

Univerzita Karlova v Praze

2. lékařská fakulta

Studijní program: Fyziologie a patofyziologie člověka



MUDr. Petr Bouček

Vliv transplantační léčby na komplikace diabetu

The effect of transplantation therapy on diabetic complications

Disertační práce

Vedoucí závěrečné práce/Školitel: Prof. MUDr. Terezie Pelikánová, DrSc.

Konzultant: Prof. MUDr. František Saudek, DrSc.

Praha, 2013

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracoval samostatně a že jsem řádně uvedl a citoval 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, 26. 8. 2013

MUDr. Petr Bouček

Podpis

Poděkování

Rád bych na úvod poděkoval své školitelce prof. MUDr. Terezií Pelikánové, DrSc. a svému konzultantu prof. MUDr. Františku Saudkovi, DrSc. za všestrannou pomoc a cenné rady v průběhu mého doktorského studia a přípravy disertační práce. Velkou pomocí mi bylo po celou dobu i tvůrčí a přátelské prostředí panující na pracovišti, kterého jsou vedoucími pracovníky.

Rád bych také na tomto místě poděkoval své manželce, MUDr. Ivaně Boučkové za podporu, které se mi po celou dobu z její strany dostávalo.

Identifikační záznam:

BOUČEK, Petr. *Vliv transplantační léčby na komplikace diabetu.*
[The Effect of Transplantation Therapy on Diabetic Complications].

Praha, 2013.

Počet stran 61, počet příloh 5.

Disertační práce (Ph.D.).

Univerzita Karlova v Praze, 2. lékařská fakulta,

Vedoucí závěrečné práce/Školitel Prof. MUDr. Terezie Pelikánová, DrSc.

Abstrakt

Mikroangiopatické (retinopatie, nefropatie, neuropatie) a makroangiopatické komplikace jsou nejdůležitějšími příčinami morbidity a mortality diabetických nemocných. Hlavními cíli disertační práce bylo zhodnocení vlivu orgánové transplantace pankreatu s následnou normalizací glukózového metabolismu na vývoj diabetické neuropatie v oblasti tenkých vláken u diabetu 1. typu a srovnání efektu transplantace ledviny na prognózu nemocných s diabetem 2. typu a osob bez diabetu. U nemocných s diabetem 1. typu byly po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu prospektivně sledovány vybrané funkční parametry autonomního nervstva (testy kardiovaskulárních reflexů včetně odpovědi katecholaminů na postavení - ortostázu a spektrální analýza variability srdeční tepové frekvence) a denzita epidermálních nervových vláken v kožních biopsiích dolních končetin. U pacientů s diabetem 2. typu bylo po transplantaci ledviny retrospektivně hodnoceno přežívání nemocných a štěpů a vznik komplikací v porovnání s kontrolním souborem osob bez diabetu.

U transplantovaných nemocných s diabetem 1. typu byly v době transplantace přítomny těžké formy diabetické neuropatie a přes dlouhodobou hyperglykémii po transplantaci pankreatu nedošlo u žádného z hodnocených parametrů k významnému zlepšení. Změny periferního nervstva v oblasti tenkých vláken jsou tak u těchto pacientů již strukturálního a pravděpodobně ireverzibilního charakteru. U nemocných s diabetem 2. typu se po transplantaci ledviny přežívání nemocných a štěpů a výskyt sledovaných komplikací s výjimkou amputací na dolních končetinách významně nelišily od kontrolní skupiny, což svědčí pro oprávněnost volby transplantace ledviny jako metody náhrady renální funkce i u této skupiny nemocných s chronickým selháním ledvin.

Klíčová slova:

Diabetes mellitus 1. typu, transplantace pankreatu, diabetická neuropatie, diabetes mellitus 2. typu, transplantace ledviny, přežívání nemocných a štěpů

Abstract

Microangiopathic (retinopathy, nephropathy, and neuropathy) and macroangiopathic complications are the major causes of morbidity and mortality of diabetic patients. The main aims of the doctoral thesis were the assessment of the effect of pancreas transplantation with long-term normoglycemia on the course of small fibre diabetic neuropathy in type 1 diabetic patients and the comparison of the effect of kidney transplantation on the prognosis of type 2 diabetic and non-diabetic patients. Selected parameters of autonomic nerve function (cardiovascular reflex tests, catecholamine response to standing up and spectral analysis of heart rate variability) and intraepidermal nerve fibre density in lower limb skin biopsies were assessed prospectively following simultaneous kidney and pancreas transplantation in type 1 diabetic patients. In type 2 diabetic patients, patient and graft survival and the occurrence of complications following kidney transplantation were compared retrospectively to matched non-diabetic controls.

Advanced stages of diabetic neuropathy were present in type 1 diabetic patients at the time of transplantation. No significant improvement was seen in any of the assessed parameters following pancreas transplantation with long-term normoglycemia, which is indicative of the presence of structural, most probably already irreversible small fibre changes. Following kidney transplantation in type 2 diabetic patients, patient and renal graft survival and occurrence of complications except for lower limb amputations were not significantly different from the non-diabetic control group. These findings confirm that kidney transplantation represents a successful treatment in this patient group with end stage renal disease.

Key words:

Type 1 diabetes mellitus, pancreas transplantation, diabetic neuropathy, type 2 diabetes mellitus, kidney transplantation, patient and graft survival

Obsah

- I. Úvod
 1. Pozdní komplikace diabetu
 - 1.1. Patofyziologie
 - 1.2. Mikrovaskulární komplikace
 - 1.2.1. Diabetická retinopatie
 - 1.2.2. Diabetická nefropatie
 - 1.2.3. Diabetická neuropatie
 - 1.3. Syndrom diabetické nohy a makrovaskulární komplikace
 2. Preventivní a léčebné ovlivnění komplikací
 - 2.1. Transplantační léčba u nemocných s diabetem
 - 2.1.1. Transplantace inzulín produkující tkáň
 - 2.1.1.1. Vliv transplantace pankreatu na vývoj mikrovaskulárních komplikací diabetu
 - 2.1.1.1.1. Diabetická retinopatie
 - 2.1.1.1.2. Diabetická nefropatie
 - 2.1.1.1.3. Diabetická neuropatie
 - 2.1.2. Transplantační léčba chronického selhání ledvin u diabetu
- II. Hlavní hypotézy, cíle a metodiky disertační práce
 1. Hlavní hypotézy
 2. Hlavní cíle
 3. Vyšetřované soubory a metodika
 4. Základní statistické metody

III. Výsledky

1. Diabetická neuropatie u nemocných s diabetem 1. typu po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu

1.1. Autonomní neuropatie

1.1.1. Testy kardiovaskulárních reflexů a spektrální analýza variability tepové frekvence

1.1.2. Reakce krevního tlaku a hladin katecholaminů na postavení (ortostázu)

1.2. Periferní neuropatie - vyšetření počtu epidermálních nervových vláken (ENV) v kožních biopsiích

2. Výsledky transplantace ledviny u nemocných s diabetem 2. typu a chronickým selháním ledvin

IV. Diskuse

V. Závěry

VI. Literatura

VII. Seznam použitých zkratk

VIII. Přílohy

I. Úvod

1. Pozdní komplikace diabetu

Diabetes mellitus patří celosvětově k hlavním zdravotnickým problémům 21. století. V současné době postihuje již téměř 8 % obyvatel České republiky a jeho prevalence trvale stoupá (ÚZIS ; ÚZIS 2011). Ve většině případů se jedná o diabetes mellitus 2. typu (u více než 91% postižených), jehož výskyt prudce narůstá s věkem, ale roste i počet osob s diabetem 1. typu, který často vzniká již v dětství či mládí. Hlavním důvodem rostoucího výskytu diabetu je existence rizikových faktorů, zčásti dědičných, mnohdy však, jako v případě obezity a nedostatku pohybu, ovlivnitelných životostí.

Zatímco diabetes mellitus 1. typu je v naprosté většině případů vyvolán autoimunitní destrukcí inzulín produkujících B-buněk pankreatu (Gillespie 2006), příčinou diabetu 2. typu je obvykle inzulínová rezistence společně s relativně a později často i absolutně nedostatečnou sekrecí inzulínu (Unger 2008). U obou typů diabetu tak vzniká hyperglykémie s dalšími navazujícími přímými i nepřímými metabolickými pochody, které při mnohaletém trvání vedou ke vzniku pozdních orgánových komplikací diabetu. Tyto komplikace se obvykle ne zcela přesně dělí na *mikrovaskulární* a *makrovaskulární*.

Mikrovaskulární komplikace jako diabetická retinopatie, nefropatie a neuropatie se vyznačují specifickou patogenezi a jejich výskyt se omezuje prakticky pouze na současnou přítomnost diabetu. *Makrovaskulární komplikace*, k nimž se řadí zejména ischemická choroba srdeční a periferní ateroskleróza, se vyskytují také u ostatních osob v populaci, ale při diabetu vznikají častěji, v mladším věku a mohou mít odlišný, většinou závažnější průběh a prognózu. Další komplikace, zejména syndrom diabetické nohy, jsou důsledkem kombinace více faktorů. Rozdělení pozdních diabetických komplikací je uvedeno v tab. 1.

Tabulka 1

Pozdní komplikace diabetu

Mikrovaskulární	Makrovaskulární
Retinopatie	Ischemická choroba srdeční
Nefropatie	Cerebrovaskulární onemocnění
Neuropatie	Ischemická choroba dolních končetin
	Periferní ateroskleróza
Syndrom diabetické nohy	

1.1. Patofyziologie

Patogeneze komplikací diabetu není dosud zcela objasněna a nepochybně se na ní kromě diabetu podílejí také genetická zátěž a další rizikové faktory. Základním patogenetickým činitelem je *dlouhodobá hyperglykémie*, zvýšená hladina krevní glukózy, jež ve větší míře vstupuje do buněk orgánů, zejména těch, u nichž je tento transport nezávislý na účinku inzulinu. V endoteliálních buňkách celého organismu, v neuronech a Schwannových buňkách v nervové tkáni a v mesangiálních buňkách ledvin tak probíhají abnormální biochemické pochody. Lokálně se uvolňují růstové faktory a signální molekuly, které působí hemodynamické změny a stimulují produkci abnormální intercelulární substance, která se obtížně degraduje a vede k porušené permeabilitě bazálních membrán, jejich ztlušťování a ke skleróze intersticia.

Mezi nejdůležitější mechanismy vzniku tkáňového poškození patří glykace tkáňových bílkovin, oxidační stres, aktivace enzymu aldózo-reduktázy a aktivace proteinové kinázy C (Schrijvers, De Vriese et al. 2004). Glykace proteinů vede nejprve k jejich reverzibilním a později ireverzibilním změnám, které narušují jejich strukturu a funkci. Tento proces je úměrný celkové expozici zvýšeným hodnotám glykémie (Singh, Barden et al. 2001). Oxidační stres je způsoben mitochondriální dysfunkcí a nadprodukcí superoxidů v elektronovém transportním řetězci (Brownlee 2005). Aldózo-reduktáza je enzym, který přeměňuje nadbytečnou glukózu na sorbitol, což vede zejména v nervové tkáni k jeho akumulaci spolu s fruktózou, k poruše intracelulárního redox potenciálu a k toxickému poškození (Oates 2002). Hyperglykemií způsobené hromadění diacylglycerolu (DAG) a aktivace proteinové kinázy C zejména v retinálních a endoteliálních buňkách přes růstové faktory stimuluje tvorbu extracelulární matrix a buněčnou proliferaci (Ways and Sheetz 2000). Kromě toho hyperglykémie vede ke zvýšené agregabilitě krevních destiček, snižuje fibrinolytickou aktivitu a zvyšuje krevní viskozitu (Vinik, Erbas et al. 2001). Tyto a ještě další faktory se vzájemně potencují a ve svém důsledku jsou příčinou diabetické vaskulopatie.

Na rozvoji mikro- i makrovaskulárních komplikací se nepochybně podílejí také vrozené dispozice. I když určitý význam byl zjištěn u řady kandidátních genů, zásadní genetické ukazatele dosud nebyly objeveny.

1.2. Mikrovaskulární komplikace

1.2.1. Diabetická retinopatie

Jde o specifické poškození sítnice v důsledku diabetu, který však může ovlivňovat i některá další oční onemocnění vyskytující se i u osob bez diabetu, například urychluje vývoj katarakty. V minulosti bylo po 20 letech trvání diabetu některou z forem diabetické retinopatie postiženo téměř 100% nemocných s diabetem 1. typu a přes 80% nemocných s diabetem 2. typu (Klein, Klein et al. 1989; Sosna, Bouček et al. 2001). Pokročilá stadia diabetické retinopatie jsou i v současné době v rozvinutých zemích hlavní příčinou vzniku získané slepoty.

Hlavními rizikovými faktory pro vznik retinopatie jsou délka trvání diabetu, úroveň metabolické kompenzace, hypertenze, hyperlipidémie a přítomnost diabetické nefropatie (Sosna, Bouček et al. 2001). V praxi nejčastěji používaná klasifikace se opírá o oftalmoskopický nálezn (Bragge, Gruen et al. 2011) a dělí diabetickou retinopatii na prostou (neproliferativní) a proliferativní. U prosté retinopatie se abnormality omezují na vlastní sítnici. U proliferativní retinopatie dochází v odpovědi na rozsáhlejší intraretinální kapilární uzávěry k ischemii sítnice a následné cévní novotvorbě s prorůstáním novotvořené fibrovaskulární tkáně z povrchu sítnice do oblasti sklivce. Komplikacemi proliferativní retinopatie jsou intraretinální nebo sklivcová krvácení, odchlípení sítnice, novotvorba cév v oblasti duhovky a glaukom. Samostatný problém ohrožující zrakovou ostrost zejména u nemocných s diabetem 2. typu představuje klinicky signifikantní makulární edém v rámci diabetické makulopatie.

1.2.2. Diabetická nefropatie

V etiopatogenezi diabetické nefropatie se nejspíše uplatňují již dříve popsáné patobiochemické pochody, které se odvíjejí od dlouhodobé hyperglykémie (Cooper 1998). Zcela mimořádný význam při vzniku a zejména rozvoji nefropatie však mají hemodynamické faktory, především zvýšení glomerulárního a systémového tlaku (Mogensen 1989). Ve fázi manifestní nefropatie tak nekorigovaná arteriální hypertenze vede až k dramaticky rychle postupujícímu zhoršování renální funkce.

Klinický průběh diabetické nefropatie lze rozdělit do několika stadií (Gross and et al. 2005). Prvním často ještě reverzibilním projevem *incipientní nefropatie* je *mikroalbuminurie*, tedy zvýšené vylučování albuminu do moči, které je nutno prokázat specifickými metodami. Po několikaletém období přechází mikroalbuminurie do klinické *proteinurie* ($\geq 0,5$ g/24 hodin), která spolu s hypertenzí a nastupujícím poklesem renální funkce charakterizuje stadium *manifestní nefropatie*. Klesající funkce ledvin vede ke

vzniku *renální insuficience* přecházející nakonec do stadia *chronického selhání ledvin* s potřebou náhrady jejich funkce.

Diabetická nefropatie je ve vyspělých zemích hlavní příčinou chronického selhání ledvin (Rosolowsky, Skupien et al. 2011). Mezi nemocnými, kteří jsou v těchto zemích včetně České republiky léčeni některou z forem dialýzy (hemodialýza nebo peritoneální dialýza), tvoří pacienti s diabetem nejpočetnější skupinu. Při rozvoji diabetické nefropatie dochází u nemocných také k zhoršení metabolického vyrovnání diabetu a urychlení vývoje dalších diabetických komplikací včetně diabetické retinopatie a neuropatie. Postižení ledvin se snižováním renální funkce je i významným rizikovým faktorem pro vznik aterosklerotických komplikací, které jsou odpovědné za vysokou mortalitu nemocných s nefropatií.

1.2.3 Diabetická neuropatie

Diabetická periferní neuropatie postihuje podle údajů různých autorů 30-50% nemocných s diabetem a je nejčastější formou neuropatie v rozvinutých zemích (Wheeler, Singh et al. 2007). Zahrnuje řadu klinických projevů, které se obvykle dělí na *fokální* a *symetrické*, z nichž se zdaleka nejčastěji vyskytuje *distální symetrická neuropatie* (Tabulka 2).

Nervové poškození v důsledku dlouhodobé hyperglykémie je zprostředkováno řadou vzájemně souvisejících patogenetických mechanismů, které vedou k snížení aktivity Na⁺, K⁺ - ATPázy a vazokonstrikci s poklesem krevního průtoku endoneuriem a hypoxií nervu (Obrosova 2007). Tyto změny vedou iniciálně snížení rychlosti nervového vedení a v konečné fázi až ke ztrátě axonů.

Nejzávažnějšími klinickými důsledky diabetické neuropatie jsou *poruchy čítí*, které obvykle v kombinaci s dalšími faktory (cévní změny, deformity nohou) mohou vést až ke vzniku projevů *syndromu diabetické nohy* (Boulton, Kirsner et al. 2004). Zdrojem značného utrpení pro nemocné bývají úporné, často obtížně ovlivnitelné, převážně noční *bolesti*, které se mohou s deficitem čítí kombinovat.

Méně často, většinou u nemocných ve věku nad 50 let a s delším trváním diabetu, se vyskytují *fokální neuropatie* s postižením okohybných nervů nebo typu *proximální neuropatie* (diabetická amyotrofie) dolních končetin či *úžinových syndromů* (Said 2007). Ke klinickým projevům pokročilé neuropatie v oblasti autonomního nervového systému patří ortostatická hypotenze, diabetická gastroparéza a průjmy, neuropatický měchýř či erektilní poruchy a anhidróza dolních končetin.

