	8.8)	8.2)	8.4)	11.5)	8.3)	10.1)	
Standard 64.8	43.2 (27– 43.2	45 (25.2–	43.2	46.8	55.8	43.2	19.8	23.4	45 (21.6–	23.4	54 (32.4–	
deviation (mg/dL)	54)	59.4)	(28.8–	(39.6–	(46.8–	(32.4–	(16.2–27)	(21.6–	59.4)	(19.8–27)	73.8)	
Standard 3.6	2.4 (1.5– 2.4	2.5 (1.4–	2.4 (1.6–	2.6 (2.2–	3.1 (2.6–	2.4 (1.8–	1.1 (0.9–	1.3 (1.2–	2.5 (1.2–	1.3 (1.1–	3 (1.8–	
deviation (mmol/L)	3)	3.3)	3.1)	3.3)	3.8)	2.7)	1.5	2.1)	3.3	1.5	4.1)	
Median	77.5 69	77.7	76.4 (62–	76.4	75 (62–	81.5	87 (65.5–	75 (67–	88 (68–	72 (65–	94 (61–	
Time in Range (%)	(63.8– 87.8)	(62.5–	88) 94.7)	(60.5– 87)	(58.8– 87.5)	98)	91.5)	95)	89)	97)		
Mean 94.5	76 ± 15.7 69	77.3 ±	74.8 ±	74 ± 16.5	73.4 ±	74.5 ±	78.3 ±	78.6 ±	83.7 ±	76 ± 12.5	84 ± 16.3	
Time in Range (%)	17.9	17.2		14.6	17.6	20.2	12.7	11.4				
Median	17 (8.8– 28	18.5 (3.5–	19 (8–26)	19 (9.5–	22 (7-24)	16.5	12 (1.5–	19 (8.5–	12 (5–19)	21 (9.5–	5 (2–28)	
Time in High Range (%)	22)		27.5)		25)	(10.3–	25)		26)	30.5)		
Mean 4.4	16.5 ± 28	16.5 ±	17.5 ±	17.7 ±	17.2 ± 9.4	18.1 ±	15.7 ± 15	17.3 ±	12 ± 5.7	20 ± 10.8	11.7 ±	
Time in High Range (%)	10.4	12.6	11.7		10.8		11.6			10.1	11.6	

Median	4 (0–10.8)	2.5 (0–2)	4 (0–13)	4 (0.3–)	4 (4–17)	3.5 (0–10)	4 (0–12)	2 (0–4)	0 (0–6)	2 (1.5–	0 (0–10)
Time in	8.75)		13.5)						5.3)		
Very High											
Range (%)											
Mean	6.7 ± 8.4	5.5 ± 7.5	7.1 ± 8.6	7.6 ± 9.1	8.6 ± 9.1	6.9 ± 9.1	5.6 ± 6	3.2 ± 4.5	2 ± 2.8	3.8 ± 5.1	3.3 ± 4.7
0.4	2										
Time in											
Very High											
Range (%)											
Median	0 (0–1)	0.25 (0–1)	0 (0–1)	0 (0–1)	0 (0–0.7)	0.25 (0–1)	0 (0–0.9)	0 (0–0.5)	0 (0–6)	0 (0–0.3)	1 (0.8–1)
1											
Time in											
Low											
Range (%)											
Mean	0.6 ± 1.4	0.5 ± 0.9	0.5 ± 0.9	0.7 ± 1.3	0.6 ± 1.3	0.5 ± 0.5	0.4 ± 0.5	0.8 ± 1.9	2 ± 2.8	0.2 ± 0.4	0.9 ± 0.1
0.6	1										
Time in											
Low											
Range (%)											
Median	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0–0.1)	0 (0)	0 (0–1)	0 (0)	0 (0–0.2)
0											
Time in											
Very Low											
range (%)											
Mean	0.01 ± 0.2	0.05 ± 0.2	0.02 ± 0.1	0.04 ±	0	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.2	0.1 ± 0.3	0.3 ± 0.5	0	0.1 ± 0.1
0.1	0										
Time in			0.2								
Very Low											
Range (%)											

Supplementary Table 7: Low glycemia episodes in patients with blinded and non-blinded rtCGM

	Blinded rtCGM	Non-blinded rtCGM
Alarms at low glycemia (episodes/patients)	N/A	13/11
Confirmed low glycemia events	4	2
Confirmed very low glycemia events	1	1
Low glycemia on CGM not confirmed by blood gas analyser and glucose meter	10	10

Supplementary Table 8: Additional sensor calibrations due to glucose value difference > 1,5 mmol/L (27 mg/dL) in the group with non-blinded rtCGM

	24 hours	Days 2-3	Days 4-10	Total
Additional calibrations				
(average $\pm$ SD)	0.8 $\pm$ 1	0.5 $\pm$ 1	0.5 $\pm$ 1	1.8 $\pm$ 1

Supplementary Table 9: Additional sensor calibrations due to glucose value difference > 1,5 mmol/L (27 mg/dL) in the group with non-blinded rtCGM – proportion of sensors with 1-6 additional recalibrations

Additional calibrations (n)	1	2	3	4	5	6	0
Proportion of sensors requiring additional calibrations (%)	30.3%	24.2 %	12.1%	9.1%	0	3.0%	21.2%

Supplementary Table 10: MARD values (mean absolute relative difference, 95% confidence interval) in patients treated with acetaminophen and ascorbic acid compared to the non-treated group

	Acetaminophen			Ascorbic Acid		
	+	-		+	-	
N	46	15	p=0.8137	34	27	p=0.0219
MARD (%)	9.7 (9.2-10.2)	10.2 (8.9-11.5)		9.4 (8.8-10.1)	10.6 (9.6-11.3)	

Supplementary Table 11: MARD values (mean absolute relative difference, 95% confidence interval) in patients undergoing CT scan 48 hours before and after the procedure

N= 8	Before CT scan	After CT scan	
MARD (%)	14.6 (11.5-17.7)	13.3 (10.6-16.0)	p=0.6185