Tabulka 2

Dělení diabetické periferní neuropatie

Symetrické	Fokální	Autonomní
Chronická distální senzitivní a senzitivně-motorická neuropatie Akutní bolestivá neuropatie	Proximální motorická neuropatie Mononeuropatie – trunkální, okulomotorické Úžinové syndromy	Ortostatická hypotenze Diabetická gastroparéza Diabetické průjmy Neuropatický měchýř Erektivní dysfunkce Anhidróza dolních končetin

1.3. Syndrom diabetické nohy a makrovaskulární komplikace

Syndrom diabetické nohy je definován jako ulcerace nebo destrukce tkání na nohou spojená s infekcí a různými stupni neuropatie a vaskulopatie dolních končetin. V patogenezi rozvinutého onemocnění se uplatňují především periferní i autonomní neuropatie a ischemická choroba dolních končetin (Jirkovská, Bouček et al. 2001), které ve svém důsledku vedou k nedostatečnému prokrvení, nevyrovnaným lokálním tlakům, porušené kloubní mobilitě a deformitám; důležitý je také efekt kouření. Ze zevních vyvolávajících příčin jsou nejdůležitější otlaky od nesprávné obuvi, drobné úrazy, ragády a plísňové infekce, jež se stávají vstupní branou bakteriální infekce. Terminálním řešením neovladatelných infekcí a gangrén dolních končetin jsou dosud v některých případech nízké nebo dokonce i vysoké amputační výkony (Morbach, Furchert et al. 2012). Syndrom diabetické nohy tak v řadě rozvinutých zemí včetně České republiky představuje hlavní důvod provádění amputací nezaviněných traumatem.

Přítomnost diabetu také zvyšuje téměř dvojnásobně (1,8x) celkovou úmrtnost a více než dvojnásobně (2,3x) vaskulární úmrtnost nemocných s diabetem (Seshasai, Kaptoge et al. 2011). Očekávaná délka přežití je po dovršení 50. roku života u nemocných s diabetem v průměru o 6 let kratší a 60% rozdíl v úmrtnosti lze přičíst na vrub úmrtí z vaskulárních příčin (Seshasai, Kaptoge et al. 2011). Hlavní příčinou úmrtí u obou typů diabetu je předčasně se manifestující ischemická choroba srdeční (Laing, Swerdlow et al. 2003). Riziko mozkové mrtvice je zvýšené 3-4x (Laing, Swerdlow et al. 2003). Postižení velkých cév je u diabetických nemocných více difúzní a distálnější a je provázené mediokalcinózou. Kardiovaskulární příhody mají vážnější konsekvence a efekt revaskularizačních zákroků bývá kratší.

2. Preventivní a léčebné ovlivnění rozvoje komplikací

Protože rozvoj komplikací diabetu závisí především na úrovni a délce trvání zvýšených hodnot glykémie, představuje snaha o dosažení normoglykémie základní preventivní i terapeutický přístup. Ukazuje se, že riziko rozvoje komplikací diabetu zaniká prakticky teprve při dlouhodobě normálních hodnotách glykémie (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group 1996; Stratton, Adler et al. 2000), uplatňuje se však již při pouhé poruše glukózové tolerance (Singleton, Smith et al. 2003) a dále téměř exponenciálně stoupá se zhoršující se kontrolou diabetu.

Studie Diabetes Control and Complications Trial (DCCT)(The Diabetes Control and Complications Trial Research Group 1993) u osob s diabetem 1. typu a studie United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS)(UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group 1998) s diabetem 2. typu jednoznačně ukázaly, že diabetická retinopatie, neuropatie a nefropatie se méně často nově manifestují nebo méně postupují u osob s dlouhodobě nižšími hodnotami glykovaného hemoglobinu, přičemž není rozhodující, jakým způsobem je jich dosaženo. Standardem léčby se proto u diabetiků 1. typu stala tzv. *intenzifikovaná inzulínová léčba*, která spočívá v aplikaci inzulínu minimálně 3x denně či s použitím inzulínové pumpy na základě pravidelného měření glykemií samotným pacientem („self-monitoring“). U diabetu 2. typu *intenzifikovaný léčebný režim* dnes znamená kromě důsledné edukace stupňovité uplatňování dietních a farmakologických postupů tak, aby se hodnoty glykovaného hemoglobinu HbA_{1c} pohybovaly v doporučeném rozmezí. Limitujícím faktorem pro dosažení normálních hodnot je ovšem nebezpečí závažných hypoglykemií (Cryer 2001) a cílové hodnoty se proto u pacientů s diabetem zaměřují na určitý kompromis, jehož míra vychází z odhadu individuálního rizika a také schopností pacienta dodržovat léčebný režim.

Moderní poznatky o patogenezi diabetických komplikací vedly k navržení terapeutických postupů, jež jsou přímo zaměřeny na inhibici některých klíčových patogenetických pochodů uvedených výše. Ačkoliv některé z nich, jako například inhibice tvorby glykačních produktů, inhibice aldózo-reduktázy, inhibice protein-kinázy C či inhibice specifických růstových faktorů dospěly do stádia klinických studií, žádný z těchto postupů není dosud klinicky ověřený a nestal se zatím standardem léčby.

Udržení hladin krevního cukru co nejbližší normálním hodnotám má rozhodující význam pro dlouhodobou prognózu pacientů s diabetem 1. typu. Při diabetu 2. typu je však diabetická porucha zpravidla součástí širšího *metabolického syndromu*, který zahrnuje také *hypertenzi* a *dyslipoproteinémii* a další rizikové faktory rozvoje aterosklerotického postižení. Organové komplikace a zejména makrovaskulární postižení jsou často přítomny již v době klinické diagnózy diabetu. I když vliv dobrého glykemického vyrovnání

na rozvoj mikrovaskulárních komplikací se rovněž podařilo prokázat, řada studií v nedávné době ukázala, že incidenci kardiovaskulárních a cerebrovaskulárních příhod a úmrtí z těchto příčin výrazně snižují zejména intervenční opatření na úrovni léčby hypertenze a hyperlipoproteinémie.

Hlavní prokázané rizikové faktory pro vznik komplikací diabetu, které je možné modifikovat léčbou, shrnuje tabulka 3.

Tabulka 3

Rizikové faktory pro vznik komplikací diabetu a aktuální cílové hodnoty léčby
(upraveno podle doporučení (Česká diabetologická společnost),

Rizikový faktor	Cílové hodnoty a metody léčby
Kompenzace diabetu (glykovaný hemoglobin HbA _{1c})	< 45 mmol/mol hemoglobinu (4,5%)*
Krevní tlak	< 130/80 mm Hg*
Dyslipidémie	Celkový cholesterol < 4,5 mmol/l LDL-cholesterol < 2,5 mmol/l
Index tělesné hmotnosti (BMI)	19-25 kg/m ²
Hyperagregabilita trombocytů	Acetylsalicylová kyselina při věku > 40 let
Kouření	Zanechání kouření
Sociální zajištění	Rodinné zázemí (snižuje riziko)

*u osob s vysokým vaskulárním rizikem modifikované, méně ambiciózní cíle

2.1. Transplantační léčba u nemocných s diabetem

2.1.1 Transplantace inzulín produkující tkáň

Navzdory pokrokům v léčbě diabetu pomocí nových prostředků farmakoterapie a technického vybavení není úprava metabolismu u nemocných s diabetem zdaleka dokonalá. Při léčbě není dosahováno trvalé euglykémie s dlouhodobou normalizací hodnot glykovaného hemoglobinu a dochází mnohdy k závažným výkyvům hladiny glykémie do oblasti vysokých a nízkých hodnot. Zejména riziko vzniku těžkých hypoglykemií je limitujícím faktorem pro uplatnění řady léčebných postupů v dostatečné intenzitě k dosažení cílových hodnot terapie u mnoha nemocných. U velké části pacientů se proto i nadále rozvíjejí výše uvedené pozdní metabolické komplikace s mnohdy invalidizujícím až fatálním průběhem.

Alternativní možnost terapie proto představují různé formy transplantace inzulín produkující tkáň, kterou lze provádět izolovaně nebo v kombinaci s transplantací jiných pro nemocného potřebných či dokonce vitálních orgánů či tkání. Ačkoliv je dnes tato léčba používána téměř výhradně v případě diabetu 1. typu, tedy onemocnění s úplným deficitem produkce inzulínu, biologická náhrada selhávajících či chybějících beta-buněk by mohla představovat optimální způsob léčby pro oba hlavní typy diabetu. Pouze aktivní beta-buňky jsou totiž schopny dlouhodobě nahradit inzulínovou sekreci podle okamžité metabolické potřeby, tedy především dle aktuální úrovně glykémie, a to bez rizika navození hypoglykémie.

V současné době jsou k dispozici dvě metody náhrady beta-buněk: **transplantace celého pankreatu (orgánová transplantace)** a **transplantace izolovaných Langerhansových ostrůvků**. Obě metody jsou závislé na nabídce vhodných orgánů od zemřelých dárců. Pokud by se transplantace inzulín produkující tkáň měla někdy v budoucnu stát vhodnou metodou pro léčbu diabetu v širším měřítku, bylo by nutné proto nalézt další, alternativní tkáňové zdroje.

Schopnost transplantované tkáň úplně nebo téměř úplně normalizovat hladiny krevního cukru i další metabolické parametry u pacientů s diabetem je nejlépe dokumentována po *orgánové transplantaci pankreatu* (Demartines, Schiesser et al. 2005). Tato operace je ovšem náročná a vyžaduje celkovou anestezii. Přináší také riziko celé řady komplikací, jako jsou trombóza, infekce, krvácení či únik pankreatické šťávy, které mohou vyžadovat další operační revize (White, Shaw et al. 2009). Jsou proto zcela logické snahy o to, aby byla transplantována jen část orgánu, která je zodpovědná za produkci inzulínu a dalších endokrinních hormonů a představuje jen velmi malou část jeho objemu, tedy Langerhansovy ostrůvky. Za tímto účelem jsou Langerhansovy ostrůvky v průběhu komplikovaného laboratorního procesu izolovány z dárcovského pankreatu a

později v průběhu transplantace infundovány dnes nejčastěji do portálního oběhu příjemce. Vlastní transplantační výkon zde nevyžaduje laparotomii a je tak pochopitelně mnohem jednodušší a pro příjemce potenciálně méně rizikový než transplantace celého pankreatu. Jako komplikující problém u všech typů transplantací dosud trvá následná celoživotní potřeba imunosupresivní terapie s jejími vedlejšími účinky a potenciálními riziky.

Historicky v rámci orgánové transplantace nejdříve převažovala metoda transplantace s použitím pouze segmentu pankreatu, jehož vývod byl obliterován polymerní látkou. Od 90. let se rozvíjela metoda transplantace celého pankreatu se segmentem duodena a drenáží pankreatické sekrece nejdříve do močového měchýře a nyní již prakticky pouze fyziologicky do tenkého střeva příjemce. V současné době se orgánová transplantace pankreatu používá v naprosté většině případů v rámci kombinované transplantace se štěpem ledviny u nemocných s komplikovaným průběhem diabetem 1. typu, kteří díky diabetické nefropatii dospěli do stadia chronického selhání ledvin (White, Shaw et al. 2009).

I když stále v důsledku technických problémů dochází k časně ztrátě přibližně deseti procent štěpů pankreatu a dlouhodobě ztrácí menší část štěpů funkci i v důsledku imunologicky podmíněného odhojování - rejekce, je dnes dosahováno dobrých výsledků s nezávislostí na zevním inzulinu po 1 roce u 80-90 a po 5 letech od transplantace přibližně u 60-70% příjemců (Gruessner and Sutherland 2005). O něco méně úspěšné jsou izolované transplantace pankreatu, které jsou obvykle prováděny u velmi úzké skupiny nemocných s extrémně labilním průběhem diabetu 1. typu a ohrožením na životě v důsledku poruchy rozpoznávání hypoglykemií. Dosažení dlouhodobé funkce transplantovaného pankreatického štěpu s praktickou normalizací glukózového metabolismu kromě odstranění potřeby aplikace inzulinu a rizika akutních metabolických komplikací dává předpoklad snížení rizika rozvoje nebo dokonce i možnost regrese dlouhodobých komplikací diabetu (Boggi, Rosati et al. 2013). Zejména z hlediska dosažení dlouhodobé normalizaci glukózového metabolismu je dosud méně úspěšná transplantace Langerhansových ostrůvků, kde je proto aktuálně hlavním cílem dosažení alespoň částečné funkce se zamezením výskytu závažných hypoglykemií.

Přes určité rozdíly ve výsledcích mezi jednotlivými kategoriemi příjemců (kombinovaná transplantace pankreatu a ledviny u chronického selhání ledvin versus izolovaná transplantace pankreatu u neuremických pacientů s diabetem 1. typu) a nepochybná rizika poměrně náročného operačního výkonu však má transplantace pankreatu prokazatelně příznivý efekt na přežívání nemocných a rizikové faktory makrovaskulárních komplikací. Ve zcela recentní retrospektivní analýze z anglického Manchestru byla ve skupině příjemců transplantace pankreatu významně nižší mortalita (8%) než u osob

v čekací listině, které transplantaci nepodstoupily (30%)(van Dellen, Worthington et al. 2013). Ve studii Luana a spol. došlo u osob po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu ve srovnání s nemocnými po izolované transplantaci ledviny k významnému zlepšení krevního tlaku a úpravě dyslipidémie (Luan, Miles et al. 2007).

2.1.1.1. Vliv transplantace pankreatu na vývoj mikroangiopatických komplikací diabetu

2.1.1.1.1. Diabetická retinopatie

Nemocní s diabetem 1. typu vstupující do programu transplantace pankreatu, zejména kombinované s transplantací ledviny v případě chronického selhání ledvin, mají obvykle pokročilé formy diabetické retinopatie; nezdá se, že mezi nimi i nemocní s již přítomnou praktickou ztrátou vize. Iniciální, převážně krátkodobé studie sledující vývoj nálezů na očním pozadí po úspěšné transplantaci tak nebyly schopny prokázat významný reparativní efekt dlouhodobé normoglykémie po transplantaci ve srovnání se skupinami nemocných, u nichž byla transplantace neúspěšná (Ramsay, Goetz et al. 1988; Petersen 1990).

S narůstajícími počty a zlepšující se dlouhodobou úspěšností pankreatických transplantací však byl očekávaný pozitivní, převážně preventivně stabilizující vliv dlouhodobé normoglykémie v několika studiích přece jen zaznamenán. Kožnarová a spol. prokázali vyšší výskyt zlepšení nebo stabilizace fundoskopických nálezů a nižší potřebu dodatečné laserové fotokoagulační terapie u normoglykemických nemocných po minimálně 1 roce a po 3 letech od kombinované transplantace pankreatu a ledviny ve srovnání s nemocnými s nefunkčním pankreatickým štěpem či po izolované transplantaci ledviny (Kožnarová, Saudek et al. 2000). K podobným výsledkům dospěli při sledování pacientů (medián 17 měsíců) po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny i autoři z Pisy (Giannarelli, Coppelli et al. 2005).

2.1.1.1.2. Diabetická nefropatie

Efekt dlouhodobé normalizace glykémie po transplantaci pankreatu na ledvinnou tkáň byl zkoumán srovnáním laboratorních parametrů a biopsií ledvin u nemocných s diabetem 1. typu po izolované transplantaci ledviny oproti transplantaci ledviny následované transplantací pankreatu či v rámci kombinované transplantace ledviny a pankreatu. Pacienti s transplantovaným pankreatem vykazovali ve štěpu ledviny menší výskyt morfologických projevů nastupující diabetické nefropatie než nemocní s izolovanou renální transplantací (Bilous, Mauer et al. 1989; Wilczek, Jaremko et al. 1995).

Transplantace pankreatu po předchozí transplantaci ledviny prokazatelně zlepšuje přežívání renálního štěpu (Browne, Gill et al. 2011).

Přelomovou prací hodnotící efekt normalizace glukózového metabolismu po transplantaci pankreatu na laboratorní a morfologické projevy diabetické nefropatie publikovali Fioretto et al. (Fioretto, Steffes et al. 1998). Longitudinálně v ní sledovali 8 nemocných s diabetem 1. typu a počínajícím diabetickým onemocněním ledvin, kteří podstoupili izolovanou transplantaci pankreatu. Kromě snížení renálního vylučování albuminu prokázali autoři v renálních biopsiích provedených s odstupem od úspěšné transplantace pankreatu zlepšení v tloušťce glomerulární a tubulární bazální membrány, frakčním objemu mezangia a středním objemu glomerulu. Tyto změny však byly patrné až po deseti letech od transplantace pankreatu, což ukazuje na jen pomalou reverzibilitu strukturálních změn způsobených diabetickou metabolickou odchylkou.

2.1.1.1.3. Diabetická neuropatie

V minulosti byly publikovány výsledky několika studií vlivu navození dlouhodobé normoglykémie po transplantaci pankreatu na průběh diabetické neuropatie. Například v transplantačním centru univerzity v Minneapolisu, které je centrem s největším počtem provedených transplantací pankreatu ve světě, sledovali Navarro a spol. nemocné až po dobu 10 let po úspěšné transplantaci (Navarro, Sutherland et al. 1997). Při elektrofyziologických vyšetřeních došlo v časně fázi k zvýšení rychlosti vedení motorickými i senzitivními nervy (známky funkční úpravy) a později zejména na horních končetinách i k vzestupu amplitudy svalového a nervového akčního potenciálu (nepřímé známky regenerace nervů). Transplantace pankreatu s dlouhodobým navozením normoglykémie tak může vést k určitým reparativním změnám některých nervů v případech s mírnějším poškozením především v oblasti horních končetin.

Zatímco však u periferní (somatické) neuropatie byl po transplantaci zaznamenán určitý pozitivní vývoj, jsou závěry z několika málo prací týkajících se efektu dlouhodobé normoglykémie na autonomní nervový systém dosud mnohem méně přesvědčivé. V řadě studií včetně naší starší práce (Bouček, Bartoš et al. 1991) nebyly v potransplantačním období prokázány úpravy v kvantifikovatelných testech kardiorespiračních reflexů v porovnání s předtransplantačními nálezy a s vývojem v kontrolních skupinách po izolované transplantaci ledviny. Analýza dosud publikovaných výsledků ukazuje, že i ve zcela ojedinělých případech deklarovaného pozitivního efektu jde při velmi dlouhých obdobích sledování spíše o pouhou stabilizaci nálezů v porovnání s kontrolní skupinou (Ziegler 2003). Příčinou jsou pravděpodobně již velmi pokročilé strukturální změny nervu a možná i nízká reparační schopnost tenkých myelinizovaných a nemyelinizovaných autonomních vláken.

Při hodnocení možných příčin je nutno vzít do úvahy i metodické otázky. Zatímco pro sledování somatické neuropatie byly převážně používány standardizované, přesně kvantifikovatelné a dobře reprodukovatelné elektrofyziologické metody, bylo hodnocení autonomní neuropatie prováděno jen jedním či dvěma testy kardiovaskulárních reflexů. Tento postup nepostačuje k spolehlivému posouzení stavu obou hlavních komponent periferního vegetativního nervového systému (sympatikus a parasympatikus). Ojedinelé byly použity i další metodiky, jejichž validita pro longitudinální sledování je sporná (např. testy vasomotoriky a elektrogastrografie (Hathaway, Abell et al. 1994)). Z těchto důvodů vytvářeli někteří autoři různé kompozitní indexy, jejichž konstrukce však může být zatížena subjektivními hledisky (Navarro, Sutherland et al. 1997).

Pro sledování vývoje autonomní neuropatie po transplantaci inzulín produkující tkáně byla dosud pouze v jediné práci (Cashion, Hathaway et al. 1999) použita spektrální analýza variability srdeční tepové frekvence, která informuje o regulační aktivitě autonomního nervového systému (parametr spektrální výkon) celkově i v jeho jednotlivých komponentách. Projevy aktivity těchto subsystémů lze tak do jisté míry přiřadit některým polohám na frekvenční ose frekvenčního spektra (nízkofrekvenční LF 0,06-0,15 Hz oblast: vagus a sympatikus; vysokofrekvenční HF 0,15-0,50 Hz oblast: převážně vagus) (Bellavere, Balzani et al. 1992). Byly publikovány informace o větší citlivosti spektrální analýzy k předchozí dlouhodobé úrovni glykémie a k zachytu časných reverzibilních fází autonomní neuropatie v porovnání se standardními sestavami testů kardiovaskulárních reflexů (Mäkimattila, Schlenzka et al. 2000). Ve výše zmíněné práci autorů Cashion a spol. bylo popsáno při 24-hodinovém monitorování srdeční tepové frekvence po 12 měsících od kombinované transplantace ledvina/ pankreas jisté zlepšení celkového spektrálního výkonu a výkonu v nízkofrekvenční části spektra (Cashion, Hathaway et al. 1999).

Závažnost postižení při autonomní neuropatii může kolísat od subklinických laboratorních nálezů až po invalidizující příznaky a projevy. Pomineme-li ne zcela jasnou souvislost mezi přítomností autonomní neuropatie a případy náhlé smrti, je nejvýznamnějším klinickým projevem pokročilého stadia autonomní neuropatie v kardiovaskulární oblasti *ortostatická hypotenze*. U těchto pacientů selhávají vasokonstrikční mechanismy, umožňující plynulý návrat krve do oblasti srdce v průběhu změny polohy do stáje. Pro souvislost s porušenou aktivací sympatiku svědčí i změny kinetiky katecholaminů. Zatímco u zdravých osob dochází do 5. minuty po postavení k přibližně zdvojnásobení až ztrojnásobení hladiny noradrenalinu, tento nárůst u pacientů s pokročilou autonomní neuropatií často chybí. Dosud byly publikovány jen zcela ojedinelé studie analyzující kinetiku katecholaminů u nemocných v pokročilých stádiích diabetické nefropatie, kde je výskyt ortostatické hypotenze relativně častým problémem

(Watkins and Edmonds 1999). Zatím také nejsou k dispozici informace o efektu kombinované transplantace ledviny a pankreatu s následnou dlouhodobou normoglykemií a úpravou uremického stavu na kinetiku katecholaminů při ortostáze .

Vzhledem k pokročilosti diabetické neuropatie u kandidátů transplantace, kdy již mnohdy nelze odpovědi na příslušné funkční testy vůbec evokovat, by bylo k průběžnému sledování efektu dlouhodobé normoglykemie po transplantaci pankreatu možno využít i opakovaných morfologických vyšetření s přímým zobrazením nervových vláken. Ač byly publikovány jednotlivé případy opakovaného použití klasické biopsie n.suralis i po transplantaci pankreatu (Beggs, Johnson et al. 1990), je tato metoda pro longitudinální sledování efektu navození normoglykemie příliš invazivní. V posledním období se však objevily nové minimálně invazivní (vyšetření epidermálních nervových vláken v kožních biopsiích (Lauria 2007)) nebo zcela neinvazivní vyšetřovací metody (vyšetření nervových vláken v rohovce pomocí korneální konfokální mikroskopie (Malik, Kallinikos et al. 2003)), které jsou využitelné pro sledování efektu léčebných intervencí i u větších souborů nemocných s diabetickou periferní neuropatií

Využití techniky kožní biopsie s kvantitativní analýzou epidermálních nervových vláken (ENV) k sledování vlivu dlouhodobé normoglykemie po transplantaci pankreatu na vývoj diabetické neuropatie navrhli, avšak nerealizovali Kennedy se spol.(Kennedy, Wendelschafer-Crabb et al. 1996). ENV jsou tenká nemyelinizovaná senzoričká vlákna vycházející z malých neuronů spinálních ganglií a vstupující do epidermis jako terminální větve subepidermálních nervových plexů. Procházejí všemi vrstvami epidermis prakticky až do oblasti stratum corneum. Imunohistochemicky nebo pomocí nepřímé fluorescence lze tato vlákna označit protilátkou proti neuron-specifické ubiquitinové hydroláze (protein gene product, PGP 9.5) a stanovit jejich lineární denzitu ve vztahu k jednotce délky epidermis (Barohn 1998). Snížení denzity nebo dokonce úplné chybění ENV bylo prokázáno u periferní neuropatie různého původu včetně diabetické (McCarthy, Hsieh et al. 1995), HIV (Polydefkis, Yiannoutsos et al. 2002) nebo idiopatické neuropatie (Holland, Crawford et al. 1998). Tyto nálezy byly přítomny i u řady nemocných, kde nebylo možno prokázat žádné změny při standardním vyšetření nervového vedení nebo kvantitativním senzoričkým testováním (Holland, Stocks et al. 1997), což ukazuje na význam vyšetření pro diagnostiku postižení tenkých vláken. Výsledky stanovení denzity ENV v kožních biopsiích jsou vysoce reprodukovatelné s nízkou mírou variability při opakovaném hodnocení stejným nebo jiným vyšetřujícím (Smith, Howard et al. 2005). Ve studii Smithe a spol. sledující efekty diety a fyzické aktivity na projevy neuropatie u osob s porušenou glukozovou tolerancí autoři prokázali již po 1 roce intervence signifikantní zvýšení hustoty epidermálních nervových vláken v kožních biopsiích z proximálních partií dolních končetin (Smith, Russell et al. 2006).

2.1.2. Transplantační léčba chronického selhání ledvin u diabetu

Transplantace ledviny představuje optimální léčbu nemocných v terminálním stadiu onemocnění ledvin (Tonelli, Wiebe et al. 2011). Pacient je zejména zbaven potřeby trvalé vazby na hemodialyzační centrum i subjektivních obtíží a problémů spojených s mimotělní dialýzou, resp. několikrát denně opakovaných povinností v souvislosti s prováděním peritoneální dialýzy. Stejně jako nediabetickým nemocným poskytuje transplantace ledviny i pacientům s diabetem oproti dialyzačním metodám nesrovnatelně lepší kvalitu života i nejdelší dobu přežití. V retrospektivním hodnocení výsledků za desetileté období 1989-1999 ve Skotsku bylo relativní riziko úmrtí nemocných s diabetem po transplantaci ledviny sníženo na třetinu ve srovnání s těmi, kteří setrvali v pravidelné dialyzační léčbě (Oniscu and et al. 2005).

Možné varianty transplantační léčby se u obou základních typů diabetu poněkud liší. U nemocných s diabetem 1. typu je nejvýhodnější metodou kombinovaná transplantace ledviny a pankreatu, u které dojde i k navození dlouhodobé normoglykemie bez potřeby aplikace inzulínu, což přináší i možnost snížení rizika vzniku a progresu mikro- a makrovaskulárních komplikací (Ojo, Meier-Kriesche et al. 2001). U izolovaných transplantací ledviny poskytuje lepší výsledky jak z hlediska přežití nemocných tak i štěpů přenos ledviny od žijících, obvykle příbuzných nebo blízkých dárců než transplantace od dárců zemřelých. V obou těchto případech však může být transplantace ledviny později doplněna i následnou transplantací pankreatu.

Nemocní s diabetem 2. typu jsou ovšem ve většině případů vyššího věku a mají často řadu přidružených komplikací. V mnohých centrech tak byli po dlouhou dobu indikováni k transplantační léčbě jen zcela výjimečně. Nicméně již v roce 1992 publikovali Hirschl a spol. informace, že zejména u osob s diabetem 2. typu bez závažných přidružených komplikací je přežívání po transplantaci ledviny lepší než při dialyzační léčbě (Hirschl, Heinz et al. 1992). Ovšem krátce poté vzhledem k vysoké mortalitě a morbiditě svých nemocných Nyberg a spol. indikaci transplantační léčby u diabetu 2. typu znovu zpochybnili (Nyberg, Hartso et al. 1995). Ve srovnávací studii Kronsona a spol. z roku 2000 bylo u diabetu 2. typu 5leté přežívání nemocných, resp. ledvinných štěpů 61%, resp. 53%. Tyto výsledky však byly horší než výsledky dosažené u mladších pacientů s diabetem 1. typu a také u nediabetických pacientů starších 50 let. Naopak příznivě byl hodnocen efekt transplantace ledviny v malé studii zahrnující 23 pacientů, kterou provedli Van Mieghem a spol. (Van Mieghem, Fonck et al. 2001), v níž bylo dosaženo vynikajícího 5letého přežití nemocných (83%). Ke skutečně exaktnímu zhodnocení prognózy transplantovaných pacientů s diabetem 2. typu jsou však nezbytné srovnávací studie s nemocnými bez diabetu, které by eliminovaly i možný efekt rozdílného výskytu dalších faktorů s potenciálním vlivem na osud nemocných a štěpů, například věku, imunologické

shody mezi dárcem a příjemcem, stavu kardiovaskulárního aparátu atd. Takto provedené studie však v minulosti nebyly k dispozici.

Definitivní určení typu diabetu pro výběr transplantační metody se u nemocných léčených inzulinem opírá o vyšetření hladiny C-peptidu (u diabetu 2. typu $> 0,2$ nmol/l); pomocnými kritérii pro diagnózu diabetu 2. typu jsou zejména vyšší BMI a věk při vzniku onemocnění a rovněž víceletý odstup od vzniku diabetu do zahájení léčby inzulinem (Bouček and Saudek 2005). Naprostou nezbytností je podrobné a systematické předtransplantační vyšetření případného kandidáta, jehož kritickými součástmi jsou zejména zhodnocení stavu kardiovaskulárního aparátu, vyloučení aktivní infekce a nádorových onemocnění. Výhodným postupem, který například podle údajů amerického transplantačního registru za období 1997-2002 snižoval potransplantační riziko úmrtí příjemce kombinované transplantace ledviny a pankreatu až na polovinu, je provedení výkonu ještě před zahájením dialyzační léčby (preemptivně) (Becker and et al. 2006). Stejně výhodná je u obou typů diabetu i preemptivní transplantace izolované ledviny od žijících dárců.

Přes nesporné výhody transplantační léčby je třeba u diabetických pacientů po transplantaci počítat s vyšším rizikem komplikací a dlouhodobě horší prognózou než u osob bez diabetu. U izolované transplantace ledviny je pochopitelně i nadále třeba usilovat o optimální metabolickou kompenzaci diabetu, která může být komplikována diabetogenním působením některých imunopresiv (inhibitory kalcineurinu, mTOR inhibitory, kortikoidy). Časté jsou zejména vaskulární a infekční komplikace, které představují hlavní příčiny úmrtí diabetických pacientů po transplantaci. Specifickým problémem mohou být i v potransplantačním období komplikace typu syndromu diabetické nohy nezřídka vedoucí až k amputacím, v jejichž patogenezi sehrávají hlavní úlohu periferní diabetická neuropatie, ischemická choroba dolních končetin a lokální infekce, k níž přispívá nezbytná imunopresivní léčba. Pro dosažení dlouhodobých úspěchů je proto v péči o transplantované diabetické pacienty nezbytná dostatečná zkušenost transplantačního centra a úzká spolupráce specialistů z řady oborů (transplantační chirurg, nefrolog, diabetolog, případně cévní specialista, intervenční radiolog, kardiolog a další).

II. Hlavní hypotézy, cíle a metodiky disertační práce

Disertační práce by měla přispět k zpřesnění hodnocení vlivu transplantační léčby na vývoj vybraných pozdních komplikací diabetu a prognózu nemocných s diabetem a chronickým selháním ledvin

1. Předkládané hypotézy

1.1. Dosavadní informace o sledování nemocných po orgánové transplantaci

pankreatu svědčí pro možnost příznivého efektu dlouhodobé potransplantační normoglykemie na vývoj periferní diabetické neuropatie. Tyto údaje se však týkají vyšetření hodnotících převážně funkci silných nervových vláken, zatímco v oblasti tenkých (autonomních) vláken zatím nebyla žádná zlepšení zaznamenána, což však může být i důsledkem nedostatečné délky sledování a/nebo nedostatečné výpovědní hodnoty dosud použitých postupů. Novější metodiky typu spektrální analýzy variability srdeční tepové frekvence či morfologická vyšetření s přímým hodnocením denzity tenkých epidermálních nervových vláken v kožních biopsiích by mohly být v tomto ohledu přínosnější. Předkládanou hypotézou tak je, že longitudinálním sledováním nemocných pomocí zmíněných metodik bude možné prokázat, že dlouhodobá normalizace, případně významné zlepšení glukózového metabolismu po orgánové transplantaci pankreatu povede k stabilizaci či dokonce regresi diabetické neuropatie včetně postižení tenkých nervových vláken.

1.2. Transplantace ledviny je nejúspěšnější metodou léčby chronického selhání ledvin různé etiologie jak z hlediska prognózy nemocných, tak z hlediska dosažené kvality života. U diabetických pacientů jsou v tomto ohledu k dispozici přesvědčivé údaje o výhodnosti renální transplantace především u mladších osob s diabetem 1. typu. Transplantace ledviny u obvykle starších pacientů s diabetem 2. typu však byly v minulosti prováděny jen výjimečně. Částí autorů byly výsledky ve srovnání s ostatními skupinami nemocných hodnoceny kriticky a vzhledem k trvale nedostatečnému počtu dostupných orgánů k transplantaci byla dokonce vhodnost transplantační léčby u této skupiny pacientů zpochybňována. Skutečně exaktně provedená srovnání výsledků u větších souborů nemocných však dosud nebyla provedena. Předkládanou hypotézou druhé části práce je, že při analýze eliminující vliv ostatních faktorů mimo přítomnost diabetu bude možné prokázat, že je prognóza nemocných s diabetem 2. typu po transplantaci ledviny v základních ukazatelích již srovnatelná s prognózou nemocných bez diabetu.

2. Hlavními cíli disertační práce jsou

- 2.1. zhodnotit u nemocných s diabetem 1. typu vliv orgánové transplantace pankreatu s následnou dlouhodobou normalizací glukózového metabolismu na projevy diabetické neuropatie tenkých vláken
- 2.2. srovnat efekt transplantace ledviny na prognózu nemocných s diabetem 2. typu a chronickým selháním ledvin a osob bez diabetu

3. Vyšetřované soubory a metodika

- 3.1. Nemocní s diabetem 1. typu před a po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu s dobrou funkcí obou štěpů a nezávislostí na zevním inzulinu

3.1.1. Autonomní neuropatie

- vyšetření testů kardiorespiračních reflexů (včetně odpovědi katecholaminů na postavení – ortostázu) a spektrální analýzy variability srdeční tepové srdeční před a po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny

3.1.2. Periferní neuropatie – morfologie tenkých vláken

- vyšetření počtu epidermálních vláken v kožních biopsiích z oblasti dolních končetin před a po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu

- 3.2. Nemocní s diabetem 2. typu a chronickým selháním ledvin po transplantaci ledviny

- retrospektivní analýza základních parametrů efektu transplantace (přežívání nemocných a štěpů ledviny; výskyt vybraných komplikací) a jejich srovnání s nemocnými bez diabetu

4. Základní statistické metody

- 4.1. Srovnání výsledků u nemocných s diabetem před a po transplantaci - párový t-test, resp. Wilcoxonův test; srovnání s kontrolním souborem zdravých osob dvou výběrový t-test, resp. Mann-Whitney test

- 4.2. Kumulativní křivka přežívání nemocných a štěpů ledviny podle Kaplan-Meiera; srovnání křivek přežívání mezi nemocnými s diabetem a nemocnými s ostatními příčinami chronického selhání ledvin pomocí log rank testu.

III. Výsledky

1. Diabetická neuropatie u nemocných s diabetem 1. typu po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu

1.1. Autonomní neuropatie

1.1.1. Testy kardiovaskulárních reflexů a spektrální analýza variability tepové frekvence

Celkem bylo vyšetřeno 82 nemocných s diabetem 1. typu ve stadiu chronické renální insuficience nebo selhání ledvin léčených úspěšnou kombinovanou transplantací ledviny a pankreatu (Tx L+P; poměr pohlaví muži/ženy 43/39, průměrného věku (směrodatná odchylka) v době Tx 41 (9) roků a trvání diabetu 26 (7) roků.

1.1.1.1. Efekt transplantační léčby s navozením dlouhodobé normoglykemie a odstraněním uremického stavu byl primárně sledován ve skupině 29 nemocných, kdy byla příslušná vyšetření provedena před a alespoň jednou po (25 (15) měsíců) Tx L+P (Tabulky 1 A, B).

1.1.1.2. Možný vývoj v nálezech v potransplantačním období byl posuzován u skupiny 60 nemocných po Tx L+P, u nichž byla k dispozici alespoň dvě po sobě jdoucí vyšetření v období 20 (20) a 43 (27) měsíců po Tx L+P (Tabulky 2 A, B).

1.1.1.3. Výsledky vyšetření ve všech obdobích byly u nemocných porovnány se skupinou 20 věkově srovnatelných zdravých osob (Tabulky 3 A, B).

1.1.1.4. K vyloučení efektu pouhé eliminace uremického stavu na průběh autonomní neuropatie byly výsledky v pooperačním období porovnány se skupinou 13 nemocných po izolované transplantaci ledviny nebo po kombinované transplantaci s odstraněním pankreatického štěpu nebo zánikem jeho funkce do 3 měsíců od transplantace (skupina Tx L). (Tabulky 4 A, B)

K vyšetření byl použit soubor následujících standardních testů kardiovaskulárních reflexů (modifikovaná sestava podle Ewinga) s výpočtem celkem 14 sledovaných parametrů:

Variabilita tepové frekvence při klidném (component variance - CV a průměr čtverců rozdílů následných R-R intervalů - MSSD) a hlubokém dýchání se 6 respiračními cykly za minutu (CV, MSSD a rozdíl (I-E) a podíl (I/E) tepové frekvence při nádechu a výdechu).

Reakce tepové frekvence a krevního tlaku na postavení (ortostázu) (poměr 30. a 15. R-R intervalu po postavení (30:15) a maximálního a minimálního R-R intervalu (max/min) po postavení, brzdný index (Brake Index, BI) a rozdíl mezi systolickým a diastolickým krevním tlakem před a po postavení (Δ sTK, Δ dTK)

Reakce tepové frekvence na Valsalvův manévr (Valsalvův kvocient (VR))

Spektrální analýzou variability tepové frekvence s využitím rychlé Fourierovy transformace byly hodnoceny ve 3 polohách (leh 1, stoj, leh 2) následující parametry:

Frekvenční analýza - spektrální výkon v nízkofrekvenční (LF) a vysokofrekvenční oblasti (HF) a celkový spektrální výkon (TP); časová analýza - parametr MSSD

Při vyšetření byly pro registraci a analýzu variability tepové frekvence použity telemetrický systém VariaPulse TF3 (Sima Media Olomouc) a k měření krevního tlaku oscilometrický tonometr Omron M4 (Matsusaka Co., Japonsko).

- 1.1.1.1. Výsledky longitudinálního vyšetření autonomní neuropatie u nemocných před a po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu (Tx L+P) (n = 29, glykovaný hemoglobin HbA_{1c} před vs. po Tx L+P 67 (11) vs. 31 (2) mmol/mol, p < 0,001)

Tabulka 1 A. Testy kardiovaskulárních reflexů (modifikovaná sestava dle Ewinga)

Test - Parametr	Před Tx L+P	Po Tx L+P- poslední vyšetření	p
Klidné dýchání - SD (ms)	14,8 (11,6)	15,5 (9,8)	NS
Klidné dýchání - CV _{r-r} (%)	1,8 (1,4)	1,7 (0,9)	NS
Klidné dýchání - MSSD (ms ²)	176 (358)	198 (276)	NS
Hluboké dýchání - SD (ms)	21,9 (26,6)	24,7 (20)	p<0,05
Hluboké dýchání - MSSD (ms ²)	721 (2760)	457 (1117)	NS
Hluboké dýchání - CV _{r-r} (%)	2,6 (2,9)	2,7 (2)	NS
Hluboké dýchání - I-E (min ⁻¹)	4,2 (5,1)	4,1 (3,6)	NS
Hluboké dýchání - I/E	1,07 (0,1)	1,06 (0,06)	NS
Ortostáza – 30 : 15	1,01 (0,04)	1 (0,05)	NS
Ortostáza - max/min	1,08 (0,08)	1,08 (0,07)	NS
Ortostáza - Δ sTK (mmHg)	20 (19)	30 (22)	NS
Ortostáza - Δ dTK (mmHg)	9 (10)	11 (15)	NS
Ortostáza – BI (%)	8,3 (7,7)	7,7 (6,9)	NS
VR	1,22 (0,15)	1,26 (0,21)	NS

SD – směrodatná odchylka R-R intervalu

Tabulka 1 B. Spektrální analýza variability tepové frekvence

Poloha - parametr	Před Tx L+P	Po Tx L+P - poslední vyšetření	p
Leh 1- LF (ms ²)	38 (62)	37 (48)	NS
Leh 1- HF (ms ²)	40 (63)	72 (147)	NS
Leh 1- TP (ms ²)	78 (116)	108 (156)	NS
Leh 1- MSSD (ms ²)	149 (214)	154 (222)	NS
Stoj - LF (ms ²)	22 (26)	32 (57)	NS
Stoj - HF (ms ²)	13 (24)	16 (19)	NS
Stoj - TP (ms ²)	35 (35)	48 (66)	NS
Stoj - MSSD (ms ²)	60 (127)	45 (49)	NS
Leh 2 - LF (ms ²)	50 (118)	48 (99)	NS
Leh 2 - HF (ms ²)	51 (67)	77 (118)	NS
Leh 2 - TP (ms ²)	101 (171)	125 (196)	NS
Leh 2 - MSSD (ms ²)	199 (291)	228 (283)	NS

Wilcoxonův test a párový t-test před a po logaritmické transformaci

S výjimkou směrodatné odchylky EKG R-R intervalu (SD) při hlubokém dýchání ($p < 0,05$) nedošlo u žádného parametru v rámci standardních testů kardiiovaskulárních reflexů ani spektrální analýzy variability tepové frekvence v období po Tx L+P k signifikantnímu zlepšení.

- 1.1.1.2. Výsledky longitudinálního sledování autonomní neuropatie v období po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu (Tx L+P)
(n = 60, HbA_{1c} 33 (4) vs. 32 (4) mmol/mol, první vs. poslední vyšetření po Tx L+P; p= NS)

Tabulka 2 A. Testy kardiovaskulárních reflexů (modifikovaná sestava dle Ewinga)

Test - Parametr	Po Tx L+P - první vyšetření	Po Tx L+P – poslední vyšetření	p
Klidné dýchání - SD (ms)	14,1 (9,5)	14,3 (8,4)	NS
Klidné dýchání - CV _{r-r} (%)	1,6 (1)	1,6 (0,8)	NS
Klidné dýchání - MSSD (ms ²)	330 (1302)	132 (208)	NS
Hluboké dýchání - SD (ms)	19,8 (14)	23,2 (16,7)	NS
Hluboké dýchání - MSSD (ms ²)	330 (717)	324 (850)	NS
Hluboké dýchání - CV _{r-r} (%)	2,4 (1,6)	2,6 (1,8)	NS
Hluboké dýchání - I-E (min ⁻¹)	4 (3,1)	3,5 (2,9)	NS
Hluboké dýchání - I/E	1,06 (0,05)	1,05 (0,05)	NS
Ortostáza - 30:15	1 (0,04)	1 (0,04)	NS
Ortostáza - max/min	1,08 (0,06)	1,06 (0,07)	p<0,05
Ortostáza - ΔsTK (mmHg)	29 (29)	38 (28)	NS
Ortostáza - ΔdTK (mmHg)	11 (17)	13 (13)	NS
Ortostáza - BI (%)	7,6 (5,7)	5,8 (6,3)	p<0,05
VR	1,28 (0,18)	1,26 (0,17)	NS

SD – směrodatná odchylka R-R intervalu

Tabulka 2 B. Spektrální analýza variability tepové frekvence

Poloha - parametr	Po Tx L+P - první vyšetření	Po Tx L+P - poslední vyšetření	p
Leh 1- LF (ms ²)	51 (66)	42 (69)	NS
Leh 1- HF (ms ²)	32 (34)	54 (115)	NS
Leh 1- TP (ms ²)	83 (85)	96 (142)	NS
Leh 1- MSSD (ms ²)	113 (139)	135 (198)	NS
Stoj - LF (ms ²)	35 (48)	39 (61)	NS
Stoj - HF (ms ²)	10 (13)	17 (25)	p<0.05
Stoj - TP (ms ²)	45 (53)	56 (78)	NS
Stoj - MSSD (ms ²)	47 (86)	54 (68)	0,05
Leh 2 - LF (ms ²)	58 (100)	49 (85)	NS
Leh 2 - HF (ms ²)	54 (67)	74 (165)	NS
Leh 2 - TP (ms ²)	113 (144)	123 (214)	NS
Leh 2 - MSSD (ms ²)	160 (190)	214 (402)	NS

Wilcoxonův test a párový t-test

Při opakovaném vyšetření v potransplantačním období nebyl zjištěn jednoznačný trend k zlepšování nálezů ani vyšetřením standardních kardiovaskulárních testů (zde zachycena zhoršení 2 parametrů reakce na postavení – ortostázu) ani při spektrální analýze variability tepové frekvence (významně zlepšena pouze HF komponenta ve stoji a parametr časové analýzy MSSD ve stoji).

1.1.1.3. Výsledky vyšetření autonomní neuropatie u nemocných před a po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu (Tx L+P) v porovnání se zdravými kontrolami

Tabulka 3 A. Testy kardiovaskulárních reflexů (modifikovaná sestava dle Ewinga)

Test - Parametr	Před Tx L+P (n= 29)	Po Tx L+P- první (n= 60)	Po Tx L+P- poslední (n= 82)	Kontroly (n=20)
Klidné dýchání - SD (ms)	14,8 (11,6) ***	14,5 (9,6)***	14,9 (8,4) ***	48,1 (28,2)
Klidné dýchání - CV _{r-r} (%)	1,8 (1,4) ***	1,7 (1) ***	1,6 (0,8) ***	4,9 (2,3)
Klidné dýchání- MSSD (ms ²)	176 (358) ***	349 (1297) ***	130 (198) ***	3265 6609)
Hluboké dýchání – SD (ms)	21,9 (26,6) ***	20 (14) ***	22,5 (15,2) ***	81,1 (29,1)
Hluboké dýchání – MSSD (ms ²)	721 (2760) ***	342 (719) ***	303 (726) ***	3333 (3395)
Hluboké dýchání - CV _{r-r} (%)	2,6 (2,9) ***	2,4 (1,6) ***	2,5 (1,6) ***	8,9 (3,1)
Hluboké dýchání - I-E (min ⁻¹)	4,2 (5,1) ***	4 (3,1) ***	3,4 (2,5) ***	15,5 (7)
Hluboké dýchání - I/E	1,07 (0,1) ***	1,06 (0,05) ***	1,05 (0,04) ***	1,27 (0,12)
Ortostáza - 30:15	1,01 (0,04)**	1 (0,04) ***	1 (0,04) ***	1,11 (0,14)
Ortostáza - max/min	1,08 (0,08) ***	1,08 (0,06) ***	1,06 (0,06) ***	1,42 (0,2)
Ortostáza - Δ sTK (mmHg)	20 (19)**	27 (23) ***	34 (23) ***	2 (9)
Ortostáza - Δ dTK (mmHg)	9 (10) ***	10 (14) ***	12 (13) ***	- 5 (5)
Ortostáza – BI (%)	8,3 (7,7) ***	7,7 (5,7) ***	6,1 (5,9) ***	36,6 (18,1)
VR	1,22 (0,15) ***	1,26 (0,17) ***	1,26 (0,17) ***	1,81 (0,35)

SD – směrodatná odchylka R-R intervalu

Tabulka 3 B. Spektrální analýza variability tepové frekvence

Poloha - parametr	Před Tx L+P (n=29)	Po Tx L+P - první (n=60)	Po Tx L+P - poslední (n=82)	Kontroly (n=20)
Leh 1- LF (ms ²)	38 (62)***	51 (66) ***	44 (65) ***	735 (982)
Leh 1- HF (ms ²)	40 (63) ***	32 (34) ***	50 (95) ***	1240 (2372)
Leh 1- TP (ms ²)	78 (116) ***	83 (85) ***	93 (126) ***	1974 (3275)
Leh 1- MSSD (ms ²)	149 (214) ***	113 (139) ***	135 (189) ***	3211 (5827)
Stoj - LF (ms ²)	22 (26) ***	35 (48) ***	35 (50) ***	794 (1516)
Stoj - HF (ms ²)	13 (24) ***	10 (13) ***	16 (22) ***	317 (575)
Stoj - TP (ms ²)	35 (35) ***	45 (53) ***	51 (64) ***	1111 (1776)
Stoj - MSSD (ms ²)	60 (127) ***	47 (86) ***	52 (61) ***	951 (1810)
Leh 2 - LF (ms ²)	50 (118) ***	58 (100) ***	48 (72) ***	636 (503)
Leh 2 - HF (ms ²)	51 (67) ***	54 (67) ***	66 (138) ***	1474 (2750)
Leh 2 - TP (ms ²)	101 (171) ***	113 (144) ***	113 (181) ***	2109 (3066)
Leh 2 - MSSD (ms ²)	199 (291) ***	160 (190) ***	199 (354) ***	3790 (6514)

** p<0,01,*** p<0,001 versus kontroly - Mann-Whitney U test a dvouvýběrový t-test

Ve všech obdobích ve vztahu k transplantaci byly u nemocných v porovnání se zdravými kontrolami (věk 42 (5) roků) zjištěny vysoce signifikantně horší výsledky všech standardních kardiovaskulárních testů i parametrů spektrální analýzy variability tepové frekvence.

1.1.1.4. Výsledky vyšetření autonomní neuropatie u nemocných po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu (Tx L+P) v porovnání s pacienty po izolované transplantaci ledviny (Tx L)

Tabulka 4 A. Testy kardiovaskulárních reflexů (modifikovaná sestava dle Ewinga)

Test - Parametr	Po Tx L+P (n=29)	Po Tx L (n=13)	p
Klidné dýchání - SD (ms)	13,6 (7,4)	11,8 (4,9)	NS
Klidné dýchání - CV _{r-r} (%)	1,5 (0,7)	1,4 (0,6)	NS
Klidné dýchání – MSSD (ms ²)	109 (171)	72 (89)	NS
Hluboké dýchání – SD (ms)	20,4 (13)	23,8 (18,7)	NS
Hluboké dýchání- MSSD (ms ²)	289 (521)	472 (819)	NS
Hluboké dýchání - CV _{r-r} (%)	2,7 (1,4)	2,7 (1,9)	NS
Hluboké dýchání - I-E (min ⁻¹)	3 (1,9)	4,2 (3,3)	NS
Hluboké dýchání - I/E	1,05 (0,03)	1,06 (0,05)	NS
Ortostáza - 30:15	1 (0,03)	1,01 (0,04)	NS
Ortostáza - max/min	1,05 (0,05)	1,05 (0,05)	NS
Ortostáza - Δ sTK (mmHg)	38 (25)	28 (20)	NS
Ortostáza - Δ dTK (mmHg)	14 (12)	10 (9)	NS
Ortostáza – BI (%)	5,7 (5,4)	5,5 (5,6)	NS
VR	1,27 (0,14)	1,4 (0,5)	NS

SD – směrodatná odchylka R-R intervalu

Tabulka 4 B. Spektrální analýza variability tepové frekvence

Poloha - parametr	Po Tx L+P (n=29)	Po Tx L (n=13)	p
Leh 1 - LF (ms ²)	45 (80)	30 (30)	NS
Leh 1 - HF (ms ²)	42 (53)	22 (24)	NS
Leh 1 - TP (ms ²)	87 (107)	52 (50)	NS
Leh 1 - MSSD (ms ²)	134 (162)	66 (80)	NS
Stoj - LF (ms ²)	33 (44)	24 (30)	NS
Stoj - HF (ms ²)	16 (16)	12 (16)	NS
Stoj - TP (ms ²)	49 (47)	36 (44)	NS
Stoj - MSSD (ms ²)	61 (65)	47 (71)	NS
Leh 2 - LF (ms ²)	45 (64)	38 (48)	NS
Leh 2 - HF (ms ²)	53 (91)	27 (27)	NS
Leh 2 - TP (ms ²)	98 (139)	65 (73)	NS
Leh 2 - MSSD (ms ²)	164 (297)	91 (97)	NS

Mann-Whitney U test a dvouvýběrový t-test

Přes významný rozdíl v dlouhodobé úrovni metabolické kompenzace (Tx L+P vs. Tx L: HbA_{1c} 34 (4) vs. 68 (9) mmol/mol, $p < 0,001$) se výsledky vyšetření standardních kardiovaskulárních testů a spektrální analýzy variability tepové frekvence v pooperačním období významně nelišily od nálezů u nemocných po izolované transplantaci ledviny (> 48 měsíců od Tx L+P; průměrná doba od transplantace Tx L+P vs. Tx L: 68 (27) vs. 76 (44) měsíců, $p=NS$) srovnatelného věku a úrovně funkce renálního štěpu (Tx L+P vs. Tx L: věk 42 (8) vs. 39 (7) roků, S-kreatinin 145 (38) vs. 153 (30) $\mu\text{mol/l}$, obojí $p=NS$).

1.1.2. Reakce krevního tlaku a hladin katecholaminů na postavení (ortostázu)

Bylo vyšetřeno celkem 14 nemocných s diabetem 1. typu (muži/ženy 8/6, průměrného věku (směrodatná odchylka) 44 (9) roků, s trváním diabetu 22 (6) roků), kteří byli zařazeni v čekací listině na kombinovanou transplantaci ledviny a pankreatu (Tx L+P) .

1.1.2.1. Odpověď krevního tlaku a kinetika katecholaminů v průběhu reakce na postavení byly porovnávány se skupinou 10 věkově srovnatelných zdravých osob (poměr pohlaví muži/ženy 5/5). (Tabulky 1, 2)

1.1.2.2. Vliv kombinované transplantace ledviny a pankreatu na odpověď krevního tlaku a kinetiku katecholaminů v průběhu ortostatické zkoušky byl hodnocen u podskupiny 12 nemocných (muži/ženy 7/5, věk 44 (12) a trvání diabetu 26 (7) roků) před a 10 (4) měsíců po úspěšné transplantaci. (Tabulky 3,4)

Vyšetření byla prováděna v ranních hodinách po minimálně osmihodinovém lačnění s vyloučením činitelů, které mohou ovlivnit činnost vegetativního nervového systému. Po zavedení periferního venózního katétru a 30 minutách klidu vleže byl po postavení opakovaně měřen systolický a diastolický krevní tlak (sTK, dTK), puls (P) a venózní hladiny noradrenalinu (NA) a adrenalinu (A) (v -1., 0., 1., 3., 5. a 10. minutě po postavení).

Hladiny katecholaminů byly stanoveny v Endokrinologickém ústavu pomocí HPLC (pumpa Shimadzu LC-6A, Kyoto, Japonsko) s fluorimetrickou detekcí (fluorescenční monitor Shimadzu RF-551) po kondenzaci s difenyletylendiaminem (Hušek, Malíková et al. 1990).

Rozdíly mezi skupinami byly statisticky hodnoceny analýzou rozptylu (ANOVA) a dvouvýběrovým Mann-Whitney U testem. K porovnání výsledků uvnitř skupin byl použit Wilcoxonův test.

(vzhledem k nesignifikantním rozdílům v hladinách katecholaminů mezi skupinami v průběhu ortostatické zkoušky jsou v následujících tabulkách kromě hladin v 0. minutě uvedeny jen hodnoty hladin noradrenalinu v 5. minutě po postavení)

1.1.2.1. Reakce krevního tlaku a změny hladiny katecholaminů při postavení

Tabulka 1.

Výsledky vyšetření v poloze vleže (0. minuta) u nemocných s diabetem 1. typu (DM 1; n=14) před kombinovanou transplantací ledviny a pankreatu (Tx L+P) a kontrol (n=10) (sTK, dTK, P - systolický, diastolický krevní tlak, puls; NA - noradrenalin, A - adrenalin)

	sTK (mm Hg)	dTK (mm Hg)	P (min ⁻¹)	NA (nmol/l)	A (nmol/l)
DM 1	144 (24)	87 (15)	75 (7)	1,58 (0,71)	0,26 (0,2)
Kontroly	112 (13)	76 (11)	65 (6)	1,36 (0,38)	0,22 (0,17)
p	< 0.01	NS	< 0.01	NS	NS

Tabulka 2.

Změny systolického tlaku (sTK) a hladiny noradrenalinu (NA) v 5. minutě po postavení u nemocných s diabetem 1. typu (DM 1; n=14) před kombinovanou transplantací ledviny a pankreatu (Tx L+P) a kontrol (n=10)

	DM 1		Kontroly	
	sTK (mm Hg)	NA (nmol/l)	sTK (mm Hg)	NA (nmol/l)
Min 0	144 (24)**	1,58 (0,71)	112 (13)	1,36 (0,38)
Min 5	114 (34)	2,43 (0,91)	113 (15)	2,33 (0,92)
Δ Min 5 - Min 0	- 30**	0,85	1	0,97
p (min 5 vs. min 0)	<0,001	<0,01	NS	<0,01

** p<0,01 DM 1 vs. Kontroly

Pacienti s diabetem 1. typu před Tx L+P měli významně vyšší klidové hodnoty systolického tlaku a došlo u nich v průběhu postavení k signifikantnímu poklesu systolického (-30 mm Hg) i diastolického (-9 mm Hg) krevního tlaku v porovnání s kontrolní skupinou. V rámci obou skupin však byl zaznamenán vzestup plasmatické hladiny noradrenalinu bez vzájemné významné odlišnosti mezi skupinami v průběhu testu (uniformní snížení hladin noradrenalinu nebylo překvapivě prokázáno ani u 3 nemocných s těžkou symptomatickou hypotenzí, pro kterou nebyli schopni setrvat vstoje do konce ortostatické zkoušky).

1.1.2.2. Efekt úspěšné kombinované transplantace ledviny a pankreatu (Tx L+P) na reakce krevního tlaku a změny hladin katecholaminů při postavení (ortostáze)

Tabulka 3.

Výsledky vyšetření vleže (0. minuta) u nemocných s diabetem 1. typu (DM 1; n=12) před a 10 (4) měsíců po úspěšné kombinované transplantaci ledviny a pankreatu (Tx L+P) (sTK, dTK, P - systolický, diastolický krevní tlak, puls; NA - noradrenalin, A - adrenalin)

	sTK (mm Hg)	dTK (mm Hg)	P (min ⁻¹)	NA (nmol/l)	A (nmol/l)
DM 1 před Tx L+P	155 (16)	92 (12)	75 (7)	1,69 (0,54)	0,33 (0,27)
DM 1 po Tx L+P	142 (17)	80 (6)	69 (11)	2,07 (0,99)	0,35 (0,24)
p	< 0.05	< 0.05	NS	NS	NS

Tabulka 4.

Změny systolického tlaku (sTK) a hladiny noradrenalinu (NA) v 5. minutě po postavení u nemocných s diabetem 1. typu (DM 1; n=12) před a 10 (4) měsíců po úspěšné kombinované transplantaci ledviny a pankreatu (Tx L+P)

	DM 1 před Tx L+P		DM 1 po Tx L+P	
	sTK (mmHg)	NA (nmol/l)	sTK (mmHg)	NA (nmol/l)
Min 0	155 (16)	1,69 (0,54)	142 (17)*	2,07 (0,99)
Min 5	131 (22)	2,46 (0,78)	125 (23)	3,45 (1,82)
Δ Min 5 - Min 0	- 24	0,77	- 17	0,97
p (min 5 vs. min 0)	<0,01	<0,05	<0,05	0,001

* p<0,05 po vs. před Tx L+P

V období po úspěšné kombinované transplantaci ledviny a pankreatu (Tx L+P) došlo k významnému snížení klidových hodnot systolického a diastolického tlaku bez dalších významnějších změn krevního tlaku a kinetiky katecholaminů v průběhu ortostatické zkoušky kromě hladiny noradrenalinu v 10. minutě po postavení (Po vs. Před Tx L+P 3,75 (1,82) vs. 2,47 (1) nmol/l, p<0,05).

1.1.2. Periferní neuropatie - morfologie tenkých vláken - vyšetření počtu epidermálních vláken (ENV) v kožních biopsiích

Byli vyšetřováni nemocní s diabetem 1. typu, kteří podstoupili transplantaci pankreatu (kombinovaná transplantace ledviny a pankreatu u nemocných s chronickým selháním ledvin – Tx L+P, následná transplantace pankreatu po předchozí transplantaci ledviny – Tx L(+P)), izolovaná transplantace pankreatu u neuremických příjemců – Tx P). Vyšetřena byla rovněž kontrolní skupina zdravých dobrovolníků.

Vstupní kožní biopsie (vždy dva vzorky z distální oblasti stehna a jeden vzorek z proximální oblasti bérce) byly provedeny ještě v průběhu hospitalizace bezprostředně po proběhlé transplantaci ledviny a pankreatu (ev. samotného pankreatu). První a druhá kontrolní biopsie byly u nemocných provedeny po uplynutí 18 (4), resp. 30 (5) měsíců od transplantace. K biopsiím byly použity průbojníky o průměru 3 mm (Stiefel Laboratories Ltd., Sligo, Irsko).

Analýza bioptických vzorků byla prováděna ve spolupráci s pracovníky Neurologické kliniky (vedoucí prof. Claudia Sommer) Univerzity ve Würzburgu, odkud byla rovněž převzata příslušná metodika do Pracoviště klinické a transplantační patologie v IKEM. Vzorky ze stehna a bérce byly zpracovány a vyhodnoceny v IKEM, druhý vzorek ze stehna byl po fixaci odeslán kurýrní poštou k paralelnímu vyhodnocení do Würzburgu.

Po fixaci (4% paraformaldehyd při 4^o C po dobu 3 hodin), kryoprotekci (10% sacharóza v 0,1M fosfátovém pufru) a zalití do média, (Tissue Tek, O.C.T. Compound, Sakura, Zoeterwoude, NL) byly tkáně zmrazeny (isopentan chlazený tekutým dusíkem) a uchovány při -80°C. Na řezech 40 µm silných byl proveden imunofluorescenční průkaz PGP 9.5 s použitím králičí polyklonální protilátky (Dako, Glostrup, Dánsko), poté provedena detekce myším protikráličím IgG konjugovaným s rhodaminem nebo C3 (Jackson Immuno Research, West Grove, PA, USA).

Vzorky byly zobrazeny mikroskopy s vybavením pro fluorescenci (v IKEM: digitální kamera C-5050Z na mikroskopu Olympus BX 51, Olympus Optical, Hamburg, Německo; ve Würzburgu: digitální kamera XC 003P na mikroskopu Zeiss Axiophot 2, Zeiss, Německo). Průměrný počet epidermálních nervových vláken (ENV) na 1 mm délky epidermis (denzita) ze tří řezů byl získán pomocí softwarů Olympus DP-SOFT (Software Imaging Systems, Münster, Německo) a Image Pro Plus 4.0 (Media Cybernetics, Leiden, Nizozemsko).

Současné klinické vyšetření diabetické neuropatie zahrnovalo vyšetření vibračního cití na noze pomocí elektrického vibrometru (Bio-Thesiometer, Bio-Medical Instruments, OH, USA) a vyšetření testů autonomní neuropatie pomocí systému VariaPulse TF3 (Sima Media, Olomouc, ČR).

2.1. Vstupní vyšetření u nemocných a kontrol

V publikaci (příloha 3) byla zpracována vyšetření prvních 16 transplantovaných nemocných (Tx; poměr pohlaví muži/ženy 7/ 9; ve věku 45 (8) roků; s trváním diabetu 27 (8 roků) bezprostředně (do 1 měsíce) po úspěšném provedení transplantace pankreatu (13 Tx L+P; 3 Tx P). Všichni nemocní vykazovali po transplantaci dobrou funkci transplantovaných štěpů, nebyli léčeni dialýzou a měli normální glykémie bez léčby inzulinem.

V kožních biopsiích z obou oblastí dolních končetin byla u nemocných zjištěna významně nižší denzita epidermálních nervových vláken než u zdravých kontrol. ENV zcela chyběla v bioptických vzorcích ze stehna, resp. z bérce u 7, resp. 12 příjemců pankreatického štěpu. U bioptických vzorků ze stehna hodnocených ve Würzburgu byly získány prakticky identické výsledky. Klinická neuropatie s prahem vibračního cití větším než 21 V byla kromě 1 osoby přítomna u všech příjemců.

Laboratorní výsledky (glykovaný hemoglobin a glykémie), výsledky kožních biopsií a prahu vibračního cití jsou uvedeny v Tabulce 1.

Tabulka 1.

Vstupní laboratorní výsledky (HbA_{1c} - glykovaný hemoglobin), denzita epidermálních nervových vláken (ENV/mm) a práh vibračního cití (vibration perception threshold - VPT) u transplantovaných nemocných (Tx) a zdravých kontrol (K)

	Tx (n=16)	K (n=10)	p
HbA _{1c} (mmol/mol) před Tx	67 (13)	38 (4)	<0.001
Lačná glykémie (mmol/l) po Tx	5.1 (0.7)	4.6 (0.4)	NS
ENV/mm – stehno - IKEM	0.7 (0.9)	9.7 (2.4)	<0.001
ENV/mm – stehno - Würzburg	0.7 (1.4)	8.5 (1.8)	<0.001
ENV/mm – bérce - IKEM	0.3 (0.9)	7.7 (3.2)	<0.001
VPT (V)	32 (8.9)	16.4 (3.3)	<0.001

Průměry (směrodatné odchytky)

1.1.2.1. Kontrolní vyšetření po 18 (4) měsících od transplantace ledviny a pankreatu, ev. izolované transplantace pankreatu

Kožní biopsie byly stejným způsobem opakovány u 16 nemocných (průměrného věku 46 (8) let; trvání diabetu 1. typu 28 (10 let) s dobrou funkcí štěpů a nezávislostí na zevním inzulínu (glykovaný hemoglobin HbA_{1c} 38 (4) mmol/mol; S-kreatinin 111 (24) μmol/l) v průměru 1 1/2 roku po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny. Výsledky byly srovnány s nálezy u 14 zdravých kontrol.

Nedošlo k žádné významné změně v denzitě epidermálních nervových vláken v kožních biopsiích z obou oblastí dolních končetin oproti vstupnímu vyšetření (biopsie stehno: IKEM 0.9 (2.1) ENV/mm; Würzburg: 1,0 (1.6) ENV/mm; biopsie bérce: IKEM: 0,4 (1,1) ENV/mm; vše $p > 0,05$ oproti vstupním hodnotám). Z biopsií vyšetřených v IKEM zcela chyběla ENV v 11 vzorcích ze stehna a v 10 vzorcích z bérce.

1.1.2.2. Kontrolní vyšetření po 30 (5) měsících od transplantace ledviny a pankreatu, ev. izolované transplantace pankreatu

Další kontrolní vyšetření po průměrné době dva a půl roku od transplantace pankreatu podstoupilo 20 pacientů (Tx L+P: n= 18, Tx L(+P): n= 1, Tx P: n=1; průměrného věku 47±9 let, s trváním diabetu 27±9 roků) s dlouhodobou normoglykemií a nezávislostí na zevním inzulínu a dostatečnou funkcí transplantované ledviny nebo vlastních ledvin (S-kreatinin 116±31 μmol/l).

U biopsií z oblasti stehna došlo ke zvýšení počtu vláken oproti vstupnímu vyšetření u 9 vzorků hodnocených v IKEM a 7 vzorků hodnocených ve Würzburgu. Zlepšení, která byla zjištěna jen na jednom z pracovišť, ve všech případech nepřesáhla hodnotu 1 ENV/mm a byla tedy nejspíše náhodnými jevy. U 4 nemocných, kde bylo zvýšení počtu ENV zjištěno v obou centrech, byly změny v počtu ENV vláken výraznější (medián: 4.1; rozsah 1.9 – 10,2 ENV/mm). Změny v počtu vláken ve skupině jako celku však statistické významnosti nedosáhly. K významným změnám nedošlo ani v klinických ukazatelích diabetické periferní a autonomní neuropatie, tedy prahu vibračního cití nebo v parametrech testů kardiovaskulárních reflexů. Výsledky vstupních a kontrolních vyšetření u 20 nemocných s dlouhodobou funkcí pankreatického štěpu jsou uvedeny v Tabulce 2, výsledky vyšetření autonomní neuropatie v Tabulce 3.

Výsledky u 18 nemocných po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu (Tx L+P) byly zpracovány pro publikaci (Příloha 4)

Tabulka 2.

Glykovaný hemoglobin (HbA_{1c}), práh vibračního cití (VPT) a denzita epidermálních nervových vláken (ENV/mm) u zdravých kontrol (K) a nemocných s diabetem 1. typu (DM 1) před a 30±5 měsíců po transplantaci (Tx)

	HbA _{1c} (mmol/mol)	VPT (V)	Stehno ENV/mm (IKEM)	Stehno ENV/mm (Würzburg)	Bérec ENV/mm (IKEM)
K (n = 14)	38 (4)*	16 (5)*†	11.4 (4.2)*†	8.9 (1.8)*†	8.0 (3.0)*†
DM 1 před Tx (n = 20)	67 (15)	34 (11)	0.7 (1.2)	0.7 (1.4)	0.3 (1.0)
DM 1 po Tx (n = 20)	35 (6)	35 (11)	1.5 (2.3)	1.4 (3.1)	0.3 (0.7)

Průměry (směrodatné odchylky)

* p< 0.001 K vs. DM před Tx

† p< 0.001 K vs. DM po Tx

Tabulka 3.

Výsledky testů autonomní neuropatie u nemocných s diabetem 1. typu před a 30±5 měsíců po transplantaci (Tx)

	Hluboké dýchání		30/15	Ortostáza max/min	Δ sTK	Valsalvův poměr
	I-E	I/E				
DM 1 před Tx (n=20)	5,65 (5,64)	1,09 (0,1)	1,0 (0,04)	1,08 (0,14)	39,05 (25,38)	1,33 (0,46)
DM 1 po Tx (n=20)	5,17 (4,99)	1,08 (0,08)	0,99 (0,03)	1,07 (0,07)	34,45 (21,91)	1,23 (0,14)

Všechny výsledky DM po Tx vs. DM před Tx, p>0,05

Test variability tepové frekvence (TF) při hlubokém dýchání: rozdíl a podíl max. TF v inspiriu (I) a min. TF v expiriu (E)

Změny TF při postavení - ortostáze : poměr 30. /15. a max. /min. R-R intervalu a změny systolického tlaku (sTK) po postavení

Valsalvův manévru: poměr max./min TF v průběhu manévru

1.1.2.3. Poslední kontrolní vyšetření po 8 (0,5) letech od kombinované transplantace ledviny a pankreatu (Tx L+P)

Poslední kontrolní kožní biopsie byly provedeny z dolní oblasti stehna u 12 nemocných s DM 1. typu (poměr pohlaví M/Ž 4/8, s věkem 44 (10) let a trváním DM 28 (10) po 8 (0,5) letech od kombinované transplantace ledviny a pankreatu s trvajícím dobrou funkcí transplantované ledviny (S-kreatinin 102 (21) $\mu\text{mol/l}$) a s normální glykemickou kontrolou (HbA_{1c} 37 (3) mmol/mol) a nezávislostí na zevním inzulinu. Ve vstupních biopsiích byla u všech příjemců Tx L+P přítomna těžká deplece epidermálních nervových vláken (Tx L+P versus Kontroly: 0.8 (1.3) vs. 11.4 (4.2) ENV/mm; $p < 0.001$) s úplným chyběním epidermálních nervových vláken v biopsiích u 7 nemocných po transplantaci. Poslední provedené biopsie nevykazovaly oproti vstupním vyšetřením žádné významné změny (ENV po 8 (0,5) letech: 1.4 ± 4.7 ENV/mm; $p > 0.05$ oproti vstupní hodnotě) s úplným chyběním epidermálních nervových vláken v biopsiích u 11 transplantovaných nemocných.

2. Výsledky transplantace ledviny u nemocných s diabetem 2. typu a chronickým selháním ledvin

Retrospektivně jsme analyzovali výsledky prvních transplantací ledvin od zemřelých dárců, které byly provedeny nemocným s diabetem v období od 1. 1. 1988 do 31. 12. 1998 v Institutu klinické a experimentální medicíny (IKEM) v Praze. Diagnóza diabetu a jeho typ byly určeny na základě údajů z předtransplantační dokumentace a všichni nemocní s diabetem 2. typu byli zařazeni do analýzy. Diagnóza diabetu byla stanovena na základě definice Světové zdravotnické organizace z roku 1985 nebo anamnézy užívání antidiabetické terapie. Diabetes mellitus 2. typu byl definován pomocí následujících kritérií: věk při diagnóze DM větší než 30 let, nezahájení léčby inzulinem dříve než 6 měsíců od stanovení diagnózy, nepřítomnost ketoacidózy v anamnéze, chybění absolutní závislosti na inzulinu a - pokud byla k dispozici - hladina lačného C-peptidu větší než 0,27 nmol/l.

Ze stejného transplantačního registru byli k jednotlivým nemocným s diabetem 2. typu na základě maximální shody v následujících kritériích individuálně vybráni do kontrolní skupiny nemocní bez diabetu rovněž transplantovaní v IKEM:

Rok transplantace (max. \pm 1 rok), pohlaví, věk (max. \pm 5 let), počet neshod v HLA A, B a DR antigenech (max. \pm 2), úroveň senzitivace - nejvyšší předtransplantační % protilátek proti panelu (PRA, panel reactive antibody), délka studené ischemie štěpu (max. \pm 5 hodin) a trvání dialyzační léčby (max. \pm 12 měsíců).

Potransplantační průběh byl analyzován na základě dat ze standardní transplantační dokumentace až do 31. 12. 1999 tak, aby doba potransplantačního sledování dosáhla u všech nemocných alespoň jednoho roku. Hlavními analyzovanými daty byla přežívání nemocných a štěpů ledvin, a to se zahrnutím (necenzorováním) i bez zahrnutí (cenzorováním) úmrtí nemocného s funkčním štěpem mezi příčiny selhání funkce štěpu.

Ve skupině diabetických pacientů trval diabetes od okamžiku zjištění 14 (7) roků a jeho léčba spočívala v aplikaci inzulinu u 37 (58%) osob, perorální antidiabetika užívalo 14 (22%) a pouze dietou bylo léčeno 13 (20%) nemocných. Diabetická nefropatie byla považována za příčinu selhání funkce ledvin u 52 (83%) nemocných, výsledky renální biopsie však byly k dispozici u pouhých 7 pacientů.

Předtransplantační klinická a laboratorní data transplantovaných nemocných obou skupin, které byla získána z nemocniční dokumentace, jsou uvedena v tabulce 1. Obě skupiny byly srovnatelné ve většině analyzovaných parametrů s výjimkou indexu tělesné hmotnosti (BMI), který byl statisticky významně vyšší ve skupině nemocných s diabetem 2. typu, a délky předtransplantační dialyzační léčby, jejíž trvání bylo významně delší u transplantovaných nemocných bez diabetu.

Obě skupiny se rovněž nelišily ve vybraných imunologických a s transplantačním výkonem a potransplantační imunosupresivní terapií souvisejících parametrech (Tabulka 1). Indukční léčba zaměřená proti T-lymfocytům byla použita stejně často v obou skupinách (14 osob s DM 2. typu vs. 13 kontrol) a chronická terapie sestávala u 98% nemocných v obou skupinách z trojice cyklosporin A, azathioprin a prednison.

Tabulka 1. Předtransplantační klinická a laboratorní data u nemocných s diabetem 2. typu a kontrolních nemocných bez diabetu

	DM 2. typu	Nemocní bez DM	p
Počet pacientů	64	64	
Poměr pohlaví muži/ženy	39/25	39/25	
Věk (roky)	55,9 (7,9)	55,4 (8,8)	0,69
BMI (kg.m ⁻²)	28,0 (3,9)	26,2 (4,4)	0,016
Kuřáci/nekuřáci (n)	27/31 (NA 6)	29/28 (NA 7)	0,64
Dialýza HD/CAPD (n)	56/6 (NA 2)	62/2	0,25
Trvání dialýzy (měsíce)	14,8 (12,1)	21,8 (16,5)	0,007
Hospitalizace pro IM (n)	7	4	0,54
Hospitalizace pro iktus (n)	6	2	0,28
Po amputaci (n)	4	0	0,12
S KV vyšetřením (n)	3 (NA 1)	3	1,00
S léčbou hypertenze (n)	45	41	0,37
S hypolipid. léčbou (n)	5 (NA 1)	3 (NA 1)	0,71
Systolický TK (mm Hg)	159 (23)	154 (25)	0,25
Diastolický TK (mm Hg)	87 (13)	89 (14)	0,41
Celk. cholesterol (mmol/l)	5,7 (1,6) (NA 14)	6,0 (1,1) (NA 30)	0,24
Triglyceridy (mmol/l)	2,6 (1,3) (NA 32)	2,8 (1,3) (NA 52)	0,72
Albumin (g/l)	42,0 (7,7) (NA 12)	42,7 (8,4) (NA 15)	0,67
Hematokrit	0,31 (0,06)	0,33 (0,06) (NA 3)	0,32
PRA (%)	23,8 (31,4)	24,3 (30,4)	0,42
Studená ischemie (hod.)	19,5 (4,7)	20,2 (4,0)	0,36
HLA neshody (n)	2,7 (1,1)	2,8 (1,1)	0,69

Průměry (směrodatné odchyly)

NA, počet osob bez údaje k dispozici; IM, infarkt myokardu; KV, kardiovaskulární; PRA, panel reactive antibody; HLA, human leukocyte antigen

2.1. Přežívání nemocných a štěpů ledviny a výskyt sledovaných komplikací

Průměrné trvání potransplantačního sledování bylo 37 (27), resp. 41 (31) měsíců ve skupině nemocných s diabetem, resp. skupině kontrol bez diabetu. Křivky přežívání nemocných a štěpů se v obou skupinách statisticky významně nelišily. Výsledky přežívání v obou skupinách po 1, 2, 3 a 5 letech jsou uvedeny v Tabulce 2.

Tabulka 2. Přežívání nemocných a štěpů po 1. transplantaci ledviny od zemřelého dárce v IKEM v letech 1988-1998

(úmrtí nemocných se ztrátou funkce štěpu byla cenzorována po 60 dnech od návratu k dialyzační léčbě; data přežívání štěpů jsou necenzorována i cenzorována pro úmrtí nemocných s funkčním štěpem);

	Diabetes mellitus 2. typu			Kontroly bez diabetu		
	Pacienti	Štěpy		Pacienti	Štěpy	
1 rok	85%	77%	84%*	84%	73%	82%*
2 roky	84%	71%	80%*	84%	73%	82%*
3 roky	77%	62%	77%*	82%	69%	77%*
5 let	69%	54%	77%*	74%	61%	77%*

Všechny rozdíly mezi odpovídajícími výsledky u nemocných s DM 2. typu a kontrol bez diabetu jsou statisticky nevýznamné

*cenzorováno pro úmrtí pacienta s funkčním štěpem

Při sloučení obou souborů pacientů a použití Coxova modelu proporcionálních rizik neměla přítomnost diabetu významný vliv na délku přežívání pacientů ani štěpů. Mezi ostatními analyzovanými faktory (pohlaví, BMI, věk, trvání dialyzační léčby, kouření, krevní tlak před transplantací) byl prokázán pouze negativní vliv věku na přežívání pacientů ($p=0,004$).

V průběhu sledovaného období zemřelo 27 diabetických pacientů a 19 kontrol, z toho s dosud funkčním štěpem ledviny (resp. do 60 dnů po selhání funkce) zemřelo ve skupině s diabetem, resp. bez diabetu 18, resp. 15 nemocných. Hlavními příčinami úmrtí byly v obou skupinách vaskulární komplikace (41 vs. 42%); rovněž shodný byl v obou skupinách i hlavní důvod selhání funkce štěpu ledviny, kterým bylo úmrtí pacienta (47 vs. 43%).

Z komplikací byl v obou skupinách statisticky významně rozdílný jen výskyt amputací končetin, ke kterým docházelo pouze ve skupině diabetických pacientů (8 osob; $p=0,01$ oproti nemocným bez diabetu).

IV. Diskuse

Rozsáhlé kontrolované studie prokázaly mimo jakoukoli pochybnost, že nejúčinnějším přístupem k chronickým diabetickým komplikacím je prevence jejich vzniku založená zejména na těsné kontrole glukózového metabolismu pomocí intenzifikované terapie již od okamžiku zjištění diabetu (The Diabetes Control and Complications Trial Research Group 1993; UK Prospective Diabetes Study (UKPDS) Group 1998). Postulát důsledné časně a trvalé korekce hyperglykemie vyplývá i ze skutečnosti, že zvrát vývoje v pozdních stadiích zejména mikrovaskulárních diabetických komplikací je již léčbou částečně či zcela neuskutečnitelný. Tento problém lze nejlépe dokumentovat u pokročilých stadií proliferativní diabetické retinopatie s výrazným snížením vízu, ale týká se také diabetické nemoci ledvin s masivní proteinurií dosahující nefrotické úrovně.

Jak bylo podrobněji zmíněno v úvodní části, jsou dosavadní data týkající se reverzibility diabetické neuropatie z tohoto hlediska méně přesná. Publikované výsledky jsou do značné míry závislé také na analyzované oblasti periferního nervového systému (somatické či autonomní nervstvo) a typu nervových vláken (myelinizovaná a nemyelinizovaná, silná a tenká apod.) a zvolených vyšetřovacích postupech a metodikách (klinické neurologické a kvantitativní sensorické vyšetření, elektrofyziologická vyšetření, testy autonomní nervového systému, kožní a nervové biopsie apod.). Tak například vnímavost nervových vláken různého typu k dlouhodobému zlepšení metabolické kompenzace diabetu může být různá. V prospektivní studii původně špatně kompenzovaných pacientů s diabetem 1. typu prokázali Ziegler a spol. při dlouhodobé dobré glukózové kontrole při elektrofyziologickém vyšetření zlepšení rychlosti nervového vedení na horních končetinách. Zlepšení rychlosti nervového vedení však nebylo dosaženo u senzitivních nervů dolních končetin a při hodnocení testy variability srdeční tepové frekvence ani v oblasti autonomního nervového systému (Ziegler, Dannehl et al. 1992)

Velmi významný je také časový faktor; vývoj diabetické neuropatie je poměrně pomalý, takže období sledování k záchytu změn musí být dostatečně dlouhé, minimálně několikaleté. Neuropatické příznaky či některé abnormality ve funkčních testech zjišťované ve fázi akutní metabolické dekompenzace diabetu byly v řadě krátkodobých studií zlepšeny po dosažení úpravy v úrovni glukózové kontroly (Hreidarsson 1981; Troni, Carta et al. 1984). Dlouhodobé studie vlivu intenzifikované inzulinové terapie (obvykle ve formě léčby inzulinovou pumpou) však přinesly rozporuplné výsledky (Lauritzen, Frost-Larsen et al. 1985; Jacobsen, Christiansen et al. 1988), kde ovšem svou roli mohlo sehrát i to, že tímto způsobem bylo dosaženo jen částečného zlepšení a nikoli úplné normalizace glukózového metabolismu.

Z tohoto hlediska je transplantace pankreatu s navozením dlouhodobé normoglykemie velice výhodnou intervenční metodou. V naprosté většině případů se však provádí u diabetických nemocných s velmi pokročilými stadii diabetických komplikací včetně renální insuficience, u nichž možné chybění efektu při navození normoglykemie nemusí znamenat, že zlepšení by nebylo možné u mírnějších forem postižení. Dosavadní výsledky sledování vlivu transplantace pankreatu na projevy diabetické periferní neuropatie ukazují na jisté zpomalení progresu poruch vedení motorickými a senzitivními nervy, avšak neprokazují žádný pozitivní účinek u kardiální autonomní neuropatie (Ziegler 2003). Obnova funkce tak u tenkých myelinizovaných a nemyelinizovaných vláken může být obtížnější nebo probíhat pomaleji než u silných myelinizovaných vláken.

Používanou metodikou však byly většinou standardní testy kardiovaskulárních reflexů – někdy dokonce jen jediný test - jejichž citlivost k záchytu změn při krátkém období sledování nemusí být dostatečná. Na druhou stranu již v úvodní části byly zmíněny jisté pozitivní efekty, které autoři Cashion a spol. zjistili u nemocných s diabetem 1. typu po transplantaci pankreatu při použití spektrální analýzy variability srdeční tepové frekvence v 24hodinovém záznamu (Cashion, Hathaway et al. 1999).

Vyšetření testů kardiovaskulárních reflexů, spektrální analýzy variability tepové frekvence a reakce katecholaminů na změnu polohy – ortostázu u transplantace pankreatu (Přílohy 1 a 3)

V našem longitudinálním sledování nemocných po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu (Příloha 1) jsme kromě několika standardních testů kardiovaskulárních reflexů používali i spektrální analýzu variability srdeční tepové frekvence v krátkodobém záznamu ve třech polohách. Před transplantací bylo ve srovnání se zdravými kontrolami ve všech polohách zjištěno extrémní snížení hodnot jak u frekvenční (spektrální výkon v nízkofrekvenční (LF) a vysokofrekvenční oblasti (HF) a celkový spektrální výkon (TP)) tak u časové analýzy (MSSD). Při opakovaných vyšetřeních v potransplantačním období nedošlo k žádné signifikantní změně a nebyly zjištěny ani žádné rozdíly oproti nemocným po transplantaci ledviny bez funkčního pankreatického štěpu. Obdobně nebyly zjištěny žádné změny v parametrech testů kardiovaskulárních reflexů včetně těch, u kterých byla po 12 měsících od transplantace jinými autory popsána jistá zlepšení (Valsalvův poměr)(Kennedy, Navarro et al. 1990; Hathaway, Abell et al. 1994). Tyto pozitivní nálezy však ve studii autorů Kennedy a spol. nepřetrvávaly v pozdějších obdobích.

Určitým nedostatkem našich výsledků je, že vyšetření nebyla u nemocných prováděna zcela systematicky v definovaných časových odstupech od transplantace. Žádné významné změny však nebyly zjištěny ani při analýze po jejich rozdělení do jednotlivých

časových období po transplantaci (24, 36 a 48 měsíců). Je nutné rovněž připustit, že celková délka období sledování nemusela být dostatečná. Přes tyto výhrady však naše nálezy svědčí pro velmi pokročilé a s vysokou pravděpodobností ireverzibilní změny autonomního nervového systému u nemocných s diabetem 1. typu podstupujících kombinovanou transplantaci ledviny a pankreatu. Spektrální analýza variability tepové frekvence nepřináší z hlediska diagnostiky možných úprav postižení v porovnání se standardními testy kardiovaskulárních reflexů nové informace.

Ortostatická hypotenze, definovaná obvykle jako pokles systolického tlaku ≥ 30 mmHg patří k projevům pokročilého stadia diabetické autonomní neuropatie (DAN). V naší práci jsme hodnotili kinetiku katecholaminů při změně polohy - ortostáze u pacientů s diabetem 1. typu a chronickou renální insuficiencí nebo se selháním ledvin zařazených do čekací listiny na kombinovanou transplantaci ledviny a pankreatu ve srovnání se zdravými kontrolami. Pacienti s DM měli významně vyšší klidové hodnoty systolického krevního tlaku, v ostatních parametrech včetně hladin katecholaminů se obě skupiny nelišily. U nemocných s DM došlo k signifikantnímu poklesu krevního tlaku v průběhu testu, který se významně lišil od změny v kontrolní skupině. V rámci obou skupin byl však zaznamenán vzestup plasmatické hladiny noradrenalinu bez vzájemné významné odlišnosti mezi skupinami. Hladina adrenalinu se v průběhu testu v obou skupinách neměnila. K dvojnásobnému zvýšení průměrné hodnoty noradrenalinu došlo i u nemocných s DAN, kteří pro symptomatickou hypotenzi nebyli schopni setrvat ve stoji. V období po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu došlo k signifikantnímu snížení klidových hodnot systolického a diastolického tlaku bez dalších významnějších změn krevního tlaku a kinetiky katecholaminů v průběhu ortostatické zkoušky.

Tyto výsledky dokládají, že za vznik ortostatické hypotenze jsou u těchto nemocných, včetně nemocných se symptomatickou hypotenzí při diabetické autonomní neuropatii, pravděpodobně odpovědné spíše jiné faktory než změny v kinetice plasmatické hladiny katecholaminů. Literární údaje o výsledcích vyšetření plasmatických hladin noradrenalinu a adrenalinu při změně polohy - ortostáze u pacientů s diabetickou autonomní neuropatií ostatně ukazují na různé typy kinetiky katecholaminů – od hypoadrenergní až po hyperadrenergní reakci (Cryer, Silverberg et al. 1978).

Vyšetření denzity epidermálních nervových vláken u transplantace pankreatu (Přílohy 2, 3 a 4)

U kandidátů transplantace pankreatu byla přítomna diabetická periferní neuropatie velmi pokročilého stupně provázená úbytkem až úplným chyběním tenkých nemyelinizovaných epidermálních vláken v oblasti dolních končetin. Po úspěšné transplantaci pankreatu s průměrným trváním normoglykémie dva a půl roku došlo v individuálních případech ke zvýšení počtu vláken v proximálnější oblasti stehna, tato změna však nebyla statisticky významná pro populaci diabetických pacientů po transplantaci pankreatu jako celek. Rovněž při vyšetření po osmiletém trvání normoglykémie po transplantaci pankreatu nebyla zjištěna žádná významná zlepšení oproti vstupní úrovni denzity epidermálních nervových vláken.

Tyto výsledky jsou v zásadě ve shodě s jen minimálním zlepšením pozorovaným při longitudinálním sledování diabetické neuropatie po transplantaci pankreatu pomocí klinických a neurofyziologických metod. Týká se to především vyšetření funkce tenkých nemyelinizovaných vláken, jakými jsou testy kardiovaskulárních reflexů k hodnocení přítomnosti autonomní neuropatie.

Nález z kontrolních vyšetření denzity epidermálních nervových vláken v kožních biopsiích v oblasti dolních končetin se však liší od nedávno publikovaných nálezů při nově používaném neinvazivním vyšetření, korneální konfokální mikroskopii. Ve skupině nemocných po kombinované transplantaci pankreatu a ledviny byla pomocí této metody po 6 a 12 měsících od transplantace zjištěna signifikantní zlepšení v počtu a morfologii nervových vláken v rohovce (Mehra, Tavakoli et al. 2007; Tavakoli, Mitu-Pretorian et al. 2013). Obdobně jako my však autoři sdělení nezjistili zlepšení u žádné jiné vyšetřovací metody diabetické neuropatie včetně denzity epidermálních nervových vláken v kožních biopsiích.

V předchozí práci autoři uvedené publikace prokázali, že u diabetických nemocných s neuropatií jsou změny korneálních nervů v přímém vztahu k postižení epidermálních vláken v kožních biopsiích (Quattrini, Tavakoli et al. 2007). Důvody rozdílných výsledků při obou vyšetřeních je třeba pravděpodobně hledat v rozdílné regenerativní schopnosti nervových vláken z různých oblastí. Je dobře známo, že diabetická neuropatie predilekčně poškozuje nejdelší nervová vlákna dolních končetin s typickým „punčochovitým“ rozložením postižení. Pro přece jen o něco větší regenerační potenciál nervů v proximálnějších oblastech svědčí i určité zvýšení počtu vláken v oblasti stehna u 4 pacientů v námi hodnoceném souboru. Příznivější efekt v oblasti stehna byl zaznamenán i u studií vlivu režimových opatření na denzitu epidermálních nervových vláken v kožních biopsiích u pacientů s poruchou glukózové tolerance a neuropatií (Smith, Russell et al.

2006). Lze také předpokládat, že zlepšení – pokud k němu vůbec dojde – by v distálnějších oblastech bylo zachytitelné až s velkým časovým odstupem od transplantace a po velmi dlouhém trvání normoglykemie. Příkladem jen pomalé reparace orgánových komplikací diabetu může být i longitudinální sledování biopsií ledvin s dosud normální funkcí avšak s histologickými známkami diabetické nefropatie. K ústupu těchto změn docházelo u nemocných s diabetem 1. typu a nefropatií až po 5-10 letech trvání normoglykemie po úspěšné izolované transplantaci pankreatu (Fioretto, Steffes et al. 1998).

Naše nálezy po osmi letech trvání normoglykemie však ukazují, že v některých případech diabetické neuropatie budou pokročilé strukturální změny se zánikem nervových vláken již pravděpodobně zcela ireverzibilní. U streptozotocinového myšního modelu diabetické neuropatie došlo k ireverzibilnímu zániku části populace sensorických neuronů spinálních ganglií a k jejímu obnovení nedošlo ani u podskupiny myší se spontánní obnovou funkce pankreatických ostrůvků a návratem k normoglykemii (Kennedy J.M. and Zochodne 2005). Rovněž klinické zkušenosti ukazují, že přes celkové dramatické zlepšení stavu a dlouhodobé prognózy příjemců rizika spojená s diabetickou neuropatií přetrvávají i po úspěšné kombinované transplantaci ledviny a pankreatu. Ve své nedávné retrospektivní analýze prokázali Matricali a spol. i po úspěšné kombinované transplantaci vysoký výskyt Charcotovy osteoartropatie, v jejíž patogenezi sehrává periferní neuropatie významnou roli (Matricali, Bammens et al. 2007). V mnohaletém období po transplantaci jsou také relativně časté i závažné formy syndromu diabetické nohy, i když se na těchto případech nepochybně kromě neuropatie často podílí i cévní postižení a vznik infekce. Ve skupině 200 příjemců, kteří podstoupili transplantaci pankreatu v IKEM po roce 1994, se podle údajů v transplantačním registru vyskytly komplikace typu syndromu diabetické nohy v celkem 62 případech.

Výsledky transplantace ledviny u nemocných s diabetem 2. typu (Příloha 5)

Naše studie ukázala, že výsledky transplantací ledvin u nemocných s diabetem 2. typu, minimálně na úrovni jednotlivého transplantačního centra s většími zkušenostmi, nemusí být významně horší než výsledky u srovnatelných nemocných s chronickým selháním ledvin bez diabetu. Vyšší počty úmrtí ve skupině pacientů s diabetem byly podmíněny zejména vyšší mortalitou diabetických pacientů až po selhání funkce štěpu ledviny a návratu k dialyzačnímu léčení, u něhož je horší prognóza osob s diabetem známou skutečností. Obdobně byl v obou skupinách nemocných srovnatelný i výskyt většiny sledovaných komplikací s výjimkou počtu amputací, ke kterým docházelo pouze u diabetických pacientů. Na tento závažný problém vyžadující intenzivní preventivní péči jak

po celou dobu zařazení v čekací listině, tak i v pooperačním období poukázali již v minulosti i další autoři (Foster, Snowden et al. 1995; Kalker, Pirsch et al. 1995).

Mění se přístup k volbě transplantace ledviny jako výhodné metody náhrady funkce ledvin u pacientů s diabetem 2. typu dokumentovaly i další studie provedené přibližně ve stejném období (Kronson, Gillingham et al. 2000; Van Mieghem, Fonck et al. 2001; Schiel, Heinrich et al. 2005). Předností naší studie ve srovnání s jinými však bylo i zohlednění řady dalších faktorů s možným vlivem na osud nemocných a štěpů v prováděné statistické analýze.

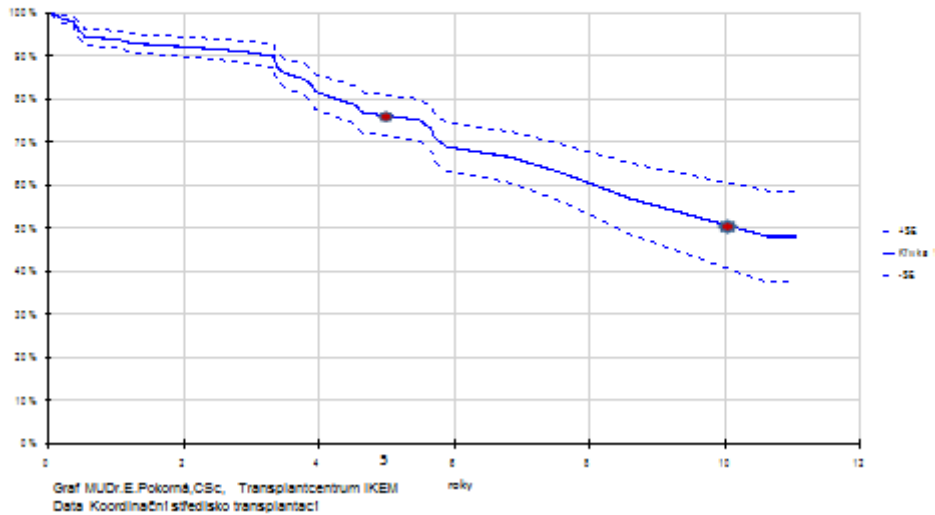
Důvody zlepšování výsledků transplantací u diabetických nemocných jsou nepochybně mnohočetné. K hlavním příčinám patří pečlivý výběr kandidátů zejména z hlediska stavu kardiovaskulárního aparátu, zlepšení chirurgických technik, nové typy a režimy imunosupresiv založené na kalcineurinových inhibitory, zdokonalení diagnostiky a léčby rejekce a nové prostředky k udržování optimální glukózové kontroly a kontroly krevního tlaku v potransplantačním období.

Zlepšující se osud nemocných s diabetem 2. typu po transplantaci ledviny v České republice dokumentují i data Koordinačního centra transplantací MZ ČR za následující období 2000-2010 (Obrázek 1). V souboru 158 transplantovaných pacientů s diabetem 2. typu se pětileté přežívání nemocných, resp. necenzorované přežívání štěpů ledvin oproti našim výsledkům dále zlepšilo a činí aktuálně přibližně 75, resp. 60%.

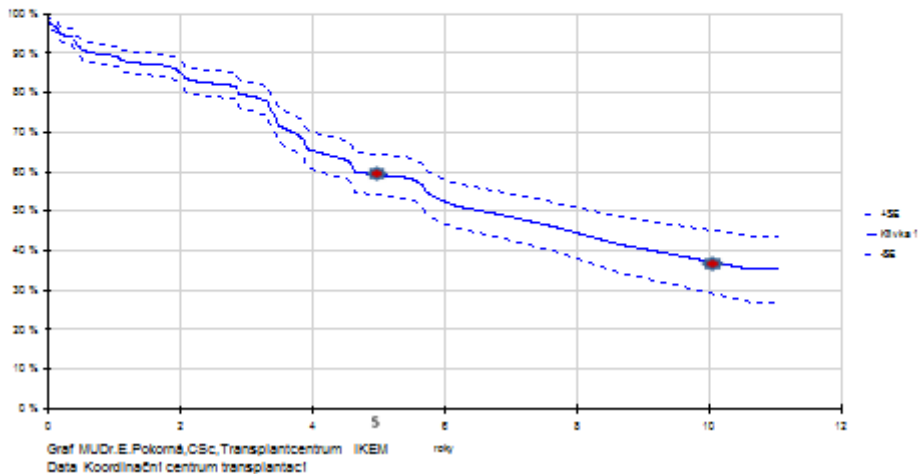
Přes postupné změny v přístupu k indikacím transplantace ledviny u osob s diabetem 2. typu je i nadále transplantační léčba pro tyto nemocné málo dostupná. Například ke konci roku 2010 bylo v ČR v čekací listině na transplantaci ledviny zařazeno jen 51 osob s pravděpodobnou diagnózou diabetu 2. typu, tedy přibližně pouhých 8 % všech čekatelů. Je nepochybné, že velká a pravděpodobně převažující část dialyzovaných nemocných s diabetem 2. typu již nebude s ohledem na vysoký věk a četnost přítomných přidružených komplikací schopna transplantaci podstoupit. Z přece jen příliš veliké disproporce mezi podílem těchto pacientů v dialyzované oproti transplantované populaci však lze usuzovat na dosud trvající nadměrně opatrný přístup k indikaci jejich zařazení do čekací listiny na transplantaci. Další, zejména dobře kontrolované studie analyticky hodnotící výsledky transplantační léčby a dokumentující zlepšování výsledků u těchto nemocných ve srovnání s ostatními skupinami pacientů s chronickým selháním ledvin jsou proto velmi žádoucí.

Obr. 1.

Přežívání příjemců s DM 2.typu po transplantaci ledviny v ČR v období 2000-2010 (n=158)



Přežívání ledvin u příjemců s DM 2.typu v ČR v období 2000-2010 (n=158) (přežívání štěpů necenzorováno pro úmrtí s funkčním štěpem)



V. Závěry

1. Diabetická neuropatie po kombinované transplantaci ledviny a pankreatu

1.1. Autonomní neuropatie

U nemocných s diabetem 1. typu podstupujících kombinovanou transplantaci ledviny a pankreatu byly zjištěny těžké poruchy v testech autonomních reflexů, které přetrvávaly i po navození dlouhodobé normoglykemie po úspěšné transplantaci. Tyto nálezy svědčí pro velmi pokročilé a s vysokou pravděpodobností ireverzibilní změny autonomního nervového systému u těchto pacientů. Spektrální analýza variability tepové frekvence nepřináší z hlediska diagnostiky možných úprav postižení v porovnání se standardními testy kardiovaskulárních reflexů nové informace.

1.2. Periferní neuropatie – morfologie tenkých nervových vláken

U kandidátů kombinované transplantace ledviny a pankreatu byla přítomna diabetická periferní neuropatie velmi pokročilého stupně provázená úbytkem až úplným chyběním tenkých nemyelinizovaných epidermálních vláken v oblasti dolních končetin. Po úspěšné transplantaci s dlouhodobým trváním normoglykemie nedošlo k žádnému zlepšení oproti vstupní úrovni denzity epidermálních nervových vláken. Nálezy potvrzují strukturální, velmi pravděpodobně ireverzibilní charakter pokročilých stadií diabetické neuropatie v oblasti dolních končetin u této populace nemocných.

2. Výsledky transplantace ledviny u nemocných s diabetem 2. typu

Přežívání nemocných a štěpů se v monocentrické retrospektivní studii u nemocných s diabetem 2. typu a chronickým selháním ledvin významně nelišilo od kontrolní skupiny osob bez diabetu. Obdobně byl srovnatelný i výskyt většiny sledovaných komplikací v obou skupinách nemocných s výjimkou počtu amputací, které se vyskytly pouze u diabetických pacientů. Tyto výsledky tak potvrzují, že přítomnost diabetu 2. typu nepředstavuje kontraindikaci provedení renální transplantace a není sama o sobě důvodem k nezařazování nemocných do čekací listiny.

VI. Literatura

- Barohn RJ: Intraepidermal nerve fiber assessment. *Arch Neurol* 55:1505-1506, 1998
- Becker BN and et al.: Preemptive transplantation for patients with diabetes-related kidney disease. *Arch Intern Med* 166:44-48, 2006
- Beggs JL, Johnson PC, Olafsen AG and et al.: Signs of nerve regeneration and repair following pancreas transplantation in an insulin-dependent diabetic with neuropathy. *Clin Transplant* 4:133-141, 1990
- Bellavere F, Balzani I, De Masi G and et al.: Power spectral analysis of heart-rate variations improves assessment of diabetic cardiac autonomic neuropathy. *Diabetes* 41:633-640, 1992
- Bilous RW, Mauer SM, Sutherland DE and et al.: The effects of pancreas transplantation on the glomerular structure of renal allografts in patients with insulin-dependent diabetes. *N Engl J Med* 321:80-85, 1989
- Boggi U, Rosati CM and Marchetti P: Follow-up of secondary diabetic complications after pancreas transplantation. *Curr Opin Organ Transplant* 18:102-110, 2013
- Bouček P, Bartoš V, Vaněk I, Hýža Z and Skibova J: Diabetic autonomic neuropathy after pancreas and kidney transplantation. *Diabetologia* 34 (Suppl 1):121, 1991
- Bouček P and Saudek F: Transplantace ledviny u nemocných s diabetem. In *Onemocnění ledvin u diabetes mellitus* Rychlík I, Tesař V and others Eds. Praha, Tigis, 2005, p. 389-396
- Boulton AJ, Kirsner RS and Vileikyte L: Clinical practice. Neuropathic diabetic foot ulcers. *N Engl J Med* 351:48-55, 2004
- Bragge P, Gruen RL, Chau M and et al.: Screening for presence of absence of diabetic retinopathy: A meta-analysis. *Arch Ophthalmol* 129:435-444, 2011
- Browne S, Gill J, Dong J and et al.: The impact of pancreas transplantation on kidney allograft survival. *Am J Transplant* 11:1951-1958, 2011
- Brownlee M: The pathobiology of diabetic complications: a unifying mechanism. *Diabetes* 54:1615-25, 2005
- Cashion AK, Hathaway DK, Milstead EJ, Reed L and Gaber AO: Changes in patterns of 24-hr heart rate variability after kidney and kidney-pancreas transplant. *Transplantation* 68:1846-1850, 1999
- Cooper ME: Pathogenesis, prevention and treatment of diabetic nephropathy. *Lancet* 352:213-219, 1998
- Cryer PE: Hypoglycemia risk reduction in type 1 diabetes. *Exp Clin Endocrinol Diabetes* 109 (Suppl 2):S412-423, 2001
- Cryer PE, Silverberg AB, Santiago JV and Shach SD: Plasma catecholamines in diabetes. The syndromes of hypoadrenergic and hyperadrenergic postural hypotension. *Am J Med* 64:407-416, 1978

Doporučený postup péče o diabetes mellitus 2.typu - aktualizace 2012. [Type of Media]. Available from www.diab.cz

Demartines N, Schiesser M and Clavien PA: An evidence-based analysis of simultaneous pancreas-kidney and pancreas transplantation alone. *Am J Transplant* 5:2688-2697, 2005

Fioretto P, Steffes MW, Sutherland DE and et al.: Reversal of lesions of diabetic nephropathy after pancreas transplantation. *N Engl J Med* 339:69-75, 1998

Foster AV, Snowden S, Grenfell A, Watkins PJ and Edmonds ME: Reduction of gangrene and amputations in diabetic renal transplant patients: the role of a special foot clinic. *Diabet Med* 12:632-635, 1995

Giannarelli R, Coppelli A, Sartini M and et al.: Effects of pancreas-kidney transplantation on diabetic retinopathy. *Transpl Int* 18:619-622, 2005

Gillespie KM: Type 1 diabetes: pathogenesis and prevention. *CMAJ* 175:165-170, 2006
Gross JL and et al.: Diabetic nephropathy: diagnosis, prevention and treatment. *Diabetes Care* 28:164-176, 2005

Gruessner AC and Sutherland DE: Pancreas transplant outcomes for United States (US) and non-US cases as reported to the United Network for Organ Sharing (UNOS) and the International Pancreas Transplant Registry (IPTR) as of June 2004. *Clin Transplant* 19:433-455, 2005

Hathaway DK, Abell T, Cardoso S and et al.: Improvement in autonomic and gastric function following pancreas-kidney versus kidney-alone transplantation and the correlation with quality of life. *Transplantation* 57:816-822, 1994

Hirschl MM, Heinz G, Sunder-Plassmann G and Derfler K: Renal replacement therapy in type 2 diabetic patients: 10 years experience. *Am J Kidney Dis* 20:564-568, 1992

Holland NR, Crawford TO, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW and McArthur JC: Small-fiber sensory neuropathies: clinical course and neuropathology of idiopathic cases. *Ann Neurol* 44:47-59, 1998

Holland NR, Stocks A, Hauer P, Cornblath DR, Griffin JW and McArthur JC: Intraepidermal nerve fiber density in patients with painful sensory neuropathy. *Neurology* 48:708-711, 1997

Hreidarsson AB: Acute, reversible autonomic nervous system abnormalities in juvenile insulin-dependent diabetes. *Diabetologia* 20:457-481, 1981

Hušek P, Malíková J and Herzogová G: Determination of plasma catecholamines via condensation with diphenylethylenediamine: simplification of the procedure. *J Chromatogr* 533:166-170, 1990

Jacobsen J, Christiansen JS, Kristoffersen I, Christensen CK, Hermansen K, Schmitz A and Mogensen CE: Autonomic and somatosensory nerve function after 2 years of continuous subcutaneous insulin infusion in Type 1 diabetes. *Diabetes* 37:452-455, 1988

Jirkovská A, Bouček P, Wosková V and et al.: Identification of patients at risk for diabetic foot: comparison of standardized noninvasive testing with routine practice at community diabetes clinics. *J Diabetes Complications* 15:63-68, 2001

Kalker AJ, Pirsch JD, Heisey D, Sollinger HW, Belzer FO, Knechtle SJ and D'Alessandro AM: Foot problems in the diabetic transplant recipient. *Clin Transplant* 10:503-510, 1995

Kennedy J.M. and Zochodne DW: Experimental diabetic neuropathy with spontaneous recovery. Is there irreparable damage? . *Diabetes* 54:830-837, 2005

Kennedy WR, Navarro X, Goetz FC, Sutherland DER and Najarian JS: Effects of pancreatic transplantation on diabetic neuropathy. *N Engl J Med* 322:1031-1037, 1990

Kennedy WR, Wendelschafer-Crabb G and Johnson T: Quantitation of epidermal nerves in diabetic neuropathy. *Neurology* 47:1042-1048, 1996

Klein R, Klein BEK and Moss SE: The Wisconsin epidemiological study of diabetic retinopathy: a review. *Diabet Metab Rev* 5:559-570, 1989

Kožnarová R, Saudek F, Sosna T and et al.: Beneficial effect of pancreas and kidney transplantation on advanced diabetic retinopathy. *Cell Transplant* 9:903-908, 2000

Kronson JW, Gillingham KJ, Sutherland DE and Matas AJ: Renal transplantation for type II diabetic patients compared with type I diabetic patients and patients over 50 years old: a single center experience. *Clin Transplant* 14:226-234, 2000

Laing SP, Swerdlow AJ, Carpenter LM and et al.: Mortality from cerebrovascular disease in a cohort of 23 000 patients with insulin-treated diabetes. *Stroke* 34:418-421, 2003

Laing SP, Swerdlow AJ, Slater SD and et al.: Mortality from heart disease in a cohort of 23,000 patients with insulin-treated diabetes. *Diabetologia* 46:760-765, 2003

Lauria G: Skin biopsy as a diagnostic tool in peripheral neuropathy. *Nat Clin Pract Neurol* 3:546-557, 2007

Lauritzen T, Frost-Larsen K, Larsen H-W, Deckert T and Steno Study Group: Two-year experience with continuous subcutaneous insulin infusion in relation to retinopathy and neuropathy. *Diabetes* 34:74-79, 1985

Luan FL, Miles CD, Cibrik DM and Ojo AO: Impact of simultaneous pancreas and kidney transplantation on cardiovascular risk factors in patients with type 1 diabetes mellitus. *Transplantation* 84:541-544, 2007

Mäkimattila S, Schlenzka A, Mäntysaari M and et al.: Predictors of abnormal cardiovascular autonomic function measured by frequency domain analysis of heart rate variability and conventional tests in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 23:1686-1693, 2000

Malik RA, Kallinikos P, Abbott CA, van Schie CH, Morgan P, Efron N and Boulton AJ: Corneal confocal microscopy: a non-invasive surrogate of nerve fibre damage and repair in diabetic patients. *Diabetologia* 46:683-688, 2003

Matricali GA, Bammens B and Kuypers D: High rate of Charcot foot attacks early after simultaneous pancreas-kidney transplantation. *Transplantation* 83:245-246, 2007

McCarthy BG, Hsieh S-T, Stocks A, Hauer P, Macko C, Cornblath DR, Griffin JW and McArthur JC: Cutaneous innervation in sensory neuropathies: Evaluation by skin biopsy. *Neurology* 45:1848-1855, 1995

Mehra S, Tavakoli M, Kallinikos PA, Efron N, Boulton AJM, Augustine T and Malik RA: Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration after pancreas transplantation in patients with type 1 diabetes. *Diabetes Care* 30:2608-2612, 2007

Mogensen CE: The effect of blood pressure intervention on renal function in insulin-dependent diabetes. *Diabetes Metab* 15:343-351, 1989

Morbach S, Furchert H, Gröblichhoff U and et al.: Long-term prognosis of diabetic foot patients and their limbs: amputation and death over the course of a decade. *Diabetes Care* 35:2021-2027, 2012

Navarro X, Sutherland DER and Kennedy WR: Long-term effects of pancreatic transplantation on diabetic neuropathy. *Ann Neurol* 42:727-736, 1997

Nyberg G, Hartso M, Mjornstedt L and Norden G: Type 2 diabetic patients with nephropathy in a Scandinavian kidney-transplant population. *Scand J Urol Nephrol* 30:317-322, 1995

Oates PJ: Polyol pathway and diabetic peripheral neuropathy. *Int Rev Neurobiol* 50:325-392, 2002

Obrosova IG: Hyperglycemia-initiated mechanisms in diabetic neuropathy. In *Diabetic neuropathy Clinical management*. Second ed. Veves A and Malik RA Eds. Totowa, Humana Press, 2007, p. 69-90

Ojo AO, Meier-Kriesche HU, Hanson JA and et al.: The impact of simultaneous pancreas-kidney transplantation on long-term patient survival. *Transplantation* 71:82-90, 2001

Oniscu GC and et al.: Impact of cadaveric renal transplantation on survival in patients listed for transplantation. *J Am Soc Nephrol* 16:1859-1865, 2005

Petersen MR: University of Michigan Pancreas Transplant Evaluation Committee: Progression of diabetic retinopathy after pancreas transplantation. *Ophthalmology* 97:496-502, 1990

Polydefkis M, Yiannoutsos CT, Cohen BA, Hollander H, Schifitto G, Clifford DB, Simpson DM, Katzenstein, Shriver S, Hauer P, Brown A, Haidich AB, Moo L and McArthur JC: Reduced intraepidermal nerve fiber density in HIV-associated sensory neuropathy. *Neurology* 58:115-119, 2002

Quattrini C, Tavakoli M, Jeziorska M, Kallinikos P, Tesfaye S, Finnigan J, Marshall A, Boulton AJM, Efron N and Malik RA: Surrogate markers of small fiber damage in human diabetic neuropathy. *Diabetes* 56:2148-2154, 2007

Ramsay RC, Goetz FC, Sutherland DE and et al.: Progression of diabetic retinopathy after pancreas transplantation for insulin-dependent diabetes mellitus. *N Engl J Med* 318:208-214, 1988

Rosolowsky ET, Skupien J, Smiles AM and et al.: Risk of ESRD in type 1 diabetes remains high despite renoprotection. *J Am Soc Nephrol* 22:545-553, 2011

Said S: Focal and multifocal diabetic neuropathy. In *Diabetic neuropathy Clinical management* Veves A and Malik RA Eds. Totowa, Humana Press, 2007, p. 367-378

Seshasai SR, Kaptoge S, Thompson A and et al.: Diabetes mellitus, fasting glucose, and risk of cause-specific death. *N Engl J Med* 364:829-841, 2011

Schiel R, Heinrich S, Steiner T, Ott U and Stein G: Long-term prognosis of patients after kidney transplantation: a comparison of those with or without diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 20:611-617, 2005

Schrijvers BF, De Vriese AS and Flyvbjerg A: From hyperglycemia to diabetic kidney disease: the role of metabolic, hemodynamic, intracellular factors and growth factors/cytokines. *Endocr Rev* 25:971-1010, 2004

Singh R, Barden A, Mori T and Beilin L: Advanced glycation end-products: a review. *Diabetologia* 44:129-146, 2001

Singleton JR, Smith AG, Russell JW and Feldman EL: Microvascular complications of impaired glucose tolerance. *Diabetes* 52:2867-2873, 2003

Smith AG, Howard JR, Kroll R, Ramachandran P, Hauer P, Singleton JR and McArthur JC: The reliability of skin biopsy with measurement of intraepidermal nerve fiber density. *J Neurol Sci* 228:65-69, 2005

Smith AG, Russell J, Feldman EL, Goldstein J, Peltier A, Smith S, Hamwi J, Pollari D, Bixby B, Howard J and Singleton JR: Lifestyle intervention for pre-diabetic neuropathy. *Diabetes Care* 29:1294-1299, 2006

Sosna T, Bouček P and Fišer I: *Diabetická retinopatie - diagnostika, prevence, léčba*. Praha, J.Cendelín, (2001)

Stratton IM, Adler AI, Neil HA and et al.: Association of glycaemia with macrovascular and microvascular complications of type 2 diabetes (UKPDS 35): prospective observational study. *BMJ* 321:405-412, 2000

Tavakoli M, Mitu-Pretorian M, Petropoulos IN, Fadavi H, Asghar O, Alam U, Ponirakis G, Jeziorska M, Marshall A, Efron N, Boulton AJ, Augustine T and Malik RA: Corneal confocal microscopy detects early nerve regeneration in diabetic neuropathy after simultaneous pancreas and kidney transplantation. *Diabetes* 62:254-260, 2013

The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: 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* 329:977-986, 1993

The Diabetes Control and Complications Trial Research Group: The absence of a glycemic threshold for the development of long-term complications: the perspective of the Diabetes Control and Complications Trial. *Diabetes* 45:1289-1298, 1996

Tonelli M, Wiebe N, Knoll G and et al.: Systematic review: kidney transplantation compared with dialysis in clinically relevant outcomes. *Am J Transplant* 11:2093-2109, 2011

Troni W, Carta Q, Cantell R, Casell MT and Rainero I: Peripheral nerve function and metabolic control in diabetes mellitus. *Ann Neurol* 16:178-183, 1984

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* 352:837-853, 1998

Unger RH: Reinventing type 2 diabetes: pathogenesis, treatment, and prevention. *JAMA* 299:1185-1187, 2008

ÚZIS ČR Aktuální informace č. 36/2012

ÚZIS ČR: Péče o nemocné cukrovkou. 2011

van Dellen D, Worthington J, Mitu-Pretorian OM and et al.: Mortality in diabetes: pancreas transplantation is associated with significant survival benefit. *Nephrol Dial Transplant*, 2013

Van Mieghem A, Fonck C, Coosemans W and et al.: Outcome of cadaver kidney transplantation in 23 patients with type 2 diabetes mellitus. *Nephrol Dial Transplant* 16:1686-1691, 2001

Vinik AI, Erbas T, Park TS and et al.: Platelet dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care* 24:1476-1485, 2001

Watkins PJ and Edmonds ME: Diabetic autonomic failure. In *Autonomic failure*. 4th ed. Mathias CJ and Bannister R Eds. Oxford, Oxford University Press, 1999, p. 378-386

Ways DK and Sheetz MJ: The role of protein kinase C in the development of the complications of diabetes. *Vitam Horm* 60:149-193, 2000

Wheeler S, Singh N and Boyko EJ: The epidemiology of diabetic neuropathy. In *Diabetic neuropathy Clinical management*. Second ed. Veves A and Malik RA Eds. Totowa, Humana Press, 2007, p. 7-30

White SA, Shaw JA and Sutherland DE: Pancreas transplantation. *Lancet* 373:1808-1817, 2009

Wilczek HE, Jaremko G, Tyden G and Groth CG: Evolution of diabetic nephropathy in kidney grafts. Evidence that a simultaneously transplanted pancreas exerts a protective effect. *Transplantation*:51-57, 1995

Ziegler D: Pathobiochemistry and pathophysiology. Glycemic control. In *Textbook of diabetic neuropathy* Gries FA, Cameron NE, Low PA and Ziegler D Eds. Stuttgart, Georg Thieme Verlag, 2003, p. 91-96

Ziegler D, Dannehl K, Wiefels K and Gries FA: Differential effects of near-normoglycemia for 4 years on somatic nerve dysfunction and heart rate variation in type 1 diabetic patients. *Diabet Med* 9:622-629, 1992

VII. Seznam použitých zkratek

A, adrenalin

BI, brzdový index (Brake Index)

BMI, index tělesné hmotnosti (Body Mass Index)

CV, Component Variance

ČR, Česká republika

DAN, diabetická autonomní neuropatie

DM, diabetes mellitus

DCCT, Diabetes Control and Complications Trial

ENV, epidermální nervová vlákna

HF, spektrální výkon ve vysokofrekvenční oblasti

HLA, Human Leucocyte Antigen

IKEM, Institut klinické a experimentální medicíny

I-E, rozdíl srdeční tepové frekvence při nádechu a výdechu

I/E, podíl srdeční tepové frekvence při nádechu a výdechu

KV, kardiovaskulární

LF, spektrální výkon v nízkofrekvenční oblasti

MSSD, průměr čtverců rozdílů následných R-R intervalů

NA, noradrenalin, ev. non-available (údaj není k dispozici)

NS, nevýznamný

PRA, Panel Reactive Antibody

TF, srdeční tepová frekvence

TP, celkový spektrální výkon

Tx L, transplantace ledviny

Tx L+P, kombinovaná transplantace ledviny a pankreatu

Tx L (+P), následná transplantace pankreatu po transplantaci ledviny

Tx P, transplantace pankreatu

UKPDS, United Kingdom Prospective Diabetes Study

ÚZIS, Ústav zdravotnických informací a statistiky

VPT, práh vibračního čítí (Vibration Perception Threshold)

VR, Valsalvův kvocient (Valsalva Ratio)

VIII. Přílohy

Seznam publikací autora souvisejících s disertační prací

1. Spectral analysis of heart rate variation following simultaneous pancreas and kidney transplantation.
Boucek P, Saudek F, Adamec M, Janousek L, Koznarova R, Havrdova T, Skibova J. *Transplant Proc.* 2003; 35:1494-8. IF 0.588
2. Severe depletion of intraepidermal nerve fibers in skin biopsies of pancreas transplant recipients.
Boucek P, Havrdova T, Voska L, Lodererova A, Saudek F, Lipar K, Janousek L, Adamec M, Sommer C. *Transplant Proc.* 2005; 37:3574-5. IF 0.799
3. Boucek P: Advanced diabetic neuropathy: a point of no return? *Rev Diabetic Stud* 2006; 3:143-150
4. Epidermal innervation in type 1 diabetic patients: a 2.5-year prospective study after simultaneous pancreas/kidney transplantation.
Boucek P, Havrdova T, Voska L, Lodererova A, He L, Saudek F, Lipar K, Adamec M, Sommer C. *Diabetes Care.* 2008; 31:1611-12. IF 7.349
5. Kidney transplantation in type 2 diabetic patients: a comparison with matched non-diabetic subjects.
Boucek P, Saudek F, Pokorna E, Vitko S, Adamec M, Koznarova R, Lanska V. *Nephrol Dial Transplant.* 2002; 17:1678-83. IF 2.570